

アレルギー特異的 IgE 抗体の新しいスクリーニング法 Quidel Allergy Screen の皮膚試験・RAST との比較検討

千葉大学医学部第二内科

岩本逸夫 山崎博臣 木村 亮 落合賢一
田中 真 富岡玖夫 吉田 尚

Quidel Allergy Screen (QAS) は 1 枚の試験紙で 9 種のアレルゲンに対する特異的 IgE 抗体を ELISA により測定する方法である。今回 QAS がアレルギー特異的 IgE 抗体のスクリーニング法として有用であるか否かを検討するため、これら 9 種のアレルゲン (HD1, HD2, *D. Pteronyssinus*, *D. farinae*, スギ, ブタクサ, ネコ, ハルガヤ, 卵白) に対する QAS による IgE 抗体価とプリックテスト, 皮内テストおよび RAST のそれとの間の一致率および相関を調べた。対象はアトピー性気管支喘息患者 93 名と健常人 25 名とした。QAS による IgE 抗体価はプリックテストと高い一致率を示した。また皮内反応閾値とも有意の正の相関を示した。さらに, QAS による IgE 抗体価は RAST によるそれと高い一致率および強い正の相関を示した。これらのことから, QAS はアレルギー特異的 IgE 抗体のスクリーニングに有用と考えられる。

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) — intradermal test — Quidel Allergy Screen — radioallergosorbent test (RAST) — skin prick test

はじめに

気管支喘息をはじめとするアトピー性疾患の診断および治療には原因アレルゲンの同定が必須である。そのために多数のアレルゲンを一度にスクリーニングできるプリックテストまたはスクラッチテストが施行される。これら皮膚試験によるアレルゲンのスクリーニングは短時間で施行でき、臨床症状との相関も高く、また安全であることから広く行われている¹⁾。しかし、皮膚試験では施行前に抗ヒスタミン剤などの抗アレルギー薬、抗喘息薬を一時中断する必要があること、皮膚描画症 (dermographism) などによる皮膚反応性の個人差が欠点である¹⁾。

これらの皮膚試験とともに、特異的 IgE 抗体を直接測定できる radioallergosorbent test (RAST) が原因アレルゲンの同定のために広く用いられている²⁾。また RAST による特異的 IgE 抗体価は皮膚試験および

誘発試験の結果と良く一致することも知られている³⁾⁻¹¹⁾。しかし現在の RAST は 1 枚の paper disc に 1 種のアレルゲンしか被膜されておらず、アレルゲンのスクリーニングのためには必ずしも適していない。

最近 1 枚の試験紙を用いて 9 種のアレルゲン特異的 IgE 抗体がスクリーニングできる enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) による測定法 (Quidel Allergy Screen; QAS) が開発された¹²⁾。そこで今回 QAS が特異的 IgE 抗体のスクリーニング法として有用であるか否かを検討するため、QAS による IgE 抗体価をプリックテスト, 皮内テストおよび RAST によるそれと比較検討した。

方 法

1. 対象

アトピー性気管支喘息患者 93 名, 健常人 25 名を対象とした。アトピー性気管支喘息の診断は米国胸部疾患学会の気管支喘息診断基準¹³⁾を満たし、プリックテストまたは RAST (0.7 PRU/ml 以上) で 1 種以上のアレルゲンに陽性であることとした。健常人はアトピー性疾患の症状・既往がなく、今回用いた下記 9 種アレル

Received: June 7, 1989

Accepted: August 4, 1989

Abbreviations: ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; HD house dust; QAS Quidel Allergy Screen; RAST radioallergosorbent test

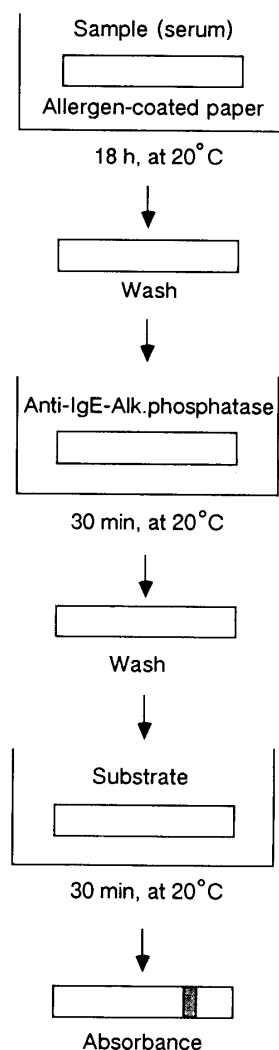


Fig. 1. Method of Quidel Allergy Screen (QAS) for measuring allergen-specific IgE antibody.

