

【要約】

Complement Factor H is an early predictive biomarker of therapeutic efficacy of sublingual immunotherapy for allergic rhinitis induced by Japanese cedar pollen

(スギ花粉症に対する舌下免疫療法の効果早期予測マーカーとしての

*Complement Factor H*の検討)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任；岡本 美孝教授)

米田 理葉

【背景】

アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法は、アレルギー性鼻炎の自然経過を改善させることの期待できる唯一の治療法である。本邦固有のアレルギー性鼻炎であるスギ花粉症に対する舌下免疫療法は、現在までに高い安全性とその有効性が報告されており、2014年からは保険収載され一般診療として開始されている。

しかしながら、治療には3年以上の長期の治療期間が必要であり、一部に治療効果が認められない患者も存在すると言われている。また、その治療効果を客観的に示すバイオマーカーや、効果を予測するバイオマーカーの検討は様々されているが、まだ確立したものは存在していない。

治療開始後早期に効果が予測できれば、患者負担を軽減することができ、患者に対して大きなメリットとなる。そこで本研究では、スギ舌下免疫療法の治療効果を開始後早期に予測する因子について検討した。

【方法】

対象は Study1 と Study2 の2種類の集団に対して検討を行った。Study1 は2010年から2012年にかけて施行されたスギ花粉症患者に対する舌下免疫療法第Ⅲ相プラセボ対照二重盲検比較試験のうち千葉大学で解析を行った40名、Study2 はスギ花粉症の保険診療として開始した2014年以降、千葉大学医学部附属病院にて舌下免疫療法を施行したスギ花粉症患者30名に対して行った。Study1 ではバイオマーカー遺伝子の探索を目的に、Microarray、RT-PCR および判別分析法を施行しバイオマーカー候補遺伝子の絞り込みを行った。Study2 では絞り込まれた候補遺伝子を一般臨床患者において再検証した。

Study1(実薬20人、プラセボ20人)に対し2010年の非飛散期より実薬およびプラセボのいずれかを舌下投与し、2011年、2012年の花粉飛散期を経て最長83週間の投与を行った。2011年、2012年のそれぞれの花粉飛散ピーク前後3週間の総合鼻症状薬物スコア(TNSMS)より平均値を求め、重症度を最重症、重症、中等症、軽症の4段階に分類した。花粉飛散量が2011年は大量飛散(6538/cm²)、2012年は少量飛散(1256/cm²)であったことから、2012年の重症度が2011年より2段階以上改善した症例、もしくは2012年の重症度が軽症であった症例を著効例とした。一方、2012年が少量飛散であったにもかかわらず重症度が変わらない、もしくは悪化した症例を無効例とした。この基準に当てはまらない症例は除外した。以上より、実薬著効例7例、実薬無効例4例、プラセボ著効例5例、プラセボ無効例7例に対して解析を行った。Microarray、RT-PCRともに治療開始前と治療開始後2ヶ月の末梢

血単核球より分離した cDNA を用いた。

Study2 では千葉大学医学部附属病院を受診し、2014 年 10～12 月に舌下免疫療法を開始し、2015 年、2016 年と飛散期を経過した 15 例と、2015 年 6～12 月に舌下免疫療法を開始し、2016 年、2017 年と飛散期を経過した 15 例、計 30 例に対して検討を行った。2015 年、2016 年、2017 年の花粉飛散量は 2017 年がやや少なかったものの、Study1 程の差はなく大きな変動はないと評価した。舌下免疫療法の改善効果は比較的早期からみられると報告されており、本検討でも舌下免疫療法開始後の 1 シーズン目からある程度の効果が発現していると考えられる。そのことから Study2 では 1 シーズン目から 2 シーズン目にかけて症状がさらに改善している症例を著効群(15 例)、症状の改善が乏しい症例を非著効群(15 例)とした。Study1 と同様に治療開始前と治療開始後 2 ヶ月の末梢血単核球より分離した cDNA を用いて RT-PCR を施行した。

