

Aにて測定した。一方、OVA感作発症マウスの検討では、OVA感作後マウスに1週間OVA点鼻を行い、鼻炎を発症させた後、Lipo- α GalCer+OVAを1週間舌下投与し、さらに1週間OVA点鼻を行い解析した。

3) スギ花粉症に対する舌下免疫療法のランダム化プラセボ対照二重盲検比較試験において、実薬20名、プラセボ20名の、治療開始後の花粉飛散期2シーズンの症状をもとに、1年目に中等症以上で、2年目に軽症もしくは著明改善例を有効群とし、1年目に中等症以上で、改善が低い症例を無効群とした。これらにおいて、スギIgE抗体価、スギ特異的IgG4抗体価の測定、およびスギ抗原刺激後の特異的IL-10陽性制御性T細胞をフローサイトメトリーにて、スギ抗原刺激後に特異的に反応するTh2サイトカイン産生細胞をELISPOTにて検討を行った。

(倫理面への配慮)

参加者には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承認を得て行われた。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、委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

1) RNAシーケンサーの解析から約4万の遺伝子が拾い上げられた。スギ抗原刺激前後で有意に変動のあった遺伝子数は、未感作群から感作未発症、発症へと向かうに従い増加していた。次にRNAシーケンサーで未感作から発症へと上昇、もしくは低下する遺伝子の中で、有意な挙動を示した遺伝子に注目しreal time-PCRにて追加検討を施行したところ、RNAシーケンサー、real tim-PCRで同様の挙動を示す遺伝子が複数個確認された。

2) OVA感作未発症マウスを用いた発症予防の検討では、Lipo- α GalCer (0.2 μ g)とOVAの同時投与群では、OVA単独群またはOVAと空のリポソームのみを投与した群と比較して鼻掻きおよびくしゃみ回数の抑制を認めた。この効果はLipo- α GalCerの高用量 (2 μ g)投与でさらに顕著であった。また血中IgEは有意に抑制されたが、IgG2a、IgAは有意な増加を認めた。OVA感作後の発症マウスを用いた検討では、感作未発症マウスによる検討と同様にLipo- α GalCer、OVA同時投与群で症状の有意な改善を認め、また血液所見も同様に血中IgE産生は有意に抑制されたが、IgG2a、IgAの有意な増加を認めた。また頸部リンパ節細胞の検討ではIL-4の産生抑制、IFN- γ の産生増強が認められた。

3) スギ特異的IgE、スギ特異的IgG4については、治療開始後、実薬はプラセボに対し有意な上昇がみられたが、実薬有効群と実薬無効群に差が見られなかった。CD4+CD25+細胞中のスギ特異的IL-

10+Foxp3+細胞の比率は、実薬有効群のみで有意な上昇を認め、実薬無効群およびプラセボ群の有効群と無効群では有意な上昇を認めなかった。スギ特異的IL-4産生細胞およびIL-5産生細胞は、実薬有効群において、花粉飛散後に実薬無効群およびプラセボ群の有効群と無効群と比較し有意に低値であった。治療開始前後での変動差は、実薬有効群は実薬無効群に比較し有意に低値であった。

D. 考察

1) 今回好塩基球に対する抗原刺激と未刺激での遺伝子発現変化を検討したところ、未感作、感作未発症、発症と遺伝子変動が増大し、発症に向かって段階を経て好塩基球が変化している可能性が示唆された。感作未発症群と発症群においてもスギ抗原に対する好塩基球の反応性に違いがあることが示され、遺伝子変化が感作から発症へと段階を経てアレルギー症状の出現を変化させていく可能性が示唆される結果であった。さらなる検討を行うことで、アレルギー発症機序の解明と、発症・未発症を診断するマーカーの開発につながるものが期待される。

2) OVA感作未発症マウス、および発症マウスともOVA抗原とともにLipo- α GalCerをアジュバントとして投与することで、速やかにアレルギー症状の改善を認め、血液所見、頸部リンパ節所見からTh1へのシフトが示唆された。また血中IgA値の上昇については、粘膜免疫の賦活化が示唆された。

3) スギ特異的IgE、スギ特異的IgG4については、実薬有効群と実薬無効群は同様の挙動を示したことから、アレルゲン投与により影響を受けるが、治療効果と関連しないことが示唆された。末梢血中のスギ特異的IL-10陽性制御性T細胞、およびスギ特異的Th2細胞は、実薬有効群でのみ有意な上昇を認めたことから、スギ舌下免疫療法の治療効果を反映する可能性が示唆された。

E. 結論

1) スギ花粉症の未感作・感作未発症・発症の3群における好塩基球の応答の変化に着目し、好塩基球の遺伝子レベルにおける変化をRNAシーケンサー、rear time-PCRを用いて検討した。両者の検査において同様の挙動を示した遺伝子は発症機序の解明に有用な可能性と、感作・発症を診断しうるマーカーとなりうる可能性が示唆された。

2) Lipo- α GalCerを舌下免疫療法のアジュバントとして用いることにより、早期にアレルギー症状の抑制が認められ、効果的なアジュバントとなりうる可能性が示唆された。その機序としてNKT細胞を介したTh1へのバランスシフトが示唆された。

3) 末梢血特異的IL-10陽性制御性T細胞、および特異的Th2細胞の変動は、舌下免疫療法の治療効果を反映する可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sakurai T, Inamine A, Iinuma T, Funakoshi U, Yonekura S, Sakurai D, Hanazawa T, Nakayama T, Ishii Y, Okamoto Y.. Activation of invariant natural killer T cells in regional lymph nodes as new antigen-specific immunotherapy via induction of interleukin-21 and interferon- γ . *Clin Exp Immunol*. 2014. 178:65-74.

2. 学会発表

1) 新井智之、山本陸三朗、米倉修二、櫻井大樹、花澤豊行、岡本美孝. アレルギー性鼻炎における好塩基球と特異的IgEの検討. 第32回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会. 2014. 大阪.

2) 新井智之、山本陸三朗、飯沼智久、米倉修二、櫻井大樹、花澤豊行、岡本美孝. アレルギー性鼻炎における好塩基球とIgEの反応性の検討. 第53回鼻科学会. 2014. 大阪.

3) 新井智之、米倉修二、櫻井大樹、鈴木智、岡本美孝. アレルギー性鼻炎患者の血中好塩基球の検討. 第74回臨床アレルギー研究会. 2014. 東京.

4) Daiju Sakurai, Shuji Yonekura, Tomohisa Iinuma, Yoshitaka Okamoto. Functional analysis of basophil and specific IgE for cedar pollen in asymptomatic patients. 25th Congress of the European Rhinologic Society. 2014. Amsterdam.

