

●原 著

鳥関連過敏性肺炎の診断における鳥特異抗体

稲瀬 直彦 鷗浦 康司 宮崎 泰成 安井 牧人 吉澤 靖之

要旨：鳥抗原は過敏性肺炎における重要な原因抗原の一つであり，鳥抗原に対する特異抗体の簡便な測定法が望まれている．我々は鳥関連過敏性肺炎（BRHP）における鳩およびインコに対する IgG および IgA 抗体をイムノキャップ法により測定し，診断における有用性を検討した．急性 BRHP では抗体が著増し，ROC 解析により設定したカットオフ値により感度・特異度とも 75～100% を示した．一方，慢性 BRHP における抗体の上昇は軽度であり，感度は 27～73%，特異度は 45～100% であった．イムノキャップ法による鳩に対する抗体と ELISA 法による抗鳩糞抗体は良好な相関を示した．以上より，鳩およびインコに対する抗体の測定は BRHP の診断に有用であると思われる．

キーワード：過敏性肺炎，特異的抗体，鳩，インコ

Hypersensitivity pneumonitis, Specific antibody, Pigeon, Budgerigar

緒 言

過敏性肺炎は吸入抗原により惹起されるアレルギー疾患である¹⁾．臨床病型として急性過敏性肺炎と慢性過敏性肺炎に大別され²⁾，慢性過敏性肺炎はさらに再燃症状軽減型と潜在性発症型に亜分類される³⁾．再燃症状軽減型では，病初期から発熱などの急性エピソードを繰り返し，経過とともに発熱は軽減するが徐々に呼吸困難が出現する．一方，潜在性発症型では病初期から急性症状がなく徐々に咳や呼吸困難が進行し，特発性肺線維症と類似した臨床経過をとる．

過敏性肺炎の原因抗原は真菌，細菌，動物の蛋白，化学物質など多岐にわたるが，本邦では急性過敏性肺炎の原因としてトリコスポロンの頻度が高い⁴⁾．一方，慢性過敏性肺炎の原因は鳥糞や羽毛など鳥抗原であることが多い⁵⁾．鳥抗原により惹起される過敏性肺炎は，鳥飼育により抗原曝露を受ける場合と，公園や隣家の鳥あるいは羽毛布団から抗原曝露を受ける場合があり，後者の場合には患者が無自覚のまま曝露が持続する傾向がある．

過敏性肺炎の診断においては，抗原回避による改善と誘発試験による症候の再現が最も重要であるが，原因抗原に対する特異抗体の存在は過敏性肺炎を示唆する所見である．本邦で商業化されているトリコスポロンに対する抗体の測定法は感度も高く，診断に広く用いられている⁶⁾．一方，鳥抗原に対する抗体の測定は実験室レベル

で行われることが多く，簡便な測定方法の普及が望まれている．これまで我々は，鳩糞とインコ糞に対する IgG および IgA 抗体を ELISA 法で測定してきた^{7,8)}．近年，イムノキャップ法による特異抗体測定が商業化され，インコや鳩，オウムに対する IgG および IgA 抗体が測定可能となった^{9,10)}．過敏性肺炎の診断における本法の有用性が確認されれば，日常診療に役立つと思われる．

今回，急性および慢性鳥関連過敏性肺炎における鳩およびインコに対する抗体をイムノキャップ法により測定し，診断における有用性を検討した．

対象と方法

1. 対象

対象は 2000 年以降に東京医科歯科大学病院で診断された鳥関連過敏性肺炎（bird-related hypersensitivity pneumonitis, BRHP）65 例（急性 18 例，慢性 47 例）と膠原病肺 30 例，健常者 20 例である．

急性 BRHP の診断基準は，（1）鳥抗原の曝露を受ける環境，（2）聴診での捻髪音，（3）気管支肺泡洗浄液（BALF）でのリンパ球増多または鳩血清添加リンパ球増殖試験陽性，（4a）胸部 HRCT での小葉中心性粒状影またはすりガラス影，（5a）環境曝露による臨床像の再現と抗原回避による改善とした．慢性 BRHP の診断基準は，上記（1）（2）（3）に加えて，（4b）外科的肺生検で慢性過敏性肺炎に合致する所見，（5b）拘束性肺障害が 1 年以上にわたって進行または関連する症状が 6 カ月以上持続，（6b）鳩糞抽出物吸入誘発試験陽性または抗原回避による改善とした．

