

- Proceeding 33: 397-403, 2012.
17. Yonekura S, Okamoto Y, Shimojo N, Yamamoto H, Sakurai D, Horiguchi S, Hanazawa T, Inoue Y, Arima T, Tomiita M, Kohno Y. The onset of allergic rhinitis in Japanese atopic children: A preliminary prospective study. *Acta Otolaryngol* 132: 981-987, 2012.
 18. Okamoto Y, Ohta N, Okano M, Kamijo A, Gotoh M, Suzuki M, Takeno S, Terada T, Hanazawa T, Horiguchi S, Honda K, Matsune S, Yamada T, Yuta A, Nakayama T, Fujieda S. (2013) Guiding principles of subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis in Japan. *Auris Nasus Larynx*. 41:1-5.
 19. Yonekura S, Okamoto Y, Yamamoto H, Sakurai T, Iinuma T, Sakurai D, Hanazawa T : Randomized double-blind study of prophylactic treatment with an antihistamine for seasonal allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;162:71-8.
 20. Hamasaki S, Okamoto Y, Yonekura S, Okuma Y, Sakurai T, Iinuma T, Yamamoto H, Sakurai D, Horiguchi S, Yokota M.: Characteristics of the Chiba Environmental Challenge Chamber. *Allergol Int.* 2013 (in press)
 21. 岡本美孝、鈴木五男. 小児通年性アレルギー性鼻炎に対するモメタゾンフランカルボン酸エステル水和物点鼻液の多施設共同、二重盲検。無作為化、プラセボ対照試験。耳鼻臨, 2013;106:1045-1057.
 22. 岡本美孝 編. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科疾患 Q&A. 中外医学社.
 23. 岡本美孝. 花粉症、通年性アレルギー性鼻炎. 今日の処方 2013. 浦部晶夫、大田健編, pp641-647、メディカルレビュー社.
 24. 岡本美孝. アレルギーをめぐるトレンド. 舌下免疫療法. 皮膚アレルギーフロンティア. 2013;11:172-173.
 25. 岡本美孝、稲嶺絢子. 粘膜アジュバントとしての乳酸菌. 医学のあゆみ. 2013;247:12-13.
 26. 岡本美孝. 医学の窓、各科の話題. 本年改訂されたアレルギー性鼻炎診療ガイドライン. 千葉県医師会雑誌. 2013;65:485.
 27. 岡本美孝. 花粉症の舌下免疫療法の安全性・有効性・作用機序. 日本医事新報. 2013; 4651:66-67.
 28. 岡本美孝. 患者視点からのアレルギー性鼻炎へのアプローチ. 日本医事新報. 2013;4640:90-91.
 29. 米倉修二, 岡本美孝:【アレルギー疾患治療の最前線】セルフメディケーションの現状: 医薬ジャーナル 2013/49 (1) /129-132
- 学会発表
- 国内発表
1. 稲嶺絢子, 堀口茂俊, 米倉修二, 櫻井大樹, 中山俊憲, 岡本美孝. スギ舌下減感作療法とそのアジュバント開発. 第 23 回日本アレルギー学会臨床大会, ミニシンポジウム, 千葉, 5月14-15日, 2011.
 2. 米倉修二, 岡本美孝. アレルギーマーチの進展予防を目指してアレルギーマーチの実態とその予防の可能性について耳鼻咽喉科の立場から, シンポジウム, 千葉, 5月14-15日, 2011.
 3. 櫻井大樹, 米倉修二, 山本陸三朗, 稲嶺絢子, 中山俊憲, 岡本美孝. アレルギー性鼻炎に対する免疫療法、最新の知見と展望, 第 61 回日本アレルギー秋季学術大会, シンポジウム, 東京都, 11月10-12日, 2011.
 4. 櫻井利興, 稲嶺絢子, 櫻井大樹, 飯沼智久, 石井保之, 中山俊憲, 岡本美孝. α -GalCer パルス DC の口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第 40 回日本免疫学術集会, 口頭発表, 千葉, 11月27-29日, 2011.
 5. 櫻井利興、稲嶺絢子、飯沼智久、米倉修二、櫻井大樹、石井保之、中山俊憲、岡本美孝. α -GalCer- Ag DC の口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2012年. 大阪市.
 6. 櫻井利興、稲嶺絢子、船越うらら、米倉修二、櫻井大樹岡本美孝. α -GalCer パルス DC の口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2013 年. 倉敷市.

国際学会

1. Okamoto Y. Immunological changes after immunotherapy and their clinical uses IFOS(国際耳鼻咽喉科学会)、シンポジウム、2013年6月 ソウル
2. Okamoto Y. Allergen specific immunotherapy against cedar pollinosis.、小児アレルギー学会、国際シンポジウム、2013年10月、横浜
3. Okamoto Y. Development of New Treatments for Allergic Rhinitis 16th Asian research symposium in rhinology. 2013.8月 Tokyo

国内学会シンポジウムなど

1. 岡本美孝. アレルギー性鼻炎に対する一舌下免疫療法ー .日本耳鼻咽喉科学会専門医講習会、教育講演、2013年11月名古屋
2. 岡本美孝. 舌下免疫療法の臨床効果：現状と課題 第63回日本アレルギー学会、シンポジウム、2013年11月 東京。

H. 知的財産権の出願・登録状況

①特願 2011-076653：花粉症ワクチンの治療効果を予測するバイオマーカー：岡本美孝，稲嶺絢子，櫻井大樹，堀口茂俊，中山俊憲

②特願 2011-213257：情報処理システム、医療情報収集装置、医療情報収集方法、医療情報収集プログラム、申告情報収集方法、申告情報収集プログラム、及び、患者側端末用プログラム：岡本美孝、米倉修二、堀口茂俊、横田匡彦

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

アレルギー免疫療法に関するアンケート調査とバイオマーカーおよび予防的二次介入の検討

研究分担者	櫻井 大樹	千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学 講師
研究協力者	米倉 修二	千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 助教
	山本 陸三郎	千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 助教
	櫻井 利興	千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学 医員
	新井 智之	千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学 医員

研究要旨

アレルギー性鼻炎の患者数は増加しており、患者の治療動向や、効果・満足度、舌下免疫療法の認知の程度を把握することは今後の治療を考える上で重要である。患者および医師に対するアンケートから、アレルギー性鼻炎診療に対し満足のかく効果が得られていない実態が明らかとなり、根治的な治療法となりうる特異的免疫治療への期待が高いことが明らかとなった。またアレルギー免疫療法の治療効果を判定するバイオマーカーがなく、今後の普及に際しマーカーの確立が期待されている。今回舌下免疫療法の機序に関連し変動するマーカーを検討し、特異的制御性T細胞と症状との関連および血清IgEの反応性を解析した。さらに今後予防治療の確立は課題であり、NKT細胞免疫系を利用した新たな治療法の可能性について検討した。 α -GalCer が組み込まれたliposomeと抗原の舌下投与は、抗アレルギー作用を発現せしめる可能性が示された。この効果は、局所リンパ節におけるTh1/Th2バランスの改善や、抗原特異的IgE産生の低下に起因する可能性が示唆され、舌下免疫療法の治療効果を増強することで有効な二次介入となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎の患者数は近年増加し、患者の治療動向・効果・満足度の実態把握は今後の治療を考える上で重要である。薬剤治療は近年治療効果が向上しているが、対症療法にとどまっている。特異的免疫療法は、アレルギー性鼻炎に対し唯一自然経過を改善しうる治療法であり、舌下免疫療法は従来の副作用などの問題を大きく軽減する方法として期待されている。スギ花粉症に対する舌下免疫療法の安全性と有効性が認められ、一般診療としての開始が期待されているが、その普及には舌下免疫療法に関わる可能性のある医師の現状の治療満足度、舌下免疫療法の認知度、治療実施に対する考え方などについて把握することが重要である。またアレルギー免疫療法の治療効果を客観的に判定するバイオマーカーがないことは大きな問題であり、舌下免疫療法の普及に際しマーカーについて検討した。さらに花粉症に対し早期に高い治療効果を発揮し、有効な二次介入となりうるNKT細胞免疫系を利用した新たな免疫療法の可能性について検討を行った。

