

コナヒョウヒダニ虫体および排泄物に対する IgE, IgG₁, IgG₄抗体に関する研究

広島大学医学部第2内科

安松義晃

コナヒョウヒダニ (Df) 虫体 (Dfb) および排泄物 (Dff) に対する血清 IgE, IgG₁, IgG₄抗体を気管支喘息患者 (AP) 群 33例, 対照健常者 (HCS) 群 27例, ハウスダスト皮内反応陽性であるが臨床上何らアレルギー性疾患を持たない健常者 (HS-MA) 群21例を対象に ELISA 法で定量した. RIST 法による血清総 IgE, CAP system による Df 特異的 IgE の測定も併せて行った. IgE に関しては, ELISA, RIST, CAP system のいずれの検討でも AP 群, HS-MA 群, HCS 群の順に高く 3 群間に有意差を認めた. IgG₁, IgG₄は AP 群で他 2 群に比し高値をとったが, HS-MA 群と HCS 群との間には有意差を認めなかった. 抗 Dfb 抗体価と抗 Dff 抗体価の間には高い相関性が認められた. また, ELISA での IgE, IgG₁, IgG₄の 3 抗体価の間にも高い相関性が認められた. CAP system による Df 特異的 IgE 抗体価と, ELISA による測定結果が一致しない例が見られ, 両者の特性の違いが指摘された. AP 群では CAP system と ELISA の測定結果が一致する例が多かったのに対し, HS-MA 群で CAP system では陽性を示しながら ELISA で陰性を示す例が多かった.

Key words: bronchial asthma — *Dermatophagoides farinae* — IgE — IgG₁ — IgG₄

緒言

アトピー型気管支喘息においては, ハウスダストは最も重要なアレルゲンである. 今日では, ダニがハウスダストの中で, 最も重要なアレルゲンであることは, 大方の研究者が認めている. また室内塵中のダニはヤケヒョウヒダニ (*Dermatophagoides pteronyssinus*, Dp), コナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*, Df) が多く, この両者でダニ総数の70~80%を占めるのが通例である¹⁾²⁾.

また, その両者間には共通する抗原があること³⁾⁴⁾, ダニ虫体のみでなく, ダニ排泄物もアレルゲンとして重要であること^{5)~8)}, 生活環境内ではダニ虫体由来抗原よりもダニ排泄物由来抗原の方がより多く存在する

こと⁹⁾, 虫体由来抗原と排泄物由来抗原の間には共通する抗原が存在すること⁶⁾¹⁰⁾がこれまでの研究によって明らかにされている.

Haida らは1985年にダニアレルゲンが少なくとも4種類以上存在することを確認し, Me1, Me2, Me3, Me4と命名した. また, その中の Me1を major allergen とし, Me2を second major allergen とした¹¹⁾. Me1, Me2はそれぞれ現在 Der f II, Der f I と改称されている.

アレルギー反応は, 主として IgE 抗体に依存するとされているが, 遮断抗体¹²⁾や遅発型喘息反応の原因抗体¹³⁾¹⁴⁾として IgG 抗体についても, 様々なタイプのアレルギー反応への関与が報告されている. また, 臨床面では, 健常者が, ダニアレルギーマーカーであるハウスダスト (HD) 皮内反応に対して陽性を示す例はしばしば経験するところである.

そこで本研究においては, CAP system で用いられている Df 抗原のほかに, 新たに Df 飼育物から調製したダニ虫体抗原 (Dfb) 及び排泄物 (Dff) も標的抗原とし, HD 皮内反応陽性者群中の気管支喘息患者群と健常者群について, 血清中の特異 IgE 並びに IgG サブクラスに関する抗体構成の差異を検討した.

Received: December 8, 1992

Accepted: March 3, 1993

Abbreviations: AP asthmatic patients; Df *Dermatophagoides farinae*; Dfb bodily extract of *Dermatophagoides farinae*; Dff fecal extract of *Dermatophagoides farinae*; Dp *Dermatophagoides pteronyssinus*; ELISA enzyme linked immunosorbent assay; HCS healthy control subjects; HD house dust; HS-MA healthy subjects with mite allergy

対象と方法

1) 対象

本研究では、Table 1に示すように、①気管支喘息患者で、HD 皮内反応陽性の症例群 (AP 群)、② HD 皮内反応陽性であるが、臨床的にはアレルギー性疾患の認められない健常者群 (HS-MA 群)、及び、③ HD 皮内反応陰性で、臨床的にもアレルギー性疾患の認められない健常者群 (HCS 群) の 3 群を対象とした。各症例の年齢は20歳から50歳である。なお、皮内反応の判定には、石崎¹⁵⁾の判定基準を用いた。

AP 群での、CAP system による Df 特異的 IgE の検討では、33例中25例が陽性 ($\geq$ class 2) を示し、8 例は陰性 ($\leq$ class 1) であった。病型は27例がアトピー型、6 例が混合型であった。

また、HS-MA 群は、問診により、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、薬物アレルギー、食物アレルギーなどの I 型アレルギー反応関連疾患の病歴、並びに膠原病など免疫学的異常に基づく疾患の病歴を有さない健常者群から、HD 皮内反応陽性の症例を抽出した。また、気管支喘息の潜在をより完全に否定するために気道過敏性検査を全例に行った。病歴聴取、皮内反応の段階では23例の対象を得たが、そのうち2例はアセチルコリン吸入誘発試験での閾値が10000 μ g/ml 未満と、気道過敏性の存在が示唆されたために除外し、21例を HS-MA 群症例として採

用した。

上記 3 群間に年齢、男女比における有意差は認められなかった。

血清の採取は、全例、皮内反応と同日に行った。採取した血清の一部を SRL 社に依頼し Df 特異的 IgE を CAP system (Pharmacia 社製) を用いて測定し、当科で残りの血清を -20°C で凍結保存した後、Dfb および Dff 特異的 IgE 抗体、IgG₁ 抗体、IgG₄ 抗体を ELISA 法で定量した。