平均罹病期間（発症から採血まで）は，急性 BRHP

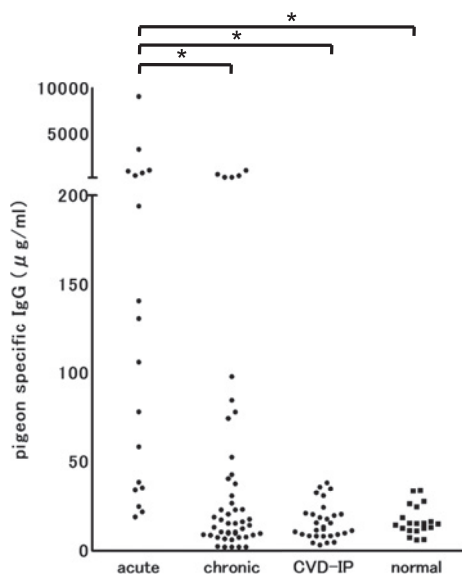


Fig. 1 Serum IgG against pigeons. acute: acute bird-related hypersensitivity pneumonitis. chronic: chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. CVD-IP: collagen vascular disease associated interstitial pneumonia. *: $p < 0.001$.

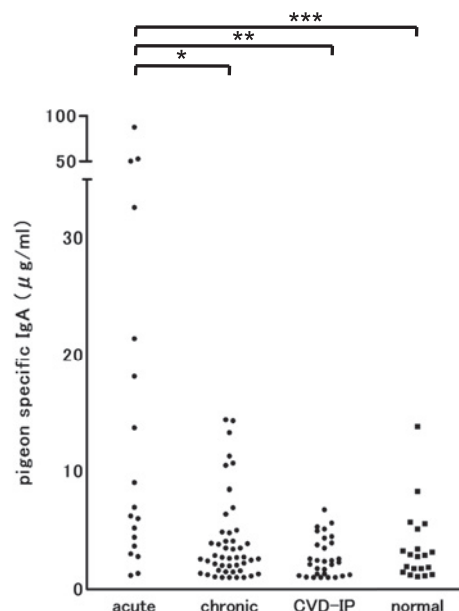


Fig. 2 Serum IgA against pigeons. acute: acute bird-related hypersensitivity pneumonitis; chronic: chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. CVD-IP: collagen vascular disease associated interstitial pneumonia. *: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.05$.

で3.3カ月、慢性BRHPで19.9カ月であった。鳥抗原の曝露を受ける環境（重複あり）として、急性BRHP18例のうち鳥飼育15例（鳩8例、インコ7例、その他の鳥1例）、羽毛布団使用3例であり、慢性BRHP47例では鳥飼育26例（鳩10例、インコ14例、その他の鳥5例）、近隣での鳥飼育や野鳥の飛来14例、羽毛布団使用18例、鶏糞肥料使用3例、鳥剥製陳列1例であった。健常者は鳥飼育や羽毛布団使用のない者としたが、膠原病肺30例には羽毛布団使用8例が含まれていた。

2. 特異抗体の測定

鳩およびセキセイインコに対するIgGとIgA抗体をイムノキャップ法（ファデア株式会社、東京）で定量した⁹⁾。本法では鳩およびセキセイインコの血清タンパク、羽毛、糞を混ぜたものを抗原として用いているが、詳細な抗原抽出法は公開されていない。また、当科で確立したELISA法では鳩糞およびインコ糞を透析・精製したものを抗原とし、これに対するIgGとIgA抗体を吸光度（O.D.値）で表示した⁷⁾。

3. 統計処理

統計ソフトはGraphPad Prism version 5.2（GraphPad Software Inc., U.S.A.）を使用した。多群間の比較はKruskal-Wallis testおよびDunn's testにより、2群間の相関はSpearmanの相関係数により検定した。

