

舌下免疫療法を用いたスギ花粉症に対する早期介入 —スギ花粉感作陽性未発症者を対象とした発症予防についての検討—

米倉 修二¹, 櫻井 大樹¹, 櫻井 利興¹, 飯沼 智久¹, 大熊 雄介¹
山本隆三朗¹, 花澤 豊行¹, 岡本 美孝¹

¹ 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

アレルギー性鼻炎の発症予防を図ることがアレルギー性鼻炎を制御する上で重要なことは言うまでもない。近年、安全性が高く患者負担が少ない舌下免疫療法が注目されている。我々は舌下免疫療法がスギ花粉症に対しても症状の一定の改善効果と抗アレルギー免疫誘導が期待されることを報告してきた。スギ花粉に感作陽性ながら未発症者が多数存在するが、今回このようなスギ花粉症発症予備軍とも考えられるスギ花粉感作陽性未発症者を対象にスギ花粉エキスの舌下投与を行い、発症予防のワクチン治療としての意義について検討を行った。試験はプラセボ対照二重盲検試験により行った。これまで花粉症症状の自覚がなく、スクリーニングの時点でスギ花粉感作陽性かつ鼻誘発試験が陰性の症例を対象に、2012年、2013年のそれぞれ飛散開始の約2ヶ月前から5ヶ月間舌下投与した。維持期には標準化スギ花粉エキス1ml (2000JAU)、あるいはプラセボを連日舌下投与した。発症の判断は花粉飛散期に症状があり、鼻誘発試験で陽性となった症例とした。解析延べ人数は80名で、プラセボ群34例、実薬群46例であった。プラセボ群では11例 (32.4%) の発症を認めたのに対し、実薬群では6例 (13.1%) であり、実薬群で有意に発症者の割合は低値を示した ($p=0.037$)。実薬群の非発症例では発症例に比べて制御性T細胞の増加の抑制が認められた。スギ花粉の舌下投与はスギ花粉症発症予防ワクチンとしての可能性が示唆された。

キーワード：アレルギー性鼻炎、スギ花粉症、舌下免疫療法、ワクチン、プラセボ対照二重盲検試験

略語：SLIT, sublingual immunotherapy; sIgE, specific IgE; tIgE, total IgE; iTreg, induced regulatory T cell

1. はじめに

スギ花粉症は国民の約3割が罹患しており、発症も低年齢化していることから本邦の社会問題の1つとなっている。スギ花粉症は一旦発症すると自然改善が少なく、一部の中高齢者を除き自然寛解がほとんどないことも知られている。アレルギー性鼻炎の自然経過を改善させ、根本治療の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。アレルギー免疫療法によって喘息発症や新規の抗原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ものと評価されている¹⁻⁶⁾。しかし、アレルギー免疫療法がアレルギー性鼻炎自体の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。これまで行われてきた疫学調査によれば、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、感作陽性者のうち小学生では約70%、青壮年を含む成人では約50%に達する⁷⁻⁹⁾。アレルギー免疫療法に関して、現在のところ保険適用があるのは皮下注射による治療であるが、今後は痛みや副作用の面で患者負担がはるかに軽減した舌下投与によるものが一般治療として普及することが期待されている。そこで今回は舌下免疫療法によるスギ花粉感作陽性未発症者の発症予防の検討を行った。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予防の免疫学的機序についても検討を行った。

2. 舌下免疫療法を用いたスギ花粉症に対する早期介入

1) 対象と方法

対象は、①これまでスギ花粉症症状の自覚のない18～65歳の者、②ImmunoCAP法にて血清中スギ特異的IgE値がclass 2 (≥ 0.70 UA/ml) 以上の者、③スギ抗原ディスクを

