QUANTITATIVE STUDY OF SERUM BLOCKING ANTIBODY DURING THE COURSE OF IMMUNOTHERAPY IN NASAL ALLERGY

KOTARO UKAI, M. D., YASUO SAKAKURA, M. D.,
SEIICHIRO YOSHII, M. D., CHIEKO TANIGUCHI, M. D.,
HIROSHI MITSUI, M. D., YUKIKO ITOH, M. D.,
YASURO MIYOSHI, M. D.

Department of Otolaryngology, Mie University School of Medicine, Tsu

(Director: Y. Miyoshi, M. D.)

This study was undertaken to evaluate the effect of immunotherapy on blocking antibody in 198 patients treated by the specific antigens. Blocking antibody titers were measured by the inhibition of erythema wheal reaction on the skin of recipient.

Blocking antibody activity was found out more than 50% of patients who had been treated by hyposensitization for more than 1 year and 70% of patients with house dust allergy.

There was a tendency of correlation between the concentration of the antigen used at the time of the study and appearance of the blocking antibody. There was a tendency of inverse correlation between eosinophils in the nasal secretion and the blocking antibody. The blocking antibody appeared most likely in patients with the improved clinical symptoms and/or the intranasal clinical findings. There was no relationship between the blocking antibody and the change of skin reaction or eosinophils in the circulation during the course of immunotherapy.

Inhibition of erythema wheal reaction on the skin of recipient for measuring the blocking antibodies is valuable as one of the parameters for the evaluation of hyposensitization.

A82—0463—30869

血清遮断抗体による鼻アレルギー減感作療法の評価

三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：三吉康郎教授）

鶴飼 幸太郎，坂倉 康夫，由井 誠一郎，谷口 知恵子，三井 洋

伊藤 由紀子，三吉 康郎

はじめに

鼻アレルギーの治療法として今日最も普遍的に行われているのは特異的減感作療法であるといっても過言ではない。

1935年 Cooke ら¹⁾ が枯草熱患者および正常者をブタクサ花粉の抽出物で頻回に感作すると皮膚固着性はないが受身移入された reagin と当該抗原との間の erythema-wheal reaction を特異的に抑制する抗体が産生されることを報告し、これを遮断抗体 (blocking antibody) と名

付けた。鼻アレルギーに対する特異的減感作療法の作用機序は主にこの遮断抗体の産生にあるといわれている。

著者らは、鼻アレルギーに対して特異的減感作療法の治療効果を、遮断抗体を指標とすることにより検討を加えてみた。

対象と方法

1977年12月より1978年6月まで三重大学耳鼻咽喉科アレルギー外来を訪れた鼻アレルギー患者で免疫療法を行

った 198 名を対象とした。初診時および再検査時に遮断抗体価測定のための血液を採取し試料とした。再検査の時期は原則として、特異減感作療法が維持量に達した時と、その後 6 カ月ごとに行った。

遮断抗体価の測定は前田²⁾の方法に従った。すなわち図 1 に示すように患者血清を 56°C で 1 時間温浴して非動化し使用前日まで -20°C に保存する。検査前日に融解し、血清を生理食塩水で 1~80 倍まで 5 段階に希釈、その血清に等量の抗原を加え約 1 時間室温にて振盪する。

この時に加える抗原の濃度は、2 倍に希釈した濃度とコントロールとして用いる皮内反应用の診断用抗原エキスを同じになるようにする。振盪後 4°C に 1 夜放置し、翌日患者の前腕皮内にその各々の混合物を注射し、15 分後にコントロールである抗原エキスのみのものと比べ発赤、膨疹の平均径が明らかに抑制を示した最大希釈倍数を遮断抗体価とした。

