

小児アレルギー性疾患に対する特異 IgE, IgG 抗体の研究

第1編 アトピー性皮膚炎における卵白, 牛乳, 大豆特異 IgE,

IgG, IgG4抗体測定の意義

国立小児病院小児医療研究センター免疫アレルギー研究部

飯倉洋治 永倉俊和 秋本憲一 岩原順子

国立小児病院二宮分院

植草 忠 恩田威文

食物アレルギーの関与が疑われた小児アトピー性皮膚炎患者の卵白, 牛乳, 大豆抗原に対する血中特異 IgE 抗体を RAST にて, IgG, IgG4抗体を ELISA で測定し, 以下の結果を得た。

1) 卵白に対する IgG 抗体価は IgE RAST 値に平行して上昇したが, 牛乳, 大豆では一定の関係がなかった。

2) 卵白, 牛乳, 大豆に対する IgG4抗体価はいずれも各々の IgE 抗体価とは無関係であった。

3) 食物除去有効群の除去前の IgE 抗体価は無効群に比べて低値を示した。そして, 食物除去有効群の除去前の IgG, IgG4抗体価は無効群に比べて有意に高値を示した。

4) 原因食物を 3-6 カ月間除去した後に臨床症状が著明に改善した患者において IgG 抗体価は有意な低下を示し, IgG4抗体価は低下傾向を示したが, IgE 抗体価は不変であった。

5) IgE 抗体のみが陽性であった症例は対象の 4.1% であり, 対象の 93.9% が IgG 抗体, IgG4抗体のいずれか一方, あるいは両抗体が陽性であった。

以上のことから, IgG, IgG4抗体は食物アレルギー患者において reagenic antibody として働く可能性が示唆された。

Key words: atopic dermatitis — food allergy — specific IgE antibody — specific IgG antibody — specific IgG4 antibody

緒 言

アトピー性皮膚炎の原因論に関しては定説がないが, 最近食物アレルギーと関係がある症例があるとの報告があり¹⁾²⁾, 臨床面, 研究面でアトピー性皮膚炎の食物原因論が注目されるようになった。しかし, 食物の関与するアレルギー症状の説明は必ずしも容易でなく, 客観的指標となるものを定めるのが難しく, 現時点では特異 IgE 抗体と皮膚テストを用いて客観的指標としている。しかし, 皮膚テストも IgE 抗体を介した即時型反応では false positive や false negative の

反応が出やすく, 食物アレルギーの診断に皮膚テストは無効であるとの報告もある³⁾⁻⁵⁾。また, IgE RAST においても食物抗原の場合, その有用性が問題視されている⁵⁾。そのため, 食物アレルギーの診断は問診と食物の除去, 誘発試験に頼ることが多く, food sensitivity と food allergy が混同され, IgE 抗体に変わる新たな免疫的指標が必要とされている。

近年, アレルギー反応における特異 IgG 抗体ならびに IgG4抗体の役割に対する知見が数多く出され, IgE 抗体のみで説明できなかった抗原と抗体の関係における新たな働きが注目されている。しかし, この IgG 抗体, IgG4抗体のアトピー性疾患における働きについては short-term anaphylactic antibody として働く性質を有するという説⁶⁾⁻⁹⁾と blocking antibody として働く性質を有するという説¹⁰⁾¹¹⁾がある。また, IgG4抗体と肥満細胞・好塩基球との関係についても, 1) 肥満細胞・好塩基球と結合しレアギン活性を有するという説⁶⁾¹²⁾¹³⁾, 2) 肥満細胞・好塩基球と結合し IgE 抗体の

Received: December 19, 1987

Accepted: June 20, 1987

Abbreviations: BSA bovine serum albumin;
ELISA enzyme-linked immunosorbent assay;
IgE immunoglobulin E; IgG immunoglobulin G;
IgG4 immunoglobulin G4; PBS phosphate buffered saline; RAST radioallergosorbent test

結合に阻止的に働くが、レアギン活性を持たないという説¹⁴⁾、3) 肥満細胞・好塩基球とは結合しないという説¹⁵⁾¹⁶⁾があるなど、IgG 抗体と IgG4 抗体のアトピー性疾患における役割に対する定説はない。そこで、今回我々は食物アレルギーの関与が考えられたアトピー性皮膚炎患者を対象として、卵白、牛乳、大豆抗原に対する特異 IgE, IgG, IgG4 抗体を測定し、その小児アトピー性皮膚炎患者における意義について検討を加えた。

対象および方法

1. 対象

国立小児病院アレルギー科外来患者で、問診、食物日誌、除去・誘発試験または卵白、牛乳、大豆の RAST score 2 以上から、卵、牛乳、大豆いずれかの食物アレルギーの関与が疑われ、経口抗アレルギー剤を 3 カ月以上服用しながらステロイド外用剤を併用したが無効であった小児アトピー性皮膚炎患者 178 名 (2 カ月から 17 歳、平均 3 歳 4 カ月の男 97 名、女 81 名) を対象とした。コントロールとして本人ならびに両親、兄弟にアレルギー疾患のない 153 名 (1 カ月から 15 歳、平均 4 歳 2 カ月の男 91 名、女 62 名) を選んだ。血液は肘静脈より採取し、室温に 2-3 時間放置後血清を分離し、測定まで -40℃ に保存した。

2. 特異 IgE 抗体の測定

抗原特異 IgE 抗体の測定は卵白、牛乳、大豆を結合させた paper disk を用いて RAST 法 (Pharmacia) により測定した。結果は RAST kit の reference を基準として 0-4 の 5 段階の RAST score で表し、0, 1 を陰性、2 以上を陽性とした。

3. 特異 IgG 抗体の測定

基本的には Engvall and Perlman¹⁷⁾の方法に従ったが、阿南ら¹⁸⁾の報告を参考にし、若干の改良を加えた。

1) 卵白、牛乳、大豆 (エダマメ) スクラッチエキスを 0.05M carbonate buffer, pH 9.5 に 5 μg/ml の濃度に溶解し、100 μl を 96 個の well をもつ polystyrene microtiter plate (Nunc, N-1480) の各 well に注入、4℃ にて overnight 静置後、washing buffer (0.05% Tween 20 を含む 0.05M phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2) で 3 回洗浄した。

