

ヒノキ花粉アレルゲンに関する新知見

長田 年弘^{1,2}¹ 大鵬薬品工業株式会社研究本部第二研究所² 久留米大学先端癌治療研究センター

ヒノキ花粉症はスギ花粉症と並び、我が国における代表的な季節性アレルギー疾患であり、その患者数は増え続けている。唯一、長期寛解や根治が期待されるスギ花粉症の治療法の一つに、アレルゲン特異的免疫療法がある。理論的にはアレルゲンの共通抗原性により、スギ花粉症に対するアレルゲン特異的免疫療法によりヒノキ花粉症への治療効果が期待される。しかしながらスギ花粉症に対するスギアレルゲン特異的免疫療法はヒノキ花粉飛散期のアレルギー症状抑制効果が弱いことが報告されており、ヒノキ花粉に特異的な未知アレルゲンの存在が示唆されていた。我々は、ヒノキ花粉中のメジャー蛋白質を解析した結果、新規ヒノキ花粉主要アレルゲン Cha o 3 を同定した。ヒノキ花粉に対する ImmunoCAP スコア 2 以上のスギ・ヒノキ花粉症患者の 87.5% が Cha o 3 特異的 IgE を有していたことに加え、Cha o 3 特異的 IgE 抗体価は既知ヒノキ花粉主要アレルゲン Cha o 1 以上に ImmunoCAP 検査値と強い正の相関が認められ、臨床検査値に強く影響していることが示唆された。さらに、スギアレルゲン特異的免疫療法は Cha o 3 特異的 IL-5 産生を十分に抑制できないことが示され、Cha o 3 がスギ標準化エキスをういたアレルゲン皮下免疫療法の薬効がヒノキ花粉飛散期に減弱する原因の一つであると考えられた。以上の新規知見より、スギ・ヒノキ花粉症シーズンを通じたアレルギー症状のコントロールのためには、従来のスギアレルゲンをういた免疫療法に加え、ヒノキアレルゲン特異的免疫療法の開発が重要であると考えられる。

キーワード：スギ花粉症、ヒノキ花粉症、アレルゲン、Cha o 3

略語：IgE, Immunoglobulin E; PAS, Periodic acid-Schiff; SDS-PAGE, Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis; BAT, Basophil activation test; rCha o 2, recombinant Cha o 2; IL-5, Interleukin-5; ASIT, Allergen specific immunotherapy; n.s., not significant; PBMC, peritoneal blood mononuclear cell

はじめに

スギ花粉症はいまや国民病とまで称され、スギ花粉症患者の増加は周知の事実である。一方、ヒノキ花粉症もスギ花粉症と並び日本において注目すべき重要な樹木花粉症である。ヒノキは全国、特に西日本において広く植林されており、地域によってはスギ花粉飛散数をヒノキ花粉飛散数が上回る場合もある^{1,2)}。このようにヒノキ花粉はスギ花粉同様に年々その飛散量が増加傾向にあり、遠くない未来にヒノキ花粉症もスギ花粉症同様に社会問題化するリスクを有している。したがってスギ花粉症だけでなく、ヒノキ花粉症に関しても病態発症機序、治療法に関する基礎研究は

いまだ不可欠である。本稿では、スギ花粉アレルゲンおよびヒノキ花粉アレルゲンに関する知見と現行アレルゲン免疫療法の課題を今一度総括するとともに、ヒノキ花粉アレルゲンとしては約 15 年ぶりに新規に同定されたヒノキ花粉主要アレルゲン Cha o 3³⁾ に関する最新の知見を合わせて紹介し、今後のスギ・ヒノキアレルゲン特異的免疫療法のあり方について考察する。

1. スギ・ヒノキ花粉症とその治療法

ヒノキは、スギと共にヒノキ科 (学名: Cupressaceae) に属する植物であり、世界の多くのヒノキ科樹木由来花粉が季節性アレルギーの原因となっていることが知られている⁴⁾。日本におけるヒノキに関しては、スギ花粉飛散期である 2 月から 4 月に続いて、3 月から 5 月頭にかけて大量のヒノキ花粉が飛散する。また、後述のアレルゲンの交叉に起因すると考えられるが、スギ花粉症患者の約 70% がヒノキ花粉でも鼻炎症状を発症するとも言われている⁵⁾。

