

全症例で著効を認めたホヤ喘息の精製抗原による減感作療法

県立広島病院内科

城 智彦 桑原正雄 小泊好幸

広島県廿日市市

勝谷 隆

広島市

大塚 正

大竹市

坪井信治

広島大学工学部発酵工学科

岡 智 小埜和久

ホヤ喘息は典型的な I 型職業性喘息である。本症患者22例, 22~69歳, 女性を対象として, 高濃度精製ホヤ抗原 Ei-M, 分子量22,800による免疫療法を2年間実施した。

一般の気管支喘息を合併した1例は, 治療開始早期に脱落したが, 他の21例では急速に優れた効果がえられた。これらの症例はカキのむき身作業に従事しても発作は起きず, 対症療法剤も不要であった。

血清抗 Ei-M IgG 抗体は治療後に有意に増加した。

副作用を認めた症例はなかった。

Key words: hoya (sea-squirt) asthma — most effective immunotherapy — occupational asthma — purified antigens

はじめに

気管支喘息に対する減感作療法の歴史は長く, 極めて多くの基礎的, 臨床的研究が集積されているにもかかわらず, その治療効果や奏効機序については, なお一定の見解や評価がえられていない。これは, 対象とされている気管支喘息例の発作が, 単一のアレルギー性機序のみでなく, 感染, 心因, 気象変動, 内分泌, 自律神経機能など, 複雑な要因の影響によっても惹起されることが少なくないことに加えて, 検査や治療に使用される抗原が不均一な粗抗原であり, 研究者が理論的裏づけにやや乏しい, 各人各様の手技による治療をしていることに起因すると思われる。

ホヤ喘息は典型的な I 型職業性喘息で, 作業に従事してホヤの体液に暴露されるとき以外に発作を起こすことはない。また, 作業環境が改善された近年においても, 治療が奏効しない場合には, 作業従事により発

Table 1 Properties of purified sea-squirt antigens

	Gi-rep	Ei-M	D III a
Molecular weight	106,000	22,800	9,980
Amino acid ($\mu\text{mol/g}$)	990	720	700
Neutral sugar (")	505	370	140
Sulfuric acid (")	156	187	4
Phosphoric acid (")	240	90	20
Uronic acid (")	41	18	199
Skin test	+++	+++	+++
Conjunctival test	—	—	+++
Inhalation test	—	—	+++
Antigen determinant	α	α, β	α, β, γ

作が必発するので, 治療効果の判定は double blind 法などによらなくても極めて容易である¹⁾。

著者らは表1に示す高純度, 高力価で, 異なる分子量と抗原決定基をもつ3種のホヤ抗原 Gi-rep, Ei-M および D III a を分離し¹⁾²⁾, その化学構造を明らかにし, 免疫学的性質を追求するとともに³⁾⁻⁵⁾, これらによる減感作療法を実施して, 治療効果, 奏効機序の解明

Received: March 22, 1991

Accepted: May 29, 1991

に努めてきた⁶⁾⁻⁸⁾。これらの結果にもとづき、本論文では副作用がなく、治療効果が最大であった Ei-M を使用し、高濃度抗原による積極的な減感作療法を行って満足すべき結果をえたので成績を報告する。

対象および方法

1. 対象

1989年春に広島県某町在住のカキのむき身従業者を調査したが、これらの中から同町役場より治療を依頼された22例のホヤ喘息患者を選んで治療対象とした。症例はすべて女性で、カキのむき身作業時には喘息症状が必発し、作業に従事する期間内は常時対症療法が必要であった。ホヤ抗原液による皮内反応は全例陽性で、血清中に特異 IgE 抗体が証明された。なお、症例 11はカキのむき身季節外にもたびたび喘息発作があり、ホヤ喘息に一般の気管支喘息を合併しているものと思われ、本例ではダニ抗原による皮内反応も陽性であった。

2. 減感作療法

1) 使用抗原

ホヤ精製抗原 Ei-M を使用した。表 2 に示すごとく、ホヤ喘息患者における精製抗原による皮内反応閾値濃度は $0.4 \sim 10 \mu\text{g/ml}$ であって、3 抗原の力価には大差は認められなかった。

2) 減感作療法の方法

表 3 に示すごとく、カキのむき身作業の季節外である 7 月より治療を開始した。2 週おきに 0.1ml 、 0.2ml 、 0.3ml と増量して注射し、その後は同量を 4 回注射して季節に入った。2 月以後は注射間隔を季節中は月 1 回、季節外は 1.5 月 1 回として、今日まで維持療法を継続している。

