

# スギ花粉感作陽性者に対する舌下免疫療法の発症予防効果の検討、ならびにスギ花粉エキスをを用いた免疫療法のヒノキ花粉症への影響に関する研究

研究分担者 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 教授  
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 陸三朗 千葉大学医学部先進気道アレルギー学寄付講座 特任助教  
櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 講師

## 研究要旨

スギ花粉感作陽性ながら未発症者を対象に、prospective な検討から発症の機序を検討すると共に、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法による発症予防効果の有無についてプラセボ対照 2 重盲検試験により検討した。花粉飛散により初めて発症した患者は、非発症者に比較して花粉飛散前には免疫学的なパラメーターに差は認めなかったが、特異的 IgE 値、特異的 Th2 細胞数は飛散後にはより高値を示していた。また、感作陽性未発症者を対象とした舌下免疫療法による介入試験には 91 名が試験に参加して、21 名にスギ花粉症の発症が花粉飛散期の症状ならびに誘発試験で確認されたが、実薬舌下投与群では有意に発症の抑制がみられた。また、非発症群ではスギ花粉特異的制御性 T 細胞の増加がみられた。ヒノキ花粉症の特徴を明らかにするために花粉飛散室でヒノキ花粉曝露試験を行ったが、同じ花粉数でのスギ花粉曝露に比較して誘発症状は軽度であった。一方、ヒノキ花粉曝露によりヒノキ特異的並びにスギ特異的 Th2 細胞の増加がみられ、両者の相関も確認され、スギ花粉症とヒノキ花粉症との関連を示す結果であった。

## A. 研究目的

スギ花粉症患者の増加が認められるが、一方で感作陽性ながら未発症者も多い。この中には今後発症すると考えられる発症予備軍が含まれる。発症の機序と共に、免疫治療による介入によって発症の予防が可能かどうかを検討することを目的として、感作陽性未発症者を対象に舌下免疫療法の予防効果の検討を進める。また、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法がヒノキ花粉症に効果を示すのかどうかについても検討を進める。

## B. 方法

- スギ花粉症発症に関する免疫学的パラメーターを明らかにするためにスギ花粉に感作陽性ながらこれまで発症したことが無い成人を対象に前向き検討を行った。スギ花粉シーズン前の 12 月とシーズン後の 5 月採血を行い、CAP-RAST 以外に総 IgE 値、スギ花粉主要抗原である Cry j-1 特異的 Th2 細胞数を ELISPOT 法により、Cry j-1 特異的制御性 T 細胞数を FACS により解析した。
- スギ花粉に感作陽性ながらこれまで発症したことが無い成人を対象に前向き検討を行った。2011 年 12 月から 2012 年 4 月末、2012 年 12 月から 2013 年 4 月末まで、トリイ スギ花粉エキス 2000JAU 連日舌下投与をプラ

セボ投与対照に 2 重盲検試験として実施した。

- スギ花粉症患者 30 名を対象に千葉大学亥鼻の花粉飛散室でヒノキ花粉の 3 時間曝露試験を 2 日間行い、症状解析と 1 日目の花粉飛散入室前、2 日目の花粉曝露後の飛散室退室時に採血を行い、スギ花粉、ならびにヒノキ花粉特異的な Th2 細胞を ELISPOT 法により解析した。

(倫理面への配慮)

本研究を遂行するにあたり、舌下免疫療法を用いた臨床研究への参加者からは、十分な説明後に文書による同意を得て行った。

提供される血液解析に際しては、本研究の方法、必要性、安全性および有用性、さらに拒否しても不利益にならないことを十分説明した後、同意の得られた場合にのみ行った。これらの検討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。

## C. 結果

感作陽性未発症者 33 名が参加して発症の免疫学的な検討では 8 名が翌年の花粉飛散期に初めてスギ花粉症を発症した。発症した 8 名と発症しなかった 25 名について比較すると、年齢、性、飛散前のスギ花粉特異的 IgE