2) 抗原

本研究では、Df 飼育物から飽和食塩水/遠心分離法で分離した虫体画分の摩砕抽出物を透析、凍結乾燥してコナヒョウヒダニ虫体抗原 (Dfb) を得た。また、虫体分離後の全飼育物からの抽出物を透析、凍結乾燥してコナヒョウヒダニ排泄物抗原 (Dff) を得た。この Dfb と Dff の両抗原は、いずれも広島大学工学部醸酵工学科において分離調製され、同学科岡智教授より供与されたものである。

3) ELISA による測定方法

ELISA による測定では中田らの方法¹⁶⁾を参考にし、若干の修飾を加え、以下の方法で行った。全検体を duplicate で測定し、また、日を替えて再測定を行い、再現性を確認した。

Dfb および Dff に対する特異的 IgE 抗体の定量にあたっては、それぞれ PBS で 0.1mg/ml の濃度に溶解した後、ELISA プレート (Nunc, Immunoplate II) に

Table 1 Subjects

			AP		HS-MA		HCS	
Number of cases			33		21		27	
Sex	Male		21		12		17	
	Female		12		9		10	
Age (mean±SE)			33.2±1.6		29.8±1.4		32.1±1.3	
House dust skin test		+	33		21		0	
		—	0		0		27	
IgE against Df (CAP system)	Class	5	6	25 positive cases	0	10 positive cases	0	0 positive cases
		4	9		2		0	
		3	8		3		0	
		2	2		5		0	
		1	2	8 negative cases	1	11 negative cases	0	27 negative cases
		0	6		10		27	

AP: asthmatic patients. HS-MA: healthy subjects with mite allergy. HCS: healthy control subjects. Df: *Dermatophagoides farinae*.

100 μ l 注入し、室温で1時間インキュベートし、コーティングを行った。洗浄後、1% PBS-BSA を150 μ l 加え、4℃で overnight のインキュベートを行い、ブロッキングした。洗浄後、1% PBS-BSA で10倍希釈した血清を100 μ l 加え、室温で1時間インキュベートした。blank とする well には同量の 1% PBS-BSA を加えた。洗浄後、第一抗体としてヤギ抗ヒト IgE 抗体 (Biomakor, #1030, 1:5000) を100 μ l 加え、室温で1時間インキュベートした。洗浄後、第二抗体として、ペルオキシダーゼ標識ウサギ抗ヤギ IgG 抗体 (Cappel, #3606-0082, 1:5000) を100 μ l 加え、室温で1時間インキュベートした。洗浄後、反応基質 (0.034% H₂O₂ を加えた 0.1% orthophenylene diamine 溶液) を加え、18分後、反応を停止し吸光度を測定した (測定波長492 nm)。各操作間の洗浄は、0.05% PBS-Tween を用い、3回ずつ行った。

Dfb および Dff 特異的 IgG₁, IgG₄ についても上記の方法に準じた方法で測定した。

IgG₁, IgG₄ 抗体の測定でも、検体の希釈倍率は10倍とし、第一抗体はそれぞれ、マウス抗ヒト IgG₁ モノクローナル抗体 (Zymed, #05-3301, 1:4000), マウス抗ヒト IgG₄ モノクローナル抗体 (Zymed, #05-3801, 1:4000) を用いた。第二抗体は、いずれもペルオキシダーゼ標識ラット抗マウス IgG モノクローナル抗体 (Zymed, #04-6020, 1:2000) を用いた。

抗体価の定量にあたっては、Df 特異的 IgE class 3 以上の強陽性患者13例の血清を混合したプール血清をスタンダードとして用いた。この血清を検体と同じく10倍に希釈した溶液を抗体価1、これを更に2倍に希釈したものを抗体価0.5とし、以下順次200倍希釈 (抗体価0.005) まで希釈した。これらの既知抗体価溶液の吸光度をプロットし、検量曲線を作成し、各検体の抗体価を測定した。

各測定系のバックグラウンドは IgE 測定系で0.2から0.3であった。IgG₁ 及び IgG₄ 測定系では0.1から0.15であった。

測定限界は最小が0.01, 最大が2.0であった。

以上の結果は再現性を持って認められた。

また、測定限界を越える値に対してはすべて同一の値として取り扱った。

4) 判定

IgE 抗体については、各検体の抗体価を以下の方法で、陽性、陰性の判定を行った。

判定基準値は HCS 群の値をもとに算出した。まず、

HCS 群の、各測定値の常用対数値を求め、この対数値での mean+2SD となる値を cut-off 値とした¹⁷⁾。

5) 検定

測定値の比較はすべて Wilcoxon 検定を用いて検定し、頻度の検定は χ^2 検定を用いて行った。ただし、症例数が4以下となるグループが一つでも存在する場合は Fisher の直接確率によって検討を行った。有意性の判定にあたっては、危険率5%以下をもって有意と判定した。

6) 測定値の表示法

本研究での1変量表示は、boxplot¹⁸⁾を用いた。これは、平均や分散、標準偏差といった古典的な表示法では観測値の平均的トレンドからかけ離れた値の影響を強く受けやすいので、明らかな正規分布をとるもの以外では観測値を代表させる値としては好ましくないからである。boxplot の有用性は観測値の分布を視覚的に無理なく要約表現できることである。

具体的な表示方法は“箱ひげ図”を用いた。これは、中央値 (median) を中心に25%タイル値を下縁 (lower hinge), 75%タイルを上縁 (upper hinge) とする長方形 (箱) を表示する。さらに、75%タイル値と25%タイル値の差を1.5倍ずつ、箱の両側に延ばした点を内境界点 (inner fence) と呼び、内境界点の内側にあって、内境界点に最も近い値まで“ひげ”を延ばし図中に表示した。