5) 櫻井大樹、アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法、2014年7月、第85回日耳鼻千葉県地方部会学術講演会、教育講演、千葉市

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

出生コホートにおける感作と気道アレルギー発症調査

研究分担者 千葉大学大学院医学研究院 小児病態学
山出 史也、下条 直樹

研究要旨

近年、小児においても、アレルギー性鼻炎 (AR) 患者数が増加しているとされるが、乳幼児の AR の診断は難しく、乳幼児での AR 有病率やアレルギーマーチにおけるその位置づけについては不明な点が多い。そこで、当科でフォローしている出生コホート (269 名) を対象として、1 歳および 2 歳での AR の有病率を検討するとともに、AR と食物抗原感作との関連について検討を行った。

- ・ダニ感作率は、1 歳および 2 歳において、6.7% および 25.3% であった。
- ・AR 有病率は、1 歳および 2 歳において、1.9% (5 名) と 3.1% (8 名) であったが、1 歳および 2 歳において、AR 症例の入れ替わりがみられた。
- ・1 歳において、AR を有する児においては、卵白特異的 IgE 陽性率が AR のない児に比較して有意に高く、食物抗原感作が AR の発症に寄与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

小児では気道感染症の頻度が高く、感染症とアレルギー性鼻炎 (AR) による症状との判別が困難である。そのため、乳幼児の AR の診断は難しく、AR の有病率やアレルギーマーチにおける位置づけについては不明な点が多い。近年、小児においても、AR 患者数が増加しているとされる。これまでの調査から、AR の多くが小学校入学前から発症していることが明らかになっている。われわれは、現在、アレルギー疾患発症に関連する因子を解析する目的で、出生コホート研究を行っており、同出生コホート集団を対象として、1 歳時および 2 歳時におけるアレルギー性鼻炎の有病率を検討するとともに、アレルギー性鼻炎と食物抗原感作との関連についても検討することとした。

B. 研究方法

対象は、千葉大学医学部附属病院または千葉メディカルセンターにて出生し、出生コホ

ート研究 (コホート研究名: アレルギー発症機序の解明にむけたアレルギー出生コホート研究とヒト化マウス作製) に参加しているアレルギーハイリスク児 269 名 (アレルギーハイリスク児: 両親、同胞のいずれかに何らかのアレルギー疾患がある児)。

今回は、本出生コホート研究における、1 歳および 2 歳時での、アレルギー性鼻炎、アレルギー感作 (コナヒョウヒダニ、卵白) に関するデータを用いてアレルギー性鼻炎の有病率等の検討を行った。

なお、アレルギー性鼻炎の診断は、ダニ特異的 IgE 抗体がクラス 2 以上であり、かつ、耳鼻科医の診察により「典型的な鼻炎症状および明らかな鼻炎の所見を認める」とされたもの、とした (典型的な鼻炎症状および明らかな鼻炎の所見: 反復性のくしゃみ、水様性鼻漏、鼻閉)。

(倫理面への配慮)

本出生コホート研究は、当院生命倫理審査会で承認された研究であり、本研究では全般

にわたり、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の三省による平成17年4月1日施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、実施されている。

C. 研究結果

日本における主要アレルゲンである、卵白およびダニ感作については、1歳時において、それぞれ、33.1%および6.7%、2歳時において、それぞれ30.5%および25.3%であった(図1)。ダニ感作率については、1歳から2歳に大きく上昇することが確認された。

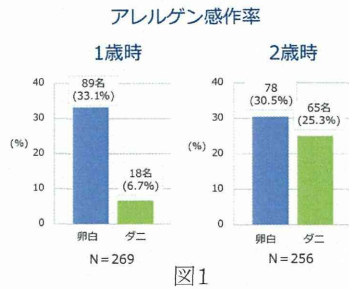


図1

1歳および2歳におけるARの有病率については、それぞれ1.9% (5名) と3.1% (8名) (図2および3) であった。

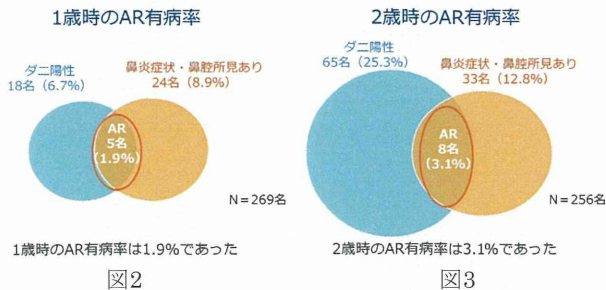


図2

図3

AR症例数の推移については、図4に示すが、1歳および2歳ともにARと診断された児は3名、1歳においてのみARと診断された児は2名、2歳において新たにARと診断された児は5名であった。

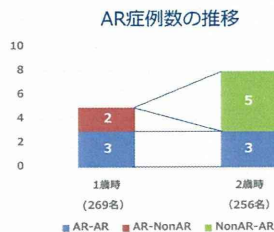


図4

食物アレルゲン感作とARとの関連を検討したところ、1歳において、ARのない児における卵白感作率は32% (図5の上段左の図) で

あったが、ARを有する児では80% (図5の上段右の図) と、ARを有する児においては、卵白特異的IgE陽性率がARのない児に比較して有意に高かった。なお、2歳においては、このような関連は認めなかった (図5下段の図)。

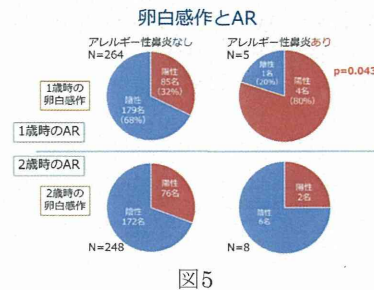


図5

D. 考察

海外を含めた過去のAR有病率に関する報告では、1~2歳におけるARの有病率は、1.5~24.9%と大きなバラつきがみられる。耳鼻科医による診察を含む検討に比較して、質問票のみでの検討では、有病率が高い傾向にあることから、年少児質問票のみの調査では、幼少児におけるARの有病率は実際よりも高く評価されている可能性がある。

1歳時のARでは、卵白感作陽性である児が多い一方、2歳時のARでは、そのような関連は認めなかった。このことは、1歳時にARを認める児では、食物アレルギーを経由してARを発症する児が主体である一方、2歳でのARでは、食物アレルギーを経由する児および経由しない児が混在していることが推測された。

E. 結論

AR有病率は1歳時で1.9%、2歳時で3.1%であった。

1歳時の卵白感作は、1歳時のダニをアレルゲンとするARと関連しており、食物抗原感作がARの発症に寄与している可能性がある。

今後、本コホートでは4歳での鼻炎発症、感作等の評価を行なう予定にしている。

G. 研究発表

- 論文発表
なし
- 学会発表

Fumiya Yamaide, Naoki Shimojo, Syuji

Yonekura, Hiroko Suzuki, Takeshi Yamamoto, Yuzaburo Inoue, Takayasu Arima, Hiroyuki Kojima, Yoshitaka Okamoto, Yoichi Kohno
Prevalence of allergic rhinitis to house dust mite at 1 year of age in a Chiba city birth cohort (interim analysis)
EAACI Congress 2014
Copenhagen, Denmark
2014

山出史也、下条直樹、米倉修二、鈴木裕子、山本健、井上祐三朗、有馬孝恭、岡本美孝、河野陽一
千葉県出生コホート集団におけるアレルギー性鼻炎の有病率（1歳での中間解析）
第50回日本小児アレルギー学会
横浜市、日本
2013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

委託業務成果報告 (分担)

舌下免疫療法アジュバントとしての黄色ブドウ球菌プロテイン A の可能性

研究分担者	岡野光博	岡山大学大学院	耳鼻咽喉・頭頸部外科学	准教授
研究協力者	檜垣貴哉	岡山大学大学院	耳鼻咽喉・頭頸部外科学	助教
研究協力者	春名威範	岡山大学大学院	耳鼻咽喉・頭頸部外科学	医員
研究協力者	野山和廉	岡山大学大学院	耳鼻咽喉・頭頸部外科学	医員

