

小児アトピー性疾患におけるダニ抗原 (*Dermatophagoides pteronyssinus*) および卵白抗原に対する 特異 IgE, IgG, IgG4 抗体について

同愛記念病院小児科

向山徳子 市川邦男 馬場 實

東京大学医学部物療内科

中川武正 宮本昭正

小児アトピー性疾患78例につき、ダニ抗原(*Dermatophagoides pteronyssinus*)に対する特異 IgE, IgG 抗体および卵白抗原 (ovalbumin) に対する特異 IgE, IgG, IgG4 抗体を測定した。アトピー性疾患において、Dp に対する特異 IgG 抗体は健康小児に比し有意に高値を示した。抗 Dp IgG 抗体価の高いものは抗 Dp IgE 抗体価も高い傾向にあった。卵アレルギーの症例について、OA に対する特異 IgE, IgG 抗体は健康小児に比し有意に高値を示した。OA に対する特異 IgG4 抗体に関しては、卵アレルギーを有するもの、有さないもの、健康小児の3群に差はみられなかった。

Key words: *Dermatophagoides pteronyssinus* — IgG — IgG4 — monoclonal antibody — ovalbumin

緒 言

気管支喘息、アトピー性皮膚炎などの小児アトピー性疾患における特異 IgE 抗体に関して、年少児では卵白を中心とした食物アレルギーの陽性率が高く、加齢とともに室内塵、ダニ抗原などの吸入性アレルギーの陽性率が高くなることが知られている¹⁾。

特異 IgG 抗体に関してはブタクサやダニ抗原を用いた減感作療法により上昇することが知られており²⁾³⁾、食物アレルギーに関しては、IgE 抗体の検出される症例において IgG 抗体が相関して検出されるという報告がある^{4)~6)}。

IgG4 抗体に関しては阻止抗体として働く可能性と、一方で食物アレルギーに対しては anaphylactic に働く可能性も指摘されており、その役割は一定の見解がない。

今回著者らは小児アトピー性疾患において、ダニ抗原 (*Dermatophagoides pteronyssinus*) および卵白抗原

の特異 IgE 抗体、IgG 抗体ならびに IgG4 抗体の関係について検討したので報告する。

方 法

1. IgG, IgG4 抗体価の測定

基本的には Engvall and Perlmann⁷⁾の方法を改良した阿南ら⁸⁾の方法に準じた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて行った⁹⁾。

1) polyvinyl chloride microtiter plate (Dinatech, Alexandria, Va) の各 well に phosphate buffered-saline (PBS: 0.1M sodium phosphate, 0.15M sodium chloride, pH7.2) にて10 μ g/ml の濃度に溶解した Dp (塩野義製薬) もしくは ovalbumin (OA, Sigma 社)を100 μ l ずつ注入し、4℃にて overnight 静置した。その後、同バッファーにて3回洗浄し、次いで各 well に1%BSA を加えた PBS (PBS-BSA) 200 μ l を加えて、37℃にて1時間静置して、残存する付着部位を block した。

2) PBS にて再洗浄後、PBS-BSA にて20倍に希釈した被検血清もしくは IgG, IgG4 の標準血清を各 well に100 μ l ずつ注入し、37℃で2時間 incubate した。IgG の標準血清は抗 Dp 特異 IgG 抗体価ないしは

Received: October 21, 1985

Accepted: January 13, 1986

Abbreviations: BSA bovine serum albumin; Dp *Dermatophagoides pteronyssinus*; ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; OA ovalbumin

抗 OA 特異 IgG 抗体価の高いブール血清を希釈して well に注入した。IgG4 の標準血清は抗 OA 特異 IgG 抗体価の高いブール血清を希釈して well に注入した。

3) 再洗浄後, PBS-BSA で1000倍に希釈したマウスモノクローナル抗ヒト IgG 抗体(塩野義製薬)¹⁰⁾, もしくは IgG4 抗体(ヤマサ醤油研究所)⁹⁾を各 well に100 μ l ずつ注入し, 4 $^{\circ}$ C で overnight incubate した。

