

慢性特発性蕁麻疹患者における
抗 IgE 自己抗体および抗 FcεRIα 鎖自己抗体
の臨床的意義 (要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程
内科系皮膚科学専攻

伊崎 聡志

修了年 2017 年

指導教員 照井 正

背景: 慢性特発性蕁麻疹 (chronic spontaneous urticaria, CSU) 患者の一部に、自己抗体が検出されることがある。自己抗体が検出される CSU は自己免疫性蕁麻疹と呼ばれ、他の慢性蕁麻疹に比べ症状が重篤で治癒までの期間も長い傾向があると報告されている。自己免疫性蕁麻疹患者の血清中に含まれる自己抗体は、IgE に対する抗体 (以下抗 IgE 抗体と呼ぶ) や高親和性 IgE 受容体 high affinity receptor for IgE (FcεRI) α 鎖に対する抗体 (以下抗 α 鎖抗体と呼ぶ) が報告されている。しかし、これらの自己抗体が CSU の病因にどのように関わっているかは未だに明らかにされていない。

活性化したマスト細胞から遊離産生されるヒスタミンやロイコトリエン C₄ などのメディエーターは、蕁麻疹症状発症を誘導する。患者血清中に皮膚マスト細胞を活性化する因子が存在することを検証する方法として、自己血清の皮内注射により生じた膨疹を測定する自己血清皮内テスト (autologous serum skin test, ASST) が知られている。しかし、血清中のどの成分がマスト細胞の活性化を惹起することができるかは十分に理解されていない。ASST はシクロスポリンの効果予測に利用できるとの報告もあるが、ASST の判定基準は施設間で統一性がないため、臨床症状との関連性は不明瞭である。

目的: 本研究では、CSU 患者における抗 IgE 抗体および抗 α 鎖抗体と臨床的特徴の関連性とその役割を調べることを目的とした。

方法と結果: CSU 患者 109 人、および健常者コントロール normal control (NC) 56 人から採血を行い、血液を遠心分離し血清を得た。さらに血清から IgG 分画を精製した。酵素免疫測定法により、精製 IgG 分画中の抗 IgE 抗体濃度、抗 α 鎖抗体濃度を測定した。抗 IgE 抗体、抗 α 鎖抗体濃度と臨床的特徴と

の関連性を調べた。ASST を行った CSU 患者群についても同様の調査を行った。その結果、抗 IgE 抗体濃度は CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高かったが、臨床的なパラメーターとは相関がなかった。抗 α 鎖抗体濃度は CSU 患者群と NC 群の間に統計学的な有意差はなかったが、CSU 患者群においては、抗 α 鎖抗体濃度と ASST の結果およびシクロスポリンの治療効果と相関があった。そこで CSU の病態に強く関連しているのは抗 α 鎖抗体濃度であることが推測された。血清中に可溶性 α 鎖が存在することが報告されており、抗 α 鎖抗体濃度に CSU 患者群と NC 群の間に統計学的な有意差が出ない理由として、NC 群の血清中には可溶性 α 鎖が多く存在し、抗 α 鎖抗体とマスト細胞や好塩基球の細胞膜表面の Fc ϵ RI との結合を阻害しているという仮説をたてた。

そこで次に血清中の可溶性 Fc ϵ RI α 鎖の細胞外領域（以下可溶性 α 鎖と呼ぶ）の濃度を酵素免疫測定法により測定した。その結果、NC 群の血清中の可溶性 α 鎖濃度は CSU 患者群と比較して統計学的に有意に高かった。血清中に可溶性 α 鎖が存在することが確認されたため、血清中の抗 α 鎖抗体は、理論上以下の 3 つの形が存在することになる。①可溶性 α 鎖が結合していないフリーの抗 α 鎖抗体（以下フリー抗 α 鎖抗体と呼ぶ）、②IgG の片側の可変領域に可溶性 α 鎖が結合した抗 α 鎖抗体、③IgG の両側の可変領域に可溶性 α 鎖が結合した抗 α 鎖抗体である。

次に、特にマスト細胞や好塩基球の活性化能が高いと思われるフリー抗 α 鎖抗体濃度を酵素免疫測定法により測定した。そのために 3 種類の測定方法を用いた。①従来の測定法による、フリー抗 α 鎖抗体と IgG の片側の可変領域に可溶性 α 鎖が結合した抗 α 鎖抗体の濃度の総和（以下従来法抗 α 鎖抗体と呼ぶ）の測定、②IgG の片側および両側の可変領域に可溶性 α 鎖が結合した抗 α 鎖抗