結 果

1) 血清総 IgE 値, Df 特異的 IgE 値

AP, HS-MA, 及び HCS の各症例群について、RIST 法により血清総 IgE 抗体価を、また CAP system により Df 特異的 IgE 抗体価を測定した。その結果、Fig. 1 に示すように、総 IgE 抗体価及び Df 特異的 IgE 抗体価、いずれの検討でも AP>HS-MA>HCS の順に有意に高値となることが明らかになった。

2) 抗 DfbIgE 抗体, 抗 DffIgE 抗体価

ELISA 法で測定した抗 DfbIgE 抗体価及び抗 DffIgE 抗体価も、Fig. 2 に示すように、AP>HS-MA>HCS の順に高値を示したが、AP 群と HS-MA 群の間の顕著な差異に比して、HS-MA 群と HCS 群の間の差異は軽微であった。

3) 抗 DfbIgE 抗体価と抗 DffIgE 抗体価の相関

Fig. 3 から判るように、本研究において対象とした

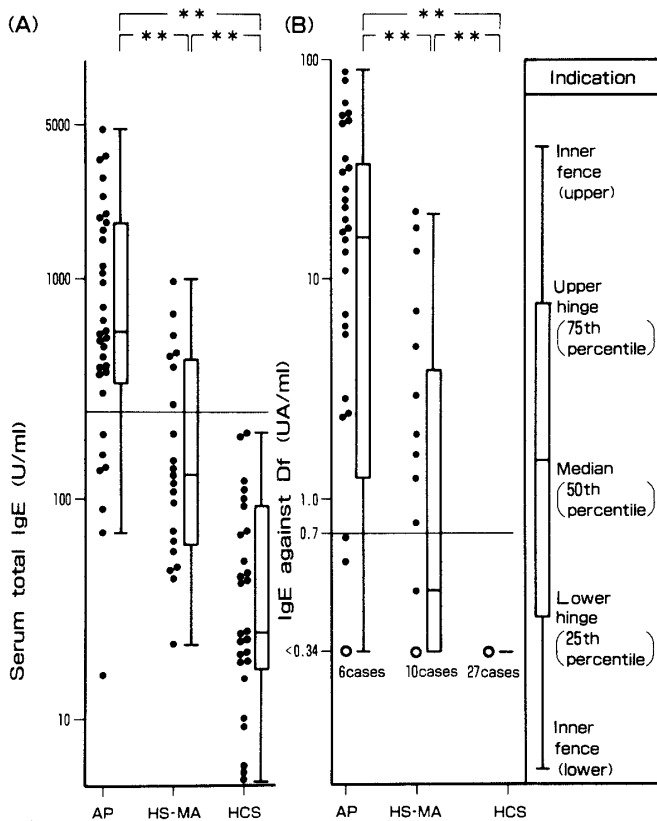


Fig. 1. Comparison of serum total IgE (A) and IgE against Df measured by CAP system (B).

** : $p < 0.01$. Solid line indicates the cut-off value of each system. Open circles indicate the cases with IgE against Df < 0.34 and the numbers of these cases were manifested under the open circles.

81例のうち54例(66.7%)が抗 DfbIgE 抗体, 抗 DffIgE 抗体ともに陰性で, どちらか一方が陽性となった例がそれぞれ4例(4.9%)であり, どちらも陽性であったのは19例(23.5%)であった。陰性例も含め, 抗 DfbIgE 抗体価と抗 DffIgE 抗体価は高い正の相関を認めた。

4) Dfb, Dff に対する IgG₁ 抗体, IgG₄ 抗体

上記3群の抗 DfbIgG₁ 抗体価, 抗 DffIgG₁ 抗体価を Fig. 4 に, 抗 DfbIgG₄ 抗体価, 抗 DffIgG₄ 抗体価を Fig. 5 に示す。いずれの測定系においても, AP 群で HS-MA 群及び HCS 群に比して有意に高値を示した。しかし, HS-MA 群と HCS 群の間には抗体価の有意差は検出されなかった。

5) ELISA で測定した各種抗体価の相関性

Table 2 に今回 ELISA で測定した各種抗体価の相関性を示す。いずれの検討においても高い相関性を認めた。

6) CAP system における Df 特異的 IgE 抗体陽性率

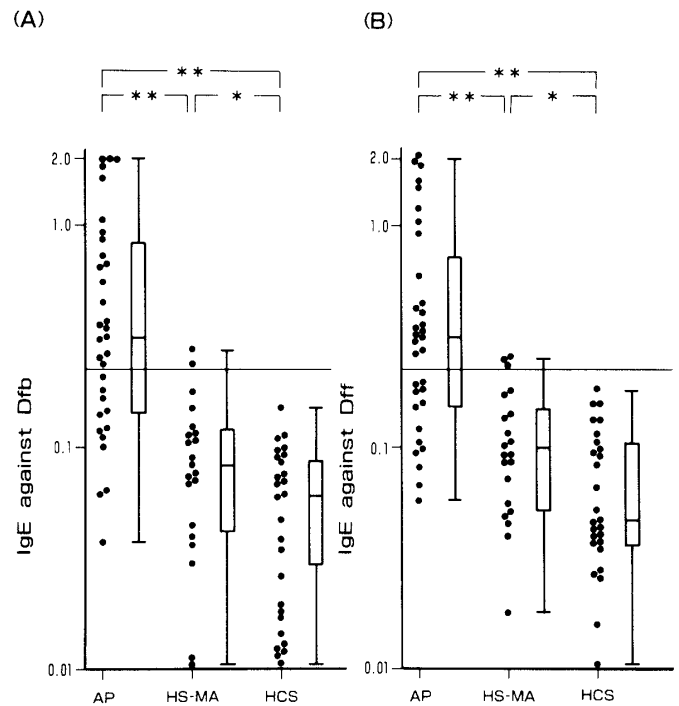


Fig. 2. Comparison of IgE against Dfb (A) and Dff (B) measured by ELISA. ** : $p < 0.01$. * : $p < 0.05$.

