

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

(免疫アレルギー疾患等予防・治療事業 免疫アレルギー研究分野)

**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**

平成23年度～平成25年度 総合研究報告書

研究代表者 岡本 美孝

平成26(2014)年 3月

目 次

・ 総括研究報告	
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	
岡本 美孝	2
・ 分担研究報告	
1 . 舌下免疫療法の奏功機序と発症予防についての検討	
岡本 美孝	17
2 . アレルゲン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	
櫻井 大樹	22
3 . スギ花粉症発症に関する遺伝子の同定	
藤枝 重治	25
4 . 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 関する研究の検討	
竹内 万彦	32
5 . 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	
大久保 公裕	34
6 . 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	
下条 直樹	39
7 . スギ花粉症に対する早期介入の効果と効果評価に関する研究	
岡野 光博	44
・ 研究成果の刊行に関する一覧 47
・ 研究成果の刊行物・別刷 48

研究代表者 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

研究要旨

スギ花粉症に対して、免疫療法を用いた早期介入による発症予防効果を検討し、さらに花粉症を含むアレルギー性鼻炎の治療内容、費用、効果、問題点を明らかにして、免疫療法の確立に向けたガイドラインの作成に取り組むことを目的に、以下の検討を行った。

（１）感作陽性未発症者 33 名が参加して発症の免疫学的なパラメーターを検討した（非介入 prospective）。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。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に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。

（２）スギ花粉感作陽性でかつ未発症者を対象に、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法の発症予防としての介入試験を、プラセボを対照とした 2 重盲検試験を行った。4 施設での参加症例は平成 25 年 4 月末では 230 例で、3 施設では実薬群に有意に発症抑制効果が認められ、実薬群では特異的な制御性 T 細胞の増加が確認された。

（３）スギ花粉症患者群、感作陽性未発症者群、非アレルギー群からなる参加者を対象に、発症に及ぼす好塩基球、T 細胞、鼻粘膜上皮細胞の検討を行った。好塩基球の抗原に対する反応性、および血清 IgE と Fc R との反応性は発症者と比較して感作陽性未発症者では低い傾向がみられた。発症者では大量の Th2 サイトカインを産生する CD4 陽性メモリー T 細胞が存在した。また、鼻上皮細胞のマイクロアレイ解析で、Cystatin SN (CST-1) がスギ花粉症患者群と非アレルギー群との間で最も発現に違いがあった。CST-1 は鼻粘膜上皮細胞からスギ花粉と protease 活性を有する酵素やサイトカインなどにより誘導されることが確認されたが、発症のマーカーになる可能性も示唆された。

（４）研究班にて作成したアレルギー性鼻炎治療に関して、内容、費用、効果などから問題点を問うアンケート用紙を用いて 2810 名の患者への調査をおこなった。また、アレルギー性鼻炎患者を診察する機会を有する耳鼻咽喉科医、内科医、小児科医を対象に（計 250 名）現在の治療法の評価、舌下免疫療法への関心や実施に関するアンケート調査を行った。現在のアレルギー性鼻炎の治療に対する満足度は成人、小児患者ともに低く、効果不十分が半数を越えて最も多く、眠気などの副作用への危惧も 40%程度あった。免疫療法への一定の期待がみられた。一方、患者の現行の治療への満足度は医師の調査でも低かった。舌下免疫療法に関心のある医師は 80-90%に達し、すべての科の医師に高い割合で見られた。

（５）ヒノキ花粉症の特徴とスギ花粉エキスをを用いた免疫療法の有効性について花粉飛散室を用いた検討を行った。ヒノキ花粉症症状は同じ濃度のスギ花粉曝露に比較して誘導する鼻症状は軽く評価を困難にしていたが、T細胞の反応性の検討からはヒノキ花粉症にもスギ花粉免疫療法は一定の効果が期待される結果であった。

（６）舌下免疫療法のアジュバントとして NKT 細胞のリガンドである の有効性について
マウスで確認され、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。

（７）アレルギー性鼻炎/花粉症患者の QOL 調査票の最小変動値の有効性を明らかにした。舌免疫療法を行っているスギ花粉症患者の QOL スコアは薬物療法を受療している患者と比較して有意に高値を示した。

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	
藤枝 重治	福井大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教授	岡野 光博	岡山大学大学院医歯総合研究科 耳鼻咽喉科学 准教授
竹内 万彦	三重大学 耳鼻咽喉・頭頸部外科 教授	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
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		

研究協力者	意元 義政	福井大学	耳鼻咽喉科・頭頸部外科学助教
黒野 裕一	野山 和廉	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授
増山 敬祐	檜垣 貴哉	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員
米倉 修一	春名 威範	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員
山本陸三朗	山本 健	千葉大学大学院医学研究院	小児病態学
櫻井 利興	森田 慶紀	千葉大学大学院医学研究院	小児病態学
新井 智之	増田佐和子	国立病院機構三重病院	耳鼻咽喉科 医長
坂下 雅文	坂井田 寛	三重大学医学部付属病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科 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	三重大学大学院医学系研究科	皮膚科講師

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎/花粉症は一旦発症すると中高年者を除き自然改善は非常に少ない。花粉症を含めて、アレルギー疾患の自然経過を改善させる可能性を有するのは、現在のところは唯一アレルギー免疫療法のみである。このアレルギー免疫療法によって新規感作の予防も図れることが欧米で報告され一定のエビデンスがあると評価されている。しかし、アレルギー免疫療法が発症の予防効果を有するかどうかについての検討、報告はこれまでない。スギ花粉に感作陽性ながら未発症者は「発症予備軍」として捉えられ、感作陽性者の小学生では約 70%、青壮年で約 50%に達する。そこで、感作陽性者の発症予防の検討、すなわち花粉症発症に対するアレルギー免疫療法による二次介入の有効性を、このような感作陽性ながら未発症者を対象に検討する。これまでの検討で安全性を確認した舌下免疫療法を用いて、プラセボ対照二重盲検試験から発症予防効果を明らかにし、かつスギ花粉症発症の免疫学的機序についても検討を行う。

また、アレルギー性鼻炎の免疫療法による治療の普及に向けて、現在の花粉症治療の実態調査を行う。これまでは医療機関での受診患者の調査やインターネットを利用した治療の調査報告が多いが、調査対象者に少なからずバイアスがかかり調査の信頼性が問題であった。インターネットによる調査の対象者には一般の患者とは大きな乖離がみられることが、以前の代替医療の厚労科研班研究で明らかであった。そこで、住民検診、学校健診といった調査の参加者の中におけるアレルギー性鼻炎患者を調査対象にすることでバイアスを除き、調査結果から現在の花粉症を含むアレルギー性鼻炎の治療の問題点を明らかにする。一方、

医師に対しても現在の花粉症治療に関する課題、舌下免疫療法に対する期待や対応について調査を行う。近い将来広く普及することが期待される免疫療法は、患者の治療満足度が高いとされるが、更なる QOL の改善の面からも検討をする。また、作用機序、バイオマーカー、効果予測因子についての検討を進め、その特徴を明らかにして免疫療法の確立に向けたガイドライン作成に取り組む。

B. 方法

- (1) 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未発症の成人を対象に前向き検討を行った（非介入 prospective 試験）。スギ花粉シーズン前の 12 月とシーズン後の 5 月に採血を行い、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。
- (2) スギ花粉感作陽性でかつ未発症者を対象に、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法の発症予防についての介入試験を、プラセボエキス（溶剤）を対照とした 2 重盲検試験により行った。対象者は、スギ CAP-RAST スコアが 2 以上の 18 歳以上でスギ花粉に感作陽性ながらこれまでスギ花粉症の発症がなく、かつスギ抗原ディスクを用いた鼻粘膜抗原誘発試験で陰性であることを確認した感作陽性未発症者である。平成 23 年 12 月から平成 24 年 4 月末まで、あるいは平成 24 年 12 月から平成 25 年 4 月末までそれぞれ半年間、連日朝 1 回、トリリスギ花粉エキス® 2000 JAU/ml の投与をおこ