B. 研究方法

- 1) 病院外において一般のアレルギー性鼻炎患者を対象に、これまでの治療内容、効果、費用、満足度、不満の理由、今後希望する治療についてアンケートによる調査を行った。
- 2) アレルギー性鼻炎の治療に関して、医師に対し患者の治療満足度、アレルギー舌下免疫療法に関心があるか、治療を自分で実施したいと考えているか、講習会及び治療資格に関する考え方など質問項目について調査を行った。
- 3) 舌下免疫療法のプラセボ対照二重盲検比較試験参加者を対象とし、舌下免疫療法の施行前、施行中、施行後に採取された採血を用い、スギ特異的制御性T細胞の変動と症状改善度との関連を調べた。また血

清を用いIgE Crosslinking-induced Luciferase Expression (EXiLE) 法を施行した。ヒトIgEレセプターを発現するラット肥満細胞にスギ花粉症患者の血清を加え、スギ抗原にて刺激しルシフェラーゼの発現をEXiLE値として評価した。

4) アレルギー性鼻炎モデルマウスを用い、誘導した樹状細胞を α -GalCerおよび抗原でパルスし、感作後のマウスの口腔底粘膜下に投与した。抗原点鼻による症状誘発を行った後、鼻症状・免疫学的パラメーターの解析、症状抑制機序の検討を行った。さらに同様の検討を α -GalCerが組み込まれたリン脂質二重層のナノカプセル (liposome- α -GalCer) を舌下投与し、鼻症状ならびに免疫学的パラメーターの検討を行った。

(倫理面への配慮)

アンケート調査、臨床試験において、参加者に書面による十分な説明を行い、同意を得たうえで行われた。内容や実施法については千葉大学内の倫理委員会に申請し許可を得て行われた。動物実験にあたっては、動物実験に対して動物愛護の面からの配慮を最大限払って行い、学内の実験動物実施規定を遵守し、委員会の許可を得て行われた。

C. 研究結果

1) 患者背景は10歳未満から70歳代と幅広い年齢層に渡り、通年性319名、スギ花粉症295名より回答を得た。小児は通年性、成人は花粉症が大多数を占めていた。小児では約80%程度、成人の40-60%程度が病院を受診していた。成人の通年性アレルギー性鼻炎では無治療の割合が高かった。治療に対する満足度は、通年性・花粉症ともやや満足以上の割合は30%に及ばず、不満の割合は両者とも30%を超えていた。不満の理由として小児・成人とも効果不十分の割合が最も高く、治療効果はある程度認められ

るものの、患者はさらに高い効果を望んでいる可能性が示唆された。今後の治療に関して、小児では30%程度、成人では20%程度が免疫治療に期待していた。

2) 耳鼻咽喉科医師163名、およびアレルギーを専門とする内科医師39名がアンケート調査に参加した。それぞれ勤務先は、クリニック：耳鼻科60.1%、内科23.1%、一般病院19.0%、46.2%、大学病院18.4%、28.2%であった。アレルギー専門医の割合は9.8%、59.0%、免疫療法の経験があるのはともに50%程度であった。治療に満足しているのは44.8%、25.6%で、満足していないのが53.4%、71.8%と半数以上を占めていた。舌下免疫療法に関心があると回答したのは90.2%、82.1%で、このうち、舌下免疫療法をぜひ自分で実施したいはともに25%程度、場合によっては自分での実施が59.9%、46.9%自分で実施する気はないが8.2%、21.9%であった。講習を受けた専門の耳鼻咽喉科医やアレルギー専門医が実施すべきが60.7%、81.3%、安全性がたかいのだから講習を受ければ耳鼻咽喉科医やアレルギー専門医以外に誰でも実施可能にすべきが28.3%、15.6%であった。

3) 舌下免疫療法の実薬群において施行1年目からスギ特異的誘導性制御性T細胞 (IL-10+iTreg) の上昇を認め、2年目においてさらに上昇を認めた。舌下免疫療法実薬群におけるIL-10+iTregの上昇例では、花粉飛散ピーク時の症状が軽症である傾向を認めた。また飛散前の1年目と2年目を比較すると、プラセボ群・実薬群ともに特異的IgE値は有意に上昇していたが、EXiLE値の上昇は実薬群で抑えられていた。2年目の飛散前後を比較すると、IgE値は実薬群で有意に低下しており、またプラセボ群において有意に上昇していたEXiLE値は実薬群において上昇が抑えられていた。

4) α -GalCerと抗原でパルスした樹状細胞投与群では鼻アレルギー症状の有意な改善を認め、特異的IgE値の低下、リンパ節T細胞からのTh2型サイトカインの産生抑制、IFN- γ 産生増加を認めた。また頸部リンパ節においてIgEクラススイッチ抑制作用のあるIL-21の遺伝子発現が有意に上昇しており、同時にIL-21産生性NKT細胞数の増加も確認された。上記の症状軽減作用はNKT細胞非存在下では認められず、抗IL-21抗体、抗IFN- γ 抗体の腹腔投与によってこれらの症状抑制効果やIgE値の低下は解除されることを確認した。以上のことから、活性化したNKT細胞はIL-21やIFN- γ の産生増加を介してアレルギー応答の軽減効果を発揮したと考えられた。一方、liposome- α -GalCerを感作後のマウス舌下粘膜上へ抗原とともに投与する方法でも、鼻アレルギー症状の増悪や抗原特異的IgE値、リンパ節T細胞におけるTh2型サイトカインの産生はいずれも有意に抑制された。

D. 考察

1) アレルギー性鼻炎の罹患年数は10年以上と長い患者が多かったが、通年性では無治療の患者も多く、長期にわたる通院の困難さが示唆される。現治療に対する効果や副作用に対する不満も多い一方、今後希望する治療として根治的な治療法となりうる免疫療法への期待が高いことも明らかとなった。

2) 耳鼻咽喉科、内科ともに一般治療における患者の満足度は低いと感じており、今後の舌下免疫療法に対する期待は高いと考えられる。耳鼻咽喉科医師の9割以上、内科医師の8割以上がアレルギー免疫療法に関心があるが、実際に自分で治療を行うと回答

したのは25%前後であり、「場合によっては自分での実施を考える」という慎重な意見が最も多かった。これは、治療資格取得の詳細や、今後保険収載された際の診療報酬などが明らかになっていないことも影響していると考えられる。治療資格に関しては、「講習を受けた専門の耳鼻咽喉科医やアレルギー専門医が実施すべき」との回答が最も多かったが、「安全性がたかいのだから講習を受ければ耳鼻咽喉科医やアレルギー専門医以外に誰でも実施可能にすべき」と治療の門戸を広げける意見も少なからず認められた。

3) 特異的制御性T細胞 (IL-10+iTreg) は舌下免疫療法実薬群で早期に上昇し、症状改善との関連も示唆され、マーカーとしての有用性が期待された。また舌下免疫療法は早期にはIgE抗体の産生を増加させるが、継続することでIgE抗体の低下・不応答を誘導する可能性が考えられる。さらにIgE抗体の変動とは独立しIgE抗体の反応性を低下させている可能性も示唆された。

4) α -GalCerと抗原をパルスした樹状細胞の口腔粘膜下投与や α -GalCerが組み込まれたliposomeと抗原の舌下投与は、抗アレルギー作用を有効に且つ迅速に発現させることが可能であった。これらの症状変化は、局所リンパ節におけるTh1/Th2バランスの改善や、抗原特異的IgE産生の低下に起因する可能性が示唆された。

E. 結論

アレルギー性鼻炎患者、診療に対する調査から、小児・成人とも現治療では十分に満足のおく効果が得られていない実態と、根治的な治療法となりうる免疫療法への期待が高いことが明らかとなった。医師においても今後の舌下免疫療法に対する期待は高く、治療資格の認定、診療報酬など環境が整えば多くの医師が治療を積極的に行うことが予想される。特異的制御性T細胞の変動は舌下免疫療法の効果と関連しマーカーとしての有用性が期待された。また抗原とliposome- α -GalCerの舌下投与によるNKT細胞免疫系を利用した新たな免疫療法は、有効な二次介入になる可能性が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

1) 櫻井大樹、米倉修二、山本陸三郎、稲嶺絢子、堀口茂俊、中山俊憲、岡本美孝. アレルギー性鼻炎に対する免疫療法：最新の知見と展望. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011年. 東京都

2) 櫻井大樹. International session. Advancement of Research on Allergic Rhinitis. 第51回日本鼻科学会総会・学術講演会. 2012年. 千葉市

3) 櫻井大樹 シンポジウム5, アレルギー性鼻炎の発症メカニズムと治療：制御性T細胞の役割. 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2013. 横浜市.

