

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号： 14101
 研究種目： 基盤研究（C）
 研究期間： 2010 ～ 2012
 課題番号： 22591897
 研究課題名（和文） 小児スギ花粉症の舌下免疫療法と誘導性制御性 T 細胞および IgG4 による作用機序解明
 研究課題名（英文） Sublingual immunotherapy for pediatric cedar pollinosis and its mechanism by inducible regulatory T cells and IgG4.
 研究代表者
 湯田 厚司（YUTA ATSUSHI）
 三重大学・大学院医学系研究科・リサーチアソシエイト
 研究者番号： 80293778

研究成果の概要（和文）：

スギ花粉症の次世代治療に期待される舌下免疫療法を本邦で初めて小児例で検討し、安全性と有効性を確認した。同法は小児でも安全に施行でき、成人よりも効果的であった。本研究の遂行で様々な課題もわかり、特に本法が有効であったスギ花粉症例で、合併するヒノキ花粉症に無効な例が半数近く存在した。

治療と同時に作用機序解明に免疫学的変化の検討も行った。治療により、誘導性制御性 T 細胞の増加、治療有効群でスギ花粉特異的 IgG4 の増加、治療無効群で血清 IL-33 の増加が確認できた。血清 IL-31, IL17A には変化がなかった。

研究成果の概要（英文）：

We began sublingual immunotherapy (SLIT) for pediatric cedar pollinosis as a first clinical trial in Japan. SLIT is effective and safe even in Children, and its efficacy in children is better than that in adults. We found some problems from this study. Especially, we found that SLIT in about a half of for cypress pollinosis patients is not effective, even if it is effective for cedar pollinosis.

We also studied immunological changes by SLIT. The results were increased inducible regulatory T cells, increased cedar pollen-specific IgG4 in the responder group for SLIT, increased serum IL-33 in the non-responder group for SLIT, and no changes of serum IL-31 or IL17A.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

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：鼻科学 舌下免疫療法 スギ花粉症 制御性 T 細胞 IgG4

1. 研究開始当初の背景
スギ花粉症は国民の 4 人に 1 人が有病してい

る現代病である。スギ花粉症に対する免疫療法は効果の高い治療法である。本邦では皮下

注射法による免疫療法のみが保険適応を有しているが、海外では舌下投与法が主流となっている。本邦では我々のグループが舌下免疫療法の基礎・臨床検討をいち早く開始し、且つ、これまで長く行ってきており、医師主導型臨床研究を含めた多くの成果をあげてきた。我々はスギ花粉症に対する次世代治療として成人舌下免疫療法の有用性を証明してきたが、その安全性と利便性を考えると小児でより期待される。そこで我々は本邦で初めて小児例の **pilot study** を行い、極めて良好な結果を報告した。それを受けてこれまでの科学研究費で大規模の小児スギ花粉症への舌下免疫療法を開始した。スギ花粉症は花粉飛散数に影響されるため、短年での評価では確立しない。長期の複数年の検討により治療効果が確立し、小児スギ花粉症治療の切り札となり得る。一方で、海外においても免疫療法が何故効果的であるかを証明する作用機序は解明されていない。我々はその解明の糸口として誘導性制御性 T 細胞から産生される **IL-10** が舌下免疫療法で強く誘導されることを最近見いだした。これらの基礎的な背景をもとに、小児舌下免疫療法の効果と安全性の確立、さらなる機序の解明が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、急増する小児スギ花粉症に新規治療・舌下免疫療法を継続治療して花粉飛散数による治療効果への影響を検証し、制御性 T 細胞と **IgG4** による未解明な機序の解明を行う。本研究では非常に有効性の高い小児舌下免疫療法で誘導性制御性 T 細胞が産生する **IL-10** の機序への役割を検討し、さらに遮断抗体 **IgG4** の関与を検討する。これらの検討により、免疫療法の機序解明に新たな知見を得ることができると確信している。急増する小児スギ花粉症に新たな治療を推進し、舌下免疫療法の効果を支持する機序を解明して国民病ともされるスギ花粉症の根治をめざす。

3. 研究の方法

(1) 小児舌下免疫療法

小児スギ花粉症(6歳から15歳)を対象としたスギ花粉抗原特異的舌下免疫療法を開始する。舌下免疫療法は、既報の成人例の方法(Allergol Int 57:265-275, 2008)に準じて、2年間の治療期間を設定して継続治療を行う。スギ花粉飛散期(2-3月)の毎日の自覚症状(くしゃみ・鼻水・鼻閉・眼の痒み)と舌下以外の薬物使用量、1週毎のVAS(visual analog scale)による鼻症状で臨床評価する。対照例として、小児薬物治療群、成人舌下免疫療法群、皮下注射による免疫療法群をとり、同様の症状評価を行う。

(2) 舌下免疫療法の作用機序の解明

舌下免疫療法の作用機序を解明するマーカーとして制御性 T リンパ球細胞, **IgG4**, **IL-10** を予定する制御性 T リンパ球細胞は **FACS** で、**IgG4** と **IL-10** は **ELISA** 法で測定する。そのほか、各種インターロイキンも検討項目候補とする。対象が小児であるため、これらすべての解析をできるだけ検体が得られない可能性があり、上記の順で優先的に検討する。また、小児で解析できない分に関しては、別の研究デザインとして成人例の舌下免疫療法を同時に平行して行う予定があるので、検体のみ成人検体での検討も行う。