2014年7月12日受稿、2014年8月19日受理

別冊請求先：米倉修二

〒260-8670 千葉市中心区亥鼻1-8-1

千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

TEL: 043-226-2137, FAX: 043-227-3442

E-mail: syonekura@faculty.chiba-u.jp

参加者	18歳~65歳 性別不問 スギ花粉感作陽性未発症者(ImmunoCAP Class2以上)
ランダム化	ランダム化プラセボ対照二重盲検試験
介入	実薬群・・・標準化アレレルゲンエキスイ「トリイ」スギ花粉による舌下免疫治療 プラセボ群・・・50%グリセリン生食溶液(溶媒)による舌下免疫治療
実薬群の維持量	標準化アレレルゲンエキスイ「トリイ」スギ花粉 2000JAU/日 連日投与
期間	2011年12月~2012年5月、2012年12月~2013年5月
主要評価項目	スギ花粉症発症率の比較 (スギ花粉症の発症は、誘発テストと花粉症日記による症状の確認)

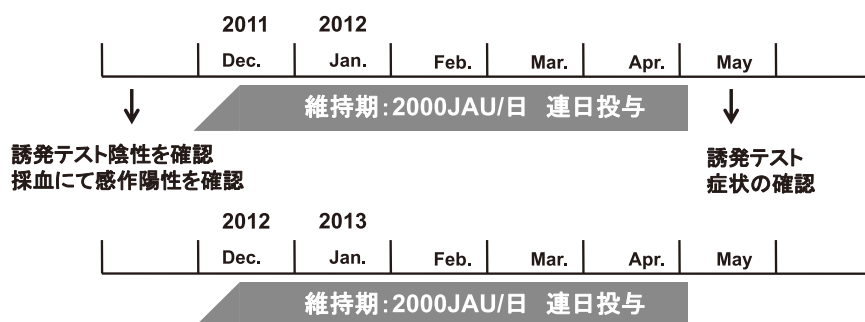


図1 試験プロトコル：スギ花粉感作陽性未発症者を対象とした舌下免疫療法による発症予防についての二重盲検比較試験

用いた鼻誘発テストにて鼻症状が生じない者とした。試験の概要を図1に示す。試験はランダム化プラセボ対照二重盲検試験で、実薬群は標準化スギ花粉エキストリイ®を用いた舌下免疫療法を行い、維持期は2000 JAUを連日舌下投与した。年齢およびスギ特異的 IgE 値を割り付け因子とした。介入期間は2011年12月~2012年4月および2012年12月~2013年4月とした。2012年の飛散期に発症しなかった症例は割付を変えることなく次の試験へ参加した。スギ花粉症発症の定義は、①花粉飛散期の鼻アレルギー日誌にて典型的な花粉症症状を認めること、②花粉飛散終了直後(5月)における鼻誘発テストで鼻症状が生じることの両方を満たすものとした。採血は介入前、花粉飛散開始前、花粉飛散終了後に行い免疫学的パラメータの変動について検討した。特に免疫学的パラメータとしてスギ特異的 IgE 値の変動とスギ特異的 IgE 値/総 IgE 値の比 (sIgE/tIgE) について検討した。以前我々はスギ花粉症発症者に対する舌下免疫療法の効果予測因子として sIgE/tIgE 比が低いことを報告しており、今回の試験でも同様に sIgE/tIgE 比の検討を行った¹⁰⁾。また2013年飛散後に行った採血では末梢血中単核細胞を採取し、スギ抗原と3日間共刺激した後、スギ抗原特異的制御性 T 細胞数を測定した。全ての解析が終了した後にキーオープンを行った。

なお、今回の臨床研究は「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発症予防についての二重盲検比較試験」として千葉大学医学部附属病院倫理委員会承

認にて承認されたものであり、本試験は臨床研究に関する倫理指針、及びヘルシンキ宣言を遵守して実施された。また試験の参加にあたり、文書および口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による同意を文書で得た。