4) 櫻井大樹 基礎シンポジウム, アレルギー性鼻炎の感作と発症における免疫細胞の役割：感作陽性未発症者の検討から. 第52回日本鼻科学会総会・学術講演会. 2013年. 福井市

5) 櫻井大樹、米倉修二、佐々木絢子、山本陸三郎、岡本美孝. シンポジウム19、アレルギー疾患の免疫療法-舌下免疫療法の導入に向けて-：舌下免疫療法における作用機序と効果判定および予測因子の検討。

第63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013年.

東京都

6) 櫻井利興、稲嶺絢子、櫻井大樹、飯沼智久、米倉修二、石井保之、中山俊憲、岡本美孝. α -GalCer-DCの口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011年. 千葉市.

7) 櫻井利興、稲嶺絢子、櫻井大樹、飯沼智久、石井保之、中山俊憲、岡本美孝. α -GalCerパルスDCの口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第40回日本免疫学会. 2011年. 千葉市.

8) 櫻井利興. α -GalCerパルスDCの口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第24回気道病態研究会. 2012. 東京都千代田区.

9) 櫻井利興、稲嶺絢子、飯沼智久、米倉修二、櫻井大樹、石井保之、中山俊憲、岡本美孝. α -GalCer-DCの口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2012. 大阪市.

10) 櫻井利興、稲嶺絢子、船越うらら、米倉修二、櫻井大樹、岡本美孝. α -GalCerパルスDCの口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明. 第31回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2013年. 倉敷市.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

スギ花粉症発症に関する遺伝子の同定

研究分担者 藤 枝 重 治 福井大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 教授
研究協力者 坂 下 雅 文 福井大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 助教
意 元 義 政 福井大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 助教

研究要旨：

スギ花粉症研究には、大きく2つの疑問が未解決である。1つは、発症に関する責任遺伝子の同定であり、もう1つは血清スギ特異的 IgE を有していながら発症しない機序解明である。この解決のため、スギ花粉飛散期に末梢血 CD4 陽性 T 細胞、CD14 陽性単核球細胞、鼻上皮細胞を採取し、これらの mRNA のプロファイルを、マイクロアレイを用いて、スギ花粉症発症者およびスギ特異的 IgE 陽性未発症者、および非アレルギー者（スーパーコントロール群）において比較検討をした。その結果、CD4 陽性 T 細胞は、スギ花粉症発症者において有意に IL17RB (Interleukin 17 receptor B) の発現が増大していた。鼻上皮細胞についてはスギ花粉症患者群とコントロール群において、発現差が4倍以上かつ $p < 0.05$ の18遺伝子を同定した。そのうちの Intelectin-1 と Cystatin *SN* (CST-1) がスギ花粉症患者において高発現であった。Intelectin-1 は、発症者で有意に高値を示した。一方 CST-1 は、感作未発症者でも皮内テスト陽性者において高値を示していた。免疫組織化学では Intelectin-1 は鼻粘膜上皮細胞に、CST-1 は鼻粘膜上皮細胞と線維芽細胞に発現していた。Intelectin-1 は IL-4 と IL-13 の刺激により、CST-1 はパインとスギ花粉、IL-4 と IL-13、そして IL-25 と TSLP の共刺激により発現が誘導された。また、鼻粘膜上皮細胞にスギ花粉を作用させると、ZO-1 と claudin-1 の mRNA の低下が認められたが、recombinant CST-1 の前処理により、ZO-1 と claudin-1 の mRNA の低下が抑制された。以上からまだ解明は行えていないが、解析対象にする遺伝子は同定でき、細胞接着分子とプロテアーゼインヒビターの関与が示唆された。

A. 研究目的

我々が、2006年から2008年に福井県で行った約3300人のスギ花粉症大規模疫学調査では、約60%の人がスギ特異的 IgE を持っており、全体の35%がスギ花粉症を発症していた。すなわち全体の25%の人は、スギ花粉に対する感作が成立しているが、何らかの機序が働き、まだスギ花粉症を発症しておらず、将来的には発症の可能性が高いことになる。この、スギ花粉発症者、感作陽性未発症者、非アレルギー健康人の3群の免疫状態、炎症状態などを検討することで、抗原感作は予防できないが、発症は阻止できることになる。この戦略こそが、最近の著しく且つ低年齢化の吸入抗原の感作率上昇の現状において、スギ花粉症治療の有力な候補になりえると考える。そこで本研究においては、以下の3点について検討した。

1. スギ花粉症の発症に関連する遺伝子を網羅的に解析し、責任遺伝子を同定する。
2. 関連遺伝子がどのような発現パターンを示し、感作から発症においてどのように関連するかを同定する。

3. 見つけた関連遺伝子がどのような機能を有するのかを解析する。

B. 研究方法

【対象】

福井大学アレルギーデータベースからスギ花粉症患者群（血清スギ特異的 IgE、immuno CAP スコア2以上、2年以上スギ花粉飛散時期での有症者（スギ花粉症群）とコントロール群である非アレルギー群（7項目吸入アレルギー特異的 IgE 陰性、無症状者）を抽出した。特異的 IgE はスギ、ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニ、カモガヤ、ブタクサ、アスペルギルス、カンジダの7項目である。同時に、気管支喘息やアトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどの既往も調べ、2群とも気管支喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーの既往がない対象者を選んだ。スギ花粉症群では、血清スギ特異的 IgE 陽性であり、他の6項目は陰性である者を選択した。さらにスギ特異的 IgE 陽性未発症者群も抽出した。

【方法】

1. 遺伝子発現解析

対象者より末梢血 100ml を採取し、末梢血単核球を分離した。その後 CD4 MicroBeads (Miltenyi Biotec) 及び CD14 MicroBeads にて標識し、AutoMACS™ Separator (Miltenyi Biotec) により CD4 陽性 T 細胞ならびに CD14 陽性単球細胞を分離した。鼻粘膜上皮細胞は下甲介粘膜を、細胞診用ブラシで数回擦過し、採取した。採取した細胞をすぐに TRIzol (Invitrogen, Leek, the Netherlands) に溶解し、-80°C で保存した。Total RNA の抽出には、miRNeasy Mini キット (QIAGEN, Valencia, CA, USA) を用いた。Total RNA (100-500ng) から、Illumina TotalPrep RNA Amplification Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) により、ビオチンラベル化した cRNA を合成し、HumanRef-8 ver3 BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA) によってマイクロアレイの解析を行った。アレイの蛍光強度は BeadsStation 500X 遺伝子発現解析システム (Illumina) により検討した。抽出した total RNA から cDNA を合成し、定量的 PCR を行った。遺伝子の内在性コントロールとして Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用い、ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems) で定量的 PCR を行った。PCR 反応におけるプロトコールは、95°C 10 分後 PCR による増幅サンプルが指数関数的に起こる領域で、一定の増幅産物になるサイクル数 (Threshold Cycle; Ct) を検出し、各遺伝子発現量は GAPDH の発現量に対する比を $\Delta\Delta Ct$ 法で算出した。

2. 免疫組織化学

免疫組織化学は、Intelectin-1 と CST-1 に対するポリクローナル抗体と、ヒツジ IgG に対する 2 次抗体 (R&D) を使用した。染色に用いた組織は福井大学において手術時に採取されたアレルギー性鼻炎患者の下甲介粘膜を用いた。

3. 鼻粘膜上皮細胞培養及び線維芽細胞培養

鼻粘膜上皮細胞初代培養細胞株は、通年性アレルギー性鼻炎患者から樹立した。RNA 用の鼻粘膜上皮細胞回収と同様に数回擦過し、すぐにペニシリン (100unit/ml) とのストレプトマイ

シン (100µg/ml) を含む培養液に回収した。鼻粘膜線維芽細胞は手術時に採取された通年性アレルギー性鼻炎患者の下甲介粘膜より分離し、10% FCS を含む RPMI にて培養した。回収した鼻粘膜上皮細胞及び線維芽細胞を 37°C、5%CO₂ のインキュベーターにて培養し、LPS (100ng/ml)、IFN-γ (20ng/ml)、TNF-α (10ng/ml)、ヒスタミン (1x10⁻⁴M/ml)、IL-4 (10ng/ml)、IL-13 (10ng/ml)、IL-33 (10ng/ml)、パパイン、スギ花粉、Cryj-1、IL-25、TSLP を添加し、刺激後 15 時間後に細胞を回収し、RNA 抽出した。そして real time PCR で変化量を数値化した。