4) 再洗浄後, PBS-BSA で10000倍に希釈した peroxidase 標識抗マウス IgG 抗体(Cappel Lab.)を各 well に100 μ l ずつ注入し, 37 $^{\circ}$ C 1時間 incubate した。

5) 再洗浄後, substrate として O-phenylenediamine 溶液を各 well に100 μ l ずつ注入し, 室温で1時間 incubate した。

6) 次いで, 4N H₂SO₄を100 μ l ずつ各 well に追加流入して反応を停止させた後, automated microtiter plate reader (MTP-12, Corona Electric, 東京)にて各 well の500nm における吸光度を測定した。それぞれの被験血清は duplicate にて測定し, その平均値より background 値をさしひいて OD₅₀₀としてその抗体価を表した。また, IgG 抗体に関しては標準血清(1000 U)の標準曲線より算出した unit で表した。

2. IgE 抗体価の測定

特異 IgE 抗体は radioallergosorbent test (RAST: Pharmacia 社, Uppsalla) 法により測定した。

対 象

対象はアトピー性疾患78例であり, 内訳は気管支喘息48例, 気管支喘息にアトピー性皮膚炎を合併したもの19例, アトピー性皮膚炎10例, 蕁麻疹1例である。なお気管支喘息の症例は全て減感作療法前の症例であった。

卵アレルギーの認められた症例は24例であり, いずれもアレルギー皮膚試験ないしは誘発試験にて即時型反応を呈した症例である。対照はアトピー性疾患を保有しない健康小児16例につき施行した。アトピー性疾患患児ならびに健康小児の年齢は1歳より18歳までであり, その平均は9.5歳であった。

結 果

1) 抗 Dp IgG 抗体

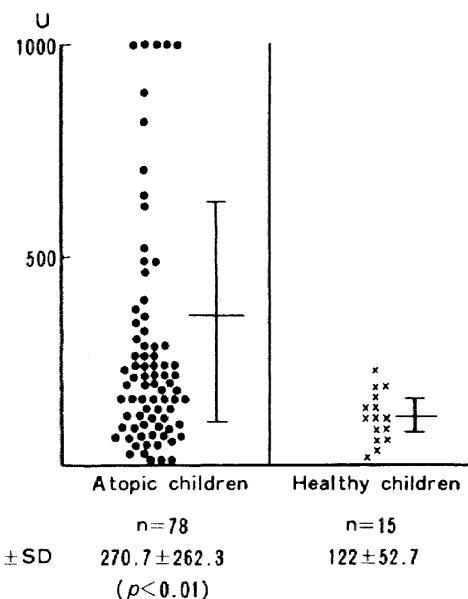


Fig. 1. Comparison of IgG antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* between atopic and healthy children.

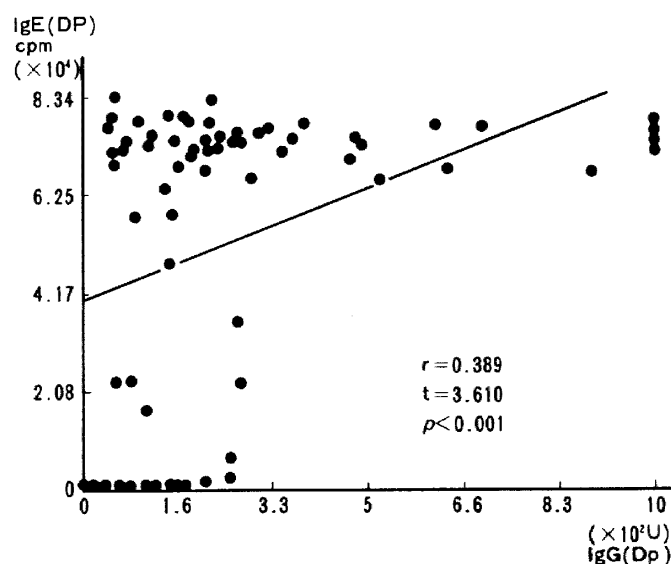


Fig. 2. Relationship between IgE antibody to *Dermatophagoides pteronyssinus* in atopic children.

