

- controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 184-91.
- 18) Christensen HR, Frokiaer H, Pestka JJ. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J Immunol* 2002; 168: 171-8.
- 19) Hart AL, Lammers K, Brigidi P, Vitali B, Rizzello F, Gionchetti P, et al. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* 2004; 53: 1602-9.
- 20) Ibnou-Zekri N, Blum S, Schiffrin EJ, von der Weid T. Divergent patterns of colonization and immune response elicited from two intestinal Lactobacillus strains that display similar properties in vitro. *Infect Immun* 2003; 71: 428-36.

### ASSOCIATION OF CONSUMPTION OF FERMENTED MILK PRODUCTS WITH ALLERGEN SENSITIZATION AND PREVALENCE OF ALLERGIC DISEASES IN CHILDREN IN AN URBAN AREA OF JAPAN

Yoichi Suzuki<sup>1)</sup>, Yoichi Mashimo<sup>1)</sup>, Hiroki Inoue<sup>1)</sup>, Makiko Funamizu<sup>1)</sup>, Naoki Shimojo<sup>2)</sup>, Yoichi Kohno<sup>2)</sup>, Yoshitaka Okamoto<sup>3)</sup> and Akira Hata<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Public Health, Chiba University Graduate School of Medicine

<sup>2)</sup>Department of Pediatrics, Chiba University Graduate School of Medicine

<sup>3)</sup>Department of Otolaryngology, Chiba University Graduate School of Medicine

**Background:** Dietary interventions as a mean for prevention of atopic diseases attract great interest. Some studies showed that fermented milk consumption was protective against atopy and atopic diseases.

**Methods:** A cross sectional study including 472 elementary school children was carried out in an urban area of Japan. Questionnaires including consumption of yogurt, fermented milk or fermented soybean foods (Natto) and those for prevalence of allergic diseases were completed. Total IgE, specific IgE to house dust mite, Japanese cedar pollen, cat dander, Orchard grass, egg white, and *Alternaria alternata* were measured in serum.

**Results:** When children were stratified into four groups according to the amount of yogurt and/or fermented milk consumption per week (no, low, intermediate, high), positive rates of mite and grass specific IgE were higher in the high consumption group. Compared to no-consumption group, odds ratios (OR) (95% confidence interval (CI)) for mite and Japanese cedar pollen specific IgE were 2.20, (CI:1.11-4.40), and 2.14 (CI:1.07-4.30), respectively. Positive rate of egg white specific IgE was higher in low (OR:5.08, CI 1.68-15.37), intermediate (OR:6.45;CI:2.21-18.89), and high-consumption groups (OR: 3.50;CI:1.15-10.63). Prevalence of asthma in the intermediate-consumption group was significantly lower than that in the no-consumption group (OR:0.21;CI:0.05-0.83). Consumption of fermented soybean foods was associated with *Alternaria* specific IgE (OR:3.24;1.28-8.20) but not associated with prevalence of any allergic diseases.

**Conclusion:** These findings suggest that consumption of fermented milk affects allergic sensitization for some allergens and development of asthma. The relationship between amounts of consumption and sensitization/disease development may not be simple.