【結果】

Study1

Microarray での測定結果の解析を行い、Microarray 搭載プローブ 41000 個のうち、解析対象となるのは 24413 個で、残りはバックグラウンドと同等のため除去した。さらに、実薬・プラセボでの比較、治療開始前・治療開始後 2 ヶ月の比較、その交互作用の 3 要因にて ANOVA 解析を行い 5590 個のプローブを選出した。さらに 7 つのカテゴリーに分類し、それぞれのカテゴリーにて実薬著効群が有意に変動しているもの、もしくは有意な変動はないが、実薬著効群のみが他の群と変動方向が異なるものを抽出し、最終的に 25 種類の遺伝子がバイオマーカー候補として選出された。

次に Microarray で選出した 25 種類の遺伝子を RT-PCR を施行して再検証を行った。RT-PCR の結果から実薬著効群において開始前と開始後 2 ヶ月後で有意に変動しているもの、もしくは変動が Microarray 結果と同じ挙動を示したものを選出し、OLFM1、TNFRSF21、OSR2、CFH、GOLIM4 の 5 種類の遺伝子に絞り込んだ。

この 5 種類の遺伝子の実薬著効群 7 例、実薬無効群 5 例に対し、判別分析法を用い RT-PCR で得られた値が真の結果と予測結果とで一致するか正解率を求めた。CFH、TNFRSF21、OSR2 で高い正解率を示し、バイオマーカー候補と考えられた。

Study2

Study1 で選出した 3 遺伝子 CFH、TNFRSF21、OSR2 について、一般診療患者の検体を

用い RT-PCR で再検証した。なお OSR2 に関しては全体に遺伝子発現量が少なく、解析から除外した。

舌下免疫療法開始前の遺伝子発現量は、CFH、TNFRSF21 とともに著効群、非著効群間で有意な差は認められなかった。そこで治療開始前の遺伝子発現量と治療開始後 2 ヶ月の遺伝子発現量を比較し、その変化率を求めた。CFH では著効群と非著効群で有意な差が認められた。一方 TNFRSF21 では有意差は認められなかった。CFH は著効群で増加、非著効群で減少の変動方向であり、これは Study1 の結果と一致する変動方向であった。

以上のことから CFH について ROC 曲線より Cut off 値を 0.99 とすると感度 60%、特異度 80%となった。

【考察】

スギ舌下免疫療法はその安全性と有効性が認められ、保険診療として開始されている。しかし長期間の治療を行っても一部に効果がみられない患者の存在が知られており、早期に治療効果を判定できるバイオマーカーが求められている。

本研究ではスギ花粉症に対する舌下免疫療法第Ⅲ相プラセボ対照二重盲検比較試験の被験者 40 人を対象に Microarray、RT-PCR、判別分析法を行い、CFH、TNFRSF21、OSR2 の 3 種類の遺伝子が治療効果を早期に予測するバイオマーカーとして選出された。千葉大学医学部附属病院を受診し一般診療で舌下免疫療法を施行した被験者 30 人に対し、再度 RT-PCR を施行し治療開始前と治療開始後 2 ヶ月の遺伝子発現量を比較し、その変化率を求めた。CFH は著効群で上昇、非著効群で減少を示し、これは第Ⅲ相試験の結果と一致する挙動であった。一方、CFH、TNFRSF21 とともに治療開始前の遺伝子発現量には実薬群とプラセボ群とにおいて有意差は認められず、予後予測因子としては否定的であった。よって、CFH の治療開始前と開始後 2 ヶ月の遺伝子発現量を比較することによって、治療効果を予測できる可能性が示唆された。

CFH は補体因子 H(Complement Factor H)であり、補体活性化第 2 経路の補体阻害因子として作用する。補体因子 H が増加することにより、C3 転換酵素が抑制され、C3a や C5a が抑制する方向に働く。しかしながら、本検討はアレルゲン特異的免疫療法であることから、今回我々が観察した末梢血単核球における CFH 遺伝子の変動が、免疫全体に影響しているとは考えにくく、抗原特異的な細胞の抑制に伴って見られた結果である可能性が考えられる。

【結論】

スギ舌下免疫療法の効果を早期に予測するバイオマーカーの検討を行った。CFH が治療開始後 2 ヶ月という早期の段階で著効群で上昇、非著効群で減少を示し、効果を予測するバイオマーカーである可能性が示された。