なった。発症の確認はシーズン終了後にスギ抗原ディスクを用いた誘発試験による陽性反応により行った。データを固定後に平成 25 年 8 月にキーオープンを行った。スギ特異的 IgE 抗体値、総 IgE 値、スギ特異的制御性 T 細胞数の変動についても検討を行った。

- (3) 研究班にて作成したアレルギー性鼻炎治療に関して、内容、費用、効果などから問題点を問うアンケート用紙を用いて、学校健診、あるいは疫学調査など直接受療と関係なく医療機関を訪れたアレルギー性鼻炎患者に対して調査を行った。
- (4) アレルギー性鼻炎患者を診察する機会を有する耳鼻咽喉科医、内科医、小児科医を対象に現在の治療法の評価、舌下免疫療法への関心や実施に関するアンケート調査を行った。
- (5) スギ花粉症患者 17 名、スギ感作陽性未発症者 9 名、健常者（スギ花粉非感作非発症者）9 名を対象に、末梢血を用いて basophil activation test (BAT) による好塩基球のスギ抗原反応性を検討した。また、RS-ATL8 細胞を用いた IgE crosslinking-induced luciferase expression (EXiLE)法を用いて IgE 抗体と Fc 受容体との反応性について比較検討を行った。
- (6) スギ花粉症患者群、感作陽性未発症者群、非アレルギー群からなる参加者を対象に、スギ花粉飛散時期に鼻粘膜を擦過し、抽出した RNA サンプルを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。得られた候補遺伝子を、アレルギー性鼻炎患者由来の下甲介粘膜を用いて発現部位を確認し、同時に培養した鼻粘膜上皮細胞と線維芽細胞において同定した候補遺伝子がどの様な刺激により誘導されるかを確認し、機能解析を行った。
- (7) 18 ヶ月間、スギ花粉エキス連日投与による舌下免疫療法の有効性を検討したプラセボ対照 2 重盲検試験に参加したスギ花粉症患者 40 名を対象に、スギ花粉特異的 Th2 細胞、特異的制御性 T 細胞、EXiLE 法による IgE の反応性、BAT 法による好塩基球の反応性、特異的 IgE 抗体価/総 IgE 抗体価が舌下免疫療法の有効性を示すバイオマーカー、効果予測因子として有用か否かの検討を行った。
- (8) スギ花粉症患者 15 名を対象に千葉大学亥鼻キャンパスの花粉飛散室でスギ花粉の曝露試験を行

い、詳細な症状解析と花粉飛散室入室前、退室時、退室 6 時間後に、鼻腔 NO 値、鼻呼吸抵抗、鼻腔有効断面積を測定した。また、鼻汁を採取して各種炎症メディエーター、サイトカインを解析した。舌下免疫療法の 2 重盲検試験参加者に花粉飛散室での曝露試験を行い、即時相、遅発相での効果、メディエーターについて解析を進めた。

- (9) スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法でのヒノキ花粉症に対する有効性について、舌下免疫療法参加者を対象に花粉飛散室を用いたヒノキ花粉曝露、スギ花粉曝露から検討を行った。また、花粉飛散室でみられる症状とスギ、あるいはヒノキ花粉特異的 Th2 細胞の変動との関連について解析を行った。

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 β -galactosylceramide (β -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進めた。

- (11) スギ花粉の非飛散期に、通年性鼻炎を有さないスギ花粉症患者 (n=20) を対象に、対照ディスクと低用量スギ花粉エキス付着ディスクによる鼻粘膜誘発試験を 3 日間連続して行い、誘発 5 分後の症状および局所所見を観察し、陽性（症状発現あり）と陰性（症状発現なし）の判定を行った。ディスクに付着した鼻汁を回収し、抽出液中の ECP、トリプターゼおよび Th2 サイトカイン濃度を測定した。
- (12) 舌下免疫によるスギ花粉症の治療研究に参加している患者の QOL 調査を行った。また、薬物治療も含めたスギ花粉治療の臨床試験に参加したスギ花粉症患者の日本アレルギー性鼻炎標準 QOL 調査票 (JRQLQ) のフェイススケールのデータを基に、QOL スコアの最小変動値 (Minimal clinically important difference: MCID) の検出を行った。

（倫理面への配慮）

本研究を遂行するにあたり、アンケート調査対象患者、検診対象者には十分な説明を行い了解を

得て行われた。小児では保護者から了解を得て行われた。舌下免疫療法を用いた臨床試験の実施にあたっては、厚生労働省の臨床研究に関する指針を遵守して、学内倫理委員会の許可を得た後に十分な説明をして、文書による同意を得た方を対象に実施した。同意の取得にあたっては不参加でも不利益は全く受けないこと、同意後も撤回は可能であることを説明した。使用したスギ花粉エキスについては非常に高額になるため、公正取引委員会へ申請し、許可が得られた後に製造企業より提供を受けた。

C. 結果

- (1) 感作陽性未発症者 33 名が参加して発症の免疫学的なパラメーターを検討した（非介入 prospective）試験では 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に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全体としては軽度の増加を認めたが、いずれの群でも個人差が大きく、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に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。
- (2) 舌下免疫療法による介入によりスギ花粉症発症予防の有効性を検討する 2 重盲検試験には全体で 230 名が完了した。プラセボ群 107 名では 32%が発症し、実薬群 123 名では 22%が発症した ($p=0.09$)。千葉大学では 91 名が参加し、プラセボ群 40 名中 37.5%が、実薬群 51 名中 17.7%が発症した ($p=0.03$)。未発症者ではスギ花粉 (Cry j) 特異的制御性 T 細胞

数が有意に高値であった。一方、発症者では花粉飛散シーズン後の特異的 IgE 値が高く、シーズン前の特異的 IgE 値/総 IgE 値が低い傾向がみられた。三重大学では 33 名が参加し、プラセボ群 17 名では 47%、実薬群 16 名では 25%に発症を認めた。実薬群では IL-10 産生 T 細胞、B 細胞、単球がいずれも増加した。鹿児島大学では 10 例中、プラセボ群の 1 名のみが発症していた。一方、福井大学では 84 名が参加したが、プラセボ群 39 名中 26%、実薬群 45 名中 31%が発症した。

- (3) アレルギー性鼻炎の治療内容に関するアンケートによる調査を 2810 名を対象に行った。成人患者では最近受けた治療は、花粉症患者では病院での治療が 64%であったが、通年性では 45%程度で無治療患者も 39%と多かった。治療に対する満足度は、通年性・花粉症とも満足、やや満足を合わせてもその割合が 20%台にとどまった。治療に対する不満の理由は効果不十分が半数を越えて最も多く、眠気などの副作用への危惧も 40%程度であった。今後希望する治療としては病院治療が花粉症でも 40%程度と低かった。小児患者では通年性アレルギー性鼻炎患者の無治療者は少なかったが、治療に対する保護者の満足度はやや満足以上で 20%前後と成人患者に比べてもさらに低値であった。一方、抗原特異的免疫療法への期待度は 25%程度で、無回答者も多く免疫療法に対する患者の認知度は低い結果であった。
- (4) 医師へのアンケート調査では、患者が現在の治療に満足、あるいはほぼ満足していると考えている医師は耳鼻咽喉科医で 45%、内科医で 26%、小児科医で 36%であり、舌下免疫療法に関心のある医師は 80-90%に達し、病院勤務医、診療所医師に関わらず期待が高かった。舌下免疫療法を実施する、あるいは検討したいと回答した医師は 70%を越えていたが、実施にあたっては一定の講習会など教育の必要性を指摘する医師が半数以上を占めた。
- (5) 末梢血の BAT 法、EXILE 法の検討から、感作陽性未発症者においては好塩基球の反応性は特異的 IgE の濃度に依存する結果であったが、好塩基球の抗原に対する反応性、および血清 IgE と Fc γ R との反応性は発症者と比較して感作陽性未発症者では低い傾向がみられた。