Solid line indicates the cut-off value of each system.

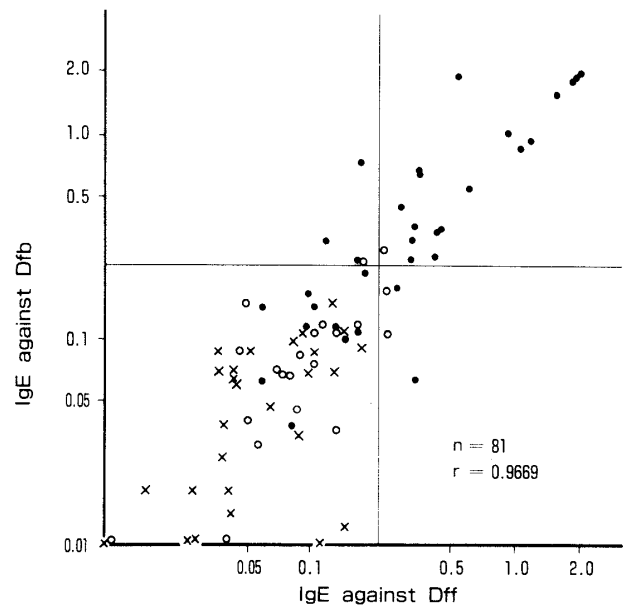


Fig. 3. Correlation between IgE against Dfb and Dff. ● : AP. ○ : HS-MA. × : HCS. Solid line indicates the cut-off value of each system.

と ELISA における抗 Dfb, 抗 DffIgE 抗体陽性率の比較および一致率

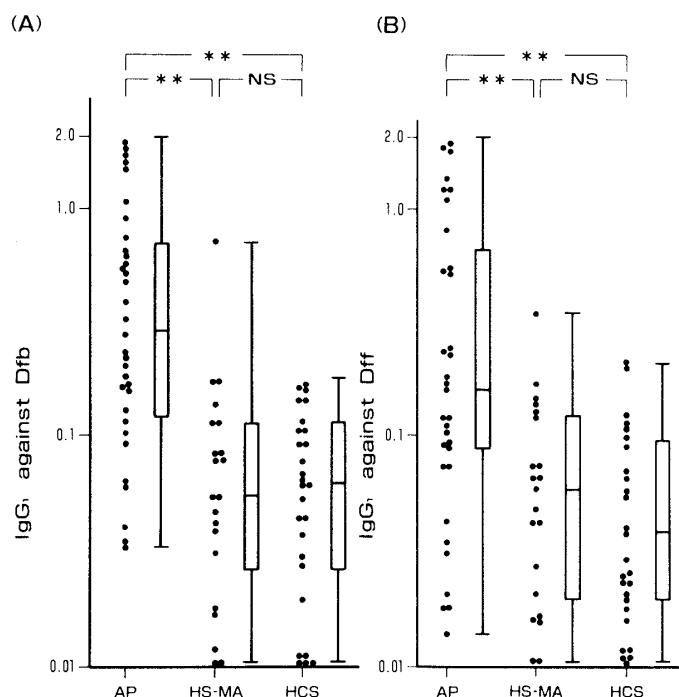


Fig. 4. Comparison of IgG₁ against Dfb (A) and Dff (B) measured by ELISA. **: $p < 0.01$. NS: not significant.

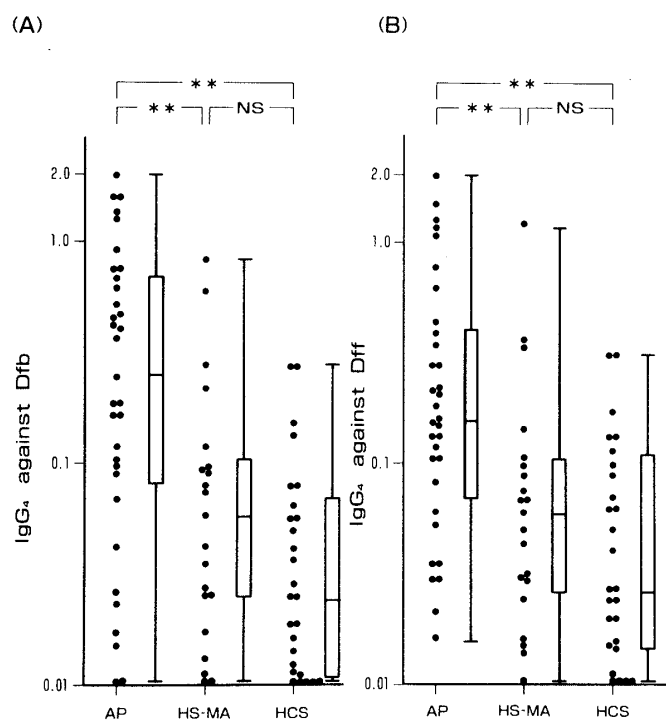


Fig. 5. Comparison of IgG₄ against Dfb (A) and Dff (B) measured by ELISA. **: $p < 0.01$. NS: not significant.

