

## 論文内容要旨

A human monoclonal IgE antibody that binds to MGL\_1304, a major allergen in human sweat, without activation of mast cells and basophils

(汗の主要抗原である MGL\_1304 に、肥満細胞や好塩基球を活性化することなく結合するヒトモノクローナル IgE 抗体の同定)

Biochemical and Biophysical Research Communications, 巻 : 468  
99-104, 2015.

指導教員：秀 道広教授

(医歯薬保健学研究院統合健康科学部門皮膚科学)

石井 香

(論文内容要旨)

アトピー性皮膚炎やコリン性蕁麻疹の増悪因子であり、ヒト汗中の主要抗原として同定された MGL\_1304 は、人の皮膚常在菌 *Malassezia globosa* による分泌蛋白である。これまで、この MGL\_1304 や MGL\_1304 に対する IgE の定量は、患者血清中の IgE を感作した好塩基球や肥満細胞を用いたヒスタミン遊離試験や、MGL\_1304 に対するモノクローナル抗体と精製 MGL\_1304 を用いた ELISA で評価していた。

今回我々は市販されているヒトモノクローナル IgE (ABS-IgE) が MGL\_1304 に特異的に結合することを発見し、その詳細な確認を ELISA や western blot、また SPR ( $K_D=1.99$  nM) で行った。またその抗体が認識する抗原エピトープを dot blot 等で確認したところ、MGL\_1304 の 46~183 番目のアミノ酸配列を含む高次構造を認識していることが示唆された。

また MGL\_1304 を認識する ABS-IgE がヒスタミン遊離を起こす可能性を確認するため、好塩基球や肥満細胞上の高親和性 IgE レセプターに感作後、MGL\_1304 に反応させたが、ヒスタミン遊離は引き起こされなかった。

これまで患者血清中の MGL\_1304 に対する特異的 IgE 量の測定は、アトピー性皮膚炎患者のプール標準血清 (1000 U/ml) を用いてユニット数での表示を行っていたが、この ABS-IgE をスタンダード IgE として ELISA に用いることで、このアトピー性皮膚炎患者のプール標準血清が IgE 換算で 32 ng/ml という結果となり、今後、血清中特異的 IgE の測定は weight / volume の数値化が可能となった。

MGL\_1304 量の測定に関しては、ABS-IgE をサンドイッチ ELISA の検出抗体として用いることで、抗原を直接コートして測定する系よりも MGL\_1304 の検出感度が 10 倍増強された。このことによりヒト汗中に分泌される MGL\_1304 の正確な定量が可能になり、9名のボランティアから採取した汗中には 0.6~8.0 ng/ml ( $3.76 \pm 2.64$  ng/ml, mean  $\pm$  SD) の MGL\_1304 が含まれることを確認した。

この ABS-IgE は興味深いことに、MGL\_1304 と混和することで、MGL\_1304 が IgE を介して誘導する好塩基球や肥満細胞のヒスタミン遊離を中和することが可能であった。汗中に含まれる平均的な濃度に近い 3 ng/ml の MGL\_1304 によるヒスタミン遊離を、ABS-IgE は 30 ng/ml 以上の濃度で抑えることを確認した。

MGL\_1304 を特異的に認識し、尚かつ MGL\_1304 によるヒスタミン遊離の中和活性を持つ ABS-IgE は、それ自身が好塩基球や肥満細胞に感作されてもヒスタミン遊離活性は持たない。これらの ABS-IgE の能力は今後、MGL\_1304 で誘発される I 型アレルギー疾患の治療薬としての可能性を示唆する。