## トピックス2 アレルゲン免疫療法の新規アプローチ： 舌下免疫療法と Th1 アジュバントワクチン

千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

岡本 美孝

**Key words:** BCG vaccine — CpG vaccine — sublingual immunotherapy

### はじめに

千葉大学耳鼻咽喉科アレルギー外来で、1975～1995年に治療を受けたアレルギー性鼻炎患者のうち、連絡が取れた480名に再診を依頼したところ177名が応じた。現在の症状と以前のカルテを比較し、さらに、血液検査、皮内テストを行った。その結果、通年性アレルギー性鼻炎と比較してスギ花粉症の症状の改善が少なく、さらに成人と比較して小児での改善が不良なことが認められた。特に小児では花粉症も通年性アレルギー性鼻炎も平均15～17年の経過で症状の改善率は20～30%にしか認められていなかった。しかし、抗原特異的免疫治療を2年以上行った患者での改善率は高く、特に成人通年性アレルギー性鼻炎では50%以上に症状の消失がみられていた(n=31, 平均16年経過)。小児でも軽度以上の改善効果は70%の免疫療法を受けていた患児に認められていた(n=72, 平均17年経過)。ただし、IgE抗体の陰性化は治療の内容に関わらずほとんど認められず、一方で抗体陽性でも症状消失者は多く認められた。アレルギー性鼻炎、特にスギ花粉症の自然改善は15～20年の経過でもても少なく、一旦産生されるようになったIgE抗体は長期に産生が継

続する。特に小児期に発症したアレルギー性鼻炎患児の多くは、自然改善がないまま成人に移行してしまう。IgE産生のメモリー機構は長期に持続するが、臨床症状の改善をはかるなら現状では免疫療法が期待される<sup>1)</sup>。免疫治療はアレルギー性鼻炎のみではなく、喘息も対象となるが、現在様々な新規の免疫療法の評価が進んでいるアレルギー性鼻炎を中心に概説する。

### 抗原特異的免疫療法(減感作療法)の問題点

患者負担が大きい。現行の皮下投与方法では2年以上の治療期間でその間50回以上の通院をする必要がある。また、頻度は少ないと言いつつ副作用がみられ、喘息発作は1000～2000回に1回、重篤な致命傷にもなる全身アナフィラキシーは200万回の注射で1回生ずるとされている。実際の投与にあたっては、注射後30分は医師の監視下に置き、ショックなどの反応出現に備えておく準備が必要である<sup>2)</sup>。この患者負担の大きさから、減感作療法は有効性が示され、かつ国内外のガイドラインで推奨されているにもかかわらず、実際には実施する医療機関や受ける患者は減り続けている。加えて奏功機序が十分に解明されておらず、有効性を示すバイオマーカーが不明といった点も

利益相反 (conflict of interest) に関する開示：著者は本論文の研究内容について他者との利害関係を有しません。

SUBLINGUAL IMMUNOTHERAPY AND TH1 ADJUVANT IMMUNOTHERAPY

Yoshitaka Okamoto

Department of Otorhinolaryngology and Head & Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University

岡本美孝：千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 [〒260-8670 千葉市中央区支鼻1-8-1]

大きい。

### 舌下粘膜投与による抗原特異的免疫療法

花粉症に対して従来の抗原の皮下注射による抗原特異的免疫療法に替わる方法として抗原の粘膜投与が検討されている。経口、経鼻免疫といった方法が検討されてきたが、最も注目されているのは舌下免疫療法である。舌裏面に抗原の保存をほかり、口腔底粘膜を利用した粘膜投与であり、抗原をパンに染みこませたり、専用の保持材料も開発されている。舌下減感作療法に関する研究は、これまでヨーロッパで主に行われ、100を超える臨床試験の報告がみられ、特に南ヨーロッパで盛んに治療が行われている。米国ではFDAの正式な認可はないが、舌下減感作療法に対する関心は高まっており、FDAの許可を得た臨床試験が行われている。

#### ①投与量、回数、期間

月当たりの投与量は従来の皮下投与に用いられた抗原量の0.017~500倍の濃度で検討が行われている<sup>31-50</sup>。また、投与回数についても連日から週1回、週3回と様々である。投与量を比較したランダム化試験は少ないが、いずれも高い濃度での有効性を示している。投与回数、投与期間の比較を行った報告も少ないが、ダニ抗原(Dep1)1日1回1滴(6 $\mu$ g)連日投与と1回5滴週3回とを比較した報告では連日投与の有効性を認めている。最近では連日投与の安全性、有効性を示したものが多<sup>718</sup>。