2017 年 11 月 6 日受稿
別冊請求先：長田年弘
〒300-2611 茨城県つくば市大久保 3
大鵬薬品工業株式会社研究本部第二研究所
TEL: 029-865-4527
E-mail: toshi-osada@taiho.co.jp

このような日本特有の事情により、多くのスギ・ヒノキ花粉症患者は実に10週間以上の長期にわたり、アレルギー症状に苦しめられることとなる。ヒノキ花粉症の治療法はスギ花粉症の治療と同様に、薬物療法による対症療法が基本となる。唯一、長期寛解や根治が期待されるアレルギー性鼻炎の治療法の一つに、アレルギー特異的免疫療法（抗原特異的免疫療法）があり、最新版鼻アレルギー診療ガイドラインにおいても全ての重症度のアレルギー性鼻炎に対しても推奨されている。スギ花粉症に関しては標準化スギ花粉エキスをを用いたスギアレルギー特異的皮下免疫療法の検討がなされており、薬物療法に比べ有意な症状スコアの改善やQOL改善効果が報告されている⁶⁾。近年はスギ舌下免疫療法薬⁷⁾の登場により、自宅での投薬によるアレルギー免疫療法としての治療選択肢がさらに広がった。しかしながら標準化ヒノキ花粉エキスは存在せず、ヒノキ花粉症に対してはアレルギー特異的免疫療法を実施できない現状が続いている。

2. スギ花粉アレルギー特異的免疫療法の課題

スギ花粉症とヒノキ花粉症には主要アレルギー同士の高い相同性により、共通抗原性があることが知られている^{8,9)}。スギ花粉の主要アレルギーとしてCryj1^{10,11)}、Cryj2^{12,13)}が、ヒノキ花粉主要アレルギーとしてChao1¹⁴⁾、Chao2¹⁵⁾がそれぞれ報告されている。分子生物学的にはCryj1とChao1のアミノ酸配列の相同性は80%、Cryj2とChao2では74%の相同性が報告されており、その他ヒノキ科花粉アレルギーも含めてそれぞれ主要アレルギーのグループを形成している。この高い一致性に基づきT細胞、B細胞エピトープの一致による、交叉反応を惹起すると考えられる。つまり共通抗原性に基づけば、理論的にはスギ花粉症に対するアレルギー特異的免疫療法により、ヒノキ花粉症の治療効果も期待される。事実、スギ花粉特異的アレルギー皮下免疫療法施行患者においては、Cryj1のみならずChao1特異的IL-5産生が抑制されていることが示されている¹⁾。しかしながらスギ花粉症のみをスギアレルギー特異的皮下免疫療法で治療しても、ヒノキ花粉飛散期の諸アレルギー症状のコントロールが難しい症例があることが報告されている^{1,16)}。このような症例の存在はスギ花粉アレルギー特異的舌下免疫療法においても報告されており¹⁷⁾、湯田らによる最新の知見では、スギ・ヒノキ花粉症合併180例を対象とし実施したスギ花粉アレルギー舌下免疫療法実施後の患者アンケートにおいて、54.9%の患者にてヒノキ花粉飛散期で症状が悪化したと回答された¹⁸⁾。さらなる解析により、スギ花粉アレルギー特異的舌下免疫療法によりヒノキ花粉飛散期の症状もコントロールできる患者群と、逆に悪化する患者群が混在していることが示唆された¹⁸⁾。このような現状に対する考察の一つとして例えば、スギ花粉アレルギーとヒノキ花粉アレルギーで交叉しない主要T細胞エ

ピトープの存在が報告されており⁹⁾、このようなエピトープ特異的Th2細胞がヒノキ花粉飛散期の症状悪化を誘発しているという説明が可能だろう。一方、別の考え方として、ヒノキ花粉中にはスギ花粉アレルギーと交叉しない未発見の主要アレルギーの存在が原因である可能性も考えられる。事実として、スギ花粉アレルギーコンポーネントはCryj1、Cryj2の他、複数の新規アレルギー報告があることに加え、例えばコナヒョウヒダニアレルギーに関して言えば2017年10月現在、WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-committeeには36種類ものアレルギーコンポーネントがアレルギーとして登録されており、ヒノキ花粉中にも複数の重要アレルギーが含まれている可能性は高いと考えられた。