(倫理面への配慮)

「アレルギー性鼻炎を中心としたアレルギー疾患の遺伝子解析と蛋白質解析に関する研究」にて福井大学医学部倫理委員会の承認を受け、本研究を行った。ヒト末梢血及び鼻粘膜擦過細胞の採取は、福井大学規程に則り、患者もしくはボランティアから文書での研究材料使用承諾書を取り行った。

C. 研究結果

1. 遺伝子発現解析

スギ花粉飛散時期の末梢血 CD4 陽性 T 細胞におけるスギ花粉症群と非アレルギー群との間で 1.5 倍以上有意な発現変化を認めた遺伝子は、AT rich interactive domain 4B (*ARID4B*)、serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1)、Interleukin 17 receptor B (*IL17RB*) の 3 遺伝子であった。しかしこれら 3 遺伝子の mRNA を定量 real-time PCR にて検討すると、再現性が示された遺伝子は *IL17RB* のみであった。一方、CD14 陽性単球細胞ではスギ花粉症群と非アレルギー群で有意な発現変化を示す遺伝子はなかった。

鼻粘膜上皮擦過細胞におけるマイクロアレイの解析では、スギ花粉症群とコントロール群との間で 4 倍以上有意な発現変化を認めた遺伝子は 18 遺伝子であった。そのうちスギ花粉症群において 13 遺伝子は非アレルギー群と比較して発現が有意に上昇していた。スギ花粉症群で 10 倍以上遺伝子発現上昇が認められた遺伝子は 4 遺伝子あった。その一つである

Intelectin-1 (*ITLN1*) は非アレルギー群と比較して 17.6 倍、CST-1 は 151.4 倍発現が上昇していた。Intelectin-1 と CST-1 とともに定量的 PCR 結果でも、スギ花粉症群が非アレルギー群と比較して有意に上昇していた ($p < 0.0001$)。また、感作陽性未発症群の中で、スギ抗原に対する皮内反応で陽性を示す群と陰性を示す群での比較では、Intelectin-1 の発現には差がなかった。一方で CST-1 は皮内反応陽性者が陰性者に比べ有意に発現上昇していた。

2. 免疫組織化学

通年性アレルギー性鼻炎患者の下鼻甲介粘膜を用いて Intelectin-1、CST-1 の免疫組織化学を行った。Intelectin-1 は鼻粘膜上皮細胞に発現していた。また CST-1 は鼻粘膜上皮細胞と線維芽細胞に発現していた。

3. 鼻粘膜上皮細胞培養及び線維芽細胞培養

鼻粘膜上皮細胞の採取直後は Intelectin-1 の発現は確認できたが、初代培養した鼻粘膜上皮細胞では Intelectin-1 の発現がなかった。LPS、IFN- γ 、TNF- α 、ヒスタミン、IL-4、IL-13、IL-33 で 15 時間刺激をすると、IL-4 と IL-13 の刺激で Intelectin-1 の発現が認められた。

鼻粘膜上皮細胞の初代培養細胞を用いてどのような刺激が CST-1 を誘導するかを調べた。LPS、IFN- γ 、TNF- α 、ヒスタミン、IL-4、IL-13、IL-33、パパイン、スギ花粉、Cryj-1 (スギ精製抗原)、IL-25、TSLP で 15 時間刺激をするとパパイン、スギ花粉、IL-4 と IL-13、そして IL-25 と TSLP の共刺激により CST-1 は発現誘導された。他の刺激では CST-1 の発現は認めなかった。次に recombinant CST-1 をスギ花粉と 37°C で 30 分間 incubation 後、鼻粘膜上皮細胞に刺激を行い、鼻粘膜上皮細胞の ZO-1 と claudin-1 発現への影響を調べた。その結果スギ花粉による刺激では、鼻粘膜の ZO-1 と claudin-1 の mRNA が減少したのに対し、スギ花粉とさらに recombinant CST-1 で前処理すると、ZO-1 と claudin-1 の mRNA の発現が非刺激の状態に戻る事が判明した。

D. 考察

CD4 陽性 T 細胞は、Th2 type のアレルギー反応を担う代表的な細胞である。IL-17RB は IL-17 receptor family の一つである。IL17RB のリガンドは IL-17B、IL-17E (IL-25) であり、IL-25 がより高い親和性をもつとされ、気道上皮細胞などで産生された IL-25 が IL-17RB に結合することにより、アレルギー反応が増強すると考えられている。CD4 陽性 IL-17RB 陽性 natural killer (NK) T 細胞に、IL-25 による刺激を加えると IL-4 や IL-13 の産生が亢進するとともに、IL-17RB 抗体によって気道でのアレルギー炎症を抑制することが報告されている。我々の行ったマイクロアレイの結果においても、スギ花粉症群の CD4 陽性 T 細胞における IL17RB が上昇していたことは、アレルギー炎症において IL17RB が重要な役割を担っている可能性を裏付ける結果であると考えられる。以上のことより IL17RB はアレルギー性気道炎症を増悪させる分子であることが推測される。

末梢血細胞と比較して、鼻粘膜擦過細胞においては多数の遺伝子変化が認められた。この鼻粘膜擦過細胞には鼻粘膜上皮細胞をはじめアレルギー炎症に関する様々な血球成分、鼻粘膜を構築する細胞が含まれている。その構成に関わる細胞の多様性の結果だと推測される。鼻は常に様々な抗原にさらされているため、容易に生体に抗原が入らないように、あるいは排除する機能を有している。そのため、スギ花粉飛散時期における鼻粘膜擦過細胞のマイクロアレイの結果はアレルギー炎症のみならず、鼻粘膜のバリア機構を明確に反映していると考えられる。Intelectin は、ヒトとマウスにおいて Intelectin-1 と Intelectin-2 の 2 つのタイプが同定されている。Intelectin-1 は Omentin、小腸における Lactoferrin receptor と呼ばれ、鉄の吸収やインスリン刺激による糖代謝や脂肪代謝に関連する。また Intelectin は arabinogalactan を認識し結合する。この arabinogalactan は細菌や真菌、原虫に存在するが、ヒトでは存在しないため、Intelectin が細菌や真菌などに結合し、生体の防御機構に関与している可能性があると考えている。マウスの気道上皮細胞では Intelectin-1 が IL-13 により誘導されることが報告されており、我々も鼻粘膜上皮培養細胞において、IL-4 及び

IL-13 で *Intelectin-1* の発現が誘導されることを確認した。また、ヒト喘息患者での気管支上皮では、*Intelectin-1* の発現が上昇していること、遺伝子解析では *Intelectin-1* の遺伝子多型と喘息との関連が報告されている。以上から *Intelectin-1* は喘息やアレルギー性鼻炎など、気道のアレルギー炎症において重要な分子である可能性が示唆される。

CST-1 の発現は非感作→感作陽性未発症(皮内反応陰性)→感作陽性未発症(皮内反応陽性)→発症の順に上昇しており、CST-1 が発症に関連する遺伝子であることが示唆された。CST-1 は cystatin ファミリーに属する protease inhibitor の一つであり、細菌や寄生虫、ウイルス感染などに関係するという報告がある。CST-1 の誘導には、パピインやスギ花粉といった protease による刺激と、IL-4、IL-13、IL-25 と TSLP といった Th2 サイトカインが必要であった。これらは抗原 (protease) とそれに伴う上皮や炎症細胞から放出されるサイトカインであり、CST-1 は抗原の持つ protease による上皮への刺激を緩衝するために働き、Th2 環境を利用して、気道上皮の恒常性を維持しているかもしれない。

E. 結論

以上の研究成果より、アレルギー性鼻炎に関連する遺伝子、*IL-17RB*、*Intelectin-1*、*CST-1* が同定できた。それぞれの遺伝子は異なった発現パターンを示し、発症にいたる様々な過程で誘導されることが判明した。*IL-17RB* と *Intelectin-1* は発症に関する遺伝子であることが判明した。*CST-1* は発症に関連する遺伝子であり、抗原の protease 活性に対し、防御因子として生体から誘導され、抗原に対する上皮のバリア機能を維持させることが推測された。

今後、目的で述べた3点のことを確実に解決できたならば、スギ花粉に対する感作を防ぐことはできないが、発症は予防できる可能性があると考えている。更なる検討を有する。

F. 健康危険情報

本研究における健康有害状況は認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamada T, Saito H, Fujieda S: Present state of Japanese cedar pollinosis: The national affliction. *J Allergy Clin Immunol.* 133(3):632-639.e5, 2014.