一方、投与期間についても2カ月から5年と様々であり、投与期間の比較を行った検討では小児ダニアレルギー性鼻炎および喘息合併例を対象としたオープン試験で、6カ月投与で改善なく、12カ月投与でいずれの疾患にも有効性を示した、という報告や、やはりオープン試験で3年間の投与で確認されたというもの<sup>9</sup>。ランダム化試験では2年以上の投与が必要といったものがある。投与期間については特に花粉症では花粉飛散前投与、飛散中投与、飛散前ならびに飛散中投与、通年投与と様々な投与方法での検討が報告されているが、比較試験は少なく、Di Rienzoら<sup>10</sup>の花粉症患者

の飛散前と飛散中ならびに飛散中投与の比較試験では、飛散前ならびに飛散中投与により高い有効性を認めている。最近のDurhamらの報告は季節前8週間以上の投与を推奨している<sup>11</sup>。

さらに、実際の舌下減感作療法では2~3分間舌裏面に含んだ後に吐き出すspit法と飲み込んでしまうswallow法がある。抗原の有効利用といった面からはswallow法が望ましいといった指摘もあるが<sup>12</sup>、有効性の違いの比較検討は行われていない。

このように舌下減感作療法については様々な抗原濃度、投与回数、投与期間、投与形態で検討が行われているが、最適抗原濃度、投与方法についての十分なコンセンサスを得るに至っていない。ただ、最近では口内でなめて溶かすドロップの剤形で連日投与を用いた臨床試験の報告が多く見られている<sup>718</sup>。

#### ②臨床効果について

これまで100を超える臨床効果についての報告が見られる。臨床効果の評価は、患者のアレルギー日記からの症状スコア、薬物スコア、現状・薬物スコア、あるいはVASやQOL調査票を用いて行われている。このうち二重盲検プラセボ比較試験、あるいはランダム化試験も多数有り、多くは舌下減感作療法1年目の効果を評価している。有効性を示したものが多<sup>13</sup>が、症状スコア、薬物スコアのいずれもが、プラセボ対象と比較して差を認めなかったとする報告も3割程度はみられるが<sup>13</sup>。小規模な検討も多く試験内容の吟味も必要である。

2年以上行った検討試験は多くないがVoltoliniら<sup>14</sup>は飛散前ならびに飛散中投与(Bet v1)で、1年目のみの治療群に比較して2年目投与を行ったものは有効性が高かったとしている。いずれにせよ、異なった抗原、異なった抗原投与量、投与方法、期間などで一定の関連は明らかになっていない。

#### ③皮下注射による従来の減感作療法との有効性の比較について

いくつかの報告があるが、結果は一定していない<sup>15-18</sup>。アルテルナリアを用いた減感作療法の検討では舌下減感作療法の有効性が高かったという

報告<sup>16)</sup>、カモガヤ花粉を用いた臨床試験では皮下注射による方がより高い有効性を認めた<sup>17)</sup>、あるいは同じく花粉症で臨床的にはいずれも有効であったが、皮膚テストの改善、血清特異 IgG 抗体の上昇は皮下注射法のみで認めた<sup>18)</sup>、などの報告があるが一定していない。

#### ④他抗原に対する新たな感作出現の抑制について

検討した報告は少ないが、コントロールと比較しても舌下減感作療法を受けた患者では新たな抗原感作の発現に差を認めなかった<sup>19)</sup>、とするもの、オープン試験ではあるが、302症例の約2年半の検討で新たな皮膚テスト陽性反応の出現は舌下減感作療法群 5.9%、非舌下減感作療法群 38%と舌下減感作療法による抑制を認めたとする報告もある<sup>20)</sup>。また、喘息発症への影響に関して113例の花粉症児童(5~14歳、平均7.7歳)を舌下減感作療法実施例と対応治療群にランダムに分けた検討で花粉シーズンだけの3年間の舌下減感作療法は有意に喘息発症を抑制したとするものがある<sup>21)</sup>。