3. 抗ホヤ IgG 抗体の測定法

既述の方法に従い⁷⁾、protein A を使用して測定した。すなわち、protein A-Sepharose CL-4B に患者血清を加えて、これに IgG 抗体を非特異的に結合させ、さらに¹²⁵I 標識 Ei-M を反応させる radioimmunoassay を行うものである。特異 IgG 値は加えた放射能に対する結合放射能の百分率であらわした。

4. 治療効果の判定法

減感作療法の実施により、作業に従事しても発作をみなくなり、対症療法が不要となったものを著効例、発作が軽快し、対症療法剤の使用量を相当程度減量で

Table 2 Threshold of the skin test

Case	Gi-rep	(μg/ml)	
		Ei-M	D III a
1		10	2
2		10	10
3		10	10
4		2	2
5		10	2
6	10		2
7	>10		10
8	10		2
9	10	2	
10	10	10	
11	2	0.4	

Table 3 Method of the immunotherapy

Date	Dose of injection		Oyster season
July 11, 1989	Ei-M $100 \mu\text{g/ml}$	0.1ml	Out of the season
25		0.2	
Aug. 8		0.3	
29		0.3	
Sept. 19		0.3	
Oct. 3		0.3	Season in
24		0.3	
Nov. 14		0.3	
Dec. 5		0.3	
22		0.3	
Jan. 13, 1990		0.3	
Feb. 6		0.3	
March 6		0.3	Out of the season
Apr. 3		0.3	
May 8		0.3	
June 19		0.3	

きたものを有効例としている。

5. 有意差の検定

t-検定により行った。

成 績

1) 治療効果

表 4 に示すごとく、症例は22例、27～69歳で、カキのむき身作業者のほとんどが女性であるため、今回の対象者もすべて女性であった。

1989～1990年の期間に、一般の気管支喘息を合併し、季節外にもたびたび発作のあった症例11は早期に脱落した。他の21例は前の季節中、常時服薬や注射による治療を必要としていたにもかかわらず、15例ではむき

Table 4 Effect of the immunotherapy

Case	Age	Sex	Disease type	1989~1990	1990~1991
1	61	F	4D	Venetlin 2tab. 7days	No symptoms
2	53	F	4A	No symptoms	"
3	54	F	4A	Asthphillin 3tab. 7days	"
4	55	F	4D	Theodur 100mg. 7days	"
5	56	F	III	No symptoms	"
6	37	F	4A	"	"
7	63	F	4D	"	"
8	56	F	4D	"	"
9	46	F	I	"	"
10	69	F	4A	"	"
11	27	F	4B+Bronch. asthma	Withdrew on Aug. 29	
12	43	F	III	No symptoms	No symptoms
13	42	F	I	"	"
14	57	F	4B	Theodur 200mg. 7days	"
15	37	F	I	No symptoms	"
16	47	F	4D	"	"
17	33	F	4C	Asthphillin 3tab. 5days	"
18	43	F	4D	No symptoms	"
19	47	F	4C	"	"
20	56	F	4B	"	"
21	58	F	4D	Azelastin 1tab. 24days	"
22	53	F	4D	No symptoms	"

身作業のある全期間を通じて、一切の対症療法を要しなかった。症例21は作業開始時にくしゃみ症状があり、azelastine 1錠を24日間使用した。作業開始時期である11月初旬に、軽い喘息症状と発作に対する不安感があった症例1に venetlin 2錠、症例4, 14に theodur 100mg, 200mg 各1錠を7日間もたせた。1月より2月にかけてインフルエンザが流行し、その際、症例3, 17に5日間 asthphillin 3錠を使用した。これらの症例も、それ以外の期間は減感作療法のみで喘息症状はなかった。

1990~1991年のむき身季節は減感作維持療法のみを実施し、21例全員が対症療法を要しないで作業を継続している。

症例の年齢と治療効果は無関係であった。

著者らはホヤ喘息の病型をI型：鼻炎型、II型：気管支炎型（咳発作があるが、喘息や呼吸困難のないもの）、III型：喘息型、IV型：混合型(IVA I+II型、IVB I+III型、IVC II+III型、IVD I+II+III型)の4型に分類しているが、これら病型と治療効果もまた無関係であった。