Yatagai Y, Sakamoto T, Masuko H, Kaneko Y, Yamada H, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Imoto Y, Tokunaga T, Fujieda S, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. : Genome-Wide Association Study for Levels of Total Serum IgE Identifies *HLA-C* in a Japanese Population. *PLoS One*, 8:e80941, 2013.

Nagai K, Tahara-Hanaoka S, Morishima Y, Tokunaga T, Imoto Y, Noguchi E, Kanemaru K, Imai M, Shibayama S, Hizawa N, Fujieda S Yamagata K, Shibuya A. : Expression and Function of Allergen-1 on Human Primary Mast Cells. *PLoS One.* 8:e76160, 2013.

Imoto Y, Tokunaga T, Matsumoto Y, Hamada Y, Ono M, Yamada T, Ito Y, Arinami T, Okano M, Noguchi E, Fujieda S. : Cystatin SN Upregulation in Patients with Seasonal Allergic Rhinitis. *PLoS One.* 8:e67057, 2013.

Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, Fujieda S, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto T.: A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 130(1):184-94.e1, 2012.

- Yamada T, Saito H, Kimura Y, Kubo S, Sakashita M, Susuki D, Ito Y, Ogi K, Imoto Y, Fujieda S: CpG-DNA suppresses poly(I:C)-induced TSLP production in human laryngeal arytenoid fibroblasts. *Cytokine*. 57(2):245-50, 2012.
- Yamada T, Jiang X, Kubo S, Sakashita M, Narita N, Yamamoto H, Sunaga H, Fujieda S: B type CpG-DNA suppresses poly(I:C)-induced BlyS expression and production in human tonsillar fibroblasts. *Clin Immunol*. 141:365-71, 2011.
- Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N, Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang MJ, Kwon JW, Hong SJ, Inoue K, Goto Y, Yamashita F, Asada T, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, saito H, Matsumoto K : Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. *PLoS Geget*. 7:e1002170, 2011
- Higashino M, Takabayashi T, Takahashi N, Okamoto M, Narita N, Kojima A, Hyo S, Kawata R, Takenaka H, Fujieda S: Interleukin-19 downregulates interleukin-4-induced eotaxin production in human nasal fibroblasts. *Allergol Int*. 60(4):449-57, 2011.
- Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Noguchi E, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M: Variants of C-C motif chemokine 22 (CCL22) are associated with susceptibility to atopic dermatitis: case-control studies. *PLoS One*. 6(11):e26987, 2011.
- Matsumoto Y, Noguchi E, Imoto Y, Nanatsue K, Takeshita K, Shibasaki M, Arinami T, Fujieda S: Upregulation of IL17RB during natural allergen exposure in patients with seasonal allergic rhinitis. *Allergol Int*. 60:87-92, 2011.
- Okubo K, Kurono Y, Fujieda S, Ogino S, Uchio E, Odajima H, Takenaka H, Baba K: Japanese Society of Allergology: Japanese guideline for allergic rhinitis. *Allergol Int*. 60(2):171-89, 2011.
- Imoto Y, Kojima A, Osawa Y, Sunaga H, Fujieda S: Cough reflex induced by capsaicin inhalation in patients with dysphagia. *Acta Otolaryngol*. 131(1):96-100, 2011.
- 意元義政、藤枝重治：網羅的遺伝子解析によるスギ花粉症発症に関する遺伝子解析 臨床免疫・アレルギー科 57: 39-44, 2012. 1.
- 意元義政、藤枝重治：スギ花粉症に関する鼻上皮細胞の網羅的遺伝子解析 耳鼻免疫アレルギー 29(3):201-207, 2011. 9.

2. 学会発表

意元義政、徳永貴広、藤枝重治：スギ花粉症圧勝に関する遺伝子解析. 第 52 回日本鼻科学会総会, 2013. 9

意元義政、坂下雅文、徳永貴広、山本英之、加藤雄士、山田武千代、藤枝重治：アレルギー性鼻炎のバイオマーカー, 第 25 回日本アレルギー学会春季学術大会 2013. 5

意元義政、坂下雅文、山田武千代、藤枝重治：スギ花粉症発症関連遺伝子の機能解析. 第 32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 2013. 2

意元義政、藤枝重治：スギ花粉症未発症者の検討. 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 2012. 2

Imoto Y: Detection of genes related to seasonal allergic rhinitis caused by Japanese cedar pollen using microarray analysis: East Asia Allergy Symposium 2012, 2012.5

Imoto Y, Fujieda S: Identification of genes that related to seasonal allergic rhinitis by Japanese cedar pollen. The 14th Japan-Korea joint meeting of Otorhinolaryngology Head & Neck Surgery, 2012.4

意元義政、坂下雅文、藤枝重治：アレルギー性鼻炎患者における BAT 検査の有用性. 第 24 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2012. 5

意元義政、藤枝重治：スギ花粉症の感作・発症に関する遺伝子解析. 第 51 回日本鼻科学会総会 2012. 9

Imoto Y, Fujieda S : Upregulation of Intelectin 1 in nasal epithelial cells during natural allergen exposure in patients with

seasonal allergic rhinitis. Infection and Allergy of the Nose 2011.9. Tokyo, Japan

Fujieda S, Sakashita M, Hirota T, Osawa Y, Harada M, Yoshimoto T, Tamari M: Association between genetic variant of interleukin-33 and seasonal allergic rhinitis in the Japanese population. Collegium Oro-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum 2011.9. Bruges, Belgium

Fujieda S: New clinical marker for allergic rhinitis. 14th International Rhinology Society & 30th International Symposium on Infection and Allergy of the Nose 2011.9. Tokyo, Japan

意元義政、野口恵美子、有波忠雄、藤枝重治：鼻副鼻腔炎におけるアレルギー性鼻炎関連遺伝子との関連 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011. 11

Fujieda S: New therapeutic strategy for allergic rhinitis. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2011.12. Kobe, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

藤枝重治、高橋昇、大澤陽子、窪誠太、有波忠雄、野口恵美子、牧野友香、内田和彦、大久保公裕：アレルギー疾患の治療薬且つ治療効果のマーカー（特許第 5176229 号）（特願 2008-053768）登録日：平成 25 年 1 月 18 日

野口恵美子、三浦謙治、藤枝重治、伊藤有未、意元義政：活性化型リコンビナント花粉アレルギーの作製方法（特願 2011-178391）

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

スギ花粉症の感作と発症および鼻汁中のスギ特異的IgE抗体の測定に関する研究

研究分担者 竹内 万彦 三重大学耳鼻咽喉・頭頸部外科・教授
研究協力者 増田佐和子 国立病院機構三重病院耳鼻咽喉科・医長
坂井田 寛 三重大学医学部附属病院・助教
水谷 仁 三重大学大学院医学系研究科皮膚科・教授
山中 恵一 同皮膚科・講師

研究要旨

73名のスギ花粉未発症を対象にスギ花粉感作に関与する因子を検討した。スギとダニの特異的IgEをCAP-FEIA法により定量し、アンケートを行った。73名中26名がスギ花粉に感作されていた（感作率36%）。多変量解析の結果、ダニ感作のみがスギ花粉の感作と関連がみられた。オッズ比は6.6であり、ダニ感作されている人は6.6倍スギに感作されやすいことが明らかになった。

46名に対して2012年のスギ花粉飛散期に鼻汁を吸引採取し、CAP-FEIA法によりスギ特異的IgEを定量した。46名の内訳は、24名が症状のあるスギ花粉症患者、9名はスギ花粉に感作されているが無症状、13名は非感作であった。46名中43名で鼻汁中スギ特異的IgE抗体価の測定が可能であった。症状の有無とは関係なく、感作されている人は感作されていない人と比べて鼻汁中スギ特異的IgE抗体価が有意に高かった。43名に関し、鼻汁中スギ特異的IgE抗体価は血清特異的IgE抗体価と正相関した。

