

〔速 報〕

スギ花粉症免疫療法での HRT シオノギキットによる 好塩基球ヒスタミン遊離率の変化

1)三重大学医学部耳鼻咽喉科教室, 2)シオノギ製薬株式会社, 3)鈴鹿回生総合病院

湯田厚司¹⁾ 西村真治²⁾ 坂倉康夫³⁾ 間島雄一¹⁾

アレルギー性鼻炎の免疫療法を評価する検査法として HRT シオノギキットによる好塩基球ヒスタミン遊離の変化を検討した。対象は、2001 年に標準化スギ花粉エキス（鳥居薬品製）で免疫療法を開始した 12 歳から 64 歳のスギ花粉症患者 9 名（男性 3 名、女性 6 名）である。免疫療法開始前および維持濃度到達の直後にあたる開始約 6 カ月後の 12 月に採血し、好塩基球ヒスタミン遊離率を測定した。その結果、全例で好塩基球ヒスタミン遊離率が低下し、その平均でも 3, 30 または 300ng/ml のスギ花粉刺激で有意に低下した ($p < 0.05$)。これらの結果より、好塩基球ヒスタミン遊離率の変化はスギ花粉免疫療法を評価する一般検査法として、治療のモニタリングに使用できる可能性が示唆された。また、HRT シオノギキットは血清非存在下での好塩基球ヒスタミン遊離を指標とした検査法であり、これまで考えられているリンパ球や血清による免疫療法の作用機序と異なる機序にも発展しうると思われる。

Key words : basophil — cedar pollinosis — histamine release — HRT shionogi — immunotherapy

通年性アレルギー性鼻炎やスギ花粉症の治療に免疫療法が有効であるが、その機序については未だ充分に解明されていない¹⁾²⁾。免疫療法の有効性は自覚症状の改善より評価されており、本邦では免疫療法の偽薬との二重盲検法での報告はない。倫理的見地から今後の新しい二重盲検法での報告は期待しがたく、臨床検査データでの有効性の証明が望まれる¹⁾。特に、免疫療法の効果の客観的データとともに、免疫療法の効果の予測が可能であれば患者の負担軽減につながる。また、それらの検査法が一般臨床で容易におこなえる検査法であれば、さらに利用価値が高い。

今回、スギ花粉症を対象にヒスタミン遊離試験キット (HRT シオノギ)³⁾⁴⁾を用いて好塩基球ヒスタミン

遊離率を測定し、免疫療法による変化を検討した。

方 法

2001 年のスギ花粉飛散後より免疫療法を開始した中等症以上のスギ花粉症患者 9 名で検討した。患者は 12 歳から 64 歳（平均 40 ± 17 歳）男性 3 名、女性 6 名である。ハウスダスト抗原陽性例が 1 例含まれるが、鼻症状はなく、検討時にイネ科花粉症などの鼻症状を来す症例は含まれていない。また、喘息やアトピー性皮膚炎例も含まれていない。免疫療法は標準化スギ花粉エキス（鳥居薬品製）を用い、2001 年 6 月または 7 月より閾値の 10 倍希釈濃度より 50% から 100% 増量法で週 1 回皮下注射した。免疫療法開始前および開始約 6 カ月後の 12 月に採血し、HRT シオノギキットを用いて好塩基球のヒスタミン遊離を測定した。本キットの原理の特徴は抗白血球抗体固相化磁性粒子で全血検体から細胞を分離することにより血清非存在下で反応を行える。分離された細胞は好塩基球と単球を多く含み、少量のリンパ球と好酸球を含むが、好塩基球以外の細胞はヒスタミン遊離に影響しないことが確認さ

Received : May 17, 2002

Accepted : July 19, 2002

Abbreviations : HRT histamine release test ; IFN interferon ; IgG immunoglobulin G ; IL interleukin ; JAU Japanese antigen unit ; Th 1 T helper cell type 1 ; Th 2 T helper cell type 2