そして抗体価が $\times 1$ 以上を遮断抗体陽性とした。

抗原は市販（トリイ）のものをを用いた。

自觉症状の改善度は、効果判定基準をごく簡素化するために、くしゃみ発作、水性鼻漏、鼻閉について各 1 点

を与え、それらの症状が消失あるいは著るしく改善された場合を 0 点とした。3 が 0 かまたは 1 に、2 が 0 に、1 が 0 になれば有効と判定し、3 が 3 か 2 に、2 が 2 か 1 の場合を無効と判定した。また鼻内局所所見の改善度も同様に簡素化し、下甲介腫脹、下甲介粘膜蒼白、水様性分泌物について各 1 点を与え、これらの所見がないか、著るしく改善された場合を 0 点として効果を判定した。有効例は 3 が 1 または 0、あるいは 2 または 1 がそれぞれ 0 になった場合とし、無効例は 3 が 3 か 2 に、2 が 2 か 1 になった場合とした。

皮内反応の大きさの変化は、診断用抗原エキス（トリイ）を用い、減感作治療 3 カ月以上の症例で発赤の長径、短径の平均値が初診時を 100% としてその反応の大きさの変化を百分率で示した。

鼻汁好酸球検査は、サランラップに採取した鼻汁を Hansel 液で染色後 1000 倍の視野で検鏡し、4 個以下を一、5~20 個を +、20~100 個を ++、100 個以上を +++ とし分類した。

血清 IgE 濃度測定はトリパリチゲン（ヘキスト）による一元拡散法を用いて行った。また末梢血中好酸球は、血液像より好酸球 100 分率を求め、初診時に比べ再検査時の値がどのくらい変動したか、その差を測定した。

直接法

図 1 遮断抗体測定法

研究結果

抗原陽性率：鼻アレルギー患者 198 名の抗原決定率は 84.8% で図 2 に示すように、ハウスダストが全体の 67.7

図 2 抗原陽性率

%と圧倒的に多く、次いでカンジダ12.6%, スギ11.1%, アルテルナリア, ブタ草がそれぞれ3.0%, 綿0.5%

%の順であった。これらの抗原とパスパートの併用例は28.3%, ブロンカスマ併用例10.1%であった。またパスパート単独による治療例は12.1%, ブロンカスマ単独によるもの3.0%であった。

年齢別, 性別分布: 図3に示すように, 平均年齢は

図3 年齢別, 性別分布

図4 治療期間別分布

図5 治療期間と遮断抗体価

23.2歳，男女比は 1.36 : 1 で男性に多く，年齢別分布のピークは男性と女性で少し異っており，男性では11歳から20歳までの間の症例が50人と圧倒的に多く認められたが，女性では31歳から40歳までの間で24例と最も多く認められた，性別によるピークの違いに差が見られたことは興味ある点である。

治療期間別分布：遮断抗体価測定の対象となった198例の治療期間別分布を示すと図4のようになる。最高観察例は4年8カ月であるが全体の85% 169例が2年未満で，2年以上5年未満の長期観察例は29例15%と非常に少数であった。

治療期間と遮断抗体価：図5は治療期間と遮断抗体価を示す。減感作を始めて3カ月以上経過した症例の遮断抗体陽性率は49%，1年以上では56%と1年治療を続けた場合には半数以上に抗体の上昇を認めた。さらにハウスダスト治療例について検討してみると3カ月以上治療例で56%，1年以上で67%であった。しかし長期間減感作治療例においても遮断抗体が上昇しない症例が特に3年以上経過しているものに高率に認められた。

治療抗原濃度と遮断抗体価：図6に示すように抗原の濃度が $\times 10^{-6}$ までは抗体を認めないが， $\times 10^{-2}$ で41%， $\times 10^{-1}$ で58%と半数以上に遮断抗体を認めた。抗原濃度が濃くなるに従い抗体陽性率は上昇し，相関傾向を認めた。

