

鼻アレルギー患者のダニ (*Dermatophagoides farinae*)

特異抗体について

秋田大学医学部耳鼻咽喉科学教室

波田野洋一 今野昭義 戸川 清

同 第二内科学教室

三浦一樹

ELISA 法により鼻アレルギー患者の血清および鼻汁中、健常者血清中ダニ (*Dermatophagoides farinae*) 特異 IgG, IgA, IgM 抗体価を測定した。

血清中ダニ特異 IgG, IgA 抗体価は鼻アレルギー患者で健常者より有意に高値を示した。また鼻アレルギー患者血清中 IgG, IgA 抗体価間に有意な相関が認められた。量的にみると血清では IgG 抗体、鼻汁中では IgA 抗体が主たる抗体であった。

鼻アレルギー患者のダニ特異 IgG, IgM 抗体価は血清および鼻汁間に有意な相関がみられたが、これは誘発試験による血清抗体の漏出によるためと考えられた。IgA 抗体価は血清および鼻汁間に相関がみられなかった。これは鼻汁中にすでに局所で産生された IgA 抗体が多量に存在するためと推測された。

抗原侵入に際して局所鼻粘膜における主抗体である IgA 抗体の果たす役割は少なくないと考えられた。

Key words: *Dermatophagoides farinae* (DF) — enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) — IgG, IgA and IgM antibodies to mite — laser nephelometer — ultrasonic homogenization

緒 言

室内塵 (HD) は鼻アレルギー、気管支喘息の主抗原であり、食物残渣、動物の毛垢などの種々雑多なものの混合物である。その主要アレルゲン物質として多種のダニ (mite) が同定されているが、そのうち *Dermatophagoides farinae* (DF) と *Dermatophagoides pteronyssinus* が重要であり、両者間にも共通抗原性が認められている¹⁾。

石坂らの IgE 抗体発見以来、鼻アレルギー、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などのアトピー性疾患において IgE 抗体が発症に重要な役割を果たしていることが確立されている。現在では IgE 抗体の測定は radio-

allergosorbent test (RAST) として広く臨床に普及している。他の免疫グロブリンの中では、IgG 抗体が減感作療法により IgG blocking antibody (IgG4) が上昇し²⁾³⁾、臨床症状の改善と相関するというものである⁴⁾。しかし臨床効果との間に相関しない⁵⁾という報告もある。さらに short-term sensitizing anaphylactic antibody (IgGS-TS) としての働きも報告されており⁶⁾、まだ統一した見解が得られていないのが現状である。

伊藤ら⁷⁾は血清中抗ダニ IgG, IgA, IgM 抗体を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法によって測定し、簡便かつ有用なことを報告している。さらに木谷ら⁸⁾は気管支喘息患者の血清および痰中抗ダニ IgG, IgA, IgM 抗体を測定し、痰中においては IgG 抗体より IgA 抗体が主たる抗体であり、IgA 抗体の blocking antibody としての可能性を指摘している。

我々は鼻アレルギー患者および健常者の血清中抗ダニ IgG, IgA, IgM 抗体価を ELISA 法により測定し、両群間の抗体価を比較した。さらに鼻アレルギー患者については鼻汁中抗ダニ IgG, IgA, IgM 抗体価を測定し、血清中抗体価との関係を検討した。

Received: October 12, 1987

Accepted: December 16, 1987

Abbreviations: DF *Dermatophagoides farinae*; ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; IgGS-TS IgG short-term sensitizing anaphylactic antibody; LNM laser nephelometer; O-PDA ortho-phenylene diamine; RAST radioallergosorbent test; SPRIA solid phase radioimmunoassay

対象および方法

1. 血清中抗ダニ抗体価の測定

(1) 対象症例

鼻アレルギー群は、奥田の判定基準⁹⁾で中等症以上の鼻症状を有し、減感作療法未施行、DF RAST score 2以上の24名(男18名、女6名、平均22.0歳:15-35歳)とした。対照群は鼻アレルギー症状がなく鼻内所見より鼻アレルギーが否定され、HD皮内テスト陰性の17名(男7名、女10名、平均24.5歳:10-68歳)とした。被検血清は分離の後-20℃に凍結保存し、測定時に溶解して下記ELISA法により測定した。

(2) ELISA法 (Fig. 1)

