Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Low Responsiveness of Basophils via FcεRI Reflects Disease Activity in Chronic Spontaneous Urticaria

Oda, Yoshiko

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2020-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第7714号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007714

※ 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

Low Responsiveness of Basophils via FcεRI Reflects Disease Activity in Chronic Spontaneous Urticaria

慢性特発性蕁麻疹における Fc ε RI を介した好塩基球の低反応性は
疾患活動性を反映する

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
（指導教員：錦織　千佳子　教授）

織田　好子

背景

慢性特発性蕁麻疹（Chronic spontaneous urticaria; CSU）は、直接的原因/誘引なく、または肥満細胞を活性化する自己抗体などの存在により、自発的に膨疹、血管性浮腫が出現し、発症してからの期間が6週間以上のものと定義される。活性化した皮膚肥満細胞からのヒスタミンは、CSU の病態において中心的な役割を果たすが、一部の患者に認める抗 H1 受容体拮抗薬の不十分な効果は、ヒスタミン以外の要因が CSU の病態生理に関与していることを示唆している。従って、近年では好塩基球を含む肥満細胞以外の炎症性細胞の CSU の病態における関与が注目されている。事実、病理組織学的に CSU の皮膚病変において、血管周囲性に好塩基球を含む炎症細胞浸潤が観察されている。また、好塩基球活性化マーカーである CD203c は CSU 患者の定常状態での末梢血好塩基球上で高発現していること、抗 IgE 抗体に対する好塩基球からのヒスタミン遊離量が健常者（healthy controls; HCs）と比較し少ないことが報告されている。

このように、好塩基球は CSU の病態において重要な役割を果たすことが示唆されるが、IgE の高親和性受容体である Fc ε RI を介した刺激に対する好塩基球の応答性や、好塩基球上の Fc ε RI や IgE 発現と CSU 患者の臨床的特徴に焦点を当てた研究報告は少ない。従って、本研究では CSU 患者、対照群として軽症のアトピー性皮膚炎（atopic dermatitis; AD）患者、HCs において、Fc ε RI を介した刺激に対する好塩基球応答を好塩基球活性化マーカーである CD203c を用いて解析した。CSU 患者においては好塩基球の応答性と疾患活動性との関連についても調査した。さらに、好塩基球上の Fc ε RI（CRA1、CRA2）発現と IgE 発現を解析し、これらについても疾患活動性との関連性を調べた。

方法

好塩基球活性化試験

CSU 患者（38 人）、AD 患者（8 人）、および HCs（11 人）から採血を行った。無刺激時(PBS)および抗体刺激時の好塩基球上の CD203c 発現を観察した。刺激抗体として、2 種類の抗 IgE 抗体（E124-2-8D、MB10-5C4）、2 種類の抗 Fc ε RI 抗体（CRA1、CRA2）を用いた。CRA1 抗体は、IgE の存在下でも Fc ε RI に結合するが、CRA2 抗体は、IgE 結合部位と重複する領域で Fc ε RI サブユニットと結合するため、CRA1 は好塩基球上の全ての Fc ε RI に、CRA2 は IgE 非存在下の Fc ε RI と結合する。

50 μL の EDTA 血液を、活性化バッファー中の CRTH2-FITC、CD203c-PE、および CD3-PC7 からなる染色試薬 10 μL とインキュベートし、それぞれの 4 種類の刺激抗体または PBS と 37°C15 分間混合し刺激を加えた。次いで、CRA1 または CRA2 に対するビオチン化抗体に対して、APC ストレプトアビジンを 4°C30 分間で結合させた。その後、溶血と白血球の固定を行い、フローサイトメトリーで評価した。

抗体刺激に対する結果は CD203c が高発現した好塩基球の割合（$CD203c^{high}$ basophil (%)）で評価した。PBS と incubate した時の $CD203c^{high}$ basophil が 5%以下となるようにカット