#### ⑤舌下減感作療法による免疫反応について

舌下減感作療法の期間は様々であるが種々の検討が行われている。血清中の ECP の減少、血清中 ICAM-1、E-selectin、IL-2R、IL-12 の変化は明らかではない<sup>22)</sup>、鼻粘膜や結膜中の ICAM-1 発現低下、鼻汁中 tryptase の増加抑制、炎症細胞浸潤低下が指摘されている<sup>6)23)24)</sup>。IL-10 については血清中の変化は報告がないが、3年以上ハウスダスト・ダニによる舌下減感作療法を受けた患者の末梢血単核球の PHA、カンジタ刺激による IL-10 産生が非舌下減感作療法例と比較して増加したといった指摘もある<sup>25)</sup>。一方、最近の報告は、舌下免疫療法による IL-10 を産生する調節性 T 細胞 (Treg-1) の誘導を示す報告が注目されている<sup>26)27)</sup>。しかし、少なくとも末梢血中でこのような調節 T 細胞の検出は容易ではなくコンセンサスが得られたとは言い難い。

血清抗原特異的 IgG4 抗体価は舌下減感作療法開始後 12 カ月程度まで増加し、以後プラトーに達するとされ、投与抗原濃度との関連が示されているが、投与期間との関連は明らかではない。その意義と臨床効果との関連は不明である。血清抗原

特異的 IgE 抗体価については、高濃度抗原による舌下減感作療法では 6 カ月ぐらいまで上昇し、以下再び開始前値に戻る、低濃度抗原を用いた場合には変化がないといったものが多い<sup>9)28)29)</sup>。ただし、変化を認めないとする報告もある。

ブリック法による皮膚テストへの影響が検討されているが、一般に高濃度抗原を長期間使用した舌下減感作療法では変化を認めても低濃度抗原使用やシーズン中の投与のものでは変化は認められていない。鼻粘膜抗原誘発に関しては、閾値の上昇を認めたとする報告が多いが、変化がなかったとする報告もある<sup>14)22)</sup>。

#### ⑥舌下減感作療法の副作用について

副作用の評価についてはこれまで多数の報告があるが、死亡につながる恐れのあるアナフィラキシーの報告はない。副作用の多くは口内の軽度の違和感や腫脹で治療も必要とせず、減感作継続可能であるが<sup>31)35)</sup>、なかには舌下減感作療法との関連が示唆される重篤な副作用が報告されている<sup>36)</sup>。喘息発作、腹痛、嘔吐、口内腫脹、全身のじんま疹などで、喘息の 1 例は入院治療を必要としたとされる。正確な副作用の頻度は不明であるが、全身的な副作用は 1 万回の投与で 6 回程度の頻度とされる。実態は必ずしも明らかではない。

また、重症喘息患者を対象にした検討は十分行われておらず、適応は現在のところ難しい。

### スギ花粉エキスをを用いたランダム化試験

我が国特有といえるスギ花粉症に対する免疫治療の有効性について、これまで従来の皮下注射による方法も含めてランダム化試験は残念ながら全く行われていない。現在、スギ花粉症に対しては、皮下注射で用いられているスギ花粉エキス(トリイ<sup>®</sup>)しかないが、本エキスを用いて、スギ花粉症に対する舌下免疫療法の有効性を検討するランダム化比較試験を行った<sup>27)</sup>。花粉暴露量を一定にするための対象は千葉市近郊に在住する成人スギ花粉症ボランティア 67 名で、2005 年 10 月よりスギ花粉エキス(実薬群)あるいは inactive placebo(偽薬群)を投与した。実薬、偽薬を 2:1 で振り分けた盲検法により、投与は 2 分間舌下に保持し

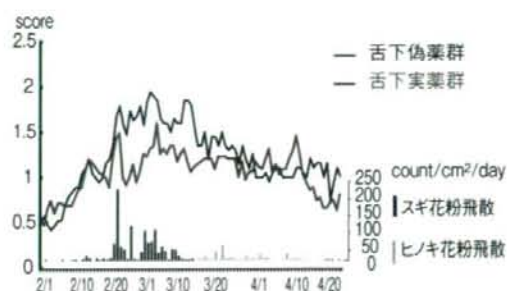


図1. スギ花粉症患者ボランティア67名を対象に行ったスギ花粉エキス(トリイ)を用いたランダム化試験. スギ, ヒノキ花粉飛散と症状・薬物スコアを示す(文献37改編).

