

高 IgE 症候群患者の免疫学的検討

—黄色ブドウ球菌特異 IgG 抗体および IFN- γ について—

秋田大学医学部第二内科

須藤まき子 塩谷隆信 三浦一樹 三浦 傳

18歳男性で長期にわたるアトピー性皮膚炎とブドウ球菌性膿瘍を繰り返す症例が高 IgE 症候群であった。我々は本患者において黄色ブドウ球菌抗原で刺激した末梢血由来単核球の IFN- γ 産生とブドウ球菌特異 IgG サブクラス抗体の測定を行った。

IgG1, IgG3, IgG4は健常者より高値であったが, IgG2に関しては健常者のそれより低値を示した。非プロテイン A 産生黄色ブドウ球菌抗原で刺激された IFN- γ はほぼ健常者の値と同じであった。さらに IFN- γ の mRNA も正常に発現していた。

我々は高 IgE 症候群において IgG1, IgG3, IgG4が高値, IgG2の低値を示した1例を報告した。

Key words: hyper-IgE syndrome — IgG subclasses — interferon-gamma — interleukin-4 — Job's syndrome

はじめに

高 IgE 症候群 (hyper-IgE syndrome) は皮膚・肺を主病巣とした反復性のブドウ球菌感染症と血清 IgE 値の高値を特徴とする原発性免疫不全症である¹⁾²⁾。我々は本症候群患者の1例を経験し、本症患者血清黄色ブドウ球菌特異抗体を IgE および IgG サブクラス、さらに interferon- γ (IFN- γ) について検討したので報告する。

症例: T.M. 18歳, 男性。

主訴: 咳嗽, 喀痰。

家族歴: 特記すべきことはない。

既往歴: 乳幼児時期から中耳炎, 副鼻腔炎, 肺炎に繰り返し罹患し, 入退院を繰り返していた。4歳時, 急性肺炎, 膿胸, 皮下膿瘍, 10歳時歯肉膿瘍に罹患した。

現病歴: 昭和53年4歳時には高 IgE 血症があることがすでに知られていた。昭和62年13歳時, 発熱, 喀痰, 咳嗽の増悪を機会に当科紹介となった。

初診時現症: 身長162cm, 体重44kg, 体温36.2℃, 血圧92/70mmHg, 脈拍72/分, 整。表在リンパ節触知

せず。顔面全体および上腕, 体幹, 背面に皮下膿瘍後の瘢痕あり。胸部聴診では両側肺野に軽度の fine crackles および rhonchi を聴取した。

診断と経過: 初診時 IgE 値が42795U/ml と高値を示し, アレルギー性疾患の合併もなく皮膚および肺の易感染性より高 IgE 症候群と診断した。

検査成績: 胸部 X 線写真では両側下肺野に輪状陰影が多数認められた(図1)。初診時検査成績を表1に

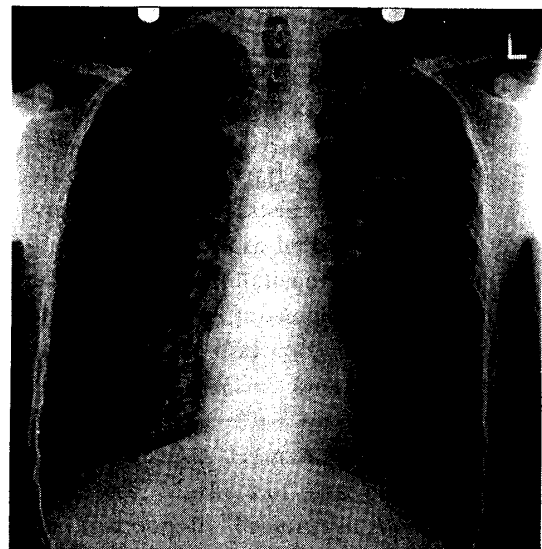


Fig. 1. Posteroanterior chest radiograph chest radiograph shows bilateral reticular shadows in both lower lung fields suggesting bronchiectasis.

