

令和元年6月21日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05483

研究課題名(和文) EXiLE法を用いた舌下免疫療法の機序解明と奏効性予測バイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Study of the mechanism and therapeutic biomarkers for sublingual immunotherapy by using the EXiLE method

研究代表者

中村 亮介 (Nakamura, Ryosuke)

国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部・室長

研究者番号：50333357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アレルゲン舌下免疫療法(SLIT)のメカニズムの解明に取り組むとともに、患者血清中からSLITによる治療の奏効性を早期に予測するバイオマーカーを探索することを目的とした。申請者独自のアレルギー試験法「EXiLE法」を用いて、千葉大学においてスギ花粉症のSLITを実施した患者38名の血清中IgEの抗原特異的架橋活性を調べたところ、治療前の血清によるEXiLE法の応答性が2.0倍以上となった患者群は、それ以外の患者群に対し、鼻症状スコアが有意($P<0.001$)に減少していることを見出した。症状発現へのIgEの寄与率が低い症例ほどSLITが効きにくい、というメカニズムが想定される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、舌下免疫療法(SLIT)という画期的なアレルギーの治療法が開発された。しかしこの治療法は長期(数年)にわたって実施する必要があるため、治療開始時にSLITがよく効く患者とそうでない患者を見分ける手法の開発が求められていた。我々が近年開発した「EXiLE法」という手法を用いると、治療開始前にEXiLE法の応答性が高い患者ほど、SLITがよく効いていることが分かった。この方法により、SLITがよく効く患者を事前に見分けてから長期にわたるSLITを実施するという個別化医療が実現できるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：In this study we aimed to explore a biomarker that can predict the clinical response to sublingual immunotherapy (SLIT). Patients allergic to Japanese cedar pollen (JCP) were administered with JCP SLIT for more than 2 seasons. The severity of symptoms of pollinosis was represented by an averaged total nasal symptoms medication score (TNSMS) in the peak season. Crosslinking ability of patients' serum IgE on the addition of JCP extract was determined by our original cell-based allergy test; IgE crosslinking-induced luciferase expression (EXiLE) method. When the reporter cells were sensitized with patients' sera collected before starting SLIT, JCP-induced EXiLE response of more than 2.0 fold was an effective threshold to distinguish good and poor responders in SLIT judged by TNSMS difference ($P<0.001$). These results suggest that specific IgE crosslinking ability at SLIT entry would be a good biomarker candidate to predict the clinical response to SLIT.

研究分野：アレルギー学

キーワード：アレルゲン舌下免疫療法 EXiLE法 IgE IgG バイオマーカー ルシフェラーゼ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国で4人に1人が罹患するというスギ花粉症は、通常は自然寛解が期待できないため、一度罹患すると生涯にわたって患者のQOLを低下させるとともに、国の医療費を圧迫している。「アレルゲン免疫療法」は、スギ花粉症の自然経過を修飾しうる唯一の治療法として、近年期待が高まっている。従来は皮下注射による免疫療法 (SCIT) が行なわれてきたが、注射であるため、患者にとっては痛みを伴う。さらに、治療のために毎回通院せねばならないことも問題となっていた。

平成26年に発売されたスギ花粉アレルゲンの治療薬「シダトレン®スギ花粉舌下液」は、我が国で初めて承認された「アレルゲン舌下免疫療法 (SLIT)」治療薬で、注射を行わないため、苦痛もなく、患者が自宅で治療できることに大きな特長がある。患者は、舌下に少量のスギ花粉アレルゲンを投与され、次第に増量していき、最終的には一日2000 JAU/mLを維持量として、自宅での治療を少なくとも2年以上は継続することが求められる。シダトレンの副作用は、局所かつ軽微なものがほとんどで、SCITに比べると、重篤かつ全身性の副作用の危険性は低いと考えられている。シダトレンに引き続き、平成27年にはダニのSLIT治療薬「アシア®ダニ舌下錠」、および「ミティキュア®ダニ舌下錠」などが相次いで承認されている。

このようにSLITに期待と注目が集まる一方で、アドヒアランスの低さ(海外の報告では、複数年度に渡る場合のアドヒアランス54 - 88%)が問題となっている。研究分担者(岡本美孝)らによる最近のアンケート調査によれば、約8割の患者がシダトレンの効果を実感していたが、逆に言えば、約2割の患者には効果がなかったということになる。2年以上にわたって治療を続ける必要があることを考えると、医療経済学上由々しき問題である。もし、治療開始早期に、患者のSLITの奏効性を予測できるバイオマーカーがあれば、アドヒアランスの向上が期待でき、患者・医療者・国(医療費)のすべてにとってメリットが非常に大きいといえる。

2. 研究の目的

申請者は、以前より、培養細胞株を用いた全く新しいアレルギー試験法を開発してきた。これは、ヒトの高親和性IgE受容体(FcεRI)を発現させたラットの培養マスト細胞株(RS-ATL8)を、希釈したアレルギー患者血清により受動的に感作し、抗原の添加による細胞の活性化をルシフェラーゼアッセイにより超高感度に検出する手法で、「IgE Crosslinking-induced Luciferase Expression (EXiLE)法」と呼んでいる。EXiLE法は、保存された患者血清と培養細胞とにより簡便かつ高感度にIgEの架橋活性を後方視的に評価できる画期的な試験法である。また、研究分担者(岡本美孝)は、日本アレルギー学会の「スギ花粉症におけるアレルゲン免疫療法の手引」作成委員を務めるなど、SLITのエキスパートとしてよく知られる。