結 果

1. 抗体の測定

鳩に対するIgG（ $\mu\text{g/ml}$ ）は急性BRHP、慢性BRHP、膠原病肺、健常者でそれぞれ、 912.0 ± 516.2 （以下 $\text{mean} \pm \text{SE}$ ）、 72.9 ± 25.7 、 16.1 ± 1.8 、 16.9 ± 1.9 であり（Fig. 1）、また鳩に対するIgA（ $\mu\text{g/ml}$ ）はそれぞれ、 18.1 ± 5.5 、 4.1 ± 0.5 、 2.7 ± 0.3 、 3.5 ± 0.7 であり（Fig. 2）、いずれも急性BRHPが他群より高値を示した。

セキセイインコに対するIgG（ $\mu\text{g/ml}$ ）は急性BRHP、慢性BRHP、膠原病肺、健常者でそれぞれ、 513.1 ± 223.7 、 82.7 ± 56.4 、 5.6 ± 0.6 、 6.9 ± 0.6 であり（Fig. 3）、またセキセイインコに対するIgA（ $\mu\text{g/ml}$ ）はそれぞれ、 20.1 ± 6.4 、 3.4 ± 0.7 、 1.5 ± 0.1 、 1.6 ± 0.2 であり（Fig. 4）、いずれも急性BRHPが他群より高値を示した。

2. ROC 曲線による解析

急性BRHPおよび慢性BRHPについて、ROC解析により鳩に対するIgG、IgAおよびセキセイインコに対するIgG、IgAのカットオフ値を設定し、それぞれの感度と特異度を算出した（Fig. 5, 6, Table 1）。急性BRHPにおいては、鳩に対するIgGはカットオフ値 $34.2 \mu\text{g/ml}$ で感度83%・特異度100%、鳩に対するIgAはカットオフ値 $3.6 \mu\text{g/ml}$ で感度78%・特異度75%、セキセイインコに対するIgGはカットオフ値 $20.0 \mu\text{g/ml}$ で感度89%・特異度100%、セキセイインコに対するIgAは

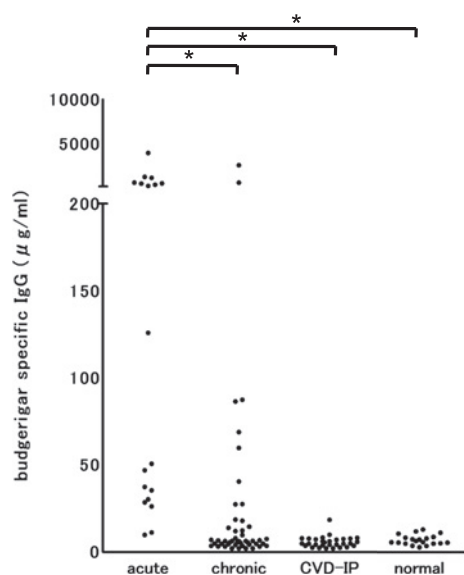


Fig. 3 Serum IgG against budgerigars. acute: acute bird-related hypersensitivity pneumonitis. chronic: chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. CVD-IP: collagen vascular disease associated interstitial pneumonia. *: $p < 0.001$.

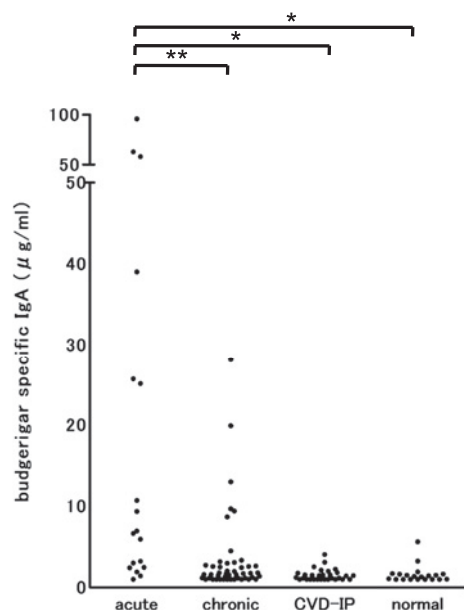


Fig. 4 Serum IgA against budgerigars. acute: acute bird-related hypersensitivity pneumonitis. chronic: chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. CVD-IP: collagen vascular disease associated interstitial pneumonia. *: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$.