3. 新規ヒノキ花粉アレルギー Chao3 の発見と分子生物学的特徴

以上の背景に基づき我々はヒノキ花粉新規アレルギー探索を目的とした研究を開始した。ヒノキ花粉抽出物粗精製品をSDS-PAGEし、ゲルをSYPRO-RUBY染色により分析したところ、既知アレルギーChao1、Chao2とは大きく異なる分子量60kDa付近に強いバンドがあることを偶然見出した（図1A）。我々はこれが未同定新規アレルギー（後にChao3と命名。以下、Chao3と呼ぶ）であると考え、Chao3の単離精製ルートを確認し、詳細な分子生物学的解析を行った。Chao3はChao1同様¹⁹⁾、還元条件、非還元条件ともにダブルバンドを示した（図1B）。さらに両バンドから同一のペプチド断片が検出されたこと、Chao3はPAS染色陽性であった（図1C）ことから、ダブルバンドの原因は糖鎖修飾の違いによるものであると考えられた。続く詳細な解析によりChao3の糖鎖構造の同定に成功し、Chao3は主にCryj1やChao1と共通する糖鎖に加え、種々のパターンの糖鎖が付加していることが明らかとなった²⁰⁾。続いて、精製Chao3を用いてそのアミノ酸部分配列を分析し、その情報を元に設計したプライマーを用いて遺伝子クローニングを試み、Chao3の推定全長一次配列を決定した。Chao3は全長1668塩基対、556残基からなり、¹Metから²⁸Serまでがシグナル配列であると推定された。BLASTを用いた相同性解析を行ったところ、既知アレルギーChao1、Chao2とChao3の間に相同性は無く、新規ヒノキ花粉蛋白質であることを確認した。加えて、Chao3はウマゴヤシ、カカオ、シロイヌナズナのセルラーゼとの相同性が高く、Pfam解析によりセルラーゼ（glycosyl hydrolase family 5）ドメインを有することが示された。実際に精製Chao3を用いることでセルラーゼ活性も認められており、Chao3の機能はセルラーゼであると考えられた。

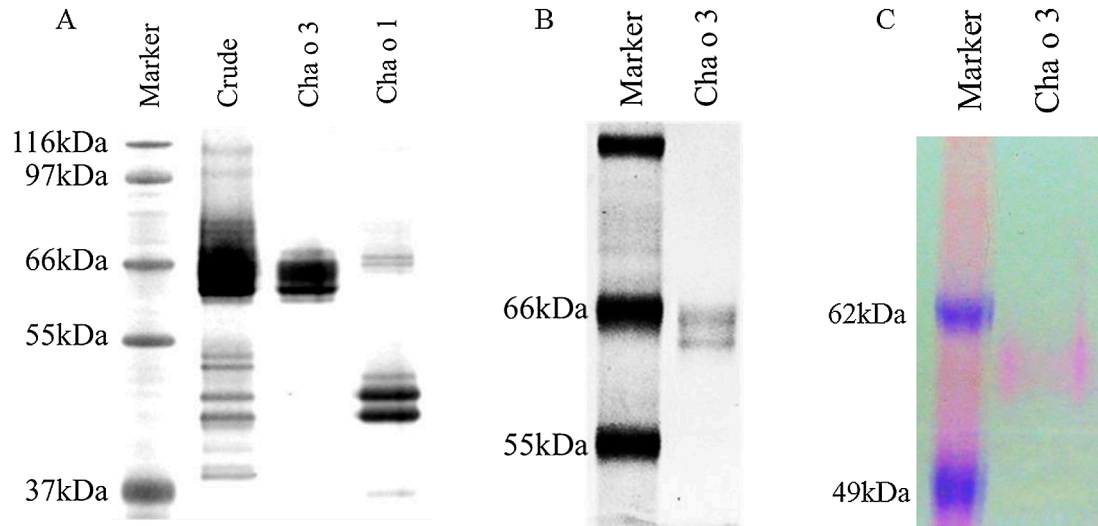


図1 新規ヒノキ花粉アレルゲン Cha o 3。A: SYPRO-RUBY 染色 (非還元条件), B: SYPRO-RUBY 染色 (還元条件), C: PAS 染色 (還元条件)。

