Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-19

IgE receptor responsiveness of basophils in chronic inducible urticaria

水野，真由子

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2024-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第8865号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100490090

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（課程博士関係）

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

IgE receptor responsiveness of basophils in chronic inducible urticaria

慢性刺激誘発型蕁麻疹における好塩基球の
IgE 受容体を介した反応性について

（指導教員：神戸大学大学院医学研究科医科学専攻内科系講座皮膚科学久保亮治教授）

Mayuko Mizuno
水野　真由子

背景

慢性蕁麻疹は、6 週間以上繰り返す膨疹および/または血管性浮腫と定義される。慢性刺激誘発型蕁麻疹(Chronic inducible urticaria; CIndU)は、慢性蕁麻疹のサブグループで、特定の刺激により再発性の膨疹および/または血管性浮腫が誘発される。一方、慢性特発性蕁麻疹（Chronic spontaneous urticaria; CSU）は、膨疹および/または血管性浮腫が特発性に出現することを特徴とし、既知の原因（すなわち、肥満細胞活性化自己抗体）または未知の原因と関連している。いくつかの研究で、高親和性 IgE 受容体（High- affinity IgE receptor; Fc ε RI）および IgE 経路を介した好塩基球の反応性は、健常対照（Healthy controls;HCs）と比較して活動性 CSU では有意に低く、好塩基球の反応性低下は疾患の寛解期に改善することが報告されている。一方で、CIndU のサブタイプである寒冷蕁麻疹の患者 5 人の好塩基球を抗 IgE 抗体で誘発した際のヒスタミンの放出量は、HCs と同等であったと報告されている。さらに、好塩基球の Fc ε RI の発現は、CSU および CIndU の患者では HCs と比較して有意に高かったという報告がある。しかし、CIndU の患者における好塩基球の IgE 受容体を介した反応性に関する報告はほとんどない。今回我々は、CIndU の患者における好塩基球の IgE 受容体を介した反応性、表面マーカーの発現の特徴を評価し CSU の患者と HCs と比較した。

材料と方法

研究デザイン

神戸大学医学部附属病院皮膚科を受診した CIndU の患者と CSU の患者を対象に観察研究を行った。組み入れ基準は、以下に記載したように CIndU または CSU と診断され、オマリズマブまたは経口ステロイドを使用していない患者とした。コリン性蕁麻疹（Cholinergic urticaria; CholU）は、運動および/または入浴（足浴）により誘発される膨疹により診断された。日光蕁麻疹の患者は、可視光線および/または紫外線に曝露することによって誘発される膨疹によって診断された。CSU は、同定可能な原因なしに 6 週間以上繰り返す膨疹および/または血管性浮腫によって診断された。HCs は、蕁麻疹症状を有さず、蕁麻疹の既往歴のない健康な成人ボランティアから登録された。オマリズマブと経口ステロイドで治療を受けている患者は登録時に除外された。

CIndU と診断された患者から非刺激時（膨疹が認められない時）に採血を行い、好塩基球活性化試験（Basophil activation test; BAT）を行った。CIndU の患者の好塩基球の IgE 受容体を介した反応性と表面マーカーの発現を、CSU の患者および HCs と比較した。さらに、CholU の患者では、診察室で特定の刺激により蕁麻疹を誘発させ、膨疹誘発前後に採血を行った。これらの症例では、膨疹出現前後の好塩基球の反応性を比較した。

