The Japanese Society of Allergology

アレルギー 33(1),
35-42, 1984(昭59)

気管支喘息患者血清中の抗IgE抗体の解析
(II) Enzyme Immunoassay (EIA) による測定法の確立

千葉大学医学部第二内科
繩田泰史　小池隆夫　岩本逸夫
冨岡玖夫　吉田　尚
成田赤十字病院内科
柳沢孝夫
富山医科薬科大学
熊谷　朗

Key words: anti-IgE autoantibody — bronchial asthma — enzyme immunoassay — IgE — immune complex

(受付：11月9日，1983)

緒　言

石坂らによるIgE抗体の発見[1]以来，気管支喘息をはじめとするアトピー性疾患において，IgE抗体が重要な役割を果たしていることはよく知られてきている．しかし，このIgE抗体の産生を調節制御する機構，ならびに実際の病態の中でIgE抗体を介して作用している機序の詳細に関しては，現在なお解明の途上にあるにすぎない．このうちIgE抗体の産生を調節する機構に関しては，近年動物[2)-6)]およびヒト[7)-9)]において，IgEと親和性を有する因子を介した制御機構が解明されつつある．

気管支喘息の病態を明らかにして，より良い治療指針を見いだすためには，ヒトにおけるIgE抗体産生からIgE依存性のアレルギー反応に至るまでの調節の機序を解析することが重要であると考えられた．したがって我々は気管支喘息患者血清をもちいてその解析をすすめている．

radioallergosorbent test (RAST) による抗原特異的IgE抗体の測定を阻害する因子として，気管支喘息患者血清中には，いわゆるblocking antibody[10)11)] (抗原特異的IgG抗体) とは別に「抗IgE抗体様物質」が存在することは既に報告してある[12)]．

最近我々は，IgGクラスの抗IgE自己抗体を特異的に，しかも鋭敏に検出可能なenzyme immunoassay (EIA) を確立した．さらに本測定法をもちいて，気管支喘息患者血清中の抗IgE自己抗体を検討したので報告する．

Abbreviations: **EIA** enzyme immunoassay; **FCS** fetal calf serum; **PBS** phosphate buffered saline; **PRIST** paper radioimmunosorbent test; **RAST** radioallergosorbent test; **RF** rheumatoid factor; **SD** standard deviation; **SpA** staphylococcal protein A

対象および方法

1. 血清：千葉大学第2内科アレルギー外来にて経過観察中の気管支喘息患者61名 (男40名，女21名) を対象とした．アトピー型喘息群43名(男29名，女14名) は *Dermatophagoides pteronyssinus* (ダニ) 抗原に対する皮膚反応が陽性で，特異IgE抗体 (RAST) および血清総IgE値 (PRIST) も高く，吸入試験陽性の患者血清である．非アトピー型喘息群18名 (男11名，女7名) はダニ抗原を含む30種類の抗原により皮膚反応が全て陰性で抗原が不明であり，アトピー歴もなく，血清総IgE値も低値を示す患者血清である．一方正常対照群15名 (男10名，女5名) としては，アトピー歴がなく，血清総IgE値100IU/ml以下の健常人血清をもちいた．なお血清は全て−20℃に凍結保存したものを室温融解後高速遠心 (30000×g，30分) したのちに測

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

定にもちいた.

2. 測定法 (EIA): (Fig. 1)

1) 精製したヒトIgE骨髄腫蛋白 (20μg/ml) をpolyvinyl chrolide製のmicrotiter plate (Dynatech) の各ウェルに50μl加え, 4℃で一晩インキュベートしてプレートにIgEを結合させた.

2) phosphate buffered saline (PBS)で3回洗浄後, 10%fetal calf serum (FCS) 加PBS 200μlを加えて室温で2時間反応させ, IgE結合部以外のウェルの壁をブロックした.

3) PBSで5回洗浄後, サンプルとして10倍希釈した被検血清50μlを加えて22℃で一晩インキュベートし, プレート上に既に結合しているIgEに, 被検血清中のIgEと結合しうる物質を反応させる.

4) 0.05% Tween 20・PBS (PBS・Tw) で10回洗浄後, Alkaline phosphatase (Sigma) をラベルしたマウスモノクローナル抗ヒトIgG抗体 (Wako) を加え, 室温で1時間反応させた.

5) PBS・Twでさらに10回洗浄後, 基質としてpara-nitrophenyl phosphate (Sigma)を加えて発色させ, 吸光光度計Microelisa Auto Reader, MR 580 (Dynatech) をもちいてOD 405nmを測定した.

6) 被検血清のIgE結合活性としては, プレートにIgEを結合させない場合の値, およびサンプルを加えない場合の値をbackgroundとしてさし引いて表わした. 各実験はtriplicateで行い, 2回以上の実験結果の平均値を測定結果とした.