Table 3にAP群とHS-MA群での抗Dfb, 抗DffIgE抗体それぞれの陽性者数, 陰性者数をCAP

Table 2 Correlation between some antibodies

Object 1	Object 2	r =	p value
IgG ₁ against Dfb	IgG ₁ against Dff	0.9210	<0.01
IgG ₄ against Dfb	IgG ₄ against Dff	0.8256	<0.01
IgE against Dfb	IgG ₁ against Dfb	0.6076	<0.01
IgE against Dfb	IgG ₄ against Dfb	0.6630	<0.01
IgE against Dff	IgG ₁ against Dff	0.6258	<0.01
IgE against Dff	IgG ₄ against Dff	0.5623	<0.01
IgG ₁ against Dfb	IgG ₄ against Dfb	0.8632	<0.01
IgG ₁ against Dff	IgG ₄ against Dff	0.6876	<0.01

n=81

systemのクラス別に示す。

抗Dfb, DffIgE抗体いずれの測定系においても, HS-MA群ではAP群に比し陽性率は有意に低値であった。また, HCS群では, いずれの測定系においても全例陰性と判定された。

この結果, 全81例中46例がCAP systemにおけるDf特異的IgE抗体が陰性(class 0~1)でそのうちELISAにおける抗DfbIgE抗体陽性者は3例(6.5%), 陰性者は43例(93.5%)であった。一方, CAP systemで陽性(class 2以上)と判定された35例中, 抗DfbIgE抗体陽性者は20例(57.1%), 陰性者は15例(42.9%)であった。抗DffIgE抗体についても同様の検討を行ったが, CAP systemでの陰性者46例中, 抗DffIgE抗体陽性者は4例(8.7%), 陰性者は42例(91.3%)であり, CAP systemでの陽性者35例中抗DffIgE抗体陽性者は19例(54.3%), 陰性者は16例(45.7%)であった。

7) CAP systemとELISAの陽性検出率の比較

Table 4にAP群, HS-MA群における両測定法での陽性者数, 陰性者数を示す。AP群では, CAP systemとELISAで陽性検出率に有意差を認めなかった。これに対しHS-MA群では, 抗Dfb, 抗DffIgE抗体のいずれの測定系においても, ELISAはCAP systemに比し有意に陽性率が低かった。

8) AP群とHS-MA群でのCAP systemにおけるDf特異的IgE測定結果とELISAにおける抗Dfb, DffIgE抗体測定結果の一致率

Fig. 6にAP群とHS-MAでのCAP system及びELISAにおける陽性例の一致率を示す。この図から判るように, AP群ではCAP systemで陽性と判定された25例の内, ELISAで抗DfbIgE抗体陽性が19例

Table 3 Comparison between the decisions resulted from CAP system and ELISA

ELISA	CAP	IgE against Df measured by CAP system (class)						Total
		0	1	2	3	4	5	
IgE against Dfb positive : negative	AP	2 : 4	0 : 2	1 : 1	4 : 4	8 : 1	6 : 0	21 : 12(63.6%)
	HS-MA	1 : 9	0 : 1	0 : 5	0 : 3	1 : 1	Absent	2 : 19(9.5%)
	HCS	0 : 27	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	0 : 27(0 %)
	Total	3 : 40	0 : 3	1 : 6	4 : 7	9 : 2	6 : 0	23 : 58(28.4%)
IgE against Dff positive : negative	AP	2 : 4	0 : 2	2 : 0	4 : 4	7 : 2	5 : 1	20 : 13(60.6%)
	HS-MA	2 : 8	0 : 1	1 : 4	0 : 3	0 : 2	Absent	3 : 18(14.3%)
	HCS	0 : 27	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	0 : 27(0 %)
	Total	4 : 39	0 : 3	3 : 4	4 : 7	7 : 4	5 : 1	23 : 58(28.4%)

() : positive rate (%).

** : $p < 0.01$. NS : not significant.

Table 4 Comparison between results of CAP system and ELISA in asthmatic patients (A) and healthy subjects with mite allergy (B)

(A) Asthmatic patients			(B) Healthy subjects with mite allergy				
	Positive	Negative		Positive	Negative		
IgE against Df (CAP system)	25cases (75.8)	8	] NS] NS] NS	IgE against Df (CAP system)	10cases (47.6)	11	] *] NS
IgE against Dfb (ELISA)	21 (63.6)	12		IgE against Dfb (ELISA)	2 (9.5)	19	
IgE against Dff (ELISA)	20 (60.6)	13		IgE against Dff (ELISA)	3 (14.3)	18	

() : positive rate (%).

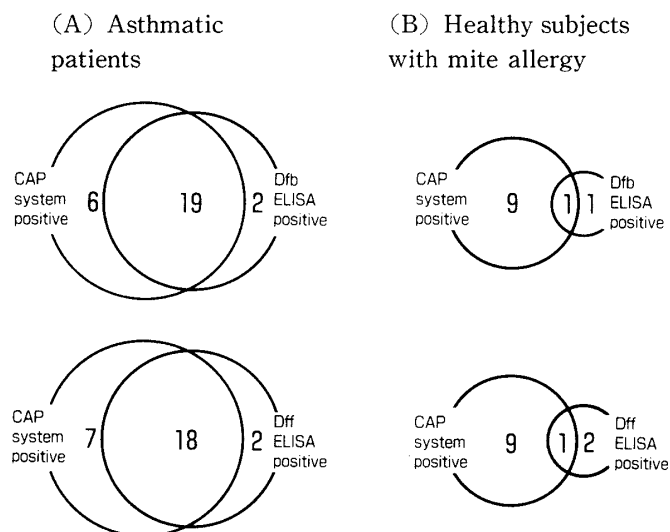
* : $p < 0.05$. NS : not significant.

Fig. 6. Coincidence of positive results between CAP system (IgE against Df) and ELISA (IgE against Dfb and Dff) in asthmatic patients (A) and healthy subjects with mite allergy (B).

(76%), 抗 DffIgE 抗体陽性が18例 (72%) であった。

これに対し、HS-MA 群では、CAP system で陽性と判定された10例の内、ELISA で抗 DfbIgE 抗体、抗 DffIgE 抗体が陽性と判定されたのはそれぞれ1例 (10%) のみであった。このように HS-MA 群では AP 群と比較して、CAP system では陽性でも、ELISA では陰性と判定される例が多く、両群間に有意差を認めた ($p < 0.01$).