好塩基球活性化試験（BAT）

CIndU、CSU の患者および HCs から、エチレンジアミン四酢酸含有採血管を用いて全血（最大 2mL）を採取し、採血後 24 時間以内にアッセイを実施した。Allergenecity kit(Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)を用いて、好塩基球 CD203c 発現を定量した。CD203c に加え、ヒスタミン放出を反映する活性化マーカーとして CD63（H5C6; BioLegend, San Diego, CA)も分析した。好塩基球サンプルはフローサイトメトリー（FACS Verse; BD Biosciences, San Jose, CA）で測定した。好塩基球の活性化状態は、平均蛍光強度（Mean fluorecense index; MFI）によって決定した。抗 IgE 抗体（E124-2-8D; Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA）または抗 Fc ε RI 抗体（CRA1; BioAcademia, Osaka, Japan）刺激後の CD203c または CD63 発現を、それぞれ定常（無刺激）状態の CD203c もしくは CD63 の MFI で割って反応比を算出した。さらに、抗 IgE 抗体刺激の結果は、CD63 陽性好塩基球の割合としても表した。CD63 陽性好塩基球のパーセンテージは、陰性対照サンプルの好塩基球のうち平均で 5%のみが蛍光を発する発現レベル以上と定義された。

好塩基球の IgE および Fc ε RI レベルの測定

好塩基球を、VioBlue 結合抗 IgE 抗体（クローン：MB10-5C4）(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany)、ビオチン化抗 Fc ε RI 抗体（クローン：CRA1）（BioAcademia）および APC-Streptavidin（BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ）（1.8mg/mL）を用い、フローサイトメトリーで解析した。IgE および Fc ε RI レベルは MFI として評価した。

結果

本研究に参加することに同意した CIndU の患者（n=24）と CSU の患者（n=38)、および HCs（n=23）が登録された。CIndU の患者は男性 7 人、女性 17 人であった。平均年齢は 40.2 歳、罹病期間の中央値は 10.0 年であった。血清総 IgE の中央値は 579.5IU/mL であった。CSU 患者は男性 24 人、女性 14 人であった。平均年齢は 46.3 歳であった。罹病期間の中央値は 4.0 年であった。血清総 IgE の中央値は 139.5IU/mL であった。HCs は男性 7 人、女性 16 人であった。平均年齢は 35.0 歳であった。CIndU の患者の内訳は、CholU が 21 例、日光蕁麻疹が 3 例であった。CholU の患者 5 名は、入浴誘発試験と運動誘発試験前後に採血を行った。これらの患者では、膨疹出現の前後の採血での BAT の結果を比較した。

まず、CIndU の患者、CSU の患者、HCs における定常（無刺激）状態の好塩基球上の CD203c、CD63、Fc ε RI、IgE の発現量を調べた。CIndU の患者における好塩基球上の

CD203c の発現は、CSU および HCs と比較して有意に高かった。CIndU の患者の好塩基球における CD63 の発現は、HCs と比較して有意に高く、CSU の患者と同程度であった。CIndU の患者の好塩基球における Fc ε RI の発現は、HCs と同程度であり、CSU と比較して有意に低かった。好塩基球上の IgE のレベルには、これら 3 群間で有意な差は認めなかった。

次に、好塩基球の IgE 受容体を介した反応性を検討するために、CIndU の患者、CSU の患者、HCs において、抗 IgE 抗体または抗 Fc ε RI 抗体刺激による活性化マーカーCD203c および CD63 の反応率を解析した。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激したところ、CIndU の患者の好塩基球における CD203c の反応率は HCs と同程度であり、CSU の患者よりも有意に高かった。末梢血好塩基球を抗 Fc ε RI 抗体で刺激すると、CIndU の患者の好塩基球上の CD203c 発現の反応率は HCs と同程度であり、CSU よりも有意に高かった。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激すると、検出活性化マーカーが CD63 でも同様の結果が得られた。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激した場合、CD63 陽性好塩基球の割合も同様の結果を示した。

次に、CholU の患者において、膨疹出現前後の定常（無刺激）状態における好塩基球上の CD203c、CD63、Fc ε RI および IgE の発現量を調べた。好塩基球上の CD203 発現量、好塩基球上の CD63 発現量、好塩基球上の Fc ε RI 発現量および好塩基球上の IgE レベルには、膨疹出現前後で有意な差は認めなかった。