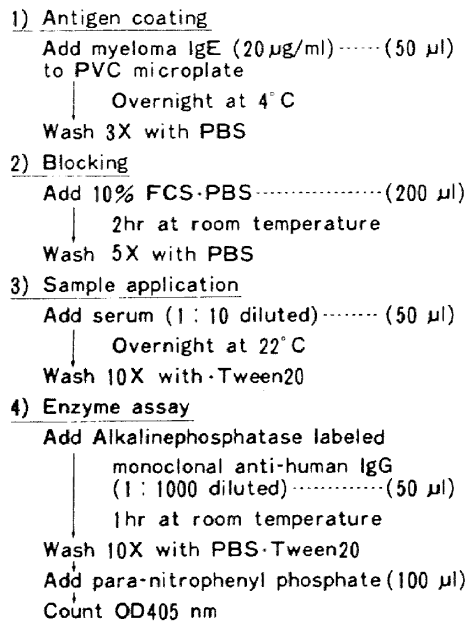

Fig. 1. Procedure of EIA for the detection of anti-IgE antibody.

7) 抗IgE抗体価は, IgE結合活性が高値を示した気管支喘息患者血清を標準血清としてもちい, これを100 unitsと設定して被検血清の抗体価を算定した.

3. 競合阻害法による特異性の検討: 患者血清を希釈し一定のIgE結合活性を示す検体200μlと, 各クラスのヒト免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) の希釈列(200μg/ml-1.56μg/ml)とを等量に加え, あらかじめ4℃にて一晩反応させておく. 次に前述のEIAをもちいて, この検体のIgE結合活性を測定した. 一定のIgE結合活性の測定を各免疫グロブリンが阻害する程度を, 阻害率 (% inhibition) で表した.

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times \left\{ 1 - \frac{(\text{各免疫グロブリン}+\text{標準血清})\text{中の IgE 結合活性}}{\text{標準血清中の IgE 結合活性}} \right\}$$

4. 吸収試験: 精製したヒト骨髄腫IgE (TF)[13], ヒトIgGおよびウサギ抗ヒトIgGを各々CNBr-activated Sepharose 4B (Pharmacia) に結合させimmunoadsorbentsを作成した. 希釈患者血清を各adsorbentに加え, 4℃で一晩攪拌反応させるbatch法により吸収した. コントロールとしては, monoethanolamineにより十分にブロックしたSepharose 4Bをもちいた.

5. IgE: EIAにもちいたヒトIgE (NS) は, IgE (κ型) 骨髄腫の患者血清[14]より, DEAE cellulose (DE-52, Whatmann)およびSephadex G-200 (Pharmacia) を使用して分離精製[15]したIgE蛋白をもちいた. 精製IgE中には, モノクローナル抗ヒトIgG抗体をもちいたEIAで測定したかぎりではIgGの混入はなく, 本測定法への影響は全くなかった. 他のクラスの免疫グロブリンの混入も認められなかった.

競合阻害法および吸収試験にもちいた他の2例のIgE (TF), IgE (KZ) も同様に精製してもちいた. IgE蛋白量はPhadezyme IgE PRIST (Pharmacia) をもちいて測定した.

6. 各クラス免疫グロブリンおよび抗血清: ヒトIgGは健常人プール血清の33%飽和硫安分画をDEAE cellulose (DE-52)をもちいて精製した. IgAおよびIgDはヒト骨髄腫患者血清をもちいた. IgMはCappel社より購入した. 各々の標品は特異抗血清をもちいたゲル内沈降反応にて各クラスの免疫グロブリンを十分に含有することを確認した.

EIAにもちいた酵素結合抗ヒトIgG抗体は, マウスモノクローナル抗ヒトIgG (Wako) にAlkaline-

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

phosphatase (Sigma) を結合させたものをもちいた．吸収試験にもちいた抗 IgG 抗体は，精製したヒト IgG をウサギに免疫して当研究室で作成したもの，およびウサギ抗ヒト IgG (Cappel 社製) を使用した．

7. データの統計処理：有意差検定には Student's t-test をもちいた．

結　果

1. enzyme immunoassay (EIA) による抗 IgE 自己抗体の検出方法

本測定法をもちいて正常人および気管支喘息患者血清を検索した結果，喘息患者群ではアトピー型・非アトピー型共に，IgE 結合活性をもつ IgG クラスの抗 IgE 自己抗体が正常人群に比べて有意に認められた．

Fig. 2 は，IgE 結合活性を示す喘息患者血清の血清希釈系列における結合活性の測定結果である．この喘息患者血清では IgE 結合活性が用量依存性に認められるが，対照としてもちいた正常人血清では認められない．