体の濃度の総和の測定、③フリー抗 α 鎖抗体と IgG の片側および両側の可変領域に可溶性 α 鎖が結合した抗 α 鎖抗体の濃度の総和(以下総抗 α 鎖抗体と呼ぶ)の測定である。③と②の差から、フリー抗 α 鎖抗体を算出した。その結果、フリー抗 α 鎖抗体濃度は NC 群の方が CSU 患者群よりも統計学的に有意に高かった。そこで 2 つの仮説を考えた。①CSU 患者の総 IgG における IgG1 分画が IgG4 分画より好塩基球活性化能が高く、抗 α 鎖抗体の機能の決定には IgG 分画の配分が重要であると考察した報告があるため、NC 群ではマスト細胞の活性化能の低い IgG4 分画の抗 α 鎖抗体濃度が高い可能性がある。②フリー抗 α 鎖抗体が CSU 患者群では既にマスト細胞や好塩基球に結合しているため見かけ上低値にみえる可能性がある。

そこで②は検討が難しいため、次に①の検証を行った。その結果、IgG4 分画フリー抗 α 鎖抗体価は NC 群の方が CSU 患者群よりも統計学的に有意に高かった。また、総抗 α 鎖抗体の IgG1 分画と IgG4 分画の比は CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高かった。

そこで実際に CSU 患者と NC の精製 IgG がヒトマスト細胞を活性化するかどうか確認実験を行なった。しかし、抗 IgE 抗体や抗 α 鎖抗体の濃度は、IgG 全体の 1/5000~1/50000 であり、自己抗体濃度が高い検体を用いてもヒトマスト細胞の脱顆粒率は、多くて 1~2%上昇したのみであった。したがって、マスト細胞を用いた CSU 患者と NC の精製 IgG によるマスト細胞の活性化能の検証は不可能と判断した。血清中に存在する、食物アレルギーの特異的 IgE によるマスト細胞の活性化を検証する感度の高い実験系が、中村亮介博士(国立医薬品食品衛生研究所、医薬安全科学部)から IgE crosslinking-induced luciferase expression (EXiLE)法として報告されており、次にこの EXiLE 法で解析を進めた。EXiLE 法によるマスト細胞活性化能は CSU 患者群の方が NC 群よりも統

計学的に有意に高値だった。また、CSU 患者において EXiLE 法によるマスト細胞活性化能と従来法抗 α 鎖抗体濃度の間には統計学的に有意な相関があった。

考察：本研究では、抗 IgE 抗体濃度は CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高かったが、臨床的なパラメーターとは相関がなかった。従来法抗 α 鎖抗体濃度は CSU 患者群と NC 群の間に統計学的な有意差はなかったが、CSU 患者群の間では ASST の結果およびシクロスポリンの治療効果と相関があった。その原因として 3 つの要因が挙げられた。①可溶性 α 鎖濃度は、NC 群の方が CSU 患者群よりも統計学的に有意に高値であったことから、可溶性 α 鎖が抗 α 鎖抗体とマスト細胞や好塩基球の細胞膜表面の Fc ϵ RI との結合を阻害していると考えられる。②可溶性 α 鎖が結合しておらず、 α 鎖の架橋が可能なフリー抗 α 鎖抗体濃度は、NC 群の方が CSU 患者群よりも統計学的に有意に高値だったが、IgG4 分画フリー抗 α 鎖抗体価は、NC 群の方が CSU 患者群よりも統計学的に有意に高かった。IgG4 が高くても IgG1 も相関して高ければ IgG1 の影響が優位となるため、抗 α 鎖抗体の IgG1 / IgG4 の比率を測定したところ、CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高かった。これは、CSU 患者の総 IgG における IgG1 分画が IgG4 分画より好塩基球活性化能が高く、抗 α 鎖抗体の機能の決定には IgG 分画の配分が重要であるという報告を支持するものである。③抗 α 鎖抗体によるマスト細胞脱顆粒能の指標として EXiLE 法を用いたところ、抗 α 鎖抗体による α 鎖架橋の結果の nuclear factor of activated T cells (NFAT) の転写活性は CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高値であり、また CSU 患者群はマスト細胞活性化能と従来法抗 α 鎖抗体濃度に有意な正の相関があったこと、である。以上より、CSU 患者群の抗 α 鎖抗体は脱顆粒を惹起する能力があることが示唆された。