研究要旨

舌下免疫療法の効果をもつ手段として、免疫寛容を誘導するアジュバントの開発が望まれる。今回我々は、黄色ブドウ球菌プロテイン A に注目し、本分子による免疫制御作用を検討した。ヒト末梢血単核細胞はプロテイン A の単独刺激に対して IL-10 産生を示し、その産生は免疫グロブリン存在下で有意に増強された。スギ花粉症患者由来の末梢血単核細胞の Cry j 1 刺激による IL-5 産生はプロテイン A の単独添加では変化しなかったが、IgG の存在下で抑制された。以上の結果より、プロテイン A は IgG や IgA といった免疫グロブリンと免疫複合体を形成し、IL-10 産生を誘導しスギ花粉特異的な IL-5 産生を抑制する可能性が示された。IgG や IgA は唾液に含まれることから、プロテイン A は舌下免疫療法アジュバントとして利用しうる可能性が示唆された。

A. 研究目的

舌下免疫療法の効果をもつ手段として、高力価エキスの開発や治療スケジュールの検討などとともに、アジュバントの開発が望まれている。我々は最近、黄色ブドウ球菌の主要な細胞壁成分であるプロテイン A と IgG との免疫複合体が鼻副鼻腔粘膜の付着細胞を刺激し、制御性サイトカインである IL-10 の産生を強力に誘導することを明らかにした (Okano M, et al. JACI in press)。プロテイン A は IgG のみならず唾液に大量に含まれる IgA とも結合することが知られており、さらに唾液中には IgG も存在することから、プロテイン A を舌下免疫療法において免疫寛容誘導アジュバントとして利用できる可能性がある。今回はプロテイン A の免疫制御活性について、特に唾液に存在する免疫グロブリンとの複合体形成に注目し、基盤的な検討を行った。

B. 研究方法

健康人およびスギ花粉症患者から採血を行い、末梢血単核細胞を単離した。種々の濃度

のプロテイン A を単独あるいは免疫グロブリン (IgG、IgA) の存在下にて刺激し、培養上清中の IL-10 を測定した。また末梢血単核細胞をスギアレルゲン Cry j 1 にて刺激する際に、プロテイン A を単独あるいは免疫グロブリンとの存在下で添加し、IL-5 産生の変化を観察した。

(倫理面への配慮)

被験者に対しては学術的な意義について十分な説明を行い、同意・協力が得られた上で行った。

C. 研究結果

末梢血単核細胞は $10 \mu\text{g/ml}$ のプロテイン A の単独刺激に対して IL-10 産生を示した。プロテイン A による IL-10 産生は、IgG ($100 \mu\text{g/ml}$) 存在下で有意に増強された。プロテイン A による IL-10 産生は、IgA 存在下でも増強する傾向を示した。スギ花粉症患者由来の末梢血単核細胞の Cry j 1 刺激による IL-5 産生はプロテイン A の単独添加では変化しなかったが、

IgGの存在下で抑制された。

D. 考察

プロテインAはIgGやIgAなどの免疫グロブリンと結合し免疫複合体を形成することが知られている。最近、免疫複合体は樹状細胞やマクロファージに働き、免疫寛容を誘導することが報告されている (Zhang Y, et al. *Eur J Immunol* 2011)。今回の検討からは、プロテインAはIgGやIgAといった免疫グロブリンと免疫複合体を形成し、IL-10産生を誘導しスギ花粉特異的なIL-5産生を抑制する可能性が示された。IgGやIgAは唾液の主要な免疫グロブリンであり、プロテインAを粘膜アジュバントとして舌下投与すると唾液中で免疫複合体を形成し、舌下免疫療法による免疫寛容を増強することが期待できる。

E. 結論

黄色ブドウ球菌プロテインAは免疫寛容誘導型の粘膜アジュバントとして舌下免疫療法の有効性を上げる可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kariya S, Okano M, Oto T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Nishizaki K. Pulmonary function in patients with chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis. *The Journal of Laryngology and Otology* 128: 255-262, 2014.
2. Makihara S, Okano M, Fujiwara T, Noda Y, Higaki T, Miyatake T, Kanai K, Haruna T, Kariya S, Nishizaki K. Local expression of IL-17A is correlated with nasal eosinophilia and clinical severity in allergic rhinitis. *Allergy and Rhinology* 5: 22-27, 2014.
3. 岡野光博. ここだけは押さえておきたいアレルギー総合診療から専門医へ：耳鼻咽喉科専門医へ。大久保公裕編集 全日本病院出版会 東京 2014. 72-77 頁.
4. 岡野光博. スギ花粉症ではなく、スギ・ヒノキ花粉症であることの意味。アレルギー・免疫 21: 27-36, 2014.
5. 野山和廉, 岡野光博. 花粉症に対する基本的な薬物療法。アレルギーの臨床

34: 27-31, 2014.

6. 岡野光博. アレルギー用薬の上手な使い方：6. 点鼻抗アレルギー薬。耳鼻咽喉頭頸 86:218-221, 2014
7. 岡野光博. くしゃみがおこるメカニズムは？. *JOHNS* 30: 861-865, 2014.
8. 岡野光博. セマフォリン3A. アレルギー 63: 809-810, 2014.
9. 岡野光博. 耳鼻咽喉科 喘息合併時における鼻アレルギー治療薬の選択。日本医事新報 4712: 60, 2014.
10. 岡野光博. アレルギー性鼻炎・副鼻腔炎と喘息。呼吸 33: 982-989.
11. 岡野光博. 舌下免疫療法。岡山医学会会誌 126: 165-166, 2014.
12. 岡野光博. 鼻アレルギー診療におけるエビデンス：重症度の臨床評価。Progress in Medicine 34: 1729-1737, 2014.
13. 岡野光博. 「アレルギー疾患の治療薬」抗プロスタグランジンD2・トロンボキササンA2薬。アレルギー・免疫 21: 1978-1985, 2014.
14. 岡野光博. コホート研究。アレルギー 63: 1273-1274, 2014.
15. 岡野光博. 小児アレルギー性鼻炎。小児耳鼻咽喉科 35: 217-221, 2014.

2. 学会発表

1. 岡野光博. 黄色ブドウ球菌コンポーネントによる好酸球性副鼻腔炎の制御。第53回日本鼻科学会。大阪。2014年（シンポジウム）
2. 岡野光博. 花粉症とプロバイオティクス。日本アレルギー学会第1回総合アレルギー講習会。2014年（シンポジウム）

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
IL-10産生促進剤 (PCT/JP2014/73752)
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

【平成 26 年度報告書】

厚生労働科学研究委託費(難治性疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患実用化研究分野)))

委託業務成果報告 (分担)

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：

スギ花粉症の発症のメカニズム解明のために、網羅的遺伝子解析を行い、候補遺伝子をこれまで報告してきた。この中で Cystatin SN (CST1) がスギ花粉症患者で高発現していた。CST1 をスギ花粉症発症の関連遺伝子と考え、本研究では CST1 について発現機構と機能解析を行った。鼻粘膜上皮細胞において、CST1 の誘導には IL-4 と IL-13、そして tryptase が関与することを見出した。さらに tryptase は IL-4 と IL-13 による CST1 の誘導を増強させた。CST1 を鼻線維芽細胞に作用させると、fibronectin と type I collagen の mRNA が増強した。本研究結果より、CST1 は Th2 環境下に誘導され、鼻粘膜における線維化に関与することで、抗原からの防御機構を担うことが示唆された。またこれらの反応には肥満細胞が関与することが考えられた。