最後に、好塩基球の IgE 受容体を介した反応を検討するために、膨疹出現前後の CholU の患者において、好塩基球を抗 IgE 抗体または抗 Fc ε RI 抗体で刺激したときの活性化マーカーCD203c および CD63 の発現の反応率を解析した。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激すると、膨疹出現後の好塩基球における CD203c 発現の反応率は、膨疹出現前と同等であった。末梢血好塩基球を抗 Fc ε RI 抗体で刺激すると、膨疹出現後の好塩基球の CD203c 発現の反応率は膨疹出現前と同等であった。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激した場合、検出活性化マーカーが CD63 でも同様の結果が得られた。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激した場合、CD63 陽性好塩基球の割合も、膨疹出現の前後で同様の結果を示した。

考察

本研究では、好塩基球の定常（無刺激）状態、IgE 受容体を介した反応性、および IgE 関連分子の発現に関連する特徴に注目した。CIndU の患者の定常（無刺激）状態における好塩基球活性化の程度は、HCs よりも高かった。そして、CIndU の患者における抗 IgE 抗体または抗 Fc ε RI 抗体による Fc ε RI 刺激による好塩基球反応性は、HCs と同

等であり、CSU よりも高かった。また、好塩基球表面の IgE および Fc ε RI の発現に異常は認められなかった。さらに、CholU の患者に膨疹を誘発し、膨疹出現前後の採血で BAT を行ったところ、有意な変化は認められなかった。重症 CSU 患者の好塩基球は、血中の自己抗原または自己抗体関連 IgE 経路によって軽度に活性化され、少量のヒスタミンを持続的に放出する可能性がある。その結果、CSU の患者の好塩基球の IgE 受容体を介した反応性は低かった。対照的に、CIndU の患者の定常状態の好塩基球は、HCs よりも CD203c と CD63 が高かったが、抗 IgE 抗体や抗 Fc ε RI 抗体の刺激に対する好塩基球の反応性に異常は認めなかった。これらの所見は、CIndU の患者における定常（無刺激）状態の好塩基球は、未知の機序によって弱い自己活性化状態にある可能性を示している。CIndU のサブグループである CholU では、末梢血好塩基球の IgE 受容体を介した反応性、Fc ε RI および IgE の発現は、膨疹出現の前後で有意な変化はなかった。この好塩基球の IgE 受容体を介した反応性、および表面マーカーに関連した異常の欠如は CIndU における好塩基球の病態における役割が CSU の好塩基球に比べて小さいことを示しているのかもしれない。主に血管に存在する好塩基球が、CIndU では軽微な役割しか果たさないことは理にかなっている。これは、CholU では汗管から真皮に漏れる汗が、日光蕁麻疹では真皮に届く日光によって変化する血清由来の因子が原因であると考えられ、真皮に蕁麻疹を誘発するアレルゲンとして働く可能性が高い。

末梢血好塩基球における Fc ε RI および IgE の発現に関する我々の結果は、以前に報告された結果とは異なっている。この相違は、我々の研究で CholU の患者の割合が高かったことに関連しているかもしれない。総 IgE と血管性浮腫の有無、およびアトピー性皮膚炎の既往における CSU と CIndU の統計的な差は、CIndU の患者の CholU の割合が高いことと関連しているかもしれない。さらに、CIndU と CSU では罹病期間に有意差があった。CSU 患者では罹病期間の違いが好塩基球の反応性に影響を与えたが、CIndU の患者では罹病期間の長短にかかわらず好塩基球の反応性に異常は認められなかった。したがって、CSU と CIndU の罹病期間の差は、両者の好塩基球反応性の差には影響しないと考えられる。CIndU の患者の定常状態における好塩基球上の CD203c と CD63 の発現が HCs と比較して有意に高いことは、アトピー性皮膚炎を合併した CholU の割合が高いことも影響しているかもしれない。

