

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16883

研究課題名(和文) スギ免疫療法におけるヒノキ花粉症非奏功例に対する新規主要抗原cha o 3の関与

研究課題名(英文) Involvement of a new major allergen Cha o 3 for non responding cases of Japanese cypress pollinosis in Japanese cedar immunotherapy

研究代表者

菊岡 弘高(Kikuoka, Hirotaka)

滋賀医科大学・医学部・客員助教

研究者番号：90794941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： スギ花粉舌下免疫療法は、スギ花粉とヒノキ花粉との主要抗原の高い相同性から、ヒノキ花粉症に対しても効果が期待されたが、効果は半数程度にとどまる。本研究ではその原因を検討した。

スギ花粉舌下免疫療法後には、スギ花粉の主要抗原であるCry j 1 特異的IgG4が産生され、Cry j 1刺激で末梢血単核球からIL-10産生が誘導される。しかしながら今回の研究では、スギ花粉舌下免疫療法後に、ヒノキ花粉の主要抗原であるCha o 1, Cha o 3でこうした変化が認められず、スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する免疫学的効果は限定的であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関東以西ではヒノキ林が植林されており、スギ花粉よりヒノキ花粉の飛散が多い地域もみられ、ヒノキ花粉飛散期の方がスギ花粉飛散期よりも症状が強く出る患者さんも多い。

アレルギー性鼻炎に対して寛解が期待できる唯一の治療法が免疫療法であるが、本研究では、スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する免疫学的効果は限定的であることが分かった。

そのため、国民病とも言われるスギ・ヒノキ花粉症に対しては、スギ花粉とヒノキ花粉とを用いた新たな免疫療法が必要になることが、本研究によって確認された。

研究成果の概要(英文)： Sublingual immunotherapy (SLIT) with Japanese cedar (JCe) pollen extract was expected to be effective for Japanese cypress (JCy) pollinosis, because major allergens of JCe pollen have strong homology with the major allergens of JCy pollen. However, only a half of JCy pollinosis patients clinically improved. Therefore, we examined the immunological effect of SLIT for JCy pollinosis.

Cry j 1 (a major allergen of JCe pollen)-specific production of IL-10 was increased, and serum Cry j 1-specific IgG4 were elevated, after SLIT with JCe pollen extract. However, Cha o 1- or Cha o 3 (major allergens of JCy pollen)-specific production of IL-10 and specific IgG4 was not increased, after SLIT with JCe pollen extract. New SLIT with JCe and JCy pollen is needed for patients with combined JCe and JCy pollinosis.

研究分野：アレルギー

キーワード：アレルギー免疫療法 スギ花粉 ヒノキ花粉

1. 研究開始当初の背景

スギ花粉症は本邦固有の国民病であり、日本全国での有病率は26.5%である(馬場廣太郎ほか、Prog Med 2008)。スギ花粉症患者の約70~80%はヒノキ花粉症を合併しており、特に西日本ではヒノキ花粉症に罹患している割合が高い。

スギとヒノキとは植物学的には同じヒノキ科に属し、ヒノキ花粉の主要アレルゲンコンポーネントであるCha o 1およびCha o 2は、スギ花粉の主要アレルゲンコンポーネントであるCry j 1およびCry j 2とそれぞれ高い相同性を有している(Suzuki M et al, Mol Immunol. 1996)(Mori T et al, Biochem Biophys Res Commun. 1999)。この高い相同性により、特異的IgEやT細胞レベルにおいてお互い交差反応性を示すことが報告されており(Sone T et al, Clin Exp Allergy. 2005)(Ito H et al, Allergol Int. 1996)、スギ花粉標準化エキス(シダトレン®)を用いたアレルゲン免疫療法を施行した際に、スギ花粉症に対してだけでなく、ヒノキ花粉症においても症状抑制効果があることが期待されていた(長田年弘ほか、アレルギー 2016)。しかしながら、スギ舌下免疫療法により、スギ花粉飛散期には高率で症状改善が期待できるが、ヒノキ花粉飛散期には症状の軽減は約半数にとどまることが分かってきた(Yuta A et al, 日鼻誌 2015)。

長田らにより、スギ花粉と共通しないヒノキ花粉の主要アレルゲンコンポーネントであるCha o 3と呼ばれるタンパクが同定され(Osada T et al, J Allergy Clinical Immunology. 2016)、このアレルゲンコンポーネントがスギ免疫療法ではヒノキ花粉症に効果がない原因となっているのではないかという仮説をたてた。

