

〔臨床報告〕

ヒョウヒダニ抗原の混入によるネコ抗原特異
IgE 抗体測定結果の偽陽性

¹⁾日本医科大学付属第二病院皮膚科, ²⁾日本医科大学付属病院皮膚科
畑三恵子¹⁾ 沼野香世子¹⁾ 立原利江子²⁾ 川名誠司²⁾

Key words : AlaSTAT — CAP RAST — cat allergen — contamination of house dust mite allergens
— specific IgE antibodies

はじめに

方 法

血中特異 IgE 抗体測定は、アレルギー疾患の診断に汎用される検査の一つだが、使用するキットによってその判定結果が乖離するなど、キット間で互換性がないと報告されている^{1) - 4)}。この原因として、各キットで使用している抗原の量や質、結果の表記法および測定原理の違いが指摘されている。

AlaSTAT 法と CAP 法を比較したところ、ネコ抗原では他の抗原に比べて AlaSTAT 法の陽性例が CAP 法に比べて多く認められた。また、ネコ抗原が AlaSTAT 法陽性かつ CAP 法陰性の例でヤケヒョウヒダニ抗原の特異 IgE 抗体価が高く、ネコのブリックテストが陰性となることを続けて経験した。

in vivo 検査のブリックテスト用イヌエキスでは、ヒョウヒダニ抗原の混入による偽陽性が認められると報告されている⁵⁾。

そこで、今回我々は、ヒョウヒダニ抗原の混入が CAP 法との測定結果の乖離原因と考え、RAST 抑制試験による AlaSTAT 法ネコ抗原中のヒョウヒダニ抗原検出を試みた。

1. 対象

Haniffin J. M. and Rajka G. の診断基準によりアトピー性皮膚炎と診断された 21 例 (男 12 例, 女 9 例) を対象とした。

2. 特異 IgE 抗体の測定

キャップ RAST FEIA (ファルマシア・アップジョン (株); 以下 CAP 法) のネコ皮膚およびヤケヒョウヒダニを用いて血中の特異 IgE 抗体を測定した。

アラスタット特異 IgE (日本 DPC; 以下 AlaSTAT 法) のネコ上皮およびヤケヒョウヒダニを用いて血清中の特異 IgE 抗体を測定した。

3. RAST 抑制試験

1) インヒビターの調製

ネコ皮膚およびヤケヒョウヒダニの凍結乾燥粉末 (Pharmacia & Upjohn Allergon AB, Sweden) 各 1 g に 0.1 M リン酸緩衝液 20 ml を加えて室温で 2 時間振とうした後、遠心し、上清をインヒビター原液とした。

2) 抑制試験

ネコ抗原陽性血清 30 μ l に、インヒビター原液、および 0.1 M リン酸緩衝液で 10 倍, 100 倍, 1000 倍に希釈したものを 20 μ l 加えて、室温で 2 時間インキュベートした。これを、被検検体として CAP 法および AlaSTAT 法を用いてネコ抗原に対する特異 IgE 抗体を測定した。対照は、インヒビターの代わりに同緩衝液を血清に添加したものとし、結果は抑制率で表わした。

Received : October 6, 1999

Accepted : January 4, 2000

Abbreviations : IgE immunoglobulin E ; RAST radioallergosorbent test

FALSE POSITIVITY ELICITED BY HOUSE DUST MITE ALLERGEN CONTAMINATION IN CAT SPECIFIC IgE ANTIBODY DETERMINATION

Mieko Hata¹⁾, Kayoko Numano¹⁾, Rieko Tachihara²⁾, Seiji Kawana²⁾

¹⁾Dept. of Dermatology, Nippon Medical School 2 nd Hospital, ²⁾Dept. of Dermatology, Nippon Medical School

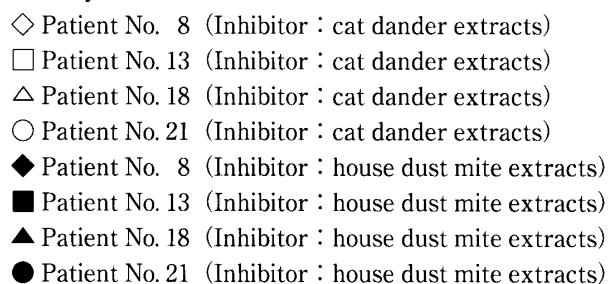


Table 1 に示した、ヤケヒョウヒダニ抗原に対する特異 IgE 抗体価が、両キットで測定範囲を越え、かつネコ抗原が陽性 (C+/A+) であった重症例 2 例 (patient No. 3, 7) を用いて、RAST 抑制試験を実施した (Fig. 2).