ダニの至適濃度、ペルオキシダーゼ標識抗体、血清の最適希釈度は予備実験により決定した。操作はすべて duplicate で行った。

a. 96穴 polystyrene microtiter plate (Nunc 社製, U type) の well に鳥居薬品より供与を受けたダニ (DF) の粗抗原を pH 8.0 NaHCO₃ で 10 μg/ml に調整して 100 μl 注入し、37℃ 2 時間静置した。アスピレーターにてダニ抗原液を吸引後、0.05% Tween 20-PBS で 3 回洗浄した (以下洗浄操作は同じ)。

b. 1% BSA-PBS を 100 μl ずつ各 well に注入し、37℃ 90 分間静置後洗浄した。

c. 1% BSA-PBS で 1000 倍に希釈した被検血清を各 well に 75 μl ずつ注入し、2 時間 incubate した後洗浄した。

d. peroxidase 標識ヤギ抗ヒト IgG-F_{ab}, IgA-F_{ab}, IgM-F_{ab} 抗体 (Tago 社製、各 H 鎖特異性) を 1% BSA-PBS で 5000 倍に希釈し、75 μl ずつ各 well に注入し、4℃ overnight incubate した。

e. 0.05% Tween 20-PBS で 8 回洗浄した後、使用直前に 1/10000 量の 30% H₂O₂ を加えた 0.04% orthophenylene diamine (O-PDA) 液を 75 μl ずつ各 well に注入し、37℃ 30 分間静置した。

f. 6N-H₂SO₄ を 50 μl 各 well に注入し反応を停止させ、各 well の吸光度 (OD₄₉₂) を Bio-Rad 社製 microplate photometer にて測定した。

(3) 測定吸光度 (OD 値) の標準化 (Fig. 2)

予備実験より各抗体に対する吸光度の高い血清を標準血清とした。RAST 法と同様に標準血清の希釈曲線を作り (IgG 抗体は 500-50000 倍希釈、IgA, IgM 抗体は 50-5000 倍希釈)、被検血清も同一 plate で測定し、得られた吸光度と同一吸光度を示す標準血清濃度を

1) Coating

Crude mite antigen solution (10 μg/ml)
100 μl, 37℃, 120 min
(Aspiration and washing 3 times)

2) Blocking

1% BSA 100 μl, 37℃, 90 min
(Aspiration and washing 3 times)

3) Primary incubation

Diluted serum (1:1000)
75 μl, 37℃, 120 min
(Aspiration and washing 3 times)

4) Secondary incubation

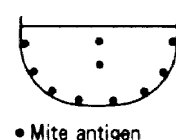
HRP-labelled goat anti-human IgG, A.M
(1:5000) 75 μl, 4℃, overnight
(Aspiration and washing 8 times)

5) Color development

0.04% OPD + 0.003% H₂O₂
75 μl, 37℃, 30 min
(50 μl of 6N H₂SO₄ added)

6) Reading

OD at 492 nm by microplatephotometer



● Mite antigen



○ Antibody to mite

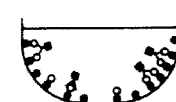
● Anti IgG, A.M
labelled with HRP

Fig. 1. ELISA of IgG, IgA and IgM antibodies to mite.

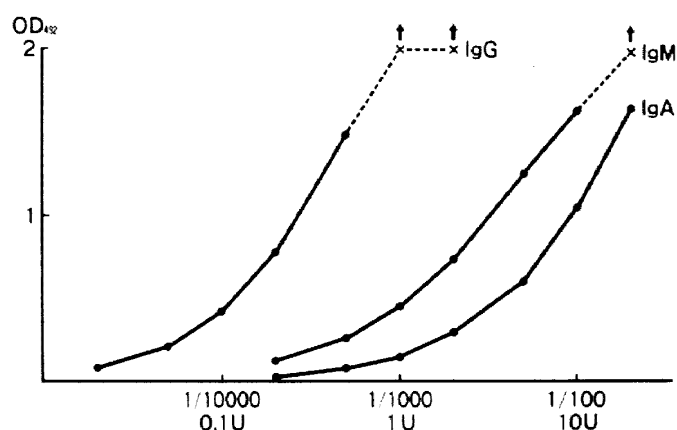


Fig. 2. Standard curve of DF specific antibodies positive serum.

unit (U) した。

2. 鼻汁中抗ダニ抗体価の測定

(1) 対象症例

血清中抗ダニ抗体価を測定した鼻アレルギー群24名のうち鼻汁を採取した20名について調べた。

(2) 鼻汁の採取、処理

両側下鼻甲介粘膜に鳥居薬品製 HD disc をおき、誘発された鼻汁を吸引管により採取した。pH 7.4 PBS にて 2 倍に希釈後、20kHz にて数秒間超音波処理¹⁰⁾、使用まで-20℃に凍結保存した。分離した鼻汁中 albumin 濃度をヘキスト社製 laser nephelometer (LNM) にて測定した。

3. ELISA 法 (Fig. 3)

血清と同様の ELISA 法で測定した。吸光度はアル

ブミン濃度依存性に上昇した。IgG, IgM 抗体は1mg/dl albumin 濃度, IgA 抗体は0.1mg/dl albumin 濃度で非特異反応は十分抑えられたので, 被検鼻汁を1% BSA-PBS で上記アルブミン濃度に調整し, 血清と同様に測定した。Fig. 3 に抗体陽性鼻汁のアルブミン濃度による希釈曲線を示す。