Dp に対する特異 IgG 抗体については, アトピー性疾患群 270.7 ± 262.3 U, 健康小児 122 ± 52.7 U とアトピー性疾患群において有意に高値を示した ($p < 0.01$) (Fig. 1)。

2) 抗 Dp IgG 抗体と抗 Dp IgE 抗体の関係

アトピー性疾患群における Dp に対する特異 IgG 抗体と特異 IgE 抗体の関係を Fig. 2 に示す。縦軸に IgE 抗体価を cpm で示し, 横軸に IgG 抗体価を unit で示した。特異 IgG 抗体価の高いものは特異 IgE 抗体価も

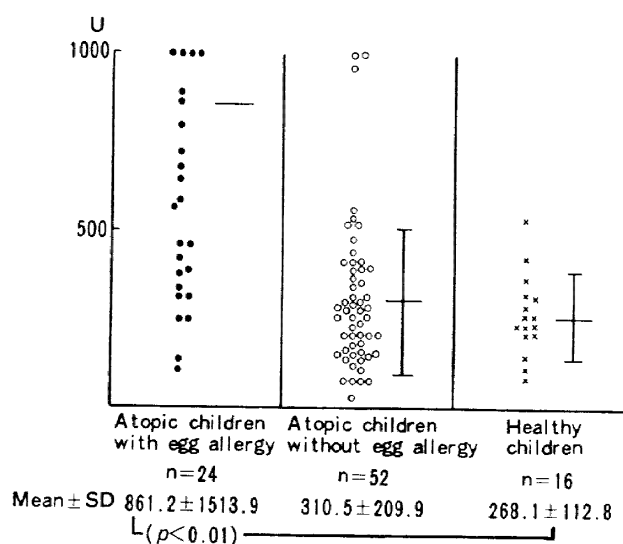


Fig. 3. Comparison of IgG antibodies to ovalbumin between atopic children with egg allergy, without egg allergy and healthy children.

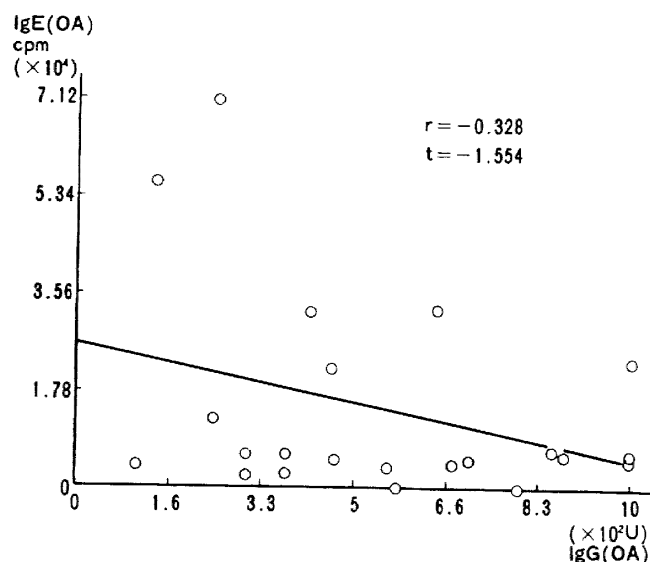


Fig. 4. Relationship between IgE antibody and IgG antibody to ovalbumin in egg allergy.

高い傾向にあった ($p < 0.001$).