- (6) マイクロアレイ解析で、スギ花粉症患者群と非アレルギー群との間で最も発現に違いがあった Cystatin SN (CST-1) は花粉症患者で 151.4 倍増加していた。コントロール群と感作陽性未発症者には有意な変化は認めなかった。3 群間でのスギ抗原に対する皮内反応の陽性者と陰性者間では皮内反応陽性者では有意に陰性者より Cystatin SN が高発現していた。Cystatin SN は鼻粘膜上皮に存在していることが免疫染色で確認され、培養鼻粘膜上皮細胞では、Cystatin SN はスギ花粉(粗抗原)と protease 活性を有する papain、その他スギ花粉、IL-4 と IL-13、IL-25 と TSLP との共刺激により誘導された。鼻粘膜にスギ花粉投与を行うと、スギ花粉のみの刺激では鼻粘膜の ZO-1, claudin-1 の mRNA が減少したが、花粉を前もって Cystatin SN と培養したものでは発現減少が抑制された。
- (7) 舌下免疫療法の作用機序として EXiLE 法による検討から、プラセボ群では花粉飛散期にスギ IgE 値および max EXiLE 値が増加したが、実薬群では IgE のみ上昇を認め、max EXiLE 値の上昇は抑えられていた。実薬群における IgE 値の上昇と max EXiLE 値の変動に関連は認めなかった。
- (8) 花粉飛散室内での 3 時間の花粉曝露により、全員に鼻症状が発現したが退室後にもくしゃみ、鼻漏、鼻閉症状が持続した。鼻汁中には IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカイン、ECP、ロイコトリエンの有意な増加が花粉飛散室退室後に認められたが、退室 6 時間後の鼻汁中にヒスタミンの増加が見られ、トリプターゼも高濃度に検出された。鼻汁細胞診では CD203 陽性細胞が多数確認された。舌下免疫療法群ではプラセボ群に比較して特に遅発相での症状の改善傾向が認められた。
- (9) スギ花粉症患者 25 名に花粉飛散室でスギ花粉 8000 個/m³ の濃度で 3 時間、ヒノキ花粉 8000 個/m³ ならびに 12000 個/m³ の濃度で 3 時間の曝露試験を行ったが、いずれもヒノキ花粉に比較して有意に強い鼻症状がスギ花粉曝露で認められた。ただ、喉頭症状はヒノキ花粉曝露で強く認められた。
- (10) 次にヒノキ花粉 12000 個/m³ の濃度で 2 日連続で 3 時間の花粉曝露を行いその前後で末梢血中のヒノキならびにスギ花粉特異的 Th2 細胞数を

ELISPOT 法により解析したところ症状が強く発現した症例ではヒノキ特異的 Th2 細胞が有意に上昇し、また同時にスギ花粉に対する Th2 細胞数も増加していた。一方、曝露前の特異的 Th2 細胞数には曝露症状の強弱での差は認めなかった。

鼻アレルギーモデルマウスの検討から、-GalCer と抗原でパルスした樹状細胞投与群では症状の有意な改善を認め、特異的 IgE 値の低下、頸部リンパ節の 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 クラススイッチの抑制作用のある IL-21 の遺伝子発現が有意に上昇していたが、抗 IL-21 抗体、抗 IFN- γ 抗体の腹腔投与により、認められた症状抑制や IgE 値の低下は解除されることを確認した。

- (12) 抗原ディスク誘発試験により、毎日に陽性率が増加し、3 日目には 68% が陽性であった。鼻汁抽出液中に IL-5、IL-13、IL-31 は検出されなかった。ECP は誘発 1 日目には検出されなかったが、2 日目の対照ディスクで有意に検出された。トリプターゼは誘発 1 日目より対照ディスクに比較して花粉ディスクから有意に検出された。ECP、トリプターゼは抗原刺激により誘発症状陰性者でも徐々に増加が見られ、誘発陽性者と必ずしも差が認められなかった。

- (13) JRQLQ のフェイススケール 1 変動に対応する総 QOL スコアの変化値である MCID は 5 年間の花粉飛散シーズンでの検討から平均で 6.804 で 1 項目当たりでは 0.400 であった。年ごとの変化は少なく、抗原曝露量、あるいは治療薬の影響も少なかった。舌下免疫療法を行っているスギ花粉症患者の QOL スコアは薬物療法を受療している患者と比較して有意に高かった。また、経年的な QOL 調査からは花粉飛散が多いと 2 年間の施行症例では 3 年以上の症例に比較して QOL スコアが高かった。

D. 考察

スギ花粉症発症群、非発症群でのスギ花粉飛散期前後での免疫パラメーターの検討では、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 sIgE 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。興味深いことに、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。

一方、スギ花粉感作陽性ながら未発症者を対象に、スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法による介入が発症抑制に作用するかどうかについてプラセボ投与を対照にした多施設共同2重盲検試験を行った。その結果、230名の解析が可能であり、実薬投与群で発症が抑制される傾向にあった。試験参加3施設では有意に実薬群に高い抑制効果が確認されたが、1施設の症例では差がみられなかった。舌下免疫療法については従来から治療脱落率が高いことが報告されており、今後、アレルギー疾患治療における舌下免疫療法を普及させるうえで大きな課題とされる。特に今回のような発症予防試験では実際にエキスの投与を続けているのか定期的な確認、検証が必要と考えられた。一方、IgE 値の変動については非介入試験の結果と同様で、やはり花粉飛散前の sIgE/tIgE の割合は発症群で有意に高い数値を示す傾向であった。発症機序に関する解析からは、制御性リンパ球の関与が示された。特に、実薬投与群で増加がみられたことは客観的にも予防投与の意義を示していると考えられる。さらに平成 25 年度も新たに 100名の感作陽性未発症者が参加して試験を行っており、検証とさらに詳細な解析を進めている。

また、スギ花粉症の感作・発症に関連するマーカーとして、前述の抗原特異的制御性 T

細胞抗原特異的 Th2 細胞、花粉飛散前の sIgE/tIgE 以外に、protease inhibitor である Cystatin SN がマーカーとして期待される結果であった。Cystatin SN はスギ花粉症患者だけでなく、抗原に対する皮内反応が陽性になる過程で誘

導される遺伝子であるが、papain やスギ花粉は protease 活性を有しており、Cystatin SN は、上皮における protease に対する "protector" として関与し発症関連マーカーの一つとして期待される。その他、今回の検討結果から、感作陽性未発症者では発症者と比較して好塩基球とスギ花粉との反応性、血清 IgE 抗体と Fc 受容体との反応性が低値であり、これらもマーカーとして期待される可能性が示された。

一方、花粉飛散室を用いることで花粉症にみられる即時相と遅発相を分けての詳細な検討が可能になった。これまでは、遅発相は鼻閉が中心で患者の約半数でみられると考えられていた。このような従来の鼻粘膜抗原ディスクを用いての鼻粘膜誘発試験の解析と異なり、花粉飛散室で一定時間花粉の曝露を受けることで、退室後に見られる遅発相は全症例で確認され、鼻閉のみならずくしゃみや鼻漏も強く即時相の症状より強い発現も見られた。自然飛散期の花粉症治療に於いても遅発相のコントロールが重要であることを示す結果だが、舌下免疫療法の受療者の検討では実薬群で特に遅発相の症状抑制が認められ、免疫療法の有用性を示した。

スギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法のヒノキ花粉症への効果については、これまでの自然飛散期での検討では結果は一致せず、効果を認めるシーズンもあれば花粉飛散が少ない年にはヒノキ花粉症に対する効果は明らかではないシーズンもあった。花粉飛散室を用いた検討では、ヒノキ花粉飛散数をスギ花粉飛散数の 1.5 倍に増やしても誘発される鼻症状はスギ花粉曝露による症状よりも即時相、遅発相共に軽い結果であった。また、ヒノキ花粉曝露により誘発される症状はスギ花粉エキス舌下免疫療法の実薬群とプラセボ群の差は明らかではなかった。この結果は症状が弱いことが差の解析を困難にしている可能性がある。一方ヒノキ花粉曝露により強い症状が出現する症例ではヒノキ花粉特異的 Th2 細胞数が花粉曝露前に比較して増加し、かつスギ花粉特異的 Th2 細胞も同時に増加がみられた。このことは、ヒノキ花粉曝露で誘導されるヒノキ花粉特異的 Th2 細胞はスギ花粉も認識することを示すものと考えられ、スギ花

粉エキスをを用いた免疫療法は、ヒノキ花粉症にも一定の効果は期待出来るものと考えられる。

また、花粉非飛散期の連続鼻粘膜抗原誘発試験の結果からは、スギ花粉症の発症前には主に肥満細胞と好酸球を介した最小持続炎症を認めることが示唆された。発症へのT細胞への関与が示唆される結果であった。

一方、免疫療法の新たなアジュバントとしてNKT細胞免疫系の活用が期待される。GMP規格での産生が可能であり、安全性の確認を進めながら臨床展開を進めたい。

アレルギー性鼻炎患者に対する治療内容に関するアンケート調査からは、これまで報告されている医療機関での受診患者を対象にした治療、あるいはインターネットを利用した調査に比較して、医療機関、市販薬による治療に対する満足度は非常に低値であった。他方、薬物療法群と比較したQOLスコアの検討では免疫療法で高かった。また、QOLスコアの変化の意味づけが明らかになった事は今後の免疫療法の評価、普及に役立つものと期待される。ただ一方で、免疫療法そのものについての患者の認知度は低い。実際の免疫療法の実施に当たっては内容、メリット、デメリットについても十分な情報提供が必要である。医師を対象としたアンケート調査からも医師教育の必要性が強く示されている。

E. 結論

スギ花粉感作陽性未発症者を対象に prospective な検討を行ったところ、抗原特異的制御性T細胞の減少、抗原特異的Th2細胞の増加、花粉飛散前のsIgE/tIgEの高値、鼻粘膜のprotease inhibitorであるCystatin SNの発現亢進、好塩基球の反応性の亢進、IgE抗体の反応性の変化が花粉症発症のマーカーとして見出された。また、感作陽性未発症者への二次介入として舌下免疫療法の有用性を検討したところ発症抑制効果が示された。一方、スギ花粉舌下免疫療法はヒノキ花粉症に対しても一定の効果が示されること、患者満足度を高める治療であることも確認され、将来の花粉症治療に大きなインパクトを与えることが期待される。今後、普及を目指して効果のバイオマーカー・効果予測因子の検証、ガイドラインの整備が必要であ

る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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. 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, 2011.1.
5. 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, 2011.3.
6. 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, 2011.3.
7. 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. 2011.11
8. 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, 2011.12.
 9. 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.
 10. 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, 2011.12.
 11. Gotoh M, Suzuki H, Okubo K: Delay of onset of symptoms of Japanese cedar pollinosis by treatment with a leukotriene receptor antagonist. *Allergology Int* 60: 483-489, 2011.
 12. Okubo K, Kurono Y, Fujieda S, Ogino S, Uchio E, Odajima H, Takenaka H, Baba K: Japanese guideline for allergic rhinitis. *Allergology Int* 60: 171-189, 2011.
 13. 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
 14. Fujikura T, Okubo K: Adrenomedullin level in the nasal discharge from allergic rhinitis cohort. *Peptide* 32: 368-373
 15. Okano M, F Fujiwara T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Yasueda H, Nishizaki K. Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by peripheral blood mononuclear cells in allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 127: 277-279, 2011.
 16. Hosoya K, Satoh T, Yamamoto Y, Saeki K, Igawa K, Okano M, Moriya T, Imamura O, Nemoto Y, Yokozeki H. Gene silencing of STAT6 with siRNA ameliorates contact hypersensitivity and allergic rhinitis. *Allergy* 66: 124-131, 2011.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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*
 21. 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*
 22. 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, 2012.2.
23. Makihara S, Okano M, Fujiwara T, Kimura M, Higaki T, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Nishizaki K. Early interventional treatment with intranasal mometasone furoate in Japanese cedar/cypress pollinosis: a randomized placebo-controlled trial. *Allergol Int in press*.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 岡本美孝. 花粉症の舌下免疫療法, 小児内科, 43:1937-1941,2011.
28. 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.
29. 大久保公裕：アレルギー免疫療法の論理と展望. 呼吸 30: 759-760, 2011
30. 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
31. 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
32. 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.
33. 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
34. 大久保公裕；スギ花粉症の舌下免疫療法. *Medical Practice* 28: 742-743, 2011.
35. 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.
36. 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
37. 岡野光博、難波弘行、佐橋紀男. 2011 年ヒノキ科花粉飛散予測. *アレルギーの臨床* 31: 21-26, 2011.
38. 岡野光博. スギ花粉飛散後の花粉症. 治療 93: 395-400, 2011.
39. 岡野光博. 耳鼻科における皮下アレルギー免疫療法. *アレルギー・免疫* 18: 21-31, 2011
40. 岡野光博. 疾患と病態生理：アレルギー性鼻炎. *JOHNS* 27: 1227-1233, 2011.
41. 岡野光博. アレルギー性鼻炎に対する薬物療法の展望. *アレルギー・免疫* 18: 1126-1133, 2011.
42. 岡野光博. 脂質メディエーターと PPAR. *JOHNS* 27: 1745-1750, 2011.
43. 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.
44. 坂井田 寛、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.耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会誌(投稿中)
45. 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
46. 岡野光博. 代替医療として有効なものに何があるか? *JOHNS* 28: 85-88, 2012.
47. 岡野光博. ヒノキ花粉症についての知見. *アレルギー・免疫* 19; 28-35, 2012.
48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. Ono M , Hamada Y , Horiuchi Y , Matsuo-Takasaki M , Imoto Y , Satomi K , Arinami T , Hasegawa M , Fujioka T , Nakamura Y , Noguchi E.: Generation of induced pluripotent stem cells from human nasal epithelial cells using a sendai virus vector. *PLoS One*.2012 ; 7(8): e42855.
55. 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*. 2012 Jul;130(1):184-94.e11.
56. 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*. 2012 Feb;57(2):245-50.
57. 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
58. 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
59. Ishida A, Ohta K, Suzuki Y, Kakehata S, Okubo K, Ikeda H, Shiraishi H, Izuhara K. Expression of pendrin and periostin in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis. *AllergologyInt* 61: 589-595, 2012.
60. Wakabayashi K, Hashiguchi K, Kanzaki S, Fujioka M, Tanaka N, Kawashima K, Suematsu K, Yamamoto H, Iwasaki M, Gotoh M, Horibe S, Naito K, Okubo K. Puranlukast dry syrup inhibits symptoms of Japanese cedar pollinosis in children using OHIO chamber. *Allergy Asthma Proc* 33: 102-109, 2012.
61. Higaki T, Okano M, Fujiwara T, Makihara S, Kariya S, Noda Y, Haruna T, Nishizaki K. COX/PGE₂ axis critically regulates effects of LPS on eosinophilia-associated cytokine production in nasal polyps. *Clinical and Experimental Allergy* 42: 1217-1226, 2012.
62. Ohta N, Makihara S, Okano M, Kurakami K, Ishida A, Furukawa T, Suzuki Y, Watanabe T, Kakehata S, Aoyagi M. Roles of IL-17, Th1, and Tc1 cells in patients with IgG4-related sclerosing sialadenitis. *Laryngoscope* 122: 2169-2174, 2012.
63. Okano M, Fujiwara T, Makihara S, Fujiwara R, Higaki T, Kariya S, Noda Y, Haruna T, Nishizaki K. Characterization of IL-18 expression and release in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis. *International Archives of Allergy and Immunology* 160: 275-286, 2012.
64. 意元義政、藤枝重治
65. 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
66. 意元義政、藤枝重治
67. 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: 39-44,2011
68. 岡野光博. こどものアレルギー性鼻炎. 耳鼻咽喉・頭頸部外科 84: 23-28, 2012.
69. 岡野光博. 序～真菌とアレルギー・炎症～. アレルギー・免疫 19: 1041-1042, 2012.