2) 被検血清を卵白では 500 倍、牛乳、大豆では 100 倍に希釈し、予備実験で集めた標準血清を卵白では

500-32000 倍、牛乳・大豆では 100-6400 倍まで希釈し、各々その 100 μl を各 well に注入した。37℃、60 分間 incubation を行った後、washing buffer で 1) と同様 3 回洗浄した。希釈液は 2% BSA, 0.02% NaN₃, 0.05% Tween 20 を含む 0.05M PBS, pH 7.2 を用いた。

3) 洗浄後 peroxidase 標識 Fc fragment 抗ヒト IgG 抗体 (Cappel 社) を washing buffer にて 5000 倍に希釈し、100 μl ずつ各 well に注入し、37℃、60 分間 incubation した。

4) 1) と同様 washing buffer で 3 回洗浄した後 substrate (0.1M citrate phosphate buffer, pH 5.0 100 ml, orthophenylenediamine 40mg, 31% H₂O₂ 40 μl) を 100 μl ずつ各 well に注入する。

5) 室温にて 30 分間静置後、4.0M H₂SO₄ を 100 μl ずつ各 well に追加注入して反応を停止させた後 micro ELISA Autoreader MR 580 (Dynatech 社) にて各 well における吸光度を測定した。

4. 特異 IgG4 抗体の測定

IgG4 抗体測定は、前項 2) の操作終了後に washing buffer で 5000 倍に希釈した抗ヒト IgG4 マウスモノクローナル抗体 (ヤマサ醤油研究所)¹⁹⁾ を 100 μl ずつ各 well に注入、37℃ 60 分間 incubation した後 1) と同様 3 回洗浄した。その後 5000 倍に希釈した peroxidase 標識抗マウス IgG 抗体 (Miles 社) を注入し、37℃、60 分間 incubation を行い、以後は 4) 5) の操作を行って測定した。

5. 判定

IgG 抗体、IgG4 抗体価の表示は予備試験で集めた標準血清を倍々希釈して作製した標準曲線より unit (以下 U) で示した。測定は血清希釈用 buffer を background として用い、全て duplicate で行った。また、卵・牛乳・大豆それぞれに対する特異 IgG 抗体、IgG4 抗体陽性の判定基準はコントロールの健常小児から得られた抗体価の mean + 2SD 以上とした。

結 果

1. 至適抗原濃度と至適血清希釈度

卵白、牛乳、大豆抗原 0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 2 μg/ml, 5 μg/ml, 10 μg/ml, 20 μg/ml, 50 μg/ml, 100 μg/ml を plate に coat し、標準血清を 10 倍、50 倍、100 倍、200 倍、500 倍に希釈して特異 IgG 抗体測定のと至適抗原濃度と至適血清希釈度を検討した。その結果、至適抗原

濃度は卵白, 牛乳 $5\mu\text{g/ml}$, 大豆 $2\mu\text{g/ml}$, 至適血清希釈度は卵白500倍, 牛乳, 大豆100倍と考えた. 特異 IgG4 抗体測定のに至適抗原濃度と至適血清希釈度の検討も特異 IgG 抗体と同様に行ったが, 特異 IgG 抗体と同じ抗原濃度, 血清希釈度が最適と考えた.

2. 至適抗血清濃度

ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 血清を上記の条件で検討したところ, 卵白, 牛乳, 大豆いずれも5000倍で OD 490nm での吸光度が1.0以上あったので5000倍を至適濃度とした. 同様に IgG4 抗体の測定に使用したマウスモノクローナル抗ヒト IgG4 抗体は5000倍, ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG 抗体5000倍を至適濃度とした.

3. 卵白, 牛乳, 大豆抗原による抑制試験

この実験系が卵白, 牛乳, 大豆に対する特異 IgG, IgG4 抗体を検出しているか否かを調べるために, 卵白, 牛乳, 大豆抗原を実験系に加えて抑制の有無を調べた. まず, 卵白, 牛乳, 大豆各々100, 10, 1.0, 0.1, 0.01, $0.001\mu\text{g/ml}$ の濃度に調整し, 卵白では250倍, 牛乳, 大豆では50倍に希釈した標準血清を等量混合し, 37°C , 2 時間 incubate した後, その $100\mu\text{l}$ を上述の至適抗原濃度で coat しておいたマイクロプレートの well に注入した. その後, ELISA にて各々の IgG, IgG4 抗体の測定を行ったところ, IgG 抗体, IgG4 抗体は添加した抗原量に dose dependent に抑制された. 吸光度から算出した各々の IgG, IgG4 抗体の50% inhibition に要した抗原量は卵白800ng, 710ng, 牛乳 $1.3\mu\text{g}$, 930ng, 大豆 $57\mu\text{g}$, $1.3\mu\text{g}$ であった.

4. 標準曲線

各プレート毎に標準曲線を作製した. 卵白特異 IgG, IgG4 抗体測定に際して500倍希釈の標準血清の示す吸光度を100unit(U)とし, 以下1000倍を50U, 2000倍を25U, 4000倍を12.5U, 8000倍を6.25U, 16000倍を3.125U, 32000倍を1.5625U とした. 同様に牛乳, 大豆では100倍希釈を100U とし, 200倍を50U, 400倍を25U, 800倍を12.5U, 1600倍を6.25U, 3200倍を3.125U, 6400倍を1.5625U とした. Fig. 1, 2 は卵白, 牛乳, 大豆に対する特異 IgG, IgG4 抗体の標準曲線の 1 例である.