2) 血清特異 IgG 抗体の変動

減感作療法を開始した1989年7月11日、同年のカキのむき身作業が始まって間のない11月14日および1991

Table 5 Immunotherapy and anti-Ei-M IgG antibody

Case	July 11, 1989	Nov. 14, 1989	Jan. 8, 1991
1	3.2%	5.2%	8.6%
2	2.4	2.7	3.0
3	1.0	2.4	
4	0.2	1.0	2.2
5	0.5	2.9	6.7
6	0.8	2.1	4.9
7	1.9	2.7	5.6
8	0.8	2.1	5.2
10	2.2	1.8	
12	0.8	8.1	6.2
13	0.4	3.4	9.2
14	2.8	4.2	7.3
15	2.3	2.7	
16	0.6	2.3	3.8
18	0.5	1.8	
19	0.4	1.2	
20	1.0	2.4	
21	2.1	9.2	10.4
22	0.3	1.2	2.2
Mean	1.27±0.93	3.13±2.14	5.79±2.52

年の季節中である1月8日に採血が可能であった19例、19例および13例の血清について抗ホヤ IgG 抗体を測定した。

表5に示すごとく、それぞれ $1.27 \pm 0.93\%$ 、 $3.13 \pm 2.14\%$ および $5.79 \pm 2.52\%$ であって、減感作療法の実施につれてその値は上昇し、これら3群間の差はいずれも有意であった ($p < 0.01$)。

考 察

さきに報告したごとく、Gi-rep, Ei-M および D III a を使用し、これら抗原の皮内反応閾値より開始して、漸増法により型のごとく実施した減感作療法では、治療効果はGi-rep で有効率74.2% (著効118例, 有効46例, 無効57例), Ei-M で91.5% (著効191例, 有効90例, 無効26例), D III a で28.9% (著効4例, 有効7例, 無効27例)であった⁸⁾。この際、治療開始濃度を皮内反応閾値以下の低濃度とすると、効果発現までに著しく長期間を要すること⁹⁾、血清特異 IgE 抗体には抗原暴露の有無による著明な季節性変動があるが、減感作療法によっては大きな影響をうけないこと⁶⁾⁸⁾、抗原液注射により産生される特異 IgG 抗体が遮断抗体として働き、奏効機序の主役を演じること⁷⁾⁸⁾、Gi-rep, Ei-M による治療では副作用の発生は皆無であるが、D III a は少数例ながら発作誘発などの副作用例がみられたことなどを報告した⁸⁾。なお、非減感作例や D III a 治療例のごとく、減感作療法の効果のないものでは、血清特異 IgG 抗体は低値のままで、年間を通じて変動は認められない⁷⁾⁸⁾。

動物実験で特異 IgG 抗体産生のよい Gi-rep の効果が Ei-M より劣ったのは、抗原重量あたりの含有主要抗原決定基 α 含量が少ないためであり、Ei-M の10倍程度高濃度抗原を使用することにより、その欠点は解消された¹⁰⁾。

また、治療効果の著しく劣る D III a は、これを glutaraldehyde を用いて Ei-M, Gi-rep 大の重合抗原とすると、分子量の増大とともに治療効果と特異 IgG 抗体産生が増し、発作誘発などの副作用が消失することを認めた¹¹⁾。

なお、ホヤ体液中に含まれる超高分子画分 H は、副作用の恐れから治療には使用されていない。

これらの結果から著者らは、減感作療法では適当なサイズをもつ、副作用のない抗原を精製により分離し、高濃度抗原による積極的な治療を行うこと、重合抗原などを使用し、治療効果の改善と副作用の解消をはかることなどを提唱した¹²⁾。

今回著者らは Ei-M の治療開始量を $100\mu\text{g/ml}$ 0.1 ml としたが、これは皮内反応閾値濃度の10~250倍に相当する。既報のごとく、数百例を治療した今日までに、Ei-M による副作用例は認めていないので、初回量を $100\mu\text{g/ml}$ 0.3~0.5 ml とし、これをそのまま継続することも可能である⁸⁾¹²⁾。高濃度ホヤ抗原による減感作療法の効果は、治療開始後2, 3週して現れ始め、3~5カ月前後で十分な効果をあげることができる⁹⁾。本療法の開始当初は注射間隔を1週1回とするほうが効果発現、特異 IgG 抗体産生ともに迅速であるが、今回は喘息症状のない季節前に治療を開始したため、注射間隔を2週1回としたものである。