カットオフ値 $1.8 \mu\text{g/ml}$ で感度 89%・特異度 85%であった。

慢性 BRHP においては、鳩に対する IgG はカットオフ値 $35.9 \mu\text{g/ml}$ で感度 27%・特異度 100%，鳩に対す

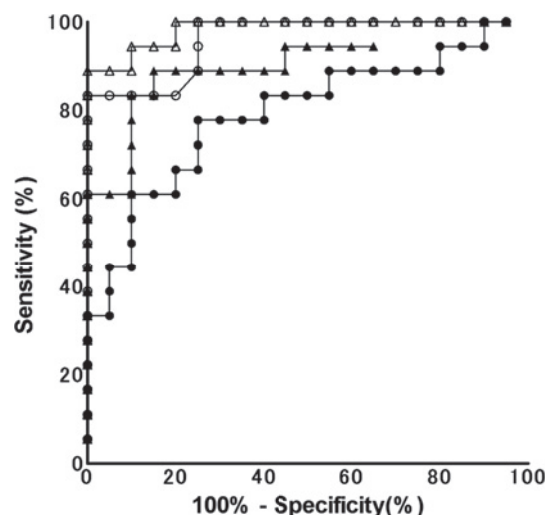


Fig. 5 ROC curves for the diagnosis of acute bird-related hypersensitivity pneumonitis. ○: IgG against pigeon; ●: IgA against pigeon; △: IgG against budgerigar; ▲: IgA against budgerigar.

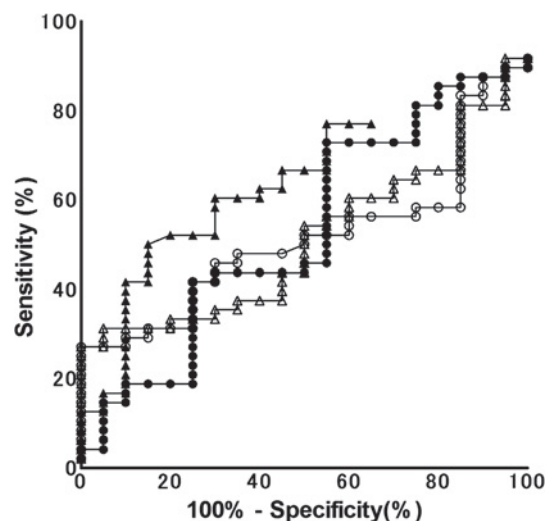


Fig. 6 ROC curves for the diagnosis of chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. ○: IgG against pigeon; ●: IgA against pigeon; △: IgG against budgerigar; ▲: IgA against budgerigar.

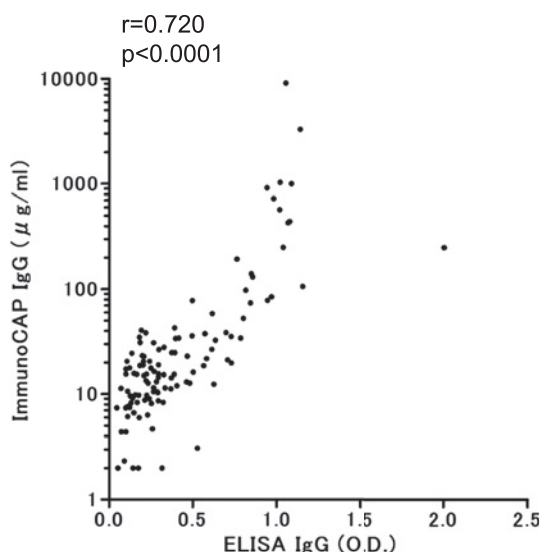
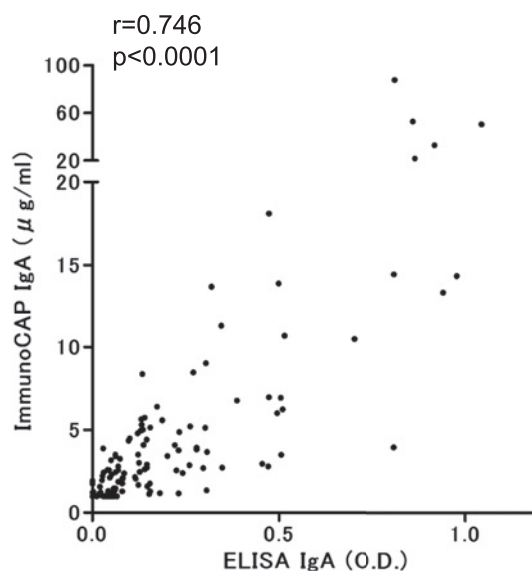
る IgA はカットオフ値 $1.9 \mu\text{g/ml}$ で感度 73%・特異度 45%，セキセイインコに対する IgG はカットオフ値 $13.4 \mu\text{g/ml}$ で感度 27%・特異度 100%，セキセイインコに対する IgA はカットオフ値 $1.7 \mu\text{g/ml}$ で感度 50%・特異度 85%であった。