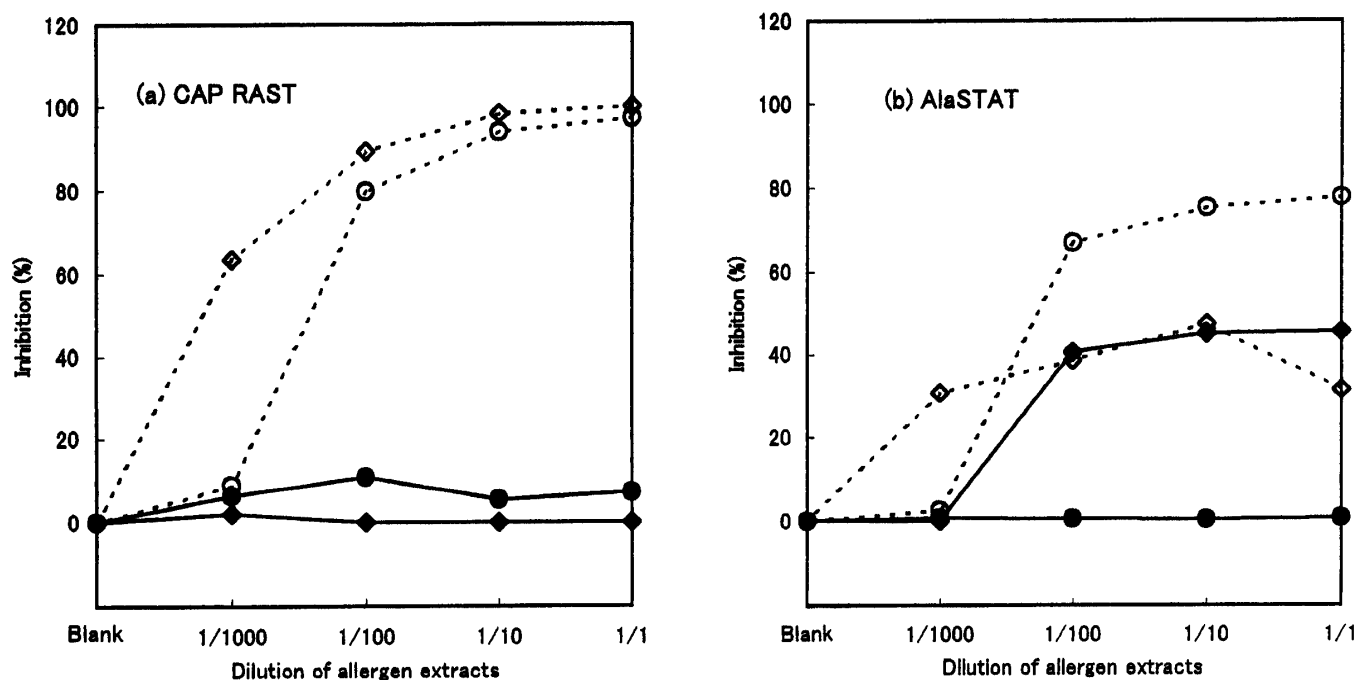


Fig. 2. RAST inhibition tests with CAP positive/AlaSTAT positive sera (C+/A+)

(a) Responses to cat allergen were inhibited by addition of cat dander extracts but not by house dust mite extracts in CAP RAST. (b) Responses of patient No. 7 to cat allergen were inhibited by only cat dander extracts but responses of patient No. 3 were inhibited by both cat dander and house dust mite extracts in AlaSTAT.

◇Patients No. 3 (Inhibitor: cat dander extracts), ○Patients No. 7 (Inhibitor: cat dander extracts), ◆Patient No. 3 (Inhibitor: house dust mite extracts), ●Patient No. 7 (Inhibitor: house dust mite extracts).

AlaSTAT 法において、1 例はネコおよびヤケヒョウヒダニエキスの両方で抑制が認められた。1 例はネコエキスの添加だけが反応を抑制した。一方、CAP 法において、いずれの例もネコエキスの添加により容量依存的に反応は抑制されたが、ヤケヒョウヒダニエキスでは抑制されなかった。

考 察

今回、2 種の特異 IgE 抗体測定キットを評価したところ、ネコ抗原において両者の結果が、他の抗原よりも大きく異なった。すなわち、C-/A+が多く認められ、C+/A-は、1 例も認められなかった。また、これらの C-/A+は、ヤケヒョウヒダニ IgE 抗体価が高かった。

AlaSTAT 法に使用しているネコ抗原中にヒョウヒダニ抗原が混入していると考え、RAST 抑制試験によりこの証明を試みた。

RAST 抑制試験は、抗原エキスの力価の検定、抗原性の分析等に応用され、また検体中の特異 IgE 抗体および抗原の検出にも用いられている⁶⁾⁷⁾。そこで、ネコ抗原の特異 IgE 抗体測定系においてヤケヒョウヒダニエキスをインヒビターとした RAST 抑制試験を実施した。ヤケヒョウヒダニエキスの添加によりネコ抗原の反応が抑制されれば、測定系の抗原にヤケヒョウヒダニ抗原が混入していることとなる。インヒビターに使用したヤケヒョウヒダニエキスの原料は、培養したものを用いており、ネコ抗原の混入は考えられない。実際、ネコ陽性血清を用いた CAP 法の RAST 抑制試験で、このヤケヒョウヒダニエキスをインヒビターとした場合では全く抑制が認められなかった (Fig. 2 a)。