ゲンに対する RAST 値0.35PRU/ml 未満の者とした。

2. Quidel Allergy Screen (QAS) の方法 (Fig. 1)

QAS は9種のアレルゲン (house dust 1; HD1, house dust 2; HD2, ダニ 1; *Dermatophagoides pteronyssinus*, ダニ 2; *Dermatophagoides farinae*, スギ, ブタクサ, ネコ, ハルガヤ, 卵白) を, 個々に被膜してある paper pad 計9枚と対照用の paper pad を1枚のディップ型試験紙上に貼り合わせ, それを固相として ELISA によりアレルゲン特異的 IgE 抗体を測定する方法である (Fig. 1)¹²⁾。また対照用の paper pad にはアレルゲンは被膜されていない。まず被験血清1 ml をこのディップ型試験紙と室温で18時間反応させた。次に試験紙を洗浄後 alkaline phosphatase 標識マウス抗ヒト IgE モノクローナル抗体と室温で30分反応させた。洗浄後基質である 5-bromo-4-chloro-3-

indyl-phosphate ($4 \times 10^{-3} \text{M}$) と室温で30分反応させ, 青色の発色度を色彩色差計 (ミノルタ CR-221) を用いて測定した。

3. 皮膚試験

試験は全ての薬剤を24時間以上休薬した後, 被験者前腕にて施行した。プリックテストには6種のスクラッチ用エキスを (HD, ダニ; *Dermatophagoides farinae*, スギ, ブタクサ, ネコ, 卵白) (鳥居薬品) を用いた。判定は20分後に行い, 膨疹径5mm 以上または紅斑径15mm 以上を陽性とした¹⁴⁾。皮内テストは皮内テスト用エキス (鳥居薬品) を用い, 1000倍希釈液より10倍希釈系列で0.02ml 皮内注射し反応閾値を決めた。なおダニに対する皮内テストはダニスクラッチ用エキスを (鳥居薬品) を希釈して行った。判定は20分後に行い, 膨疹径9mm (平均) 以上または紅斑径20mm (平均) 以上を陽性とした¹⁵⁾。

4. RAST

Phadebas RAST キット (Pharmacia) を用いて測定した。すなわち, 被験血清 (またはその希釈血清) 100 μ l をアレルゲン被膜 paper disc と室温で3時間反応させた。次にその paper disc を洗浄し, ^{125}I -抗ヒト IgE 抗体50 μ l を加え, 4°Cで一晩反応させた。洗浄後, paper disc の放射活性を γ カウンターにて測定した。RAST による IgE 抗体価は標準血清 (Pharmacia) により PRU (Phadebas RAST unit) として算出し, 0.7 PRU/ml 以上を陽性とした。

5. データ解析

2変数の相関は最小2乗法による一次回帰式により相関係数を求めた。

結 果

1. QAS による IgE 抗体測定の定量性

QAS による IgE 抗体測定の定量性の有無を調べるため, ダニ 1 に対する IgE 抗体価高値 (372PRU/ml) 血清を用い, その2倍希釈系列血清におけるダニ 1 に対する QAS の吸光度を測定した (Fig. 2)。ダニ 1 に対する QAS の吸光度は512倍希釈血清 (吸光度1.8) から2倍希釈血清 (吸光度45.9) まで用量依存性に増加した。したがって, QAS は吸光度45以下の範囲で定量性があると考えられた (Fig. 2)。また今回用いた9種アレルゲンに対する健康人血清の QAS による吸光度は 0.59 ± 0.29 (平均 $\pm$ SD, $n=225$ 測定) であったため,

