

〔原 著〕

グラスファイバー法を用いた好塩基球ヒスタミン遊離試験の

食物アレルギー診断における臨床評価

—血清特異的 IgE 抗体, 皮膚試験との比較検討—

¹⁾ 同愛記念病院小児科²⁾ 東京女子医科大学小児科岩崎栄作¹⁾²⁾ 山浦美砂¹⁾ 増田 敬¹⁾ 宮林容子¹⁾山口公一¹⁾ 在津正文¹⁾ 藤巻恭子²⁾ 馬場 実¹⁾

病歴から食物アレルギーが疑われた小児50例を対象に, 少量の全血で測定可能なグラスファイバー法を用いた好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT)を行い, その有用性を血清特異的 IgE 抗体測定(RAST), 皮膚試験(ST)との比較において検討した. 対象50例のうち, 39例に延べ60件の食物アレルギー(鶏卵37例, 牛乳11例, 大豆4例, 小麦5例, 米3例)が確定できた. その臨床診断とHRTの一致度は85.3%, 感度は66.7%, 特異度は92.1%であり, RASTでは70.5%, 90.0%, 63.4%, STでは84.7%, 71.8%, 88.7%であった. 陽性適中率はHRT 75.5%, RAST 47.4%, ST 66.7%で, 偽陽性度はHRT(24.5%)が最も低かった. アレルゲン別の陽性適中率でも, HRTは最も高い成績であった. HRTクラスとRASTクラスは有意の相関($r=0.513$, $p<0.001$)が認められたが, HRTのRASTとの一致度は56.0%であった. HRTとSTの一致度は80.5%であった. HRTと臨床診断の一致度と特異度は, RASTよりは高く, STと同程度であり, RASTの感度はHRTに比較して高値であった. 以上の結果から, RASTは原因抗原のスクリーニングに, HRTは確定診断に有用と考えられた.

Key words: basophil histamine release — food allergy — glass fiber — RAST — scratch test

緒 言

IgE抗体が関与する即時型アレルギー疾患における原因アレルゲン検索には, 現在, アレルゲン特異的IgE抗体の測定が行われることが多い. radioallergosorbent test (RAST)は血清中に遊離している特異的IgE抗体の半定量法として開発され, 現在では数種の類似の測定法が提供されている. しかし, 特異的IgE抗体が意味するところは, 感作された結果としてのIgE抗体の産生であり, 臨床的には感作アレルゲンの判定には応用できるが, アレルギー疾患の診断と重症度を判定するものでない欠点が存在する.

食物アレルゲンに対する血清特異的IgE抗体は, 気

管支喘息あるいはアトピー性皮膚炎を有する小児に高頻度で証明されるが, 食物摂取によって, 特異的IgE抗体陽性例のすべてが症状を発現するわけではなく, 臨床症状とは必ずしも一致しない. 食物アレルギー診断のためのin vivo検査法には皮膚試験と食物負荷試験がある. 皮膚試験は皮膚組織の肥満細胞に結合している特異的IgE抗体を検索するのに対して, 食物負荷試験は消化管局所あるいは皮膚も含めた各組織の肥満細胞に結合する特異的IgE抗体を生体反応から検索するものである. したがって, 臨床上的確定診断には食物負荷試験が用いられる. 食物負荷試験は, 国際的に二重盲検法による方法¹⁾が推奨されているが, 本邦では投与法と投与量には未だコンセンサスは得られておらず, また生体反応をみる負荷試験である性質上, 患者にかかる負担も大きく, また危険性も存在し, ルーチン検査として実施するには問題がある.

そのため, 食物アレルギーの診断には, 生体反応を正確に反映するin vitro検査法が望まれる. ヒスタミ

Received: October 27, 1993

Accepted: February 21, 1994

Abbreviations: HRT histamine release test;
RAST radioallergosorbent test; ROC response
operating characteristic; ST scratch test

ン、気管支、消化管、ならびに皮膚などにおける、即時型アレルギー反応に関与する主要なメディエーターの一つである。肥満細胞と好塩基球が、おもなヒスタミン産生細胞であり、アレルギーと細胞表面IgEの抗原抗体反応によってヒスタミンを遊離する。したがって、遊離されたヒスタミンの測定は、肥満細胞あるいは好塩基球が活性化された結果を示す指標になると考えられる。

今回、グラスファイバー法を用いたヒスタミン遊離試験 (histamine release test: HRT) が開発され、少量の全血で測定が可能となった。そこで HRT の臨床診断における有用性を、食物アレルギーが疑われ食物負荷試験を施行した症例を対象に、血清特異的 IgE 抗体および皮膚試験との比較により検討した。