5. 健常小児の卵白, 牛乳, 大豆抗原に対する特異 IgG, IgG4 抗体

153名の健常小児の卵白, 牛乳, 大豆に対する特異 IgG, IgG4 抗体を測定した. IgG 抗体価の mean $\pm$ SD は卵白 $3.4\pm 1.4\text{U}$, 牛乳 $3.4\pm 1.2\text{U}$, 大豆 $2.2\pm 0.9\text{U}$ であった. 同様に IgG4 抗体価の mean $\pm$ SD は卵白 $5.8\pm$

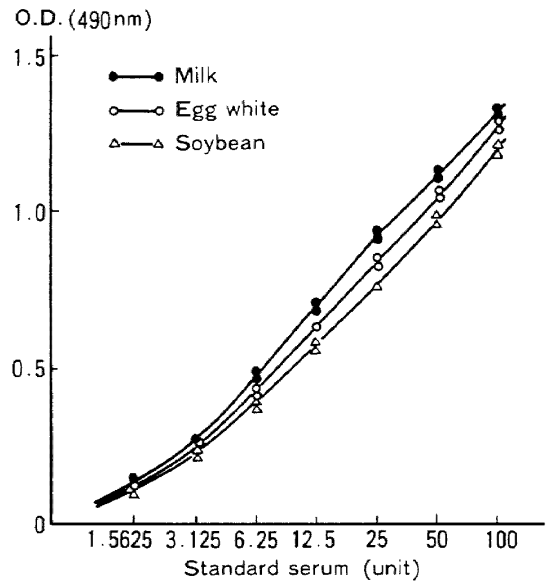


Fig. 1. Standard curves for IgG antibodies against egg white, milk and soybean.

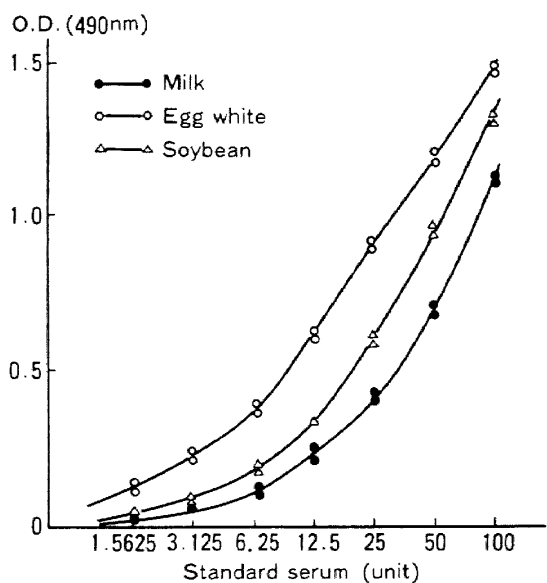


Fig. 2. Standard curves for IgG4 antibodies against egg white, milk and soybean.

3.4U, 牛乳 $4.4\pm 3.8\text{U}$, 大豆 $3.8\pm 2.0\text{U}$ であった. また, 全例とも IgG 抗体価は6U 以下, IgG4 抗体価は10U 以下であり, IgG, IgG4 抗体ともに抗体価の年齢間での有意差を認めなかった.

6. IgE RAST score と特異 IgG, IgG4 抗体の関係
卵白, 牛乳, 大豆各々の IgE RAST score と特異 IgG, IgG4 抗体価の関係は Fig. 3 に示したとおりである. 卵白特異 IgG 抗体では IgE RAST score 0 と 1 ($p < 0.05$), 0 と 3 ($p < 0.01$), 0 と 4 ($p < 0.001$) の間に有意差を認め, IgE RAST score と平行して IgG

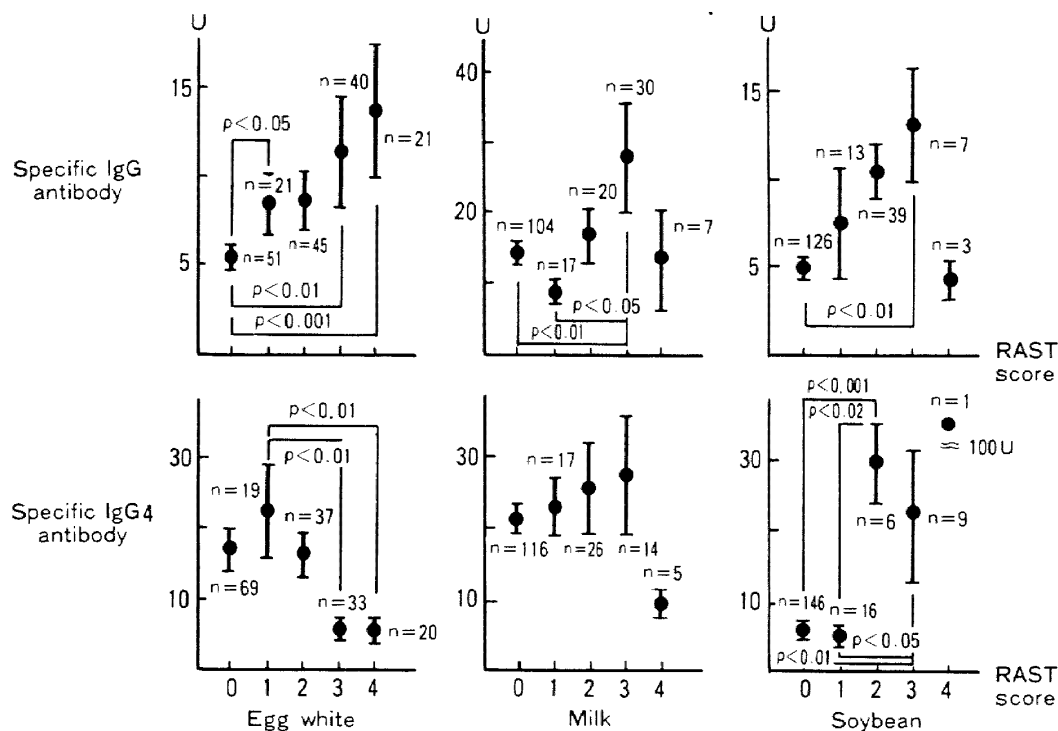


Fig. 3. Relation of IgE RAST score to IgG and IgG4 antibodies.