湯田厚司 : 三重大学医学部耳鼻咽喉科〔三重県津市江戸橋 2-174〕

E-mail : yuta-a@clin.medic.mie-u.ac.jp

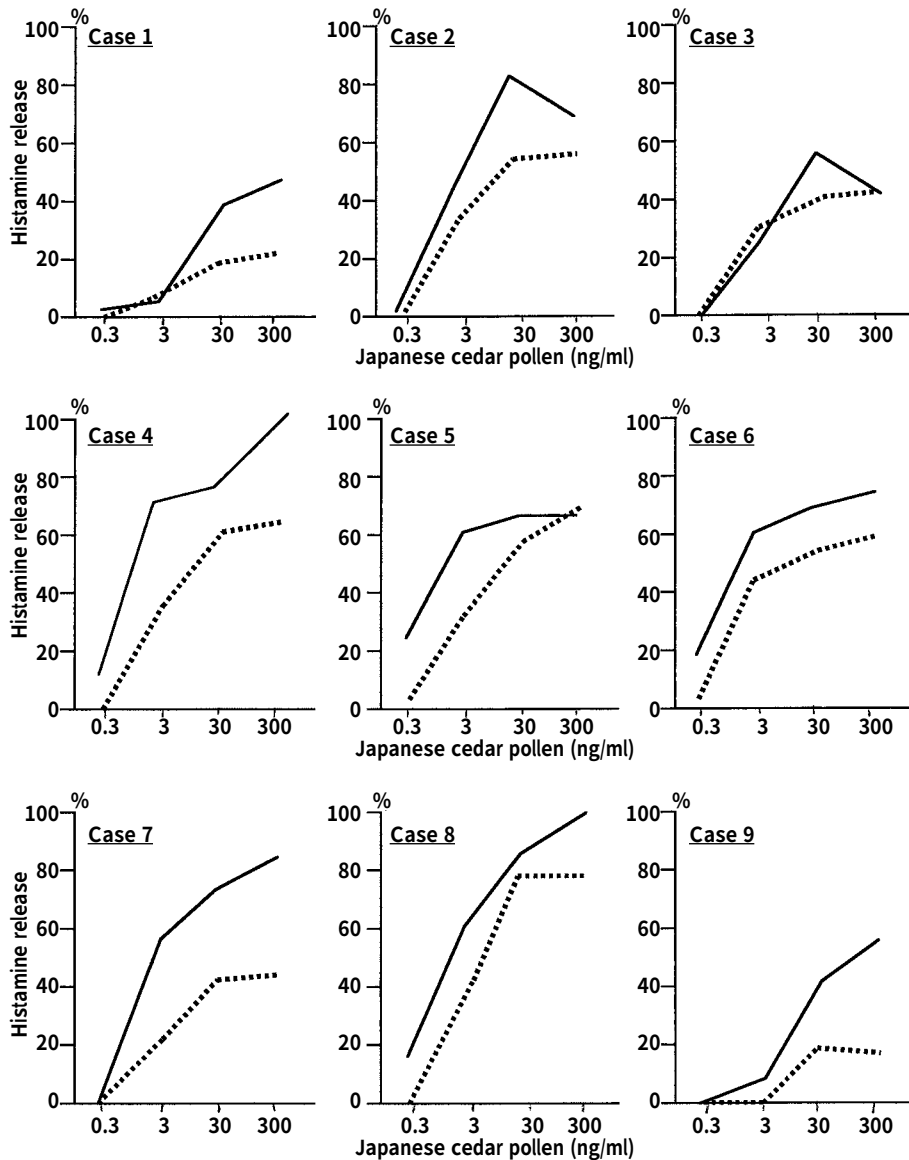


Fig. 1. Changes in histamine release by antigen before and after immunotherapy in all 9 cases. Percentage of histamine release after immunotherapy (dashed line) was suppressed compared with that before immunotherapy (solid line) in all cases.

れている。分離細胞をアレルゲン溶液に浸漬し、ヒスタミンを遊離させ、酵素免疫測定法で遊離ヒスタミン量を測定する。同時にジギトニンで細胞膜を破壊して好塩基球含有総ヒスタミン量を測定し、ヒスタミン遊離率を算出する。

結 果

全例で約6ヵ月後の12月に標準化スギ花粉エキス濃度が維持濃度に達していた。維持濃度は200JAU/ml×0.1mlが5名、2000JAU/ml×0.1mlが2名、2000JAU/ml×0.2mlが2名であった。