ヒノキ花粉飛散期には実薬, 偽薬群でスコアに差は認めない.

て吐き出す spit 法を用いた. spit 法を用いたのはこれまでスギ花粉症に対する舌下免疫療法の安全性が確認されていなかったためであり, 1JAU/回の投与より開始して1カ月で維持量1000JAU/回として以後週1回で4月末まで投与を行い, アレルギー日記よりスギ花粉飛散時期の症状, 及び薬物スコアを調査した. 従来の皮下注射法では200 JAU 0.2ml を維持量としていたが, 維持期の月あたりのエキスの投与量として300倍に設定した. また, 試験開始直前, 花粉飛散直前(2006年1月), 投与終了後(2006年5月)に採血を行い, スギ, ヒノキ花粉特異的 IgE 抗体, 特異的 IgG4 抗体, 総 Th1/Th2 細胞, Cry j 特異的 Th2 (IL-4) メモリー細胞を測定した.

4名が個人的理由で脱落したが, 重篤な有害事象は認められなかった. 2006年の千葉市でのスギ, ヒノキ花粉飛散数を図1に示すが, スギ花粉飛散は2月中旬に始まり, 3月中旬に終息, 以後はヒノキ花粉飛散が始まり4月中旬まで続いた. 症状・薬物スコアの検討からスギ花粉飛散ピーク時には有意に実薬群でスコア値が低値を示した. 副作用として口の中のがみ, かゆみ, じんま疹様の湿疹などが実薬群の13名に出現したがいずれも一過性で投与の継続は可能で再発もみられず, 因果関係は不明であった. これらの結果はスギ花粉症に対しても, 舌下減感作療法の安全性と有効

性を示唆するものであった.

一方, 血中 IgE 値, 総 Th1/Th2 細胞に2群間に差はみられなかったが, 血中の Cry j 特異的 IgG4 抗体は実薬群のみで上昇がみられた. Cry j 特異的 Th2 (IL-4 産生) 細胞は, 季節性変動を示すことを以前確認しており<sup>38)</sup>, 偽薬群では確かにスギ花粉飛散後に飛散前と比較して増加がみられた. しかし, 実薬群では増加は認められず(図2), 免疫療法の作用機序と関連も考えられる. 現在, 約120名のスギ花粉症を対象とした2年間の舌下免疫療法の二重盲検試験が2006年秋から進められており, 有効性と同時にバイオマーカーの検索を目的としている. さらに今後は投与抗原量, 濃度, 投与間隔, 投与期間, 投与方法(spit? swallow?)について詳細な検討が必要である. 特に, 用法変更に関する薬事法の規定から現行のエキスは2000 JAU/ml が最高濃度でこれ以上のものは使用ができないが, より高濃度のエキスを用いた臨床試験が言うまでもなく必要である.

### Th1 アジュバントワクチン

**CpG アジュバントワクチン:** 微生物由来 DNA に存在するが, 哺乳類には存在しないメチル化されていない AACGTT といった CpG の配列は, Th1 型免疫反応の誘導能があり NK 細胞, 樹状細胞, T 細胞などを活性化し, IFN や IL-12 の産生を促進する. このような Th1 型細胞反応を誘導することを期待して抗原遺伝子を組み込んで, プラスミド DNA と投与する, いわゆる DNA ワクチン療法, あるいは CpG アジュバントとしてアレルギーに結合させて投与する CpG アジュバント療法が検討されている<sup>39)</sup>. 前者はヒトでの検討は, ハードルは高いが, 後者のアジュバント療法はすでにブタクサ主要抗原である Amb a 1 に結合させてヒトに投与する臨床試験が米国で行われている. IgE 抗体と抗原との結合も阻害することでアレルギー性の低下から安全性の向上も期待された. 2006年に発表されて Phase 2 試験の結合では, 二重盲検投与による25例の解析で花粉飛散前6回の投与により高い臨床効果と IgE 抑制が翌年まで持続したとされ注目を集めたが<sup>40)</sup>, 現在第3相