4. Cha o 3 の抗原性

続いて、ヒノキ ImmunoCAP スコア 2 以上のスギ・ヒノキ花粉症患者由来検体を用いて、精製 Cha o 3 を用いて免疫学的解析を実施した。アレルゲン特異的リンパ球刺激試験を実施したところ、Cha o 3 は Cha o 1 や Cha o 2 と同等以上の T 細胞刺激活性を有していた³⁾。スギ・ヒノキ花粉症患者血漿中 Cha o 3 特異的 IgE 抗体価を評価した結果、Cha o 3 特異的 IgE 陽性率は 87.5% であり、Cha o 1 特異的 IgE 陽性率 (93.8%) とほぼ同等であった。驚くべきことに、各 IgE 抗体価とヒノキ ImmunoCAP 検査値との相関を調べたところ、Cha o 1 よりも Cha o 3 特異的 IgE 抗体価のほうがより強い正の相関関係にあることが明らかとなった (図 2)。これまで臨床におけるヒノキ ImmunoCAP 検査は Cha o 1 および Cha o 2 を中心とした抗原への感作状況を反映するものと考察されてきたが、本結果はヒノキ花粉 ImmunoCAP 検査結果に、Cha o 3 への感作状況もまた、同等以上に影響

を及ぼしていたことを示唆している。本知見により、Cha o 3 特異的 IgE の測定は特にヒノキ花粉症に対する感作状況をより反映した新規臨床検査法の開発に繋がる可能性があると考えられた。続いて、好塩基球活性化試験 (BAT) により、Cha o 3 によるスギ・ヒノキ花粉症患者由来好塩基球の I 型アレルギー反応惹起を直接評価した。興味深いことに、Cha o 1 よりも Cha o 3 に強く反応する患者、Cha o 3 よりも Cha o 1 に強く反応する患者、両アレルゲンに強く反応する患者、種々のパターンが存在することが示された (図 3A)。つまり同じヒノキ花粉症のなかでも各抗原への感作状況が異なる可能性が考えられ、ヒノキ花粉症の病態発症機序を解明するための情報のひとつとして、ヒノキ飛散期におけるアレルギー症状発現と、Cha o 1 および Cha o 3 を用いた BAT 結果との関連等に興味を持たれ、今後の検討課題である。さらに我々は 2015 年ヒノキ花粉飛散シーズン後および 2016 年ヒノキ花粉飛散シーズン後にヒノキ花粉 ImmunoCAP スコア 0 から 3 の被験者 20 名を登録し再度

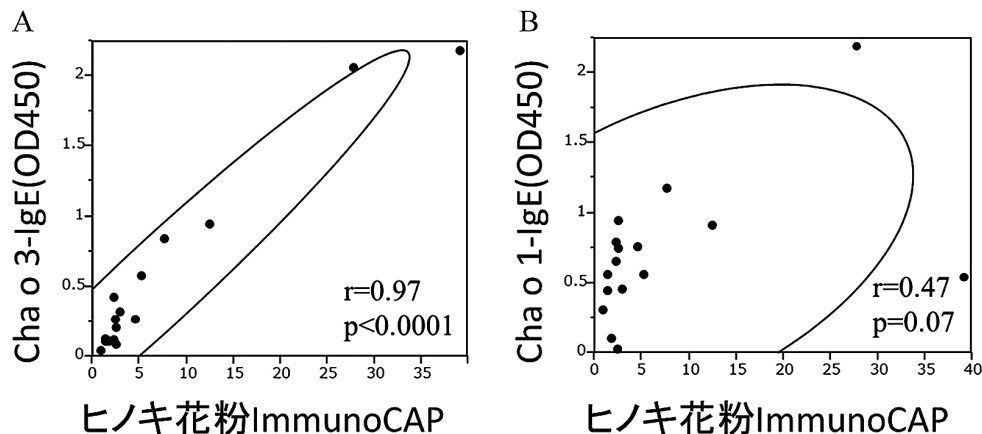


図2 特異的 IgE 抗体価と ImmunoCAP 検査結果の相関。A: Cha o 3 特異的 IgE, B: Cha o 1 特異的 IgE (r: 相関係数, Pearson correlation coefficient test)。