Received: April 22, 1993

Accepted: October 8, 1993

Table 1 Laboratory data of the patient

ESR	58/92 mm/hr	GPT	6 U/L	IgA	252 mg/dl
CRP	2.7 mg/dl	ALP	102 U/L	IgM	374 mg/dl
RA	negative	LDH	163 U/L	IgD	36.3 mg/dl
ASLO	144 Todd unit	LAP	118 U/L	IgE	42795 U/ml
RCB	$453 \times 10^4 / \text{mm}^3$	γ -GTP	13 U/L	Blood gas analysis	
Ht	41.2 %	Urinalysis		PO ₂	68.5 mmHg
Platelets	$28.1 \times 10^4 / \text{mm}^3$	Protein	(-)	PCO ₂	40.5 mmHg
WBC	9100 /mm ³	Sugar	(-)	pH	7.386
BAND	3 %	Urobilinogen	(±)	HCO ₃	24.1 mEq/L
Seg	29 %	Sed	clear	BE	-0.6 mEq/L
Eo	9 %	BUN	11 mg/ml	SO ₂	91.9 %
Ba	1 %	Cr	0.8 mg/ml	Lung function test	
Mo	6 %	FBS	98 mg/ml	VC	2.17 L
Lymph	54 %	T.B.	0.4 mg/dl	%VC	78.9 %
T.P.	8.4 g/ml	UA	6.8 mg/dl	FVC	2.25 L
Alb	55.7 %	T. chol	135 mg/ml	FEV _{1.0}	1.60 L
α_1 -globulin	3.7 %	AMS	174 U/L	FEV _{1.0} %	73.3 %
α_2 -globulin	10.7 %	CPK	57 U/L	Rrs	5.6 cmH ₂ O/L/sec
β -globulin	8.6 %	TTT	12 MU	PEFR	2.92 L/min
γ -globulin	21.3 %	ZTT	28.2 KU	$\dot{V}_{50}$	1.34 L/min
A/G	1.53	ChE	437 U/L	$\dot{V}_{25}$	0.54 L/min
GOT	13 U/L	IgG	3162 mg/dl	$\dot{V}_{50/25}$	2.4 L/min

示す。ESR 58mm/hr, 92mm/2hr, CRP 2.7mg と中等度の炎症反応の亢進がみられた。白血球数は9100/mm³と正常上限で好酸球は8%であった。生化学的検査には特に異常はみられなかった。免疫グロブリンはIgG 3162mg/dl と上昇, IgE は42795U/ml と著明な高値を示した。動脈血ガスではPaO₂ 68.5mmHg と低酸素血症がみられた。呼吸機能検査ではVC 2.17L, %VC 78.9%と軽度の拘束性障害がみられ, 呼吸抵抗は5.6cmH₂O/L/sec と増加していた。

初診時の一般細菌の喀痰培養では, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans* が検出された。また喀痰中には好酸球が多数認められた。

方 法

I) 黄色ブドウ球菌 (SA) 抗原の作成

黄色ブドウ球菌抗原 SA は Kessler (1986)³⁾の方法に準じて作製した。protein A 非産生黄色ブドウ球菌株 HLj 株(東京慈恵会医科大学第2細菌学教室より分与)を Brain Heart Infusion Broth で37℃で overnight culture した。培養液を4000×g で10分間遠心し, 得られた沈査を Dulbecco の Ca⁺⁺, Mg⁺⁺を除いた10

mM リン酸緩衝液 PBS (NaCl 8.0g/l, KCl 0.2g/l, Na₂HPO₄ 1.15g/l, KH₂PO₄ 0.2g/l) (以下 PBS) で3回洗浄し, その後室温で, 0.1% formalin 加 PBS にて30分処理を行った。さらに PBS で3回洗浄した菌体を Sonicator (Bronson 社製) を使い20KHz 3分間の超音波で破碎し, 乾燥重量あたり1mg/ml となるよう PBS で調整した。その黄色ブドウ球菌抗原 (SA) とし実験まで-20℃に保存した。抗原はすべて作製後3ヵ月以内に使用した。

II) 血清中 SA 特異 IgG サブクラスおよび IgE 特異抗体の測定

ポリスチレンプレートを用いた ELISA 法で測定した。すなわち上記 SA 抗原を PBS で10μg/ml に希釈し, ELISA 用96穴ポリスチレンプレート(住友ベークライト社製)に100μl/well ずつ分注し4℃で overnight incubation して SA を固着させた。10%FBS (fetal bovine serum, GIBCO)加10mM PBS をブロッキング液および希釈液として準備し, その200μl を各 well に注入し室温で4時間ブロッキングを行い, 非特異的なタンパク結合を抑制した。血清希釈は前述希釈液で行い, IgG1, IgG2, IgG3に関しては200倍希釈, IgG4については100倍希釈で, IgE は200倍希釈でそれぞれ37℃2時間反応させた。洗浄後, IgG サブクラスについては抗ヒト IgG サブクラスマウスモノクローナ