3) 抗 OA IgG 抗体

卵白の特異抗体に関して OA を用いて検討した。抗 OA IgG 抗体に関して、卵アレルギーの症例では $861.2 \pm 1513.9U$ と卵アレルギーなしのアトピー性疾患群ならびに健康小児に比して高値を示した (Fig. 3)。ただし、卵アレルギーとしての症状を保有しないアトピー性疾患群においても抗 OA IgG 抗体の高い症例が 3 例みられた。

4) 抗 OA IgG 抗体と抗 OA IgE 抗体の関係

卵アレルギーを有するアトピー性疾患群において抗

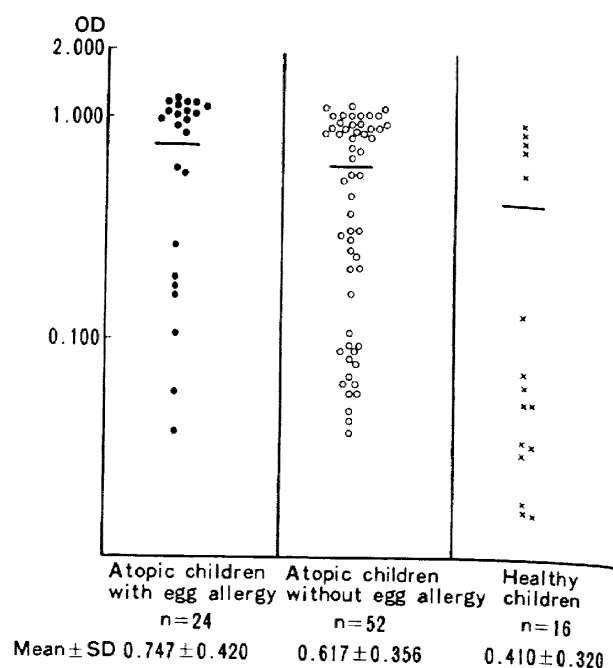


Fig. 5. Comparison of IgG, antibodies to ovalbumin between atopic children with egg allergy, without egg allergy and healthy children.

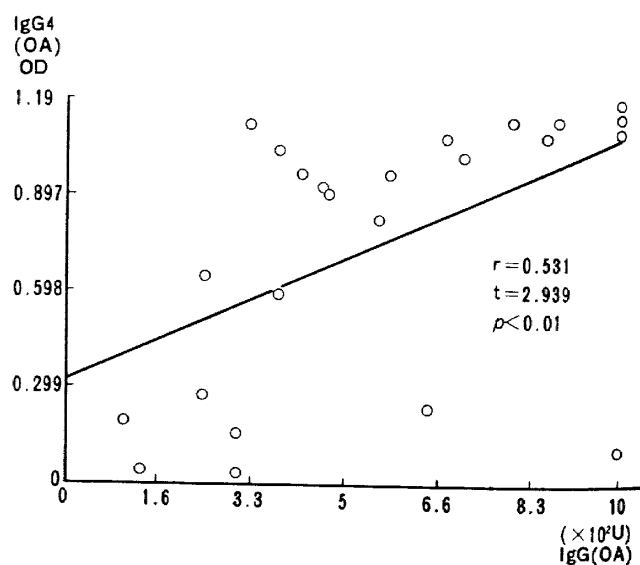


Fig. 6. Relationship between IgG antibody and IgG4 antibody to ovalbumin in egg allergy.

OA IgG 抗体と抗 OA IgE 抗体の関係を検討したが、両者に相関はみられなかった (Fig. 4)。

5) 抗 OA IgG4 抗体

OA に対する特異 IgG4 抗体については、卵アレルギーを有するアトピー性疾患群、卵アレルギーを伴わないアトピー性疾患群、健康小児の 3 群に特に有意差を認めなかった (Fig. 5)。

6) 抗 OA IgG 抗体と抗 OA IgG4 抗体の関係

卵アレルギーを有するアトピー性疾患群において、OA に対する特異 IgG 抗体と特異 IgG4 抗体に関して、特異 IgG 抗体の高いものは特異 IgG4 抗体も高い傾向にあった (Fig. 6)。

考 案

気管支喘息をはじめとするアトピー性疾患においては IgE 抗体がその症状発現に重要な役割を果たしているが、近年即時型アレルギー反応における IgG 抗体ならびに IgG4 抗体の役割が注目されている。従来 IgG 抗体ならびに IgG4 抗体価の測定にあたってはポリクローナルな抗体を用いて測定されてきたが、今回我々はモノクローナル抗ヒト IgG 抗体ならびに IgG4 抗体を用いた ELISA 法にて Dp の特異的 IgG 抗体ならびに OA 特異的 IgG 抗体、IgG4 抗体を測定した。それぞれのモノクローナル抗体の基礎的検討は既に報告されている⁹⁾¹⁰⁾。