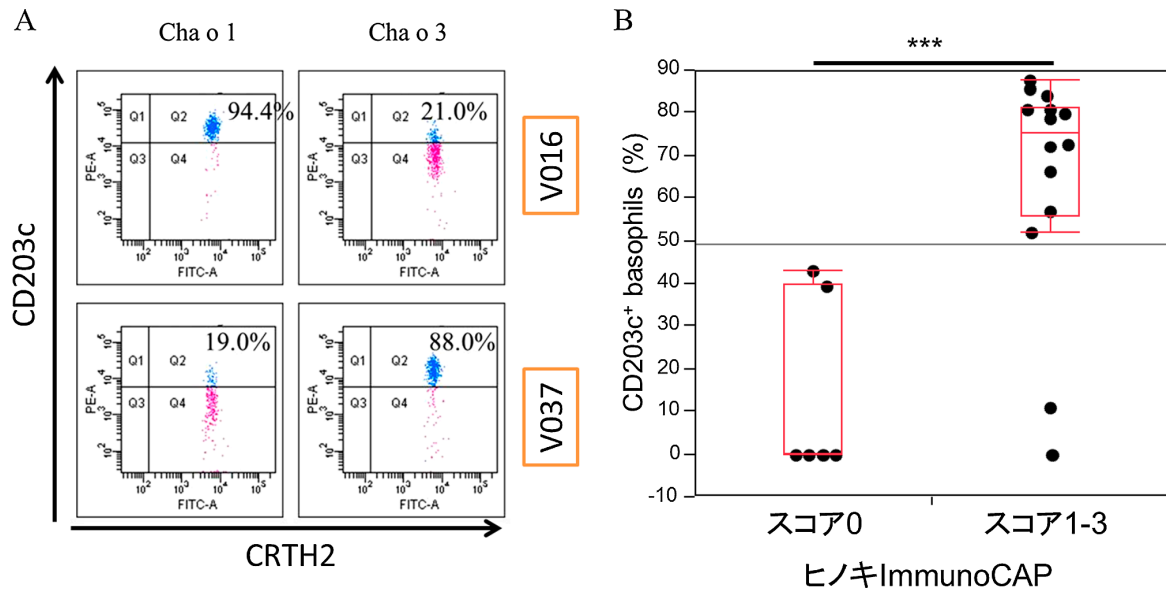


図3 好塩基球活性化試験 (BAT) による Cha o 3 による I 型アレルギー反応評価。A: Cha o 1 と Cha o 3 への反応パターンの違い, B: Cha o 3 刺激 (100 ng/mL, 15 分間) に対する好塩基球活性化。*** $p=0.0007$ (Student-*t* test)。

Cha o 3 を用いた BAT を実施した。その結果、ヒノキ花粉 ImmunoCAP スコア陰性群の 6 名に対し、疑陽性および陽性群では有意に高く Cha o 3 による好塩基球活性化が認められた (図 3B)。これはスギ・ヒノキ花粉症患者における Cha o 3 への高い感作率を支持する結果であると考えられる。以上の知見を総合し、Cha o 1, Cha o 2 同様、Cha o 3 はヒノキ花粉における主要アレルゲンであると断定した。

5. スギ・ヒノキ花粉症アレルゲン特異的免疫療法の必要性

最後に、当初の目的であった、スギ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法の治療効果がヒノキ花粉飛散期に減弱する原因として Cha o 3 が該当するかどうかを精査する目的で、末梢血単核球 (PBMC) を各種アレルゲンにて刺激した際に誘導される Th2 応答について、IL-5 産生量を指標として評価した。2 年間以上標準化スギ花粉エキスをを用いた皮下免疫療法を受けた患者 24 名、もしくは未治療スギ花粉症患者 23 名を対象に比較検討した結果、スギ花粉皮下免疫療法治療患者においては未治療患者に比べ、予想通りスギ花粉主要アレルゲン Cry j 1, Cry j 2 特異的 IL-5 産生が強く抑制されていた (図 4)。スギ花粉皮下免疫療法群では Cha o 1 特異的 IL-5 産生も 92.5% 抑制されており、Cry j 1 と Cha o 1 の共通抗原性による治療効果の一つであると考えられた。一方、Cha o 3 特異的 IL-5 産生は 67.5% の抑制に留まり、スギ花粉皮下免疫療法だけでは Cha o 3 特異的 Th2 応答抑制効果は十分ではないことが示唆された。つまり、Cha o 3 は前述の、スギ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法を実施したにも関わらずヒノキ花粉飛散期にアレルギー症状が惹起される一つの原因物質である可能性があ