ル抗体 (IgG1, IgG4は University of Birmingham Research Institute 製, IgG2, IgG3は CALTAC Labo 製)を37℃で2時間反応させ, さらに peroxidase 標識抗マウスモノクローナル抗体(IMMUNOTECH Labo 製)を37℃で2時間反応させた. IgE については peroxidase 標識ヒト抗 IgE 抗体(Dako 製)を37℃で2時間反応させた. 発色には基質として0.0004% ortho-phenylenediamin を発色溶媒として0.0001%過酸化水素加 McIlvaine 緩衝液 (pH 4.5) を用い15分間発色後, 1 規定硫酸で反応を停止させ, EIA reader (BIORAD 社製)で492nm の吸光度を測定し, background 値を差し引いて OD 値で表示した.

III) 単核球の IFN- γ 産生能の測定

ヘパリン採血した血液を Ficoll paque (Pharmacia 社製)に重層し, 400×g で30分間遠心し, 単核球を得た. 単核球が PBS にて洗浄後 1×10^6 /ml になるように 10%FBS 加 RPMI1640培地 (ニッスイ)に浮遊させ, 1 μ g (乾燥重量)の上記 SA 抗原を添加して培養した. 培養後, 24, 48, 72時間, 7日後の培養上清中の IFN- γ を Medgenics 社製 IFN- γ ELISA キットを用い ELISA 法で測定した.

IV) 単核球中 IFN- γ mRNA の検出

Glisin ら⁴⁾, Ullrich ら⁵⁾の方法に従い行った. すなわち前述 III)の方法で得た SA 抗原未刺激単核球に4 mM guanidium isothiocyanate を加えホモジェナイズした. それに Buffer (Tris-HCl) で飽和した phenol : 0.1M 酢酸ナトリウム : クロロフォルム (1 : 0.5 : 1) を加え60℃下で10分間インキュベートした. 氷冷後1000×g で10分間遠心し, 水層に2倍量のエタノールを加え-20℃で数時間静置し RNA を沈殿させ, 再び1300×g で遠心して得られた沈査をエタノールで数回洗浄し, 減圧乾燥したものを全抽出 RNA として-70℃保存した. RNA は loading buffer (20mM Tris-HCl pH 7.6, 0.5M NaCl, 1mM EDTA, 0.1% SDS)に溶解, loading buffer で平衡化したオリゴ dT セルロースカラム (1ml)に吸着させ loading buffer で洗浄後, elution buffer (10ml Tris-HCl pH 7.6, 1mM EDTA, 0.05%SDS) で溶出させた後, エタノールで沈殿させ精製した.

バキュームブロット (バイオドット SF, BIORAD 社製)を用いてナイロンフィルターにスロットブロットし, 10mM の NaOH で変性後 Tris-HCl (pH 7.4) で pH を修正した. ついで³²P でラベルした IFN- γ cDNA probe (Oncogene Science Inc. 社製)を42℃

4時間ハイブリダイゼーションし, 洗浄後オートラジオグラフィーを行った. RNA 濃度は吸光度計で260 nm の吸光を測定し定量した.

成績

I. 黄色ブドウ球菌特異 IgG サブクラス抗体および同 IgE 抗体

ELISA 法でもとめた血清中黄色ブドウ球菌特異抗体はコントロールの OD 値が, IgG1は 0.126 ± 0.029 , IgG2は 0.138 ± 0.153 , IgG3は 0.065 ± 0.064 , IgG4は 0.157 ± 0.124 , IgE は 0.011 ± 0.008 で, 患者血清のそれは, duplicate の平均が IgG1で0.232, IgG2で0.032, IgG3で0.580, IgG4で0.587, IgE で0.148であった(表2). それぞれを比率でみると, IgG1が1.93, IgG2が0.231, IgG3が8.923, IgG4が3.378, IgE が13.45であった. 以上のように IgG2分画でのみ患者血清は著しい低値を示し, その他の分画ではコントロールよりも高値であった.