A. 研究目的

肥満細胞はアレルギー性鼻炎において重要なエフェクター細胞である。肥満細胞が他の免疫細胞や上皮細胞に作用することで、アレルギー炎症を惹起させることが知られている。肥満細胞には様々なフェノタイプが存在しているが、アレルギー性鼻炎発症の段階で、どのようにフェノタイプが変化するか、そして他の免疫細胞や上皮細胞にどのような影響を与えるか、明確にされていない。このため、アレルギー性鼻炎の患者数の増加や低年齢化に歯止めがかからず、とりわけ先進国における問題の一つとなっている。アレルギー性鼻炎が発症するには、抗原に対する感作が必要である。感作は気道以外にも皮膚などで成立することが分かっている。抗原量の増加や大気汚染、食物摂取の変化、そして遺伝的素因が加わることにより感作が成立することが知られている。我々の行った疫学調査では、最も頻度が高い吸入抗原はスギ花粉であり、成人の 57.5% がスギ花粉に対する血清特異的 IgE を有していた。スギ花粉症は日本特有の季節性アレルギー性鼻炎であり、大量かつ広範囲に花粉が飛散するため重症化しやすい。一方で、血清スギ特異的 IgE が陽性でありながら、発症していない者が約 30% 存在している。この感作陽性未発症者についてはこれまで報告がなく、今後どのようなメカニズムで発症するか、あるいは発症しないかという点については現時点で予測不可能である。

感作と発症を解明すべく、これまでスギ花粉症患者、スギ感作陽性未発症者、非アレルギー者を対象に、末梢血 CD4 陽性 T 細胞と鼻粘膜擦過細胞について、スギ花粉飛散時期に網羅的遺伝子解析を行

ってきた。その結果末梢血 CD4 陽性 T 細胞では Interleukin17 receptor B (IL17RB) がスギ花粉症患者で上昇していることを見出した。また鼻粘膜擦過細胞ではスギ花粉症患者と非アレルギー者の間で 2 倍以上の有意な差を認めた 32 遺伝子を同定した。このうち、Cystatin SN (CST1) は、スギ花粉症患者で高発現しており、非アレルギー者、スギ感作陽性未発症者、スギ花粉症患者の順に発現が増加していることがわかった。このため、CST1 は感作から発症に関連する遺伝子であることが示唆された。この CST1 についてはアレルギー性鼻炎に関する報告はなく、本研究では CST1 の機能解析を目的とした。

B. 研究方法

1. 鼻粘膜上皮細胞培養

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かつスギ花粉症患者から樹立した。下甲介粘膜をブラシで数回擦過し、37°C、5%CO₂ のインキュベーターにて 2 週間培養し、80% のコンフルエントになった段階で使用した。1 x 10⁶ 個/m の鼻粘膜用皮細胞に、LPS(10ng/ml)、IFN-γ (20ng/ml)、IL-4 (100ng/ml)、IL-13 (100ng/ml)、tryptase (100μg/ml) を添加し、刺激後 12 時間、24 時間後に細胞を回収し、RNA 抽出した。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) を用いた。

2. 血清 C3a、C5a 測定

スギ花粉症患者、スギ感作陽性未発症者、非ア

ルギー者のスギ花粉飛散時期の血清中の補体(C3a、C5a)をELISA(BD Biosciences, San Diego, US)にて測定した。

3. 下甲介粘膜線維芽細胞培養

鼻粘膜線維芽培養細胞株は、通年性アレルギー性鼻炎かつスギ花粉症患者から樹立した。培養した線維芽細胞にリコンビナント CST1(100ng/ml)を添加し、添加後 12 時間、24 時間後の fibronectin と type I collagen の mRNA の発現量を比較した。

4. Picrosiriusred 染色

鼻粘膜における線維化の状態を把握するため、Picrosiriusred 染色を行った。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と非アレルギー患者の下甲介粘膜を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は福井大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。鼻粘膜細胞の採取は、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. CST1 の鼻粘膜上皮細胞における誘導

鼻粘膜上皮細胞において、非刺激の定常状態では CST1 の発現はごく低い発現レベルであった。しかし、IL-4、IL-13、tryptase により CST1 の発現が増加した。さらに tryptase は IL-4 と IL-13 による CST1 誘導をさらに増強させた。

2. 血清 C3a、C5a

スギ花粉飛散時期に採取した血清中に含まれる C3a と C5a の濃度を ELISA にて測定した。その結果スギ花粉症患者では、非アレルギー者と比べ C3a、C5a ともに有意に増加していた。一方、スギ感作陽性未発症者は非アレルギー者と比較しても有意な増加はなかった。

3. 鼻線維芽細胞における CST1 のコラーゲン産生への影響

培養鼻線維芽細胞にリコンビナント CST1 を添加すると、添加後に fibronectin と type I collagen の mRNA が増強した。

4. Picrosiriusred 染色

手術で採取した重症アレルギー性鼻炎患者と非アレルギー性鼻炎患者における粘膜下の線維化を検討した。その結果重症アレルギー性鼻炎患者では、基底膜、間質における線維化が顕著に認められた。H-E 染色と比較すると、重症アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜には、好酸球をはじめとする多数の炎症細

胞の浸潤が認められた。

D. 考察

本研究では CST1 を感作から発症に関連する候補遺伝子として鼻粘膜上皮細胞における誘導機構と機能解析について検討した。CST1 は Cystatin family に属する protease inhibitor である。CST1 の発現は唾液腺や涙腺、膀胱に恒常的に認められ、細菌などの外因性の protease に対する拮抗作用により生体の防御機構を担っている。本研究において、IL-4 と IL-13 といった Th2 サイトカインにより CST1 が誘導されることを見出した。これらの Th2 サイトカインはアレルギー性鼻炎において、肥満細胞や好塩基球、好酸球で産生され、アレルギー炎症を惹起・増強させる。この中心を担うのは肥満細胞である。肥満細胞が抗原特異的 IgE と FcεR1 とが架橋すると活性化され、ヒスタミンや tryptase を放出する。tryptase は局所の炎症をさらに増加する。CST1 の誘導に IL-4 と IL-13、そして tryptase が関与していることは、鼻粘膜上皮細胞における局所のアレルギー反応を鋭敏に反映していると考えられる。C3a と C5a は肥満細胞や好塩基球に作用し、IL-4 と IL-13 の産生を誘導する。血清 C3a と C5a が上昇することにより、CST1 の発現を増強しているかもしれない。

Cystatin は外因性の protease のみならず、内因性の protease にも作用することで、創傷治癒、免疫反応などに関与していることが知られている。アレルギー性鼻炎と気管支喘息では、粘膜におけるコラーゲン産生の増強、基底膜肥厚、腺組織の増加といった“リモデリング”が認められる。これらの変化は慢性のアレルギー炎症の結果である。本研究で CST1 が気道リモデリングに関与しているかを線維芽細胞で検討した。その結果 CST1 は線維芽細胞におけるコラーゲン産生を増強することを見出した。CST1 がどの内因性 protease に作用するか、あるいは腺組織の増加にどのように関連するかまだ解明されていないが、CST1 がアレルギー性鼻炎の重症化に関連していることが推測された。肥満細胞も、アレルギー炎症のみならず、創傷治癒、免疫において重要な役割を持っている。CST1 は肥満細胞を中心として誘導され、抗原(=protease)に対し拮抗的に作用すること、気道粘膜のリモデリングに関連することから、鼻粘膜の肥満細胞による一連の炎症反応を鋭敏に反映していると考えられる。

E. 結論

アレルギー性鼻炎の感作から発症に関連する候補遺伝子として CST-1 の機能解析を行った。CST1 は鼻粘膜における肥満細胞による炎症反応を反映し、リモデリングに関連する役割があることが示唆された。

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

意元義政、藤枝重治

スギ花粉症の感作・発症と Cystatin SN の役割：
耳鼻免疫アレルギー. 32:211-215. 2014

Kojima A, Imoto Y, Osawa Y, Fujieda S :
Predictor of rehabilitation outcome for
dysphagia. Auris Nasus Larynx. 41(3):294-8,
2014