3. ELISA 法との相関

イムノキャップ法による鳩に対する IgG と ELISA 法による抗鳩糞 IgG 抗体の相関係数は 0.720 ($p < 0.0001$) であり (Fig. 7)，イムノキャップ法による鳩に対する IgA

Table 1 Sensitivity and specificity of each antibody in bird-related hypersensitivity pneumonitis (BRHP)

antibody	type of BRHP	cut-off (μg/ml)	sensitivity (%)	specificity (%)	AUC
pigeon IgG	acute	34.2	83	100	0.960
	chronic	35.9	27	100	0.522
pigeon IgA	acute	3.6	78	75	0.792
	chronic	1.9	73	45	0.526
budgerigar IgG	acute	20.0	89	100	0.983
	chronic	13.4	27	100	0.517
budgerigar IgA	acute	1.8	89	85	0.899
	chronic	1.7	50	85	0.653

**Fig. 7** Correlation between IgG against pigeon by ImmunoCAP (μg/ml) and anti-pigeon dropping extract IgG by ELISA (O.D.)**Fig. 8** Correlation between IgA against pigeon by ImmunoCAP (μg/ml) and anti-pigeon dropping extract IgA by ELISA (O.D.)

と ELISA 法による抗鳩糞 IgA 抗体の相関係数は 0.746 ($p<0.0001$) であった (Fig. 8).

考 察

一般に過敏性肺炎の診断基準において特異抗体陽性の項目が含まれるが、今回は特異抗体自身が評価の対象となるために症例の選択において特異抗体陽性の項目を除外した。慢性 BRHP においては選択基準を厳格にするために、外科的肺生検が施行され、吸入誘発試験陽性または抗原回避により改善を認める症例のみを対象とした。慢性過敏性肺炎では抗体陽性率が低下し、特に潜在性発症型では陽性率が 35% 程度であることが知られている³⁾。今回の検討でも慢性 BRHP の診断においては感度が 27~73% と不十分であるが、特異度は 45~100% と比較的高く、簡便に施行可能な検査法として価値があると思われる。急性 BRHP においては、いずれの特異

抗体も感度・特異度ともに優れ、診断において極めて有用と思われる。

鳥抗原に対する抗体は、種をこえて多くの鳥抗原と交叉反応 (cross-react) すると考えられている¹¹⁾¹²⁾。今回も、鳩に対する抗体とセキセイインコに対する抗体は BRHP において同様に有用であった。両者は排他的な関係はなく、鳩に対する抗体値が高い症例はセキセイインコに対する抗体値も高い傾向にあった。これは鳩 IgG とセキセイインコ IgG の相関係数が 0.888 ($p<0.0001$)、鳩 IgG とセキセイインコ IgA の相関係数が 0.601 ($p<0.0001$)、鳩 IgA とセキセイインコ IgG の相関係数が 0.612 ($p<0.0001$)、鳩 IgA とセキセイインコ IgA の相関係数が 0.849 ($p<0.0001$) と良好であることから裏付けられた。

過敏性肺炎における特異抗体として IgG が測定されることが多いが、IgA も陽性を示すことが報告されてい

る⁷⁾。一般にIgAは気道免疫において重要な役割をはたしており、過敏性肺炎においては気管支肺胞液(BALF)や血清において抗原特異的IgAが検出される⁷⁾¹³⁾。本研究において急性BRHPでは鳩およびセキセイインコに対するIgGの特異度と感度がIgAと同等以上であり、IgAを追加測定する意義は乏しいと思われた。一方、慢性BRHPでは鳩およびセキセイインコに対するIgGおよびIgAの特異度と感度がいずれも不十分である。カットオフ値の設定により感度か特異度のいずれかが高めとなる結果であるが、検査法としての限界は明らかである。慢性BRHPにおけるIgGとIgA測定の意義については、今後症例数を増やして検討する必要があると思われる。