血清, 鼻汁中抗ダニ抗体価の有意差検定は student の t 検定を用いた。

結 果

1. 標準血清の非特異反応の割合, 再現性

ダニを coat した well のうち標準血清を incubate

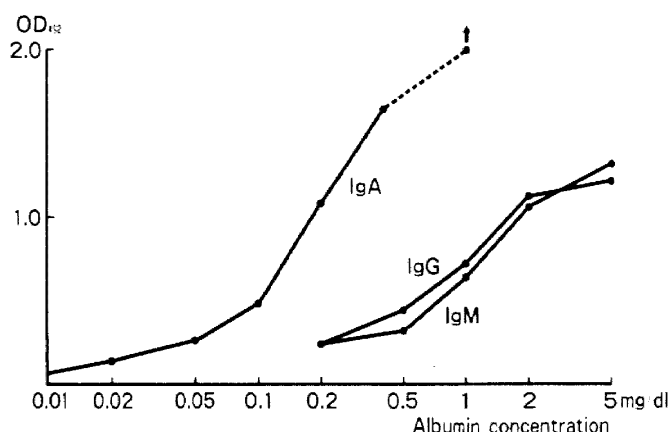


Fig. 3. Dilutional curve of DF specific antibodies positive nasal secretion.

した際の OD 値を A, 1% BSA-PBS で incubate した際の OD 値を B, ダニを well に coat せずに 1% BSA-PBS で incubate した background の OD 値を C (A, B, C は duplicate の平均値である) とし, 次の式より非特異反応の割合を求めた。

$$B-C/A-C \times 100 (\%)$$

また A のうち duplicate で測定した平均値のそれぞれの値を A', A'' とし, duplicate の誤差 (再現性) を次の式より求めた。

$$|A'-A''|/A \times 100 (\%)$$

Fig. 2 に示す標準血清の非特異反応の割合は, IgG 抗体 0.4%, IgA 抗体 10.9%, IgM 抗体 10.6% であり, 再現性は IgG 抗体 15.4%, IgA 抗体 7.5%, IgM 抗体 7.8% であった。IgA, IgM 抗体は標準血清 1000 倍希釈の値であるが, IgG 抗体に関しては標準血清 1000 倍希釈では OD 値が scale out するために 5000 倍希釈の際の値である。

2. ダニ抗体陽性鼻汁の非特異反応の割合, 再現性

Fig. 3 に示すダニ抗体陽性鼻汁の非特異反応の割合, 再現性を前述の方法で算出した。非特異反応の割合は IgG 抗体 12.9%, IgA 抗体 8.1%, IgM 抗体 9.4% であり, 再現性は IgG 抗体 15.0%, IgA 抗体 17.2%, IgM 抗体 3.7% であった。IgG, IgM 抗体は 1mg/dl albumin 濃度, IgA 抗体は 0.1mg/dl albumin 濃度における値である。

3. 鼻アレルギー群, 対照群の血清中抗ダニ抗体価の比較 (Fig. 4)

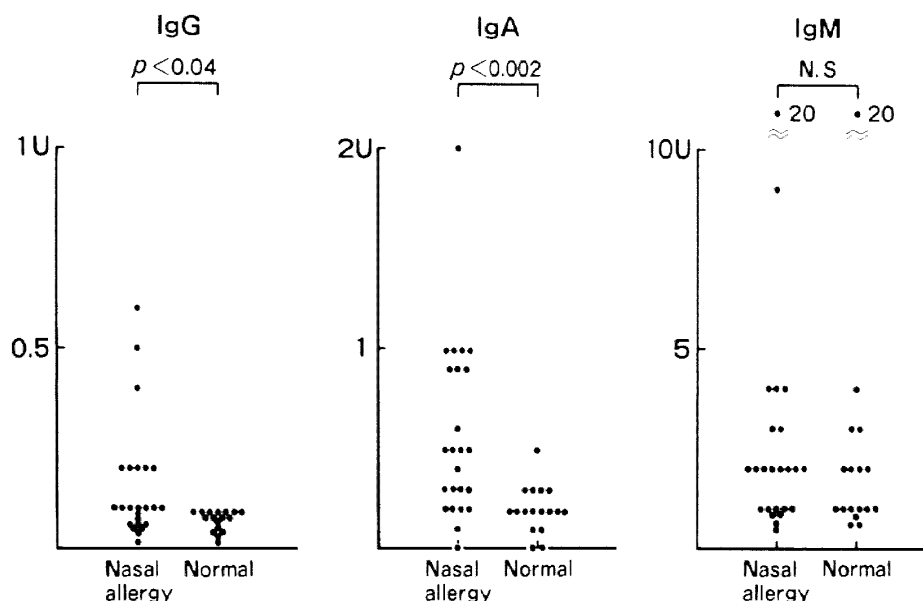


Fig. 4. DF specific antibody titers in serum.