70. 岡野光博. アレルギー性鼻炎における治験の問題点. アレルギー・免疫 19: 1693-1700, 2012.
71. 岡野光博. スギ・ヒノキ花粉症に対する免疫療法. 臨床免疫・アレルギー科 58: 689-696, 2012.
72. Okamoto Y, Ohta N, Okano M, Kamiyo 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.
73. 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.
74. 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)
75. 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.
76. 岡本美孝 編. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科疾患 Q&A. 中外医学社.
77. 岡本美孝. 花粉症、通年性アレルギー性鼻炎. 今日の治療 2013. 浦部晶夫、大田健編, pp641-647、メディカルレビュー社.
78. 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.
79. 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.
80. 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.
81. 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.
82. 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.
83. 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
84. 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*.2013 in press
85. 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 Allergin-1 on Human Primary Mast Cells. *PLoS One*. 7;8:e76160,2013
86. 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*. 12;8:e67057,2013
87. Haenuki Y, Matsushita K, 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*. 130:184-94,2012
88. Ono M, Hamada Y, Horiuchi Y, Matsuo-Takasaki M, Imoto Y, Satomi K, Arinami T, Hasegawa M, Fujioka T, Nakamura Y, Noguchi E.: Generation of induced pluripotent stem cells from human nasal epithelial cells using a sendai virus vector.*PLoS One*.2012 ; 7(8):e42855.
89. 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*. 2012 ;57:245-50.
90. 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 Geet. 7:e1002170,2011
91. 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
92. Sakaida H, Masuda S, Takeuchi K. Measurement of Japanese cedar pollen-specific IgE in nasal secretions. Allergology International (in press)
93. 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
94. Hashiguchi K, Kanzaki S, Wakabayashi K, Tanaka N, Kawashima K, Suematsu K, Tokunaga S, Ogawa K, Okubo K(2013) Efficacy of fluticasone furoate nasal spray and levocetirizine in patients with Japanese cedar pollinosis subjected to an artificial exposure chamber. JDA 2: 94-105.
95. 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.
96. 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.
97. 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.
98. 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.
99. 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 相、他施設共同、非盲検、無対照試験 . アレルギー・免疫 21(2): 306-317, 2014.
100. 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.
101. 菅原一真、御厨剛史、橋本誠、原浩貴、大久保公裕、山下裕司 : プラン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.
102. 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.
103. 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.
104. 大久保公裕 : 花粉症治療最前線 . 公衆衛生 78(2):116-120, 2014.
105. 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.
106. 大久保公裕 : アレルギー性疾患に対する舌下免疫療法 . 東京小児科医学会報 32(2): 68-73, 2013.
107. 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.
108. 大久保公裕 : アレルギー性鼻炎 . JOHNS 29(3): 495-502, 2013.
109. 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.
110. 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.
111. 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.
112. 1 . Higaki T, Okano M, Kariya S, Fujiwara T, Haruna T, Hirai H, Murai A, Gotoh M, Okubo K, Yonekura S, Okamoto Y, Nishizaki K. Determining minimal clinically important differences in

- Japanese cedar/cypress pollinosis. *Allergology International* 62: 487-493, 2013.
113. 2 . Gotoh M, Yuta A, Okano M, Ohta N, Matsubara A, Okubo K. 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 of asthma guideline. *Allergology International* 62: 181-189, 2013.
114. 3 . Hirai H, Kariya S, Okano M, Fukushima K, Kataoka Y, Maeda Y, Nishizaki K. Expression of toll-like receptors in chronic otitis media and cholesteatoma. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 77: 674-676, 2013.
115. 4 . 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.
116. 5 . 岡野光博. 好酸球性副鼻腔炎の病態と治療. *日医雑誌* 141: 2191-2194, 2013.
117. 6 . 岡野光博. 鼻噴霧用ステロイド薬の新たな位置付け. *アレルギーの臨床* 33: 37-41, 2013.
118. 7 . 岡野光博. 鼻噴霧用ステロイド薬の初期治療としての可能性. *医薬ジャーナル* 49: 75-82, 2013.
119. 8 . 岡野光博. 免疫担当細胞とその分化. *JOHNS* 29: 297-301, 2013.
120. 9 . 岡野光博. Q7:アレルギー性鼻炎の治療法は成人と同じでよいですか?. *ENTONI* 152: 43-50, 2013.
121. 10 . 岡野光博, 假谷伸. 成人気管支喘息の難治化要因とその対策, 鼻炎や副鼻腔炎の合併. *アレルギー・免疫* 20: 514-523, 2013.
122. 11 . 岡野光博. 気道疾患に対する治療戦略: ステロイド薬の使い方. *JOHNS* 29: 889-893, 2013.
123. 12 . 岡野光博, 野山和廉. IL-31 とアレルギー. *臨床免疫・アレルギー科* 60: 12-19, 2013.
124. 13 . 岡野光博. 検査結果をどう読むか? 鼻汁中好酸球検査. *JOHNS* 29: 1591-1595, 2013.
125. 14 . 岡野光博. 一歩進んだ鼻アレルギー治療: 鼻噴霧用ステロイド薬. *アレルギーの臨床* 33: 1107-1111, 2013.
3. 櫻井大樹, 米倉修二, 山本陞三朗, 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 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 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. 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
6. 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
7. 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
8. Fujieda S: New therapeutic strategy for allergic rhinitis. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2011.12. Kobe, Japan
9. 意元義政, 藤枝重治: スギ花粉症に関する鼻上皮細胞も網羅的遺伝子解析 第 29 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2011.2
10. 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

2. 学会発表

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.

11. 坂井田 寛, 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. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2011年: 大津
12. 岡野光博. 免疫療法の有用性と限界-スギ花粉症治療の救世主となれるか-. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年 (シンポジウム)
13. 岡野光博. 小児アレルギー性鼻炎における治療のポイント. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年.
14. 岡野光博. 免疫療法の有用性と限界-スギ花粉症治療の救世主となれるか-. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年 (シンポジウム).

15. 岡野光博. 小児アレルギー性鼻炎における治療のポイント. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年.
 16. 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.
 17. 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. 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.
 18. 森田慶紀他. 千葉市内中学生を対象とするアレルギー性鼻炎の治療法とその効果に関するアンケート調査. 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2012年. 大阪市.
 19. 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. 2013年. 倉敷市.
 20. 坂井田 寛、増田佐和子、竹内万彦. 鼻汁中のスギ特異的IgE抗体測定を試み. 第31回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2013年. 倉敷市.
 21. 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. 2012年. 大阪市.
 22. 岡野光博. スギ・ヒノキ花粉症に対する免疫療法. 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会. 大阪. 2012年(シンポジウム).
 23. 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
 24. 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
 25. Okamoto Y. Development of New Treatments for Allergic Rhinitis 16th Asian research symposium in rhinology. 2013.8月 Tokyo
 26. 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
 27. 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
 28. 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
 29. 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
 30. 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
 31. 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
 32. 岡野光博. アレルギー性鼻炎の治療-点鼻ステロイドの利点. 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会. 横浜. 2013年(シンポジウム).
 33. 岡野光博. アレルギー性鼻炎における Minimal Persistent Inflammation. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2013年(教育講演).
 34. 岡野光博. Th2 サイトカイン阻害薬の可能性. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2013年(教育セミナー).
 35. 岡本美孝. アレルギー性鼻炎に対する一舌下免疫療法. 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
 36. 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、特許取得
 - 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
 - 藤枝重治、意元義政、野口恵美子、他: スギ花粉

症感作・発症と Gene X 遺伝子の関連 (平成 24 年予定)

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

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に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に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⁺Foxp3⁺/CD25⁺CD4⁺ 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に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/m³/hr の濃度でも、スギ花粉曝露で用いている 8000 個/m³/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に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に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 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「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

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度のゆ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。-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させ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 -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 -GalCerが組み込まれたリン脂質二重層のナノカプセル (liposome- -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) -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- γ -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) -GalCerと抗原をパルスした樹状細胞の口腔粘膜下投与や -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、診療報酬など環境を整えれ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- γ -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、山本陞三郎、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、山本陞三郎、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. Gal Cer 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. Gal Cer 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. Gal Cer 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. Gal Cer 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. 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. Gal Cer 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、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 はパピリンとスギ花粉、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っていないが、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られる。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 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) を使い、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 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 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、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 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 Allergin-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.