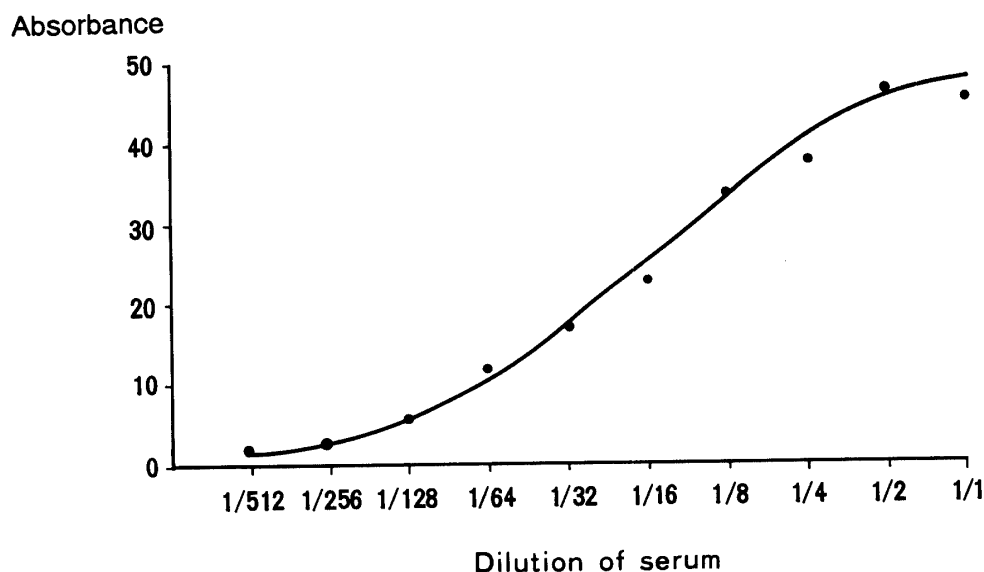


Fig. 2. Dose-dependent relationship between the amount of specific IgE antibody and the absorbance by QAS. A serum containing mite-specific IgE antibody was serially diluted with pooled normal human serum and the 1-to 512-fold diluted sera were measured by QAS.

Table 1 Relationship between the reactivity of skin prick test and the reactivity of Quidel Allergy Screen (QAS)

Allergen	S(+)Q(+)	S(+)Q(-)	S(-)Q(+)	S(-)Q(-)	S(+)Q(+)	S(+)Q(+)+S(-)Q(-)
					S(+)Q(+)+S(+)Q(-)	Total
House dust 1	44	13	1	17	77.2%	81.3%
House dust 2	38	19	0	18	66.7%	74.7%
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	37	9	1	15	80.4%	83.9%
<i>Dermatophagoides farinae</i>	37	9	1	15	80.4%	83.9%
Japanese cedar	17	8	9	20	68.0%	68.5%
Ragweed	7	6	2	30	53.8%	82.2%
Cat dander	7	8	3	28	46.7%	76.1%
Egg white	0	1	2	32	0%	91.4%

S(+) or S(-)=Positive or negative in skin prick test. Q(+) or Q(-)=Positive or negative by QAS.

吸光度1.5以上（平均+3SD）をQAS陽性とした。

2. QAS とプリックテストとの相関

QAS による IgE 抗体の陰性・陽性の判別とプリックテストによるそれとの間に高い一致率を認めた (Table 1)。すなわち今回検討した 9 種のアレルゲンにおける QAS とプリックテストとの一致率は 68.5~91.4%を示した。またプリックテスト陽性例における両者の一致率もネコ、卵白を除き 53.8%~80.4%を示した (Table 1)。しかしネコに対するプリックテスト陽性例では QAS の一致率はやや低かった (46.7%)。また卵白はプリックテスト陽性例が少なく、陽性例におけるデータの解析は十分ではなかった。

Table 2 Correlation between the threshold dose of intradermal test and the titer (absorbance) of QAS