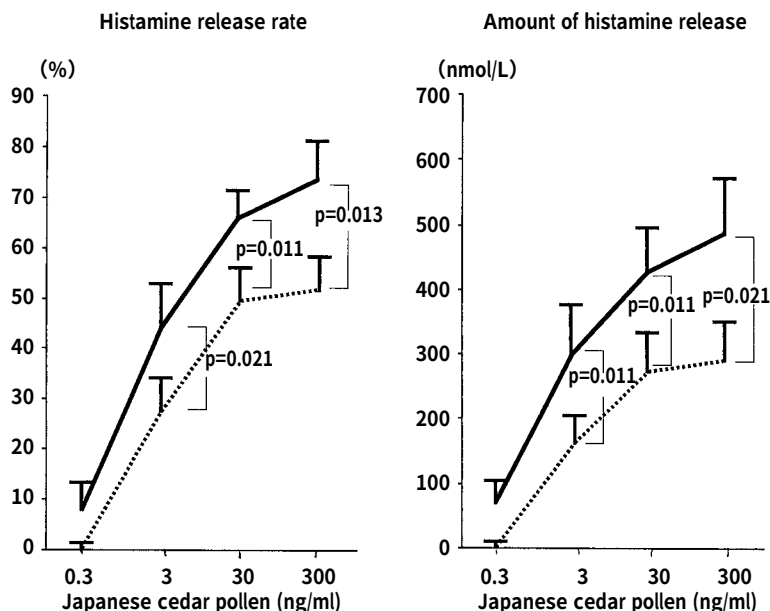


Fig. 2. Histamine release rate and amount of histamine release (mean $\pm$ S. E.) before and after immunotherapy. Histamine release after immunotherapy (dashed line) was significantly suppressed compared with that before immunotherapy (solid line). Statistical analysis was performed by a two-tailed Wilcoxon single rank test (paired, nonparametric analysis).

各症例の免疫療法開始前および免疫療法開始約6ヵ月後の好塩基球ヒスタミン遊離率の変化をFig. 1に示した。すべての例でヒスタミン遊離率が免疫療法施行開始6ヵ月後に低下していた。9例の平均 (Fig. 2) でもヒスタミン遊離率は、スギ花粉蛋白濃度3, 30, 300 ng/mlの抗原刺激で有意に低下していた。HRT シオノギキットの結果はヒスタミン遊離率をもって判定するが、抗原刺激によるヒスタミン遊離量もあわせてFig. 2に示した。ヒスタミン遊離量もスギ花粉蛋白濃度3, 30, 300 ng/mlの抗原刺激で有意に低下していた。

考 察

ヒスタミン遊離試験は、抗原抗体反応により好塩基球から遊離するヒスタミンを定量する検査法である。本邦での市販検査キットは、2000年に発売されたHRT シオノギ³⁾⁴⁾のみとなった。現在、吸入系と食物系の2種類が市販され、スギ花粉症での診断価値も高い⁵⁾。

著者らは、本キットが実地臨床に反映するモニタリング検査法として有用か否かを主眼に検討してきた。免疫療法を施行していくなかでその効果を患者に説明することは大切であるが、患者の自覚症状の改善をもって効果の程度が説明されるのが現状で、何らかの客観的検査法による評価が求められていた¹⁾。大橋ら⁶⁾は、免疫療法の効果に末梢血の単核球を分離し、抗原刺激によるIL-4, IL-5, IFN- γ 産生能での評価が有用であると報告している。研究面では治療評価として有用であるが、手技的にも価格的にもどの施設でも行えるものではなく、より簡便な方法が望まれる。この点、本キットによるヒスタミン遊離試験は保険適応のある一般検査法であり、容易に施行しうる。

免疫療法の奏功機序としてTh1型とTh2型のリンパ球比率が変化する説が有力である⁷⁾。特に、Th2型サイトカインの検討は多いが、今回著者らは好塩基球からのヒスタミン遊離による検討を行っており、リンパ球での応答は関与しない。好塩基球からのヒスタミン遊離がどのような機序で抑制されるのかは不明であり、今後の課題であるが、これまでの免疫療法に対す

るリンパ球を中心とした機序の検討とは異なり、新たな作用機序にも発展しようと思われ、興味深い結果であった。

免疫療法を行うと遮断抗体である IgG4 が高値になるとされている⁸⁾。しかし、IgG4 が高値となる例での臨床症状の改善との間には関連がなく、免疫療法における IgG4 の意義は明確ではない。HRT シオノギキットでは、非血清存在下に測定するため IgG4 の影響はうけない。技術的な問題もあるが、本キットを改良し、測定中に血清を加えることにより IgG4 の影響を検討しようとする。