鼻汁好酸球と遮断抗体価：鼻汁好酸球と遮断抗体陽性率との関係は図7に示すごとくである。好酸球100個以上の11例で抗体陽性率は27%であったが，4個以下の59

例中47%に遮断抗体陽性を認めた。好酸球数の遮断抗体陽性率との間には逆相関する傾向を認めた。

皮内反応の大きさの変化，血中好酸球，血清IgEと遮断抗体価との間には，いずれも相関を認めなかった。

自觉症状の改善度と遮断抗体価：有効例48例中30例63%に遮断抗体陽性を認めた。無効例63例中31例49%にも遮断抗体の出現を認めた（図8）。効果判定時期が各症例で異っているが，有効例の方が遮断抗体陽性率が高い傾向にあった。

鼻内局所所見と遮断抗体価：有効例23例中15例65%に遮断抗体陽性であった。一方無効例62例中28例45%に遮断抗体の陽性をみた。遮断抗体が陽性の割合は有効例に多く認めたが統計的に有意差はなかった（図9）。

考 察

種々のアレルギー疾患に対する減感作治療の作用機序は，特異的な遮断抗体の産生，特異IgE抗体産生細胞をimmune toleranceの状態にすること，また非特異的に肥満細胞を脱感作すること等が考えられているが³⁾，臨床症状の改善には主に遮断抗体の作用が主体を

図6 治療抗原濃度と遮断抗体価

図7 鼻汁好酸球と遮断抗体価

図 8 自觉症状の改善度と遮断抗体価

なしていると考えられる⁴⁾⁵⁾。

1935年 Cooke ら¹⁾ によって発見されたこの遮断抗体は主に IgG クラスの抗体の機能を示すと考えられているため⁶⁾、特異的 IgG 抗体量の測定は、遮断抗体価を反映すると思われる。IgG 抗体の測定方法は in vitro で radioimmunoassay 法⁷⁾⁸⁾⁹⁾、および特異抗原により遊離された histamine 阻止能力の測定¹⁰⁾、そして in vivo で皮内反応を利用した erythema wheal reaction¹¹⁾ の抑制度の測定等である。

histamine 遊離抑制能をみる方法は、ある種の抗原においては臨床症状と有意に相関することが報告されているが¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾、大量の血清を必要とし少量では結果を得るまでに数週間要する。これとは反対に IgG binding radioimmunoassay は少量の抗原と血清を用いるだけでよく、抗ヒト IgG 抗体も動物から大量に得られて便利でしかも微量の IgG 抗体を検出出来るためこれから発展する測定方法と思われる。

一方皮内反応を利用する方法は、1943年 Loveless¹¹⁾ により初めて報告された非常に伝統的な間接法である。

図 9 鼻内局所所見と遮断抗体価

この方法では抗原を治療済みの患者血清と incubate した場合皮内反応を抑制し、遮断抗体を半定量的に測定可能とするものである。そして患者自身を recipient とする直接法においても、recipient を健康者とする間接法と同程度の感度で測定出来るため⁹⁾、われわれは簡便な直接法を測定方法として選んだ。

特異 IgE 抗体価は特異 IgG 抗体価と逆相関し、臨床症状とは相関するといわれている¹⁵⁾。われわれの結果において遮断抗体価と血清 IgE 値との間には、特に有意な関係は認められなかった。これは特異 IgE 抗体でないためであろう。RAST との比較がその解答を示すものと考えている。

遮断抗体価と臨床症状に関しては図 8 に示したように、分類方法が大まかではあるが有効例の 63% は遮断抗体陽性であった。しかし無効例との間に特に有意差は認められなかった。これは鼻内局所所見(図 9)においても同様であり、有意差は認められなかった。治療効果または症状の寛解と遮断抗体価との間に一定の関係が見られないという報告もある¹⁶⁾¹⁷⁾。