IgG 抗体価は鼻アレルギー群 $0.157 \pm 0.142\text{U}$ (M $\pm$ SD), 対照群 $0.0824 \pm 0.0218\text{U}$ と鼻アレルギー群が有意に高値を示した ($p < 0.04$). IgA 抗体価は鼻アレルギー群 $0.575 \pm 0.435\text{U}$, 対照群 $0.206 \pm 0.116\text{U}$ と鼻アレルギー群が有意に高値を示した ($p < 0.002$). IgM 抗体価は鼻アレルギー群 $2.95 \pm 3.96\text{U}$, 対照群 $2.69 \pm 4.43\text{U}$ と両群間に有意差は認められなかった.

4. 血清各抗体間の相互関係 (Fig. 5)

鼻アレルギー群, 対照群の血清中抗ダニ抗体 IgG, IgA, IgM 抗体についての相互関係を調べたが, 鼻アレルギー群の IgG, IgA 抗体間にのみ相関が認められた ($r = 0.699$, $p < 0.01$) が, その他の組み合わせには相関は認められなかった.

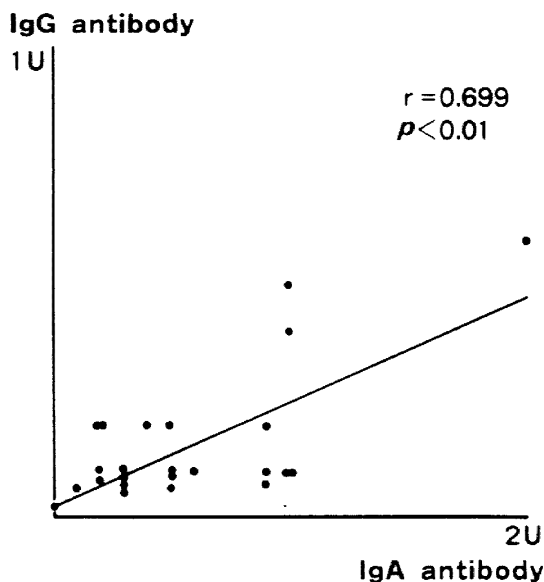


Fig. 5. Correlation between IgG and IgA antibody titers in serum.

5. 鼻アレルギー群の鼻汁中抗ダニ抗体価 (Fig. 6)
LNM による鼻汁中 albumin 濃度は, $187.460 \pm 143.784\text{mg/dl}$ (M $\pm$ SD) であった.

鼻アレルギー群の鼻汁中抗ダニ抗体価は, IgG 抗体 $0.0190 \pm 0.0234\text{U}$ (M $\pm$ SD), IgA 抗体 $1.65 \pm 1.57\text{U}$, IgM 抗体 $0.875 \pm 1.16\text{U}$ であった. 鼻汁中各抗体間の相互関係について血清と同様な検討を行ったが, 有意な相関はみられなかった.

6. 鼻アレルギー群の血清および鼻汁中抗ダニ抗体価の相関 (Fig. 7)

IgG, IgM 抗体は, 血清および鼻汁中抗体価との間に有意な相関が認められた (IgG 抗体: $r = 0.642$, $p < 0.01$, IgM 抗体: $r = 0.851$, $p < 0.01$). IgA 抗体は血清および鼻汁中抗体価との間に相関は認められなかった.

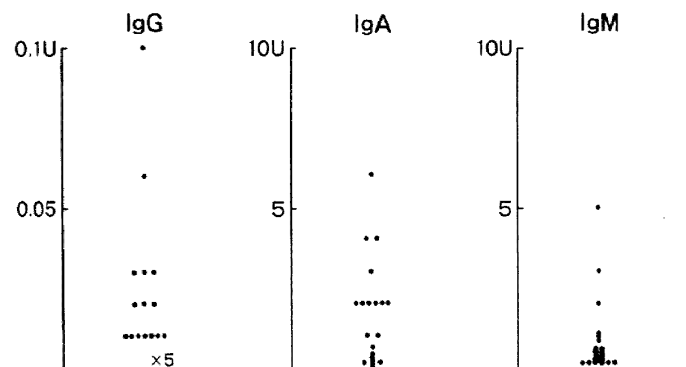


Fig. 6. DF specific antibody titers in nasal secretion.

