

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17768

研究課題名(和文) アレルゲン特異的IgG4の経皮的感作、脱感作における機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of allergen-specific IgG4 in transcutaneous sensitization and desensitization

研究代表者

桃原 真理子(Ogawa-Momohara, Mariko)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50835741

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アレルゲン特異的 IgG4 (sIgG4) が抗IL4/IL13受容体モノクローナル抗体デュピルマブの治療効果によるB細胞抑制によって減少するかどうか検討し、アトピー性皮膚炎(AD)患者を対象とした前向き研究を実施した。調査の結果デュピルマブ治療はIgEやIgGの産生を抑制したがアレルゲン特異的IgG4(中和抗体)のみ増加傾向を示した。デュピルマブはIgE産生を抑えてIgG4産生を増加させることによってアレルゲンに対する反応そのものを軽減している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年アトピー性皮膚炎に対するバイオ製剤や低分子化合物が多数使用可能になってきている。デュピルマブの持つ今まで知られていなかった新たな作用機序による治療効果の可能性を示し、今後各患者に至適の医療を提供するために重要な薬剤の特性に関する理解を深める一助となった。

研究成果の概要(英文)：We conducted a prospective study in patients with atopic dermatitis (AD) to investigate whether allergen-specific IgG4 (sIgG4) is reduced by B cell suppression due to the therapeutic effect of the anti-IL4/IL13 receptor monoclonal antibody dupilumab. As a result of the investigation, dupilumab treatment suppressed the production of IgE and IgG, but only allergen-specific IgG4 (neutralizing antibody) showed a tendency to increase. It has been shown that dupilumab may reduce the response to allergens by suppressing IgE production and increasing IgG4 production.

研究分野：アトピー性皮膚炎

キーワード：アレルゲン IgE IgG4

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎では、喘息などのアレルギー疾患有病率が高く、血清 IgE 値やアレルギー特異的 IgE の有無が病勢に関連していることが広く知られている。近年、アトピー性皮膚炎の発症要因として、表皮のバリア機能異常による経皮感さが注目を集めている。尋常性魚鱗癬は、最も頻度が高く、皮膚のみに症状を呈す軽症の先天性角化症である。その原因遺伝子の一つであるフィラグリン遺伝子に異常を認めると、表皮でのフィラグリン産生が低下し、バリア機能異常をきたすことが知られており、アトピー性皮膚炎患者においても同遺伝子異常を 20-30% に認める。しかしながら、尋常性魚鱗癬患者において、同程度の皮膚の乾燥と落屑をみとめ、フィラグリン遺伝子異常を有する症例でも、アトピー性皮膚炎を生じる群と生じない群が存在する。アレルギー暴露頻度が高くてもアレルギーへの感作が成立しないのか、感作した後に脱感作が起きているのかを解明したいと考えた。IgG4 は IgG サブユニットの 1 つで、補体活性がなく、Fab arm exchange 機能を有するため大きな免疫複体を形成できず、Fc II,III 受容体との結合も弱いという特徴を持つため、抗炎症作用が強いとされている。スギ花粉の脱感作療法では、抗原を舌下投与後に抗原特異的 IgE、IgG4 が血中で上昇する。脱感作が成立し症状が軽快すると IgE は低下するが、IgG4 は高値のまま維持されるという報告が複数ある (Ken-ichi N, 2018 *Pediatr Allergy Immunol*. Couroux P 2018 *Allergy*). また、アトピー性皮膚炎患者では、しばしばアレルギー特異的 IgG4 が陽性になり、血清中総 IgG4 も高値になるが、総 IgG4 の値は病勢と関連しない。また、アレルギー特異的 IgG4 抗体をアレルギーと反応させると、肥満細胞上の IgE が抗原と反応できずヒスタミンの遊離が抑制される抗原中和作用が認められている (Francis JN, 2008 *J Allergy Clin Immunol*)。これらのことから抗原特異的 IgG4 と IgE の量的関係、あるいは抗原親和性が病勢と関係あるのではないかと考えた。プーリングされた他人の総 IgG をアトピー性患者に筋注することで、アレルギー特異的 IgE の低下と特異的 IgG4 の持続する上昇を認めた (Su-Mi Cho, 2017 *Int Immunopharmacol*)。これらから、他者のアレルギー特異的 IgG4 が脱感作を誘導できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