考 察

これまでにダニアレルギーについては、ダニ虫体のみならず、ダニ排泄物もアレルゲンとして重要であること⁵⁾⁻⁸⁾、両者に共通するアレルゲンが存在すること⁶⁾¹⁰⁾などが明らかにされている。

健常者におけるハウスダスト皮内反応陽性率は石崎により1.8%と報告されているが¹⁵⁾, 健常者でのダニアレルギーについて報告しているものは最近ではほとんど見られない。

本研究の目的はハウスダスト皮内反応が陽性を示しながら健常者として生活しているものと、気管支喘息患者を比較し両者の差異を明らかにすることにより、気管支喘息患者のアレルギー学的特徴を把握することである。

1) AP 群, HS-MA 群における IgE 抗体の量的な差異に関する考察

AP 群と HS-MA 群では、血清総 IgE, CAP system による Df 特異的 IgE, ELISA による抗 Dfb, DffIgE 抗体のすべてで AP 群は HS-MA 群に比し高値を示し, IgE 抗体の量的な差が, 気管支喘息の発症に関与していると考えられた。

また, Carswell らは、湿疹患者と気管支喘息患者を比較すると、湿疹患者においては抗ダニ虫体 IgE 抗体/抗ダニ排泄物抗体比が高く、気管支喘息患者では、この比が低いと報告しており、ダニ排泄物は虫体に比べ粒子径が小さく吸入抗原としての存在意義が高いと述べている¹⁹⁾。そこで、著者は気管支喘息を発症した AP 群では、気管支喘息を発症していない HS-MA 群より、抗 DfbIgE 抗体価/抗 DffIgE 抗体価比が低いのではないかと考えたが、Fig. 7 に示すように AP, HS-MA 及び HCS の 3 群間で、抗 DfbIgE 抗体価/抗 DffIgE 抗体価比には有意差を認めず、この仮説は証明できなかった。

Dfb と Dff のアレルギー性について、Arlian らは Df 虫体は少なくとも14のアレルゲンを有し、Df 排泄物は少なくとも7つのアレルゲンを有し、また、排泄物の持つ7つのアレルゲンは、虫体の持つアレルゲンと共通するが、虫体には、虫体しか持たないアレルゲンが存在することを報告している³⁾。本研究の結果でも Fig. 3 で認められるように、抗 DfbIgE 抗体価と抗 DffIgE 抗体価は極めて高い正の相関を認め、両者に共通するアレルゲンが存在するのではないかと考えられる。

一方、抗 DfbIgE 抗体のみ陽性の例を全81例中4例、抗 DffIgE 抗体のみ陽性の例も全81例中4例認めた。既に、分子量約25000の group I アレルゲンはダニ排泄物に多く含まれ、分子量約14000の group II アレルゲンはダニ虫体に多く含まれることが解明されており²⁰⁾, また、両者間で構造上の homology, あるいは交

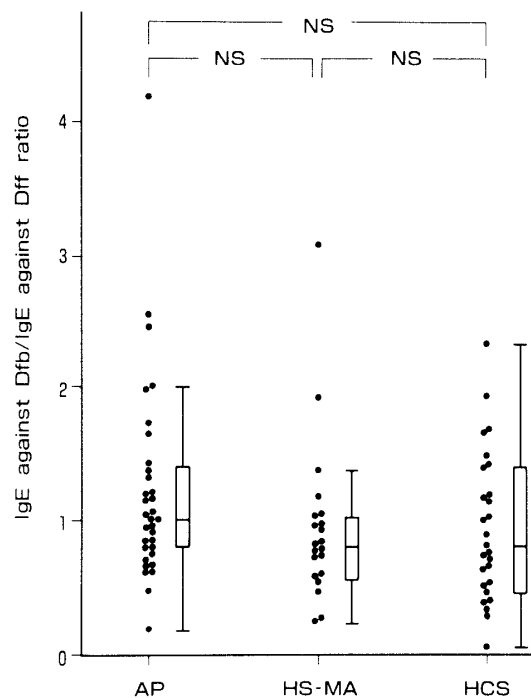


Fig. 7. Comparison of IgE against Dfb/IgE against Dff ratio. Both IgE antibodies were measured by ELISA. NS: not significant.

叉反応性は現在までのところ認められていない²¹⁾。これらの知見より抗 DfbIgE 抗体のみ陽性となった例では主に group II アレルゲンを、抗 DffIgE 抗体のみ陽性となった例では主に group I アレルゲンをアレルゲンとして認識しているものと考えた。

また、現在、減感作療法に用いられているのは、ハウスダスト粗抗原である。ハウスダスト中にはダニ虫体由来の抗原は僅かしか含まれず、ダニ排泄物由来抗原が多くを占める^{7,9)}。故に、抗 DfbIgE 抗体のみ高値を示す例に対しては、ハウスダスト粗抗原よりもダニ虫体抗原を用いて減感作療法を行うのが適切ではないかと考えられる。

2) IgG₁, IgG₄抗体に関する考察

Dfb, Dff に対する IgE 抗体と IgG 抗体の相関については、宮本らもダニ抗原に対する IgE と IgG₄抗体価は陽性一致率が高いことを報告している²²⁾。今回の結果でも IgE 抗体価と IgG₁, IgG₄抗体価の間には高い相関性を認めた。

IgG₁, IgG₄の存在意義については前述の緒言に記したような意見がある。同抗体を遮断抗体として考え、ハウスダスト減感作歴のない AP 症例 (21例) と、減感作歴1年以上の AP 症例 (12例) で抗体価を比較したが、Table 5 に示すように有意差を認めなかった。

Table 5 Comparison of asthmatic patients
with and without house dust
hyposensitization therapy

	Hyposensitization (-) n=21		Hyposensitization (+) n=12
IgG ₁ against Dfb	0.690 0.300 0.116	NS	1.085 0.392 0.153
IgG ₁ against Dff	0.560 0.240 0.076	NS	1.090 0.127 0.102
IgG ₄ against Dfb	0.490 0.370 0.096	NS	1.110 0.464 0.120
IgG ₄ against Dff	0.497 0.150 0.071	NS	0.321 0.163 0.080
75th percentile			
50th percentile			
25th percentile			

NS: not significant.