血清遮断抗体価と臨床効果の関係には次の 4 項目が考えられる。1) 遮断抗体陽性で臨床症状改善された場合、

2) 遮断抗体陽性であるが臨床症状改善されなかった場合、3) 遮断抗体陰性であるが臨床症状が改善された場合、4) 遮断抗体陰性で臨床症状も改善されなかった場合、1) の場合は遮断抗体の効果が臨床症状の改善をもたらしたものである。2) では形成された遮断抗体に比較して日常曝露される抗原量が多いためか、あるいは末検索の抗原に重複感作されている場合が考えられる。3) は形成細胞に寛容が導入された可能性が考えられ、皮内反応と臨床効果との相関性が暗示される。4) では種々の可能性が想定されるが、いずれにしても治療効果がないため、治療方針の根本的な再検討が必要である。以上述べて来たように遮断抗体の測定方法に問題があるとしても鼻アレルギーにおける免疫学的治療の難かしさが暗示される。

長期間（特に3年以上）減感作施行例に遮断抗体陰性例が多く認められた矛盾に対する理由として次の点が考えられる。すなわち 1. 長期間治療を行っている症例は、免疫療法により症状の改善をみない事が多く、治療抗原の選択に誤りのあること。2. 維持量を注射する間隔が離れすぎていたこと。3. 維持量が少量のため皮内反応によって検出可能な抗体量を産生することが出来ないこと。4. 患者の都合により長期間治療休止期があった事等が考えられる。治療期間と遮断抗体価は相関しないといわれている¹⁸⁾。われわれの場合も図5に示されたように3年間に限っていても相関性は認められなかった。

鼻汁好酸球数と遮断抗体陽性率との関係はわれわれの結果において図7に示したように逆相関の傾向を認めた。好酸球は肥満細胞の脱顆粒を起した場所に引き寄せられ、種々の vasoactive amine に対して negative feedback として働いている²¹⁾。それ故に減感作療法により、IgG抗体が増加して来れば肥満細胞の脱顆粒現象も低下し、好酸球の集落の減少も当然考えられる。特に鼻汁好酸球検査法は外来のルーチンテストとして簡便であるために、治療効果を評価する指標として利用することが出来よう。

抗原濃度と遮断抗体陽性率において図6に示したように相関傾向を認めた。しかし抗原量と抗体価は必ずしも比例しない。少量あるいは大量の牛血清アルブミンの繰返し注射により、マウスに免疫寛容性の状態を作り出すことが出来る¹⁹⁾。これは T cell は少量の抗原注射で寛容となり、一方大量の抗原では T cell, B cell が共に寛容になるためと説明されている²²⁾。それ故、前田²⁾や藤谷²⁰⁾ がいうように遮断抗体価を高値に維持するため

には、高濃度の抗原を大量に注入することが望ましいと考える。

以上のように直接法による遮断抗体の測定は減感作療法無効例の原因追求に有力な検査法である。

ま と め

1977年12月より1978年6月までに三重大学耳鼻咽喉科アレルギー外来を訪れた鼻アレルギー患者 198名を対象として血清中の遮断抗体価を直接法にて測定した。

減感作を1年以上行くと半数以上に、特にハウスダストで70%近くに遮断抗体を認めた。抗原濃度と遮断抗体陽性率は相関傾向を認めた。また鼻汁好酸球と遮断抗体陽性率は逆相関する傾向を示した。自覚症状や鼻内局所所見で有効例は無効例に比し遮断抗体の陽性率が高い傾向にあった。皮内反応や血中好酸球と遮断抗体陽性率の間には有意の関係は認められなかった。

