

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

リアルタイムモニター飛散数と現状の  
治療によるQOLの関連性の評価研究と  
花粉症根治療法の開発

平成18年度 総括研究報告書

主任研究者 大久保 公裕

平成19年(2007)年3月

## 目 次

### I. 総合研究報告

リアルタイムモニター飛散数と現状の治療によるQOLの関連性の評価研究と花粉症根治療法の開発 大久保公裕 .....	1
スギ花粉症における目と鼻以外の症状の評価と丸山ワクチン免疫療法の基礎研究 大久保公裕 .....	6
Omalizumab is Effective and Safe in the Treatment of Japanese Cedar Pollen-induced Seasonal Allergic Rhinitis Kimihiro Okubo, et al .....	9
Inhibition of the Antigen Provoked Nasal Reaction by Second-generation Antihistamines in Patients with Japanese Cedar Pollinosis Kimihiro Okubo, et al .....	17
各種自動花粉測定器の性能についての検討, 舌下免疫療法の有効性の検討, ならびにスギ花粉症発症へのインフルエンザウイルス感染の影響についての検討 岡本美孝 .....	26
Expression of membrane-bound CD23 in nasal mucosal B cells from patients with perennial allergic rhinitis Shigetoshi Horiguchi, et. al .....	29
Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity Y. Okamoto, et al .....	35
鼻アレルギー 岡本美孝 .....	41
リアルタイム花粉モニターを用いた花粉観測の解析 増山敬祐 .....	47
スギ花粉症に対する舌下免疫療法 (1年目の中間結果) 後藤 穰 .....	49
花粉症の薬物療法 後藤 穰 .....	51
小児花粉症患者の治療 後藤 穰 .....	55
スギ花粉症に対するアレルギー特異的免疫療法の現状と問題点 後藤 穰, 他 .....	57
花粉症に対する免疫療法の進歩とエビデンス 後藤 穰 .....	66
スギ花粉症に対するグミ剤を使用した舌下免疫療法 大久保公裕 .....	71
免疫療法の治療効果と臨床評価方法の研究 湯田厚司 .....	73
スギ花粉症に対するレーザー手術のQOLと越年効果 久保伸夫 .....	76
マウススギ花粉症モデル作製とCRTH2の関与に関する研究 岡野光博 .....	79

Signals through CD40 play a critical role in the pathophysiology of <i>Schistosoma mansoni</i> egg antigen-induced allergic rhinitis in mice Hisashi Hattori, et al	81
Presence and characterization of prostaglandin D <sub>2</sub> -related molecules in nasal mucosa of patients with allergic rhinitis Mitsuhiro Okano, et al	86
E prostanoid 2 (EP2)/EP4-mediated suppression of antigen-specific human T-cell responses by prostaglandin E <sub>2</sub> Mitsuhiro Okano, et al	93
Role of prostaglandin D <sub>2</sub> and E <sub>2</sub> terminal synthases in chronic rhinosinusitis M. Okano, et al	103
細胞内シグナルを利用したスギ花粉症治療可能性 藤枝重治	114
Collaborative Action of NF- $\kappa$ B and p38 MAPK Is Involved in CpG DNA-Induced IFN- $\alpha$ and Chemokine Production in Human Plasmacytoid Dendritic Cells <sup>1</sup> Youko Osawa, et al	117
Double-stranded RNA induces production of RANTES and IL-8 by human nasal fibroblasts Noboru Takahashi, et al	129
Roles of protein tyrosine kinase Syk in nasal polyps T. Yamada, et al	137
Expression of Syk is associated with nasal polyp in patients with allergic rhinitis Yuki Hamajima, et al	142
耳鼻咽喉科	
1) 鼻粘膜由来線維芽細胞におけるRANTES・Eotaxin制御 山田武千代, 他	150
鼻アレルギー	
1) 鼻アレルギーにおけるリモデリング 山田武千代, 他	158
鼻由来線維芽細胞によるB細胞の制御 山田武千代, 他	165
II. 調査概要	169

## リアルタイムモニター飛散数と現状の治療による QOL の関連性の評価研究と花粉症根治療法の開発

主任研究者	大久保公裕	日本医科大学耳鼻咽喉科助教授	
分担研究者	岡野光博	岡山大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科助教授	
	岡本美孝	千葉大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学教授	
	久保伸夫	関西医科大学男山病院耳鼻咽喉科助教授	
	後藤 穰	日本医科大学耳鼻咽喉科講師	
	藤枝重治	福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科教授	
	増山敬祐	山梨大学大学院耳鼻咽喉科・頭頸部外科教授	
	盛川 宏	獨協医科大学耳鼻咽喉科気管食道科講師	
	湯田厚司	三重大学耳鼻咽喉科講師	
	研究協力者	茶藪英明	千葉大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学助手
		米倉修二	千葉大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学医員
D Jean-Jacques		東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻助教授	
松崎全成		山梨大学大学院耳鼻咽喉科・頭頸部外科助教授	
松岡伴和		山梨大学大学院耳鼻咽喉科・頭頸部外科講師	
高橋吾郎		山梨大学大学院耳鼻咽喉科・頭頸部外科講	
山田武千代		福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科講師	
中村正孝		東京医科歯科大学疾患遺伝子研究センター教授	
古保静雄		NTT 環境サービス研究所	
横田匡彦		ウェザー・サービス株式会社	

スギ花粉症は、日本で罹患人口の多い疾患のひとつであり、その有病率は10～20%にもおよぶ。戦後、建材や治水を目的として、全国の国有林（北海道・沖縄を除く）にスギが広く植林されたが、林業の衰退により、十分な間伐が行なわれなかった為、日本国土の12%をスギ林が占有している。近年、樹齢30年以上のスギが多くなり、その成長にともない飛散花粉数が増し花粉症患者数が急増した。この花粉症患者のQOLが花粉飛散期説に障害されることは既に報告した。このスギ花粉症に対し、国民に多くの予防や治療の情報が必要である。我々研究班が設置したリアルタイムモニターをうまく活用するためには、リアルタイムモニターが示す飛散花粉量と患者のQOLや各種の治療に対する満足度の評価が必要であり、昨年度より検討を始めた。また新しい治療法の検討として2006年からは2年間の二重盲検比較試験を組み、2008年には発表できる予定である。今年度はその一部試験担当者以外でのレビューとグミ剤による舌下免疫療法の報告を行う。また現状の治療として評価の進んでいなかった手術療法の評価を行って、経年的な効果について検討している。さらに近未来の治療としてCRTH2受容体を介したアレルギー反応抑制やB cell stimulator(BLyS)など新しい分子での花粉症治療の可能性を示す検討を行った。

### A. 研究目的

スギ花粉症は、日本で罹患人口の多い疾患のひとつである。近年、飛散花粉数が増し花粉症患者数が急増した。この花粉症患者のQOLが花粉飛散季節に障害されることは既に報告した。このスギ花粉症に対し、国民に多くの予防や治療の情報が必要である。我々研究班が設置したリアルタイムモニターをうまく活用するためには、リアルタイムモニターが示す飛散花粉量と患者のQOLや各種の治療に対する満足度の評価が必要であり、今年度はまずリアルタイムモニター（自動花粉測定器）の性能の評価を行った。さらにリアルタイムモニターの花飛散数とどの程度QOLの障害が相関するか検討を行った。新しい治療法の検討では今まで皮下注射による抗原特異的免疫(減感作)療法しか

なかった根治的な花粉症の治療法を基礎的に研究した昨年度までの研究を進歩させる。今年度からは医師主導による舌下免疫療法の臨床試験としてその効果や副作用について研究する。また現在行われている皮下注射による免疫療法の効果を検証する基礎的研究や今後の舌下免疫療法の有効性の評価にも適応できるように評価方法などの臨床的研究を行った。花粉症症状抑制のための新しい分子の基礎的研究も成果を上げたい。

### B. 方法と結果

1. 花粉症のリアルタイムモニターの研究（大久保、岡本、増山）  
千葉のリアルタイムモニターKH3000は降雪、黄砂により影響を受け、神楽センサーは、雪は花粉と誤認し

なかったが、黄砂には影響を受けていた。SPM の影響を改善するための補正式として、花粉粒子数 $=2.1 \times$  (花粉識別判別式による花粉と識別された粒子数)  $- 0.073 \times$  (神栄センサーの測定粒子数) で補正したところ相関係数は 0.54 から 0.91 に上昇した。山梨ではダーラムと KH-3000 による花粉飛散数の相関係数は、それぞれ  $r = 0.7379$ (2002 年)、 $0.7133$ (2003 年)、 $0.7297$ (2005 年)と比較的良好的な相関が得られた。スギ、ヒノキ科花粉飛散総数はそれぞれ 6,166 個、1,833 個、5,810 個/cm<sup>2</sup>であった。一方、2004 年は花粉飛散総数 132 個/cm<sup>2</sup>と例年に比較して極端に少ない年で、両者の相関係数は  $r = 0.2530$ であった。1 時間値におけるダーラムと KH-3000 の相関は、相関係数  $r = 0.8286$ と良好であった。KH-3000 による花粉飛散の日内変動は 14 時頃から上昇を示し、15 時~17 時にピークに達し、その後は 24 時頃まで徐々に減少するパターンを示した。ヒノキ飛散日のそれは、10 時頃から上昇し始め、14 時頃ピークに達し、19 時頃まで減少する異なるパターンを示した。

## 2. 液剤による舌下免疫療法の多施設研究 (大久保、岡野、岡本、後藤、藤枝、増山、盛川、湯田)

2004 年から半年の舌下免疫療法を行い評価した 2005 年の全体の結果を報告する。花粉飛散期後半でプラセボ群と比較し有意に症状と重症度で軽く推移した。さらに 2005 年の 10 月より新規に 2 年間の舌下免疫療法をプラセボ対照二重盲検比較試験で開始した。全国で 200 症例であり、鼻症状、眼症状は日記により、QOL 評価は日本アレルギー性鼻炎 QOL 標準調査票 2002 年度版 (JRQLQ No. 1) を用いて評価検討を行う。初年度の今年は第 3 者によるレビューと三重大学で実施したオープン試験の検討を行った。日本医科大学の症例のみ検討したが、花粉数が少ないために多くの症例において軽症程度の重症度しか示さず、くしゃみ、鼻漏、鼻閉、重症度スコア、symptom medication score において、実薬群とプラセボ群で有意差を認めなかった。QOL 評価でもスコアの変化が前年のような大きな変化量を示さず、両群で有意差はなかった。オープン試験では症状は花粉の飛散と共に出現するが重症化はしなかった。重篤な副作用は生じなかった。