2) 結 果

試験には解析可能な延べ人数として91例が参加した。ただし、このなかには通年性アレルギー性鼻炎を合併する者が含まれていた(プラセボ群6例、実薬群5例の計11例)。これらの通年性アレルギー性鼻炎合併症例に関して、飛散期前からある程度の鼻症状を認めており飛散期の鼻症状の悪化が小さいため症状の変化が捉えにくく、元々スギ花粉症を発症していたにも関わらず本人が自覚していない可能性があると考えられた。また鼻誘発テストにおいて非特異的反応が生じやすく正確な判定が難しいケースも多かったことなどから通年性アレルギー性鼻炎合併の11例を除いた80例を解析対象として今回は検討を行った(表1)。2012年に発症せずに、割り付けを変えることなく次年度に参加した人数は15例(プラセボ群4例、実薬群11例であった)。2012年(花粉飛散数3346個/cm²)は33例が参加し、プラセボ群は16例中4例(25.0%)が発症したのに対し、実薬群は17例中3例(17.6%)が発症した。2013年(花粉飛散数5902個/cm²)は47例が参加し、プラセボ群は18例中7例(38.9%)が発症したのに対し、実薬群は29例中3例(10.4%)が発症した。これらを合計したもの

表1 解析対象の背景

スクリーニング時	プラセボ群 (n=34)	実薬群 (n=46)	p-value
性別 (男性:女性)	14:20	14:32	0.32
平均年齢	31.7 歳	33.8 歳	0.38
喘息 (%)	0 (0%)	1 (2.2%)	0.88
アトピー性皮膚炎 (%)	2 (5.9%)	2 (4.3%)	0.80
スギ特異的 IgE (UA/ml)	10.3	13.7	0.40
ダニ特異的 IgE (UA/ml)	13.8	8.7	0.29
総 IgE (IU/ml)	363.1	272.2	0.48

表2 発症した割合の比較

	発症なし	発症あり	発症の割合
プラセボ (n=34)	23	11	32.4%
実薬 (n=46)	40	6	13.1%
全体 (n=80)	63	17	21.3%

p=0.037 (χ^2 検定)

を表2に示す。プラセボ群は34例中11例(32.4%)が発症したのに対し、実薬群は46例中6例(13.1%)が発症し、実薬群では有意にスギ花粉症の発症が抑制されている結果であった(p=0.037 χ^2 検定)。

スギ特異的 IgE 値はスクリーニング時、花粉飛散前(1月)、花粉飛散後(5月)の3ポイントの変動を調べた。実薬群、プラセボ群を問わず発症した群は非発症群に比べより花粉飛散後の大きな抗体価の上昇を認めた。ただし、実薬群とプラセボ群の間には明らかな変動の違いは認めなかった。花粉飛散前の時点でもスクリーニング時に比べ多少の上昇を認めるものの、実薬群とプラセボ群の変動の違いはなかった(投稿準備中データ)。80症例における sIgE/tIgE 比の平均は0.11であり、sIgE/tIgE 比の高低と発症の関連を検討したところでは、プラセボ群34例においては sIgE/tIgE $\leq$ 0.11 のグループの発症の割合は低くはなっていないかった。しかし、実薬群46例においては sIgE/tIgE $\leq$ 0.11 のグループの方が発症する比率が低い傾向にあったが、有意差は認めなかった(p=0.19)。

舌下免疫療法終了後2013年5月に採取した血液から測定した induced Treg の比率(IL10+Foxp3+/CD25+CD4+)では、実薬群、プラセボ群とも発症例では iTreg の増加は認められなかったが、非発症例は実薬、プラセボとも iTreg が増加していた。実薬群の発症例はプラセボの非発症例より iTreg の割合が高い傾向にあった(投稿準備中データ)。