抗体値(sIgE)、総 IgE 値(tIgE)、ダニに対する感作率に 2 群間に差は認めなかった。飛散後にはいずれの群でもスギ花粉特異的 IgE 値の上昇が見られたが、発症群では非発症群と比較してスギ花粉特異的 IgE 値は有意に高値を示していた。総 IgE 値はいずれの群でも軽度の増加が全体としては認めたが、個人差がいずれの群でも高く、群間でも差は明らかではなかった。一方、花粉飛散前のスギ花粉特異的 IgE と総 IgE の比 sIgE/tIgE は発症群で非発症群と比較して有意に高値であった。Cry j-1 特異的 IL-4, IL-5, IL-13 産生細胞は花粉飛散前には発症群と非発症群で差は見られなかったが、花粉飛散後には発症群で増加が見られた。非発症群では増加は明らかではなかった。Cry j-1 特異的制御性 T 細胞についてはいずれの群でも花粉飛散前後で有意な変動は無く、また群間での差も明らかではなかった。

舌下免疫療法を用いた介入試験の参加者は 91 名でプラセボ群 40 名、実薬群 51 名で、平均年齢はプラセボ群 30.6 歳、実薬群 33.7 歳で差はなかった。性、喘息合併率、アトピー性皮膚病合併率、通年性アレルギー性鼻炎合併率、スギ IgE 値、ダニ IgE 値、総 IgE 値についても 2 群間に差は認めなかった。プラセボ群では 15 名 37.5%に、実薬群では 6 名 17.7%にスギ花粉症の発症が認められたが、実薬群で有意に低かった。末梢血中の IL-10<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> iTreg の比率は実薬群の非発症群で有意に高かった。スギ IgE 値は介入開始前と花粉飛散後では、発症群では非発症群と比較して有意に上昇していた。また、スギ IgE 値/総 IgE 値が低い事が舌下免疫療法によるスギ花粉発症予防の効果予測因子となる可能性が示唆された。

スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法の 2 重盲検試験の解析からヒノキ花粉が中心となる 4 月の症状薬物スコアを舌下実薬群、プラセボ舌下群で比較すると年により実薬群でスコアが低値を示す年もあれば差を認めない年もあった。花粉飛散が少ないと差が明らかではない傾向があった。花粉飛散室の検討ではヒノキ花粉曝露は 12000 個/m<sup>3</sup>/hr の濃度でも、スギ花粉曝露で用いている 8000 個/m<sup>3</sup>/hr でみられる症状よりも軽症であった。しかし、2

日間連続のヒノキ花粉曝露前後で末梢血のヒノキ特異的 Th2 細胞数は増加がみられ、同時に測定したスギ花粉特異的 Th2 細胞数と相関がみられた。

#### D. 考察

スギ花粉症発症群、非発症群で飛散前のスギ花粉特異的 IgE 値には差が見られず、非発症群でも花粉曝露により特異的 IgE 抗体の増加が見られたが、発症群の方が有意に高い増加が見られた。また、花粉飛散前の sIgE/tIgE の割合は発症群で有意に高い数値であった。Cry j-1 特異的 Th2 細胞は飛散前には差が見られなかったものの、発症群では飛散後に増加が見られ、非発症群では増加が明らかではなかった。sIgE/tIgE は発症予測因子に、花粉曝露による特異的 Th2 細胞のクローンサイズの増加は発症のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

スギ花粉感作陽性未発症者に対するスギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法はスギ花粉症の発症を有意に抑制した。スギ IgE 値は発症群で非発症群と比較して花粉飛散後には有意に増加していたが、プラセボ群と実薬群では差は明らかではなかった。花粉飛散前の花粉エキスの投与期間が 2 カ月未満で短かった影響もあると考えられた。一方、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法の臨床効果は花粉飛散数による影響を受け、かつヒノキ花粉による症状はスギ花粉による症状と比較して軽症であることが評価を難しくしている可能性がある。しかし、ヒノキ花粉による花粉飛散室での検討から、ヒノキ花粉を認識する Th2 細胞はスギ花粉も認識することが示唆され、スギ花粉エキスをを用いた免疫療法はヒノキ花粉症にも効果を示すことが示唆された。