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-Rhio-Laryngologygicum 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野））

（分担）研究報告書

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 三重大学医学部付属病院・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 と平年の倍以上であった。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

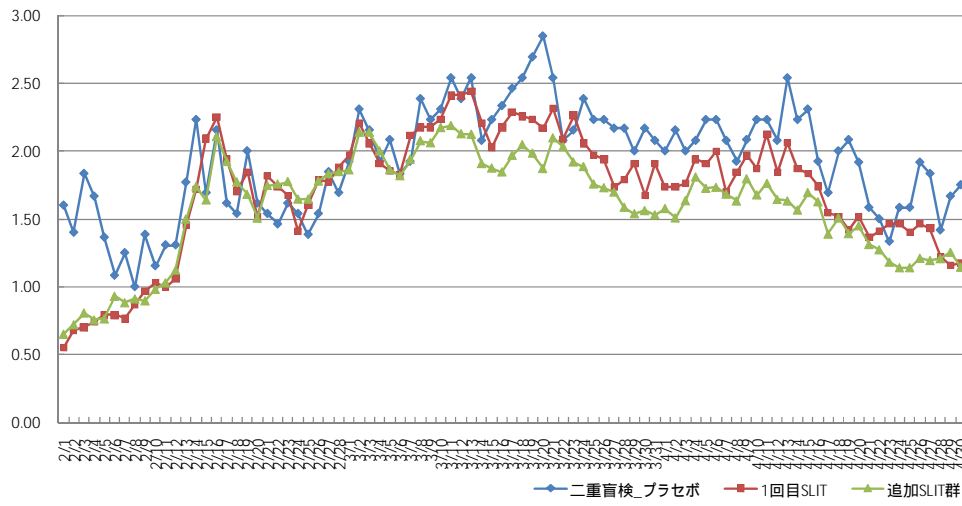
論文

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, Takanashi H (2012) Mometasone furoate nasal spray relieves 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ブソイドエフェドリン配合剤の有効性及び安全性の検討 : 第 相/第 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：プラン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中学生/小学生とその保護者に平成23年10月（中学生対象）、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：中学生969名、小学生1517名の解析では鼻症状の出現時期は中学生：2-5年前が35%、6-10年前が40%、10年以上前が21% 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、中学生、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. 中学生、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）は中学生で10%強、小学生で30%弱であった。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。

(1) 小中学生のアレルギー性鼻炎の実態に関する調査

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎の罹患率は近年増加傾向にあり、およそ全国民の1/3が罹患していると推測されている。このようにアレルギー性鼻炎は国民病といっているほど罹患率が高いのみでなく発症年齢も低年齢化しており、学校生活や学業にも支障を来すことが少なくない。しかしながら、週日は授業や課外活動等で忙しく、また急性発作などがある喘息などと異なり緊急性が乏しいことからアレルギー性鼻炎をもつ生徒は医療機関を必ずしも受診していない可能性がある。このような場合には適切なアレルギー性鼻炎の治療を受けていないことも考えられる。そこで平成23年度は中学生を、平成24年度は小学生を、対象にアレルギー性鼻炎の治療法とその効果とを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

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、毎年全国の学校で行われている保健調査票にて医師からアレルギー性鼻炎の診断を受けている中学生とその保護者/小学生とその保護者に平成23年10月(中学生対象)、平成24年10月(小学生対象)にアンケート調査を行った。調査項目は、性別、鼻症状の出現時期、検査で判明しているアレルゲン、最近1年間の病院・薬局からの薬物療法および健康食品・民間療法の有無、治療薬の内容、免疫療法・代替医療への評価、今までの治療法に対する不満点、今後の治療法への期待、などである。

(倫理面への配慮)

本研究はアンケート調査のみであり、また匿名で個人情報の保護に関しても問題ないものと考えられる。

C. 研究結果

1) 中学生969名(男児543名、女児420名、性別未記載6名)、小学生1517名(男

児848名、女児669名)から解析可能なアンケートを回収した。鼻症状の出現時期は中学生:2-5年前が35%、6-10年前が40%、10年以上前が21%、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) 症状のある時期では、中学生:通年性が42%、季節性が55%であり、小学生:通年性が45%、季節性が54%であった。検査で陽性になっているアレルゲンについては中学生:ダニ単独17%、スギ単独19%、ダニ、スギ両者34%、不明30%であった。小学生:ダニ単独22%、スギ単独22%、ダニ、スギ両者36%、不明20%であった。

3) 直近1年間にアレルギー性鼻炎の治療は中学生:病院を受診した児は65%、薬局・市販品などで治療薬を購入した児は25%、未治療が20%、小学生:病院を受診した児は85%、薬局・市販品などで治療薬を購入した児は10%、未治療が10%であった。複数回答であるために病院受診と薬局で市販薬を購入した児も存在したが(10%)、およそ80%の中学生

およそ85%の小学生は何らかの治療を必要としたと考えられる。本調査では、健康食品などを利用した児は数%であり、治療の大部分が薬物と思われた。服薬内容としては、中学生:病院受診者では90%が内服薬を、60%が点鼻薬を、40%が点眼薬を処方され、小学生:病院受診者では80%が内服薬を、50%が点鼻薬を、40%が点眼薬を処方されていた。

4) 使用薬剤の効果に対する評価は、中学生・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) 平成24年小学生を対象としたアンケートでは免疫療法についての質問項目があったが、全体の2%が免疫療法治療経験あり、38%が治療経験なしと返答した。60%がこの質問に未回答であり、免疫療

法の認知度が低いと予測された。

- 6) これまでのアレルギー性鼻炎の治療（主に薬物療法）には 中学生 小学生ともに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。不満の理由としては、治療効果が乏しいと答えたのは 中学生26.3%、小学生25.9%であり、費用（中学生：28.5%、小学生：25.4%）や通院が面倒（中学生31.8%、小学生28.3%）といった理由のほうがより多かった。一方、眠気などが困ると答えた児は中学生18%、小学生12%であり、およそアレルギー性鼻炎患者の1/5～1/10は薬物の副作用により学校生活に支障を来している可能性がある。
- 7) 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いのは当然だが（中学生・小学生ともに50%）、免疫療法が中学生10%、小学生およそ30%であった。

D. 考察

千葉市のアレルギー性鼻炎を有する中学生・小学生を対象としたアンケート調査から、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鼻炎が多いことが示唆された。また大部分が幼稚園から小学校低学年の頃に発症しており、大部分が薬物療法を必要としていた。今後、発症や重症化の予防を考えると標的となる年代は小学生以下であると考えられる。現在の薬物療法等に満足する児は約半数であり、今後は従来の薬物療法主体の治療のみでなく、薬物療法以外の治療を望む患者が多いことを示している。しかしながら、免疫療法（減感療法）に関する希望・質問からは本治療法の認知がまだ低い可能性も考えられる。根本的な治療法であり、また発症予防にも効果がある可能性が示されている免疫療法の普及を図るべきと考える。