今回のヒスタミン遊離率の抑制程度とスギ花粉飛散期の臨床効果の相関を検討すれば、免疫療法の効果のモニタリングや治療効果の予測に使用できる可能性があると考えられる。今後は、対象症例のスギ花粉飛散期の症状を追跡調査し、症例を増やししながら、これらを解明していきたい。

まとめ

免疫療法を評価する検査法として HRT シオノギキットによる好塩基球ヒスタミン遊離を検討した。免疫療法を行ったスギ花粉症の 9 名で、免疫療法開始前と開始約 6 カ月後で検討した。HRT シオノギによる好塩基球ヒスタミン遊離率は全例で免疫療法施行開始 6 カ月後に低下し、その平均でも有意に低下した。これらの結果より、好塩基球ヒスタミン遊離はスギ花粉免疫療法を評価する一般検査法として、治療のモニタリングに使用できる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 竹内万彦, 岸岡睦子, 湯田厚司, 坂倉康夫, 増田佐和子, 他: 通年性アレルギー性鼻炎に対する免疫療法の治療成績とその評価. アレルギー **49**, 627-633, 2000.
- 2) 鵜飼幸太郎, 雨皿 亮, 増田佐和子, 中本節夫, 大川親久, 他: 鼻アレルギー減感作療法の治療成績とその客観的評価 第 2 編 スギ花粉症. アレルギー **43**, 101-105, 1994.
- 3) Nishi, H., Nishimura, S., Higashiura, M., Ikeya, N., Ohta, H., et al.: A new method for histamine release from purified peripheral blood basophils using monoclonal antibody-coated magnetic beads. *J. Immunol. Method* **240**, 39-46, 2000.
- 4) 西村真治, 西村将司: 新しいヒスタミン遊離試験キット「HRT シオノギ」. アレルギーの臨床 **21**, 301-304, 2001.
- 5) 湯田厚司, 岡本耕典, 大津和弥, 岸岡睦子, 間島雄一, 他: スギ花粉症における HRT シオノギ(ヒスタミン遊離試験)の臨床的有用性の検討. アレルギーの臨床 **21**, 305-310, 2001.
- 6) 大橋淑宏, 鷲尾有司, 中井義紀: 免疫療法—そのメカニズムと治療への可能性—. *Progress in Medicine* **20**, 2469-2473, 2000.
- 7) Akoum, H., Tsicopoulos, A., Vorng, H., Wallaert, B., Dessaint, J.P., et al.: Venom immunotherapy modulates interleukin-4 and interferon-gamma messenger RNA expression of peripheral T lymphocytes. *Immunology* **87**, 593-598, 1996.
- 8) 鵜飼幸太郎, 雨皿 亮, 増田佐和子, 中本節夫, 大川親久: 鼻アレルギー減感作療法の治療成績とその客観的評価 第 1 編 ハウスダスト・ダニアレルギー. アレルギー **43**, 16-21, 1994.

CHANGES OF HISTAMINE RELEASE RATE FROM BASOPHILS MEASURED
BY HRT SHIONOGI KIT IN IMMUNOTHERAPY FOR CEDAR POLLINOSISAtsushi Yuta¹⁾, Shinji Nishimura²⁾, Yasuo Sakakura³⁾ and Yuichi Majima¹⁾¹⁾*Department of Otorhinolaryngology, Mie University School of Medicine*²⁾*Shionogi Company*³⁾*Suzuka Kaisei General Hospital*

We studied changes in histamine release from basophil measured by HRT Shionogi kit as laboratory procedure to evaluate immunotherapy of allergic rhinitis. Nine cedar pollinosis patients (ages 12-64 yrs, 3 male and 6 female) that started immunotherapy with standardized cedar pollen extract (Torii Co) in 2001 were evaluated. Histamine release rate was measured before immunotherapy and at 6 months after starting immunotherapy. As a result, the histamine release rate after immunotherapy was suppressed in all cases. The average of histamine release rate was significantly decreased by the stimulation at 3, 30 and 300 ng/ml with cedar pollen antigen ($p < 0.05$). These data suggested that the measurement of histamine release rate was usable for evaluating the efficacy of immunotherapy, and it has a possibility for monitoring in immunotherapy. In addition, a new different mechanism that T lymphocyte or serum does not concern can be considerable, because the procedure by HRT Shionogi kit is measured from basophils at the condition without serum.