また、遅発型喘息反応が大きく関与すると思われる慢性型 AP 症例（13例）と発作型 AP 症例（20例）も比較したが有意差を認めなかった。

また、HS-MA 群では、Dfb に対しても Dff に対しても IgE 抗体は HCS 群に比し有意に高値であったが、IgG₁ 抗体、IgG₄ 抗体は HCS 群と比較しても有意な差を認めなかった。一方、AP 群では他 2 群と比較して IgG₁ 抗体、IgG₄ 抗体のいずれも有意に高値を示した。このことから考えると、気管支喘息の発症には IgG₁、IgG₄ 抗体の関与が必要ではないと考えられる。

3) CAP system と ELISA の差異に関する考察

ダニに対する IgE 抗体の測定において、CAP system と ELISA の比較に関する論文はみられないが、RAST と ELISA の比較については Bonetti ら²³⁾、石崎ら²⁴⁾が近年報告している。

Bonetti らはダニ抗原に対する RAST と ELISA の測定結果は高い相関性を示すと報告しているが、石崎らの報告では両者の相関性は低いとされている。CAP system は RAST を進化させた検査法と考えられるが測定原理は RAST 法とほぼ同じと考えてよいと思われる。

著者の検討では CAP system と ELISA の測定結果がともに陰性と一致する率は90%以上と高かったが、両者がともに陽性で一致する率は50から60%であっ

た。

両測定系の感度を検討すると、positive control とすべき AP 群での陽性検出率は Table 4, Fig. 6 に示すように CAP system の方が高く、同測定系の有用性の高さが示されたが、有意差を認める程ではなかった。よって、両者の感度の優劣により測定結果が一致しないとは考えにくい。

そこで、CAP system と ELISA の測定結果が陽性で一致する率が低い理由として、測定メカニズムの違いからくる特性の違いを考えた。CAP system と ELISA のメカニズムにおける最大の相違点は抗原の固相化であると考えられる。前者では、抗原は Ceska らの方法に準じ、ブロムシアンで活性化されたニトロセルローススポンジに化学的に結合するが²⁵⁾、後者ではプラスチックの ELISA プレートに物理的に結合する²⁶⁾。この固相化のちがいにより、抗原の吸着性は CAP system の方が高く、吸着する抗原量に大きな差があることが知られている²⁶⁾。

しかし、吸着する抗原の量的な差だけでは、ELISA でのみ陽性と検出される例の存在を説明できない。そこで、抗原の種類についても、CAP system では吸着できるが ELISA プレートには吸着されない抗原があり、その結果、固相化される抗原の組成に差を生じ、両者の特性に差が生まれたと推測した。他に、両測定系で使用した抗原、抗 IgE 抗体の違いも指摘できるが、4)に述べる AP 群と HS-MA 群での陽性一致率の違いをそれらでは説明できない。

4) CAP system 及び ELISA での AP 群、HS-MA 群の陽性検出率の差異に関する考察

ELISA での抗 Dfb, DffIgE 抗体の陽性率を検討すると、Table 3, Table 4 でみるように、HS-MA 群では、AP 群に比して、ELISA での抗 Dfb, DffIgE 抗体が陰性と判定される例が多い。

さらに、Fig. 6 で示したように HS-MA 群においては、CAP system では Df 特異的 IgE 抗体が陽性と判定されても、ELISA では陰性と判定される例が多いという特徴がみとめられた。

この理由を上述の CAP system と ELISA の特性の違いが正しいと仮定して考えると、AP 群には ELISA プレートに吸着される抗原に対する IgE 抗体を持つものが多く、HS-MA 群ではこれを持つものが少なく、CAP system には吸着できても ELISA プレートには吸着できない抗原に対する IgE 抗体を多く持つものと推測する。これらのことから、AP 群と HS-MA 群で

はアレルゲンとして認識する抗原が異なるものと考えた。中田ら¹⁶⁾は、気管支喘息患者血清ではダニ抗原の低分子フラクションに対する IgE 抗体が高値を示すと報告しているが、HS-MA 群では他のフラクションに対する IgE 抗体が中心となっている可能性もある。

結 論

気管支喘息を発症したダニアレルギー例と何らかのアレルギー性疾患を発症していないダニアレルギー例では、抗ダニ IgE, IgG₁, IgG₄ 抗体の量的な差を認め、前者でより高値であり、これらの抗体価の多寡が気管支喘息の発症に関与している可能性がある。更に、両者では、アレルゲンとして認識する抗原が異なっている可能性も示唆された。