次に本法の測定条件について検討した．プレート結合 IgE に対して被検血清を反応させる温度を調べると，Fig. 3 に示すように室温に近い22℃で最も反応が良く，4℃や37℃ではむしろ低下がみられた．またこの反応時間を検討すると，Fig. 4 に示すように 1 時間前後の短時間では反応が不完全であり，4 時間以上の長時間の反応が必要であった．したがって本法では22℃で14-16時間の条件で測定した．

一方患者血清を56℃で 4 時間加熱して IgE を変性

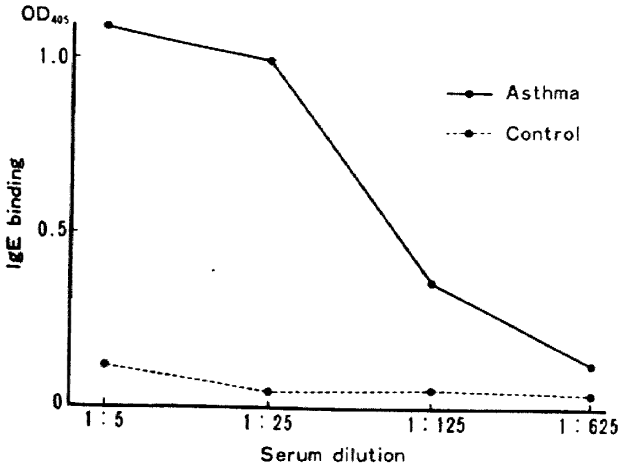

Fig. 2. Representative IgE binding activity of the serum from an asthmatic patient.

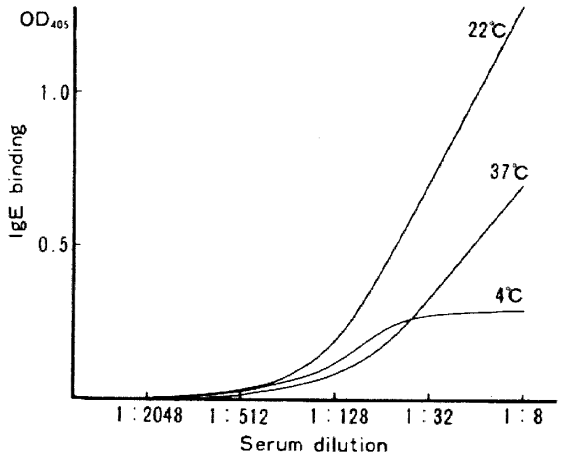

Fig. 3. Effect of temperature on the IgE binding activity.

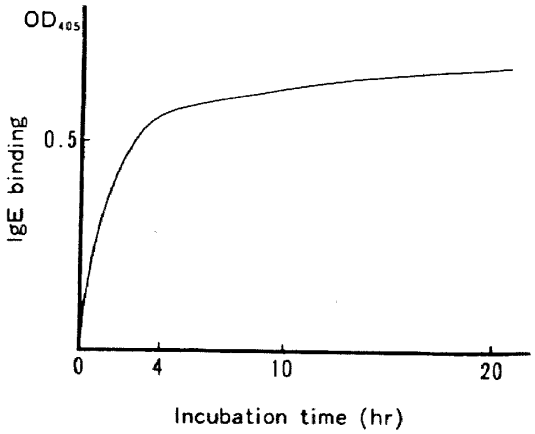

Fig. 4. Effect of incubation time on the IgE binding activity.

失活させてもその IgE 結合活性には影響がなく，本自己抗体が耐熱性であることを示している (Fig. 5)．

2. 抗 IgE 自己抗体の特異性の検討

上記の方法により検出された気管支喘息患者血清中の抗 IgE 自己抗体の特異性について，3 例の相異なるヒト骨髄腫 IgE をもちいた 2 種類の方法により検討した．

1) 競合阻害法：喘息患者血清中の抗 IgE 自己抗体の IgE 結合活性が IgE に特異的であることを証明するために，その活性の測定が他のクラスの免疫グロブリンにより阻害されるか否かを検討した．

Fig. 6 にその結果を示すが，阻害物質として IgE をもちいた場合には，異なる 2 例のヒト骨髄腫 IgE (IgE (NS), IgE (KZ)) によりほぼ同様に最高90%に達する用量依存性の強い阻害が認められた．しかし他のクラスの免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM, IgD) にては全く阻害されなかった．このことは本測定法では IgE に