る。したがって、スギ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法で制御しきれない Cha o 3 特異的 Th2 応答やアレルギー反応を制御するためには、Cha o 3 によるアレルゲン特異的免疫療法や Cha o 3 を多く含むヒノキ花粉標準化エキスをを用いた新規アレルゲン特異的免疫療法等、ヒノキ花粉に特化した治療法開発の重要性が示された。もしヒノキ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法が実現すれば、先述の Cha o 2 特異的な、いわばヒノキ花粉アレルゲンに固有な T 細胞クローンの出現に対しても解決可能だろう。スギ・ヒノキ花粉症の根治を目指すための手段として、スギ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法及びヒノキ花粉特異的アレルゲン特異的免疫療法の併用が、共通アレルゲン・固有アレルゲン両者の特異的 Th2 反応の抑制に繋がり、確実に治療効果を上げられる可能性のある方法ではないだろうか。

おわりに

スギ花粉症とヒノキ花粉症はヒノキ科樹木由来の春期季節性アレルギーという共通点に加え、アレルゲンの交叉反応性という観点でも切っても切り離せない、お互い密接な関係にあることは前述の通り、疑いようのない事実である。しかしながら今回の Cha o 3 発見により、これまで見ていたようで見えなかった、スギ花粉アレルゲンとヒノキ花粉アレルゲンの違いが明らかになりつつある。我々は、スギ花粉とヒノキ花粉の違いという観点で Cha o 3 の発見は氷山の一角ではないかと考えている。恐らく、Cha o 3 の他にも標準化スギ花粉エキスでは免疫寛容を誘導し難いヒノキ固有アレルゲンが存在するのではないかと。似て非なるスギ花粉症・ヒノキ花粉症の根本治療のために、スギ花粉症にはスギ、ヒノキ花粉症にはヒノキ花粉由来の治療薬の