結論

CIndU の患者の末梢血好塩基球は定常状態でわずかに活性化していたが、好塩基球の IgE 受容体を介した反応性には異常は認められなかった。今後は CIndU のサブタイプ別の評価が必要であり、より多くの症例を登録すべきである。

神戸大学大学院医学研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨

受付番号	甲 第 3360 号	氏 名	水野 真由子
論文題目 Title of Dissertation	IgE receptor responsiveness of basophils in chronic inducible urticaria 慢性刺激誘発型蕁麻疹における好塩基球の IgE 受容体を介した反応性について		
審査委員 Examiner	主 査 Chief Examiner 宇田 健一 副 査 Vice-examiner 野津 寛大 副 査 Vice-examiner 岸本 忠三		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

【背景】
慢性蕁麻疹は、6 週間以上繰り返す膨疹および/または血管性浮腫と定義され、慢性刺激誘発型蕁麻疹(Chronic inducible urticaria; CIndU)は、慢性蕁麻疹のサブグループで、特定の刺激により誘発され、慢性特発性蕁麻疹（Chronic spontaneous urticaria; CSU）は特発性に出現することを特徴とし、既知の原因（すなわち、肥満細胞活性化自己抗体）または未知の原因と関連している。いくつかの研究で、高親和性 IgE 受容体（High- affinity IgE receptor; Fc ε RI）および IgE 経路を介した好塩基球の反応性は、健常対照（Healthy controls;HCs）と比較して活動性 CSU では有意に低いことが報告されている。一方で、寒冷蕁麻疹患者の好塩基球を抗 IgE 抗体で誘発した際のヒスタミンの放出量は、HCs と同等であり、好塩基球の Fc ε RI の発現は、CSU および CIndU の患者では HCs と比較して有意に高かったとの報告がある。申請者は、CIndU の患者における好塩基球の IgE 受容体を介した反応性、表面マーカーの発現の特徴について検討した。

【方法】
研究デザイン
神戸大学医学部附属病院皮膚科を受診した CIndU の患者と CSU の患者を対象に観察研究を行った。コリン性蕁麻疹（Cholinergic urticaria; CholU）は、運動および/または入浴（足浴）により誘発される膨疹により診断された。
CIndU と診断された患者から非刺激時に採血を行い、好塩基球活性化試験（Basophil activation test; BAT）を行った。CIndU の患者の好塩基球の IgE 受容体を介した反応性と表面マーカーの発現を、CSU の患者および HCs と比較し、CholU の患者では、診察室で特定の刺激により蕁麻疹を誘発させ、膨疹誘発前後に採血を行った。

好塩基球活性化試験（BAT）
CIndU、CSU の患者および HCs から全血を採取し、好塩基球 CD203c とヒスタミン放出を反映する活性化マーカーとして CD63 を分析し、抗 IgE 抗体または抗 Fc ε RI 抗体刺激後の CD203c または CD63 発現を調べた。

【結果】
CIndU の患者における好塩基球上の CD203c の発現は、CSU および HCs と比較して有意に高かった。CIndU の患者の好塩基球における CD63 の発現は、HCs と比較して有意に高く、CSU の患者と同程度であった。CIndU の患者の好塩基球における Fc ε RI の発現は、HCs と同程度であり、CSU と比較して有意に低かった。
次に、末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激したところ、CIndU の患者の好塩基球における CD203c の反応率は HCs と同程度であり、CSU の患者よりも有意に高かった。末梢血好塩基球を抗 Fc ε RI 抗体で刺激すると、CIndU の患者の好塩基球上の CD203c 発現の反応率は HCs と同程度であり、CSU よりも有意に高かった。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体で刺激すると、検出活性化マーカーが CD63 でも同様の結果が得られた。

【結論】

本研究では、CIndU の患者における定常（無刺激）状態の好塩基球は、未知の機序によって弱い自己活性化状態にあったが、好塩基球の IgE 受容体を介した反応性には異常は認められなかった。本研究は、CIndU の患者の病態における好塩基球の関与を調べた価値ある研究である。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。