Allergen	r value	p value	(n)
House dust 1	0.591	<0.01	(63)
House dust 2	0.547	<0.01	(63)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	0.580	<0.01	(57)
<i>Dermatophagoides farinae</i>	0.595	<0.01	(57)
Japanese cedar	0.471	<0.01	(39)
Ragweed	0.647	<0.01	(32)
Cat dander	0.328	<0.05	(35)
Egg white	—	—	—

Table 3 Relationship between the reactivity of RAST and the reactivity of QAS

Allergen	R(+)Q(+)	R(+)Q(-)	R(-)Q(+)	R(-)Q(-)	R(+)Q(+)	R(+)Q(+) + R(-)Q(-)
					R(+)Q(+) + R(+)Q(-)	Total
House dust 1	63	7	4	44	90.0%	90.7%
House dust 2	68	8	7	54	86.0%	87.3%
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	68	7	0	43	90.7%	94.1%
<i>Dermatophagoides farinae</i>	68	4	0	46	94.4%	96.6%
Japanese cedar	43	6	5	64	87.8%	90.7%
Ragweed	10	9	3	96	52.6%	89.8%
Cat dander	13	15	11	79	46.4%	78.0%
Sweet vernal grass	6	7	1	104	46.2%	93.2%
Egg white	0	7	4	107	0%	90.7%

R(+) or R(-)=Positive or negative by RAST. Q(+) or Q(-)=Positive or negative by QAS.

Table 4 Correlation between the titer (PRU) of RAST and the titer (absorbance) of QAS

Allergen	r value	p value	(n)
House dust 1	0.935	<0.01	(118)
House dust 2	0.821	<0.01	(118)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	0.910	<0.01	(118)
<i>Dermatophagoides farinae</i>	0.924	<0.01	(118)
Japanese cedar	0.902	<0.01	(118)
Ragweed	0.752	<0.01	(118)
Cat dander	0.676	<0.01	(118)
Sweet vernal grass	0.757	<0.01	(118)
Egg white	-0.014	0.5>	(118)

(Table 1).

3. QAS と皮内テストとの相関

QAS による IgE 抗体価と皮内テスト閾値との間に有意の正の相関を認めた (Table 2). すなわち, ネコ, 卵白を除く 7 種のアレルゲンにおける QAS による IgE 抗体価と皮内テスト閾値との間に相関係数 0.471~0.647 ($p<0.01$) が認められた. しかしネコにおける両者の相関は弱かった ($r=0.328$, $p<0.05$).

4. QAS と RAST との相関

QAS による IgE 抗体の検出と RAST によるそれとの間に高い一致率を認めた (Table 3). すなわち, ネコを除く 8 種アレルゲンにおける QAS と RAST との一致率は 87.3~96.6% と高値を示した. またそれらにおける RAST 陽性例の QAS との一致率はハルガヤ, 卵白を除き 52.6%~94.4% と良好だった. 卵白においては QAS 陽性例と RAST 陽性例との間で全く一致をみなかった.

さらに QAS による IgE 抗体価と RAST のそれと

Absorbance

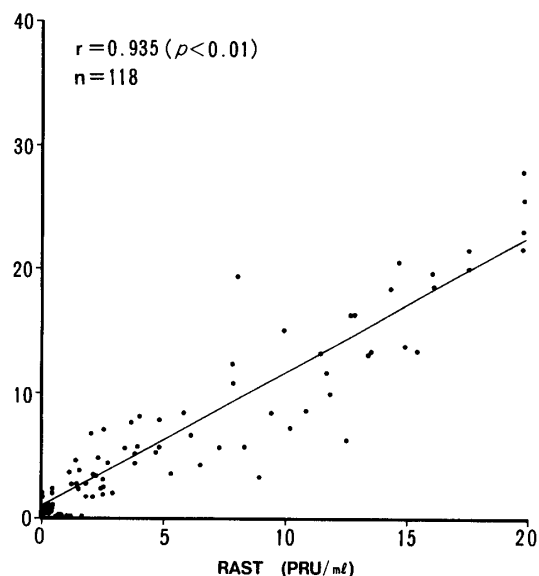


Fig. 3. Correlation between the titers (PRU) by RAST (HD 1) and the titers (absorbance) by QAS (HD 1).