## 3. スギ花粉ゼラチン錠による口腔免疫療法の研究 (盛川)

2003 年より標準化スギ抗原エキスを一定量含有したグミ剤での口腔嚥下法で免疫療法を実施した。2006 年の結果では、3 シーズン治療を継続した実薬継続投与群は、鼻症状スコアおよび Symptom-medication Score がプラセボ群よりも有意に低く、症状の改善と薬剤使用の低下が認められた。3 シーズン治療を継続した 8 例においては、治療開始前と比較し、治療後にはヒスタミン遊離率およびリンパ球増殖能は有意に抑

制されていた。副作用は、口腔内の搔痒感などで、治療が必要となる重篤な副作用は認められなかった。

## 4. 丸山ワクチン免疫療法の基礎研究 (大久保)

BALB/c マウスの皮下にスギ花粉抗原を 5 回投与し、その後腹腔内投与を行った。抗原皮下投与の間にアンサ 20 を皮下投与した。最終的に腹腔誘発後に腹腔に増加する好酸球数を検討し、Th2 細胞の抑制が出来たかどうか検討した。腹腔内スギ花粉抗原投与により溶媒投与の対照群と比較し、好酸球数は増加した。この増加をアンサ 20 は感作と同時の投与では抑制できなかった。アンサ投与の時期が感作中だったこともあり、現在は感作成立後のアンサ 20 の投与の検討を現在始めている。

## 5. スギ花粉症モデルマウスの作成と CRTH2 の研究 (岡野)

BALB/c マウス(雌 7 週齢)にスギ花粉アレルゲン Cry j1 を連続点鼻で感作した。最終点鼻誘発時のくしゃみ・鼻かき回数から Cry j1 に対する過敏性の変化を検討した。その結果、高用量の Cry j1 点鼻投与では有意にくしゃみおよび鼻かき回数が増加した。Cry j1 点鼻投与にて血清中の Cry j1 特異的 IgE および IgG1 抗体価はともに上昇し、Cry j1 刺激に対するリンパ節細胞培養で IL-4 および IL-5 の産生は高用量 Cry j1 を点鼻投与した群で増加した。また鼻粘膜内好酸球浸潤が認められた。CRTH2 ノックアウトマウスでは、野生型マウスに比較して有意な症状の抑制、Cry j1 特異的 IgE/IgG1 抗体産生の抑制、鼻粘膜浸潤好酸球数の低下、顎下部リンパ節細胞による IL-4 および IL-5 産生の有意な抑制がみられた。

## 6. B cell stimulator(BLyS)によるアレルギー性鼻炎治療の研究 (藤枝)

鼻粘膜線維芽細胞株での TLR, BLyS の発現を real-time PCR で測定し、また BLyS の蛋白産生をウエスタンブロット法にて測定し刺激後の発現の変化を検討した。線維芽細胞では TLR3, LTR4, TLR9 の発現が多く、Poly IC と LPS 刺激により BLyS が発現した。BLyS 発現誘導は、Poly IC の作用が最も強く濃度依存性に誘導し、扁桃由来線維芽細胞でもみられたが、下甲介粘膜由来線維芽細胞で特に強くその 10 倍であった。ヒト B 細胞株 Ramos2G6 に GFP 発現ベクターを遺伝子導入し、GFP 陽性細胞の数で Ig クラススイッチを定量比較した。抗 CD40 抗体が低濃度では BLyS は IgE クラススイッチを有意に増強したが、高濃度の存在下では BLyS の影響はなかった。鼻粘膜において BLyS は IgE クラススイッチ促進因子として働いていた。BLyS 中和抗体 (抗 BLyS 抗体) が IgE 産生を減少させ、アレルギー性鼻炎の治療薬として期待される。

## 7. 花粉症の手術的治療法の評価 (久保)

中等症以上のスギ花粉症患者を対象に、毎年 11 月中旬から翌年 1 月中旬までの間に炭酸ガスレーザーによる下鼻甲介表面蒸散術を施行した。JRQLQ を用いて、同時期に点鼻ステロイド（フルチカゾン）の初期投与を行ったスギ花粉症患者群との比較では、2004 年度と 2006 年度では総括的状态、眼症状を含む症状別スコア、臓器別スコアでも両群間に有意差はなかった。2005 年度は総括的状态と症状別スコアでは有意差はなかったが、屋外活動ではフルチカゾン群が、睡眠ではレーザー群が有意にまさっていた。レーザー手術は QOL の面からも鼻噴霧用ステロイド薬の投与と同等と考えられた。

### C. 考察と結論

花粉飛散のリアルタイムモニターでは厚生労働省の班としては KH-3000 を使用している。しかし、千葉大学のデータにもあるように黄砂や雪の影響を受けることが分かり、正しい補正をしなければならない。またこのデータはその日の症状には呼応するが、QOL には直接結びつかない場合もあり、リアルタイムの飛散花粉数の広報には患者への啓蒙も必要であると考えられた。またリアルタイムモニターの問題点をさらに解明し、リアルタイムモニターの情報がどのように使用されなければならないか今後の課題である。

免疫療法の効果は世界的に認められているが、日本では副作用の問題から頻用されていない。そのため、より副作用の少ない舌下免疫療法を単年度の RCT、2 年間の RCT と臨床検討を続けてきた。まだ 2 年目の臨床試験のデータは出ていないが、第 3 者の今年の評価からは花粉飛散量の少ない年での検討は難しいと思われる。今後は 2 年目の効果発現や効果発現機序も含め詳細に検討する必要がある。現在まで舌下免疫療法における治癒の可能性は明らかになっていないが、より長期での検討や対症療法である薬物療法との比較など今後の検討から治癒の可能性も探って行かねばならない。またアジュバント免疫療法の可能性を丸山ワクチンの基礎研究から明らかにしようとしたが、感作と同時のアジュバントの投与では Th2 反応を抑制できなかった。今後、感作終了後のアジュバント投与についても考察し、来年度では倫理委員会の承認の下、コンセプト臨床試験を開始したい。

リアルタイムモニターと QOL、そして新しい治療法の開発という広いテーマでの研究班であるが、確実に成果を残しつつある。患者に提供される花粉飛散と QOL の関連性の啓蒙活動や、新たな治療法を実際に患者に使用できるよう努力したい。

### D. 健康危険情報

なし

### E. 研究発表

#### 論文

1. Okubo K, Gotoh M: Inhibition of the antigen provoked nasal reaction by second-generation antihistamines in patients with Japanese cedar pollinosis. *Allergology International* 55: 261-269, 2006.
2. Okubo K, Ogino S, Nagakura T, Ishikawa T: Omalizumab is effective and safe in the treatment of Japanese cedar pollen-induced seasonal allergic rhinitis. *Allergology International* 55: 379-386, 2006.
3. Delaunay J., Yokotta M., Okamoto Y. Side-by-side comparison of automatic pollen counters for use in pollen information systems. *Ann Allergy Asthma Immunol. In press.*
4. Hattori H, Okano M, et al. Signals through CD40 play a critical role in the pathophysiology of *Schistosoma mansoni* egg antigen-induced allergic rhinitis in mice. *American Journal of Rhinology* 20: 165-169, 2006.
5. Okano M, Fujiwara T, et al. Presence and characterization of PGD2-related molecules in nasal mucosa of patients with allergic rhinitis. *American Journal of Rhinology* 20: 342-348, 2006.
6. Okano M, Sugata Y, et al. EP2/EP4-mediated suppression of antigen-specific human T cell responses by prostaglandin E2. *Immunology* 118: 343-352, 2006.
7. Okano M, Fujiwara T, et al. Role of prostaglandin D2 and E2 terminal synthases in chronic rhinosinusitis. *Clinical and Experimental Allergy* 36: 1028-1038, 2006.
8. Sugata Y, Okano M, et al. Histamine H4 receptor agonists have more activities than H4 agonism in antigen-specific human T cell responses. *Immunology In press.*
9. Hattori H, Rosas LE, Okano M, et al. STAT1 is involved in pathogenesis of murine allergic rhinitis. *American Journal of Rhinology In press.*
10. Naota H, Miyahara Y, Yuta A, et al. Generation of peptide-specific CD8+ T cells by phytohemagglutinin -stimulated antigen -mRNA -transduced CD4+ T cells. *J Immunol Methods*. 314:54-66, 2006.