2. 学会発表

意元義政、徳永貴広、山田武千代、藤枝重治: スギ
花粉症発症の感作・発症と Cystatin SN の役割.第
32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会,2014.2

意元義政、山田武千代、藤枝重治:喉頭アレルギー
患者における呼気 NO の検討. 第 26 回喉頭科学会
総会 2014.3

意元義政、徳永貴広、山田武千代、藤枝重治:スギ
花粉症の感作・発症に関する遺伝子の機能解析,
第 26 回日本アレルギー学会春季学術大会 2014.5

意元義政、徳永貴広、山田武千代、藤枝重治:アレ
ルギー性鼻炎の感作・発症に関する因子の検討,
第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会 2014.5

Yoshimasa Imoto, Tetsuji Takabayashi, Shigeharu
Fujieda: The upregulation of Cystatin SN in nasal
epithelial cells among patients with allergic rhinitis.
25th Congress of the European Rhinologic
Society,2014.6

意元義政、徳永貴広、藤枝重治:疾患における鼻腔
一酸化窒素(NO)の検討.第 53 回日本鼻科学会総
会,2014.9

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

委託業務成果報告(分担)

スギ花粉症の感作と発症および舌下免疫療法の効果に関連する因子の検討

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

スギ花粉症発症の抑制を目的としたスギ花粉感作陽性未発症者対象の舌下免疫療法により、末梢血中にいかなる免疫学的変化がおきるかを検討した。その結果、実薬群において舌下免疫療法後に IL-10 産生 CD4⁺T 細胞と IL-10 産生単球が有意に増加した年と実薬群において IL-10 産生 CD4⁺T 細胞と IL-10 産生 B 細胞が有意に増加した年とがあった。スギ花粉感作陽性未発症者において、スギ花粉エキスによる舌下免疫療法により IL-10 産生細胞が誘導されることが明らかになった。

鼻汁中のスギ特異的 IgE 抗体価が測定可能か否かを検討した。花粉飛散期の鼻汁中でのスギ特異的 IgE 抗体が測定可能であった。採血することなく簡便に鼻汁から特異的 IgE が測定可能となれば小児などで利用可能となる可能性がある。

A. 研究目的

①現在舌下免疫療法は治療として用いられている。しかし、増大するスギ花粉症患者を減少させるためには、感作されている人を対象に発症予防を考えることが肝要である。また、免疫療法をより効果的に行うためには奏功機序の解明、治療効果の予測のバイオマーカーの検討が望まれる。スギ花粉症の免疫療法の奏功機序の一つとして IL-10 産生型抑制性 T 細胞の誘導が知られている。今回、スギ花粉症発症の抑制を目的としたスギ花粉感作陽性未発症者対象の舌下免疫療法により、末梢血中にいかなる免疫学的変化がおきるかを検討した。

②現在抗原感作の検査としては血中特異的 IgE の測定が一般的であるが、小児では時に採血が困難であること、また、血中に特異的 IgE がみられなくてもスギ花粉飛散期に発症する人がいることから、鼻汁中の特異的 IgE 抗体測定が望まれる。スギ花粉症患者においては鼻組織に特異的 IgE が存在するが、花粉飛散中の鼻汁中のスギ特異的 IgE 抗体の定量を行っ

た報告は少ない。そこで、鼻汁中のスギ特異的 IgE 抗体価が血清中のそれと相関するか、スギ花粉症未発症者において感作が成立していれば鼻汁中にも特異的 IgE がみられるか否かを検討した。

B. 研究方法

①対象はスギ花粉に感作されていて未発症の 18 歳から 52 歳までの 27 名である。2012 年と 2013 年のスギ花粉飛散の 2 シーズンにおいて、スギ花粉エキスあるいは偽薬で舌下免疫療法を行った。舌下免疫療法前後で採血を行い、末梢血単核球を精製し、スギ花粉標準化アレルギー治療エキスと培養し、FACSにて各種 IL-10 産生細胞の割合を測定した。

②対象は 1~78 歳の男性 27 名、女性 27 名の計 54 名であり、このうちスギ花粉症患者 27 名、未発症者 27 名、未発症者のうち 12 名は ImmunoCAP クラス 2 以上で感作と考えられる。スギ花粉飛散期に鼻汁を吸引採取し、CAP-FEIA 法(Phadia)により上清中のスギ特異的 IgE

を定量した。

(倫理面への配慮)

①および②の研究は、三重大学医学部の倫理委員会の承認を得て(承認番号:①は2283、②は2337)、ヘルシンキ宣言を遵守した。具体的には、研究対象者に対する人権擁護上を配慮し、研究対象者に対する不利益を説明し、危険性を最小限に知る配慮をし、説明と同意(インフォームド・コンセント)を文書で得た。

C. 研究結果

①2012年では、実薬群において舌下免疫療法後にIL-10産生CD4⁺T細胞とIL-10産生単球が有意に増加した。2013年では、実薬群においてIL-10産生CD4⁺T細胞とIL-10産生B細胞が有意に増加し、偽薬群でIL-10産生単球が有意に減少した。

②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。鼻汁中スギ特異的IgE抗体価は血清総IgE値と正相関した。スギ花粉症患者群は未発症群より有意に鼻汁中IgEが高値であった。スギ花粉症未発症群において感作群は非感作群より有意に鼻汁中IgEが高値であった。未発症群においても鼻汁中スギIgE値は血清IgE値と正相関した。

D. 考察

①2012年、2013年共に、実薬群においてIL-10産生CD4⁺T細胞の有意な増加を認めた。ヤケヒョウヒダニに感作された小児アレルギー性鼻炎に対する抗原特異的免疫療法においてTr1、IgG4、IL-10産生が増加したと報告されている。

2013年には実薬群においてIL-10産生B細胞が増加していた。ハチ毒に対する免疫療法によって、IL-10産生B細胞が増加することが報告されている。

IL-10産生単球は、花粉症患者と比較して、健常者において有意に高値であると報告されている。2013年のプラセボ群における花粉症発症とIL-10産生の低下が関連していると推測された。また、実薬群においては、単球によるIL-10産生増加によって花粉症発症が予防されたと推測される。

2012年と2013年とを比較すると、臨床効果とIL-10産生細胞の結果が異なっていた。解析対象数が小さいこと、2012年と2013年での対象者が異なること、両年間における花粉総飛散数が異なることなどが影響していたと考えられた。

②スギ花粉症患者で鼻汁総IgE測定したところ、鼻汁IgEは鼻汁好酸球数と相関した(福島慶、2011)との報告や鼻アレルギー患者の鼻汁中総IgE値は血清中のおよそ4分の1であった(巖文雄、1984)との報告がみられる。また、ブタクサ花粉アレルギー患者にブタクサ花粉とDEPによる誘発を行うと鼻汁中に高値の総IgE、ブタクサ特異的IgEがみられた(Fujieda S、1998)、小児喘息患者の鼻汁中ダニ特異的IgE抗体を測定したところ、誘発により増加した(鵜飼幸太郎、1987)とも報告されている。今回、花粉飛散期の鼻汁中でのスギ特異的IgE抗体が測定可能であったことから、採血することなく簡便に鼻汁から特異的IgEが測定可能となれば小児などで利用可能となる可能性がある。

E. 結論

①スギ花粉感作陽性未発症者において、スギ花粉エキスによる舌下免疫療法によりIL-10産生細胞が誘導されることが明らかになった。

②花粉飛散期の鼻汁中でのスギ特異的IgE抗体が測定可能であった。採血することなく簡便に鼻汁から特異的IgEが測定可能となれば小児などで利用可能となる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamanaka K, Shah AH, Sakaida H, Yamagiwa A, Masuda S, Mizutani H, Takeuchi K. Immunological parameters in prophylactic sublingual immunotherapy in a symptomatic subjects sensitized to Japanese cedar pollen. *Allergology Int.* 2015;64(1):54-59.