(3) スギ花粉飛散数測定

スギ花粉症の臨床検討にはスギ花粉飛散数が重要である。本学内のビル屋上に花粉収集機器を設置し、1月から4月のスギ花粉数を計測する。具体的にはワセリンを表面に塗布したスライドグラスに落下するスギ花粉を染色液で染色後に検鏡してカウントする。この情報は、インターネットホームページに公開して市民に役立ててもらおう。専用のホームページ

(<http://www.medic.mie-u.ac.jp/kafun/>)で日々の状況を公開し、広く市民に提供する。

4. 研究成果

本研究課題では、小児スギ花粉症に対する舌下免疫療法を行う事によって臨床的および基礎的結果をえられた。臨床的には、同法の効果および安全性が判明した反面で、今後の課題も浮き彫りとなった。小児スギ花粉症に対する舌下免疫療法は効果が高く、薬物治療より良いと推測された。特に併用薬が減り、患者負担を軽減できた。効果は経年的に増すが、3年の治療では充分とは言えなかった。また、ヒノキ花粉はスギ花粉と共通抗原を持ち、スギ花粉症の80%がヒノキ花粉症である。逆にヒノキ花粉症はほぼ全例スギ花粉症である。スギ花粉の免疫療法に効果があれば、ヒノキ花粉症にも効果があると期待できるが、スギ花粉症に効果のあった例の約半数がヒノキ花粉症に効果が認められず、スギ花粉飛散からヒノキ花粉飛散に移行したと同時に症状の悪化がみられた。この様な例への新たなアプローチが必用と考えられた。

基礎的には、舌下免疫療法によりアレルゲンで誘導される **IL-10** を産生する誘導性制御性 T 細胞の増加がみられた。誘導性制御性 T 細胞の増加はスギ花粉飛散前の舌下免疫療法直後で誘導されるのではなく、花粉飛散期にアレルゲン刺激が加わることにより増加しており、アレルゲン刺激に関与した誘導される免疫機構であった。また、遮断抗体である **IgG4** が免疫療法の作用機序としてこれまでも話題にあったが、舌下免疫療法により

スギ花粉抗原特異的血清 IgG4 の増加はなかった。しかし、臨床症状を VAS (Visual analog scale) の中央値で治療有効群と無効群にわけて比較検討すると、有効群でスギ花粉抗原特異的血清 IgG4 の増加がみられたため、IgG4 が治療の有効性に関与していることが考えられた。ただし、この IgG4 の増加も症例によるバラツキがあり、著効例で特に高くなっていったということではなく、IgG4 を舌下免疫療法のパラメーターにはできないとも考えられた。さらには、血清 IL-33 が治療無効群で増加していた。IL-33 がアレルギー炎症の一役を担っているのは最近の研究でも明らかであり、免疫療法で IL-33 の誘導を制御し得る機序が考えられるが、血清での IL-33 の変化は特に症例毎で大きく異なり、血清 IL-33 値のみで舌下免疫療法の機序を説明しにくいと思われた。

以下に 本課題で得られた結果を年度別にまとめた。

1. 2010 年度の研究成果

研究開始初年度であるので、まず、小児 40 例に舌下免疫療法を行い、前後での末梢血および血清での検討を行う準備とした。スギ花粉症の小児例に 12 月より舌下免疫療法を開始し、治療の前後で末梢血を採取した。また、2 月から 4 月の臨床症状を記録した。スギ花粉飛散期は本年度と来年度にまたがり、本年度のみでの結論はでないため、本年度内の成果は出ていない。しかし、次年度に大きな結果を得るための土台は完成した。現在、全例で治療が継続されており、また、検体を収集している。検体採取と同時に、小児例での効果を比較するために、舌下免疫療法を行っていない薬物療法例のボランティアを募り、花粉飛散期の臨床症状を記録している。オープン試験ではあるが、比較試験を行うことにより、小児舌下免疫療法の効果も実証できると考え、継続中である。

2. 2011 年度の研究成果

小児 40 例に舌下免疫療法を行い、前後での末梢血血清で検討を行った。また、2 月から 4 月の臨床症状を記録し、効果とパラメーターの変動を検討した。スギ花粉特異的 IgG4 は、舌下免疫試行前から施行後にかけて増加していたが、有意な差とはいえなかった。しかし、花粉飛散期の毎日の鼻症状をガイドラインに従ってスコア化し、中央値で有効群と無効群に分類すると、有効群で有意にスギ花粉特異的 IgG4 の増加が見られた。IgG4 は IL-10 に誘導される可能性があるため両者の関係をみたが、有意な相関はなかった。これらの結果をふまえて、本年度にその他のサイトカインの検討も追加検討した。アレルギーに関係の高い IL-31, IL-33, IL17A を検討した