の間に強い正の相関を認めた (Table 4, Fig. 3). すなわち, ネコと卵白を除くアレルゲンにおいて両者の相関係数は 0.752~0.935 ($p<0.01$) であった. ネコでは相関係数 0.676 ($p<0.01$) とやや低く, 卵白では両者の測定値に全く相関を認めなかった.

考 察

今回の研究により, アレルゲン特異的 IgE 抗体の新しい測定法である Quidel Allergy Screen (QAS) はブリックテストおよび RAST と同等の精度を有する

IgE 抗体測定法であることが示された。すなわち、QAS による IgE 抗体価とプリックテストとは高い一致率を示した (Table 1)。また皮内反応閾値とも有意の正の相関を認めた (Table 2)。これら QAS と皮膚試験との一致率・相関性は、すでに報告されている RAST と皮膚試験との一致率・相関性と同程度またはそれ以上であった⁵⁾⁻¹¹⁾。また今回の症例におけるこれら 9 種アレルゲンに対する RAST とプリックテストの一致率も、QAS とプリックテストのそれと全く同等であった (データ未発表)。さらに QAS による IgE 抗体価は RAST によるそれと高い一致率および強い正の相関を示した (Table 3, 4)。これらのことから、QAS はアレルゲン特異的 IgE 抗体のスクリーニング法として有用と考えられる。

従来、原因アレルゲンのスクリーニング法としてプリックテストなどによる皮膚試験および RAST が広く臨床に供されてきた。しかし、皮膚試験によるアレルゲンの同定は簡便である反面、薬剤による影響、皮膚反応性の個人差を考慮しなければならなかった。また現在の RAST は個々のアレルゲンを別々に測定しなければならず、スクリーニング法として多数のアレルゲンを検討するにはやや難がある。その点今回の QAS による特異的 IgG 抗体の測定は試験紙 1 枚に 9 種のアレルゲンが被膜されており、皮膚試験、RAST に比し、アレルゲンのスクリーニングにより有用と考えられる。さらに ELISA による方法で、しかもその測定には特殊な測定装置を必要とせず肉眼で判定できる利点も有している。

現在の QAS で問題となることは、ネコにおいて皮膚試験との相関が弱いこと、また卵白において RAST との相関が無いことである (Table 1~4)。この原因は使用されているアレルゲン (QAS ; Quidel 製, RAST ; Pharmacia 製, 皮膚試験 ; 鳥居薬品製) が各測定法で異なるためと考えられる。またスクリーニングに用いるアレルゲンの選択は、本邦におけるアレルゲン陽性率の高いものを採用する必要がある¹⁶⁾。