以上より、鳩およびセキセイインコに対する抗体は急性BRHPの診断に有用であるが、慢性BRHPの診断においては有用性に限界があると思われた。ただし慢性過敏性肺炎の診断は一般に困難であり、本法が簡便で商品化されていることを考慮すると、検査法としての限界を踏まえた上で慢性BRHPの鑑別に用いることに意義があると思われる。

謝辞：本研究の費用の一部は、厚生労働省難治性疾患克服事業「びまん性肺疾患に関する調査研究班」の援助を受けた。

文 献

- 1) Fink JN. Hypersensitivity pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 1-10.
- 2) Lacasse Y, Selman M, Costabel U, et al. Classification of hypersensitivity pneumonitis: a hypothesis. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 149: 161-166.
- 3) Ohtani Y, Saiki S, Sumi Y, et al. Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 604-610.
- 4) Ando M, Arima K, Yoneda R, et al. Japanese summer-type hypersensitivity pneumonitis. Geographic distribution, home environment, and clinical characteristics of 621 cases. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 765-769.
- 5) Hanak V, Golbin JM, Hartman TE, et al. High-resolution CT findings of parenchymal fibrosis correlate with prognosis in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2008; 134: 133-138.
- 6) Yoshizawa Y, Inase N, Miyake S, et al. Summer-type hypersensitivity pneumonitis—The most prevalent type in Japan. In: Kurup VP, ed. *Mold Allergy, Biology and Pathogenesis. Research Signpost*, 2005; 355-368.
- 7) Yoshizawa Y, Ohtani Y, Inoue T, et al. Immune responsiveness to inhaled antigens: local antibody production in the respiratory tract in health and lung diseases. *Clin Exp Immunol* 1995; 100: 395-400.
- 8) Yoshizawa Y, Miyake S, Sumi Y, et al. A follow-up study of pulmonary function tests, bronchoalveolar lavage cells, and humoral and cellular immunity in bird fancier's lung. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 122-129.
- 9) Lopata AL, Schinkel M, Potter PC, et al. Qualitative and quantitative evaluation of bird-specific IgG antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 173-178.
- 10) McSharry C, Dye GM, Ismail T, et al. Quantifying serum antibody in bird fancier's hypersensitivity pneumonitis. *BMC Pulm Med* 2006; 6: 16.
- 11) Sennekamp J, Lange G, Nerger K, et al. Human antibodies against antigens of sparrow, blackbirds, weaver finch, canary, budgerigar, pigeon and hen using the indirect immunofluorescent technique. *Clin Allergy* 1981; 11: 375-384.
- 12) Berrens L, Verschuren M, Van Dijk AG, et al. Antibodies against hen's egg proteins in pigeon breeder's disease. *Clin Allergy* 1986; 16: 355-363.
- 13) Ando M, Yoshida K, Soda K, et al. Specific bronchoalveolar lavage IgA antibody in patients with summer-type hypersensitivity pneumonitis induced by *Trichosporon cutaneum*. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 177-179.

Abstract

Measurement of bird specific antibody in bird-related hypersensitivity pneumonitis

Naohiko Inase, Koji Unoura, Yasunari Miyazaki, Makito Yasui and Yasuyuki Yoshizawa

Department of Integrated Pulmonology, Tokyo Medical and Dental University

Since the avian antigen is one of the important causative antigens in hypersensitivity pneumonitis, measurement of bird-specific antibody should be readily available. We measured IgG and IgA antibodies against pigeons and budgerigars by the ImmunoCap system in bird-related hypersensitivity pneumonitis (BRHP) to evaluate their diagnostic utility. In acute BRHP, antibodies markedly increased and showed high sensitivity and specificity ranging from 75–100% based on the cut-off values determined by ROC analysis. In chronic BRHP, antibody reactivity slightly increased, showing a sensitivity of 27–73% and specificity of 45–100%. Pigeon antibodies evaluated by the ImmunoCap system showed a good correlation with anti-pigeon dropping extract antibodies measured by ELISA. In conclusion, measurement of antibodies against pigeons and budgerigars are helpful for the diagnosis of BRHP.