#### E. 結論

スギ花粉飛散前の sIgE/tIgE は発症予測因子に、花粉曝露による特異的 Th2 細胞のクローンサイズの増加は発症のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。また、花粉症発症の二次介入として舌下免疫療法の有効性が示めされた。スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法はヒノキ花粉症にも一定の有効性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. Fujimura T, Yonekura S, Horiguchi S, Taniguchi Y, Saito A, Yasueda H, Inamine A, Nakayama T, Takemori T, Taniguchi M, Sakaguchi M, and Okamoto Y. Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in two-year sublingual immunotherapy (SLIT) for *Japanese cedar pollinosis*. *Clinical Immunology*. 139:65-74, 2011.
2. Yonekura S, Okamoto Y, Yamasaki K, Horiguchi S, Hanazawa T, Matsune S, Kurono Y, Yamada T, Fujieda S, Okano M, Okubo K. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of Ten-Cha (*Rubus suavissimus*) on house dust mite allergic rhinitis. *Auris Nasus Larynx*. 38:600-607, 2011.
3. Hisamitsu M, Okamoto Y, Chazono H, Yonekura S, Sakurai D, Horiguchi S, Hanazawa T, Terada N, Konno A, Matsuno Y, Todaka E, Mori O. The influence of environmental exposure to formaldehyde in nasal mucosa of medical students during cadaver dissection. *Allergology International* 60:373-379, 2011.
4. Yonekura S, Okamoto Y, Sakurai D, Horiguchi S, Konno A. Effect of aging on the natural history of seasonal allergic rhinitis in middle-aged subjects in south Chiba, Japan. *International Archives of Allergy and Immunology*. 157:73-80, 2012.
5. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Yonekura S, Shigtoshi H, Shimojo N, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A, Suzuki Y. Association of the MMP9 gene with childhood cedar pollen sensitization and pollinosis. *J Hum Genet on line publication*. 1-8, 2012.
6. Uekusa Y, Inamine A, Yonekura S, Horiguchi S, Fujimura T, Sakurai D, Yamamoto H, Hanazawa T, Okamoto Y. Immunological parameters with the development of allergic rhinitis: A preliminary prospective study. *American Journal of Rhinology and Allergy*, 2012. *in press*
7. Inamine A, Sakurai D, Horiguchi S, Yonekura S, Hanazawa T, Hosokawa H, Matuura-Suzuki A, Nakayama T, Okamoto Y. Sublingual administration of *Lactobacillus paracasei* KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells. *Clinical Immunology*, 2012. *in press*
8. 岡本美孝. アレルギー性鼻炎における免疫療法, 喘息, 24:42-46, 2011.
9. 岡本美孝. 小児喘息に合併するアレルギー性鼻炎・副鼻腔炎の診断と治療, 小児科, 52:1029-1035, 2011.
10. 岡本美孝. アレルギー疾患の早期治療介入, アレルギー, 60:945-955, 2011.
11. 岡本美孝. 花粉症の舌下免疫療法, 小児内科, 43:1937-1941, 2011.
12. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Yonekura S, Shigtoshi H, Shimojo N, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A, Suzuki Y. Association of the MMP9 gene with childhood cedar pollen sensitization and pollinosis. *J Hum Genet on line publication* 1-8, 2012.
13. Uekusa Y, Inamine A, Yonekura S, Horiguchi S, Fujimura T, Sakurai D, Yamamoto H, Hanazawa T, Okamoto Y. Immunological parameters with the development of allergic rhinitis: A preliminary prospective study. *American Journal of Rhinology and Allergy* 26: 92-96, 2012.
14. Inamine A, Sakurai D, Horiguchi S, Yonekura S, Hanazawa T, Hosokawa H, Matuura-Suzuki A, Nakayama T, Okamoto Y. Sublingual administration of *Lactobacillus paracasei* KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells. *Clinical Immunology* 143: 170-179, 2012.
15. Yonekura S, Okamoto Y, Horiguchi S, Sakurai D, Chazono H, Hanazawa T, Okawa T, Aoki S, Konno A. Effects of aging on the natural history of seasonal allergic rhinitis in middle-aged subjects in South chiba, Japan. *Int Arch Allergy Immunol* 157: 73-80, 2012.
16. Yamamoto H, Yonekura S, Sakurai D, Inamine A, Sakurai T, Inuma T, Horiguchi S, Okamoto Y. Comparison of nasal steroid with anti-histamine in prophylactic treatment against pollinosis using an environmental challenge chamber. *Allergy and Asthma*

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. 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. 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、舩越うらら、米倉修二、櫻井大樹、岡本美孝. 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 16<sup>th</sup> 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「舌下免疫療法」. 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

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

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