そこで本研究では、研究分担者(岡本美孝)がこれまで収集したSLITの治療経過を追って採血した患者血清について、EXiLE法により後方視的にこれを解析し、SLITの治療奏効性と相關するBMを探索することにした。

これまでの申請者の経験では、多くのアレルギー患者血清において、血清洗浄後のEXiLE応答の方が洗浄前に比べて強い応答を示すが、これは血清中にIgEを介するアレルギー応答を抑制する因子が存在していることを示唆している。本研究により、この抑制活性とSLIT奏効性との相関を明らかにする。

3. 研究の方法

千葉大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科をスギ花粉症の治療のため受診し、シダトレン®スギ花粉舌下液が処方された患者に、書面による同意を得て採血および症状に関する日記の記録を実施した。鼻症状は、花粉飛散ピーク期のtotal nasal symptom medication score (TNSMS)により評価した。このうち2シーズン以上継続して採血できた患者38名について、スギ花粉特異的抗体価(sIgE)およびEXiLE応答性を調べた。

EXiLE法は、定法に従い、100倍希釈した患者血清によりRS-ATL8細胞を一晩感作した。細胞の洗浄を行う群(Wash)と行わない群(NoWash)について、0.1~10000ng/mLのスギ花粉エキスにより刺激を行い、3時間後のルシフェラーゼ発現量を未刺激時の活性との比率(fold change)により応答性を表した。

4. 研究成果

SLIT実施後最初の花飛散期および2年目の飛散期の間で、患者のTNSMSは有意に減少した。各シーズンの患者血清を用いたスギ花粉抗原に対するEXiLE応答については、Wash群の応答性はNoWash群に比べて応答性が大きく増加した。これは、血清中に中和抗体が存在するためと考えられる。そこで、各シーズンにおけるWash群のEXiLE応答からNoWash群の応答を差し引いた値(Wash - NoWash)を中和活性として比較すると、エントリー時に比べ、治療後では1シーズン目の飛散期前から2シーズン目の飛散期後まで中和活性が有意に増加していた(P<0.001)。中和活性が認められた患者血清において、RS-ATL8細胞の感作前に血清をProtein G処理することでIgG画分を除去しておく、NoWash時のEXiLE応答が上昇したことから、中和活性の本体はIgGであると考えられる。各採血ポイントにおけるEXiLE応答とsIgEに基づいて患者を分類し、初年度と次年度のTNSMSの差(ΔTNSMS)を比較すると、治療開始前のEXiLE応答及びsIgEが高い群ほどΔTNSMSの減少幅が大きいことが分か

った。至適カットオフはそれぞれ 2.0 倍と 10 UA/mL で、カットオフを超えた群の Δ TNSMS の P 値はそれぞれ 0.00048 と 0.0021 であった。また、EXiLE 応答のカットオフ上下で Δ TNSMS の差は -1.29 で $P=0.0050$ 、sIgE のカットオフ上下で Δ TNSMS の差は -1.05 で $P=0.029$ の有意差が認められた。

この結果は、SLIT 開始時の特異的 IgE 抗体価、特にその架橋能は SLIT の奏効性を予測するよいバイオマーカー候補であることを示唆している。治療開始時の sIgE が SLIT 奏効性を予測するマーカーになり得るかどうかについては国内外でも議論があるところであるが、我々の結果は効果との相関を支持した。特に、症状発現への IgE の寄与率が低い症例ほど SLIT が効きにくい、と解釈することが可能であろう。

5 . 主な発表論文等 Nishimaki-Mogami T, Teshima R, Saito Y.: Different results of IgE binding- and crosslinking-based allergy tests caused by allergen immobilization. Biol. Pharm. Bull. 39:1662-6 (2016).

2) 中村亮介.: アレルギー試験法と標準化免疫療法用アレルゲン. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 48:525-32 (2017).

3) Okamoto Y, Fujieda S, Okano M, Yoshida Y, Kakudo S, Masuyama K.: House dust mite sublingual tablet is effective and safe in patients with allergic rhinitis. Allergy 72:435-43 (2017).

4) Yonekura S, Okamoto Y, Sakurai D, Okubo K, Gotoh M, Kaneko S, Konno A.: An analysis of factors related to the effect of sublingual immunotherapy on Japanese cedar pollen induced allergic rhinitis. Allergol. Int. 67:201-8 (2018).

5) Hofer G, Wieser S, Bogdos MK, Gattinger P, Nakamura R, Ebisawa M, Mäkelä M, Papadopoulos N, Valenta R, Keller W.: Three-dimensional structure of the wheat β -amylase Tri a 17, a clinically relevant food allergen. Allergy 74:1009-13 (2019).

〔雑誌論文〕(計 8 件)

〔学会発表〕(計 11 件)

〔図書〕(計 2 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 岡本 美孝

ローマ字氏名: Yoshitaka Okamoto

所属研究機関名: 千葉大学大学院医学研究院

部局名：耳鼻咽喉・頭頸部外科

職名：教授

研究者番号（8桁）：40169157

研究分担者氏名：秋山 晴代

ローマ字氏名：Haruyo Akiyama

所属研究機関名：帝京平成大学薬学部

部局名：薬物治療学

職名：講師

研究者番号（8桁）：50420229

研究分担者氏名：岡本（内田） 好海

ローマ字氏名：Yoshimi Okamoto-Uchida

所属研究機関名：国立医薬品食品衛生研究所

部局名：医薬安全科学部

職名：任期付研究員

研究者番号（8桁）：40716792

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。