2. 研究の目的

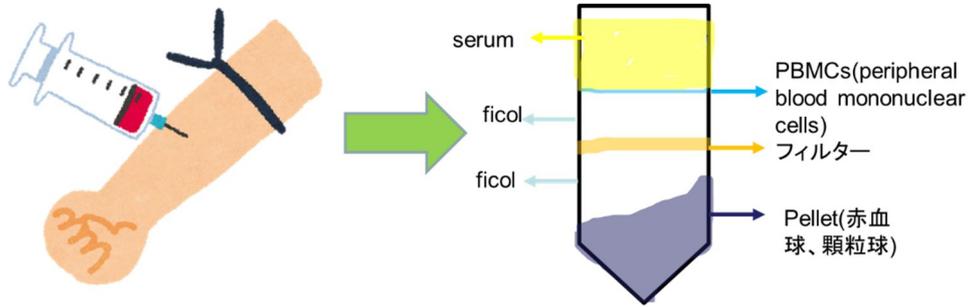
2014年にスギの舌下免疫療法が保険適応となり、免疫療法を受ける患者が増えたが、免疫療法により症状スコアでは効果があることが証明されているものの、依然その免疫学的な機序については不明な点も多い。さらに、スギ免疫療法のヒノキ花粉症に対する効果を免疫学的に大規模に調査した報告はまだない。

今回の研究では、スギ舌下免疫療法による、スギ・ヒノキ花粉飛散に伴うサイトカイン産生の変化や免疫グロブリンの変化を調査することによって、症状を抑制する免疫学的な機序についても明らかにし、ヒノキ花粉症の症状を抑制しない原因に、ヒノキ花粉の新規主要抗原であるCha o 3が関与していることを明らかにする。

3. 研究の方法

スギ舌下免疫療法(SLIT)中のスギ・ヒノキ花粉症患者82人(SLIT群)、SLITを施行していないスギ・ヒノキ花粉症患者25人(non-SLIT群)、花粉症のない患者20人(Healthy controls)を対象とした。

花粉症の症状は、10cm長のvisual analog scale (VAS)を用いた評価法と、鼻アレルギーガイドラインに則ったTNSMS(total nasal symptom medication score)で検討した。



スギ・ヒノキ花粉非飛散期の末梢血を採取し、フィコール・コンレイ比重遠心法で細胞分離し、serumと、末梢血単核細胞(Peripheral blood mononuclear cells ; PBMCs)を採取した(2分割して保存)。

採取したPBMCs (2×10^6 cells/mL)に、Cry j 1・Cha o 1・Cha o 3をそれぞれ10 μ g/mlとなるよう添加し、37 $^{\circ}$ C 5% CO₂の環境下で5日間刺激し、それぞれ上清中のIL-5・IFN- γ ・IL-10・IL-17の産生をELISA法で測定し、SLIT群と他の群とを比較することで、スギSLITによるスギ花粉・ヒノキ花粉飛散期のサイトカイン産生量の変化を明らかにした。

採取したserumから、Cry j 1・Cha o 1・Cha o 3各々の特異的IgEおよびIgG4をELISA法で測定し、スギSLITによるCry j 1・Cha o 1・Cha o 3に対する反応を明らかにした。

Allergenicity kitを用いて、フローサイトメトリーでCry j 1・Cha o 1・Cha o 3各々に對する好塩基球の活性化反応(Basophil activation test)の割合を調査した。

4. 研究成果

本研究では、スギ舌下免疫療法施行患者のPBMCsに対するCry j 1・Cha o 1・Cha o 3刺激時のIL-5・IL-17産生が抑制された。スギ舌下免疫療法施行患者では、Cry j 1刺激でのみIL-10産生が増加し、血清中のCry j 1特異的IgG4のみ増加が認められた。また、スギ舌下免疫療法によるCry j 1特異的IgG4や、Cry j 1刺激時のIL-10/IL-5と、スギ花粉飛散期の症状スコアとの逆相関がみられた。

上記の結果から、スギ花粉舌下免疫療法後には、Cry j 1特異的IgG4が産生され、Cry j 1刺激で末梢血単核球からIL-10産生が誘導されることが分かった。しかしながら、スギ花粉舌下免疫療法後に、Cha o 1, Cha o 3ではこうした変化が認められなかったことから、スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する免疫学的効果は限定的であると考えられた。そのため、国民病とも言われるスギ・ヒノキ花粉症に対しては、スギ花粉とヒノキ花粉とを用いた新たな免疫療法が必要になることが、本研究によって確認された。

詳細な内容を、' Immunological effects of sublingual immunotherapy with Japanese cedar pollen extract in patients with combined Japanese cedar and Japanese cypress pollinosis ' としてClinical Immunologyに投稿した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kikuoka Hirota, Kouzaki Hideaki, Matsumoto Koji, Arai Hiroyuki, Yamamoto Sayuri, Tojima Ichiro, Shimizu Shino, Miyashita Hiromi, Ogawa Yukiko, Osada Toshihiro, Okano Mitsuhiro, Yuta Atsushi, Shimizu Takeshi | 4. 巻 210 |
| 2. 論文標題 Immunological effects of sublingual immunotherapy with Japanese cedar pollen extract in patients with combined Japanese cedar and Japanese cypress pollinosis | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Immunology | 6. 最初と最後の頁 108310 - 108310 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2019.108310 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 菊岡 弘高 |
| 2. 発表標題 スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する免疫学的効果 |
| 3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菊岡 弘高 |
| 2. 発表標題 スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する免疫学的効果 |
| 3. 学会等名 日本アレルギー学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菊岡 弘高 |
| 2. 発表標題 スギ・ヒノキ花粉症患者におけるスギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉症に対する効果の免疫学的検討 |
| 3. 学会等名 日本鼻科学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|