Sakaida H, Masuda S, Takeuchi K. Measurement of Japanese Cedar Pollen-Specific IgE in Nasal Secretions. *Allergol Int.* 2014;63(3):467-473.

2. 学会発表

竹内万彦、中村 哲、坂井田寛、シャーセイド、侯 波、アル サリヒモハメド、増田佐和子。スギ花粉感作とスギ花粉症の発症に関連する因子の検討。第26回日本アレルギー学会春季臨床大会。京都市。2014年

坂井田 寛、山中恵一、水谷 仁、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
血中の免疫学的パラメータの変化の検討. 第
32回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会.徳
島市. 2014年

中村 哲、坂井田 寛、増田佐和子、竹内万
彦.スギ花粉感作とスギ花粉症の発症に関連す
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.徳島市. 2014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

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年から保険適応での治療が始まった。この研究では2010年から2012年まで通して行われたSLITの二重盲検比較試験における抗体産生に関する検討を行った。実際にそのSLIT二重盲検比較試験の結果はプラセボと比較して、実薬では1年目には約25%の症状改善効果を示し、2年目ではこの抑制効果は35%にまで増加し、経年的な効果の増加が認められた。併用薬剤の使用状況やQOLに関しても同様で実薬で薬剤減少、QOLの軽快が有意に認められ、スギ花粉症に対するSLITの効果が実証された。この時にスギ特異的IgE、スギ特異的IgG4、スギ特異的IgG4/スギ特異的IgE、スギ特異的IgE/総IgEの経年的評価を実薬とプラセボで行った。実薬では早期よりスギ特異的IgEの増加、その後にスギ特異的IgG4が認められ、スギ特異的IgG4/スギ特異的IgEも1年目のシーズン後期にプラセボより増加する傾向が認められた。このような抗体産生に関するSLITの影響は効果とも関連する抗体産生の変動と考えられ、アレルギー治療に関するバイオマーカーの状況など今後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、皮下免疫療法と舌下免疫療法が施行されるようになった。皮下免疫療法では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)。皮下注射でも同様であるが、効果発現機序の全貌と効果発現に関するバイオマーカーについてはまだ完全に明らかにはなっていない。そこで我々は531症例という大きな集団を対象とした二重盲検比較試験を行い実薬群とプラセボ群の抗体測定を行い、スギ特

異的IgE、スギ特異的IgG4、スギ特異的IgG4/スギ特異的IgE、スギ特異的IgE/総IgEの経年的評価を行った。

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2週間は増量期、その後維持量の2000JAUの1mlで連日1回投与とした。初回の舌下投与は2010年より開始し、2011年、2012年の花粉飛散季節を症状観察期間として、2012年花粉飛散季節終了後まで継続した。効果判定の症状は症状日記、JRQLQを用いて総鼻薬物症状、総鼻症状、総眼薬物症状、総眼症状、健康関連QOL、総括的状況を算出した。症例は関東在住の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の531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に比べ実薬群では優位に低く推移した。どの症状も本格飛散開始時期からプラセボでは急に悪化した。舌下免疫療法群では有意に抑制された。QOLも実薬群で有意差にその悪化が軽い事が認められた。

2012年は少量飛散でくしゃみ、鼻汁、鼻閉などの鼻眼の総症状は実薬で約35%プラセボより有意に低く推移した。健康関連QOL、総括的状況も同様に有意に低かった。

これらの症例に対し、総IgE、スギ特異的IgE、スギ特異的IgG4の測定を開始前、2011年季節前、季節中、季節後、2012年季節前、季節中、季節後の7回測定し、スギ特異的IgE、スギ特異的IgG4、スギ特異的IgG4/スギ特異的IgE、スギ特異的IgE/総IgEの経年的評価を実薬とプラセボで行った。実薬では早期、2011年季節前からスギ特異的IgEの増加が持続的に認められた。またその変動は季節中に増加し、自然暴露での増加が考えられた。しかし自然暴露での抗体産生の加速は2年目では減少した。スギ特異的IgG4では花粉飛散季節終了後に向かい徐々に増加する傾向が認められ、ここでも自然暴露による抗原特異的IgG4が確認された。一方、プラセボ群ではスギ特異的IgEの季節変動は認められるものの、実薬より低値であったが、季節でのIgE抗体産生加速は大きかった。スギ特異的IgG4のプラセボでの自然暴露影響の季節変動はごく僅かであった。スギ特異的IgG4/スギ特異的IgE比率でも1年目のシーズン後期にプラセボより増加する傾向が認められた。

D.考察

舌下免疫療法SLITは2014年にスギ花粉症に対し製造承認、保険適応が認められた治療法である。現在、ダニ通年性アレルギー性鼻炎に対しても製造承認申請が行われており、国際的にも国内でも多くの評価に値する論文が報告されて一般的治療になってきたアレルギー性鼻炎に対する新規治療法である。

我々もいくつかの論文を発表してきた。その中で制御性T細胞のバイオマーカーとしての可能性や効果発現メカニズムである事も発表してきた(J Allergy Clin Immunol 124: 842-845.

2009.)。しかし一般的に測定できる方法論ではなく、その測定は研究的側面が高い。今回我々は531症例という大きな集団での二重盲検比較試験で、総IgE、スギ特異的IgE、スギ特異的IgG4の測定を開始前、2011年季節前、季節中、季節後、2012年季節前、季節中、季節後の7回測定し、その結果を考察した。継時的変化、季節的変動などを考えSLIT効果発現メカニズムを考察した。スギ特異的IgEは早期から増加し、それは持続的に認められた。季節変動もあり、自然暴露での増加が考えられた。2年目での加速の減少は2年目の効果の方が良かったことを考えると効果発現に関係するものと考えられた。スギ特異的IgG4の増加はSLIT効果発現に最も深く関係する事が今までにも示唆されているが、その増加は顕著で、自然暴露による増加も確認された。プラセボでの自然暴露影響の季節変動が僅かである事を考えるとSLITは自然暴露の抗体産生にも変調を生じさせている可能性が高い。これらをまとめたスギ特異的IgG4/スギ特異的IgE比率の増加は直接、効果発現機序にも関連するものと考えられる。

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。しかし今まで効果発現機序に関する抗体産生から見た報告は一定の見解が少ない。我々がスギ花粉症という抗体産生の季節的変動をみるアレルギーで一定の抗体産生の変動をとらえる事が出来た。この中でスギ特異的IgG4の増加はもちろんであるが、スギ特異的IgG4/スギ特異的IgE比率の増加を見る事がSLITによって生じている免疫変化を表す良い指標である事が示唆された。

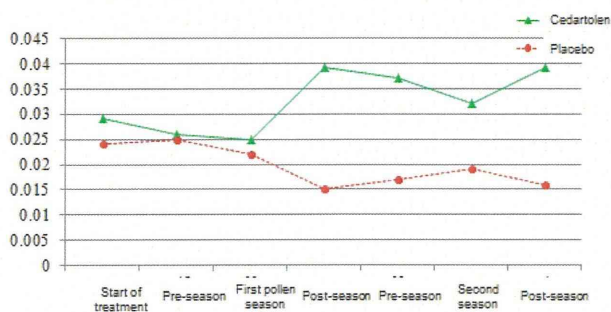
F.研究発表

論文

1. Okubo K, Okamasa A, Honma G, Komatubara M(2015) Safety and efficacy of fluticasone furorate nasal spray in Japanese children 2 to <15 years of age with perennial allergic rhinitis: A mutisentre, open-label trial. Allergol Int 64(1)Jan: 60-65.
2. Okubo K, Okamasa A, Honma G,