ホヤ喘息では有効な減感作療法を数年間にわたって施行したものでも、血清特異 IgE 抗体量の変化は認められていない⁶⁾。一方、血清特異 IgG 抗体の産生量には大きな個人差があるが、各々の症例についてみると、本抗体は治療効果発現と並行して増量し、著効例では有効例より、有効例では無効例より、いずれも有意な高値となることが認められている⁷⁾。また、抗原添加による非減感作患者白血球からの顕著なヒスタミン遊離は、減感作例では低値となり、非減感作例の血液に減感作療法により産生された多量の特異 IgG 抗体を含む血清を添加すると、その遊離は容量依存性に抑制されることをみている¹³⁾¹⁴⁾。これらの成績は、ホヤ喘息に対する減感作療法では、産生された特異 IgG 抗体が遮断抗体として作用し、奏効機序の主役を演じていることを示唆している。

粗抗原による減感作療法では、ときにアナフィラキシーなどの副作用があり¹⁵⁾、これが皮内反応閾値よりさらに低濃度抗原を使用し、漸増法による気のながい治療を行わせる原因となっている。今回 Ei-M では $100\mu\text{g/ml}$ より開始して、わずか7回の抗原注射後にはほとんどの症例で相当程度の効果を認めたが、Gi-rep でも 1mg/ml より開始して同様の好結果をえている¹⁰⁾。効果発現までの期間を短縮するために rush immunotherapy を採用するものがあるが、本法では入院治療が必要であり、副作用の発生は少なくない¹⁶⁾¹⁷⁾。精製高濃度ホヤ抗原による治療では、効果発現が早いので、著者らはこのような治療法の必要を認めていない。近年内服による減感作療法も試みられているが¹⁸⁾、その機序、効果、経済性などについては、なお十分な検討が必要と考えている。

ホヤ喘息は典型的な I 型喘息である。本症の患者が作業に従事するとまもなくくしゃみ、咳、軽い喘鳴な

どが始まり、作業のある夕刻まで次第に増悪するが、症状は夜半には軽快し、翌朝は再び作業に従事することを反復している。患者血清中には特異 IgE 抗体が証明され、ホヤ抗原液による吸入誘発試験では即時型反応があるが、数時間後に惹起される遅発型反応は経験していない。沈降抗体が証明されるものや遅延型アレルギー関与のある喘息例で、I 型アレルギー例と同一機序による減感作が成立するとは考えられないので、著者らは原則として I 型喘息以外は減感作療法の対象としていない¹⁹⁾。今日においてもなお、多彩な発症原因をもつ気管支喘息例に対して、十分な吟味を経ないまま、内容が不明確、力価も不安定で、副作用の恐れのある粗抗原による治療が行われているのは残念なことである。

自然界に存在する抗原物質は性質の異なる複数の抗原成分を含んでいるので、これらより副作用のない抗原を分離し、積極的な減感作療法を行うならば、本療法は捨てがたい効果と、魅力的な奏効機序をもつ治療法であることを強調したい。

おわりに

ホヤ喘息22例に対して高濃度精製ホヤ抗原 Ei-M を用いて減感作療法を実施した。一般の気管支喘息を合併した1例が早期に脱落したが、他の症例ではすべて著効が認められ、減感作維持療法を行うのみで、対症療法を必要としなくなった。