今回 CSU 患者群の抗 α 鎖抗体が実際にマスト細胞活性化能を持っていることを示したのは世界で初めての所見である。マスト細胞活性化能と従来法抗 α 鎖抗体濃度が NC 群で相関がなく、CSU 患者群で相関があったことから、今後、臨床の場において CSU 患者群の従来法抗 α 鎖抗体濃度は、ASST 陽性とシクロスポリンの有効性を判定できる有用なバイオマーカーとなりうる。

ASST の結果において、抗 IgE 抗体濃度と関連はなかったが、従来法抗 α 鎖抗体濃度は関連しており、ROC 曲線から得られたカットオフ値は $0.578 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。従来法抗 α 鎖抗体濃度がカットオフ値以上の場合、ASST 陽性といえるオッズ比は 4.13 であった。この理由としては、抗 α 鎖抗体がマスト細胞の活性化能を持つことで説明できる。

シクロスポリン治療による治療効果を見てみると、抗 IgE 抗体濃度には関連がなかった。しかし、ASST の結果と、ASST 施行例中の CSU 患者における従来法抗 α 鎖抗体濃度と関連していた。シクロスポリンの治療標的は T 細胞であり、最近 CSU 患者において α 鎖に対しての自己反応性の $\text{CD4}^+\text{T}$ 細胞の存在が報告された。このことから、CSU の中に α 鎖に対しての自己免疫疾患群が存在していると推察される。

抗 IgE 抗体濃度は、CSU 患者群の方が NC 群よりも統計学的に有意に高く、ROC 曲線から得られたカットオフ値は $0.465 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。CSU 患者だけではなく、NC も含めた場合、本実験の結果から得られたカットオフ値以上であれば CSU と言えるオッズ比は 4.46 であった。自己免疫性蕁麻疹の診断には血清中に抗 IgE 抗体や抗 α 鎖抗体といった自己抗体を証明する必要がある。しかし、カットオフ値次第では偽陰性や偽陽性が大きくなってしまふ。本実験の結果から得られた抗 IgE 抗体濃度のカットオフ値は自己免疫性蕁麻疹の診断の指標の一つになりうると思われる。

以上より、CSU 患者群の抗 α 鎖抗体は、少なくとも ASST の結果とシクロスポリンの治療効果に関連があり、抗 α 鎖抗体濃度を NC 群と比較する意味はなく、CSU 患者群の抗 α 鎖抗体によるマスト細胞活性化能を測定することが意義あるものと考えられた。

まとめ：①CSU 患者群の抗 α 鎖抗体はマスト細胞活性化能を持つ。

②IgG1 分画抗 α 鎖抗体は IgG4 分画抗 α 鎖抗体よりマスト細胞や好塩基球の活性化能が高いと考えられ、実際抗 α 鎖抗体の IgG1/IgG4 比は CSU 患者群の方が NC 群と比べて統計学的に有意に高かったことから、CSU 患者群における抗 α 鎖抗体のマスト細胞活性化能を説明できる。

③抗 α 鎖抗体濃度は、CSU 患者群と NC 群間に有意差がみられなかったものの、CSU 患者群のみで検証すると、抗 α 鎖抗体濃度が $0.578 \mu\text{g/mL}$ 以上の場合、オッズ比 4.18 で有意に ASST に陽性であり、また抗 α 鎖抗体濃度が $0.578 \mu\text{g/mL}$ 以上の群でそれ未満の群と比較して有意にシクロスポリンが有効であったことから、従来法抗 α 鎖抗体濃度がシクロスポリンの効果予測判定の有用なバイオマーカーとなりうる。

④可溶性 α 鎖濃度は NC 群の方が CSU 患者群に比べて統計学的に有意に高く、NC 群では可溶性 α 鎖が抗 α 鎖抗体とマスト細胞や好塩基球の細胞膜表面の Fc ϵ RI との結合を阻害している可能性がある。

⑤臨床的に CSU と診断された患者の抗 IgE 抗体濃度が $0.465 \mu\text{g/mL}$ 以上だった場合、自己免疫性蕁麻疹と言える可能性があるが、抗 IgE 抗体濃度は臨床的特徴と明らかな関連はなかった。