11. Osawa Y, Iho S, Takauji R, Takatsuka H, Yamamoto S, Takahashi T, Horiguchi S, Urasaki Y, Matsuki T, Fujieda S: Collaborative action of NF-kappaB and p38 MAPK is involved in CpG DNA-induced IFN-alpha and chemokine production in human plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 177(7):4841-4852, 2006
12. Takahashi N, Yamada T, Narita N, Fujieda S: Double-stranded RNA induces production of RANTES and IL-8 by human nasal fibroblast. *Clin Immunol* 118:51-58, 2006.
13. Yamada T, Takahashi N, Sunaga H, Narita N, Yamamoto H., Fujieda S: Roles of protein tyrosine kinase Syk in nasal polyps. *Clin Exp All Rev* 5:72-76, 2005.
14. Hamajima Y, Fujieda S, Sunaga H, Yamada T, Moribe K, Watanabe N, Murakami S: Expression of Syk is associated with nasal polyp in patients with allergic rhinitis. *Auris Nasus Larynx* 34(1):49-56, 2007
15. 長谷川雅容、藤倉輝道、滝沢竜太、小山利香、大久保公裕：フルチカゾン点鼻液 50  $\mu$ g「サワイ」28 噴霧用プロピオン酸フルチカゾン製剤のスギ花粉症に対する臨床効果。アレルギー・免疫 13, No6: 104-116, 2006.
16. 佐々木康二、三品朋子、湯田厚司、他：スギ花粉における秋の気象条件と花粉飛散の影響。東海花粉症誌 17, 59-63, 2006.
17. 湯田厚司、間島雄一、島田博匡、他：三重県におけるスギ・ヒノキ科花粉飛散結果と2006年飛散予想。東海花粉症誌 17, 28-33, 2006.
- インとは。Q&A でわかるアレルギー疾患 2(5): 404-405, 2006.
8. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎の現状と抗ヒスタミン薬の使用法。小児科 47(8): 1225-1231, 2006.
9. 大久保公裕、後藤穰：Hygiene hypothesis に基づいた抗原特異的免疫療法。Progress in Medicine 26(8): 1829-1832, 2006.
10. 大久保公裕：アレルギー外来の現状 2.耳鼻咽喉科。眼科 48(12): 1781-1788, 2006.
11. 大久保公裕：鼻アレルギーのQOLの評価。耳鼻免疫アレルギー 24 (4): 35-37, 2006.
12. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎に対するステロイド薬の適応。JOHNS 23(2): 191-194, 2007.
13. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎に対する新しい薬剤。アレルギーの臨床 27(1): 48-33, 2007.
14. 盛川宏、馬場廣太郎：花粉症 Up-To-date。Pharmavision 99: 8-15, 2006.
15. 松崎全成、高橋吾郎、増山敬祐ほか：花粉症疫学調査における病診連携について-山梨県での取り組み-。耳鼻咽喉科免疫アレルギー 24 (1) :11-16, 2006.
16. 増山敬祐：花粉症に対する鼻局所ステロイド薬の進歩とエビデンス。アレルギーの臨床 26 (2) : 39-45, 2006.
17. 湯田厚司：小児アレルギー性鼻炎の病態。JOHNS 23, 153-156, 2007.
18. 湯田厚司：One airway, one disease とアレルギー性鼻炎治療。日気食会誌 57, 175-180, 2006.
19. 藤枝重治：花粉症に対する新しい治療法 臨床検査 50(2): 194-202, 2006
20. 藤枝重治、小島章弘、窪誠太：鼻ポリープ形成のメカニズム アレルギーの臨床 26(4):261-266, 2006
21. 藤枝重治：CpG-DNAによるワクチン療法 アレルギー科 21(3): 255-261, 2006
22. 藤枝重治：鼻過敏症とアレルギー性鼻炎 アレルギー科 21(4): 395-403, 2006
23. 藤枝重治、大澤陽子：鼻過敏症に含まれるアレルギー性鼻炎 臨床免疫・アレルギー科 46(4): 424-428, 2006.
24. 山田武千代、高橋昇、藤枝重治：ヒトIgEクラススイッチ抑制による治療戦略 アレルギー科 21(4): 381-387, 2006
25. 山田武千代、高橋昇、藤枝重治：BLyS と免疫グロブリンクラススイッチ 臨床免疫 45(1): 85-90, 2006
26. 山田武千代、高橋昇、藤枝重治：鼻粘膜由来線維芽細胞における RANTES・Eotaxin 制御 アレ

#### 総説

1. 大久保公裕：免疫療法の実践 2.花粉症・アレルギー性鼻炎。アレルギーの臨床 26.3: 194-200, 2006.
2. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎のQOL。東京都医師会雑誌 59.3: 11-16, 2006.
3. 後藤穰、大久保公裕：スギ花粉症に対するアレルギー特異的免疫療法の現状と問題点。アレルギー科 21: 13-21, 2006.
4. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎（花粉症）の現状と治療。小児科臨床 59: 1461-1468, 2006.
5. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎の病態と最新治療。クリニカ 33: 219-225, 2006.
6. 大久保公裕：抗IgE抗体療法—基礎から臨床まで。医学のあゆみ 216(5): 379-382, 2006.
7. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎におけるガイドラ

ルギー・免疫 13(1): 30-37, 2006

27. 山田武千代, 森繁人, 高橋昇, 窪誠太, 藤枝重治: 鼻アレルギーにおけるリモデリング アレルギー・免疫 13(8): 9-15, 2006
28. 山田武千代, 高橋昇, 藤枝重治: 鼻由来線維芽細胞による B 細胞の制御 日鼻誌 45(1):42-44, 2006

#### 著書

1. 大久保公裕: アレルギー性鼻炎の重症度と病型に応じた薬物療法. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科診療のコツと落とし穴. II 鼻・副鼻腔疾患. 神崎仁編集, pp44-46、中山書店、東京、2006.
2. 大久保公裕: 鼻涙管閉塞による涙囊炎の治療. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科診療のコツと落とし穴. II 鼻・副鼻腔疾患. 神崎仁編集, pp126-127、中山書店、東京、2006.
3. 大久保公裕: 第4章1 花粉症の疫学と発症メカニズム. アレルギー疾患ガイド. アレルギー疾患ガイド編集委員会, pp116-120、中央法規出版、東京、2006.
4. 大久保公裕: 1. 花粉症とは 診断と治療. 花粉症と周辺アレルギー疾患. 斎藤博久監修, pp2-7、診断と治療社、東京、2007.
5. 湯田厚司: 抗ヒスタミン薬を使うときのコツ 小児アレルギーシリーズ 花粉症と周辺アレルギー疾患 斎藤博久監修 pp58-63, 診断と治療社 東京 2007.

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
スギ花粉症の診断方法 特願 2006-288853  
2006年10月24日
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



## スギ花粉症における目と鼻以外の症状の評価と丸山ワクチン免疫療法の基礎研究

主任研究者 大久保公裕 日本医科大学耳鼻咽喉科助教授  
 分担研究者 後藤 穰 日本医科大学千葉北総病院耳鼻咽喉科講師

花粉症を含むアレルギー性鼻炎は日本では有病率が高く、罹患しても仕事を休めないなど Quality of Life(QOL)が著しく低下する疾患である。QOL が低下する原因はただ単に鼻と目の症状だけでなく、花粉飛散による全身性の症状が出現する疾患だからである。花粉の直接アレルギー反応によると思われる症状と放出されたヒスタミンや他のメディエーターが体内を循環する事による症状である。今回、我々は QOL 低下の原因を抽出するために花粉症の鼻と眼以外の症状を日本標準アレルギー性鼻炎 QOL 調査票 No2(JRQLQ No2)を使用し、口がかわく、皮膚が痒くなる、口が痒いなどの症状が有意に低下することが判明した。さらに皮膚が痒い、イビキをかくの症状は男女差があることが判明し、花粉症においては眼や鼻以外の症状も重要であることが示された。

花粉症では抗原回避・除去、薬物療法、抗原特異的免疫療法、手術療法があるが、頻用される薬物療法、手術療法は対症療法である。抗原回避・除去は根治的治療法ではあるが、完全には花粉が飛散しない場所への転地療法しかなく、抗原特異的免疫療法しか根治的治療法はありえない。しかし抗原特異的免疫療法は期間も長く、アナフィラキシーの危険もあるため、頻用されない治療法である。このため、より短期にしかも副作用を減じた根治的治療法が望まれる。我々は日本独自のアジュバントである丸山ワクチンを使用し、抗原特異的免疫療法の効果を増強する方法を考案し、基礎実験を行った。しかし実験動物での感作と同時期の投与では Th1 誘導を認めることが出来なかった。今後の人での臨床試験には重要な情報と考えられ、来年の課題としたい。

### A. 研究目的

花粉症では眼や鼻の症状に加え多彩な症状が出現することが知られている。しかし、どのような症状に頻度が高いか、あるいはそれらが治療によりどの程度改善するか分かっていない。今回、我々は 2006 年花粉症シーズンにおける鼻眼以外の症状を街頭アンケートと医療機関において調査を行い検討した。

アレルギー疾患の治療においては現在、薬物療法が主体をなしている。しかし薬物療法は対症療法であり、症状の軽快のみで治癒を導くことはできない。このため我々の研究班では根治的免疫療法の臨床応用を目標としてスギ花粉症患者に対する舌下免疫療法の応用を行ってきた。これは 2 年のプラセボ対照二重盲検比較試験であり、まだ結果が出ていない。免疫療法は T 細胞への効果発現機序が考えられており、Th2 の抑制と Th1 の誘導が主たる目標となる。Th1 の誘導として我々は今回、丸山ワクチンの市販品であるアンサ 20 を用いて動物実験を行い、実際に Th1 誘導の指標として好酸球を減少させたかどうか、検討した。

### B. 方法

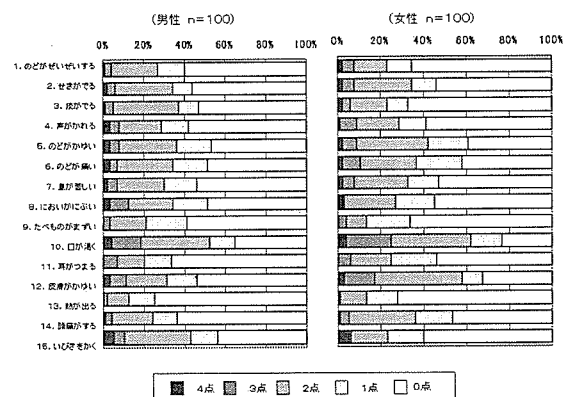
①街頭アンケート、医療機関での調査とも日本アレルギー性鼻炎 QOL 標準調査票 2002 年度版 (JRQLQ No. 2 鼻眼以外の症状) を用いた。街頭アンケートは 3 月の晴天 2 日をランダムに選び、同一場所で調査した。また医療機関での調査では初期治療群と飛散期治療群での JRQLQ No2 鼻眼症状以外の症状の推移を検討した。

②BALB/c マウスの皮下にスギ花粉抗原を 5 回投与し、

その後腹腔内投与を行う。抗原皮下投与の間にアンサ 20 を皮下投与した。最終的に腹腔誘発後に腹腔に増加する好酸球数を検討し、Th2 細胞の抑制が出来たかどうか検討した。