3) 考 察

スギ花粉症発症予防の観点からは、感作の予防は1次介入、感作から発症の予防は2次介入と捉えられる。今回の

検討で2年間の結果を合わせたものでは、プラセボ群に比べて、実薬群では有意に発症が抑制されており、スギ花粉飛散開始約2ヶ月前からの舌下免疫療法的スギ花粉症発症予防効果、すなわち2次予防効果を持つことが示唆された。2012年と2013年における発症の割合が異なることに関しては、年ごとの解析対象や花粉飛散数の違いと、2012年に発症しなかった15例が次年度にも参加していることも影響していると考えられた。これら15例のうち2013年(2年目)に発症した症例は、プラセボ群4例中2例(50.0%)、実薬群11例中2例(18.2%)であった。2年とも参加した症例に関して、1年目には未発症であったにも関わらず2年目で発症したことには、毎年花粉が曝露される環境下では感作陽性であればいずれスギ花粉症を発症する可能性があることが確認された結果であった。また、実薬投与でも2年目に発症した症例が存在した事実を考慮すると、今回の投与方法による SLIT の効果は限定的で発症を遅らせたことに留まる可能性もある。ただ、①季節前投与でなくもっと長期の投与であれば予防できたかもしれない、②同じ投与方法であっても感作の早い段階(低年齢)であれば予防できたかもしれない、③発症者に対する SLIT の症状抑制効果を考慮したとき、大量飛散年ではその効果に制限があることが一般に知られており、今回の試験で2年目が大量飛散年であったことも発症と関係している、などの可能性も考えられる。これらに関しては今後の検討項目である。

これまでの舌下免疫療法の試験において、実薬群では花粉飛散開始前でもスギ特異的 IgE 値は治療開始2ヶ月程度でプラセボ群に比較して上昇していたが、今回の結果ではプラセボ群と実薬群ではその変動に差はなかった。その理由としては、対象がスギ花粉症患者ではなく感作陽性未発症者であること、治療開始から採血までの期間が約1ヶ月半とこれまでより短かったことなどが考えられる。これまで我々は sIgE/tIgE 比が低い方が舌下免疫療法的効果を認める割合が高い、つまりこの比が効果予測因子となることを報告している¹⁰⁾。今回の結果では、プラセボ群の結果を見る限りでは sIgE/tIgE 比が低値であることが自然経過において発症予防因子となることは期待できないが、実薬群の結果からは sIgE/tIgE 比が低値であることが舌下免疫療

法による発症予防の効果予測因子となることが期待できる結果であった。

アレルゲンを経口投与もしくは舌下投与すると口腔粘膜の樹状細胞がアレルゲンを取り込み、TGF- β 依存的に iTreg が誘導される。アレルギー炎症に関わる Treg の作用として、Treg から産生された IL-10 や TGF- β が、樹状細胞の抗原提示機能と抗原特異的 T 細胞刺激機能を抑制することが報告されている^{11,12)}。さらにマスト細胞および好酸球の浸潤や活性化を抑えるとともに、Th2 細胞の活性化と増殖を抑制する¹³⁾。また、マスト細胞は TNF 受容体スーパーファミリーの分子の 1 つである OX40 を発現しており、iTreg の OX40 リガンドに結合することで、アレルゲンと IgE の架橋によって引き起こされる脱顆粒を抑制する¹⁴⁾。今回の検討より、花粉症の発症には制御性 T 細胞の関与が示唆され、特に感作陽性未発症者に対する舌下免疫療法は Treg を誘導するか、あるいは減少を抑制することが作用機序の 1 つである可能性が示唆された。

3. ま と め

スギ舌下免疫療法をスギ感作陽性未発症者に対して花粉飛散開始 2 ヶ月前から飛散中にかけて行うことで、スギ花粉症の発症を予防できることが期待された。作用機序として制御性 T 細胞の関与が示唆された。またスギ特異的 IgE 値 / 総 IgE 値の比が低値であることが舌下免疫療法による発症予防の効果予測因子となることが示唆された。今回の検討は限られた対象人数での検討であったが、今後対象を増やして今回の結果を検証する必要がある。

本論文の要旨は第 32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会（2014 年 2 月、徳島）において、奨励賞応募演題として発表した。

