

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	平郡 真記子
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
Elevated serum IgE against MGL_1304 in patients with atopic dermatitis and cholinergic urticaria (アトピー性皮膚炎およびコリン性蕁麻疹患者における血清 MGL_1304 特異的 IgE 値の上昇)			
論文審査担当者			
主 査 教授 杉山 英二			
審査委員 教授 菅野 雅元			
審査委員 講師 川口 浩史			
〔論文審査の要旨〕			
<p>汗は小児・成人を問わずアトピー性皮膚炎 (AD) の悪化因子として認識されている。また、多数の AD 患者は汗に対する即時型アレルギーを有し、汗中の抗原に対し抗原特異的 IgE を有することが報告されている。この汗中の抗原は長年同定されていなかったが、最近我々はその主要な抗原が <i>Malassezia globosa</i> が分泌し汗中に含有される「MGL_1304」という蛋白であることを報告した (Hiragun T et al. J Allergy Clin Immunol, 2013)。MGL_1304 を含む精製汗抗原に対する末梢血好塩基球ヒスタミン遊離試験はすでに臨床診療において検査可能である (保険適用あり) が、ヒスタミン遊離試験は新鮮な血液が必要なこと、定量性に劣るなどの欠点もある。そこで、我々は MGL_1304 特異的 IgE をより定量的に血清で測定可能な ELISA 法を確立し、その臨床的意義を検討した。</p> <p>広島大学病院を受診した AD 患者 63 人、コリン性蕁麻疹患者 (CU) 24 人、気管支喘息患者 (BA) 32 人とボランティアとしてアレルギー性鼻炎患者 (AR) 14 人、アレルギー性疾患の既往がない健常人 (NC) 23 人から説明と同意の上採血をおこない血清を採取した。また、健常人ボランティアから汗を採取しそれらを 0.22 μm フィルター、イオン交換カラム、逆相クロマトグラフィーカラムにより精製し、粗精製汗抗原 (QR) を得た。QR をさらにゲル濾過カラムにかけることにより精製 MGL_1304 (QRX) を精製した。一方、pCold[®]TF DNA と <i>E. coli</i> (JM109) を使用し rMGL_1304 を作製した。また、QRX への AD 末梢血好塩基球ヒスタミン遊離中和能のある QRX 特異的マウスモノクローナル抗体 (Smith-2 抗体) を作製し使用した。さらに、QR に対し末梢血好塩基球ヒスタミン遊離試験で陽性を示す AD 患者 20 人より血清を採取し、それらを混合することで ELISA の標準 AD 血清として使用した。標準 AD 血清中に含まれる MGL_1304 特異的抗体の量を 1000Units/ml と規定した。</p>			

QRX 特異的 IgE は、直接抗原を ELISA プレートにコートする Direct ELISA では十分な感度が得られなかった。そこで、Smith-2 抗体を捕獲抗体としてプレート上にコーティングすることにより、感度よく QRX 特異的 IgE を測定することが可能となった。rMGL_1304 は直接 ELSIA プレートにコートしても十分に感度よく測定することが可能であった。

血清 QRX 特異的 IgE 値と血清 rMGL_1304 特異的 IgE 値は AD 患者において強い相関を認めた ($R=0.954$, $p<0.0001$, $N=63$)。また、血清 QRX および rMGL_1304 特異的 IgE 値は AD 患者の QR に対する末梢血好塩基球ヒスタミン遊離率とも有意に高い相関を認めた ($R=0.778$, $p<0.0001$, $N=53$, $R=0.783$, $p<0.0001$, $N=53$)。血清 QRX 特異的 IgE 値は AD および CU 群で NC および BA 群と比較し有意に高値であった。また、血清 rMGL_1304 特異的 IgE 値は、AD 群で NC および BA 群と比較し有意に高値であった。一方、CU 群の血清 rMGL_1304 特異的 IgE 値は NC 群に比較し高い値であったが有意差は認めなかった。

血清 QRX または rMGL_1304 特異的 IgE 値は AD の重症度と有意に相関した。血清 rMGL_1304 特異的 IgG および IgG4 値は AD 群においてやや高い値であったが、NC 群と比較し有意な上昇は認めなかった。rMGL_1304 特異的 IgE 値と rMGL_1304 特異的 IgG および IgG4 値はそれぞれ有意に相関した。しかし、CU 群では両者に有意な相関を認めなかった。

AD 患者群において血清 QRX および rMGL_1304 特異的 IgE 値は血清 *Malassezia* 特異的 IgE 値と有意な相関を認めたが、完全には一致しておらず *Malassezia* 特異的 IgE 低値にもかかわらず MGL_1304 特異的 IgE 値が高い群も存在した。

本研究において QRX および rMGL_1304 特異的 IgE を定量的に測定することが可能となった。血清 MGL_1304 特異的 IgE 値の測定は汗に含有される MGL_1304 に対するアレルギーの診断のみならず、AD において重症度の指標となることがわかった。また、MGL_1304 は *Malassezia globosa* から分泌され汗に含有される蛋白であるが、MGL_1304 特異的 IgE 値と *Malassezia* 特異的 IgE 値が一致しない例もあることから、汗アレルギーの診断においては *Malassezia* 特異的 IgE ではなく MGL_1304 に対する特異的 IgE を測定すべきと考えられる。AD 患者においては、血清中の rMGL_1304 特異的 IgE 値は IgG および IgG4 値と有意な相関を認めた。一方、CU 患者では血清 QRX 特異的 IgE が健常人に比較し有意に高値であったが、血清 rMGL_1304 特異的 IgE と IgG および IgG4 値は相関しなかった。MGL_1304 特異的 IgG、IgG4 が MGL_1304 に対する末梢血好塩基球ヒスタミン遊離を抑制することを考えると、MGL_1304 特異的 IgE 高値、IgG、IgG4 低値は、CU の病態に関与する可能性も考えられる。

以上の結果から、本論文は血清 MGL_1304 特異的 IgE および IgG、IgG4 値の測定方法を確立するとともに、AD および CU 患者において MGL_1304 特異的 IgE 値が上昇し、重症度と相関することを明らかにした。本研究は今後のアレルギー疾患の研究・診療に資すること大である。よって審査委員会全員は、本論文が申請者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。