### C. 結果

①街頭アンケートでは症状のやや重い以上の群ではより女性に皮膚の痒みの症状が多く認められた。また気道の症状はのどの症状と関連した。これら気道とのどの症状さらに全身への影響は鼻症状では鼻閉に相關することが分かった。また初期治療では飛散期治療より鼻や眼の症状はもとより鼻や眼以外の症状にも効果を示した。



②腹腔内スギ花粉抗原投与により溶媒投与の対照群と比較し、好酸球数は増加した。この増加をアンサ 20 は感作と同時の投与では抑制できなかった。現在、感作成立後のアンサ 20 の投与の検討を現在始めている。

Group	Number of animals	Eosinophil/Total cell (%) <sup>a</sup>	Total cell concentration (×10 <sup>6</sup> cells/mL)	Eosinophil concentration (×10 <sup>6</sup> cells/mL)
Control (sensitization / challenge)	10	24.3 ± 1.9	25 ± 2 **	5.98 ± 0.22 **
Sensitization / challenge	10	2.3 ± 0.5	6 ± 1	0.13 ± 0.02
100-fold diluted Ance 20 / sensitized antigen	10	24.2 ± 1.8	23 ± 3	5.59 ± 0.94
Ance 20 / sensitized antigen	10	21.9 ± 1.5	21 ± 2	4.62 ± 0.37
100-fold diluted Ance 20	10	30.9 ± 2.9	30 ± 3	9.47 ± 1.36 **
Ance 20	10	24.8 ± 2.5	27 ± 4	6.76 ± 1.32

Each value represents the mean±S.E.

<sup>a</sup>: Statistical analyses were not performed.

\*\* : Significantly different from the sensitization / challenge group by Aspin-Welch t-test, p<0.01

† : Significantly different from the control (sensitization / challenge) group by Student's t-test, p<0.05

‡ : Significantly different from the 100-fold diluted Ance 20 / sensitized antigen group by Student's t-test, p<0.05

#### D. 考察

花粉症における多彩な症状の出現を確認した。呼吸器系の症状はいずれも相関して生じることが分かり、皮膚の症状は女性に多いことも分かってきたので、これらの治療法など今後さらに検討が必要である。

抗原特異的な Th2 の抑制と Th1 の増加免疫療法の効果発現に重要と考えられている。通常の免疫療法でこの作用を増強するには Th1 誘導のアジュバントを使用する方法が考えられ始めている。丸山ワクチンの市販製剤であるアンサ 20 を今回動物実験に使用したが、感作と同時期の投与では Th1 誘導を認めることが出来なかった。感作成立後に投与を始めて Th1 誘導を生じさせられるかどうか、今後の検討である。

#### E. 結論

免疫療法の効果はすでに実証されているが、一般医療として広げるにはさらに副作用を減少させ、治療期間を減少させる必要がある。今回我々は Th1 アジュバントであるアンサ 20 を用いてスギ花粉感動物に投与を行ったが Th2 反応の減少を見る事は出来なかった。方法論を修正しなければならない。花粉症患者で生じる鼻と眼以外の症状の出現を確認し、それらの症状も通常の花粉症治療で抑えられることが分かった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文

1. Okubo K, Gotoh M: Inhibition of the antigen provoked nasal reaction by second-generation antihistamines in patients with Japanese cedar pollinosis. *Allergology International* 55: 261-269, 2006.
2. Okubo K, Ogino S, Nagakura T, Ishikawa T: Omalizumab is effective and safe in the treatment of Japanese cedar pollen-induced seasonal allergic rhinitis. *Allergology International* 55: 379-386, 2006.

International 55: 379-386, 2006.

3. 長谷川雅容、藤倉輝道、滝沢竜太、小山利香、大久保公裕：フルチカゾン点鼻液 50 μg 「サワイ」28 噴霧用プロピオン酸フルチカゾン製剤のスギ花粉症に対する臨床効果。アレルギー・免疫 13, No6: 104-116, 2006.

#### 総説

1. 大久保公裕：免疫療法の実践 2.花粉症・アレルギー性鼻炎。アレルギーの臨床 26.3: 194-200, 2006.
2. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎の QOL. 東京都医師会雑誌 59.3: 11-16, 2006.
3. 後藤穰、大久保公裕：スギ花粉症に対するアレルギー特異的免疫療法の現状と問題点。アレルギー科 21: 13-21, 2006.
4. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎（花粉症）の現状と治療。小児科臨床 59: 1461-1468, 2006.
5. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎の病態と最新治療。クリニカ 33: 219-225, 2006.
6. 大久保公裕：抗 IgE 抗体療法—基礎から臨床まで。医学のあゆみ 216(5): 379-382, 2006.
7. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎におけるガイドラインとは。Q&A でわかるアレルギー疾患 2(5): 404-405, 2006.
8. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎の現状と抗ヒスタミン薬の使用法。小児科 47(8): 1225-1231, 2006.
9. 大久保公裕、後藤穰：Hygiene hypothesis に基づいた抗原特異的免疫療法。Progress in Medicine 26(8): 1829-1832, 2006.
10. 大久保公裕：アレルギー外来の現状 2.耳鼻咽喉科。眼科 48(12): 1781-1788, 2006.
11. 大久保公裕：鼻アレルギーの QOL の評価。耳鼻免疫アレルギー 24 (4): 35-37, 2006.
12. 大久保公裕：小児アレルギー性鼻炎に対するステロイド薬の適応。JOHNS 23(2): 191-194, 2007.
13. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎に対する新しい薬剤。アレルギーの臨床 27(1): 48-33, 2007.

#### 著書

1. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎の重症度と病型に応じた薬物療法。耳鼻咽喉科・頭頸部外科診療のコツと落とし穴。②鼻・副鼻腔疾患。神崎仁編集、pp44-46、中山出版、東京、2006.
2. 大久保公裕：鼻涙管閉塞による涙嚢炎の治療。耳鼻咽喉科・頭頸部外科診療のコツと落とし穴。②鼻・副鼻腔疾患。神崎仁編集、pp126-127、中山出版、東京、2006.

3. 大久保公裕:第4章1花粉症の疫学と発症メカニズム. アレルギー疾患ガイド. アレルギー疾患ガイド編集委員会, pp116-120、中央法規出版、東京、2006.
4. 大久保公裕:1. 花粉症とは - 診断と治療. 花粉症と周辺アレルギー疾患. 斉藤博久監修, pp2-7、診断と治療社、東京、2007.
10. 湯懐鵬、藤田俊夫、波部和弘、大久保公裕、橋口一弘、石川:スギ花粉を用いた暴露システムの開発. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会(東京) 2006.5
11. Tang H, Fujita T, Habe K, Okubo K, Hashiguchi K, Ishikawa T, Okuda M: Development of an artificial exposure chamber system using Japanese cedar pollen. XXV Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology (Vienna). 2006.6

#### 口演発表

1. Okubo K, Okamoto Y, Masuyama K, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Gotoh M: Randomized placebo controlled trial of sublingual immunotherapy for Japanese cedar pollinosis. Symposium 7. Immunotherapy, update and future. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会(東京) 2006.5
  2. 大久保公裕:鼻アレルギー・副鼻腔炎の難治化要因とその対策. シンポジウム2「アレルギー疾患の難治化要因とその対策」第23回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会(富山) 2006.6
  3. 大久保公裕:スギ花粉症と環境. フォーラム5「アレルギー・花粉症・シックハウス症候群」衛生薬学・環境トキシコロジー フォーラム 2006(東京) 2006.10
  4. 大久保公裕:スギ花粉症に対する舌下免疫療法. シンポジウム3「小児アレルギー疾患における免疫調節療法の展望」第43回日本小児アレルギー学会(千葉) 2006.11
  5. 後藤穰、大久保公裕、島田健一、奥田稔:スギ花粉症に対する舌下免疫療法の二重盲検比較試験. シンポジウム5「アレルギー疾患における免疫療法の展望」第56回日本アレルギー学会(東京). 2006.11
  6. 大久保公裕、後藤穰:アレルギー疾患に対する免疫療法. イブニングシンポジウム9「鼻アレルギー - 病態解明と治療の進歩 - 」第56回日本アレルギー学会(東京). 2006.11
  7. 大久保公裕:アレルギー性鼻炎「眼科と他科のインタラクション アレルギー炎症 鼻粘膜と結膜の違いを探る」第110回日本眼科学会(大阪) 2004.4
  8. 大久保公裕:小児アレルギー性鼻炎における最近の話題. 第39回日本小児呼吸器疾患学会(東京) 2006.11
  9. 橋口一弘、湯懐鵬、藤田俊夫、椿茂和、藤田雅巳、越野健、末松潔親、大久保公裕:花粉症調査研究施設(OHIO Chamber)を使用した花粉症状発現に関する探索的研究. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会(東京) 2006.5
  12. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Tsubaki, Fujita M, Koshino T, Suematsu K, Ohkubo K: Preliminary study on Japanese cedar pollinosis in an artificial exposure chamber (OHIO chamber). XXV Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology (Vienna). 2006.6
  13. 須甲松伸、大田健、長谷川真紀、大久保公裕、海老澤元宏、朝比奈昭彦:実地医家向けアレルギー研修会における「アレルギー診療ガイドライン」の認知度と利用度に関する実態調査. 第56回日本アレルギー学会(東京). 2006.11
  14. 指原紀宏、末木奈津子、池上秀二、竹友直生、山地健人、紀光助、後藤穰、大久保公裕:Lactobacillus gasseri OLL2809の好酸球増多抑制効果の検討. 第56回日本アレルギー学会(東京). 2006.11
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
スギ花粉症の診断方法 特願 2006-288853  
2006年10月24日
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

# Omalizumab is Effective and Safe in the Treatment of Japanese Cedar Pollen-induced Seasonal Allergic Rhinitis

Kimihiko Okubo<sup>1</sup>, Satoshi Ogino<sup>2</sup>, Toshikazu Nagakura<sup>3</sup> and Takeru Ishikawa<sup>4</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Seasonal allergic rhinitis (SAR) induced by Japanese cedar pollen is a substantial problem in Japan. Omalizumab, a novel humanized monoclonal anti-immunoglobulin E (IgE) antibody, has already been proven to reduce symptoms associated with SAR. We investigated the safety and efficacy of omalizumab in the treatment of patients with Japanese cedar pollen-induced SAR compared to placebo.