A. 研究目的

スギ花粉症は増加しているが、未発症者においていかなる因子がスギ花粉の感作に影響を及ぼしているかは明らかではない。この点を明らかにするために検討を行った。

また、スギ花粉に対するIgE抗体が鼻粘膜局所で産生されているか否かは明らかでない。鼻汁中のスギIgE抗体を測定し、血清のスギIgE抗体との相関を調べた。

B. 研究方法

73名のスギ花粉未発症を対象にスギ花粉感作に関与する因子を検討した。スギとダニの特異的IgEをCAP-FEIA法により定量し、アンケートを行った。

また、別の46名に対して2012年のスギ花粉飛散期に鼻汁を吸引採取し、CAP-FEIA法によりスギ特異的IgEを定量した。46名の内訳は、24名が症状のあるスギ花粉症患者、9名はスギ花粉に感作されているが無症状、13名は非感作であった。

（倫理面への配慮）

三重大学医学部の倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言を遵守した

C. 研究結果

73名中26名がスギ花粉に感作されていた（感作率36%）。多変量解析の結果、ダニ感作のみがスギ花粉の感作と関連がみられた。オッズ比は6.6であり、ダニ感作されている人は6.6倍スギに感作されやすいことが明らかになった。

46名中43名で鼻汁中スギ特異的IgE抗体価の測定が可能であった。症状の有無とは関係なく、感作されている人は感作されていない人と比べて鼻汁中スギ特異的IgE抗体価が有意に高かった。43名に関し、鼻汁中スギ特異的IgE抗体価は血清特異的IgE抗体価と正相関した。

D. 考察

スギ花粉症の家族歴や他のアレルギー疾患

を持つことより、ダニに感作されていることがスギに感作されやすいことが明らかになった。

鼻汁中のスギ特異的IgE抗体価が血清のそれと正相関することから、鼻汁中のスギ特異的IgE抗体価の測定が診断的価値があるものと考えられる。特に小児など採血が困難な場合に有用と思われる。

E. 結論

ダニに感作されていることがスギに感作されやすい。鼻汁中のスギ特異的IgE抗体価が血清のそれと正相関する。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sakaida H, Masuda S, Takeuchi K. Measurement of Japanese cedar pollen-specific IgE in nasal secretions. Allergology International (in press)

Sakaida H, Masuda S, Takeuchi K. Analysis of factors influencing sensitization of Japanese cedar pollen in asymptomatic subjects. Auris Nasus Larynx. 2013;40(6):543-7

2. 学会発表

坂井田 寛、山中恵一、増田佐和子、竹内万彦、岡本美孝:スギ花粉感作陽性未発症者を対象とした舌下免疫療法による末梢血中の免疫学的変化の検討。第32回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、徳島、2014年

中村 哲、坂井田 寛、増田佐和子、竹内万彦:スギ花粉症の感作と発症に関連する因子の検討。第32回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、徳島、2014年

坂井田 寛、竹内万彦、増田佐和子、岡本美孝:アレルギー性鼻炎に対する治療の実態と治療に対する満足度調査。第63回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2013年

竹内万彦、坂井田 寛、増田佐和子、岡本美孝:小中学生を対象としたアレルギー性鼻炎に対する治療の実態と治療に対する満足度調査。第31回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、倉敷市、2013年

坂井田 寛、増田佐和子、竹内万彦、鼻汁中のスギ特異的IgE抗体測定の試み。第31回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会。倉敷市、2013年。

坂井田 寛、岩田賢治、山崎皓亮、増田佐和子、竹内万彦。スギ花粉症未発症者におけるスギ花粉の感作に及ぼす因子の検討。第62回日本アレルギー学会秋季学術大会。大阪市、2012年。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

免疫療法による花粉症予防と免疫療法のガイドライン作成に向けた研究
スギ花粉症に対する舌下免疫療法の経年的効果に関する研究

研究分担者 大久保公裕 日本医科大学大学院医学研究科頭頸部感覚器科学分野 教授

研究要旨

舌下免疫療法（SLIT）は欧州で1984年に開始され以来、二重盲検比較試験では高い有効性を示している。アナフィラキシーの報告は現在まで11症例にされているが、複数抗原やラテックスでのものなど特殊性もあり、二重盲検比較試験では存在せず、評価されていない。喘息もある程度の確率で生じうるが、重責発作などは小児を含めてもないとされる。我々は1999年に大学倫理委員会の承認を受けて、SLITの臨床研究を開始した。SLITは、副作用の発生が極めて少なく、さらに有用性が期待されることが証明され、2014年から保険適応が決まっている。この研究では2011年から2013年まで通して、複数年の季節前SLITの効果の検討を行った。実際にそのQOLの悪化程度などから複数年、特に3年以上の方が単年度より花粉症に対し効果がある事が示された。2011年では単年と複数年の違い、2012年ではそれぞれの経年的な比較、2013年度は2年未満と3年以上の比較を行ったものである。すべての年度を通して施行年数が長ければ長いほど、症状やQOLの悪化を抑制できる可能性を証明することは出来なかった。1年では明らかに複数年施行と差があるが、2年でも複数年と差が認められた。1, 2年の短いスパンでは、特に季節前パルスのようなSLITの場合には効果のある事は証明できても最大の効果を発揮できるわけではない。今後SLITの方法論を季節中、季節外を含めての連日投与、あるいは季節前からのパルスのSLITなどを分けて、免疫学的変動や、症状の詳細な検討をしてゆくことは、アレルギー治療に向けて進めてゆくべき検討課題と考えられる。

A. 研究目的

アレルギー免疫療法は現在、皮下免疫療法のみ一般医療で行われているが、アナフィラキシーショックのような重大な副作用が存在するため、根本的治療法であっても広がりがない治療法となっている。舌下免疫療法として抗原エキスの投与経路を注射から舌下に変更すれば、副反応の発生頻度は極めて少なくなることが知られており、安全は方法としても期待が大きい。我々は既にプラセボ対照二重盲検比較試験において、2005年の大量飛散時でも単年度の舌下免疫療法がプラセボより有意にQOLを低下させることを明らかにした（Allergology International 2005）。しかし多くの論文より皮下注射はもちろん舌下免疫療法での経年的効果も単年度での効果を上回ることが示唆されているが、スギ花粉症についてはまだ不確実である。そこで我々は2011年から2013年のスギ花粉症のQOLを舌下免疫療法の施行期間によりそれぞれ評価し、比較検討した。

B. 方法

投与エキスはトリイ薬品製の皮下注射用の標準化スギ花粉エキスを使用し、その舌下免疫療法は複数年の場合には初回投与より維持量の2000JAUの1mlで1週間に1回投与とした。初回の舌下投与は2010年、2011年は10月より2012年は12月より開始し、花粉飛散季節終了後まで継続した。効果判定の症状はJRQLQを用いて、3月、4月の鼻眼の症状、健康関連QOL、総括的状況を算出した。症例は3年以上スギ花粉症の症状があり、RAST2以上の経年的スギ花粉症患者で最終年度は142名であった。

C. 結果

2011年は大量飛散で、くしゃみ、鼻汁、鼻閉、総鼻症状の季節中のそれぞれのスコアはプラセボ、1回目の舌下、複数回の舌下の順で低く推移した（図）。特に鼻閉では本格飛散開始時期よりプラセボでは急に悪化したが、舌下免疫療法群では急激

な悪化は認められなかった。QOL もこのプラセボ、1 回目の舌下、複数回の舌下の順で悪化が少ない傾向にあったが、有意差は認められなかった。

2012 年は少量飛散でくしゃみ、鼻汁、鼻閉などの鼻眼の症状は舌下免疫療法の施行期間の長さに関わらず、低く推移した。健康関連 QOL、総括的状況も同様であった。経年的な評価ではそれぞれの年に差が認められなかったが、5 年以上と 5 年未満では QOL が悪化した（鼻眼の症状は合計 5 点以下、健康関連 QOL は 10 点以下）症例に差が認められる傾向にあった。しかしそれらも有意差は認められなかった。