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

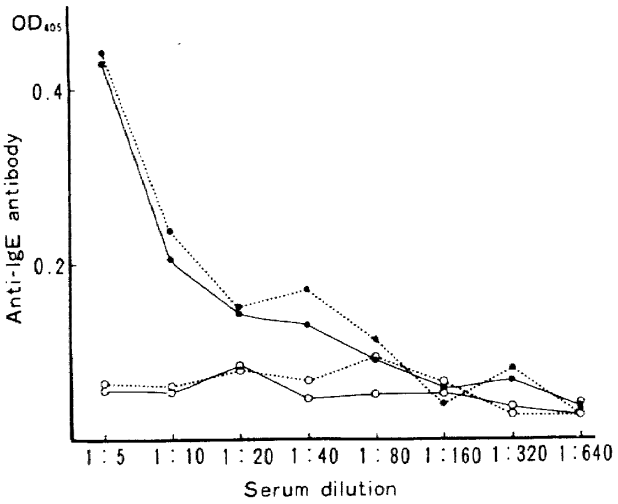

Fig. 5. Heat stability of anti-IgE antibody. Asthmatic serum: —●— no treatment; ···●··· heat treated. Normal serum: —○— no treatment; ···○··· heat treated.

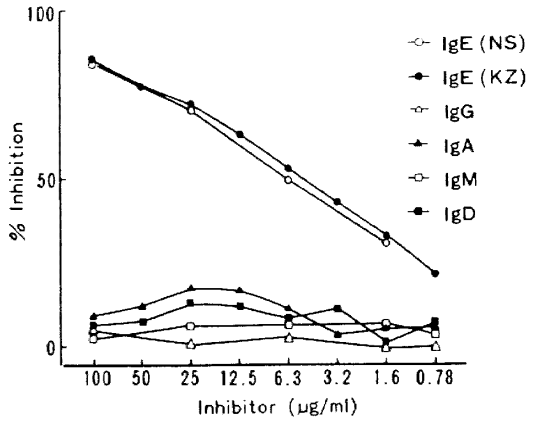

Fig. 6. (1)Competitive inhibition EIA by human immunoglobulins of each class.

特異的なIgE結合活性を検出し得ていることを示している.

2) 吸収試験：さらに，抗IgE自己抗体の特異性や性状を検討するために，以下に述べる免疫グロブリンおよび抗体を結合させたimmunoadsorbentsをもちいて患者血清中の抗IgE自己抗体の吸収試験を行った.

その結果をFig. 7に示す．本自己抗体はEIAの抗原としてもちいたものとは異なるヒト骨髄腫IgE(TF)にても吸収された．またウサギ抗ヒトIgG抗体でもほぼ完全に吸収された．しかしプール血清から精製したヒトIgGでは全く吸収されなかった．また，実験結果は表示しないが，吸収にもちいたIgEおよび抗IgG結合immunoadsorbentから0.175M glycine HCl buffer, pH 2.5をもちいて溶出したところ，溶出液中に

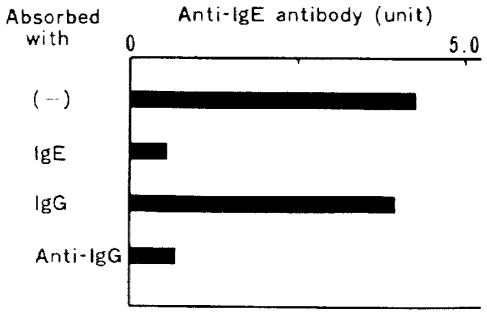

Fig. 7. (2)Absorption of IgE binding activity by immunoadsorbents.

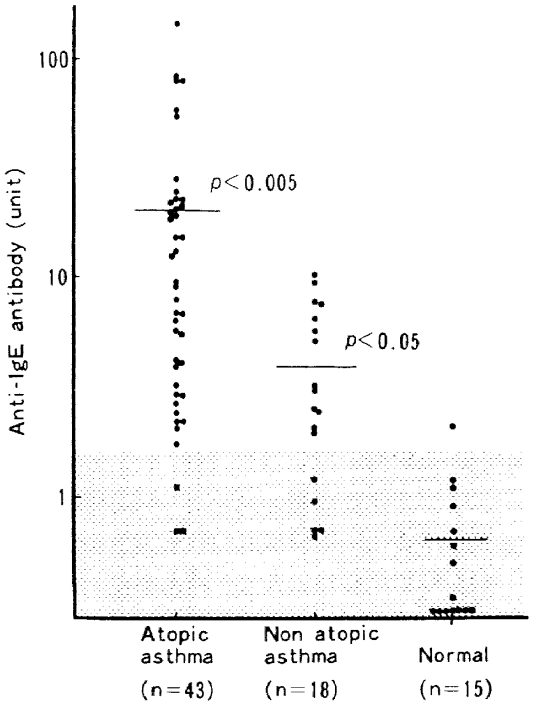

Fig. 8. Levels of anti-IgE antibody in asthmatic patients and normal controls. Shaded area represents the mean±2SD for normal control group. Difference in levels of the anti-IgE antibody between asthmatic patients and normal controls are significant.