**Methods:** A randomized, placebo-controlled, double-blind study was conducted in 100 Japanese patients with a history of moderate-to-severe SAR induced by Japanese cedar pollens. Omalizumab (150, 225, 300, or 375 mg) or placebo was administered subcutaneously every 2 or 4 weeks based on serum total IgE and body weight at baseline. The primary efficacy variable was the mean of daily nasal symptom medication scores (sum of the daily nasal symptom severity score and daily nasal rescue medication score) during the treatment period. Secondary efficacy variables included the daily ocular symptom medication score and related variables.

**Results:** Primary and all secondary efficacy variable scores were significantly lower in the omalizumab group than in the placebo group ( $P < .01$ ). Serum free IgE levels markedly decreased in the omalizumab group and were associated with clinical efficacy. The overall incidence of injection site reactions was higher in the omalizumab group than in the placebo group; however, the adverse reaction profile was similar between the two groups when excluding injection site reactions. No anti-omalizumab antibodies were detected.

**Conclusions:** Omalizumab was effective and safe in the treatment of SAR induced by Japanese cedar pollen.

## KEY WORDS

anti-IgE antibody, IgE, omalizumab, pollinosis, seasonal allergic rhinitis (SAR)

## INTRODUCTION

Allergic rhinitis, especially Japanese cedar pollen-induced seasonal allergic rhinitis (SAR), is a highly prevalent disease in Japan.<sup>1-3</sup> Twelve percent of the total land in Japan is covered by Japanese cedar. Approximately 20 million people in Japan, who account for about 17% of the population, experience this form of SAR.<sup>3</sup> During the pollen season (February to April), the majority of these patients undergo treatment, *i.e.*, pharmacotherapy with antihistamines and

corticosteroids, specific immunotherapy, folk medicine, and protective measures, such as masks, glasses, caps, and coats, to reduce pollen inhalation or their adhesion to the body.<sup>1</sup> The total direct cost of medical treatments for Japanese cedar pollen-induced SAR is estimated to be at least 120 billion yen (\$1 billion dollars) annually.<sup>4</sup> Furthermore, daily activities and quality of life are reduced during the pollen season due to rhinoconjunctival symptoms or pharmacological side-effects.<sup>5</sup> Thus, SAR induced by Japanese cedar pollen is a substantial social problem in Ja-

<sup>1</sup>The Department of Otorhinolaryngology, Nippon Medical School, <sup>3</sup>The Allergy and Internal Medicine, Yoga Clinic, Tokyo, <sup>2</sup>The Department of Health and Hygiene, Osaka University School of Medicine, Osaka and <sup>4</sup>Professor Emeritus, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto, Japan.

Correspondence: Kimihiko Okubo, MD, PhD, Department of Otor-

hinolaryngology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan.

Email: ent-kimi@nms.ac.jp

Received 9 December 2005. Accepted for publication 17 April 2006.

©2006 Japanese Society of Allergology

pan.

Omalizumab, a recombinant humanized monoclonal anti-IgE antibody, which binds to the serum free IgE molecule and forms small biologically inert complexes, blocks the interaction between IgE and effector cells which trigger the allergic response irrespective of allergen type.<sup>6,7</sup> Circulating free IgE can be reduced up to 99% with omalizumab,<sup>8</sup> thus suppressing the activation of effector cells (e.g., mast cells). Furthermore, an omalizumab-induced reduction in serum-free IgE levels eventually down-regulates FcεRI expression on basophils<sup>8</sup> and mast cells.<sup>9</sup> Down-regulation of the receptor reduces the availability of receptor sites for cross-linking of IgE. Based on this mechanism of action, omalizumab is expected to be effective for type I allergic diseases mediated by allergen-specific IgE antibodies.<sup>10,11</sup> Indeed, omalizumab has already been shown to be effective for birch- and ragweed-induced SAR, perennial allergic rhinitis (PAR), and allergic asthma,<sup>12-19</sup> and is now approved for the treatment of allergic asthma in the United States and Europe.

To investigate the safety and efficacy of omalizumab and to examine the appropriateness of its dose in Japanese patients with SAR, we conducted a randomized, placebo-controlled, double-blind study in Japanese patients with moderate-to-severe Japanese cedar pollen-induced SAR. This was the first clinical trial to treat Japanese SAR patients with omalizumab. On the basis of previous oversea studies, the dose and regimen which we employed in the present study were expected to reduce serumfree IgE levels to below 50 ng/mL, a level which is considered important to gain optimal efficacy.<sup>20</sup>

## METHODS

### STUDY SUBJECTS

Patients who met the following criteria were considered eligible for enrollment: age (20 to 64 years); a history of SAR induced by Japanese cedar pollen in at least 2 consecutive years; presentation of at least 4 of 8 moderate-to-severe symptoms (sneezing, itchy nose, runny nose, stuffy nose, itchy eyes, watery eyes, red eyes, and itchy throat), which persisted for one or more weeks during the last Japanese cedar pollen season; presence of IgE specific to Japanese cedar pollens (CAP-RAST:  $\geq 2+$ ) at baseline; serum total IgE levels of 30 to 700 IU/mL and body weights of 30 to 150 kg at baseline; and no symptoms of allergic rhinitis at 1 month prior to the onset of the screening period.

Patients who had a history of the following were excluded from the study: specific immunotherapy to Japanese cedar pollen in the previous 2 years; severe anaphylactoid or anaphylactic reactions; active or recent development (within 3 months) of any other type of rhinitis; positive reaction to omalizumab at screening; pregnant/nursing women; and serious medical

conditions.

The present study was conducted in compliance with the current good clinical practice, and the protocol was approved by each institutional ethical committee. Prior to the onset of the study, written informed consent was obtained from all the patients who were enrolled.

### STUDY DESIGN

This randomized, placebo-controlled, double-blind study was conducted in two regions of Japan (Tokyo and Osaka) between October 2001 and April 2002 and consisted of a 4-week screening period, a 12-week treatment period, and a 12-week follow-up period after final dosing. Following screening, eligible patients were assigned to receive omalizumab or placebo at a 1 : 1 ratio.

The start day of the Japanese cedar pollen scattering period was defined as the first of 2 consecutive days when  $\geq 1$  grain/cm<sup>2</sup> were counted; the final day of the pollen season was the first of 3 consecutive days when no grain was counted. The peak Japanese cedar pollen scattering period was defined as the span between the first and last days when  $\geq 30$  grains/cm<sup>2</sup> were counted.

### DOSES AND ADMINISTRATION

Omalizumab (150, 225, 300, or 375 mg) or placebo was administered to patients subcutaneously every 2 or 4 weeks based on their serum total IgE level and body weight at baseline. The initial dose was administered at least at 1 month prior to the expected starting date of the Japanese cedar pollen scattering period. Omalizumab or placebo was administered to patients 3 or 6 times in total during the 12-week treatment period.

The following drugs were permitted as rescue medications: for nasal use [clemastine fumarate (tablet), sodium cromoglycate (nose drop), naphazoline nitrate (nose drop)] and for ocular use [sodium cromoglycate (eye drop)]. Concomitant use of agents were prohibited except for rescue medications. Specific immunotherapy was prohibited.

### EVALUATION OF EFFICACY

Patients enrolled were requested to fill in the patient diary in order to describe their seven rhinoconjunctival symptoms (sneezing, itchy nose, runny nose, stuffy nose, itchy eyes, watery eyes, and red eyes) according to the 4-point scale (0: none, 1: mild, 2: moderate, and 3: severe) and to document rescue medication use, if any. Regarding each rescue medication, its usage was scored 1 point regardless of dose and frequency.

The primary efficacy variable was the mean of daily nasal symptom medication scores (DNSMS) during the treatment period. DNSMS (0–15 points) consisted of the sum of the daily nasal symptom severity

score (DNSS) (0–12 points) and the daily nasal rescue medication score (0–3 points).

Secondary efficacy variables included the daily ocular symptom medication score (DOSMS) (0–10 points) [sum of the daily ocular symptom severity score (DOSS) (0–9 points) and daily ocular rescue medication score (0–1 point)]; DNSS; the daily nasal rescue medication score; DOSS; the daily ocular rescue medication score; the consumption per day of rescue medications; and the proportion of days in which any rescue medication was taken.

#### ESTIMATION OF SERUM FREE IgE LEVELS

To investigate the relationship between serum IgE level and efficacy of omalizumab, serum free IgE levels were measured before dosing and at 4 and 12 weeks of the treatment period.<sup>12</sup>

#### EVALUATION OF SAFETY

Adverse events were examined throughout the treatment period. Laboratory tests and check-up of vital signs were conducted during the screening period and at 4 and 12 weeks of the treatment period.

During the screening period and at 12 weeks after final dosing, anti-omalizumab antibodies (IgG isotype) were measured using two solid-phase ELISA methods: one assay was to detect anti-omalizumab Fab responses; and another was to detect anti-omalizumab Fc responses.<sup>12</sup>

#### STATISTICAL ANALYSIS

One hundred patients, assigned to the omalizumab group and the placebo group at a 1 : 1 ratio, were required to detect a 0.30-point difference in the mean DNSMS between treatment groups. This calculation assumed 90% power at a significance level of 0.05, 2-sided, and at a standard deviation of 0.50 for the difference.

Regarding efficacy, the following hypothesis tests were used to examine study group comparability with respect to demographic and baseline characteristics: Fisher's exact test for gender; and Wilcoxon rank sum test for age, history of Japanese cedar pollen-induced SAR, IgE specific to Japanese cedar pollens, and serum total IgE at baseline.