抗体価が高値を示した。牛乳では0と3 ($p < 0.01$), 1と3 ($p < 0.05$)の間に、大豆で0と3 ($p < 0.01$)の間で有意差をもって、IgE RAST score 高値群でIgG抗体価が高値を示した。特異IgG4抗体では卵白でRAST score 1と3 ($p < 0.01$), 1と4 ($p < 0.01$)の間で、IgG抗体と逆にIgE RAST score 低値群でIgG4抗体価が高値を示した。しかし、大豆で0と2 ($p < 0.001$), 0と3 ($p < 0.01$), 1と2 ($p < 0.02$), 1と3 ($p < 0.05$)の間で、IgG抗体と同様に有意差をもってIgE RAST score 高値群でIgG4抗体価が高値を示した。IgE RAST score 2以上を陽性とし、IgGとIgG4抗体は健常小児のmean+2SD以上を陽性とした場合、IgE抗体陰性でIgG抗体陽性群は卵白で8.5%、牛乳で33.7%、大豆で13%を認め、逆にIgE抗体陽性でIgG抗体陰性群は卵白で29.3%、牛乳で13%、大豆で11%認めた。同様にIgE抗体陰性でIgG4抗体陽性群は卵白で23.5%、牛乳で30.4%、大豆で12%認め、IgE抗体陽性でIgG4抗体陰性群は卵白で26.3%、牛乳で10.3%、大豆で7.7%認め、IgE抗体とIgG, IgG4抗体間の陽性、陰性が必ずしも一致しなかった。

7. 食物除去有効群と無効群の除去食開始前の特異IgE, IgG, IgG4抗体価

178例中IgE RAST score 2以上または、IgG, IgG4抗体がmean+2SD以上のいずれかを示した症例の内

訳は単独陽性例が卵白48例、牛乳54例、大豆8例であり、重複陽性例が卵白+牛乳26例、卵白+大豆10例、卵白+牛乳+大豆28例であり、4例は全抗体陰性であった。卵、牛乳、大豆およびその製品の除去をそれぞれ施行し、臨床症状が改善して軟膏塗布が不要となったものを有効群とし、それ以外を無効群とした。そして、両群の除去開始前の卵白、牛乳、大豆に対するIgE, IgG, IgG4抗体価を比較した。

1) 卵と卵製品除去例：卵除去有効群69例では卵白に対するIgE RAST score 1.65 ± 1.41 , IgG抗体 18.3 ± 26.6 U, IgG4抗体 16.6 ± 20.4 U, 無効群43例ではIgE RAST score 2.58 ± 2.4 , IgG抗体 2.6 ± 1.9 U, IgG4抗体 6.9 ± 16.2 Uであり、有意差をもって無効群でIgE抗体価が、有効群でIgG, IgG4抗体価が高かった (Table 1)。また、IgE, IgG, IgG4抗体陽性者は有効群、無効群それぞれでIgE抗体31例、37例、IgG抗体55例、なし、IgG4抗体44例、6例であった。

2) 牛乳と牛乳製品除去例：牛乳除去有効群96例では牛乳に対するIgE RAST score 0.6 ± 1.08 , IgG抗体 26.4 ± 27.8 U, IgG4抗体 31.9 ± 8.0 U, 無効群9例ではIgE RAST score 2.0 ± 0.47 , IgG抗体 2.0 ± 1.2 U, IgG4抗体 4.0 ± 2.2 Uであり、有意差をもって無効群でIgE抗体価が、有効群でIgG, IgG4抗体価が高かった (Table 2)。また、IgE, IgG, IgG4各抗体陽性者は有

Table 1 Comparison of IgE, IgG and IgG4 antibody titers to egg white between the elimination-effective group and the elimination-ineffective group (mean $\pm$ SE)

	Effective group (n=69)	Ineffective group (n=43)	Significance level
IgE RAST score	1.65 $\pm$ 1.41	2.58 $\pm$ 2.4	$p<0.001$
IgG antibody (U)	18.3 $\pm$ 26.6	2.6 $\pm$ 1.9	$p<0.001$
IgG4 antibody (U)	16.6 $\pm$ 20.4	6.9 $\pm$ 16.2	$p<0.02$

Table 2 Comparison of IgE, IgG and IgG4 antibody titers to milk between the elimination-effective group and the elimination-ineffective group (mean $\pm$ SE)

	Effective group (n=96)	Ineffective group (n=9)	Significance level
IgE RAST score	0.6 $\pm$ 1.08	2.0 $\pm$ 0.47	$p<0.001$
IgG antibody (U)	26.4 $\pm$ 27.8	2.0 $\pm$ 1.2	$p<0.02$
IgG4 antibody (U)	31.9 $\pm$ 8.0	4.0 $\pm$ 2.2	$p<0.001$

効群, 無効群それぞれ IgE 抗体21例, 8例, IgG 抗体85例, なし, IgG4抗体75例, 1例であった。

3) 大豆と大豆製品除去例: 大豆除去有効群36例では大豆に対する IgE RAST score 1.06 $\pm$ 1.14, IgG 抗体17.3 $\pm$ 12.6U, IgG4抗体25.8 $\pm$ 28.0U, 無効群10例では IgE RAST score 1.5 $\pm$ 0.5, IgG 抗体2.5 $\pm$ 2.6U, IgG4抗体5.2 $\pm$ 4.0であり, 有効群で IgG, IgG4抗体価が有意に高かった(Table 3)。また, IgE, IgG, IgG4 各抗体陽性者は有効群, 無効群それぞれIgE抗体 20例, 5例, IgG抗体 34例, 1例, IgG4抗体 28例, 4例であった。

8. 食物除去著効群における除去前後の IgE, IgG, IgG4抗体価の変化

卵, 牛乳, 大豆を3-6カ月間完全除去(平均卵4.2カ月, 牛乳4.9カ月, 大豆3.8カ月)した後に臨床症状が著明に改善した症例(卵15例, 牛乳23例, 大豆11例)について, IgE RAST score, IgG, IgG4抗体を食物除去開始前と終了後で比較検討した(Fig. 4)。IgE RAST score は食物除去開始前後で卵1.67 $\pm$ 1.53,