対象と方法

1. 対象

1992年2月から12月までの間に当院を受診し、病歴から食物アレルギーが疑われ、食物負荷試験を施行した50例 (男児24例, 女児26例) を対象とした。年齢は0～9歳 (平均2.96歳)、基礎疾患の内訳はアトピー性皮膚炎17例、アトピー性皮膚炎・気管支喘息21例、アトピー性皮膚炎・蕁麻疹4例、アトピー性皮膚炎・気管支喘息・蕁麻疹5例、気管支喘息1例、気管支喘息・蕁麻疹1例、蕁麻疹1例であった。

2. 方法

アレルギー疾患治療薬である抗ヒスタミン薬、抗アレルギー薬、テオフィリン、 β 刺激薬、ステロイド薬などの経口薬を24時間以上中止後、肘静脈より採血して、HRT、血清特異的 IgE 抗体を測定し、できるだけ皮膚試験を行った。食物アレルギーとして、牛乳、鶏卵、大豆、小麦、米の5種類について検討した。

食物負荷試験、HRT、血清特異的 IgE 抗体測定はアレルギーごとに同数実施した。卵白は HRT 49件、皮膚試験36件、牛乳はそれぞれ47件、34件、大豆は47件、35件、小麦は42件、31件、米は39件、27件であった。HRT 等の実施アレルギー数は224件、皮膚試験は163件であった。

1) 臨床診断 (食物除去・負荷試験)

食物アレルギーの臨床診断は食物除去による症状の改善と再投与による症状の悪化によって確定した。食

物負荷試験は問診にて推定された食物アレルギーについて、open challenge 法により、2時間以内に症状がみられたものを即時型反応、それ以後の発現を非即時型反応と区分した。

食物負荷試験は最初は少量を投与し、反応を認めなければ投与量を漸増し、無症状であれば陰性と判定したが、除去食を解除した1～2週間後の再診時に症状の悪化が認められた場合には陽性と判定した。鶏卵は加熱したものから開始し、最終的には生卵の負荷とした。牛乳は市販品、大豆は煮豆あるいは大豆製品 (納豆、豆腐)、小麦はうどん、米は通常の炊飯米を用いた。

2) 好塩基球ヒスタミン遊離試験

肘静脈より血液をヘパリン加試験管に採取し、HRT 測定試薬 (旭化成工業) を用いてヒスタミン遊離試験を行った。本法の測定原理は、ヒスタミンの結合担体としてグラスファイバーを用いたマイクロプレートによる方法であり、少量の検体で多種類のアレルゲンに対する測定が可能である²⁾⁻⁴⁾。

以下にその概要を示す。食物アレルギー固定化グラスファイバープレート (96ウェル) の各ウェルにアレルギー溶解液 (10mM PIPES-Tris 緩衝液) 25 μ l を入れてアレルギーを溶解させ、全血25 μ l を添加し、37°C 90分反応させ、好塩基球からのヒスタミン遊離を起こさせた。遊離したヒスタミンはウェル中のグラスファイバーに特異的に吸着、固定化される。水で洗浄して血漿と細胞成分を除去したプレートに洗浄液 (15 mM-SDS 溶液) 200 μ l を添加し、37°C 60分静置し、残存する蛋白成分を除いた後、グラスファイバーに結合しているヒスタミンを o-phthalaldehyde (OPT) 試薬を添加して発光させ、蛍光強度 (Ex. 355nm, Em. 450 nm) を測定し、遊離ヒスタミン量を定量した。

ヒスタミンの遊離曲線と判定基準を Fig. 1 に示す。健常成人ボランティアで非特異的なヒスタミン遊離が観察されない最高アレルギー濃度を基に3.5倍希釈の6濃度系列を作製した。アレルギー無添加のウェルの血液由来の非特異的なヒスタミン量を測定し、アレルギー添加時との濃度差をヒスタミン遊離量とした。最高濃度でのみカットオフ値を越える遊離がみられる場合をクラス1、3.5倍の1乗倍希釈の点まで遊離がみられる場合をクラス2、3.5倍の3乗倍希釈の点まで遊離がみられる場合をクラス3、3.5倍の5乗倍希釈の点まで遊離がみられるものをクラス4とし、それ以外の場合をクラス0とした。Fig. 1 はクラス3のヒスタミン遊離曲線の例を示す。