The full analysis set was used to analyze the primary variable (*i.e.*, the mean DNSMS during the treatment period) and to analyze the mean DNSMS during the Japanese cedar pollen scattering period and the peak Japanese cedar pollen scattering period. These comparisons were based on the null hypothesis that there is no difference between the study groups. The mean DNSMS was analyzed using an ANCOVA model which included study group, location, and administration interval (2- or 4-week interval). The least-squares mean (LSM) for each group and the difference in LSM between the study groups were determined. The mean DOSMS, each of symp-

tom severity scores, and each of rescue medication scores were also analyzed similarly to the analysis of the mean DNSMS.

The safety and tolerability of the study drugs are summarized by appropriate descriptive methods.

## RESULTS

### PATIENT CHARACTERISTICS

Ninety-eight of 100 randomized subjects received either of the study drugs: 48 received omalizumab (50 randomized) and 50 received placebo. The remaining two subjects in the omalizumab group withdrew during the screening period due to personal reasons. No significant difference was found between the omalizumab group and the placebo group with respect to patient characteristics (Table 1).

The Japanese cedar pollen scattering period started at the beginning of February and finished at the end of April (Fig. 1). All subjects received the first administration at least at 1 month prior to the starting date of the Japanese cedar pollen scattering period.

Five subjects (three receiving omalizumab and two receiving placebo) discontinued the study prematurely; among them, three (two receiving omalizumab and one receiving placebo) ceased the study due to adverse events.

### EFFICACY

#### Daily Nasal Symptom Medication Score (DNSMS)

Changes in DNSMS over time are shown in Figure 1. DNSMS throughout the Japanese cedar pollen scattering period were consistently lower in the omalizumab group than in the placebo group.

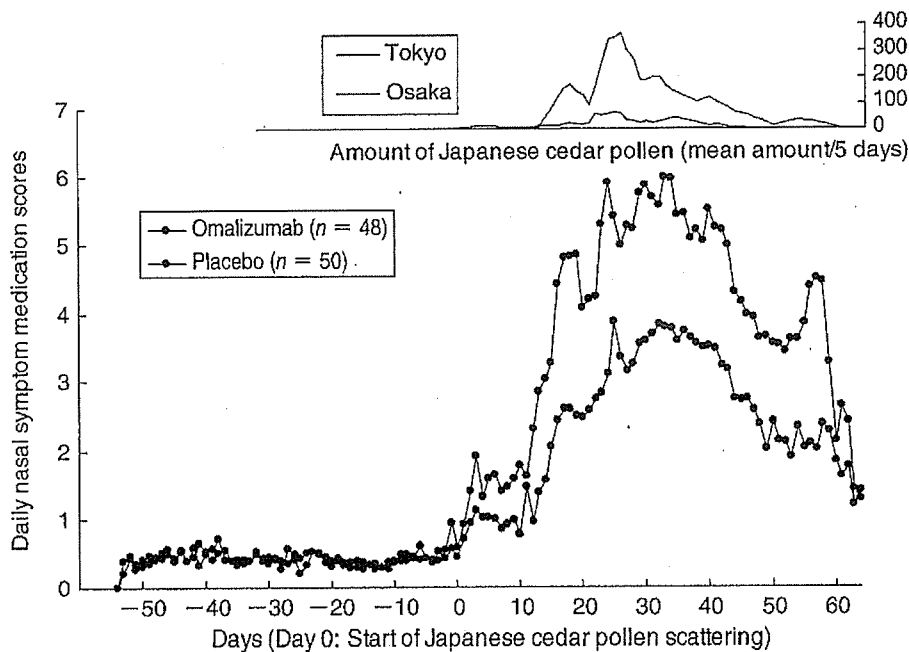
The omalizumab group showed significantly lower mean DNSMS compared to the placebo group during the treatment period [LSM ± (SE), 1.391 ± 0.1769 for the omalizumab group and 2.499 ± 0.1740 for the placebo group;  $P < .001$ ; Figure 2A]. Statistical analyses revealed similar results with respect to the relevant scores during the Japanese cedar pollen scattering period (1.915 ± 0.2267 and 3.528 ± 0.2258, respectively;  $P < .001$ ; Figure 2A) and the peak Japanese cedar pollen scattering period (2.586 ± 0.2907 and 4.511 ± 0.2886, respectively;  $P < .001$ ; Figure 2A). During the Japanese cedar pollen scattering period, subjects with lower mean DNSMS were distributed predominantly in the omalizumab group than in the placebo group, with greater numbers of subjects with scores of 0–1 and >2–4 in the former and latter groups, respectively. About half of subjects in the omalizumab group had a mean DNSMS of ≤ 2 (mild or less severe symptoms) in contrast to 15% in the placebo group. More than 10% of subjects in the placebo group had scores of >6 (severe symptoms) compared to none in the omalizumab group (Fig. 2B).

As shown in Figure 1, the amount of Japanese cedar pollen in Tokyo was larger than that of Osaka

**Table 1** Patient characteristics

	Omalizumab (n = 48)	Placebo (n = 50)
Gender		
Male	25	28
Age (years)		
Mean $\pm$ SD	32.2 $\pm$ 12.1	31.5 $\pm$ 12.3
Range	20-62	20-64
History of SAR induced by Japanese cedar pollens (years)		
Mean $\pm$ SD	11.3 $\pm$ 6.2	9.6 $\pm$ 5.4
Range	4-35	3-26
Specific IgE levels against Japanese cedar pollens (CAP-RAST) *		
Class 2 (0.70-3.49 UA/mL)	3	0
Class 3 (3.50-17.49 UA/mL)	15	12
Class 4 (17.50-49.99 UA/mL)	19	25
Class 5 (50.00-99.99 UA/mL)	8	9
Class 6 ( $\geq$ 100 UA/mL)	3	4
Serum total IgE levels at baseline (IU/mL)		
Mean $\pm$ SD	193.7 $\pm$ 166.6	188.7 $\pm$ 145.8
Range	32.0 $\pm$ 590.0	34.0 $\pm$ 570.0

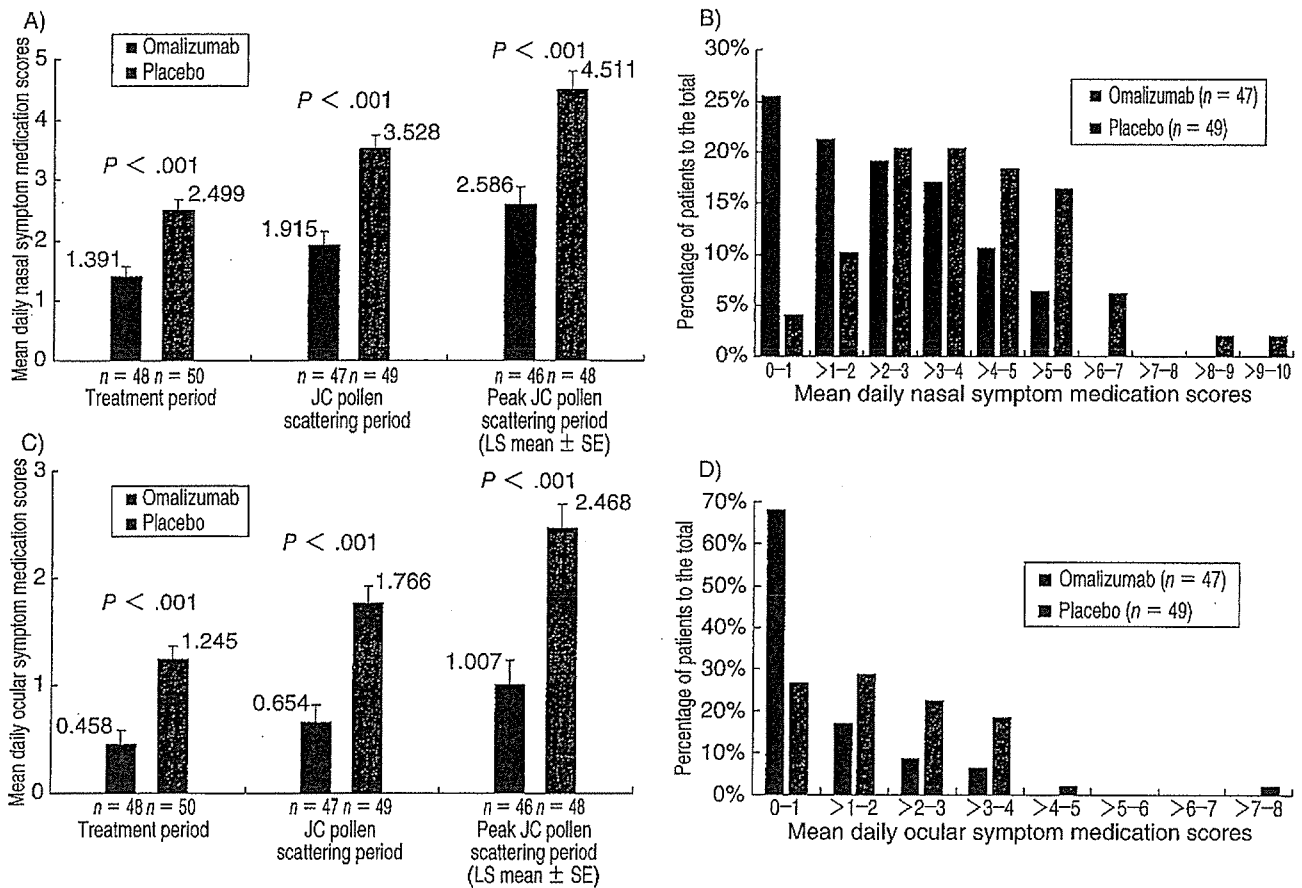
\*: Specific IgE levels against Japanese cedar pollens at baseline were categorized into 7 groups (Classes 0 to 6), and a  $\geq$  class group was assessed to be positive against the allergen.



**Fig. 1** Time-course changes in daily nasal symptom medication score (FAS) and in amount of Japanese cedar pollen. Day 0 represents the start day of the Japanese cedar pollen scattering period in Tokyo and Osaka.