AlaSTAT 法の RAST 抑制試験において、C-/A+では、全例ヤケヒョウヒダニエキスによりネコ抗原に対する反応のほとんどが抑制されたが、ネコエキスではまったく抑制が認められなかった。

また、C+/A+例のうち患者 No. 3 は、ネコおよびヤケヒョウヒダニエキスによりネコ抗原に対する反応の

Table 1 Results of specific IgE to cat and house dust mite in the sera used for RAST inhibition tests

Patient	Severity*	T-IgE IU/ml	Cat				House dust mite			
			AlaSTAT		CAP RAST		AlaSTAT		CAP RAST	
			IU/ml	Class	U _A /ml	Class	IU/ml	Class	U _A /ml	Class
8	Moderate	2100	11	3	<0.35	0	>30	4	N.T.	N.T.
13	Severe	470	1.93	2	<0.35	0	>30	4	63.8	5
18	Severe	1300	2.14	2	<0.35	0	>30	4	63.2	5
21	Mild	3000	5.67	2	<0.35	0	>30	4	93	5
3	Severe	730	15.8	3	1.03	2	>30	4	>100	6
7	Severe	>16000	>30	4	40.8	4	>30	4	>100	6

*Severity assessed by the method of Haniffin J.M. and Rajka G.

**N.T.: Not Tested

ほとんどが抑制された。したがって、No.3のAlaSTATにおけるネコ抗原の反応は、ネコおよびヤケヒョウヒダニ抗原に対する特異IgEによるものと考えられた。一方、患者No.7では、ネコエキスのみで抑制が認められた。これは、患者No.7のネコ特異IgE抗体価が、No.3に比べて非常に高いことによると考えられた。

一方、CAP法ではいずれの検体でもネコエキスのみで抑制が認められた。

したがって、AlaSTAT法のネコ抗原にはヒョウヒダニ成分が混入しており、AlaSTAT法でヒョウヒダニ抗原のIgE抗体価が高い検体の場合、ネコ抗原の偽陽性に注意を要すると考えられた。

このヒョウヒダニ抗原の混入は、ネコ抗原の原料となるネコの飼育環境中に生息するヒョウヒダニによるもの、またはヒョウヒダニと共通抗原性を有する、ネコに寄生しているダニによると考えられる。

また、RAST抑制試験はこのような抗原の混入を確認する方法として有用であると考えられた。

in vivo 検査であるブリックテスト用のネコ、イヌおよびニワトリ羽毛の抗原エキスを中にヒョウヒダニ抗原が混入していることが海外において報告されており、ブリックテストで偽陽性と判定されることが問題となっている⁵⁾⁸⁾⁹⁾。

以上の結果より、特異IgE抗体測定キットに使用されている抗原の、環境抗原混入について厳格な品質管理が必要と考える。

文 献

- 1) 中川武正, 高橋秀仁, 松井秀樹, 駒瀬裕子, 東威, 他: 気管支喘息における各種IgE抗体測定法の有用性に関する検討. 聖マリアンナ医大誌 **20**, 1022-1028, 1992.
- 2) 美田俊一, 小田成人, 足立 満: 成人気管支喘息における特異IgE抗体測定キットの検討-MASTとCAP RASTの比較-. アレルギー **44**, 1394-1400, 1995.
- 3) 島田幸子, 小出美佐子, 中村良子: CAP RAST法による特異IgE抗体測定の基礎的検討. 医学と薬学 **34**, 1051-1059, 1995.
- 4) 加藤亮二: わが国におけるアレルギー検査法の現状-アレルギー検査コントロールサーベイから-. 医学と薬学 **46**, 867-873, 1997.
- 5) Van der Veen, M.J., Mulder, M., Witterman, A.M., Van Ree, R., Aalberse, R.C., et al.: False-positive skin test response to commercially available dog dander extracts caused by contamination with house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* **98**, 1028-1034, 1996.
- 6) 松野正知, 萱原昌子, 足立陽子, 足立雄一, 村上巧啓, 他: 免疫化学的測定法を用いた室内空中ダニ抗原の定量的測定. アレルギー **38**, 1142-1149, 1989.
- 7) 伊藤幸治: アレルゲンの標準化. アレルギー **41**, 467-474, 1994.
- 8) Van Ree R.: Value of monoclonal antibody-based assays; advantages and drawbacks. *Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe.* **87**, 127-135, 1994.
- 9) Linna, O., Niinimäki, A. and Makinen-kiljunen, S.: Immunologic cross-reactivity between hen's feather and house-dust-mite allergen extracts. *Allergy* **49**, 795-796, 1994.