

平成 21 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18591891

研究課題名（和文） 舌下免疫療法の効果発現メカニズムを検討する

研究課題名（英文） The mechanism of sublingual immunotherapy, What is it?

研究代表者

後藤 穰 (GOTO MINORU)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：80281426

研究成果の概要：スギ花粉症に対する舌下免疫療法の効果発現メカニズムを検討するために、抗原提示が行われていると想定される口蓋扁桃上皮での各種蛋白 mRNA の変化を評価した。いくつかの mRNA では治療後にプラセボ投与群と比較して増加していた。今後、これらの蛋白の機能や効果発現にどのように関与するのか検討する必要がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,600,000	0	1,600,000
2007 年度	800,000	240,000	1,040,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：アレルギー性鼻炎、免疫療法、スギ花粉症、舌下免疫療法

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー疾患を治癒させるためには、抗原特異的免疫療法（減感作療法）を行うことが、本邦だけでなく海外のガイドラインでも推奨されている。しかし、現在行われている皮下注射による方法では、副作用の発現する危険性や通院期間が長くかかるという欠点があり、なかなか普及していない。治療効果については、メタアナリシスでも有効性が証明されており疑いの余地はない。したがって、

より簡便で安全な免疫療法が開発されれば、アレルギー疾患を根本から治療できる可能性が期待される。

副作用の起こりにくい免疫療法として舌下免疫療法が最も有力視されている。実は、欧州ではすでに実用化が始まっている国もあり、ある種の抗原では方法として確立している。本邦でもスギ花粉症に対して舌下免疫療法が臨床的に研究され、投与量に制限があるものの有効性だけでなく安全性もすでに認

められている。

しかし、その効果発現メカニズムは不明な点も多い。なぜ、アナフィラキシーが起こらず安全なのか、抗原が大量に口腔内に投与されても吸収されないのか、口腔粘膜ではどの免疫細胞を介して機能しているのかなど、投与された抗原がどのような動態で細胞に機能し治療効果を発揮しているのか説明の難しい課題が多く残されている。

## 2. 研究の目的

注射法による免疫療法でさえも効果発現メカニズムが完全に解明されたわけではないが、舌下免疫療法はさらに不明な点が多い。抗原エキスが口腔内（舌下）粘膜に投与されると、そこで何らかの免疫応答が行われているはずである。口腔内は種々のリンパ系細胞、具体的にはワルダイエルリングに代表されるようなリンパ組織が存在する。中でも口蓋扁桃は細菌が感染したときには著明な炎症反応が起こるので、生体防御反応を担っていると想像される。また抗原認識などの免疫反応に関しても、何らかの機能を果たしている可能性があると考えられる。

そこで舌下免疫療法の効果発現メカニズムを検討するために、抗原提示が直接行われていると想定される口蓋扁桃上皮で、どのようなタンパクの発現が変化しているのか評価する。

## 3. 研究の方法

舌下免疫療法の治療効果を比較するために、二重盲検比較試験でプラセボと実薬（鳥居薬品製 標準化スギ花粉症治療用エキス、皮下注射用）を口腔内（舌下）投与し、2 分間保持し吐き出すという方法で試験を開始した。研究について説明し同意を得られた被検者について、治療前後で口蓋扁桃からスクレーピングし扁桃上皮を採取した。採取は阪大式両頭鋭匙を使用した。採取した上皮は保存液に入れ、測定まで保管した。

mRNA の発現は、Applied Biosystems 7900HT real time PCR システムで測定し、GAPDH, GUSB の発現に対するターゲット遺伝子の相対定量値を求めた。

## 4. 研究成果

合計 51 検体の扁桃上皮を採取したが、RNA の収量の多い 37 検体についてのみ測定できた。扁桃上皮を擦過する際に、咽頭反射や疼痛のため十分量を採取できなかつたり、口腔内常在菌の汚染のため、測定に適しないものがあったためである。

治療前後のプラセボ群 (n=9) と実薬群 (n=8) について 46 遺伝子の測定を行った。46 遺伝子は、予備実験で行ったマイクロアレイ解析の結果を参考にした。