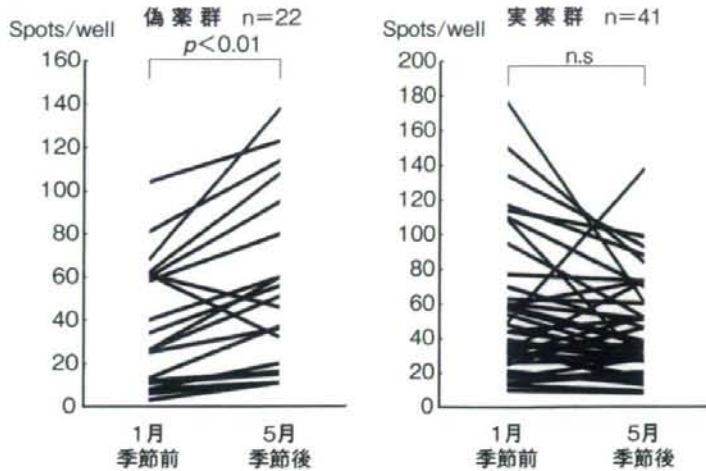


図2. Cry j 特異的 IL-4 産生メモリー細胞数のスギ花粉飛散期前後の比較 (文献 37 改編).

試験は中止、延期となっている。詳細は不明である。国内でもスギ花粉症に対して検討されているが、臨床開発は特許や開発資金の問題から全く進んでいない。自己免疫疾患誘導などの副作用の可能性、有効性などについての検討の持続が望まれる。

**BCG ワクチン：**結核感染では、強力な Th1 型免疫反応が誘導されるが、結核ワクチンである BCG の接種は、Th1 型反応を誘導し、アレルギー疾患の根底にあるとされている Th1/Th2 サイトカインのアンバランスの改善に作用することが期待される。アレルギー性鼻炎患者への投与により、血中の総 IgE 値、特異的 IgE 値の低下がみられたとする報告もあるが<sup>(41)(42)</sup>、逆に否定的な報告もあり一定した評価は得られていない。用いた BCG 株の違いや投与量の差も大きい。また、最近 IgE 産生 B 細胞に特異的な apoptosis を誘導することが報告された。BCG の免疫調節作用に NKT 細胞の活性化を介した IgE 産生 B 細胞への直接作用が存在することも想定される<sup>(43)</sup>。

## 文 献

- 1) 岡本美孝, 堀口茂俊, 花澤豊行, 石川和夫,

河野陽一, 中山俊憲, 他. 小児アレルギー性鼻炎の成人への移行を阻止するための治療法の確立に関する研究. 平成 16~18 年度厚生労働科学研究費報告書. 2007.

- 2) 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会. 鼻アレルギー診療ガイドライン改訂第 5 版. 東京: ライフサイエンス社; 2005.
- 3) André C, Perrin-Fayolle M, Grosclaude M, Couturier P, Baset D, Cornillon J, et al. A double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual immunotherapy with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. Evidence for a dose-response relationship. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 13: 111-8.
- 4) Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P, Parmiani S, Frati F, Sensi L, et al. Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a 10-year prospective study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 206-10.
- 5) Cannica W, Passalacqua G. Non injection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 437-48.
- 6) Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, Riccio A, Pronzato C, Mela GS, et al. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998; 351: 629-32.