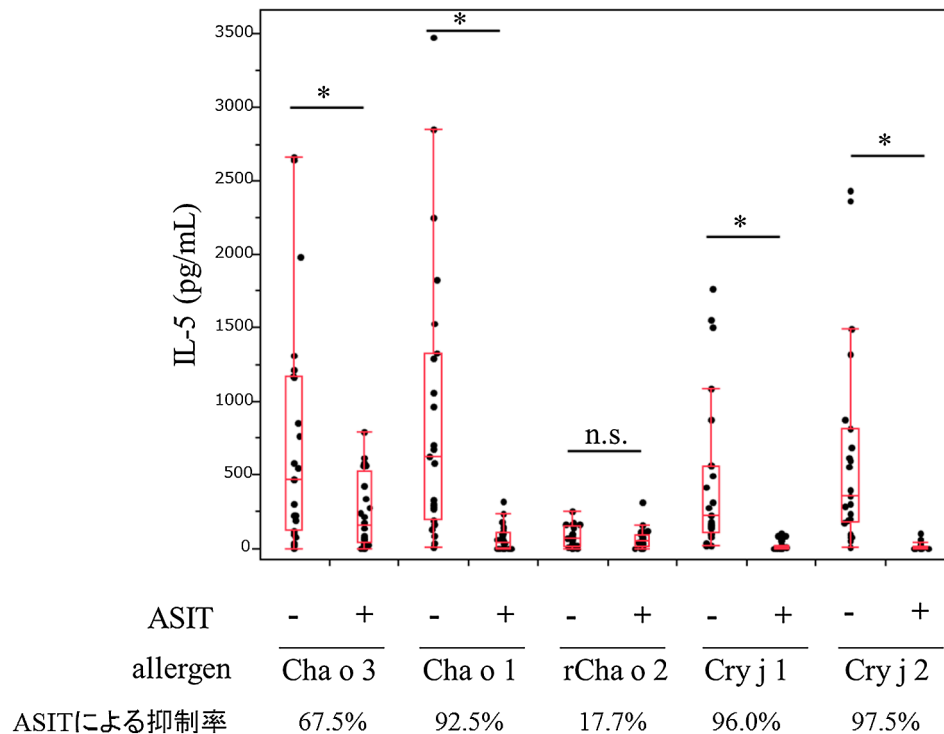


図4 標準化スギ花粉エキスをを用いた皮下アレルギー特異的免疫療法のCha o 3 特異的 IL-5 産生への影響。* $p < 0.01$ (Student-*t* test), n.s.: not significant.

創製が重要であり、Cha o 3 発見を契機として新規治療法開発が進展することを期待したい。

結びに、果たしてCha o 3 は完全にヒノキ花粉の固有アレルギーか、という疑問に答える必要があると考えるが、我々の知見に基づけばその答えは、いいえ、となる。先述の図4のデータの見方を変えると、標準化スギ花粉エキスによる皮下免疫療法によっても、部分的ではあるがCha o 3 のTh2 応答は抑制されうること示している。つまりCry j 1 とCha o 1 の関係同様、標準化スギ花粉エキス中のCha o 3 相同アレルギーの存在が強く示唆されるデータともいえる。スギ特異的アレルギー特異的免疫療法ではCha o 3 への治療効果が十分ではない事実も合わせて考察すると、スギ花粉・ヒノキ花粉中の含有量の違い、現有の標準化スギ花粉エキスの調製法では十分量の未同定Cha o 3 相同アレルギーが含まれない、相同性が低く交叉するT細胞エピトープが少なく、等の種々可能性が推測されるが、判断には継続した研究が必要である。現在我々は次の検討課題としてこのスギ花粉中の未同定Cha o 3 相同アレルギーの同定に取り組んでおり、スギ・ヒノキ花粉症の病態発症機序のさらなる本質に迫り、新規治療法開発可能性について考察していきたい。

本論文に関して、開示すべき利害相反状態は次の通りである。

企業や営利を目的とした団体の役員、顧問職、職員：大鵬薬品工業株式会社、社員

文 献

- 1) Okano M, Fujiwara T, et al. Characterization of Japanese cypress pollinosis and the effects of early interventional treatment for cypress pollinosis. *Clin Exp Allergy Rev*. 2012; 12: 1–9.
- 2) 川島佳代子, 松本達始, 他. スギ・ヒノキ花粉症に対するスギ抗原特異的皮下免疫療法の有効性の検討. *日鼻誌* 2016; 55(2): 159–68.
- 3) Osada T, Harada T, et al. Identification and gene cloning of a new major allergen Cha o 3 from *Chamaecyparis obtusa* (Japanese cypress) pollen. *J Allergy Clin Immunol*. 2016; 138(3): 911–3 e7.
- 4) Di Felice G, Barletta B, et al. Cupressaceae pollinosis: identification, purification and cloning of relevant allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001; 125(4): 280–9.
- 5) Yamada T, Saito H, et al. Present state of Japanese cedar pollinosis: the national affliction. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(3): 632–9 e5.
- 6) 萩原仁美, 湯田厚司, 他. スギ花粉症に対する免疫療法のQOL 評価—薬物療法と比較して. *日鼻誌* 2010; 49(1): 26–32.
- 7) Okamoto Y, Okubo K, et al. Efficacy and safety of sublingual immunotherapy for two seasons in patients with Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015; 166(3): 177–88.
- 8) Sone T, Dairiki K, et al. Identification of human T cell epitopes in Japanese cypress pollen allergen, Cha o 1, elucidates the intrinsic mechanism of cross-allergenicity between Cha o 1 and Cry j 1, the major allergen of Japanese cedar pollen, at the T cell level. *Clin Exp Allergy*. 2005; 35: 664–71.
- 9) Sone T, Dairiki K, et al. Recognition of T cell epitopes unique to Cha o 2, the major allergen in Japanese cypress pollen, in allergic patients cross-reactive to Japanese cedar and Japanese cypress