はIgE結合活性をもつIgGを同定することができた.

以上の結果は前述の競合阻害法の結果とも一致しており，本法ではIgGクラスの抗IgE自己抗体を検出していることが確認された.

3. 気管支喘息患者血清中の抗IgE自己抗体

以上のごとく抗IgE自己抗体を特異的に測定しうるEIAをもちいて，当科外来通院中の気管支喘息患者(アトピー型43例，非アトピー型18例)および正常人(15例)血清中の抗IgE自己抗体を検索した.

その結果をFig. 8に示す．正常人群のmean+2SD

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

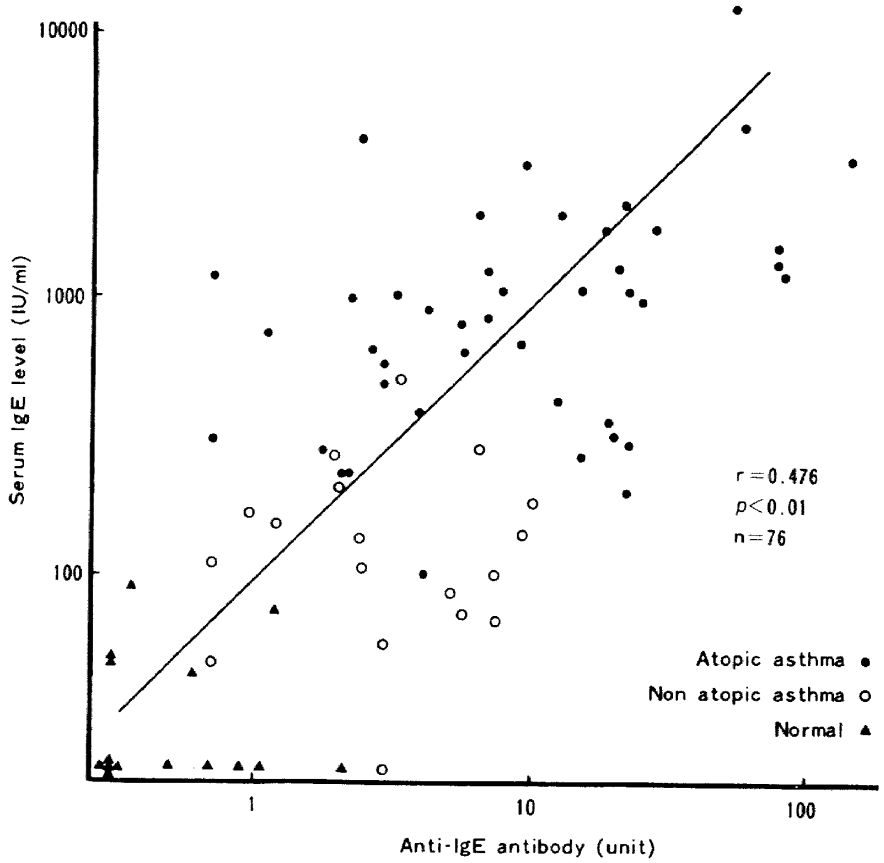

Fig. 9. Correlation between the total serum IgE levels and the anti-IgE antibody.

を越す値を本自己抗体陽性とすると，アトピー型喘息群43例中40例(95.5%)，非アトピー型喘息群18例中13例（72.2%）で陽性であった．

抗体価については，正常人群(0.69±0.53units に比べて，アトピー型喘息群では（20.0±28.4 units, $p<0.005$)，非アトピー型喘息群では（3.95±3.03units, $p<0.05$）と喘息群で有意に高値を示した．

4. 抗 IgE 自己抗体と IgE

Fig. 8 でみられたように本自己抗体はアトピー型喘息群で最も高値であったことから，次に，抗 IgE 自己抗体価と総 IgE 値との間の相関を調べた．

Fig. 9 はその結果で，同一の検体をもちいて両者を測定した結果を対数に変換しプロットしたものである(総 IgE 値の測定には Phadezyme IgE PRIST をもちいた)．

抗 IgE 自己抗体価と総 IgE 値との間には，我々の検索した症例全体においても（n=76, r=0.476, $p<0.01$)，気管支喘息群においても(n=61, r=0.435, $p<0.01$)，アトピー型喘息群においても(n=43, r=0.390, $p<0.01$）ともに有意な正の相関が認められた．