E. 結論

千葉市内のアレルギー性鼻炎患者およそ1000名のアンケート調査から、1) 大部分の児はなんらかの治療を必要としている、2) 病院での薬物療法をきちんと受けることが市販の治療薬よりも有効である、3) 半数の患者は現在の治療法には満足してお

らず、廉価で頻回の通院治療の必要性のない他の治療法を期待している、4) 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。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

1. 森田慶紀、下条直樹、中野泰至、井上祐三朗、有馬孝恭、河野陽一、岡本美孝 千葉市内中学生を対象とするアレルギー性鼻炎の治療法とその効果に関するアンケート調査 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会 大阪 2012年5月12日
2. 森田慶紀、下条直樹、千葉浩輝、中野泰至、井上祐三朗、有馬孝恭、河野陽一、岡本美孝 アレルギー性鼻炎の小児患者の治療法と今後の課題：アンケート調査より 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会 横浜 2013年5月11日

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

(2)免疫療法に関する小児科医の意識に関する研究

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎の罹患率は近年増加傾向にあり、およそ全国民の1/3が罹患していると推測されている。このようにアレルギー性鼻炎は国民病とっていいほど罹患率が高いのみでなく発症年齢も低年齢化しており、学校生活や学業にも支障を来すことが少なくない。薬物療法は有効であるが対症療法に過ぎず、根本的治療法である免疫療法の普及が望まれてきた。しかしながら、わが国で従来から行われている皮下注射に

よるダニやスギの免疫療法は痛みや煩雑さが妨げとなって小児のアレルギー性鼻炎の治療法としては広く行われてはいない。近年、欧米を中心に舌下免疫療法が保険診療として行われており、わが国でも近々吸入アレルギーに対する舌下免疫療法が認可される予定である。しかしながら、アレルギー性鼻炎を診療している第一線の小児科医の舌下免疫療法に対する認知はまだ高くない可能性がある。そこで、本研究では、実地医家を中心とする小児科医のアレルギー性鼻炎に対する意識調査を目的とした。

B. 研究方法

千葉県小児科医会会員医師（総数450名）に郵送でアンケートを送付し調査を行った。調査、質問項目は、以下の9つである。専門科、勤務先、医師経験年数、アレルギー専門医資格の有無、現在のスギ花粉症の薬物治療に対する患者満足度、皮下注射による免疫療法の経験の有無、スギ舌下免疫療法への関心、舌下免疫療法の実施への対応、免疫療法を実施する医師の資格について、である。

（倫理面への配慮）

本研究はアンケート調査のみであり、また匿名であり、個人情報保護に関して問題ないものと考えられる。

C. 研究結果

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、

- 1) 90.8%が小児科、10.1%が内科であった（重複も含む）。(図1)
- 2) 勤務先はクリニックが64.3%で、病院が32.8%、その他が2.9%であり、実地医家が2/3を占めていた。(図2)
- 3) 経験年数では21年以上が86.5%であり、11年から20年以下が11.1%であり、以前に皮下注射免疫療法の経験がある医師も多いと考えられた。(図3)
- 4) 83.6%は非アレルギー専門医の資格を持っていなかった。(図4)
- 5) 63.8%の医師が現行の薬物療法に患者は満足していないと考えていた。(図5)
- 6) スギ舌下免疫療法に対しては

62.3%の医師が関心がある、11.6%が存在は知っているが関心がない、24.2%が知らないと回答した。(図6)

7) 舌下免疫療法を自ら行う希望のない（あるいは不明な）医師はおおよそ30%であった。一方で、18.5%がぜひ実施したい、51.2%が場合によっては自分での実施を考えると回答していた。すなわち、おおよそ70%の医師は自ら実施することを考えていた。(図7)

8) 舌下免疫療法に関心を持つ医師（129名）の52.7%が、非専門医でも講習を受ければ実施して良いと回答した。一方で31%は、専門医が行うべきと回答した。(図8)

D. 考察

千葉県小児科医会会員医師（小児科医がおおよそ9割）に対するアンケート調査の結果から、

おおよそ7割の医師はスギ舌下免疫療法に関心があり、実地医家の非アレルギー専門医にもスギ舌下免疫療法は支持されて施行される可能性が高いと思われる。

舌下免疫療法は皮下注射法に比較して安全性ははるかに高いと考えられるが、その適応、副作用などを適切に理解した上での施行が望ましい。そのためには耳鼻科、アレルギー科などの専門医による講習等を十分に行う必要があると思われる。また、患者に対しても舌下免疫療法についての情報提供を行うことが本治療法の安全で有効な施行のために望まれる。

E. 結論

千葉県小児科医会会員医師に対するアンケート調査の結果、スギ舌下免疫療法はアレルギーを専門としない一般小児科医の多くが施行を希望する可能性が高いことが明らかとなった。今後、舌下免疫療法の適正な施行の点からも一般医師ならびに患者への情報提供が必要と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2.学会発表

なし

G.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

スギ花粉症に対する早期介入の効果と効果評価に関する研究

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	医員
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

スギ花粉症の早期介入効果を検討する目的で、スギ花粉症に対する皮下免疫療法が気管支喘息など他のアレルギー疾患の新規発症を予防しうるのか検討した。さらにスギ花粉症における最小持続炎症の検出を試みた。また臨床的に意味のある QOL スコアの最小変動値（Minimal clinically important difference: MCID）を算出した。免疫療法を行った患者の内、6年間のフォローアップでは4.9%にのみ気管支喘息の新規発症がみられた。スギ花粉誘発無発症者でも鼻汁中 ECP の上昇を認めた。5 シーズンを通じた総 QOL スコアの平均 MCID は 6.804 となった。以上より、スギ花粉症に対する皮下免疫療法は新規喘息発症を予防する可能性、スギ花粉症においても最小持続炎症が存在すること、JRQLQ において総 QOL スコアで 6.8 の変化は臨床的に意味のある差と思われた。

A. 研究目的

アレルギー疾患に対する免疫療法や薬物治療による早期介入の重要性が指摘されているがスギ花粉症では未明な点が多い。今回我々は、スギ花粉症に対する早期介入の効果と評価を解析する目的で以下の検討を行った。すなわち、スギ花粉症に対する皮下免疫療法の気管支喘息など他のアレルギー疾患の新規発症の予防効果、スギ花粉症における最小持続炎症の検出、臨床的に意味のある QOL スコアの最小変動値（Minimal clinically important difference: MCID）を算出、について検討した。

B. 研究方法

標準化スギ花粉エキスをを用いた皮下免疫療法を行ったスギ花粉症患者のうち、2005年～2006年に維持療法を施行した患者44例を対象とした。2011年4月に面接あるいは電話調査を行い、気管支喘息やスギ花粉症以外のアレルギー性鼻炎を新規に発症したか問診した。スギ花粉の非飛散期である2012年8

月に、通年性鼻炎を有さないスギ花粉症患者を対象に、スギ花粉エキス付着ディスクによる連続鼻粘膜誘発反応を行った。誘発5分後の発症の有無を観察した。さらに鼻汁中 ECP 濃度を比較した。2009年～2013年に実施した6件の臨床試験の JRQLQ データを基に、フェイススケールの1変動に応じた総 QOL スコアの変化値を算出した。

（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

フォローアップのできた41例（93.2%）のうち、2例（4.9%）にのみ気管支喘息の新規発症がみられた。また新規に通年性鼻炎を合併した患者はおらず、新規の季節性鼻炎を発症したものは41例中2例（4.9%）であった。気管支喘息を新規に発症した群と対照群との間に年