2013 年のスギ花粉飛散は大飛散となり、東京 9 地点平均では 9522 個/1 cm と平常の倍以上であった。くしゃみ、鼻汁、鼻閉などの鼻眼の症状は 3 年以上 5 年未満(n=57、M±SD、4.26±2.21)の舌下免疫療法の施行期間で 2 年以下(n=35、6.28±2.53)の試行期間に比べ、スコアは低く推移した。5 年以上の症例(n=50、4.78±2.43)とは有意差は認められなかったが、経年期間が長い症例で症状合計スコアは低く推移した。健康関連 QOL、総括的状況も同様に 3 年以上ではどの年度でもピークの 3 月で変化がなかったが、2 年以下では 3 年以上と比較して QOL スコアは有意に高値であった（健康関連 QOL 合計スコア：2 年未満 12.29±4.12、3 年から 5 年未満 8.51±3.04、5 年以上 10.63±3.97）。1 年ごとの経年的な評価では 3 年以上施行した群では症状スコア、QOL スコアとも差が認められなかったが、3 年以上と 2 年以下では QOL が悪化した（鼻眼の症状は合計 5 点以下、健康関連 QOL は 10 点以下）症例に有意差が認められた。

D. 考察

QOL は 2013 年のパルス的な舌下免疫療法は経年的な効果を 3 年目以上施行している症例で、有意差が認められたのは 2013 年のスギ花粉飛散数は 2011 年と同等であり、2012 年より極端に多いため、2012 年の経年的効果とは異なっていたものと考えられた。これは今までの報告同様に現状のアレルゲン免疫療法では舌下免疫療法も 1~2 年のみの施行では最大限の効果を示してはいない事を示し、今までの報告通り 3 年以上の施行が望ましいことが考えられた。舌下免疫療法の施行について最適な年限については、かなり長期の症例もあるため、確定できなかつ

たが、季節前のみパルスのように舌下免疫療法を行う場合には 1~2 年の少ない年限では最大限の効果は得られないと思われる。

E. 結論

舌下免疫療法は、副作用の発生が極めて少なく、さらに有用性が期待される新規の治療法である。我々が行っている季節前みの舌下免疫療法においては連続的に行う舌下免疫療法よりさらに長期の期間が必要である事が示された。連続的ではなくパルスのような季節前舌下免疫療法では確実に 2 シーズン以上の経年的な施行が求められる。このように疾患を根治させる免疫療法の方法論を季節中、季節外の連日投与、あるいは季節前からの限定的パルス季節前舌下免疫療法など詳細に検討してゆくことが罹患人口の多い花粉症克服の検討課題である。

F. 研究発表

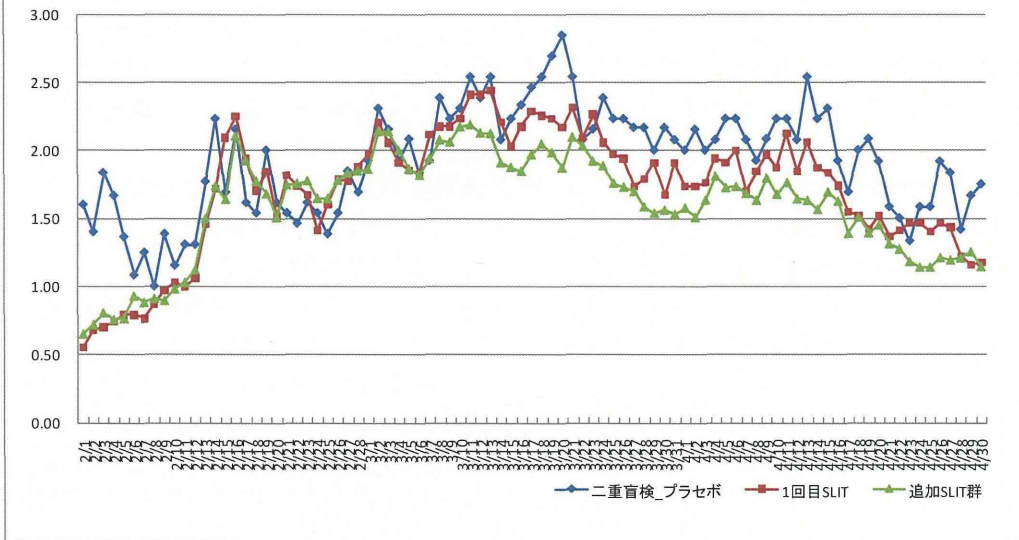
論文

1. Gotoh M, Suzuki H, Okubo K(2011) Delay of onset of symptoms of Japanese cedar pollinosis by treatment with a leukotriene receptor antagonist. *Allergology Int* 60: 483-489.
2. Okubo K, Kurono Y, Fujieda S, Ogino S, Uchio E, Odajima H, Takenaka H, Baba K(2011) Japanese guideline for allergic rhinitis. *Allergology Int* 60: 171-189.
3. Yonekura S, Okamoto Y, Yamasaki K, Horiguchi S, Hanazawa T, Matsune S, Kurono Y, Yamada T, Fujieda S, Okano M, Okubo K(2011) A randomized double-blind, placebo-controlled study of Ten-Cha (*Rubus suavissimus*) on house dust mite allergic rhinitis. *Auris Nasus Larynx* 38: 600-607.
4. Fujikura T, Okubo K(2011) Adrenomedullin level in the nasal discharge from allergic rhinitis cohort. *Peptide* 32: 368-373
5. Fujikura T, Okubo K(2010) Nasal myoepithelioma removed through endonasal endoscopic surgery: A case report. *J Nippon Med Sch* 77(5): 273-276.
6. 大久保公裕：アレルゲン免疫療法の論理と展望. *呼吸* 30: 759-760, 2011

7. 大久保公裕 : アレルギー疾患に対する免疫療法の展望. アレルギー免疫 18: 783-787, 2011
8. 大久保公裕 : 慢性副鼻腔炎の多様性. アレルギー免疫 18: 1611-1613, 2011
9. 神崎晶、橋口一弘、若林健一郎、藤岡正人、末松潔親、大久保公裕 : OHIO Chamber におけるスギ・ヒノキ科花粉連続暴露に対するベポタスチンベシル酸塩 OD錠の効果. 新薬と臨床 60: 2216-2229, 2011.
10. 大久保公裕 : アレルギー性鼻炎の現在と未来. 日本医事新報 4530 : 74-77、2011
11. 大久保公裕 ; スギ花粉症の舌下免疫療法. Medical Practice 28: 742-743, 2011.
12. 増野聡、大久保公裕 : ステロイド点鼻薬の使い方. 呼吸器内科 19 : 152-159, 2011.
13. 大久保公裕 : アレルギー性鼻炎と気管支喘息の関連 - one airway one disease-. 東京都医師会雑誌 64: 13-18 , 2011
14. 大久保公裕、奥田稔 : インターネットを用いたアレルギー性鼻炎患者に対するアンケート調査. アレルギー・免疫 19(1):113-124, 2012
15. Ishida A, Ohta K, Suzuki Y, Kakehata S, Okubo K, Ikeda H, Shiraishi H, Izuhara K (2012) Expression of pendrin and periostin in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis. Allergology Int 61 (4Dec): 589-595.
16. Kamio T, Watanabe K, Okubo K (2012) Acoustic stimulation promotes DNA fragmentation in the guinea pig cochlea. J Nippon Med Sch 79(5): 349-356.
17. Bousquet J, Schnemann HJ, Samolinski B, et al 162/226 in collaboration with the World Health Organization Collaborating center for Asthma and Rhinitis(2012) Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA): Achievements in 10 years and future needs. J Allergy Clin Immunol
18. Hashiguchi K, Okubo K, Wakabayashi K, Tanaka N, Watada Y, Suematsu K, Gotoh M (2012) The assessment of the optimal duration of early intervention with montelukast in the treatment of Japanese cedar pollinosis symptom induced in an artificial exposure chamber. J Drug Assessment 1: 40-47.
19. Endo S, Gotoh M, Okubo K, Hashiguchi K, Suzuki H, Masuyama K (2012) Trial of pranlukast inhibitory effect for cedar exposure using an OHIO chamber. J Drug Assessment 1: 48-54.
20. Mori S, Pawankar R, Ozu C, Nonaka M, Yagi T, Okubo K (2012) Expression and role of MMP-2, MMP-9, MMP-13, TIMP-1 and TIMP-2 in allergic nasal mucosa. Allergy Asthma Immunol Res 4(4):231-239.
21. Igarashi T, Nakazato Y, Kunishige T, Fujita M, Yamada Y, Fujimoto C, Okubo K, Takanhashi H (2012) Mometasone furorate nasal spray releases the ocular symptoms of seasonal allergic rhinoconjunctivitis. J Nippon Med Sch 79(3): 182-189.
22. Wakabayashi K, Hashiguchi K, Kanzaki S, Fujioka M, Tanaka N, Kawashima K, Suematsu K, Yamamotoya H, Iwasaki M, Gotoh M, Horibe S, Naito K, Okubo K (2012) Puranlukast dry syrup inhibits symptoms of Japanese cedar pollinosis in children using OHIO chamber. Allergy Asthma Proc 33(1): 102-109.
23. 大塚博邦、高梨征雄、大久保公裕 : スギ花粉症季節前発症における鼻汁細胞診の解析. アレルギー61(8): 1092-1103, 2012.
24. 秋山一男、長谷川真紀、福田健、平田博国、大久保公裕、後藤穰、榎本雅夫、竹内裕美、出原賢治、川崎誠司、宮本昭正 : あらすたと 3gAllergy の臨床的有効性に関する検討—第1報—多施設共同研究による評価 (内科・耳鼻咽喉科における検討). アレルギー・免疫 19(12):114-128, 2012
25. 大久保公裕 : 季節性アレルギー性鼻炎に対するフェキソフェナジン塩酸塩と塩酸プロメドフェドリン配合剤の有効性及び安全性の検討 : 第Ⅱ相/第Ⅲ相、ランダム化、二重盲検、平行群間比較試験. アレルギー・免疫 19(11): 134-134-146, 2012.
26. Hashiguchi K, Kanzaki S, Wakabayashi K, Tanaka N, Kawashima K, Suematsu K, Tokunaga S, Ogawa K, Okubo K(2013)Efficacy of fuluticasone furoate