オフを設定した。

IgE と Fc ε RI 発現の測定

好塩基球を VioBlue 標識抗 IgE 抗体(MB10-5C4)およびビオチン化抗 Fc ε RI 抗体(CRA1 または CRA2) とさらに APC ストレプトアビジンと反応させ、フローサイトメトリーで解析した。解析手順は抗 IgE 抗体、抗 Fc ε RI 抗体を用いた好塩基球活性化試験と同一である。IgE および Fc ε RI レベルは平均蛍光強度 (MFI) として評価した。

結果

CSU 患者の好塩基球における Fc ε RI 刺激後の CD203c 発現の測定

抗体刺激のない定常状態において、CSU 群の末梢血好塩基球上の CD203c 発現は HCs 群と同等であった (Fig.E2)。次に末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体 (E124-2-8D、MB10-5C4) で刺激した場合、ほぼすべての HCs において、CD203c が高発現した好塩基球の割合 (CD203c^{high}basophil(%))が上昇した。一方、CSU 群では CD203c^{high}basoohil の割合は、HCs 群や AD 群と比較して有意に低かった (Fig.1A、B)。抗 Fc ε RI (CRA1) で刺激した場合、CSU 群の好塩基球は、HCs 群と比較して、CD203c^{high}basophil の割合が低い傾向にあり、AD 群と比較して有意に低かった (Fig.1C)。対照的に、抗 Fc ε RI (CRA2) 刺激では、いずれの群においても CD203c 発現の上昇はほとんど認めなかった (Fig.1D)。

次に、CSU 群における抗体刺激に対する好塩基球の CD203c 反応性と疾患活動性との関連について解析した。CSU は urticaria activity score 7 (UAS7) に基づき軽症、中等症、重症の 3 群に分類した (Table 2)。抗 IgE 抗体で刺激した場合、CD203c^{high}basophi の割合は HCs と比較し重症群で有意に低く、軽症群や中等症群では有意差は認めなかった (Fig.2A、B)。一方で、抗 Fc ε RI (CRA1) 刺激した場合、HCs 群と比較して、重症群で低い傾向にあったが、統計学的な差は得られなかった (Fig.2C)。

CSU 患者における好塩基球上の IgE と Fc ε RI 値の測定

定常状態での好塩基球上の Fc ε RI 発現は HCs より CSU 患者で高いことが、既に報告されている。CD203c の高発現を含む好塩基球の活性化は、好塩基球上の IgE と Fc ε RI の架橋によって引き起こされるため、我々は CSU 群と HCs 群での好塩基球上の Fc ε RI と IgE 値を解析した。CSU 群における好塩基球上の Fc ε RI (CRA1)発現は、既報告と同様に、HCs と比較して有意に高かった (Fig.3B)。一方で、好塩基球に結合した IgE や Fc ε RI(CRA2) 発現は 2 群間で差は認めなかった (Fig.3A、C)。

さらに、CSU 群における好塩基球上の Fc ε RI や IgE 値と CSU の重症度との関連性を解析した。CRA1 発現は、HCs と比較し中等症群で有意に高く、軽症や重症群では差はなかった (Fig.4B)。さらに好塩基球上に結合した IgE や CRA2 発現 (Fig.4A、C) や血清総 IgE 値 (Table 2) も重症度との間に統計学的な差はなかった。

好塩基球の CD203c 反応性に基づいた CSU 患者の分類

我々は、一部の CSU 患者に特徴的である、抗体刺激に対する好塩基球の CD203c 低反応性に着目し、サブグループ解析を行った。抗 IgE 抗体刺激に対する CD203c^{high} basophil の割合が 10%未満を nonresponder 群、10%以上を responder 群と定義した。興味深いことに、罹病期間は responder 群よりも nonresponder 群の方が有意に短かった (Fig. 5A)。さらに、抗 IgE 抗体刺激後の CD203c^{high}basohil の割合と罹病期間は正の相関を示した (Fig. 5D)。また、nonresponder 群は responder 群と比較して UAS7 が有意に高く、urticaria control test (UCT) が有意に低かった (Fig. 5B、C)。つまり、nonresponder 群の方が、疾患活動性が高く、蕁麻疹コントロールが不良であることが判明した。さらに、抗 IgE 抗体に対する nonresponder 群は CRA1 抗体に対する CD203c の反応性も有意に低く、好塩基球上の Fc ε R1 発現も有意に低かった(Fig.6A、B)。