ところ、血清 IL-31 と IL17A には変化がなかったが、IL-33 は無効群で増加する傾向にあった。ただし、これらの変化には症例でのバラツキも大きいことから単独で本治療の有効性を支持するパラメーターとはなりにくいと考えられる。本研究のみで免疫療法の機序の解明には至らないが、今後の展開の参考になると思われる。現在も小児スギ花粉症の舌下免疫療法を継続しており、小児と成人例での違いなどの検討を次年度にかけて行っている

3. 2012 年度の研究成果

我々は本法で唯一小児スギ花粉症の舌下免疫療法を検討しており、本課題の最も主要な検討は昨年報告しており、本年は最終年として小児例の舌下免疫療法を継続し、研究計画通り成人と小児での比較などの臨床成績の解析を行った。

過去 2 年間の臨床解析で、小児例の効果は高く、成人と同様に行っても安全に遂行できた。特に併用薬剤使用が少なく、小児に適した結果を得た。但し、スギ花粉飛散期の効果に比して、ヒノキ花粉飛散期の効果が劣ることが問題であり、ヒノキアレルギーでの治療の必要性が考えられた。小児では本法での新規感作予防や発症予防への期待があるが、これまでの施行例ではスギ花粉以外のアレルギーに新規感作される例もあり、本法のみでの制御には課題を残した。

4. スギ花粉数の計測

スギおよびヒノキ花粉の計測を該当する 3 年間で連日観測した。スギ花粉の各年の総飛散数は、2011 年 16267 個、2012 年 3984 個、2013 年 9560 個 (いずれも 1 平方センチあたりの年間飛散数) であった。ヒノキ花粉は、2011 年 6570 個、2012 年 823 個、2013 年 1713 個 (いずれも 1 平方センチあたりの年間飛散数) であった。これらの飛散数については、総飛散の報告ではなく、毎日の飛散数について下記のホームページを利用して広く広報した。この広報は、我々の本課題研究の為だけでなく、マスコミや市民への情報公開も兼ねて行った。

5. 今後の課題も含めて

我々の成果なども含めてスギ花粉症の舌下免疫療法の検討が行われてきた結果として、本方法の臨床導入が始まった。本課題研究中に臨床試験が開始され、その成果を元に保険適応がされると見込まれるに至った。従って、我々の研究も今後のスギ花粉症治療にとって有益な研究になったと思われる。なお、現状ではスギ花粉症の舌下免疫療法は小児例への適応の見込みがない。本課題で示したように小児例の効果と安全性があるので、急増

する小児スギ花粉症の治療に本方法の導入が期待される。そのため、現在も小児スギ花粉症の舌下免疫療法を継続しており、スギヒノキ花粉飛散の時期から本年度の最終解析は本課題終了後も継続して行いたい。

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 6 件)

- ①湯田厚司、小川由起子、スギ花粉症の舌下免疫療法、日本医師会雑誌、査読無、141 巻、2013、2180-2180
- ②湯田厚司、免疫療法、JOHNS、査読無、Vol. 29、No. 3、2013、622-626
- ③Yuta A、Ogihara H、Yamanaka K、et al Therapeutic outcomes and immunological effects of sublingual immunotherapy for Japanese cedar pollinosis、Clinical Experimental Allergy Review、査読無、Vol2、2012、29-35
- ④湯田厚司、小川由起子、スギ花粉症の舌下免疫はどの程度有効か?、JOHNS、査読無、vol. 29、No. 1、2012、73-76
- ⑤Yamanaka Y、Yuta A、et al、SLIT improves cedar pollinosis by restoring IL-10 production from Tr1 and monocyte~IL-10 productivity is critical for becoming allergic~、Allergology international、査読有、60 巻、2011、45-51
- ⑥湯田厚司、他、小児スギ花粉症に対する舌下免疫療法、東海花粉症研究会誌、査読無、22 巻、2011、33-38

[学会発表] (計 3 件)

- ①湯田厚司、小児スギ花粉症の舌下免疫療法〜大量飛散年の検討〜、第 50 回日本鼻科学会、2011 年 12 月 2 日、岡山市
- ②湯田厚司、急増するスギ花粉症の問題点と舌下免疫療法への期待と課題、第 62 回中部皮膚科学会中部支部学術講演会、2011 年 11 月 10 日、四日市市
- ③湯田厚司、小児スギ花粉症の舌下免疫療法、第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 27 日、東京都

[図書] (計 2 件)

- ①湯田厚司、他、日経 BP 社、日経ドラッグインフォメーション、2013、13-16
- ②湯田厚司、他、診断と治療社、チャイルドヘルス、2012、36-39

[その他]

ホームページ等

<http://www.medic.mie-u.ac.jp/kafun/>
(2010 年度の公開)

<http://www.kafun-mie.expressweb.jp/>
(2011 年度からサーバー変更)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯田 厚司 (YUTA ATSUSHI)

三重大学・大学院医学系研究科・リサーチ
アソシエイト

研究者番号： 80293778

(2) 研究分担者

石永 一 (ISHINAGA HAJIME)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号： 50335121

山中 恵一 (YAMANAKA KEI ICHI)

三重大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号： 70314135