Table 3 Comparison of IgE, IgG and IgG4 antibody titers to soybean between the elimination-effective group and the elimination-ineffective group (mean $\pm$ SE)

	Effective group (n=36)	Ineffective group (n=10)	Significance level
IgE RAST score	1.06 $\pm$ 1.14	1.5 $\pm$ 0.5	$p>0.1$
IgG antibody (U)	17.3 $\pm$ 12.6	2.5 $\pm$ 2.6	$p<0.01$
IgG4 antibody (U)	25.8 $\pm$ 28.0	5.2 $\pm$ 4.0	$p<0.05$

1.47 $\pm$ 1.63, 牛乳0.83 $\pm$ 1.05, 0.75 $\pm$ 1.11, 大豆1.18 $\pm$ 1.11, 0.91 $\pm$ 1.0であり, 前後の値に有意差を認めなかった。IgG 抗体は同じく卵25.6 $\pm$ 22.1U, 11.3 $\pm$ 10.1U ($p<0.05$), 牛乳 26.1 $\pm$ 23.7U, 9.1 $\pm$ 9.1U ($p<0.01$), 大豆22.5 $\pm$ 12.0U, 10.5 $\pm$ 10.1U ($p<0.05$)でいずれも除去後に有意に減少した。IgG4抗体も同じく卵15.8 $\pm$ 12.3U, 15.0 $\pm$ 10.2U, 牛乳37.1 $\pm$ 29.6U, 20.1 $\pm$ 21.5U ($p<0.05$), 大豆33.4 $\pm$ 35.6U, 20.1 $\pm$ 21.5U ($p<0.05$), 大豆33.4 $\pm$ 35.6U, 18.3 $\pm$ 23.5U で, 牛乳についてのみ除去後に有意に減少した。

考 案

小児期のアトピー性皮膚炎の原因として食物アレルギーの関与が指摘されるようになってきた²⁰⁾⁻²³⁾。食物アレルギーの診断は容易でなく, 一般的に①詳細な問診, ②食物の除去, 誘発試験, ③皮膚反応(スクラッチ反応, 皮内テスト, パッチテスト, PK 反応), ④ IgE RAST, ⑤白血球ヒスタミン遊離試験, ⑥リンパ球幼若化試験, ⑦小腸生検などが行われている。しかし, 白血球ヒスタミン遊離試験, リンパ球幼若化試験, 小腸生検は一般的検査とは言えず, 問診と食物の除去, 誘発試験によって food sensitivity が考えられた症例のうち皮膚テストや IgE RAST などにより, IgE 抗体を介した I 型反応の関与が裏付けられたものだけが食物アレルギーと診断されていた。しかし, 皮膚反応は食餌性アレルゲンを用いた場合は特異性が低く, 食物アレルギーの診断には有用性が乏しいとの報告もあり³⁾⁻⁵⁾, IgE RAST も即時型アレルギー反応を呈する食物アレルギーに対しては有用であるが²⁴⁾, IgE 抗体

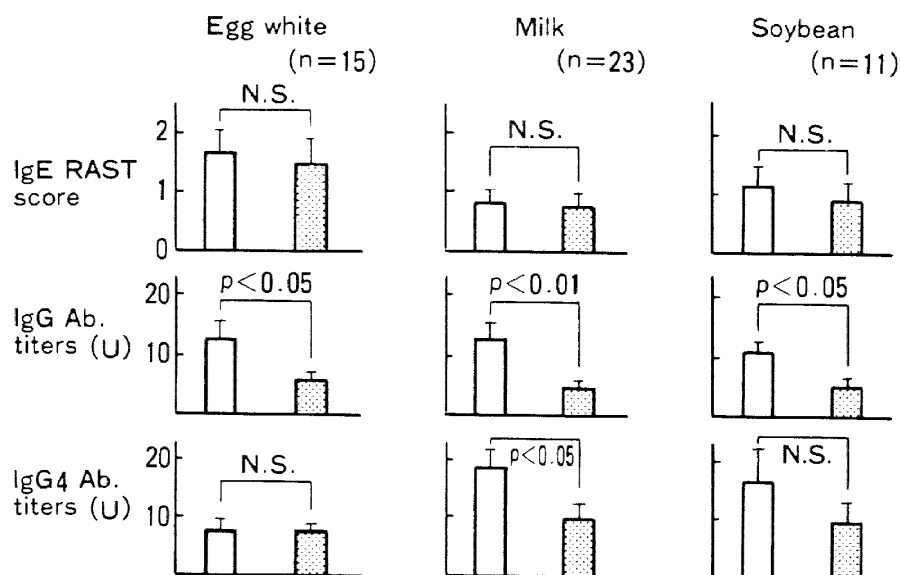


Fig. 4. Comparison of IgE RAST score, IgG and IgG4 antibody titers to egg white, milk and soybean before and after 3 to 6 months' food elimination. (□: before, ▨: after, mean±SE)