考察

本研究では、好塩基球上の Fc ε RI に対する複数の刺激抗体 (抗 IgE (E124-2-8D、MB-105C4)、抗 Fc ε RI(CRA1、CRA2))を利用した解析を行い、CSU 患者で好塩基球上の CD203c 発現上昇が HCs や AD 患者と比較して有意に減弱することが観察された。またこの好塩基球の低反応性は CSU の重症群で顕著であった。

既報告と一致し、CSU 患者の好塩基球上の Fc ε RI (CRA1) 発現は HCs と比較して高かった。IgE の存在や IgE - Fc ε RI 間の相互作用は好塩基球上の Fc ε RI 発現を上昇させることが知られている。我々の研究においても、血清総 IgE 値は Fc ε RI (CRA1) 発現と相関しており、血清中の単量体 IgE が好塩基球上の Fc ε RI の発現を誘導している可能性がある (Fig. E5)。一方、好塩基球上の IgE や Fc ε RI 発現は Fc ε RI を介した刺激に対する CD203c 反応性と相関は認めなかった (Fig. E7、8)。これらのデータは、単量体 IgE が CSU の好塩基球において CD203c 発現の上昇または活性化を生じずに Fc ε RI の発現を上昇させ、他の活性化因子を増強するために"primed"された状態を保っている可能性を示唆している。一方、好塩基球上の IgE や Fc ε RI 発現は CSU 患者における疾患の重症度とは関連性は認められなかった。

結論として、Fc ε RI を介した好塩基球の低反応性は、CSU 患者に特徴的な現象であり、疾患の重症度と比較的短い罹病期間と関連していた。このように好塩基球の調節不全を示す Fc ε RI を介した好塩基球の反応性によって CSU 患者の分類することは、蕁麻疹の病態における好塩基球の役割の解明に役立つ可能性がある。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨

受付番号	甲 第 2931 号	氏 名	織田 好子
論文題目 Title of Dissertation	Low Responsiveness of Basophils via FcεRI Reflects Disease Activity in Chronic Spontaneous Urticaria 慢性特発性蕁麻疹における FcεRI を介した好塩基球の低反応性は疾患活動性を反映する		
審査委員 Examiner	主 査 Chief Examiner 西村 善博 副 査 Vice-examiner 飯島 一誠 副 査 Vice-examiner 森信 暁雄		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

慢性特発性蕁麻疹（Chronic spontaneous urticaria; CSU）において、活性化した皮膚肥満細胞からのヒスタミンはその病態において中心的な役割を果たす。しかし、一部の患者では抗 H1 受容体拮抗薬の効果が不十分で、ヒスタミン以外の要因が CSU の病態生理に関与していると考えられ、近年では好塩基球を含む肥満細胞以外の炎症性細胞の CSU の病態における関与が注目されている。病理組織学的に CSU の皮膚病変において、血管周囲性に好塩基球を含む炎症細胞浸潤が観察され、好塩基球が CSU の病態において重要な役割を果たすことが示唆されているが、IgE の高親和性受容体である FcεRI を介した刺激に対する好塩基球の応答性や、好塩基球上の FcεRI や IgE 発現と CSU 患者の臨床像に関する研究報告は少ない。本研究者らは CSU 患者、対照群として軽症のアトピー性皮膚炎（atopic dermatitis; AD）患者および健常者において、FcεRI を介した刺激に対する好塩基球応答を好塩基球活性化マーカーである CD203c を用いて解析し、CSU 患者においては好塩基球の応答性と疾患活動性との関連、好塩基球上の FcεRI（CRA1、CRA2）発現と IgE 発現を解析し、これらについても疾患活動性との関連性を検討した。