考　案

気管支喘息患者血清中の抗原特異的 IgE 抗体を測定する方法として radioallergosorbent test (RAST)が知られている．その測定を阻害する因子として抗原特異的 IgG 抗体（いわゆる blocking antibody）が存在することは，Zimmermann ら[10]や Gleich ら[11]により報告されているが，我々はそれ以外の RAST 阻害因子として抗 IgE 抗体が存在する可能性を見いだし既に報告した[12]．このたび抗 IgE 抗体を特異的にかつ鋭敏に検出可能な enzyme immunoassay を確立し，気管支喘息患者血清中に本自己抗体が存在することを確認した．

本測定法は，モノクローナル抗ヒト IgG 抗体をもちいて，血清中に存在する IgG クラスの抗 IgE 自己抗体を検出する方法である．本自己抗体は健常人血清中には殆んど認められないが，気管支喘息患者血清中には有意に高値かつ高率に認められた（Fig. 2，Fig. 8）．

本自己抗体の IgE 特異性については，3 例の相異なるヒト IgE 骨髄腫蛋白をもちいた 2 種類の方法により検討した．

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

まず第1に各クラスのヒト免疫グロブリンをもちいた競合阻害法を行った結果，本自己抗体の測定は2例のヒトIgEによりほぼ同程度の強い阻害を受けたが，他のクラスの免疫グロブリンでは全く阻害されなかった（Fig. 6）.

第2にimmunoadsorbentによる吸収試験を行った結果，本自己抗体は3例目のヒトIgEでも吸収されたが，プール血清から精製したIgGでは全く吸収されなかった（Fig. 7）.

本自己抗体は，κ鎖およびλ鎖を含むプールIgGで全く吸収されないことから抗L鎖（κ, λ）抗体でないことは明らかである．さらに，本自己抗体はイディオタイプが異なると考えられる3種類のIgEに結合することから抗イディオタイプ抗体とは考えられず，IgEのε鎖に特異的な「抗ε鎖抗体」であると考えられた.

本測定法をもちいて気管支喘息患者血清および正常人血清中の本自己抗体を測定したところ，気管支喘息群ではアトピー群・非アトピー群共に高率に検出されたが，アトピー群でより高率であり，抗体価もアトピー群では非アトピー群よりも高い傾向がみられた（Fig. 8）．さらに，データは示さないが健常人でもアトピー歴があり，血中総IgE値の高い者には本自己抗体が軽度に検出されている.

以上の結果から，本自己抗体とIgEとの関連が示唆されたので，同一サンプルをもちいて抗IgE自己抗体価と総IgE値を測定し検討した．その結果両者の間には全症例においても，気管支喘息群においても，またアトピー型喘息群においてもそれぞれ有意な正の相関が認められた（Fig. 9）.

これらの事実は，本自己抗体が気管支喘息患者血清中においてIgEと何らかの相互関連をもって存在していることを示唆している．特に本自己抗体がIgEと免疫複合体を形成している可能性が高いが，実際に最近我々はゲル濾過をもちいた解析で，気管支喘息患者血清中にIgE-抗IgE免疫複合体が存在することを示す結果を得ており現在さらに検討中である.

免疫グロブリンに対する抗体としては，いわゆるrheumatoid factor（RF）が良く知られている．これは凝集IgGのFc部分上の抗原に対する抗体であり主としてIgMクラスであるが，他のクラスのRFも報告されており最近ではIgEクラスのRF[16]も報告されている．また，IgGに対する抗体以外にもIgA欠損症における抗IgA抗体や[17]，正常血清中の抗IgM抗体[18]の報告があるが，最近リウマチ性疾患における抗IgD抗体の存在も報告[19][20]されてきている.

前述のIgEクラスのRFは凝集IgGに対するIgEクラスの抗体であり，我々の報告したIgEに対するIgGクラスの抗体とは異なるものである．我々のもちいた3種のIgE骨髄腫蛋白に抗IgG活性がないことは明らかである.

IgEに対する抗体に関しては，1972年にWilliamsら[21]が，IgE結合赤血球の凝集反応をもちいてIgMクラスの抗IgE抗体を検出したと報告しているが，IgGクラスの抗体は検出されず，また抗IgE抗体価と総IgE値との間には相関はなかったとしている．我々もEIAをもちいてIgMクラスの抗IgE抗体を検索したが，測定値のbackgroundが高く競合阻害でもIgE特異的な抗体は認められず，IgMクラスの抗IgE抗体の存在の有無は不明であった.