- Komatubara M(2014) Efficacy and safety of fluticasone furoate nasal spray in Japanese children with perennial allergic rhinitis: a mutisentre, randomized, double-blind, placebo-controlorred trial. Allergol Int 63(4)Dec: 543-551.
3. Hosoya K, Masuno S, Hashiguchi K, Okubo K(2014) Placebo-controlled study with OHIO chamber of prophylactic puranlukast for children with Japanese cedar pollinosis: TOPIC-J III study. J Drug Assessment 3: 51-59.
 4. Okubo K, Kurono Y, Fujieda S, Ogino S, Uchio E, Odajima H, Takenaka H(2014) Japanese Society of Allergology: Japanese Guideline for Allergic Rhinitis 2014. Allergology Int 63: 357-375.
 5. Ohta N, Ishida A, Kurakami K, Suzuki Y, Kakehata S, Ono J, Ikeda H, Okubo K, Izuhara K (2014) Expression and roles of periostine in otolarngological disease. Allergology Int 63(2): 171-180.
- G.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）
なし

Cedar pollen-specific IgG4 / specific IgE



委託業務成果報告 (分担)

スギ花粉は予防できるか？

-抗原舌下投与の感作陽性未発症者への効果についての検討-

研究分担者：太田伸男 山形大学医学部 耳鼻咽喉・頭頸部外科学 准教授

研究協力者：鈴木祐輔 山形市立病院済生館耳鼻いんこう科

倉上和也 公立置賜総合病院耳鼻咽喉科

研究要旨

今回我々はスギ花粉に感作されスギ花粉特異的 IgE 抗体が陽性であるが、症状をまだ発症していない症例を対象にスギ花粉舌下免疫療法を行い、その予防効果やメカニズムについて検討を行った。無作為に実薬群とプラセボ群に分け検討を行った。その結果、1シーズンの投与では新規スギ花粉発症患者数は実薬群、プラセボ群で差異は認められなかった。しかし、プラセボ群ではスギ花粉特異的 IgE 抗体に変動を認めなかったが、実薬群では経過中に抗体価の有意な上昇が認められた。また、花粉飛散前後で Cry J 刺激時の CD4 陽性 T 細胞、B 細胞、単球の IL-10 産生能に変化が認められた。以上から、IgE 抗体価、IL-10 産生能が舌下免疫療法の作用機序の一端を担っている可能性が示唆され、より長期的な検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

スギ花粉症患者数は増加傾向にあり、花粉飛散期には鼻や眼の症状だけではなく睡眠、勉強、仕事など労働生産性や QOL も障害されることが明らかになっている。一旦発症すると自然寛解は中高年になるまでは期待できず、有効な予防法は確立されていない。

一方、スギ花粉症に対する舌下免疫療法治療薬が平成 26 年 10 月から開始され、その治療効果が期待されている。スギ花粉症を発症している患者が適応であり、未発症者に対する舌下免疫療法の効果についてはまだ検討がなされていない。舌下免疫療法による発症予防が確認されれば、今後のスギ花粉症患者の増加の歯止めになることが期待出来る。

今回我々はスギ花粉に感作されスギ花粉特異的 IgE 抗体が陽性であるが、症状をまだ発症していない症例を対象にスギ花粉舌下免疫療法を行い、その予防効果やメカニズムについて検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

対象：スギ花粉特異的 IgE 抗体値が 2 + 以上、かつスギ花粉抗原誘発試験が陰性で、発症していない成人症例 33 例。男性 12 例女性 21 例である。無作為に実薬群 15 症例とプラセボ群 18 症例に分け検討を行った。両群で、男女比、年齢や治療前の各種特異的 IgE 抗体価に有意な差は認めなかった。舌下免疫抗原投与開始前、スギ花粉飛散開始前、飛散ピーク時、飛散終了時に血液中のスギ花粉特異的 IgE、ダニ特異的 IgE、ハウスダスト特異的 IgE、総 IgE を測定しその効果につき検討を行った。また、各種リンパ球に対し CryJ による刺激を加えることにより、スギ花粉飛散前・飛散後の IL-10 産生能の変化についてフローサイトメトリーを用いて検討を行った。

倫理面への配慮：本試験は臨床研究に関する倫理指針、及びヘルシンキ宣言を遵守して実施する。本研究開始前に患者に対し副作用も含め十分に説明を行い、同意を得た。本研究離脱希望時はいつでも可能であることについても言及した。各施設の倫理委員会にて承認

を得、参加者から文書で同意を得た。

C. 研究結果

スギ花粉の飛散：2014年度の山形市におけるスギ花粉総飛散の平均は2034個/cm²で、例年よりやや少なかった。

新規発症：本研究の経過中、実薬群で3症例、プラセボ群で1症例が新たにスギ花粉症を発症したが群間に有意差は認めなかった (P=0.23)。

スギ花粉特異的IgE抗体価：プラセボ群では経過中有意な変化を認めなかった。しかし、実薬群においては飛散開始前の値に比べ飛散中の抗体価は有意な上昇を認めた (P=0.04) (図1)。

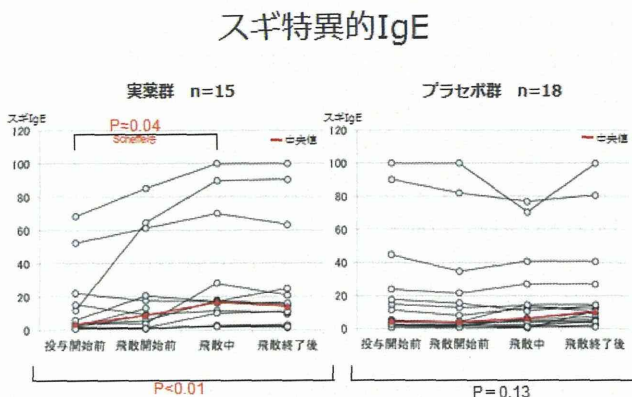


図1

ダニ特異的IgE抗体価、ハウスダスト特異的IgE抗体価、総IgE抗体価は実薬群、プラセボ群ともに経過中有意な変動を認めなかった。

IL-10 産生能：プラセボ群では花粉飛散前後でCD4陽性T細胞数の有意な変化を認めなかった。しかし実薬群ではCry J刺激時のIL-10産生能の有意な低下を認めた (P=0.04) (図2)。実薬群・プラセボ群ともに花粉飛散前後でCD8陽性T細胞の有意な変化を認めなかったが、B細胞では実薬群においてIL-10産生能の有意な低下を認めた (P=0.01)。また、単球においては実薬群・プラセボ群ともにIL-10産生能の有意な低下を認めた (P<0.03) (図3)。

発症者と未発症者の違いについて検討したが、投薬開始前のスギ特異的IgE抗体価、経過中のスギ特異的IgE抗体価の変動、各種リンパ球のIL-10産生能のいずれについても有意な差異が認められなかった。