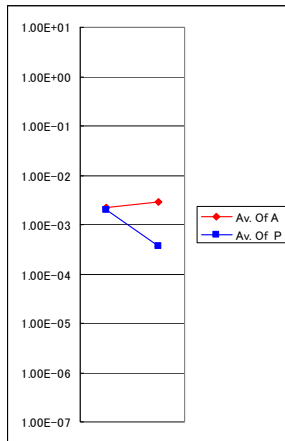
2 群間で変化のあった ABCA12 (ATP-binding cassette, sub family A, member 12), LGI4 (leucine-rich repeat LIG family, member 4), MESP1 (mesoderm posterior 1 homolog), WFDC2 (WAP four-disulfide core domain 2), WFDC5 について検討した。ABCA12、LGI4、MESP1、WFDC2 および WFDC5 の発現は、プラセボ投与群で治療前後に減少する傾向を認めたが実薬群では増加していた。

ABCA12 は脂質輸送に関わり、皮膚では表皮バリアー機能の形成に関与すると考えられているが、現在のところ扁桃や気道などでの役割はわかっていない。WFDC2 および WFDC5 は Whey Acidic Protein domain であり、気道での生態防御機構として innate immune defenses を担っている。

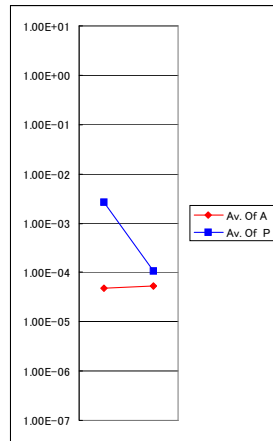
これらの遺伝子発現が舌下免疫療法実薬投与群で増加していることから、これらがどのような機能を果たして治療効果に関連しているのか今後検討していく必要がある。

舌下免疫療法の効果発現のメカニズムについては、当然ながらコンベンショナルな注射法とは異なる経路が考えられている。もちろん、免疫応答に関与する T 細胞に関わる部分では共通のメカニズムもあるはずだが、口腔粘膜から吸収され扁桃で免疫細胞と作用し、頸部リンパ節で効果発現に関わる反応が起きるのだろうと考えられる。つまり、皮下注射法とは異なる免疫組織や細胞での抗原提示・効果発現がおこる仕組みが必ず存在するはずである。

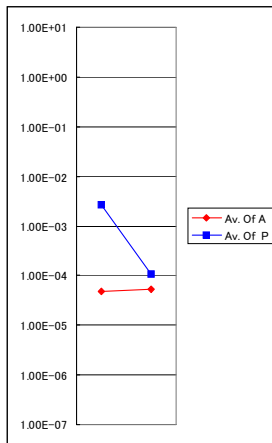
今回の口蓋扁桃による研究は舌下免疫療法の効果が発現するメカニズムの一部にすぎない。舌下から抗原を投与する意義について解明することができれば、どのような投与量をどのようなスケジュールで投与するのが適切なのか検討する参考になるだろう。それらの事実から、さらなる治療有効性の向上を図ることができるのではないかと考えられる。



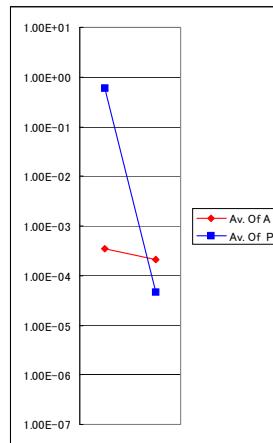
ABCA12



LGI4



MESP1



WFDC2

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 31 件)

- ① 後藤 穰, 大久保公裕. スギ花粉症に対する舌下免疫療法. 臨床免疫・アレルギー科 51 巻 1 号. 2009. 37-43. 査読なし.
- ② Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Suematsu K, Gotoh M, Okubo K. Bepotastine besilate OD tablets suppress nasal symptoms caused by Japanese cedar pollen exposure in an artificial exposure chamber (OHIO Chamber). Expert Opin Pharmacother. 2009 Mar;10(4):523-9. 査読あり
- ③ Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Suematsu K, Tsubaki S, Nagakura H, Kitajima S, Gotoh M, Okubo K. Validation Study of the OHIO

Chamber in Patients with Japanese Cedar Pollinosis. Int Arch Allergy Immunol. 2009 Jan 6;149(2):141-149. 査読あり.