(5648 grains/cm<sup>2</sup> for Tokyo and 913 grains/cm<sup>2</sup> for Osaka). Although in the placebo group as well as in the omalizumab group, the subgroup of Tokyo showed higher mean DNSMS compared to that of Osaka, the mean DNSMS were consistently lower in the omalizumab group than in the placebo group in

Tokyo and Osaka, respectively [Mean  $\pm$  (SE), 3.020  $\pm$  0.2576 and 4.697  $\pm$  0.3390 for Tokyo, 1.141  $\pm$  0.2423 and 2.705  $\pm$  0.2682 for Osaka, the Japanese cedar pollen scattering period]. Statistically, there was no interaction between the treatment group and the region ( $P = .8429$ ).



**Fig. 2** A) Mean daily nasal symptom medication scores (DNSMS) and C) mean daily ocular symptom medication scores (DOSMS) during the treatment period, the Japanese cedar (JC) pollen scattering period, and the peak JC pollen scattering period. Percentages of the total of patients with B) mean DNSMS and D) mean DOSMS during the JC pollen scattering period.

**Daily Nasal Rescue Medication Score**

The mean daily nasal rescue medication scores were significantly lower in the omalizumab group than in the placebo group during the three evaluation periods (e.g.,  $0.055 \pm 0.0503$  and  $0.260 \pm 0.0499$ , respectively;  $P = .002$ , the peak Japanese cedar pollen scattering period).

**Daily ocular symptom medication score (DOSMS)**

The omalizumab group had significantly lower mean DOSMS compared to the placebo group during the treatment period ( $0.458 \pm 0.1248$  and  $1.245 \pm 0.1227$ , respectively;  $P < .001$ ; Fig. 2C). Statistical analyses revealed similar results with respect to the relevant scores during the Japanese cedar pollen scattering period ( $0.654 \pm 0.1675$  and  $1.766 \pm 0.1688$ , respectively;  $P < .001$ ) and the peak Japanese cedar pollen scattering period ( $1.007 \pm 0.2244$  and  $2.468 \pm 0.2228$ , respectively;  $P < .001$ ). During the Japanese cedar pollen scattering period, approximately 70% (32/47) of subjects in the omalizumab group had ocular symp-

tom medication scores of  $\leq 1$  (Fig. 2D).

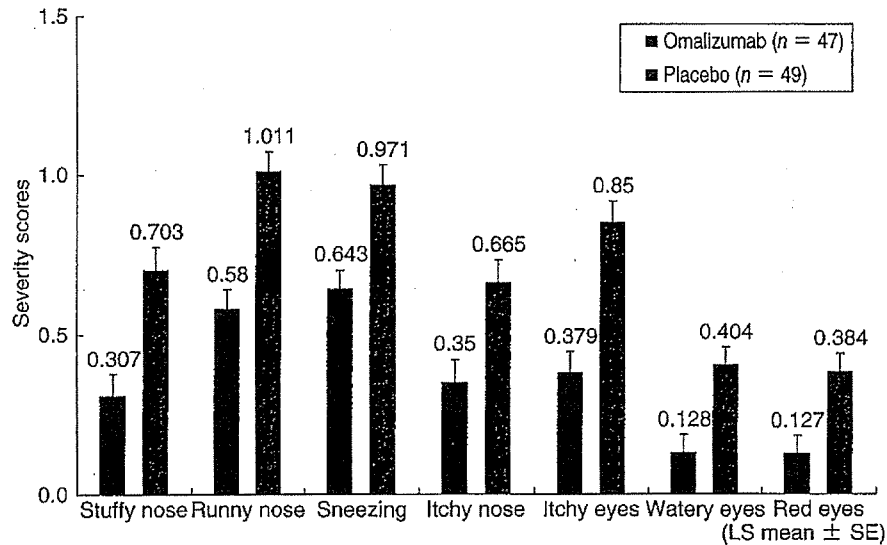
**Daily Ocular Rescue Medication Score**

The mean ocular rescue medication scores were significantly lower in the omalizumab group than in the placebo group during the three evaluation periods (e.g.,  $0.031 \pm 0.0360$  and  $0.191 \pm 0.0357$ , respectively;  $P < .001$ , the peak Japanese cedar pollen scattering period).

**Daily nasal and ocular symptom severity scores (DNSS & DOSS)**

The omalizumab group had significantly lower mean DNSS compared to the placebo group during the three evaluation periods (e.g.,  $1.880 \pm 0.2183$  and  $3.349 \pm 0.2175$ , respectively;  $P < .001$ , the Japanese cedar pollen scattering period). Each of the mean DNSS and DOSS during the three evaluation periods (sneezing, runny nose, stuffy nose, itchy nose, itchy eyes, watery eyes, and red eyes) was significantly lower in the omalizumab group ( $P$  values ranging from  $< .001$  to  $.003$ ; Fig. 3).





**Fig. 3** Effects of omalizumab on each of the mean daily nasal and ocular symptom severity scores (FAS) during the Japanese cedar pollen scattering period ( $P < .001$  for all variables). Statistically significant differences were noted during the treatment period and peak Japanese cedar pollen scattering periods.

### Use of Rescue Medications

The mean consumption per day of each of the three rescue medications [clemastine fumarate (tablet), sodium cromoglycate (nose drop, eye drop)] was significantly lower in the omalizumab group than in the placebo group during the three evaluation periods ( $P$  values ranging from .002 to .017), and naphazoline nitrate (nose drop) tended to show a significant difference in consumption. The proportions of days in which any rescue medication was taken were almost 5-fold higher in the placebo group than in the omalizumab group (e.g., 25.4% and 5.6%, respectively;  $P < .001$ , the peak Japanese cedar pollen scattering period).

### SERUM FREE IgE LEVELS

Serum free (total) IgE levels in the omalizumab group and the placebo group at baseline were at similar levels (Table 1). After administrations, serum free IgE levels in the omalizumab group decreased markedly, compared to the baseline levels to below 50 ng/mL at 4 and 12 weeks of the treatment period in all subjects (range from 6.1 ng/mL to 39.6 ng/mL). In the placebo group, serum free IgE levels were comparable to the baseline levels throughout the treatment period (range from 39.7 ng/mL to 1314 ng/mL).

### SAFETY

Treatment with omalizumab was generally well tolerated. Due to the higher overall incidence of injection site reactions in the omalizumab group, the overall in-

cidences of drug-related adverse events were significantly higher in the omalizumab group than in the placebo group; nevertheless, the adverse reaction profile was similar between the study groups when excluding injection site reactions (Table 2). One serious adverse event (colitis ulcerative) was reported in one subject in the omalizumab group, who was subsequently withdrawn from this study. However, the investigator considered its causality with the drug unlikely. Another subject in the omalizumab group and one subject in the placebo group discontinued treatment because of non-serious adverse events which were not drug-related. There were no anaphylactic reactions, and neither evidence of immune complex disease, nor clinically important abnormalities in vital signs and laboratory tests were found. No anti-omalizumab antibodies were detected.

### DISCUSSION

This randomized, placebo-controlled, double-blind study revealed that omalizumab was generally well tolerated and was effective in preventing and controlling rhinoconjunctival symptoms associated with Japanese cedar pollen-induced SAR and in reducing rescue medication use for rhinoconjunctival symptoms.

Although the amount of Japanese cedar pollen in Tokyo was larger than that of Osaka, the mean DNSMS were consistently lower in the omalizumab group than in the placebo group in Tokyo and Osaka, respectively. Statistically, there was no interaction between the treatment group and the region. Taken to-

Table 2 Drug-related adverse events

	Omalizumab (n = 48)	Placebo (n = 50)
Total number of patients with ADR*	19 (39.6)	10 (20.0)
Gastrointestinal disorders	1 (2.1)	1 (2.0)
Colitis ulcerative	1 (2.1)	0
Diarrhea	0	1 (2.0)
General disorders and administration site conditions	13 (27.1)	5 (10.0)
Injection site*		
Erythema	7 (14.6)	2 (4.0)
Induration	1 (2.1)	1 (2.0)
Edema	8 (16.7)	1 (2.0)
Pain	2 (4.2)	1 (2.0)
Pruritus	2 (4.2)	0
Feeling hot	1 (2.1)	0
Fatigue	0	1 (2.0)
Pain	1 (2.1)	0
Fever	0	1 (2.0)
Nervous system disorders	0	2 (4.0)
Headache	0	2 (4.0)
Skin and subcutaneous tissue disorders	1 (2.1)	2 (4.0)
Dry skin	1 (2.1)	0
Rash	0	1 (2.0)
Face edema (lip swelling)	0	1 (2.0)
Investigations	4 (8.3) #1	4 (8.0) #2

\* :  $P < .05$ ; ↑ : increased; ↓ : decreased

#1: Bilirubin ↑ (1), neutrophil ↓ (1), WBC ↓ (1), WBC ↑ (2)

#2: GPT ↑ (1), eosinophil ↑ (2), lymphocyte ↓ (1), WBC ↑ (1)

gether, regardless of the amount of Japanese cedar pollens, omalizumab would be more effective against SAR.

Our results indicate that subjects treated with omalizumab not only had significantly less severe nasal and ocular symptoms, but also required significantly less rescue medication compared to subjects receiving placebo. In addition, we conducted a double-blind controlled study using a competing anti-allergy drug in the next Japanese cedar pollen scattering period, *i.e.*, from February to April 2003. The results showed that omalizumab had significantly lower nasal symptoms and consumption of rescue medications than the competitor (data not shown). Our results suggest that monotherapy with omalizumab at a 2- or 4-week interval can control both nasal and ocular symptoms, thus simplifying SAR therapy.

The omalizumab regimen in the present study was considered appropriate also for Japanese patients with SAR because the regimen successfully decreased serum free IgE levels to below 50 ng/mL, providing proper clinical efficacy, in contrast to the results obtained in foreign studies.

In the omalizumab group, all adverse events except for one (colitis ulcerative) were mild or moderate in severity. The most frequently observed drug-related adverse event in the omalizumab group and the placebo group were injection site reactions, with a sig-

nificantly higher overall incidence in the former; however, the adverse reaction profile was similar between the two groups when excluding the incidences of injection site reactions. No clinically important abnormal values in laboratory tests or vital signs were reported; no anti-omalizumab antibodies were detected. Furthermore, no cases of anaphylaxis were reported. Therefore, the safety profile of omalizumab in the treatment of SAR seems favorable.