- 7) Bachert C, Vestenbaek U, Christensen J, Griffiths UK, Poulsen PB. Cost-effectiveness of grass allergen tablet (GRAZAX<sup>®</sup>) for the prevention of seasonal grass pollen induced rhinoconjunctivitis—a Northern European perspective. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 772–9.
- 8) Pham-Thi N, Scheinmann P, Fadel R, Combebias A, Andre C. Assessment of sublingual immunotherapy efficacy in children with house dust mite-induced allergic asthma optimally controlled by pharmacologic treatment and mite-avoidance measures. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 47–57.
- 9) Bufe A, Ziegler-Kirbach E, Stoeckmann E, Heidermann P, Gehlhar K, Holland-Letz T, et al. Efficacy of sublingual swallow immunotherapy in children with severe grass pollen allergic symptoms: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2004; 59: 498–504.
- 10) Di Rienzo V, Puccinelli P, Frati F, Parmiani S. Grass pollen specific sublingual/swallow immunotherapy in children: open-controlled comparison among different treatment protocols. *Allergol Immunopathol* 1999; 27: 145–51.
- 11) Calderon MA, Birk AO, Anderson JS, Durham SR. Prolonged pre-seasonal treatment phase with Grazax sublingual immunotherapy increases clinical efficacy. *Allergy* 2007; 62: 958–61.
- 12) Passalacqua G, Villa G, Altrinetti P, Falagiani P, Canonica GW, Mariani G, et al. Sublingual swallow or spit? *Allergy* 2001; 56: 578.
- 13) Cox LS, Linnemann DL, Nolte H, Weldon D, Finegold I, Nelson HS. Sublingual immunotherapy: a comprehensive review. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1021–35.
- 14) Voltolini S, Modena P, Minale P, Bignardi D, Troise C, Paccinelli P, et al. Sublingual immunotherapy in tree pollen allergy. Double-blind, placebo-controlled study with a biologically standardised extract of three pollens (alder, birch and hazel) administered by a rush schedule. *Allergol Immunopathol* 2001; 29: 103–10.
- 15) Khinchi MS, Poulsen LK, Carat F, Andre C, Hansen AB, Malling HJ. Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen-specific immunotherapy: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Allergy* 2004; 59: 45–53.
- 16) Bermadis P, Agnoletto M, Puccinelli P, Parmiani S, Pozzan M. Injective versus sublingual immunotherapy in *Alternaria tenuis* allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1996; 6: 55–62.
- 17) Cirila AM, Cirila PE, Parmiani S, Pecra S. A pre-seasonal birch/hazel sublingual immunotherapy can improve the outcome of grass pollen injective treatment in bisensitized individuals. A case-referent, two-year controlled study. *Allergol Immunopathol* 2003; 31: 31–43.
- 18) Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, et al. Sublingual versus injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind (double dummy) study. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1253–61.
- 19) Passalacqua G, Guerra L, Pasquali M, Lombardi C, Canonica GW. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: 3–13.
- 20) Marogna M, Spadolini I, Massalo A, Canonica GW, Passalacqua G. Randomized controlled open study of sublingual immunotherapy for respiratory allergy in real life: clinical efficacy and more. *Allergy* 2004; 59: 1205–10.
- 21) Novembre E, Galli E, Landi F, Caffarelli C, Piffer M, DeMarco E, et al. Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 851–7.
- 22) Marcucci F, Sensi L, Frati F, Bernardini P, Novembre E, Barbato A, et al. Effects on inflammation parameters of a double-blind, placebo controlled one-year course of SLIT in children monosensitized to mites. *Allergy* 2003; 58: 657–62.
- 23) Marogna M, Spadolini I, Massalo A, Canonica GW, Passalacqua G. Clinical, functional, and immunologic effects of sublingual immunotherapy in birch pollinosis: a 3-year randomized controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1184–8.
- 24) Passalacqua G, Albano M, Riccio A, Fregonese L, Puccinelli P, Parmiani S, et al. Clinical and immunologic effects of a rush sublingual immunotherapy to *Parietaria* species: A double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 964–8.
- 25) Ciprandi G, Fenoglio D, Cirillo I, Vizzauaro