減感作後に血清特異 IgG 抗体は顕著に増加した。

副作用を認めたものはなかった。

減感作療法は I 型喘息を対象とし、副作用のない適当な分子量を持つ、高濃度の精製抗原を使用して実施することが肝要と考える。

文 献

- 1) 城 智彦, 勝谷 隆, 猪子嘉生, 大塚 正, 鹿内喜佐男, 他: 広島県下のかきのむき身業者にみられる喘息様疾患(かきの打ち子喘息)に関する研究第1報. アレルギー 13, 88-99, 1964.
- 2) Oka, S., Suzuki, H., Jyo, T. and Tsuji, M.: Purification of two types of sea-squirt antigens. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 59, 408-419, 1979.
- 3) Suzuki, H., Oka, S., Shigeta, S., Ono, K., Jyo, T. and Katsutani, T.: Isolation and characterization of an asthma-inducing sea-squirt antigen. *J. Biochem.* 96, 849-857, 1984.
- 4) Oka, S., Suzuki, H., Tsuji, M. and Jyo, T.: Immunogenic properties of sea-squirt antigens. *J. Biochem.* 91, 1403-1409, 1982.
- 5) Oka, S., Shigeta, S., Ono, K. and Jyo, T.: An epitope residing in carbohydrate chains of a sea-squirt antigen termed Gi-rep. *J. Allergy Clin. Immunol.* 80, 57-63, 1987.
- 6) 城 智彦, 坪井信治, 河本寛爾, 岡 智, 勝谷隆, 他: ホヤ精製抗原 Ei-2 と Sepharose 4B 結合体を使用した radioallergosorbent test (RAST) による特異 IgE 抗体の測定成績とその意義. アレルギー 25, 703-713, 1976.
- 7) 城 智彦, 河本寛爾, 勝谷 隆, 大塚 正, 坪井信治, 岡 智: 気管支喘息減感作例における protein A-Sepharose CL-4B による特異 IgG 抗体の測定. アレルギー 27, 842-840, 1978.
- 8) Jyo, T., Kodomari, Y., Kodomari, N., Kuwabara, M., Katsutani, T., et al.: Therapeutic effect and titers of the specific IgE and IgG antibodies in cases of sea-squirt allergy (Hoya asthma) under long term hyposensitization with three sea-squirt antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 386-393, 1989.
- 9) 城 智彦: 特殊アレルギーによる減感作, ホヤ喘息を中心として, “減感作療法の基礎と臨床”(小林節雄, 中島重徳, 長野 準 編), 中外医学社, 東京, pp.207-225, 1982.
- 10) 大塚 正, 勝谷 隆, 坪井信治, 城 智彦, 桑原正雄, 他: 減感作療法において, 使用抗原の分子量ならびに抗原エпитオプの含量が治療効果の及ぼす影響について. 広島医学 42, 517-524, 1989.
- 11) 城 智彦: 重合抗原による減感作療法. 日臨免誌 13, 469-473, 1990.
- 12) 城 智彦: 科学的, 理論的裏づけのある減感作療法の確立を切望する. 広島医学 43, 1847-1856, 1990.
- 13) 谷藤一生, 大坊 中, 須藤守夫, 田村昌士, 城智彦, 他: ホヤ喘息における粗抗原および各種精製抗原と試験管内ヒスタミン遊離との関係. アレルギー 33, 78-82, 1984.
- 14) 大坊 中, 北沢俊一, 城 智彦, 勝谷 隆: ホヤ喘息における試験管内ヒスタミン遊離に対する遮断抗体の影響について. 岩手医誌 40, 511-520, 1988.
- 15) Norman, P.S. and Van Metre, T.E.: The safety of allergenic immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 85, 522-525, 1990.
- 16) Golden, D.B.K., Valentine, M.D., Kagey-Sobotka, A. and Lichtenstein, L.M.: Regimens

- of *Hymenoptera* venom immunotherapy. *Ann. Int. Med.* 92, 620-624, 1980.
- 17) Hejjaoui, A., Dhivert, H., Michel, F.B. and Bousquet, J.: Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. *J. Allergy Clin. Immunol.* 85, 473-479, 1990.
- 18) Taudorf, E., Laursen, L., Lanner, A., Bjorksten, B., Dreborg, S. and Weeke, B.: Specific IgE, IgG, and IgA antibody response to oral immunotherapy in birth pollinosis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 589-594, 1989.
- 19) 勝谷 隆, 大塚 正, 坪井信治, 城 智彦, 桑原正雄, 他: 過去 20 年間に経験した職業性喘息. 広島医学 43, 1075-1078, 1990.

IMMUNOTHERAPY USING HIGH CONCENTRATION PURIFIED ANTIGEN SHOWED REMARKABLE EFFECT IN ALL CASES

Toshihiko Jyo, Masao Kuwabara and Yoshiyuki Kodomari
Department of Internal Medicine, Hiroshima Prefectural Hospital

Takashi Katsutani
Hatsukaichi City, Hiroshima Prefecture

Tadashi Otsuka
Hiroshima City

Shinji Tsuboi
Otake City, Hiroshima Prefecture

Satoru Oka and Kazuhisa Ono
Faculty of Engineering, Hiroshima University

Hoya (sea-squirt) asthma is a typical type I occupational asthma. A total of 22 females with this disease whose age ranged from 22 to 69 years were treated for two years with high concentration purified sea-squirt antigen named Ei-M having a molecular weight of 22,800.

One case who developed ordinary bronchial asthma abandoned the immunotherapy during the early stage of the therapy, but in the remaining 21 cases remarkable effects were rapidly observed from the early stage of treatment. These cases did not develop asthmatic attacks even through they engaged in oyster shucking work and no symptomatic therapy was indicated.

Serum anti-Ei-M IgG antibody was significantly elevated after the therapy. None of the treated cases developed any side effects.