IL-10 in CD4 Tcells

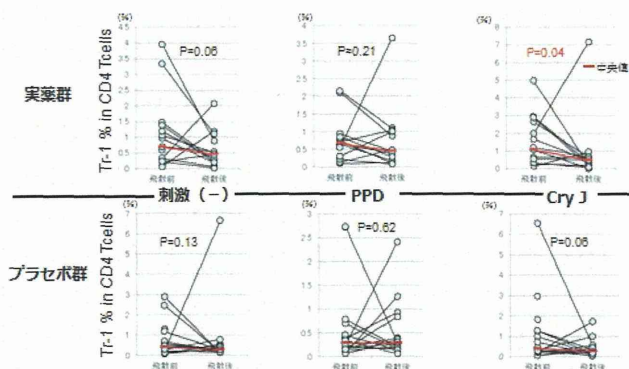


図2 ウィルコクソン符号付順位和検定

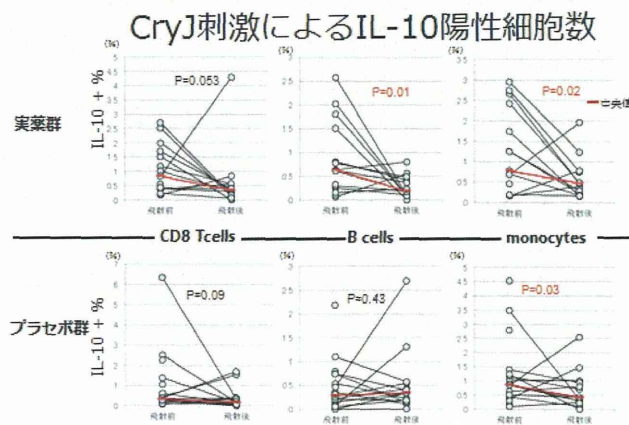


図3 ウィルコクソン符号付順位和検定

D. 考察

花粉抗原に暴露されることによりCD4陽性T細胞に抗原提示が行われ、B細胞がIgE抗体を産生し感作が成立する。しかし、感作されていても実際に症状がおこる発症率は40-50%である。本検討ではIgE抗体が産生され感作が成立しているがまだ発症していない症例を対象に、スギ花粉舌下免疫療法が発症を予防しうるかどうかを検討した。

舌下免疫療法により抗原特異的IgE抗体が抗体価は一時的に上昇するとされている。本研究でもプラセボ群と比べ、経過中の有意なスギ花粉特異的IgE抗体価の上昇を認めた。このことから、IgE抗体価の上昇が舌下免疫療法的作用機序の一端を担っている可能性があると考えられる。花粉症患者（発症者）への舌下免疫療法では、その後経過とともに特異的IgE抗体価が上昇しなくなるとされており、本研究における未発症者への舌下免疫療法による特異的IgE抗体価の上昇が一過性のものなのか、持続するものなのかは今後も経過を追

う必要があると考えられる。

舌下免疫療法では新規アレルゲンに対する感作予防効果についての報告もあるが、本研究ではダニ/ハウスダスト/総IgE抗体価の変動は認められなかった。今回の検討は1シーズンのみであり効果が不十分であることも考えられるため、今後も継続した検討が必要である。

舌下免疫療法の作用機序はIL-10 およびIL-10を産生するTr-1が誘導され、好酸球や肥満細胞の浸潤や活性化を抑制するとされている。今回の検討では、未発症者においてはCD4陽性T細胞のCry J刺激時のIL-10産生能は低下した。また、CD4陽性T細胞以外にもB細胞や単球におけるIL-10産生能にも変化が認められ、舌下免疫療法の何らかの機序に関与している可能性が示唆された。

本検討の経過中に新たにスギ花粉症を発症した症例も認められたが、実薬群とプラセボ群で有意な差は認めなかった。1シーズンのみの投与では予防としての効果が不十分である可能性もあるため、より長期間投与の検討も必要と考えられる。

E. 結論

スギ花粉に対し感作が陽性であるが未発症である症例に対し舌下免疫療法を行った。経過中、スギ花粉抗原特異的IgE抗体価の上昇を認め、舌下免疫療法の作用機序の一端を担っている可能性が示唆された。また、CD4陽性T細胞以外にもB細胞や単球においてもIL-10産生能の変化を認め、何らかの機序に関与している可能性も示唆された。実際の予防効果についてはプラセボ群と差異は認めず、より長期的な検討が必要と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.: Guiding principles of subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis in Japan. *Auris Nasus Larynx*. 41:1-5, 2014
- 2) Ohta N, Ishida A, Kurakami K, Suzuki Y, Kakehata S, Ono J, Ikeda H, Okubo K, Izuhara K: The Expressions and Roles of Periostin in

Otolaryngological Diseases. *Allergology Int*. 63(2):171-180, 2014

- 3) 太田伸男, 鈴木祐輔, 倉上和也, 千田邦明, 古川孝俊, 欠畑誠治: イネ科花粉症患者の睡眠障害および労働生産性に対する第2世代抗ヒスタミン薬の治療効果 *Progress in Medicine* 34(4):785-791, 2014
- 4) 太田伸男: アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法の実際と対応 その他他のアレルギー疾患を合併している患者への注意点 気管支喘息、アレルギー性結膜炎、口腔アレルギー症候群、アトピー性皮膚炎. *日本鼻科学会会誌* 52(4):475-479, 2014
- 5) 鈴木祐輔, 太田伸男: 一歩進んだ鼻アレルギー治療 第二世代抗ヒスタミン剤 アレルギーの臨床 33(12):1096-1100, 2014.
- 6) 太田伸男: アレルギー性鼻炎に対する治療戦略と治療薬の使い分け *花粉症 薬局* 65:375-379, 2014.
- 7) 黒野祐一, 鴻信義, 太田伸男: スギヒノキ花粉症に対する効果的な薬物治療 *内科* 113:K1-k6, 2014
- 8) 太田伸男: 耳鼻咽喉科免疫疾患 基礎と臨床のクロストーク *都耳鼻会報* 144(1):43-47, 2014
- 9) 太田伸男: 鼻の疑問に答える 鼻乾燥感、痂痂形成の診療は? *JOHNS* 30(7):720-726, 2014
- 10) 太田伸男: アレルギー用薬を処方する際のポイント 季節性アレルギーへの薬物治療 *耳鼻咽喉頭頸部外科* 86(3):232-236, 2014
- 11) 太田伸男: アレルギー性鼻炎・花粉症 アレルギー専門医セミナー 149:25-29, 2014

2. 学会発表

- 1) 太田伸男: ランチョンセミナー アレルギー性鼻炎の治療 アレルギー炎症と鼻噴霧用ステロイド薬. 第32回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会, 徳島; 2014年2月
- 2) 太田伸男: シンポジウム 非定型性鼻炎 その本態は? 血管運動性鼻炎の病態 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会, 京都, 2014年5月
- 3) 太田伸男: 花粉症・アレルギー性鼻炎 日本アレルギー学会専門医講習会, 東京; 2014年8月

- 4) 太田伸男：ランチョンセミナー 上下気道の局所ステロイド薬の役割 耳鼻科の立場から. 第53回日本鼻科学会, 大阪;2014年9月
- 5) 太田伸男：ランチョンセミナー 花粉症の睡眠障害と労働生産性 第27回日本口腔咽喉科学会, 札幌;2014年9月
- 6) 太田伸男：パネルディスカッション 気道粘膜の炎症病態における上気道と下気道の相互作用 上気道好酸球性炎症の下気道病変に及ぼす影響 その病態とマネージメント 第66回日本気管食道科学会, 高知;2014年11月
- 7) 太田伸男：Total Allergist をめざして花粉症診療 Q&A 鼻炎 第1回日本アレルギー学会 総合アレルギー講習会, 横浜;2014年12月

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