- nasal spray and levocetirizine in patients with Japanese cedar pollinosis subjected to an artificial exposure chamber. JDA 2: 94-105.
27. Sashihara T, Nagata M, Mori T, Gotoh M, Okubo K, Uchida M, Itoh H(2013): Effect of Lactobacillus gasseri OLL2809 and alfa-lactalbumin on university-student athletes: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. Appl Physiol Nutr Metab 38: 1228-1235.
 28. Higaki T, Okano M, Kariya S, Fujiwara T, Haruna T, Hirai H, Murai A, Gothoh M, Okubo K, Yonekura S, Okamoto Y, Nishizaki K(2013): Determining Minimal Clinically Important Differences in Japanese Cedar/Cypress Pollinosis Patients. Allergology Int 62(4):487-93.
 29. Gotoh M, Yuta A, Ohta N, Matsubara A, Okubo K (2013) Severity Assessment of Japanese Cedar Pollinosis Using the Practical Guideline for the Management of Allergic Rhinitis in Japan and the Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma Guideline. Allergology Int 62(2): 181-189.
 30. Gotoh M, Okubo K, Hashiguchi K, Wakabayashi K, Kanzaki S, Tanaka N, Fujioka M, Kawashima K, Suematsu K, Sasaki K, Iwasaki M, Yamamotoya H(2013) Noninvasive biological evaluation of response to pranlukast treatment in pediatric patients with Japanese cedar pollinosis. Allergy Asthma Proc. 33(6): 459-466. 19(1):113-124, 2012.
 31. 眞弓光文、佐藤俊明、高木善治、大久保公裕：小児通年性アレルギー性鼻炎を対象としたフェキソフェナジン塩酸塩ドライシロップ剤の安全性及び有効性の検討：第Ⅲ相、多施設共同、非盲検、無対照試験. アレルギー・免疫 21(2): 306-317, 2014.
 32. 大塚博邦、高梨征雄、大久保公裕：スギ花粉症における鼻腔細菌と鼻汁細胞診－季節前無症状群、季節前発症群および季節中発症群の比較－アレルギー62(6): 689-697, 2013.
 33. 菅原一真、御厨剛史、橋本誠、原浩貴、大久保公裕、山下裕司：プラナルカスト水和物と鼻噴霧用ステロイド薬を併用した花粉症初期療法（3年間の検討）アレルギー・免疫 20(12): 1866-1874, 2013.
 34. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎. アレルギー疾患ガイドライン改訂について. アレルギー・免疫 21(3)：418-424, 2014.
 35. 大久保公裕：近年のスギ・ヒノキ花粉症. アレルギー・免疫 21(1): 11-16, 2014.
 36. 大久保公裕：花粉症治療最前線. 公衆衛生 78(2):116-120, 2014.
 37. 大久保公裕：「アレルギー性鼻炎診療ガイドライン－通年性鼻炎と花粉症－2013年版」の変更点について. 鼻アレルギーフロンティア 14(1): 28-32. 2014.
 38. 大久保公裕：アレルギー性疾患に対する舌下免疫療法. 東京小児科医会報 32(2): 68-73, 2013.
 39. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎診療ガイドライン改訂のポイント. 日本薬剤師雑誌 65(6): 619-622. 2013.
 40. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎. JOHNS 29(3): 495-502, 2013.
 41. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法. 耳鼻臨床 106(9): 769-775, 2013.
 42. 大久保公裕：アレルギー性鼻炎診療ガイドライン2013年版－通年性鼻炎と花粉症－. アレルギー62(11): 1458-1463, 2013.
 43. 大久保公裕：気管支喘息とアレルギー性鼻炎. アレルギー・免疫 20(7):985-990, 2013.
- G.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）なし

症状重症度の平均値の推移 (Base~Endポイント)



小中学生のアレルギー性鼻炎の実態に関する調査ならびに免疫療法に関する小児科医の意識に関する研究

研究分担者 下条 直樹 千葉大学大学院医学研究院小児病態学教授
研究協力者 森田 慶紀 千葉大学大学院医学研究院小児病態学
研究協力者 山本 健 千葉大学大学院医学研究院小児病態学

研究要旨

(1) 千葉市内の6カ所の中学校（総生徒数4880名）、10カ所の小学校（総生徒数8359名）に依頼し、医師からアレルギー性鼻炎の診断を受けている①中学生/②小学生とその保護者に①平成23年10月（中学生対象）、②平成24年10月（小学生対象）にアンケート調査を行い、以下の結果を得た。

1. 有効回答：①中学生969名、②小学生1517名の解析では鼻症状の出現時期は①中学生：2-5年前が35%、6-10年前が40%、10年以上前が21%②小学生：1年前が4%、2-3年前が34%、4-6年前が44%、7年以上前が23%、と大部分が幼稚園から小学校低学年の頃に発症していた。
2. 中学生、小学生ともに通年性アレルゲンであるダニよりもむしろ花粉をアレルゲンとする方が多いことが示唆された。
3. およそ80%の中学生、85%の小学生は何らかの治療を必要とした。
4. 使用薬剤の効果に対する評価は、①中学生、②小学生ともに、病院受診者の2/3が有効と回答した。代替医療などの効果を感じているのは1/4程度であり、医療機関を受診した児に比較すると明らかに低かった。
5. ①中学生、②小学生、ともにこれまでのアレルギー性鼻炎の治療（主に薬物療法）には半数が大きな不満がないが、半数は不満があると回答していた
6. 今後希望する治療としては、病院受診しての薬物療法がもっとも多く（50%）、免疫療法（減感作療法）は①中学生で10%強、②小学生で30%弱をであった。免疫療法はエビデンスもあり今後の治療として期待されるが認知度はまだ高くなく適切な情報提供が必要である、と考えられた。

(2) 千葉県小児科医会会員医師（総数450名）に郵送でスギ舌下免疫療法に関するアンケートを用いて意識調査を行い、以下の結果を得た。

1. 207名の会員から解析可能なアンケートが回収された。このうち90.8%が小児科で、経験年数が21年以上の医師が86.5%であった。
2. 勤務先がクリニックである医師は64.3%であり、実地医家が2/3を占めていた。
3. 63.8%が現行のスギ花粉症の薬物療法に患者は満足していないと回答した。
4. 83.6%はアレルギー専門医の資格を持っていなかったが、スギ舌下免疫療法には62.3%の医師が関心があり、70%の医師はスギ舌下免疫療法を自ら実施することを考えていた。すなわち、スギ舌下免疫療法はアレルギー非専門の一般小児科医にも支持されて臨床で行われる可能性が高いと考えられた。
5. 舌下免疫療法に関心を持つ医師の半数以上が、非専門医が講習を受ければ実施して良いと回答した。すべての施行予定の医師は耳鼻科、アレルギー科などの専門医による講習等を十分に受ける必要があると思われる。