また最近Inganäsら[22]は，アレルギー疾患血清中にIgEおよびstaphylococcal protein A（SpA）と結合しうる物質を^{125}I標識IgEをもちいて検出し，anti-IgE antibodyとして報告している．正常人の30-40%に検出されており，アトピー型喘息でも陽性率は70%程度であるが非アトピー型喘息での検索はされていない．この物質は加熱処理により著明に検出されるとしているが，SpAと結合しうるいくつかの物質を含む可能性があり，測定法が異なるため我々の報告したIgGクラスの抗IgE抗体との異同は不明である.

近年，IgEと結合しうる因子を介してIgE-B細胞に作用しIgEの産生を調節する機構が，動物，ヒトともに解明されつつある．IgE binding factor[2][7]（potentiating[3], suppressive[4]）が良く知られているが，suppressive factor of allergy（SFA）[5][8], enhancing factor of allergy（EFA）[5]も同様の因子を介して作用すると考えられている．これらとは別に抗イディオタイプ抗体によるイディオタイプ特異的な調節機構も知られている[6][9]．本自己抗体もIgE-B細胞などに作用してIgE産生の調節に関与する可能性が考えられる.

また本自己抗体が，即時型反応の効果相においてmast cellやbasophile上のIgEに作用してchemical mediatorの遊離機構に関与する可能性も考えられる.

一方前述のごとく，本自己抗体は気管支喘息患者血清中でIgEとの免疫複合体を形成している可能性が十分にある．凝集IgEには補体活性化能がない[23]とされているが，IgEを含む免疫複合体が補体を活性化し

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

うるとの報告[24]もあり，IgGクラスの本自己抗体とIgEとの免疫複合体が補体を活性化し作用する可能性が考えられる．また最近，in vitroで作成したIgE-anti IgE soluble immune complexがヒト好中球の遊走を抑制するとの報告[25]もあり，IgE免疫複合体がレセプターを有する細胞群に対し作用する可能性も考えられる，

以上の事実から，本自己抗体とIgEにより形成されるIgE-抗IgE免疫複合体が，生体内において何らかの生物活性を示し気管支喘息の病態を修飾する可能性が強く示唆された．

結　語

気管支喘息患者血清中のIgGクラスの抗IgE自己抗体を検出しうるEIAを確立した．本測定法の特異性は2種の方法および3例のヒト骨髄腫IgEをもちいて検討した．本測定法はモノクローナル抗体，およびマイクロプレートによる酵素抗体法をもちいており，本自己抗体を鋭敏に検出可能であり，かつ多検体を処理しうる簡便な方法である．

本測定法により検出された抗IgE自己抗体が，気管支喘息の病態において実際にいかなる役割を果たしているのかは現在のところ不明であるが，いくつかの可能性が考えられ今後さらに検討を要するものと考えられた．

稿を終るにあたり，御指導を賜りました千葉大学医学部附属環境疫学研究施設免疫研究部谷口克教授，ならびに柏戸病院内科板谷喬起先生に深謝いたします．

なおIgE骨髄腫患者血清を提供していただいた国立佐倉病院整形外科木村純先生に深謝いたします．

文　献

1) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Hornbrook, M. M.: Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* **97**, 75-85, 1966.
2) Yodoi, J. and Ishizaka, K.: Lymphocytes bearing Fc receptors for IgE. IV. Formation of IgE-binding factor by rat T lymphocytes. *J. Immunol.* **124**, 1322-1329, 1980.
3) Suemura, M., Yodoi, J., Hirashima, M. and Ishizaka, K.: Regulatory role of IgE-binding factors from rat T lymphocytes. I. Mechanism of enhancement of IgE response by IgE potentiating factor. *J. Immunol.* **125**, 148-154, 1980.
4) Hirashima, M., Yodoi, J. and Ishizaka, K.: Regulatory role of IgE binding factors from rat T lymphocytes. III. IgE-specific suppressive factor with IgE binding activity. *J. Immunol.* **125**, 1442-1448, 1980.
5) Katz, D.H., Bargatze, R.F., Bogowitz, C.A. and Katz, L.R.: Regulation of IgE antibody production by serum molecules. IV. Complete Freund's adjuvant induces both enhancing and suppressive activities detectable in the serum of low and high responder mice. *J. Immunol.* **122**, 2184-2199, 1979.
6) Blaser, K., Nakagawa, T. and de Weck, A.L.: Suppression of the BPO-specific IgE formation with isologous anti-idiotypic antibodies in BALB/c mice. *J. Immunol.* **125**, 24-30, 1980.
7) Ishizaka, K. and Sandberg, K.: Formation of IgE binding factors by human T lymphocytes. *J. Immunol.* **126**, 1692-1696, 1981.
8) Zuraw, B.L., Nonaka, M., O'Hair, C.H. and Katz, D.H.: Human IgE antibody synthesis in vitro: Stimulation of IgE responses by pokeweed mitogen and selective inhibition of such responses by human suppressive factor of allergy (SFA). *J. Immunol.* **127**, 1169-1177, 1981.
9) Geha, R.S. and Comunale, M.: Regulation of immunoglobulin E antibody synthesis in man by antiidiotypic antibodies. *J. Clin. Invest.* **71**, 46-54, 1983.
10) Zimmermann, E.M., Yunginger, J.W. and Gleich, G.J.: Interference in ragweed pollen and honey bee venom radioallergosorbent test. *J. Allergy Clin. Immunol.* **66**, 386-393, 1980.
11) Gleich, G.J., Zimmermann, E.M., Gleich, M.C. and Yunginger, J.W.: Measurement of IgG blocking antibodies by interference in the radioallergosorbent test. *J. Immunol.* **126**, 575-579, 1981.
12) 柳沢孝夫，縄田泰史，岩本逸夫，小池隆夫，板谷喬起，冨岡玖夫，熊谷　朗：気管支喘息患者血清中の抗IgE抗体の解析．アレルギー **32**, 87-94, 1983.
13) 奥村　通，奥村岱造，奥村　康：IgE骨髄腫の1例．臨床免疫 **12**, 221-223, 1980.
14) 木村　純，鈴木直人，冨岡玖夫，高橋英則：IgE骨髄腫の1例．臨床血液 **22**, 1469-1477, 1981.
15) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Lee, E.H.:

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

Biologic function of the Fc fragments of E myeloma protein. *Immunochemistry* 7, 687-702, 1970.

16) 水島 裕, 星 恵子, 東海林洋子：IgE リウマトイド因子に関する研究. リウマチ 21, 116-120, 1981.

17) Fudenberg, H.H., Gold, E.R., Vyas, G.N. and MacKenzie, M.R.: Human antibodies to human IgA globulins. *Immunochemistry* 5, 203-206, 1968.

18) MacKenzie, M.R., MacKey, G. and Fudenberg, H.H.: Antibodies to IgM in normal human sera. *Nature (Lond.)* 216, 691-693, 1967.

19) Mellbye, O.J., Hoyeraal, H.M., Michaelsen, T. and Natvig, J.B.: Human anti-immunoglobulin antibodies with specificity for native and pepsin digested IgD. *Clin. Exp. Immunol.* 20, 479-488, 1975.

20) Pope, R.M., Keightley, R. and McDuffy, S.: Circulating autoantibodies to IgD in rheumatic diseases. *J. Immunol.* 128, 1860-1863, 1982.

21) Williams, R.C., Griffiths, R.W., Emmons, J.D. and Field, R.C.: Naturally occuring human antiglobulins with specificity for γE. *J. Clin. Invest.* 51, 955-963, 1972.

22) Inganäs, M., Johansson, S.G.O. and Bennich, H.: Anti-IgE antibodies in human serum: Occurence and specificity. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 65, 51-61, 1981.

23) Ishizaka, T., Ishizaka, K., Bennich, H. and Johansson, S.G.O.: Biologic activities of aggregated immunoglobulin E. *J. Immunol.* 104, 854-862, 1970.

24) Brostoff, J., Carini, C., Wraith, D.G. and Johns, P.: Production of IgE complexes by allergen challenge in atopic patients and the effect of sodium chromoglycate. *Lancet* 1, 1268-1270, 1979.

25) Ito, S., Shinomiya, K. and Mikawa, H.: Suppressive effect of IgE soluble immune complex on neutrophil chemotaxis. *Clin. Exp. Immunol.* 51, 407-412, 1983.

ANTI-IgE ANTIBODY IN THE SERA FROM ASTHMATIC PATIENTS
(II) Establishment of Enzyme Immunoassay

Yasushi Nawata, Takao Koike, Itsuo Iwamoto,
Hisao Tomioka and Sho Yoshida
The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Chiba University
Takao Yanagisawa
Narita Red Cross Hospital
Akira Kumagai
Toyama Medical-Pharmaceutical University

We have established a solid-phase enzyme immunoassay (EIA) for anti-IgE autoantibody of IgG class. The specificity of this autoantibody was confirmed by both competitive inhibition and absorption experiments using human IgG, IgA, IgM, IgD and three different IgE myeloma proteins. The anti-IgE autoantibody was detected in 40/43 (95.5%) of atopic asthma patients and in 13/18 (72.2%) of non-atopic asthma patients. Significant difference in levels of the anti-IgE autoantibody was observed between normal controls and asthmatic patients, in atopic ($p<0.005$) and in non-atopic ($p<0.05$). Significant correlation was observed between levels of the anti-IgE autoantibody and total IgE levels ($r=0.476$, $p<0.01$).

NII-Electronic Library Service