アトピー性疾患は IgE 抗体による即時型アレルギー反応がその病態上重要な役割を果たす疾患群であり、気管支喘息、花粉症、昆虫アレルギー、食物アレルギー、蕁麻疹などが含まれる。これらの疾患における IgG4 抗体の役割については種々の報告があるが、アトピー型気管支喘息に関してはその治療法の 1 つである減感作療法により IgG4 抗体が上昇することが知られており、花粉¹¹⁾¹²⁾、ダニ抗原³⁾による減感作療法との関係についての報告がある。中川はダニ抗原に過敏な気管支喘息患者に減感作療法を施行し、抗原特異的 IgG4 抗体は増加し、IgE 抗体は逆に低下するという³⁾。

アレルギー吸入誘発試験と IgG4 抗体の関係については、Gwynn ら¹³⁾は血清中に IgG4 抗体のみが証明された例では遅発反応が誘発されたと報告しているが、中川ら¹⁴⁾は IgG4 抗体の存在は必ずしも遅発型反応の発現には関与しないという。

食物アレルギーと IgG4 抗体に関して Parish は牛乳アレルギーの症例に IgE 抗体とは異なる皮膚感作抗体として short-term anaphylactic IgG antibody の存在を証明し、IgG4 抗体との関連を提唱している¹⁵⁾¹⁶⁾。Perelmutter は牛乳アレルギーを呈した小児 12 例のうち、9 人には IgE 抗体は証明されず IgG4 抗体のみが存在したという¹⁷⁾。このように食物抗原によりアナフィラキシー症状を呈する症例において、IgE 抗体が証明されず IgG4 抗体のみが証明される場合、

IgG4 抗体はアレルギー反応を惹起する方向に働く可能性が示唆されている。

即時型反応を呈する症例について IgG4 抗体がどのような役割を担うか推定することは困難ではあるが、今回我々の成績において、OA に対する IgG4 抗体が卵アレルギーを有する小児だけでなく、卵アレルギーを有さないアトピー性疾患、また健康小児においても同様に高率に存在するところから、IgG4 抗体が阻止抗体として働く可能性も考えられる。正常成人において食物アレルギーに対する IgG4 抗体が高率に存在するという報告もあり¹⁸⁾、おそらく食物抗原のように多量に生体に摂取される場合、IgG4 抗体が阻止抗体としてアレルギー反応を抑制するものと推定される。

結 語

アトピー性疾患において Dp に対する特異 IgE、IgG 抗体ならびに OA に対する特異 IgE、IgG、IgG4 抗体の関係について検討した。小児アトピー性疾患において Dp に対する特異 IgG 抗体は健康小児に比し有意に高値を示した。IgG 抗体価の高いものは IgE 抗体価も高い傾向にあった。

卵アレルギーの症例については OA に対する特異 IgE 抗体、IgG 抗体が健康小児に比し有意に高値を示した。特異 IgG4 抗体に関しては卵アレルギーを有する症例、有さないアトピー性疾患、健康小児の 3 群に差はみられなかった。

本稿の要旨は第88回日本小児科学会総会(札幌, 1985年)ならびに第35回日本アレルギー学会総会(前橋, 1985年)において発表した。

文 献

- 1) Foucard, T.: A follow-up study of children with asthmatoïd bronchitis. I. Skin test reactions and IgE-antibodies to common allergens. *Acta Paediatr. Scand.* 62, 633-644, 1973.
- 2) Lichtenstein, L.M., Norman, P.S. and Winkler, W.L.: A single year of immunotherapy for ragweed hayfever. *Ann. Int. Med.* 75, 663-671, 1971.
- 3) Nakagawa, T., Takaishi, T., Sakamoto, Y., Ito,