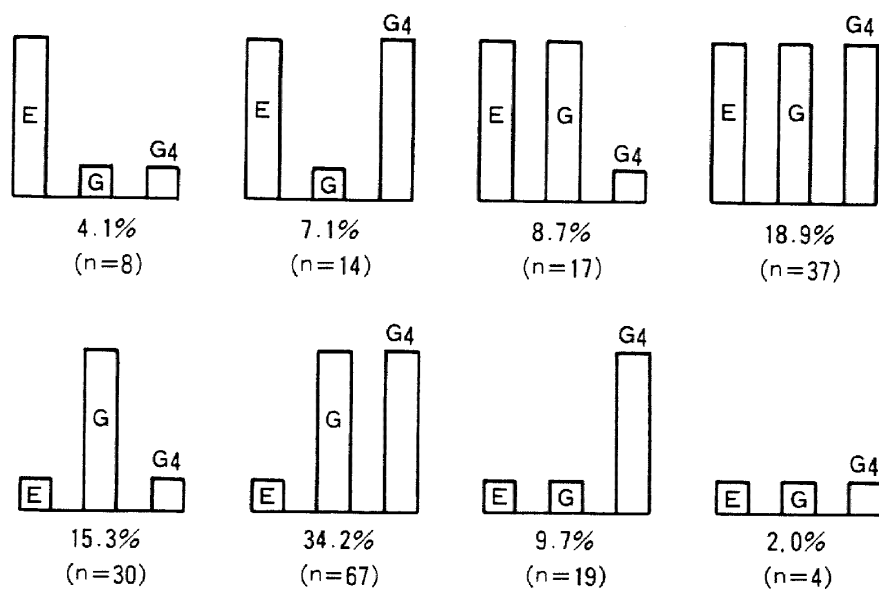


Fig. 5. Combination of IgE, IgG and IgG4 antibody positivity and negativity in the elimination-effective patients. (High bar means the positive antibody and low bar means the negative antibody.)

が関与しない食物アレルギーに対しては無効である²⁵⁾。また、健常小児でも IgE RAST 陽性となることがあり²⁴⁾、食物アレルギーの診断を IgE 抗体を介した反応に頼らざるをえない現状において、その診断は混沌としていると言っても過言でない。食物アレルギーは I 型アレルギー反応のみでなく、III 型アレルギー反応、IV 型反応の関与も考えられ、中でも近年は IgG, IgG4 抗体の役割が注目されている^{26)–28)}。今回我々は

問診と食物の除去、誘発試験から food sensitivity と考えられた症例と IgE RAST 陽性で食物アレルギーと考えられた症例に対して食物の 3 大アレルゲンと言われる卵、牛乳、大豆に対する特異 IgE, IgG, IgG4 抗体を測定し検討した。卵アレルギーでは特異 IgG 抗体が IgE 抗体と平行して上昇することが多いと言われているが²⁹⁾³⁸⁾、牛乳と大豆についての検討はなされていない。Fig. 3 に示したように、卵については卵白抗

原に対する特異 IgG 抗体は IgE 抗体と平行して上昇するが、牛乳、大豆では IgE RAST score 4 と 0 の症例の特異 IgG 抗体は同じレベルにあり、必ずしも IgG 抗体は IgE 抗体と平行するとは言えなかった。特異 IgE 抗体と IgG4 抗体の関係も卵白、牛乳では RAST score 4 の症例の特異 IgG4 抗体は RAST score 0 より低いレベルにあり、大豆では IgG4 抗体は IgE 抗体と平行して上昇するなど特異 IgG 抗体と同様に、卵、牛乳、大豆での共通した関係を認めなかった。このように特異 IgG 抗体、IgG4 抗体と IgE 抗体が一定の関係にないことが、IgG 抗体と IgG4 抗体がそれぞれ blocking antibody として働くという説^{6)~9)}や reagenic antibody として働く説^{10)~11)}など、各々の測定法が施設によって異なることや標準血清が統一されていないこともあり、対象の選択の問題と相まって諸説が生じていると考えられた。そこで、我々は IgE RAST score 0, 1 を IgE 抗体陰性、RAST score 2 以上を IgE 抗体陽性とし、IgG 抗体、IgG4 抗体はコントロールの mean + 2SD 以上未満を陰性、+2SD 以上を陽性として標準血清の統一されていない問題点を除いて IgE 抗体と IgG 抗体、IgG4 抗体の関係について検討した。IgE 抗体陰性の食物アレルギー患者で IgG 抗体、IgG4 抗体が証明される場合もあり^{26)~31)~32)}、今回の結果でも IgE 抗体陰性・IgG 抗体陽性例が卵白 8.5%、牛乳 33.7%、大豆 13.0%、IgE 抗体陰性・IgG4 抗体陽性例が卵白 23.5%、牛乳 30.4%、大豆 12.0% みられ、食物アレルギーにおける IgG4 抗体が blocking antibody として働くとの説^{10)~11)}とは相入れない結果が得られた。一方、IgE 抗体陽性・IgG 抗体陰性例が卵白 29.3%、牛乳 13.0%、大豆 11.0%、IgE 抗体陽性・IgG4 抗体陰性例が卵白 26.3%、牛乳 10.3%、大豆 7.7% に認められており、健常人にも食物抗原に対して IgE 抗体陽性となることと²²⁾、実際の臨床の場において食物の除去、誘発試験と IgE 抗体陽性が一致しないこと³³⁾から IgE 抗体のみによる食物アレルギーの診断では不十分であり、IgG 抗体、IgG4 抗体も考慮に入れるべきと考えられた。そこで、IgE 抗体、IgG 抗体、IgG4 抗体のいずれか 1 つ以上に陽性を示した場合に原因食物を完全除去した時の臨床症状改善群と不変群の食物除去前の各抗体価を検討したところ (Table 1, 2, 3)、IgE 抗体価は卵白、牛乳、大豆いずれについても食物除去無効群で高く、食物除去有効群では低く、IgE 抗体陰性例が多くみられた。IgG 抗体、IgG4 抗体は逆に食物除去有効群で有意に高く、多くが IgG 抗体、IgG4 抗体陽性であり、