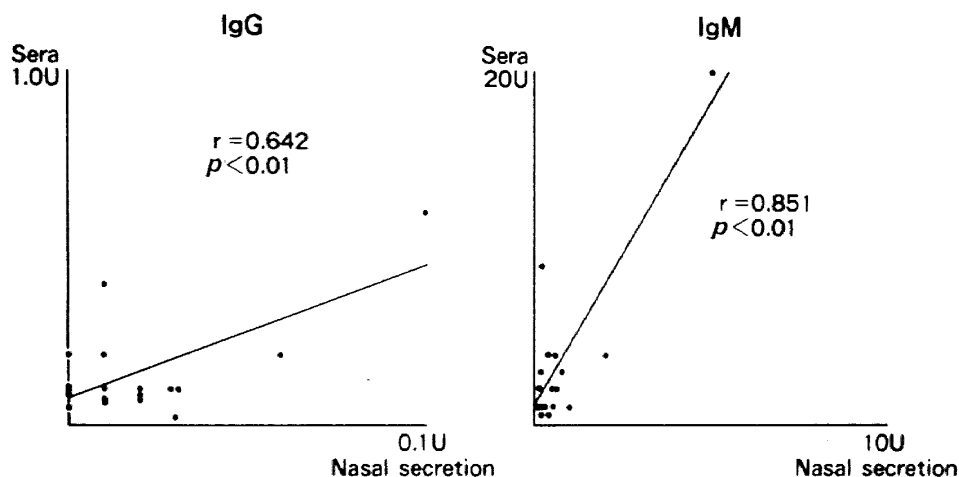


Fig. 7. Correlation of antibody titers between serum and nasal secretion.

考 察

今回我々は、DF 特異血清および鼻汁中 IgG, IgA, IgM 抗体価を ELISA 法を用いて測定した。石坂ら¹¹⁾が二重抗体法による測定法を報告して以来、同法による数々の報告がある。血清中 IgG 抗体測定は IgG-RAST 法による報告¹²⁾もあるが、非特異反応が強いために一般的ではなく、その他 protein A を sephalose に結合させて IgG 抗体を測定する方法¹³⁾、¹²⁵I 標識 protein A を用いた solid phase radioimmunoassay (SPRIA)¹⁴⁾などがある。

ELISA 法は Engvall らの報告¹⁵⁾に端を発するとされているが、近年では阿南¹⁶⁾の指摘するように同法による報告が年々増加しており、ELISA 法の有用性を示唆するものであると考えられる。

鼻アレルギー患者の特異抗体測定は Platts-Mills らの antigen-binding radioimmunoassay 法を用いた枯草熱患者の血清中および鼻汁中 IgG, IgA, IgE 抗体の測定¹⁷⁾¹⁸⁾、Turk らのヒスタミン遊離抑制を利用した鼻汁中抗体の検討¹⁹⁾、伊藤の¹²⁵I 標識 protein A を用いたスギ花粉症患者の血清中および鼻汁中 IgG 抗体の測定²⁰⁾などがある。ELISA 法による報告は北尾⁵⁾の血清中抗ダニ IgG 抗体、IgG4抗体の測定があるが、同法による鼻アレルギー患者の特異抗体測定について報告はまだ少なく、特に鼻汁中抗体測定はこれまでにない試みと考えられる。

さて今回我々が ELISA 法を行うにあたって留意した点は、1. 測定 OD 値の標準化：ELISA 法は測定感度が高いために測定条件によりかなり OD 値の変動があり、一般的には同一 plate で測定した値は比較できるが、他 plate との比較は困難である。我々は RAST 法のごとく標準血清との比較によって OD 値の標準化を試みた。2. 鼻汁中抗体価の測定：鼻汁、痰に含まれるムチンは非特異反応を増強させ、操作の上でも支障をきたす。また鼻汁は heterogeneous であることより何らかの処理が必要である。従来痰を hemogenize するために、chemical, mechanical, enzymic, biochemical な方法が行われてきたが、Françoise ら¹⁰⁾は超音波処理の有用性を報告しており、我々もこの方法にしたがった。原法では 20kHz、2.5 分間行うが、痰中酵素の活性低下および白血球、菌体の破壊は認められず、痰の viscosity は約 80% 減少すると言われている。我々は被検液の温度上昇による蛋白変性を防止するために氷冷下数秒間 homogenize したが、鼻汁の粘稠性

は低下し均一な水性へと変化した。この数秒の homogenization で免疫グロブリンなどの測定には良いと考えられる。鼻汁中抗体価を測定するにあたって留意した次の点は、予め蛋白 (albumin) 濃度を調整しておくことである。Fig. 3 に示されるように測定 OD 値は albumin 濃度依存性であるが一次関数的相関ではないので、測定 OD 値を albumin 濃度で除し表示するよりも、予め albumin 濃度を調整してから測定するほうが望ましいと考えられた。

血清中 IgG, IgA 抗体は、鼻アレルギー群は対照群に比し有意に高値を示した。IgG 抗体は Fig. 2 の標準血清に示されるように血清中の主抗体と考えられる。鼻アレルギー患者の IgG 抗体高値は北尾の報告⁵⁾にもあり、IgG, IgA 抗体高値は Platts-Mills¹⁷⁾¹⁸⁾、木谷らの報告⁸⁾にもある。血清中 IgM 抗体は鼻アレルギー群、対照群間に有意差は認められなかった。IgM 抗体についての報告は極めて少ないが、木谷ら⁸⁾は気管支喘息患者においても対照群と有意差がなかったことを報告している。