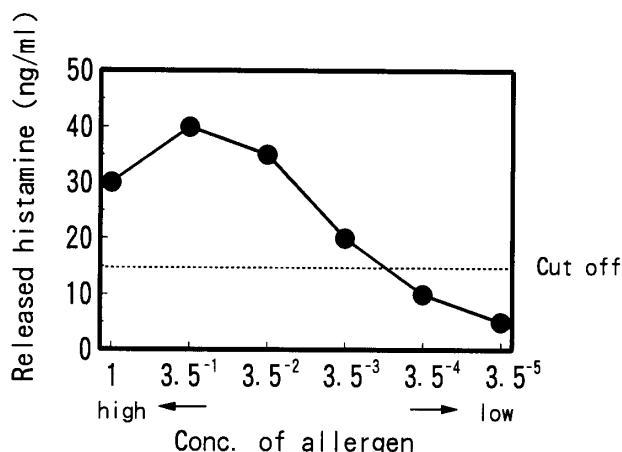


Fig. 1. Histamine release dose-response curve and score system. The allergens were diluted serially 3.5-fold, and 6 different concentrations of food allergen are prepared in each well of microtiter-plate. The net release of histamine is calculated on the basis of a standard curve. The results are graded from class 0 to 4, according to a significant allergen-induced histamine release (cut-off level: 15 ng/ml): The classification of HRT is as follows: class 1, a release over the cut off value in response to the maximum conc. of the allergen; class 2, a release up to a 3.5-fold dilution of the allergen; class 3, a release up to a 3-time serial 3.5-fold dilution; class 4, a release up to a 5-time serial 3.5-fold dilution; class 0 is anything outside of the above.

3) アレルゲン特異的 IgE 抗体

ヒスタミン遊離試験実施時に同時に採血し、血清を分離後、CAP-RAST FEIA (Pharmacia Diagnostic) を用いて、食物アレルゲンに対する特異的 IgE 抗体を測定し、リファレンス試薬から、RAST クラス 0 (0.34 U_A/ml 以下), 1 (0.35~0.7 U_A/ml), 2 (0.7~3.5 U_A/ml), 3 (3.5~17.5 U_A/ml), 4 (17.5~50 U_A/ml), 5 (50~100 U_A/ml), 6 (100 U_A/ml 以上) とクラス判定し、クラス 2 以上を陽性とした。

4) 皮膚試験

アレルゲンスクラッチエキス・トリイ (鳥居薬品) を用いてスクラッチテスト (scratch test: ST) を行った。前腕内側をスクラッチした後、アレルゲン液を滴下し、15分後に判定した。膨疹と発赤が対照液の 2 倍以上、あるいは膨疹 5mm、発赤 10mm 以上を陽性とした。

3. 統計学的検討

疾患の有無と検査結果の関係は 2×2 分割法によって、感度 (sensitivity: 疾患を有するもののうち検査で陽性とでる割合), 特異度 (specificity: 疾患のないものに検査が陰性とでる割合), 一致度 (concordance: 全対象例中の両検査陽性者と両検査陰性者の割合), 陽性適中率 (positive predictive value: 検査陽性者の中で疾患を有するものの割合), 偽陽性度 (false positive value: 検査陽性者の中で疾患を有しないものの割合, 1-陽性適中率) を算出した。また、HRT と RAST の診断的有用性をそれぞれのカットオフ値を変化させたときの感度と「1-特異度」を求め、response operating characteristic curve (ROC 曲線) を作成して比較検討した。

検査法間の有意差検定には McNemar の検定を行い、2 変量間の相関関係は Spearman の順位相関係数、独立 2 群間の有意差検定は Fisher の直接確率法にて検討し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 食物アレルギーの臨床症状とアレルギー検査成績

食物アレルギーが疑われた 50 例のうち、39 例については延べ 60 件の食物アレルゲンが確定できたが、残りの 11 例はアレルゲン陰性と判定された。確定アレルゲンの種類は鶏卵 37 件、牛乳 11 件、大豆 4 件、小麦 5 件、

Table 1 Clinical symptoms against HRT and RAST class

Diagnosis class		n	Cases of clinical symptom (%)		
			Respiratory	Alimentary	Skin
HRT	4	14	5(35.7)	5(35.7)	13(92.9)
	3	16	2(12.5)	2(12.5)	14(87.5)
	2	4	1(25.0)	0(0)	4(100)
	1	6	0(0)	1(16.7)	5(83.3)
	0	20	1(5.0)	0(0)	20(100)
RAST	6	4	2(50.0)	2(50.0)	4(100)
	5	8	3(37.5)	0(0)	8(100)
	4	13	1(7.7)	3(23.1)	11(84.6)
	3	14	2(14.3)	1(7.1)	14(100)
	2	15	1(6.7)	2(13.3)	13(86.7)
	1	0	0(0)	0(0)	0(0)
	0	6	0(0)	0(0)	6(100)
	Total	60	9(15.0)	8(13.3)	56(93.3)