食物除去無効群では両抗体陰性例が多かった。

以上のことから食物アレルギーを疑い、食物除去を指導する指標としては IgE 抗体より IgG 抗体、IgG4 抗体によるべきと考えられた。次に、食物除去有効群における食物除去前後の IgE、IgG、IgG4 抗体価の変動について卵、牛乳、大豆除去著効例で検討した (Fig. 4)。食物除去有効例では IgE 抗体価が低下するという報告もあるが³⁴⁾、今回の結果では IgE 抗体価は食物除去前後で有意な変化を認めなかった。その理由として食物除去期間が 3-6 カ月と短かったこと、IgE 抗体低値例が多かったこと、IgE 抗体が非即時型食物アレルギーでは関与していないなどが考えられた。IgG 抗体は卵白、牛乳、大豆いずれも臨床症状の改善にともなって有意に低下し short-term sensitizing antibody として働いている可能性が示唆された。IgG4 抗体は臨床症状の改善にともなって低下したのは牛乳と大豆除去群であり、有意な低下を認めたのは牛乳のみで、卵除去群では除去前後でほとんど変化がみられなかった。また、食物アレルギー患者では単一の食物抗原のみが陽性であることより、むしろ、複数抗原に陽性である場合が多いとされ^{21)~35)}、今回の我々の結果でも卵、牛乳、大豆いずれか 1 つのみ陽性は対象の 61.8% であり、2 抗原陽性 20.2%、3 抗原陽性 15.7% であった。食物除去により臨床症状が改善した症例 (卵 69 例、牛乳 96 例、大豆 36 例) について前述した基準で IgE、IgG、IgG4 抗体を陽性と陰性に分けて schematic に検討してみると、食物除去有効群における各抗体の陽性率は IgE 抗体 38.8%、IgG 抗体 77.1%、IgG4 抗体 69.9% であった (Fig. 5)。中でも IgE 抗体単独陽性は全体の 4.1% であり、IgE 抗体陽性の大半は IgG 抗体、IgG4 抗体あるいは両抗体陽性であった。また、IgE 抗体陰性にもかかわらず IgG 抗体、IgG4 抗体いずれか一方、あるいは両抗体陽性が全体の 59.2% を占めた。以上のことから食物アレルギーにおける IgG 抗体、IgG4 抗体の働きは reagenic antibody として働く可能性が考えられ、food sensitivity が考えられる症例に対する offending food 除去の指標、food allergy 診断の免疫的指標に成り得ると思われた。IgG、IgG4 抗体は経年変化を認めるとの報告もあるが³⁰⁾、今回のコントロールとした健常小児では全例とも低値をとり、年齢間の差を認めなかった。その理由として、今回使用した標準血清が IgG、IgG4 抗体ともに従来の報告で使用されたものより高抗体価のものであったためと思われた。また、食物アレルギーの発症に IgA 抗体³⁶⁾、IgM 抗体の関与も指摘されてお

り³⁷⁾, Fig. 5 でも2.0%の症例は IgE 抗体, IgG 抗体, IgG4抗体が全て陰性であったことから, 今後さらに各種抗体について検討を加える必要があると思われる。

稿を終るにあたり, 国立小児病院アレルギー科 小幡俊彦先生, 岸田勝先生, 奥間稔先生, 東邦大学大橋病院小児科 笹本明義先生, 乾小児科内科医院 乾宏行先生に心より感謝致します。

本論文の要旨は第35回日本アレルギー学会総会(前橋, 1985年)において発表した。

文 献

- 1) 松村龍雄, 川辺志津子, 小栗政夫, 黒梅恭芳, 多嶋幹太郎: 乳児湿疹と乳児栄養. 臨床皮膚科 25, 1287-1307, 1971.
- 2) 後本健一: 小児湿疹と食物アレルギー. 日小児会誌 86, 257-262, 1982.
- 3) Atherton, D.J., Swell, M., Soothill, J.F. and Well, R.S.: A double blind controlled cross-over trial of an antigen avoidance diet in atopic eczema. *Lancet* 1, 401-403, 1978.
- 4) Freedmann, S.S.: Milk allergy in infantile atopic eczema. *Am. J. Dis. Child.* 102, 76-81, 1961.
- 5) Aas, K.: The diagnosis of hypersensitivity to ingested foods. Reliability of skin prick testing and the radioallergosorbent test with different materials. *Clin. Allergy* 8, 39-50, 1978.
- 6) Parish, W.E.: Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet* 2, 591-592, 1970.
- 7) Parish, W.E.: The clinical relevance of heat-stable, short-term sensitizing anaphylactic IgG antibodies (IgG S-TS) and of related activities of IgG4 and IgG2. *Br. J. Dermatol.* 105, 223-231, 1981.
- 8) Gwynn, C.M., Almosawi, T. and Stanworth, D. R.: Clinical associations with serum allergen-specific IgG4 antibodies. *Clin. Allergy* 12, 459-464, 1982.
- 9) Bruynzeel, P.L.B. and Berren, L.: IgE and IgG4 antibodies in specific human allergies. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 58, 344-350, 1979.
- 10) Dannaeus, A. and Inganäs, M.: A follow-up study of children with food allergy. Clinical course in relation to serum IgE- and IgG-antibody levels to milk, egg and fish. *Clin. Allergy* 11, 533-539, 1981.
- 11) 向山徳子, 市川邦男, 馬場 実, 中川武正, 宮本昭正: 小児アトピー性疾患におけるダニ抗原(*Dermatophagoides pteronyssinus*) および卵白抗原に対する特異 IgE, IgG, IgG 4 抗体について. アレルギー 35, 166-170, 1986.
- 12) Bryant, D.H., Burns, M.W. and Lazarus, L.: New type of allergic asthma due to IgG "reaginic" antibody. *Br. Med. J.* 4, 589-592, 1973.
- 13) Vijay, H.M. and Perelmutter, L.: Inhibition of reagin-mediated PCA reactions in monkey and histamine release from human leukocytes by human IgG4 subclass. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 53, 78-87, 1977.
- 14) Nakagawa, T., Stadler, B.M. and de Weck, A. L.: Flow-cytometric analysis of human basophil degranulation I. Quantification of human basophil and their degranulation by flow-cytometry. *Allergy* 36, 39-47, 1981.
- 15) van Toorenenbergen, A.W. and Aalberse, R.C.: IgG4 and passive sensitization of basophil leukocytes. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 65, 432-440, 1981.
- 16) van Toorenenbergen, A.W. and Aalberse, R.C.: IgG4 and release of histamine from human peripheral blood leukocytes. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 67, 117-122, 1982.
- 17) Engvall, E. and Perlman, P.: Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA. Quantitation of specific antibodies by enzyme labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.* 109, 129-135, 1972.
- 18) 阿南貞雄, 赤星吉徳, 吉村正子, 牛島信雄, 吉田彦太郎, 松山 俊, 神田源太: アトピー性皮膚炎における enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いた抗ダニ (*Dermatophagoides farinae*) 抗体の測定—とくに IgG, IgG subclass および IgE 抗体について. アレルギー 31, 244-251, 1982.
- 19) 中川武正, 高石敏昭, 宮本昭正, 杉 正人, 石毛雅夫: モノクローナル抗ヒト IgG 4 抗体の作製とその enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) への応用. アレルギー 34, 277-283, 1985.
- 20) Sampson, H.: Role of immediate food hypersensitivity in the pathogenesis of atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 473-480, 1983.
- 21) Kajosaari, M.: Food allergy in finish children aged 1 to 6 years. *Acta Paediatr. Scand.* 71, 815-819, 1982.