血清中各抗体間の相互関係について検討したが、鼻アレルギー群の IgG, IgA 抗体間に有意な相関が認められた。伊藤ら⁷⁾、木谷ら⁸⁾も減感作療法未施行の気管支喘息患者に同一の傾向が認められることを報告しているが、減感作療法を行うと相関が認められなくなるという。未治療例では IgG, IgA 抗体は parallel に変動すると思われる。

鼻アレルギー群の鼻汁中ダニ抗体価は IgG, IgM 抗体は 1mg/dl albumin 濃度、IgA 抗体は 0.1mg/dl albumin 濃度で測定しており、血清 albumin 濃度は約 4g/dl albumin 濃度であるから、IgG, IgM 抗体は血清 4000 倍希釈、IgA 抗体は血清 40000 倍希釈に相当する。血清抗体価は血清 1000 倍希釈で測定しており鼻汁中抗体価と単純な比較はできないが、鼻汁中 IgA 抗体価は albumin 濃度にして血清より約 40 倍低いにもかかわらず高値を示した。また Fig. 3 に示されるように血清中においては IgG 抗体が主抗体と考えられるが、鼻汁中においては IgA 抗体が主たる抗体であると考えられる。鼻汁中では IgA 抗体が主抗体であることは Platts-Mills¹⁷⁾¹⁸⁾、Niels Mygind²¹⁾、痰中においても IgA 抗体が主抗体であることは木谷ら⁸⁾の報告にもみられる。

鼻汁中における各抗体の多寡について Platts-Mills ら¹⁷⁾は、枯草熱患者の鼻汁中において IgG, IgA, IgE 抗体が健常者に比し高値を示し、これら枯草熱患者は

健常者に比較してこれらの各抗体を産生しやすい high responder であることを指摘している。またこの high responder は遺伝性を持つことを推測している。さらに木谷ら⁸⁾も気管支喘息患者において IgA 抗体が健常者に比較して高値を示したことを報告している。鼻アレルギー患者の鼻汁中 IgG, IgA 抗体高値は、今回対照群との比較がないので今後の研究課題であるが、血清抗体価の検討からも十分推測できる。鼻汁中 IgM 抗体は数例高値を示すものが認められた。Platts-Mills ら¹⁸⁾は鼻汁中 IgM 抗体を antigen-binding radioimmunoassay 法で測定しているが検出できなかったという報告があり、通常痰中の IgM 抗体は radial immunodiffusion 法で検出されることはなく、健常人氣道分泌液中には存在しないといわれている²²⁾。しかし今回我々が測定したように ELISA 法レベルの感度で IgM 抗体を検出できると考えている。

IgG, IgM 抗体は血清、鼻汁中抗体価間に有意な相関が認められたが、IgA 抗体は相関が認められなかった。IgG, IgM 抗体は、鼻粘膜誘発試験により亢進した血管誘過性により血清より移行したために相関関係が成立したと考えられるが、IgA 抗体は誘発試験の結果、鼻汁中に IgA 抗体が移行してもすでに鼻汁中に secretory IgA が豊富に存在するために影響を受けないと考えている。Niels Mygind²¹⁾は、鼻汁中 IgA 抗体の 80-95% は局所鼻粘膜で産生されたものであり、IgG 抗体は 5-10% が鼻粘膜で産生されると報告している。IgG 抗体については、約 50% が局所で産生されているという Butler ら²³⁾の報告もある。さらに、Platts-Mills ら¹⁸⁾はジフテリア毒素を注射投与すると血清中 IgG 抗体価は上昇するが、鼻汁中には血清中ほど多量に存在しないなどの知見をもとに、鼻汁中の IgG, IgE 抗体は IgA 抗体同様に鼻粘膜プラズマ細胞で産生されたものであるとした。以上種々の知見を総合して考えると、抗原侵入に際しまず鼻粘膜局所における IgG, IgA, IgE 抗体の産生があり、この際 high responder といわれる群は遺伝的に多量の抗体産生がある。おのこの抗体は血清中に移行し、low responder 群（健常者）に比し血清および鼻汁中ともに高値を示すと推測することができる。この response の良し悪しは、スギ花粉症患者において抗原特異的サプレッサー T 細胞が存在する²⁴⁾ように、サプレッサー T 細胞による調節機構に起因するものかもしれない。