対象は、CSU 患者（38 人）、AD 患者（8 人）および健常者（11 人）であった。無刺激時(PBS)および抗体刺激時の好塩基球上の CD203c 発現を観察した。刺激抗体として、2 種類の抗 IgE 抗体（E124-2-8D、MB10-5C4）、2 種類の抗 FcεRI 抗体（CRA1、CRA2）を用いた。CRA1 抗体は IgE の存在下でも FcεRI に結合するが、CRA2 抗体は IgE 結合部位と重複する領域で FcεRI サブユニットと結合するため、CRA1 は好塩基球上の全ての FcεRI に、CRA2 は IgE 非存在下の FcεRI と結合する。抗体刺激に対する結果は CD203c が高発現した好塩基球の割合（CD203c^{high} basophil（%））で評価した。

好塩基球をVioBlue標識抗IgE抗体（MB10-5C4）およびビオチン化抗FcεRI抗体（CRA1またはCRA2）とさらにAPCストレプトアビジンと反応させ、フローサイトメトリーで解析した。解析手順は抗IgE抗体、抗FcεRI抗体を用いた好塩基球活性化試験と同一である。IgEおよびFcεRIレベルは平均蛍光強度（MFI）として評価した。

抗体刺激のない定常状態において、CSU 群の末梢血好塩基球上の CD203c 発現は健常者群と同等であった。末梢血好塩基球を抗 IgE 抗体（E124-2-8D、MB10-5C4）で刺激した場合、ほぼすべての健常者において、CD203c が高発現した好塩基球の割合(CD203c^{high}basophil(%))が上昇した。一方、CSU 群では CD203c^{high}basoohil の割合は、健常者群や AD 群と比較して有意に低かった。抗 FcεRI（CRA1）で刺激した場合、CSU 群の好塩基球は、健常者群と比較して CD203c^{high}basophil の割合が低い傾向にあり、AD 群と比較して有意に低かった。抗 FcεRI（CRA2）刺激では、いずれの群においても CD203c 発現の上昇はほとんど認められなかった。

CSUをurticaria activity score 7（UAS7）に基づき軽症、中等症、重症の3群に分類したところ、抗IgE抗体で刺激した場合、CD203c^{high}basophiの割合は健常者と比較し重症群で有意に低く、軽症群や中等症群では有意差は認めなかった。一方で、抗FcεRI（CRA1）

刺激した場合、健常者群と比較して重症群で低い傾向にあった。

CSU 群における好塩基球上の FcεRI (CRA1)発現は、既報告と同様に、健常者と比較して有意に高かった。一方、好塩基球に結合した IgE や FcεRI (CRA2)発現は 2 群間で差は認められなかった。

CRA1 発現は、健常者と比較し中等症群で有意に高く、軽症や重症群では差はなかった。さらに好塩基球上に結合した IgE や CRA2 発現や血清総 IgE 値も重症度との間に有意差はなかった。

抗 IgE 抗体刺激に対する CD203c^{high} basophil の割合が 10%未満を nonresponder 群、10%以上を responder 群と定義し、抗体刺激に対する好塩基球の CD203c 低反応性に着目し、サブグループ解析を行ったところ、罹病期間は responder 群よりも nonresponder 群の方が有意に短かった。抗 IgE 抗体刺激後の CD203c^{high}basohil の割合と罹病期間は正の相関を示した。また、nonresponder 群は responder 群と比較して UAS7 が有意に高かった。つまり、nonresponder 群の方が、疾患活動性が高く、蕁麻疹コントロールが不良であることが判明した。

本研究では、好塩基球上の FcεRI に対する複数の刺激抗体（抗 IgE (E124-2-8D、MB-105C4)、抗 FcεRI(CRA1、CRA2)）を利用した解析を行い、CSU 患者で好塩基球上の CD203c 発現上昇が健常者や AD 患者と比較して有意に減弱することが観察された。またこの好塩基球の低反応性は CSU の重症群で顕著であった。

本研究より、慢性特発性蕁麻疹患者において FcεRI を介した好塩基球の低反応性は特徴的な所見であり、疾患の重症度と比較的短い罹病期間とに関連を示すことが明らかとなった。本研究は慢性特発性蕁麻疹患者における好塩基球の役割の究明に関して重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。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。