- K., Miyamoto, T. and Skvaril, F.: IgG4 antibodies in patients with house-dust-mite sensitive bronchial asthma: Relationship with antigen specific immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 71, 122-125, 1983.
- 4) Dannaus, A., Johansson, S.G.O., Foucard, T. and Öhman, S.: Clinical and immunological aspects of food allergy in childhood. I. Estimation of IgG, IgA and IgE antibodies to food antigens in children with food allergy and atopic dermatitis. *Acta Paediatr. Scand.* 66, 31-37, 1977.
 - 5) 根本俊彦: protein A-Sepharose CL-4B による特異 IgG 抗体の測定. *アレルギー* 26, 793-802, 1977.
 - 6) 向山徳子, 岩崎栄作, 馬場 実, 林 義久, 有田昌彦: 卵アレルギー小児における卵白抗原, オバルブミン, オボムコイドの IgE 抗体ならびに IgG 抗体. *アレルギー* 31, 106-113, 1982.
 - 7) Engvall, E. and Perlmann, P.: Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.* 109, 129-135, 1972.
 - 8) 阿南貞雄, 赤星吉徳, 吉村正子, 牛島信雄, 吉田彦太郎, 松山俊文, 神田源太: アトピー性皮膚炎における enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いた抗ダニ (*Dermatophagoides farinae*) 抗体の測定—とくに IgG, IgG subclass および IgE 抗体について—. *アレルギー* 31, 244-251, 1982.
 - 9) 中川武正, 高石敏昭, 宮本昭正, 杉 正人, 石毛雅夫: モノクローナル抗ヒト IgG4 抗体の作製とその enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) への応用. *アレルギー* 34, 277-283, 1985.
 - 10) 細井 進: モノクローナル抗体による IgG RAST. *臨床免疫* 16, 489-499, 1984.
 - 11) Van der Giessen, M., Homan, W.L., van Kernebeck, G., Aalberse, R.C. and Dieges, P.H.: Subclass typing of IgG antibodies formed by grass pollen-allergic patients during immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 50, 625-640, 1976.
 - 12) Djurup, R. and Osterballe, O.: IgG subclass antibody response in grass pollen-allergic patients undergoing specific immunotherapy. Prognostic value of serum IgG subclass antibody levels early in immunotherapy. *Allergy* 39, 433-441, 1984.
 - 13) Gwynn, C.M., Ingram, J., Almosawi, T. and Stanworth, D.R.: Bronchial provocation tests in atopic patients with allergen-specific IgG4 antibodies. *Lancet* 1, 254-256, 1982.
 - 14) 中川武正, 中沢次夫, 小林節雄, 高石敏昭, 坂本芳雄, 宮本昭正: 遅延型気管支反応におけるアレルギー特異的 IgG4 抗体. *アレルギー* 33, 879-883, 1984.
 - 15) Parish, W.E.: Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet* 2, 591-592, 1970.
 - 16) Parish, W.E.: The clinical relevance of heat-stable, short-term sensitizing anaphylactic IgG antibodies (IgG S-TS) and of related activities of IgG4 and IgG2. *Br. J. Dermatol.* 105, 223-231, 1981.
 - 17) Perelmutter, L.: IgG4; non-IgE mediated atopic disease. *Ann. Allergy* 52, 64-68, 1984.

SPECIFIC ANTIBODIES OF IgE, IgG AND IgG4 TO *DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS* AND OVALBUMIN IN ATOPIC CHILDREN

Tokuko Mukoyama, Kunio Ichikawa and Minoru Baba

Department of Pediatrics, Fraternity Memorial Hospital

Takemasa Nakagawa and Terumasa Miyamoto

Department of Medicine and Physical Therapy, School of Medicine, University of Tokyo

Specific antibodies of IgE, IgG to *Dermatophagoides pteronyssinus* and IgE, IgG and IgG4 antibodies to ovalbumin in atopic children were evaluated by ELISA. IgG antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* were elevated in atopic children. IgG antibodies seemed to be correlated to IgE antibodies.

IgG and IgG4 antibodies to ovalbumin were detected in children with egg allergy. IgG4 antibodies to ovalbumin were also detected in healthy children.