- ④ 指原紀宏, 後藤 穰, 大久保公裕 他. 乳酸菌 *Lactobacillus gasseri* OLL2809 のスギ花粉症改善効果. アレルギーの臨床 29 巻 2 号. 2009. 155-159. 査読なし.
- ⑤ Okubo K, Gotoh M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, Masuyama K, Okamoto Y, Kobayashi M. A randomized double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. Allergol Int. 2008 Sep;57(3):265-75. Epub 2008 Jul 1. 査読あり.
- ⑥ Sashihara T, Ikegami S, Sueki N, Yamaji T, Kino K, Taketomo N, Gotoh M, Okubo K. Oral Administration of Heat-Killed *Lactobacillus gasseri* OLL2809 Reduces Cedar Pollen Antigen-Induced Peritoneal Eosinophilia in Mice. Allergol Int. 2008 Nov 1;57(4):397-403. 査読あり
- ⑦ Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Tsubaki S, Fujita M, Suematsu K, Gotoh M, Okubo K. Preliminary study on Japanese cedar pollinosis in an artificial exposure chamber (OHIO Chamber). Allergol Int. 2007 Jun;56(2):125-30. Epub 2007 Mar 1. 査読あり

[学会発表] (計 30 件)

- ① Okubo K, Hashiguchi K, Gotoh M et al. A double-blind cross-over controlled study of Pranlukast, a leukotriene receptor antagonist, against Japanese cedar pollinosis using the OHIO chamber. 7th symposium on experimental rhinology and immunology of the nose. 2008, 11. (Dubrovnik, Croatia)
- ② Okubo K, Gotoh M. Japanese cedar pollinosis and circumstances. Harmony with climate and pollinosis. 8th International Society of Biometeorology 2008.9 (Tokyo)
- ③ 後藤 穰, 大久保公裕. 一般演題「プラナルカストのスギ花粉症に対する初期療法薬としての二重盲検比較試験—単独効果を中心に」. 第 47 回日本鼻科学会(名古屋) 2008. 9
- ④ 後藤 穰, 大久保公裕, 奥田 稔. シンポジウム「アレルギー性鼻炎の寛解と治癒」. 第 20 回日本アレルギー学会春期臨床大会 (東京) 2008. 6

- ⑤ Okubo k, Gotoh M, Okamoto Y. The clinical role and efficacy of pranlukast on allergic rhinitis. Symposium; The role of leukotrien receptor antagonist on bronchial asthma and allergic rhinitis. World Allergy Congress 2007 (Bangkok, Thai)
- ⑥ 後藤穰. セミナー. アレルギー性鼻炎・花粉症：最近のトピックス. 第 44 回日本小児アレルギー学会（名古屋）2007. 12
- ⑦ 後藤穰、大久保公裕. シンポジウム. 花粉症の最新治療第 2 世代抗ヒスタミン薬. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会（横浜）2007. 11
- ⑧ 後藤穰、大久保公裕、奥田稔. シンポジウム. アレルギー性鼻炎・結膜炎診療の諸問題根治療法. 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会（横浜）2007. 6
- ⑨ 後藤穰、大久保公裕. シンポジウム「スギ花粉症に対する舌下免疫療法の二重盲検比較試験」第 56 回日本アレルギー学会総会（東京）2006. 10
- ⑩ 後藤穰、大久保公裕. 一般演題「スギ花粉症に対する舌下免疫療法」第 107 回日本耳鼻咽喉科学会総会（東京）2006. 5

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

後藤穰

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：80281426

### (2) 研究分担者

大久保公裕

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10213654