文 献

- 1) Bousquet, J.: In vivo methods for study of allergy: Skin tests, techniques, and interpretation. In "Allergy Principles and Practice" 3rd ed. (ed by E. Middleton, Jr., C.E. Reed, E.F. Ellis, N.F. Adkinson, Jr. and J.W. Yunginger), Mosby, St. Louis, pp.419-436, 1988.
- 2) Wide, L., Bennich, H. and Johansson, S.G.O.: Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. *Lancet* 2, 1105-1107, 1967.
- 3) Berg, T.L.O., Bennich, H. and Johansson, S.G.O.: In vitro diagnosis of atopic allergy. I. A comparison between provocation tests and the radioallergosorbent test. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 40, 770-778, 1971.
- 4) Aas, K. and Johansson, S.G.O.: The radioallergosorbent test in the in vitro diagnosis of multiple reaginic allergy. A comparison of diagnostic approaches. *J. Allergy Clin. Immunol.* 48, 134-142, 1971.
- 5) Miyamoto, T., Johansson, S.G.O., Ito, K. and Horiuchi, Y.: Atopic allergy in Japanese subjects. Studies primarily with radioallergosorbent test. *J. Allergy Clin. Immunol.* 53, 9-19, 1974.
- 6) Berg, T.L.O. and Johansson, S.G.O.: Allergy diagnosis with the radioallergosorbent test. A comparison with the results of skin and provocation tests in an unselected group of children with asthma and hay fever. *J. Allergy Clin. Immunol.* 54, 209-221, 1974.
- 7) 油井泰雄, 宮本裕一, 西村 浩, 清水章治, 信太隆夫: RAST によるアトピー性アレルギーの診断。特に花粉抗原を中心として。アレルギー 25, 493-502, 1976.
- 8) Collins-Williams, C. and Bremner, K.: Comparison of skin test and RAST in the diagnosis of atopic hypersensitivity. *Ann. Allergy* 36, 161-164, 1976.
- 9) Brown, W.G., Halonen, M.J., Kaltenborn, W.T. and Barbee, R.A.: The relationship of respiratory allergy, skin test reactivity, and serum IgE in a community population sample. *J. Allergy Clin. Immunol.* 63, 328-335, 1979.
- 10) 宮本昭正, 海野徳二, 奥田 稔, 形浦昭克, 可部順三郎, 齊藤洋三, 塩田浩政, 信太隆夫, 清水章治, 須藤守夫, 高橋昭三, 富岡玖夫, 馬場 実, 藤田洋祐, 我妻義則: アレルゲンスクラッチエキスを「ダニ」, 「ヨモギ花粉」および「チモシー花粉」の有用性および安全性に関する臨床学的検討について。基礎と臨床 15, 2590-2600, 1981.
- 11) 石崎 達, 奥田 稔, 小林節雄, 信太隆夫, 高島宏哉, 馬場 実, 牧野莊平, 宮本昭正: 診断用アレルゲンエキスにおける臨床上の意義の再検討。診断と治療 74, 1473-1498, 1986.
- 12) Novey, H.S., Imam, A.A., Orgel, H.A., Meltzer, E.O., Kemp, J.P., Welch, M.J., Klein, G.L., Ziering, R.W. and Miller, M.F.: Multi allergen

- dipstick screening test for specific serum IgE (slgE). *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 235, 1987.
- 13) American Thoracic Society: Definition and classification of chronic bronchitis, asthma, and pulmonary emphysema. *Am. Rev. Respir. Dis.* 85, 762-769, 1962.
- 14) 信太隆夫: 2. 診断法. 1) 皮膚テスト, i) スクラッチおよびプリックテスト. “アトピー性アレルギー疾患. 基礎と臨床” (信太隆夫 編), 金原出版, 東京, pp. 112-113, 1981.
- 15) 石崎 達: 即時型皮内反応—陽性判定基準を中心にして. *アレルギー* 12, 14-30, 1963.
- 16) 油井泰雄: アレルゲンの種類と確認方法. “アレルギーの診療” (山村雄一, 信太隆夫 編), メディカルトリビューン社, 東京, pp. 39-51, 1983.

COMPARISON OF A NEW SPECIFIC IgE ASSAY QUIDEL ALLERGY SCREEN TO SKIN PRICK TEST, INTRADERMAL TEST, AND RAST

Itsuo Iwamoto, Hiroomi Yamazaki, Akira Kimura, Kenichi Ochiai,
Makoto Tanaka, Hisao Tomioka and Sho Yoshida

The Second Department of Internal Medicine, Chiba University School of Medicine

Quidel Allergy Screen (QAS), an enzyme-linked immunosorbent assay, has been developed for measuring IgE antibodies against 9 allergens (HD 1, HD 2, Mite 1, Mite 2, Japanese cedar, ragweed, cat dander, sweet vernal grass, and egg white) at the same time. To determine whether this assay is useful in screening allergen-specific IgE antibody, we compared the titers of IgE antibodies against the 9 allergens measured by QAS to those obtained in skin prick tests, in intradermal tests and by RAST in 93 atopic asthmatics and 25 normal subjects. We found a good agreement between the reactivity of skin prick tests and the reactivity of QAS. There was a significant correlation between the threshold doses of intradermal tests and the titers of QAS. We also found a good agreement between the reactivity of RAST and the reactivity of QAS, and a strong correlation between the titers of RAST and the titers of QAS. Thus, it is concluded that QAS is useful in screening IgE antibodies against multiple allergens simultaneously.