アトピー性皮膚炎でしばしば上昇を認める血清中アレルギー特異的 IgG4 が、アレルギーに対する皮膚での脱感作や抗炎症に寄与しているのではないかと仮説を立てた。

アレルギー経皮的脱感作機能における IgG₄ の役割と臨床的意義について検証する。

3. 研究の方法

1. 問診票、研究計画表、説明書の作成および検体収集

アレルギー歴、過去のアレルギー検査歴、生活歴、アトピーの季節性増悪のエピソードの確認、臨床検査データ、アトピー性皮膚炎評価スケール (EPASI, POEM) を画一化した問診票および調査票を用いて収集し、同時に、経皮水分蒸散量の測定を行う。

2. 患者血清中 IgG4 と IgE 抗体を測定する

(1) IgE 特異的アレルギー [吸入抗原 (スギ、ヒノキ、コナヒョウダニ)、経口抗原 (卵黄、牛乳)、経皮感作抗原 (ラテックス、表皮ブドウ球菌抗原)] を固層化した ELISA プレートを作成する。

(2) 1 次抗体に各患者の血清を反応させ、2 次抗体に IgG₄、IgE のウサギ由来抗体を使用し、抗体価を算出する注: 患者血清中の IgE、IgG₄ が競合し、見かけ上どちらかが低価になってしまうことが考えられる場合には初めに IgE や IgG を吸着除去することも検討する。

3. 抗原特異的 IgG4 におけるマクロファージ活性

(1) 患者血清中から IgG₄ 吸着カラムを用いて IgG₄ を精製する。

(2) 市販されている単球を IL-4、TNF を用いて、M1 マクロファージと M2 マクロファージに分化させる。

(3) 固層化したアレルギーに、生成した患者 IgG₄ を反応させ注、分化したマクロファージと培養する。培養液中の各マクロファージでのサイトカイン量を測定する。

4. 抗原吸着した IgG4 と B 細胞活性

(1) 患者血から磁気細胞分離システムを用いて B 細胞を分離採取する。

(2) IgG₄ 抗体、IgE 抗体で採取した B 細胞内に IgG₄、IgE 抗体産生 B 細胞がいることを確認する。

(3) 抗炎症、炎症サイトカイン下に抗原に吸着させた別患者の IgG₄ および IgE を B 細胞と培養し、培養液中の IgE、IgG₄ 濃度を計測する。

4. 研究成果

我々は、Hanifin および Rajka の診断基準で定義された AD (年齢 20 歳以上) の前向き研究

を実施した。この研究は、地元の治験審査委員会によって承認された（承認番号 2019-016215640）。血清は、50 人の AD 患者と 19 人の健康なコントロール (HC) から収集された。これらの 50 人の AD 患者のうち、15 人が追跡調査され、最初の来院時と約 3 年後 (31.5 ± 0.98 か月) に血清が採取された。15 人中 7 人が外用治療を受け、15 人中 8 人の患者がデュピルマブと外用治療の両方を受けた。患者の血清 TARC および総 IgE レベルは、3 年間のデュピルマブ治療後に有意に減少した ($p < 0.05$) が外用群は TARC、総 IgE に変化はなかった ($p = 0.37$ 、 $p = 0.89$)。我々は、コナヒョウヒダニ (イエダニ)、スギ花粉、イヌ皮膚、カンジダ・アルビカンスの sIgE と sIgG4 を測定するアレルゲン特異的 ELISA を確立した。抗原タンパク質は東京環境アレルギー研究所 (東京、日本) から購入した。イエダニの sIgE はデュピルマブ治療後に有意に減少し、イエダニの sIgG4 は有意に増加したが ($p < 0.05$)、外用治療群のイエダニの sIgE または sIgG4 に有意な変化はなかった ($p = 0.87$ 、 $p = 0.14$)。他の抗原 (スギ花粉、犬の皮膚、およびカンジダ アルビカンス) は、治療前と治療後で sIgE または sIgG に有意差は見られなかった。次に、各患者の治療前後の sIgE および sIgG4 レベルの変化を調べた。sIgG4/sIgE の比率を治療前後で比較すると、外用治療のみの場合と比較して、デュピルマブによる治療後はすべての抗原について sIgG4/sIgE の比率が増加した。これらの結果は論文化し学会発表を行った。