- A, Fenera A, Tosca MA, et al. Induction of interleukin 10 by sublingual immunotherapy for house dust mites: a preliminary report. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95: 38-44.
- 26) Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszczyk M, Blaser K, et al. IL-10 and TGF- $\beta$  cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1205-14.
- 27) Taylor A, Verhagen J, Blaser K, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor- $\beta$ : the role of T regulatory cells. *Immunology* 2006; 117: 433-42.
- 28) Mungan D, Misirligil Z, Gürbüz L. Comparison of the efficacy of subcutaneous and sublingual immunotherapy in mite-sensitive patients with rhinitis and asthma—a placebo controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82: 485-90.
- 29) Fanta C, Bohle B, Hirt W, Siemann U, Horak F, Kraft D, et al. Systemic immunological changes induced by administration of grass pollen allergens via the oral mucosa during sublingual immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 120: 218-24.
- 30) Bousquet J, Scheinmann P, Guinnee MT, Derrin-Fayolle M, Sauvaget J, Tonnel AB, et al. Sublingual-swallow immunotherapy (SLIT) in patients with asthma due to house-dust mites: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 1999; 54: 249-60.
- 31) La Rosa M, Ranno C, André C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. Double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual-swallow immunotherapy with standardized *Parietaria judaica* extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 425-32.
- 32) Lima MT, Wilson D, Pitkin L, Roberts A, Nouri-Aria K, Jacobson M, et al. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 507-14.
- 33) André C, Vatrinet C, Galvain S, Carat F, Sicard H. Safety of sublingual-swallow immunotherapy in children and adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121: 229-34.
- 34) Gidaro GB, Marcucci F, Sensi L, Incorvasa C, Franti F, Ciprandi G. The safety of sublingual-swallow immunotherapy: an analysis of published studies. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 565-71.
- 35) Passalacqua G, Fumagalli F, Guerra L, Canonica GW. Safety of allergen-specific sublingual immunotherapy and nasal immunotherapy. *Chem Immunol Allergy* 2003; 82: 109-18.
- 36) Grosclaude M, Bouillot P, Alt R, Leynadien F, Scheinmann P, Rufin P, et al. Safety of various dosage regimens during induction of sublingual immunotherapy. A preliminary study. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 248-53.
- 37) Horiguchi S, Okamoto Y, Yonekura S, Okawa T, Yamamoto H, Kunii N, et al. A randomized controlled trial of sublingual immunotherapy for Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* in press.
- 38) Horiguchi S, Tanaka Y, Uchida T, Chazono H, Okawa T, Okamoto Y. Seasonal changes in antigen-specific Th clone size in patients with Japanese cedar pollinosis: A 2-year study. *Clin Exp Allergy* in press.
- 39) McCluskie MJ, Weeratna RD, Davis HL. The role of CpG in DNA vaccines. *Springer Semin Immunopathol* 2000; 22: 125-32.
- 40) Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, Balcer-Whaley Khattignavong AP, Lindblood R, et al. Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med* 2006; 355: 1445-55.
- 41) Cavallo GP, Elia M, Giordano D, Baldi C, Cammarota R. Decrease of specific and total IgE levels in allergic patients after BCG vaccination: preliminary report. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1058-60.
- 42) Choi IS, Koh YI. Therapeutic effects of BCG vaccination in adult asthmatic patients: a randomized, controlled trial. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88: 584-91.
- 43) Harada M, Nagata-Koyanagi K, Watarai H, Nagata Y, Ishii Y, Kojo S, et al. IL-21-induced Bepsilon cell apoptosis mediated by natural killer T cells suppresses IgE responses. *J Exp Med* 2006; 203: 2929-37.