本論文に関して、開示すべき利害相反状態は存在しない。

文 献

- 1) Marogna M, Tomassetti D, et al. Preventive effects of sublingual immunotherapy in childhood: an open randomized controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008; 101: 206–11.
- 2) Des-Roches A, Paradis L, et al. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99: 450–3.
- 3) Pajno GB, Barberio G, et al. Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 392–7.
- 4) Inal A, Altintas DU, et al. Prevention of new sensitizations by specific immunotherapy in children with rhinitis and/or asthma monosensitized to house dust mite. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007; 7: 85–91.
- 5) Purello-D'Ambrosio F, Gangemi S, et al. Prevention of new sensitizations in monosensitized subjects submitted to specific immunotherapy or not. A retrospective study. *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 1295–302.
- 6) Marogna M, Spadolini I, et al. Long-lasting effects of sublingual immunotherapy according to its duration: A 15-year prospective study. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126: 969–75.
- 7) 岡本美孝, 石川和夫, 他. 小児アレルギー性鼻炎の成人への移行を阻止するための治療法の確立に関する研究. 厚生労働科学研究報告書 2005.
- 8) Okamoto Y, Horiguchi S, et al. Present situation of cedar pollinosis in Japan and its immune responses. *Allergol Int.* 2009; 58: 155–62.
- 9) Yonekura S, Okamoto Y, et al. Effects of aging on the natural history of seasonal allergic rhinitis in middle-aged subjects in South chiba, Japan. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012; 157: 73–80.
- 10) Fujimura T, Yonekura S, et al. Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in 2-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis. *Clin Immunol.* 2011; 139: 65–74.
- 11) Taylor A, Verhagen J, et al. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells. *Immunology.* 2006; 117: 433–42.
- 12) Dons EM, Raimondi G, et al. Induced regulatory T cells: mechanisms of conversion and suppressive potential. *Hum Immunol.* 2012; 73: 328–34.
- 13) Schandené L, Alonso-Vega C, et al. B7/CD28-dependent IL-5 production by human resting T cells is inhibited by IL-10. *J Immunol.* 1994; 152: 4368–74.
- 14) Gri G, Piconese S, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress mast cell degranulation and allergic responses through OX40-OX40L interaction. *Immunity.* 2008; 29: 771–81.

Early intervention for preventing the development of Japanese cedar pollinosis using sublingual immunotherapy

Syuji Yonekura¹, Daiju Sakurai¹, Toshioki Sakurai¹, Tomohisa Iinuma¹, Yusuke Okuma¹
Heizaburo Yamamoto¹, Toyoyuki Hanazawa¹, Yoshitaka Okamoto¹

¹Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University

ABSTRACT

The subjects, who were sensitized with Japanese cedar pollen, did not have any symptoms of pollinosis, are commonly observed. These subjects are thought to be preparative and have a risk to develop cedar pollinosis. We examined the efficacy of the SLIT as an early intervention for preventing the development of Japanese cedar pollinosis. The subjects, who were sensitized with Japanese cedar pollens, had not shown any previous symptoms of pollinosis, were recruited. All of their results were negative in the provocation test using allergen disk with cedar pollen extract. They were divided into two groups and received Japanese cedar pollen extracts or placebo sublingually every day from the beginning of December in 2011 to the end of April in 2012, or for the same term from 2012 to 2013. The primary end point of the study was to determine the difference of the incidence of cedar pollinosis, certified by the provocation test in May, between active SLIT and placebo groups. A total of 80 subjects were analyzed and 46 received active SLIT, while 34 received placebo. 11 subjects developed cedar pollinosis in the placebo group (32.4%), compared with 6 subjects in the active SLIT group (13.1%) ($p=0.037$). The results show the possibility of using SLIT as an early intervention against the development of cedar pollinosis.

Key words: allergic rhinitis, Japanese cedar pollinosis, sublingual immunotherapy, vaccine, randomized controlled double-blind trial