これらの結果から、sIgG4 が AD の改善と相関している可能性を突き止めた。しかしながら、治療介入前のアンケート調査で得られたアレルゲンに対する自覚症状が保険適応となっているアレルゲン特異的 IgE スコア (view39) と必ずしも相関せず、治療後の脱感作状態を評価することができなかった。アンケートと view39 の結果から各アレルゲンの抗原性の違いについて検討した。各アレルゲン特異的 IgE の値 (クラス) と血中総 IgE 量との相関性や、各アレルゲンクラス値間の相関についてアトピー性皮膚炎患者 38 名と喘息患者 16 名を対象に検討を行った。その結果、デュピクセント長期治療中にアレルゲン特異的 IgE の低下と IgG4 の増加をしめしたダニ抗原はマラセチアなどの他のアレルゲンと比較し、アトピー性皮膚炎患者において血中総 IgE とダニ特異的 IgE クラスとの相関や他のアレルゲン IgE 値と広く正の相関性をしめした。また、発症年齢が低いアトピー性皮膚炎患者は各アレルゲン IgE クラスが高い傾向にあった。この結果は特定のアレルゲン (ダニ、小麦) が他のアレルゲン (スギ、マラセチア) よりもアトピー性皮膚炎の病態と関連している (病原性がある) 可能性を示せた。この結果は論文化し発表をおこなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ogawa-Momohara Mariko, Muro Yoshinao, Murase Chiaki, Taki Tomoki, Tanahashi Kana, Yamashita Yuta, Koizumi Haruka, Fukaura Ryo, Takeichi Takuya, Akiyama Masashi	4. 巻 189
2. 論文標題 Allergen-specific IgG4 increase in atopic dermatitis with long-term dupilumab use	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 472 ~ 474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bjd/ljad207	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akashi Norika, Ogawa Momohara Mariko, Taki Tomoki, Fukaura Ryo, Wakahara Keiko, Kamiya Satoshi, Yamashita Yuta, Koizumi Haruka, Takeichi Takuya, Muro Yoshinao, Akiyama Masashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Correlation of serum allergen specific IgE with total serum IgE and IgE specific to other allergens in Atopic dermatitis patients	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.19872	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Dittmer M.R., Ogawa Momohara M., Muro Y., Kono M., Akiyama M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Remodelling of calcinosis cutis in a patient with scleroderma overlap syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 e20-e21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.15864	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogawa-Momohara Mariko, Muro Yoshinao, Mitsuma Teruyuki, Katayama Masao, Yanaba Koichi, Nara Mizuho, Kakeda Masato, Akiyama Masashi	4. 巻 96
2. 論文標題 Clinical characteristics of anti-Ro52 and anti-Ro52 antibodies in dermatomyositis/polymyositis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 50 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.08.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa-Momohara Mariko, Muro Yoshinao, Akiyama Masashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Overlap of systemic lupus erythematosus and myositis is rare in anti-Ku antibody-positive patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2019-216375	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa-Momohara Mariko, Muro Yoshinao, Akiyama Masashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Response to: 'Anti-Ku antibodies: important points to consider' by Mahler et al	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2019-216595	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okochi S., Ogawa Momohara M., Muro Y., Dittmer M. R., Akiyama M.	4. 巻 -
2. 論文標題 A single centre cohort study on cutaneous manifestations of antinuclear matrix protein 2 antibody positive dermatomyositis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ced.14152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Yoshiya, Kuwana Masataka, Fujii Takao, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 2019 Diagnostic criteria for mixed connective tissue disease (MCTD): From the Japan research committee of the ministry of health, labor, and welfare for systemic autoimmune diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1709944	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Momohara Mariko, Muro Yoshinao, Goto Katsunobu, Obuse Chikashi, Satoh Minoru, Kono Michihiro, Akiyama Masashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Subacute cutaneous lupus erythematosus with melanocyte elimination induced by pembrolizumab	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15316	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------