

論 文 内 容 要 旨

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での

血清 MGL_1304 特異的 IgE 値の上昇)

Allergology International, 2014, in press.

主指導教員：秀 道広教授

(統合健康科学部門 皮膚科学)

副指導教員：平川 勝洋教授

(応用生命科学部門 耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学)

副指導教員：柳瀬 雄輝助教

(統合健康科学部門 皮膚科学)

平郡 真記子

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

【はじめに】

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 *Malassezia globosa* 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。

【方法】

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 μ m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E. coli（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。

【結果】

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ELISA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。

【考察】

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。