II. 患者血液由来単核球の黄色ブドウ球菌刺激による単核球の IFN- γ 産生能

患者血液由来単核球を黄色ブドウ球菌 SA 抗原で刺激した結果を図2に示す. SA を添加しない健常者のコントロールでは24時間, 48時間で検出限界以下, 72時間, 1週間では1.0U/ml, 1.5U/ml と極めて低値であったが, SA 添加したものでは, 24時間で27.4U/ml, 48時間で200U/ml, 72時間で404.4U/ml, 1週間では853.1U/ml と経時的に増加した. 患者由来単核球の SA を添加しないコントロールでは健常者と同様に24時間, 48時間で検出限界以下, 72時間, 1週間ではそれぞれ1.2U/ml, 4.1U/ml と極めて低値であったが, SA を添加したところ, 著しい高値を示し, duplicate 値の平均で24時間で42.1U/ml, 48時間で153.8U/ml, 72時

Table 2 Specific IgG subclass antibodies and IgE to *Staphylococcus aureus*

	Control (n=4)	Patient	Pat./Cont.
IgG ₁	0.126 ± 0.029	0.232	1.841 ± 0.550
IgG ₂	0.135 ± 0.045	0.032	0.237 ± 0.356
IgG ₃	0.065 ± 0.064	0.580	8.923 ± 0.039
IgG ₄	0.157 ± 0.124	0.587	3.783 ± 0.951
IgE	0.010 ± 0.008	0.148	14.80 ± 3.70

OD values are shown as mean $\pm$ standard error (n=4).
Control : healthy subjects

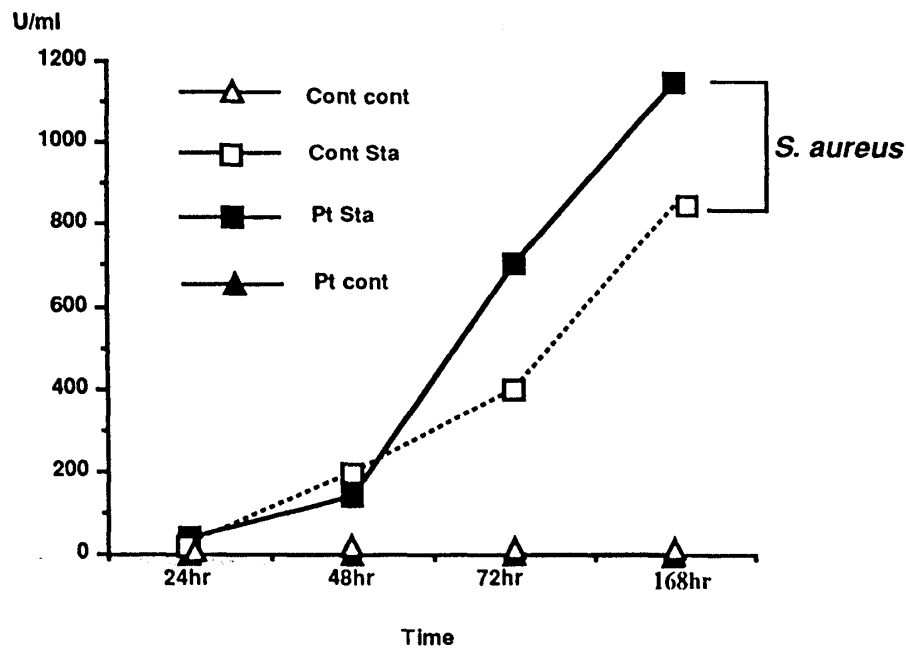


Fig. 2. Production of INF- γ from mononuclear cells stimulated by *Staphylococcus aureus*.

Abbreviation

Cont cont: INF- γ from mononuclear cells of healthy subjects without stimulated by *Staphylococcus aureus*.

Cont sta: INF- γ from mononuclear cells of healthy subjects stimulated by *Staphylococcus aureus*.

Pt cont: INF- γ from mononuclear cells of the patient without stimulated by *Staphylococcus aureus*.

Pt sta: INF- γ from mononuclear cells of the patient stimulated by *Staphylococcus aureus*.