各抗体の役割については不明な点が多いが、減感作療法との関わりから専ら血清中 IgG 抗体、特に IgG4

抗体が注目されている。当初は IgG₄-TS として注目されていたが⁶⁾、最近 blocking antibody としての役割が重視されている³⁾⁴⁾。しかし Gwynn ら²⁵⁾は気管支喘息において IgG4 抗体は late asthmatic response (LAR) に関与し、喘息重症化に関係するとしたように明確な結論は得られていない。Platts-Mills ら¹⁸⁾が示すように、血清中各抗体が鼻粘膜で産生された抗体を反映するものであれば、鼻汁中各抗体を検討することは意義深い。特に secretory IgA 抗体は細菌、ウイルス感染などにおいて防衛的に働き、異種蛋白の粘膜からの吸収を阻止し、抗原による生体感作の成立を抑制するといわれている。またアトピー素因のある乳児のうち total IgA 低値であった群は湿疹の発症が多いという報告²⁶⁾もあり、アトピー性疾患発症に IgA 抗体が関与している可能性が指摘されている。さらに Turk ら¹⁹⁾はヒスタミン遊離抑制を利用して鼻汁中 blocking antibody を検討しているが、この blocking antibody は IgA 抗体が主であることを報告し、Platts-Mills ら¹⁷⁾も鼻汁中 IgG, IgA 抗体が豊富な分画がヒスタミン遊離抑制を起こし、減感作療法によりこれらの抗体が上昇することを報告している。また Deuschel ら²⁷⁾も減感作療法に伴う血清および鼻汁中の IgG, IgA 抗体の上昇を報告している。しかし前述の Turk ら¹⁹⁾は鼻汁中 IgA 抗体の上昇はなかったとしている。我々も減感作療法に伴う鼻汁中 IgG, IgA 抗体の変動に注目しており、今後の研究課題と考えている。

結 語

ELISA 法により鼻アレルギー患者、健常者のダニ特異 IgG, IgA, IgM 抗体を測定し、以下の結果を得た。

1. 鼻アレルギー群の血清中 IgG, IgA 抗体価は対照群に比し有意に上昇していた。IgM 抗体価は両群間に有意差は認められなかった。
2. 鼻アレルギー群の血清中 IgG, IgA 抗体価間に有意な相関が認められた。
3. 鼻アレルギー患者の抗ダニ抗体は血清中では IgG 抗体、鼻汁中では IgA 抗体が主体と考えられた。
4. 鼻アレルギー患者の IgG, IgM 抗体価は血清および鼻汁間に有意な相関が認められた。IgA 抗体には相関が認められなかった。

稿を終えるにあたり、ELISA 法に関し御教示いただいた東京大学内科物理療法学教室木谷誠一先生、実験に協力していただいた秋田大学微生物学教室 伊藤玲悦技官に深謝いたします。

なお本論文の要旨は第6回東北耳鼻咽喉科アレルギー研究会、第5回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー研究会において発表した。

文 献

- 1) Miyamoto, T., Oshima, S., Mizuno, K., Sasa, M. and Ishizaki, T.: Cross-antigenicity among six species of dust mites and house dust antigens. *J. Allergy* 44, 228-238, 1969.
- 2) Aalberse, R.C., Van der Gaas, R. and Van Leeuwen, J.: Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. *J. Immunol.* 130, 722-726, 1983.
- 3) Cheung, N.K., Blessing-Moore, J., Reid, M.J. and Yang, G.: Honey bee venom specific immunoglobulin G4 in honey bee sting allergic patients and bee keepers. *Ann. Allergy* 50, 155-160, 1983.
- 4) Lichtenstein, L.M., Norman, P.S. and Winkler, W.L.: A single year of immunotherapy for ragweed hay fever. *Ann. Int. Med.* 75, 663-671, 1971.
- 5) 北尾友幸: 鼻アレルギー患者のダニ (*Dermatophagoides farinae*) 特異的血清 IgG および IgG4 抗体. *アレルギー* 34, 911-921, 1985.
- 6) Parish, W.E.: Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet* 2, 591-592, 1970.
- 7) 伊藤幸治, 木谷誠一, 坂本芳雄, 宮本昭正: enzyme-linked immunosorbent assay による喘息患者血清中の抗ダニ (*Dermatophagoides farinae*) IgG, IgA, IgM 抗体の検出. *アレルギー* 33, 158-166, 1984.
- 8) Kitani, S., Ito, K. and Miyamoto, T.: Measurement of IgG, IgA and IgM antibodies to mite (*Dermatophagoides farinae*) in sera and sputa from asthmatic patients by ELISA. *Ann. Allergy* 55, 1-9, 1985.
- 9) 奥田 稔: 鼻アレルギー診療の実践, 改訂4版, 金原出版, 東京, pp.183-188, 1979.
- 10) Françoise, G., Jean-Marie, T., Jean-Marie, P., Edith, P., Geneviève, B. and Paul, S.: Ultra-sonic method of sputum homogenization and its application in the study of the enzymic content of sputum. *Clin. Chim. Acta* 113, 105-109, 1981.
- 11) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Hornbrook, M. M.: Allergen-binding activity of γ E, γ G and γ A antibodies in sera from atopic patients. In vitro measurements of reaginic antibody. *J. Immunol.* 98, 490-501, 1967.
- 12) 坂本芳雄, 中川武正, 伊藤幸治, 宮本昭正: radio-allergosorbent test (RAST) による *Dermatophagoides farinae* 特異的 IgG 抗体の測定—double antibody antigen-binding assay および protein A solid-phase radioimmunoassay との比較. *アレルギー* 32, 940-946, 1983.
- 13) Foucard, T. and Johansson, S.G.O.: Immunological studies in vitro and in vivo of children with pollinosis given immunotherapy with an aqueous and a glutaraldehyde-treated tyrosine-adsorbed grass pollen extract. *Clin. Allergy* 6, 429-439, 1976.
- 14) Hamilton, R.G., Sobotka, A.K. and Adkinson, N.F. Jr.: Solid phase radioimmunoassay for quantitation of antigen-specific IgG in human sera with ^{125} I-protein A from *Staphylococcus aureus*. *J. Immunol.* 122, 1073-1079, 1979.
- 15) Engvall, E. and Perlmann, P.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8, 871-874, 1971.
- 16) 阿南貞雄: ELISA. 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー研究会誌 2, 54-59, 1984.
- 17) Platts-Mills, T.A.E., von Maur, R.K., Ishizaka, K., Norman, P.S. and Lichtenstein, L.M.: IgA and IgG anti-ragweed antibodies in nasal secretions. *J. Clin. Invest.* 57, 1041-1050, 1976.
- 18) Platts-Mills, T.A.E.: Local production of IgG, IgA and IgE antibodies in grass pollen hay fever. *J. Immunol.* 122, 2218-2225, 1979.
- 19) Turk, A., Lichtenstein, L.M. and Norman, P.S.: Nasal secretory antibody to inhalant allergens in allergic and non allergic patients. *Immunol.* 19, 85-95, 1970.
- 20) 伊藤由起子: スギ花粉症患者における IgG 抗体に関する研究. II. 減感作療法, 花粉の自然暴露による血清および鼻汁中 IgG, IgE 抗体の変動について. *アレルギー* 32, 985-995, 1983.
- 21) Mygind, N.: Immunology of nasal secretion. In "Nasal Allergy" 2nd ed. (ed. by Mygind, N.), Blackwell Scientific Publications, pp.199-216, 1979.
- 22) Holter, J.F., Weiland, J.E., Pacht, E.R., Gadek, J.E. and Davis, W.B.: Protein permeability in the adult respiratory distress syndrome. *J. Clin. Invest.* 78, 1513-1522, 1986.