本稿を終えるに臨み、御懇篤な御指導を賜った恩師山木戸道郎教授、ならびに、抗原の供与と実験指導を賜りました広島大学工学部醸酵工学科岡智教授、小埜和久助教授に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 石井 明：ダニ 1. 分類と生態。第 8 回六甲カンファレンス。吸入性抗原。メディカルトリビューン、東京、pp.71-93, 1988.
- 2) Maunsell, K., Wraith, D.G. and Cunningham, A. M.: Mites and house-dust allergy in bronchial asthma. *Lancet* 1, 1267-1268, 1968.
- 3) Arlian, L.G., Bernstein, I.L., Vyszanski-Moher, D.L. and Gallagher, J.S.: Investigation of culture medium-free house dust mites IV. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 467-476, 1987.
- 4) Voorhorst, R. and Spiekska, F.: Recent progress in the house dust mite problem. *Acta Allergol.* 24, 115-123, 1969.
- 5) Thompson, S.J. and Carswell, F.: The major allergen of house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, is synthesized and secreted into its alimentary canal. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 85, 312-315, 1988.
- 6) Arlian, L.G., Bernstein, I.L., Vyszanski-Moher, D.L. and Gallagher, J.S.: Antigenicity and allergenicity of body and fecal extracts of the mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J. Med. Entomol.* 24, 252-259, 1987.
- 7) Tovey, E.R., Chapman, M.D. and Platts-Mills, T.A.E.: Mite faeces, major source of house dust allergens. *Nature* 289, 592, 1981.
- 8) 伊藤 篤, 向井秀樹, 西岡 清：アトピー性皮膚炎患者のダニ貼付試験, 病理学的検討. 日皮会誌 100, 63-69, 1990.
- 9) 安枝 浩：ダニ 2. 抗原分析. 第 8 回六甲カンファレンス。吸入性抗原。メディカルトリビューン、東京、pp.94-109, 1988.
- 10) Arlian, L.G., Bernstein, I.L., Geis, D.P., Vyszanski-Moher, D.L., Gallagher, J.S. and Martin, B.: Investigation of culture medium-free house dust mites III. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 457-466, 1987.
- 11) Haida, M., Okudaira, H., Ogita, T., Ito, K., Miyamoto, T., et al.: Allergens of the house dust mite *Dermatophagoides farinae*—Immunochemical studies of four allergenic fractions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 75, 686-692, 1985.
- 12) Lawrence, M.L., Philip, S.N. and Walter, L.W.: A single year of immunotherapy for ragweed hay fever. *Ann. Int. Med.* 75, 663-671, 1971.
- 13) Gwynn, C.M., Ingram, J., Alousawi, T. and Stanworth, D.R.: Bronchial provocation tests in atopic patients with bronchial asthma with allergen-specific IgG₄ antibodies. *Lancet* 1, 254-256, 1982.
- 14) 小栗栖和郎, 高橋 清, 多田慎也, 宗田 良, 難波一弘, 他：成人喘息における IgG サブクラス抗体に関する研究. アレルギー 40, 506-515, 1991.
- 15) 石崎 達：即時型皮内反応. アレルギー 12, 14-32, 1963.
- 16) 中田重俊, 齊藤明美, 安枝 浩, 信太隆夫, 中川武正, 他：ダニのゲルろ過分画および精製アレルゲンに対する IgE, IgG₁ および IgG₄ 抗体の酵素抗体法による測定. アレルギー 38, 9-15, 1989.
- 17) 河合 忠：ファジーな臨床検査情報. 総合臨床 40, 1187-1189, 1991.
- 18) Tukey, J.W.: Exploratory data analysis. Addison-Wesley, Massachusetts, pp.27-56, 1977.
- 19) Carswell, F. and Thompson, S.: Does natural sensitization in eczema occur through the skin? *Lancet* 2, 13-15, 1986.
- 20) Heymann, P.W., Chapman, M.D., Aalberse, R. C., Fox, J.W. and Platts-Mills, T.A.E.: Antigenic and structural analysis of group II allergens (Der f II and Der p II) from house dust mite (*Dermatophagoides spp.*). *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 1055-1067, 1989.
- 21) Schou, C. and Lind, P.: The antigenicity of

- house dust mites. *Allergy* 46(Suppl 11), 10-13, 1991.
- 22) 宮本昭正, 小屋二六, 鈴木慎一郎, 有田昌彦, 松本勉, 他: 血清中の特異的 IgG4 抗体の臨床診断上の意義について. *アレルギー* 40, 215-223, 1991.
- 23) Bonetti, S.M., Bonizzato, M., Piacentini, G., Verga, A., Harris, R. and Boner, A.L.: Relationship between skin prick test, radioallergosorbent test and chemiluminescent assays in allergic children. *Ann. Allergy* 66, 137-141, 1991.
- 24) 石崎 達, 笛木隆三, 斉藤 明, 江澤一浩, 土井一郎: 喘息患者の皮膚反応に及ぼす年齢の影響と RAST, ELISA 各反応との相互作用について. *アレルギー* 41, 668-675, 1992.
- 25) Ceska, M., Erikson, R. and Varga, J.M.: Radioimmunosorbent assay of allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 49, 1-9, 1972.
- 26) 井上 栄: 酵素免疫測定法 第3版, IV. 抗体. 医学書院, 東京, pp.394-404, 1987.

IgE, IgG₁ AND IgG₄ ANTIBODIES AGAINST BODILY AND FECAL EXTRACTS OF *DERMATOPHAGOIDES FARINAE*

Yoshiteru Yasumatsu

Second Department of Internal Medicine, Hiroshima University School of Medicine

IgE, IgG₁ and IgG₄ antibodies against bodily (Dfb) and fecal (Dff) extracts of *Dermatophagoides farinae* (Df) were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in 33 asthmatic patients (AP), 27 healthy control subjects (HCS) and clinically healthy subjects with mite allergy (HS-MA) shown by positive skin reactions to house dust. Serum total IgE measured by radioimmunosorbent test, and IgE against Df was measured by the CAP system simultaneously. AP showed the highest mean value of total IgE and IgE against Df, Dfb and Dff. HS-MA showed the second highest value and HCS showed the lowest one. There were significant differences among these 3 groups. AP showed a significantly higher mean value of IgG₁ and IgG₄ than the other 2 groups. However, there was no significant difference between HS-MA and HCS. Antibody titers against Dfb and Dff correlated well. IgE, IgG₁ and IgG₄ titers obtained by ELISA also correlated with each other well. However, the results from the CAP system and IgE-ELISA did not agree in some cases indicating character differences between the CAP system and ELISA. In AP, the CAP system results agreed with those of ELISA. In HS-MA, however, many cases exhibited negative reactions to IgE-ELISA in spite of exhibiting positive reactions in the CAP system.