To determine whether omalizumab could consistently provide safety and efficacy in the subsequent season, we conducted an open-label study in the next Japanese cedar pollen scattering period, *i.e.*, from February to April 2003, in order to administer omalizumab to the same subjects who had received the drug in the present study. Consequently, the open-label study revealed no serious adverse events at all and was comparable to the present study with respect to both efficacy and safety (data not shown).

The site of action of omalizumab is localized in free IgE in the circulation, probably local tissues. Omalizumab forms small biologically inert immunocomplexes with free IgE and blocks the interaction between IgE and FcεR which is expressed on the surface of target cells. Additionally, decreases in free IgE levels in microenvironments around mast cells and dendritic cells have been proven to induce the down-regulation of FcεRI expression on the cell surface;<sup>9,21</sup>

the relevant down-regulation is noteworthy because it provides a clinical benefit of possibly reducing the reactivity of mast cells. B lymphocyte apoptosis, the inhibition of IgE production by B lymphocytes,<sup>22,23</sup> and the inhibition of Th2 cytokine production<sup>24</sup> may also be induced by omalizumab treatment. A significant decrease in serum free-IgE levels induced by omalizumab only resembles the transient knockout of IgE because it recovers in a few months after the completion of administration.<sup>12</sup> Considered comprehensively, omalizumab may be potentially beneficial for SAR patients in the clinical settings because it strategically targets sites upstream from the allergic reaction cascade.

Other studies have shown the efficacy of omalizumab for SAR induced by ragweed or birch pollens.<sup>12-14</sup> Recently, its efficacy in perennial allergic rhinitis (PAR)<sup>15</sup> has also been reported. Thus, omalizumab has also clinically been proven to be effective for allergic rhinitis regardless of allergen type and clinical entity. Furthermore, omalizumab induces a non-anaphylactogenic condition, and its combination with specific immunotherapy effectively suppresses enhanced immune responsiveness of patients to a particular allergen and also enhances the efficacy of specific immunotherapy.<sup>25</sup>

In conclusion, omalizumab was well tolerated and effective in preventing and controlling symptoms and in reducing rescue medication use in patients with moderate-to-severe Japanese cedar pollen-induced SAR. Therefore, omalizumab represents a new promising therapeutic modality for patients with SAR induced by Japanese cedar pollens.

## REFERENCES

1. Establishment committee of the clinical guideline for allergic rhinitis (2002). [Clinical guideline for allergic rhinitis in Japan.]. *Perennial and seasonal allergic rhinitis*, 4th edn. Tokyo: Life Science Medica, 2002 (in Japanese).
2. Konno A. [Investigation of evaluation of various treatment against pollinosis based on scientific evidence.] *The report of Japanese Ministry of Health and Welfare scientific research for sensory organ impairment and immunoallergy*. 2001 (in Japanese).
3. Okuda M. Epidemiology of Japanese cedar pollinosis throughout Japan. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003; **91**:288-296.
4. Kawaguchi T, Hoshiyama Y, Watanabe Y. Cost of cedar pollinosis. *The Allergy in Practice* 2001; **273**:178-182 (in Japanese).
5. Okubo K, Gotoh M, Shimada K et al. Fexofenadine improves the quality of life and work productivity in Japanese patients with seasonal allergic rhinitis during the peak cedar pollinosis season. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2005; **136**:148-154.
6. Ishizaka T, Ishizaka K. Activation of mast cells for mediator release through IgE receptors. *Prog. Allergy*. 1984; **34**:188-235.
7. Presta LG, Lahr SJ, Shields RL et al. Humanization of an antibody directed against IgE. *J. Immunol.* 1993; **151**:2623-2632.
8. MacGlashan DW Jr, Bochner BS, Adelman DC et al. Down-regulation of FcεRI expression on basophils during in vivo treatment of atopic patients with anti-IgE antibody. *J. Immunol.* 1997; **158**:1438-1445.
9. Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D Jr, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell FcεRI expression and function. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; **114**:527-530.
10. Kolbinger F, Saldanha J, Hardman N, Bendig MM. Humanization of a mouse anti-human IgE antibody: a potential therapeutic for IgE-mediated allergies. *Protein Engineering* 1993; **6**:971-980.
11. Heusser CH, Wagner K, Bews JPA et al. Demonstration of the therapeutic potential of non-anaphylactogenic anti-IgE antibodies in murine models of skin reaction, lung function and inflammation. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1997; **113**:231-235.
12. Casale TB, Bernstein L, Busse WW et al. Use of an anti-IgE humanized monoclonal antibody in ragweed-induced allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997; **100**:110-121.
13. Ådelroth E, Rak S, Haahtela T et al. Recombinant humanized mAb-E25, an anti-IgE mAb, in birch pollen-induced seasonal allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; **106**:253-259.
14. Casale TB, Condemi J, LaForce C et al. Effect of omalizumab on symptoms of seasonal allergic rhinitis. A randomized controlled trial. *JAMA* 2001; **286**:2956-2967.
15. Chervinsky P, Casale T, Townley R et al. Omalizumab, an anti-IgE antibody, in the treatment of adults and adolescents with perennial allergic rhinitis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003; **91**:160-167.
16. Milgrom H, Fick RB, Su JQ et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. *N. Engl. J. Med.* 1999; **341**:1966-1973.
17. Soler M, Matz J, Townley R et al. The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerbations and steroid requirement in allergic asthma. *Eur. Respir. J.* 2001; **18**:254-261.
18. Busse W, Corren J, Lanier BQ et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; **108**:184-190.
19. Milgrom H, Berger W, Nayak A et al. Treatment of childhood asthma with anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab). *Pediatrics* 2001; **108**:1-10.
20. Hochhaus G, Brookman L, Fox H et al. Pharmacodynamics of omalizumab: implications for optimised dosing strategies and clinical efficacy in the treatment of allergic asthma. *Curr. Med. Res. Opin.* 2003; **19**:491-498.
21. Prussin C, Griffith DT, Boesel KM, Lin H, Foster B, Casale TB. Omalizumab treatment downregulates dendritic cell FcεRI expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; **112**:1147-1154.
22. Chang TW. The pharmacological basis of anti-IgE therapy. *Nature Biotechnology* 2000; **18**:157-162.
23. Shields RL, Whether WR, Zioncheck K et al. Inhibition of allergic reactions with antibody to IgE. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1995; **107**:308-312.
24. Coyle AJ, Wagner K, Bertrand C, Tsuyuki S, Bews J, Heusser C. Central role of immunoglobulin (Ig) E in the reduction of lung eosinophil infiltration and T helper 2 cell cytokine production: inhibition by a non-anaphylactogenic anti-IgE antibody. *J. Exp. Med.* 1996; **183**:1303-1310.
25. Kuehr J, Brauburger J, Zielen S et al. Efficacy of combination treatment with anti-IgE plus specific immunotherapy in polysensitized children and adolescents with seasonal allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002; **109**:274-280.

# Inhibition of the Antigen Provoked Nasal Reaction by Second-generation Antihistamines in Patients with Japanese Cedar Pollinosis

Kimihiko Okubo<sup>1</sup> and Minoru Gotoh<sup>2</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Epinastine hydrochloride and fexofenadine hydrochloride, the second-generation antihistamines, are largely used in the indication of allergic rhinitis in Japan. The purpose of this study was to compare the protective efficacy of epinastine hydrochloride or fexofenadine hydrochloride using a nasal provocation test with Japanese cedar pollen allergen.

**Methods:** A single-dose, placebo-controlled, single-blind crossover clinical study was conducted in patients with Japanese cedar pollinosis. The pollen exposure was done by the antigen provocation by disc method and involved repeated provocation five times per day.

**Results:** Among the active agents studied—epinastine hydrochloride and fexofenadine hydrochloride—epinastine hydrochloride significantly decreased the number of sneezing attacks and the quantity of nasal discharge for 3 hours after drug administration compared with placebo, a finding supported by the quantity of nasal discharge in the nasal findings. In this study, fexofenadine hydrochloride showed no significant difference compared with placebo.

**Conclusions:** This study demonstrates better protection with epinastine hydrochloride than with fexofenadine hydrochloride or placebo in a nasal provocation test with Japanese cedar pollen allergen.

## KEY WORDS

allergic rhinitis, epinastine hydrochloride, fexofenadine hydrochloride, nasal provocation, rhinoscopy

## INTRODUCTION

Pollinosis is seasonal allergic rhinitis due to pollen antigens, and its prevalence is high enough to be called a national disease in Japan. Among the many pollen antigens, Japanese cedar pollinosis is the most common.<sup>1</sup> Government policies after World War II led to the planting of Japanese cedar trees, and the area planted with Japanese cedar trees began to increase in the late 1960's. In the early 1970's, the number of patients increased rapidly, and currently 10–20% of the Japanese population suffers from Japanese cedar pollinosis, as has been reported in several studies.<sup>2</sup>

In the treatment of pollinosis, second-generation antihistamines are used as initial therapy to inhibit the hypersensitivity reaction caused by repeated antigen exposure.<sup>3</sup> The Practical Guideline for Management of Allergic Rhinitis states that these agents are the first-line agents of choice for the treatment after onset of symptoms such as sneezing and rhinorrhea, and thus are an essential component of pollinosis therapy.<sup>4</sup> Presently, several second-generation antihistamines are marketed with the allergic rhinitis indication. To provide objective information concerning drug selection, various studies to evaluate efficacy are being conducted in the form of clinical studies in the field,<sup>5</sup> studies in environmental exposure units,<sup>6</sup> anti-

<sup>1</sup>Departments of Otorhinolaryngology and Head/Neck Surgery, Nippon Medical School, Tokyo and <sup>2</sup>Department of Otorhinolaryngology, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital, Chiba, Japan.

Correspondence: Kimihiko Okubo, M.D., Ph.D., Department of Otorhinolaryngology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi,

Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan.

Email: ent-kimi@nms.ac.jp

Received 28 September 2005. Accepted for publication 24 January 2006.

©2006 Japanese Society of Allergology