- 23) Butler, W.T., Waldmann, T.A., Rossen, R.D., Douglas, R.G. Jr. and Couch, R.B.: Changes in IgA and IgG concentrations in nasal secretions prior to the appearance of antibody during viral respiratory infection in man. *J. Immunol.* 105, 584-591, 1970.
- 24) 笹月健彦, 武藤正彦: 免疫遺伝学の考察, “図説スギ花粉症”(信太隆夫, 清水章治編), 初版, 金原出版, 東京, pp.71-85, 1983.
- 25) Gwynn, C.M., Ingram, J., Almousawi, T. and Stanworth, D.R.: Bronchial provocation tests in atropic patients with allergen-specific IgG4 antibodies. *Lancet* 1, 254-256, 1982.
- 26) Taylor, B., Norman, A.P., Orgel, H.A., Stokes, C.R., Turner, M.W. and Soothill, J.F.: Transient IgA deficiency and pathogenesis of infantile atopy. *Lancet* 2, 111-113, 1973.
- 27) Deuschel, H., Johansson, S.G.O. and Fagerberg, E.: IgE, IgG and IgA antibodies in serum and nasal secretion during paraenteral hyposensitization. *Clin. Allergy* 7, 315-324, 1977.

IgG, IgA AND IgM ANTIBODIES TO MITE (*DERMATOPHAGOIDES FARINAE*) IN SERA AND NASAL SECRETIONS FROM PATIENTS WITH ALLERGIC RHINITIS

Yoichi Hatano, Akiyoshi Konno and Kiyoshi Togawa

Department of Otolaryngology, Akita University, School of Medicine

Kazuki Miura

Second Department of Internal Medicine, Akita University, School of Medicine

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure specific IgG, IgA and IgM antibody titers to mite (*Dermatophagoides farinae*) in sera from patients with allergic rhinitis and normal individuals. These antibody titers were also measured by ELISA in nasal secretions from patients with allergic rhinitis.

IgG and IgA antibody titers to mite in sera were significantly higher in patients with allergic rhinitis than in normal controls. A significant correlation was observed between IgG and IgA antibody titers to mite in sera from allergic patients. When the immunoglobulins were quantified, IgG antibody was found to be dominant in sera and IgA antibody in nasal secretions.

A significant correlation was observed between the IgG antibody titers in sera and in nasal secretions. The same tendency was obtained for IgM antibody. This could be due to plasma transudation caused by nasal allergen challenge. On the other hand, no significant correlation concerning IgA antibody titers was observed between sera and nasal secretions. This result could reflect abundant IgA antibody in nasal secretions which had been produced locally prior to nasal allergen challenge.

Thus, it is deemed that IgA antibody, as the main antibody in nasal secretion, might play an important role when allergens enter the nasal mucosa.