年齢、性、治療前血清総IgE量、治療前スギ特異的IgE抗体価、維持抗原量、維持期間での有意な差はみられなかった。1日目の誘発反応では、20名中5名(25%)が発症した。1日目誘発の陽性者と陰性者を比較すると、2日目対照ディスク中のECP濃度には2群間で差を認めず、また1日目誘発陰性者であっても1日目対照ディスクと比較して2日目対照ディスク中のECP濃度は有意に亢進した。フェーススケールの1変動に応じた総QOLスコアの変化値を算出した。2009年でのMCIDは10.469であった。2010年は2件の臨床試験を行ったが、MCIDはそれぞれ6.026および5.441であった。2011年は6.396、2012年は6.953、2013年は5.540であった。これらの総QOLスコアの平均MCIDは6.804となり、1項目当たりでは0.400となった。試験方法の違いや実薬とプラセボ薬でのMCID値に有意な差を認めなかった。さらに、総花粉飛散数とMCID値との間には有意な相関関係を認めなかった。

D. 考察

これまでに、アレルギー性鼻炎に対する皮下免疫療法が喘息など他のアレルギー疾患の発症を予防することを示した報告がある。例えばPAT-study (Moller C, et al. J Allergy Clin Immunol 2002) では、喘息のない小児花粉症患者を対象とし、3年間の免疫療法の有無による治療終了2年後の喘息発症率を比較したところ、免疫療法を施行しなかった群での喘息発症率(44.4%)に比較して免疫療法群では喘息発症率が24.1%と半減することが示されている。今回の検討では、PAT-studyなどとも比較して喘息の新規発症率はごく軽度であり、スギ花粉症に対する免疫療法は喘息の新規発症を予防する効果が期待できることが示唆された。海外では、発症に要する抗原濃度の1/100であっても鼻粘膜誘発によって鼻汁中ECP濃度が亢進することが報告されている(Roquat A, et al. 1996)。今回の結果では、誘発陰性、すなわち未発症であっても鼻汁中ECP濃度が亢進することが明らかとなり、スギ花粉症においても最小持続炎症が確認された。国際的なアレルギー性鼻炎のQOL調査票であるRQLQに関しては包括的質問票をアンカーとしたMCIDが算出され、1項

目あたり約0.5のQOLの差は臨床的に有意義ということが報告されている(Juniper EF, et al. J Allergy Clin Immunol 1996)。RQLQとJRQLQは項目数や尺度に違いがあるが、ほぼ同様のMCIDを示すことが明らかとなった。

E. 結論

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okano M, et al. Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by peripheral blood mononuclear cells in allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 127: 277-279, 2011.
- 2) Hosoya K, Okano M, et al. Gene silencing of STAT6 with siRNA ameliorates contact hypersensitivity and allergic rhinitis. *Allergy* 66: 124-131, 2011.
- 3) Yonekura S, Okano M, et al. 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.
- 4) Makihara S, Okano M, et al. Early interventional treatment with intranasal mometasone furoate in Japanese cedar/cypress pollinosis: a randomized placebo-controlled trial. *Allergology International* 61; 295-304, 2012.
- 5) Higaki T, Okano M, et al. COX/PGE₂ axis critically regulates effects of LPS on eosinophilia-associated cytokine production in nasal polyps. *Clinical and Experimental Allergy* 42: 1217-1226, 2012.
- 6) Okano M, et al. Characterization of Japanese cypress pollinosis and the effect of early interventional treatment for cypress pollinosis. *Clinical and Experimental Allergy Reviews* 12: 1-9, 2012.
- 7) Higaki T, Okano M, et al. Determining minimal clinically important differences in Japanese cedar/cypress pollinosis. *Allergology International* 62: 487-493, 2013.
- 8) Gotoh M, Okano M, et al. 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 of asthma guideline. Allergology International 62: 181-189, 2013.

9) Imoto Y, Okano M, et al Cystatin SN upregulation in patients with seasonal allergic rhinitis. PLoS One 8: e67057, 2013.

2. 学会発表

1) 岡野光博. 免疫療法の有用性と限界-スギ花粉症治療の救世主となれるか-. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年 (シンポジウム).

2) 岡野光博. 小児アレルギー性鼻炎における治療のポイント. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011年.

3) 岡野光博. スギ・ヒノキ花粉症に対する免疫療法. 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会. 大阪. 2012年 (シンポジウム).

4) 岡野光博. アレルギー性鼻炎における鼻噴霧用ステロイド薬の位置づけ-早期介入の意義-. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会. 大阪. 2012年.

5) 岡野光博. アレルギー性鼻炎の治療-点鼻ステロイドの利点. 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会. 横浜. 2013年 (シンポジウム).

6) 岡野光博. アレルギー性鼻炎における Minimal Persistent Inflammation. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2013年 (教育講演).

7) 岡野光博. Th2 サイトカイン阻害薬の可能性. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2013年 (教育セミナー).

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

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujimura T, Yonekura S, Horiguchi S, Taniguchi Y, Saito A, Yasueda H, Inamine A, Nakayama T, Takemori T, Taniguchi M, Sakaguchi M, 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.	<i>Clinical Immunology.</i>	139	65-74	2011
Okano M, Fujiwara T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Yasueda H, Nishizaki K.	Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by peripheral blood mononuclear cells in allergic rhinitis.	<i>Journal of Allergy and Clinical Immunology</i>	277	277-279	2011
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.	<i>American Journal of Rhinology and Allergy</i>	26	92-96	2012
Inamine A, Sakurai D, Horiguchi S, Yonekura S, Hanazawa T, Hosokawa H, Matuura-Suzuki A, Nakayama T, Okamoto Y.	Sublingual administration of <i>Lactobacillus paracasei</i> KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells.	<i>Clinical Immunology</i>	143	170-179	2012
Higaki T, Okano M, Fujiwara T, Makihara S, Kariya S, Noda Y, Haruna T, Nishizaki K	COX/PGE ₂ axis critically regulates effects of LPS on eosinophilia-associated cytokine production in nasal polyps.	<i>Clinical and Experimental Allergy</i>	42	1217-1226	2012
Haenuki Y, Matsushita K, Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, Fujieda S, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto	A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis.	<i>J Allergy Clin Immunol.</i>	130	184-94	2012

<u>Okamoto Y</u> , Ohta N, Okano M, Kamijo A, Gotoh M, Suzuki M, Takeda S, Terada T, <u>Hanazawa T</u> , Horiguchi S, Honda K, Matsune S, Yamada T, Yuta A, Nakayama T, Fujieda S.	Guiding principles of subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis in Japan.	<i>Auris Nasus Larynx</i>	41	1-5	2013
Higaki T, <u>Okano M</u> , Kariya S, Fujiwara T, Haruna T, Hirai H, Murai A, Gotoh M, Okubo K, Yonekura S, <u>Okamoto Y</u> , Nishizaki K.	Determining minimal clinically important differences in Japanese cedar/cypress pollinosis patients.	<i>Allergol Int.</i>	62	487-93	2013
Sakaida H, Masuda S, <u>Takeuchi K</u> .	Analysis of factors influencing sensitization of Japanese cedar pollen in asymptomatic subjects.	<i>Auris Nasus Larynx</i>	40	543-7	2013
Nagai K, Tahara-Hanaka S, Morishima Y, Tokunaga T, <u>Imoto Y</u> , Noguchi E, Kanemaru K, Imai M, Shibayama S, Hizawa N, <u>Fujieda S</u> , Yamagata K, Shib	Expression and Function of Allergin-1 on Human Primary Mast Cells.	<i>PLoS One.</i>	8	e76160	2013
<u>Imoto Y</u> , Tokunaga T, Matsumoto Y, Hamada Y, Ono M, Yamada T, Ito Y, Arinami T, Okano M, Noguchi E, <u>Fujieda S</u> .	Cystatin SN Upregulation in Patients with Seasonal Allergic Rhinitis.	<i>PLoS One.</i>	8	e67057	2013