- pollen. *Allergol Int.* 2009; 58: 237–45.
- 10) Sone T, Komiyama N, et al. Cloning and sequencing of cDNA coding for Cry j I, a major allergen of Japanese cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 199(2): 619–25.
 - 11) Taniai M, Ando S, et al. N-terminal amino acid sequence of a major allergen of Japanese cedar pollen (Cry j I). *FEBS Lett.* 1988; 239(2): 329–32.
 - 12) Sakaguchi M, Inouye S, et al. Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy.* 1990; 45(4): 309–12.
 - 13) Komiyama N, Sone T, et al. cDNA cloning and expression of Cry j II the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 201(2): 1021–8.
 - 14) Suzuki M, Komiyama N, et al. Purification, characterization and molecular cloning of Cha o I, a major allergen of *Chamaecyparis obtusa* (Japanese cypress) pollen. *Mol Immunol.* 1996; 33: 451–60.
 - 15) Mori T, Yokoyama M, et al. Purification, Identification, and cDNA Cloning of Cha o 2, the Second Major Allergen of Japanese Cypress Pollen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 263: 166–71.
 - 16) 湯田厚司, 服部玲子, 他. スギ花粉症に対する免疫療法のヒノキ科花粉症への効果. *日鼻誌* 2007; 46: 119–3.
 - 17) 湯田厚司. スギ花粉症に対する舌下免疫療法のヒノキ花粉症への効果. *日鼻誌* 2015; 54(4): 503–8.
 - 18) 湯田厚司, 小川由起子, 他. スギ花粉舌下免疫療法のヒノキ花粉飛散期の臨床効果. *日本耳鼻咽喉科学会会報* 2017; 120: 833–40.
 - 19) Yasueda H, Saito A, et al. Identification and characterization of a group 2 conifer pollen allergen from *Chamaecyparis obtusa*, a homologue of Cry j 2 from *Cryptomeria japonica*. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30: 546–50.
 - 20) Osada T, Maeda M, et al. Glycoform of a newly identified pollen allergen, Cha o 3, from *Chamaecyparis obtusa* (Japanese cypress, Hinoki). *Carbohydr Res.* 2017; 448: 18–23.

Novel information regarding the allergens of Japanese cypress pollen

Toshihiro Osada^{1,2}

¹Discovery and Preclinical Research Division, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

²Cancer Vaccine Development Division, Kurume University Research Center for Innovative Cancer Therapy

ABSTRACT

Japanese cypress pollinosis is a major seasonal allergic disease in Japan, and similar to Japanese cedar pollinosis, its prevalence is increasing every year. Allergen-specific immunotherapy (ASIT) is the only possible cure for Japanese cedar pollinosis. According to the cross-reactivity between the major Japanese cedar pollen and Japanese cypress pollen allergens, clinical improvement of Japanese cypress pollinosis is theoretically expected from ASIT using the standardized Japanese cedar pollen extract. However, the allergic symptoms and quality of life of some patients with Japanese cedar and cypress pollinosis worsen during the Japanese cypress pollen dispersion season even the ASIT is provided, suggesting the existence of unidentified allergens unique to Japanese cypress pollen. By analyzing the major proteins in Japanese cypress pollen extract, we identified a novel major allergen, Cha o 3. Cha o 3-specific IgE binding was observed at a high frequency (87.5%) in patients with Japanese cypress pollinosis showing a result of class 2 or higher on the Japanese cypress ImmunoCAP test. In addition, the results of the Japanese cypress ImmunoCAP test were more significantly correlated with Cha o 3-specific IgE binding than with Cha o 1-specific IgE binding, suggesting that Cha o 3 also strongly contributes to the diagnostic scores. ASIT using Japanese cedar extract could not completely control Cha o 3-specific interleukin 5 production. Therefore, Cha o 3 appears to attenuate the beneficial effect of the ASIT using Japanese cedar extract. These novel data indicate that in addition to Japanese cedar-specific immunotherapy, the development of Japanese cypress pollen-specific immunotherapy is needed to regulate allergic symptoms throughout the Japanese cedar and cypress pollen dispersion seasons.

Key words: Japanese cypress pollinosis, Japanese cedar pollinosis, allergen, Cha o 3