- 22) Hill, D.J. and Lynch, B.C.: Elemental diet in management of severe eczema in childhood. *Clin. Allergy* 12, 313-315, 1982.
- 23) Graham, P., Hall-Smith, S.P., Harris, J.M. and Price, M.L.: A study of hypoallergenic diets and oral sodium cromoglycate in the management of atopic eczema. *Br. J. Dermatol.* 110, 457-467, 1984.
- 24) Hoffman, D.R. and Haddad, Z.H.: Diagnosis of IgE-mediated reactions to food antigens by immunoassay. *J. Allergy Clin. Immunol.* 54, 165-173, 1974.
- 25) Savillahti, E., Kuitunen, P. and Visakorpi, J.K.: Cow's milk allergy. In "Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy" (ed. by E.E. Lebenthal), Vol 2. New York, Raven Press, pp.689-708, 1981.
- 26) Brighton, W.D.: Frequency of occurrence of IgG(S-TS). *Clin. Allergy* 10, 97-100, 1980.
- 27) Björkstén, B., Ahlstedt, S., Björkstén, F. and Caelsson, B., Fällström, S.P., Juntunen, K., Kajosaari, M. and Kober, A.: Immunoglobulin E and immunoglobulin G4 antibodies to cow's milk in children with cow's milk allergy. *Allergy* 38, 119-124, 1983.
- 28) Ferguson, A.C. and Salinas, F.A.: Elevated IgG immune complexes in children with atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.* 74, 678-682, 1984.
- 29) Dannaeus, A., Johansson, S.G.O., Foucard, T. and Öhman, S.: Clinical and immunological aspects of food allergy in childhood. Estimation of IgG, IgA and IgE antibodies to food antigens in children with food allergy and atopic dermatitis. *Acta Paediatr. Scand.* 66, 31-37, 1977.
- 30) 向山徳子, 岩崎栄作, 馬場 実, 林 義久, 有田昌彦: 卵アレルギー小児における卵白抗原, オバールミン, オボムコイドの IgE 抗体ならびに IgG 抗体. *アレルギー* 31, 106-113, 1982.
- 31) Vijay, H.M., Perelmutter, L. and Bernstein, I.L.: Possible role of IgG4 in discordant correlations between intracutaneous skin and RAST. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 56, 517-522, 1978.
- 32) Perelmutter, L.: IgG4; non-IgE mediated atopic disease. *Ann. Allergy* 52, 64-68, 1984.
- 33) Hammar, H.: Provocation with cow's milk and cereals in atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol (Stockh.)* 57, 159-163, 1977.
- 34) Businco, L., Benincori, N. and Cantani, A.: Epidemiology, incidence and clinical aspects of food allergy. *Ann. Allergy* 53, 615-622, 1984.
- 35) Gerrard, J.W., Lubos, M.C., Hardy, L.W., Holmlund, B.A. and Webster, D.: Milk allergy: Clinical picture and familial incidence. *Can. Med. Assoc. J.* 97, 780-785, 1967.
- 36) McDonald, P.J., Randall, M.G., Gregory, J.V.S. and Geraldine, K.P.: Food protein-induced enterocolitis: Altered antibody response to ingested antigen. *Pediatr. Res.* 18, 751-755, 1984.
- 37) David, R., Amir, S., Elyakin, E. and Amnon, T.: Elevated IgM in dietary migraine with lactose deficiency. *Isr. J. Med. Sci.* 20, 717-719, 1984.

STUDIES OF SPECIFIC IgE, IgG AND IgG4 ANTIBODIES TO EGG WHITE,
MILK AND SOYBEAN IN CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITISYoji Iikura, Toshikazu Nagakura, Kenichi Akimoto and Junko Iwahara
*Department of Allergy, National Children's Medical Research Center*Tadashi Uekusa and Takebumi Onda
National Children's Hospital Ninomiya Branch

Specific serum antibodies to egg white, milk or soybean were evaluated by RAST (IgE) and ELISA (IgG and IgG4) in the children with atopic dermatitis who were considered to be sensitive to these foods. And, the following results were obtained.

- 1) IgG antibody titers were in parallel with IgE RAST scores in egg-sensitive children but not in milk or soybean-sensitive children.
- 2) IgG4 antibody titers did not correlate to IgE RAST scores in egg-, milk- or soybean-sensitive children.
- 3) IgE RAST scores were lower in the elimination-effective group than in the elimination-ineffective group. IgG and IgG4 titers to egg white, milk or soybean were significantly higher in the elimination-effective group than in the elimination-ineffective group.
- 4) After elimination of the offending foods for 3 to 6 months in the elimination-effective group IgG antibody titers decreased significantly, IgG4 antibody titers showed decreasing tendency, but IgE RAST scores showed no change.
- 5) Only 4.1% of the subjects had IgE antibodies to foods and 93.9% of the subjects had IgG and/or IgG4 antibodies to foods.

These results seem to suggest that specific IgG and IgG4 antibodies to foods may be acting as reagenic antibodies in the children with atopic dermatitis.