直接法による遮断抗体の測定は簡便で治療効果判定を行う他覚的検査法の1つとして有用である。

参 考 文 献

- 1) Cooke RA et al: Serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). J. Exp. Med 62: 733-751, 1935.
- 2) 前田克孝: Blocking antibody に関する研究. アレルギー 20: 169-181, 1971.
- 3) Frick OL: Approaches to the treatment of allergy based upon the mechanism of the reaction. In Fundenberg HH et al(eds) Basic & Clinical Immunology, p. 223. Lange Medical 1976.
- 4) Scully M and Rackemann F: Studies on the blocking antibody of Cooke in treatment of hay fever. J. Allergy 12: 549-558, 1941.
- 5) Loveless MH: Immunological studies of pollenosis. I. The presence of two antibodies related to the same pollen antigen in the serum of hay fever patients. J. Immunol 38: 25-50, 1940.
- 6) Lichtenstein LM et al: A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody. J. Immunol 101: 317-324, 1968.
- 7) Sobotka AK et al: Measurement of IgG-blocking antibodies: development and application of a radioimmunoassay. J. Immunol 117: 84-90,

- 1976.
- 8) 伊蔵幸治 他: ^{125}I 標識抗原を用いた抗ダニ IgG, IgA 抗体の定量と喘息患者の抗体の定量と喘息患者の抗体の各免疫グロブリンにおける分布の研究 アレルギー 24: 681-687, 1975.
- 9) *Foucard T and Johansson SGO*: Immunological studies in vitro and in vivo of children with pollinosis given immunotherapy with aqueous and a glutaraldehyde-treated tyrosine- adsorbed grass pollen extract. *Clinical Allergy* 6: 429-439, 1976.
- 10) *Lichtenstein LM and Osler AG*: Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena. XII. An in vitro study of the reaction between ragweed pollen antigen, allergic human serum and ragweed sensitive cells. *J. Immunol* 96: 169-179, 1966.
- 11) *Loveless MH*: Immunological studies of pollinosis. IV. The relationship between thermostable antibody in the circulation and clinical immunity. *J. Immunol* 47: 165-180, 1943.
- 12) *Lichtenstein LM et al*: Clinical and in vitro studies on the role of immunotherapy in ragweed hay fever. *Am. J. Med.* 44: 514-524, 1968.
- 13) *Sadan M et al*: Immunotherapy of pollinosis in children: An investigation of the immunological basis of clinical improvement. *N. Engl. J. Med.* 280: 623-627, 1969.
- 14) *Starr MS and Weinstock*: Studies in pollen allergy. III. The relationship between blocking antibody levels and symptomatic relief following hyposensitization with Allpyral in hay fever subjects. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 38: 514-521, 1970.
- 15) *Levy DA*: Conference on the biological role of the IgE system. In *Ishizaka K and Dayton DH Jr(eds) US Department of Health, Education & Welfare*, 1973.
- 16) 高柳長子: 鼻アレルギーの治療. 日耳鼻 72: 2159-2180, 1969.
- 17) 藤田洋祐: 鼻アレルギー 治療の現状と その評価 — 特異的減感作療法 日本耳鼻副鼻腔学会誌 16: 21-22, 1977.
- 18) *Foucard T and Johansson SGO*: Allergen-specific IgE and IgG antibodies in pollenallergic children given immunotherapy for 2-6 years. *Clinical Allergy* 8: 249-257, 1978.
- 19) *Mitchison NA*: The dosage requirements for immunological paralysis by soluble proteins. *Immunology* 15: 509-530, 1968.
- 20) 藤谷哲造: private communication, 1978.
- 21) *Roitt IM*: Hypersensitivity. In *Essential Immunology*. p. 157. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1977.
- 22) *Roitt IM*: The synthesis of antibody. In *Essential Immunology*. p. 91. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1977.
-
- 遮断抗体価の測定法につき、御教示頂きました神戸大学耳鼻咽喉科教室藤谷哲造先生に感謝の意を表します。
- 本論文の要旨は第11回東海耳鼻咽喉科アレルギー懇話会(昭和53年7月8日)、及び第26回日耳鼻中部地方部会連合会(昭和53年7月23日)において口演した。
-
- (原稿受付 昭和53. 12. 5日)
- 別刷請求先 〒 514 津市江戸橋 2-174
三重大学医学部耳鼻咽喉科学教室
鶴飼 幸太郎