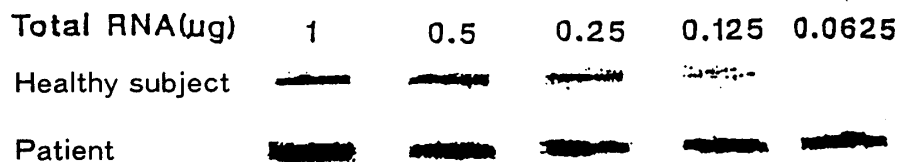


Fig. 3. Autoradiograph of IFN- γ mRNA. IFN- γ mRNA was detected at the dose of 0.0625 μ g total RNA in the patient.

間で706U/ml, 1週間で1158.4U/mlと増加を示した(図2)。

III. 患者血液由来単核球からの IFN- γ mRNA の検出

図3に検出された IFN- γ mRNA のオートラジオグラフィを示す。左から全 RNA 濃度は1 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, 0.125 μ g/ml, 0.0625 μ g/mlである。患者血液由来単核球では黄色ブドウ球菌未刺激ですでに IFN- γ mRNA が発現しているのが観察された。さらに正常者単核球で未刺激で0.0625 μ g/ml中では検出不可であったが本患者では明らかに検出可能であり、IFN- γ mRNA は発現していると考えられた。

考 察

高 IgE 症候群は、高 IgE 血症と黄色ブドウ球菌に対する易感染性を特徴とした疾患である。本症候群の免疫学的異常についてはこれまで様々に論じられてきたが一定の見解は得られていない。反復する感染にもかかわらず血清 IgG, IgA, IgM 値は一般に正常または軽度の増加にとどまるものが多く、高ガンマグロブリン血症を呈するものはないといわれている²⁾。本症例でも IgG 値, IgM 値はわずかに増加しているのみであった。黄色ブドウ球菌に対する易感染性の原因を検索す

るため本症例の血清中のブドウ球菌に対する特異抗体を健常者のそれと比較した。その結果、健常者と比較して IgG1, IgG3, IgG4 の ELISA 法による OD 値はそれぞれ 1.9 倍, 8.9 倍, 3.4 倍であったことより、これらの IgG 分画は産生が亢進していると考えられた。一方、IgG2 分画については健常者の 0.23 倍と低値となっていた。同様の成績は、Ishizaki ら⁶⁾、Leung ら⁷⁾により報告されている。本症候群において感染を繰り返す菌種が何故、黄色ブドウ球菌であるのかについては不明な点が多い。一般に IgG サブクラスのうち IgG1, IgG3 は年齢の若いうちに成人と同じレベルに達するが、IgG2, IgG4 は青年になるまで成人の域に達しないと言われている⁸⁾⁻¹⁰⁾。成人では細菌の蛋白成分には IgG1 が poly saccharide 成分に対しては IgG2 抗体が産生され感染防御にあたる¹¹⁾。小児では一部 poly saccharide に対して IgG1 抗体が産生されるが防御機構としての意味は少ないとされる¹¹⁾したがって IgG2 欠損がある場合には poly saccharide 成分の capsule を有する菌種である *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae* などの感染に弱くなる。黄色ブドウ球菌の場合は、リンを含む多糖体高分子であるタイコ酸が最も重要視されてきた¹²⁾。タイコ酸は IgG2 分画抗体への依存性が強いいためその関連性が考えられる。実際に、本症例では成長に伴いブドウ球菌感染は少なくなったが、喀痰からは恒常的にこれらの菌が検出されてきている。

IgG サブクラスの産生制御には、ヘルパー T 細胞とサブレッサー T 細胞が関与するが、なかでもマウスにおいては IgG2 分画の産生に IFN- γ が促進的に働き、その他の IgG サブクラスの産生を抑制することが見いだされている¹²⁾。そのため本症例の血液中の単核球を刺激して発生する IFN- γ の定量を行った。その結果、患者血液中の単核球からの IFN- γ は健常者のそれに比較して、24 時間および 48 時間ではほぼ同等で、72 時間後、さらに 1 週間後ではむしろ増加傾向にあった(図 2)。この成績は IFN- γ は低下しているという従来の報告と異なった。そこで IFN- γ の mRNA を slot-blot-hybridization により検討したところ mRNA は健常者のそれと比較して同等かそれ以上に発現しているのが確認された(図 3)。また、IFN- γ と同様、本疾患において IgE 産生や IgG サブクラスに関与が考えられる IL-4, IL-5 については患者の転居のため測定されなかった。

本症例では IFN- γ の低下を認めず、IgG2 分画の低

下の原因は明らかではないが IgG サブクラスの異常が高 IgE 症候群の易感染性に関連している可能性が考えられた。

まとめ

高 IgE 血症患者の 1 例を経験し免疫学的に検討した。その結果、黄色ブドウ球菌特異抗体を健常人と比較すると IgG1, IgG3, IgG4 は高値、IgG2 は低値であった。

プロテイン A 非産生株黄色ブドウ球菌抗原成分で高 IgE 血症患者の血液中の単核球を刺激して発生する IFN- γ の定量を行ったところ、従来の報告とは異なって IFN- γ は健常者と同レベルかそれ以上に産生されており、slot-blot-hybridization により検討したところ IFN- γ の mRNA 発現も正常に確認された。

文 献

- 1) Davis, S.D. and Schaller, J.: Job's syndrome: Recurrent "cold" staphylococcal abscesses. *Lancet* 1, 1013-1015, 1966.
- 2) 柴田瑠美子: 高 IgE 症候群. 小児科 *Mook* 43, 148-158, 1986.
- 3) Kessler, S.W.: Cell membrane antigen isolation with the staphylococcal protein A-antibody adsorbent. *J. Immunol.* 117, 1482-1490, 1986.
- 4) Glisin, V., Crkvenjakov, R. and Byus, C.: Ribonucleic acid isolated by cesium chloride centrifugation. *Biochemistry* 13, 2633-2637, 1974.
- 5) Ullrich, A. and Shine, J.: Rat insulin genes: Construction of plasmids containing the coding sequences. *Science* 96, 1313-1319, 1977.
- 6) Ishizaki, A., Joh, K., Shibata, R., Wagatsuma, Y., Nakanishi, M., et al.: Regulation of IgE and IgG₄ synthesis in patients with hyper IgE syndrome. *Immunology* 70, 414-416, 1990.
- 7) Leung, D.Y., Ambrosino, D.M., Arbeit, R.D., Newton, J.L. and Geha, R.S.: Impaired antibody responses in the hyperimmunoglobulin E syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 81, 1082-1087, 1988.
- 8) Oxelius, V.: IgG subclass levels in infancy and childhood. *Acta Paediatr. Scand.* 68, 23-27, 1979.

- 9) Morell, A., Skvaril, F., Hitzig, W.H. and Barandum, S.: IgG subclasses: Development of the serum concentrations in "normal" infants and children. *J. Pediat.* 80, 960-964, 1972.
- 10) Heiner, D.C., Myers, A. and Beck, S.: Deficiency of IgG4: A disorder associated with frequent infection and bronchiectasis that may be familial. *Clin. Rev. Allergy* 1, 259-265, 1983.
- 11) Hammarstroem, L. and Smith, C.I.E.: IgG subclasses in bacterial infections. *Monogr. Allergy* 19, 122-133, 1986.
- 12) 柴田瑠美子: 高 IgE 症候群における黄色ブドウ球菌易感染症の機序. *小児内科* 21, 115-118, 1989.

A CASE OF HYPERIMMUNOGLOBULIN E SYNDROME WITH NORMAL INTERFERON-GAMMA PRODUCTION

Makiko Sudo, Takanobu Shioya, Kazuki Miura and Mamoru Miura

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

An 18-year-old male with a lifelong history of atopic dermatitis and recurrent severe *Staphylococcus aureus* abscesses was found to have hyperimmunoglobulinemia E. We measured IFN- γ production by peripheral blood mononuclear cells cultured with a protein A non-producing strain of staphylococcal antigen and serum specific IgG subclass antibodies to this antigen in this patient. IFN- γ production, when cultured with non protein A produced by this antigen in this patient was almost the same as that in healthy subjects. IFN γ m-RNA was detected at the dose of 0.0625 μ g total RNA. The levels of IgG1, IgG3 and IgG4 were higher in this patient than in healthy subjects, while IgG2 was lower. We thus identified a case of hyperimmunoglobulinemia E syndrome with normal IFN- γ production.