米3件であった。呼吸器症状として咳、呼吸困難、喘鳴、喘息発作など、消化器症状として嘔吐、口唇発赤、口唇腫脹など、皮膚症状として顔面蒼白、皮膚発赤、発疹、蕁麻疹、湿疹の悪化、かゆみ、眼瞼浮腫、結膜浮腫などがみられた。Table 1に、HRT および RAST の結果と臨床症状の出現例数と頻度を示した。HRT と RAST の高値な例ほど多彩な症状を示した。

2. 臨床診断に対する検査法の一致度、感度、特異度
臨床診断に対する各種検査法の一致度、感度、特異度を Table 2 に示した。HRT のアレルゲン別検討では、卵白の一致度、感度、特異度は、それぞれ81.6%、75.7%、100%、牛乳は89.4%、54.5%、100%、大豆は91.5%、50.0%、95.3%であった。小麦は83.3%、40.0%、89.2%、米は79.5%、66.7%、80.6%であった。5 アレルゲン全体では HRT の一致度は85.3%、感

Table 2 Concordance*, sensitivity** and specificity*** ratios with respect to clinical diagnosis for each diagnostic method (HRT, RAST and ST)

Allergen	Diagnosis index	HRT	RAST	ST
Egg	concordance	81.6%(40/49)	83.7%(41/49)	75.0%(27/36)
	sensitivity	75.7%(28/37)	91.9%(34/37)	85.2%(23/27)
	specificity	100 % (12/12)	58.3%(7/12)	44.4%(4/ 9)
Cow's milk	concordance	89.4%(42/47)	63.8%(30/47)	82.4%(28/34)
	sensitivity	54.5%(6/11)	81.8%(9/11)	71.4%(5/ 7)
	specificity	100 % (36/36)	58.3%(21/36)	85.2%(23/27)
Soy bean	concordance	91.5%(43/47)	63.8%(30/47)	82.9%(29/35)
	sensitivity	50.0%(2/ 4)	75.0%(3/ 4)	0 % (0/ 2)
	specificity	95.3%(41/43)	62.8%(27/43)	87.9%(29/33)
Wheat	concordance	83.3%(35/42)	71.4%(30/42)	93.5%(29/31)
	sensitivity	40.0%(2/ 5)	100 % (5/ 5)	0 % (0/ 2)
	specificity	89.2%(33/37)	67.6%(25/37)	100 % (29/29)
Rice	concordance	79.5%(31/39)	69.2%(27/39)	92.6%(25/27)
	sensitivity	66.7%(2/ 3)	100 % (3/ 3)	0 % (0/ 1)
	specificity	80.6%(29/36)	66.7%(24/36)	96.2%(25/26)
Total	concordance	85.3%(191/224)	70.5%(158/224)	84.7%(138/163)
	sensitivity	66.7%(40/ 60)	90.0%(54/ 60)	71.8%(28/39)
	specificity	92.1%(151/164)	63.4%(104/164)	88.7%(110/124)

*Concordance ; the probability of correctly diagnosing a positive clinical case as positive and a negative clinical case as a negative.

**Sensitivity ; the probability of correctly diagnosing a positive clinical case as positive.

***Specificity ; the probability of correctly diagnosing a negative clinical case as negative.

Table 3 Positive predictive value of histamine release test (HRT), specific IgE antibody (RAST) and scratch test (ST)

Allergen	HRT	RAST	ST
Egg	100 % (28/28)	87.2%(34/39)	82.1%(23/28)
Cow's milk	100 % (6/ 6)	37.5%(9/24)	55.6%(5/ 9)
Soy bean	50 % (2/ 4)	15.8%(3/19)	0 % (0/ 4)
Wheat	33.3%(2/ 6)	29.4%(5/17)	— (0/ 0)
Rice	22.2%(2/ 9)	20.0%(3/15)	0 % (0/ 1)
Total	75.5%(40/53)	47.4%(54/114)	66.7%(28/42)

度は66.7%、特異度は92.1%であり、RASTでは70.5%、90.0%、63.4%、STでは84.7%、71.8%、88.7%であった。臨床診断との一致度と特異度は、HRT と ST とは同程度であり、RAST よりは高かった。しかし、感度に関しては RAST が最も高かった。

3. 臨床診断と検査法の陽性適中率

臨床診断に対するそれぞれの診断法の陽性適中率を Table 3 に示した。アレルゲン別の陽性適中率は、HRT では卵白 (100%) と牛乳 (100%)、RAST で卵

白(87.2%), STで卵白(82.1%)に高値が認められたが, 大豆, 小麦, 米についてはどの検査法も陽性適中率は低い傾向にあった。しかし, どのアレルゲンでもHRTは最も高い陽性適中率であった。5種のアレルゲン全体ではHRT 75.5%, RAST47.4%, ST 66.7%で, 偽陽性度はHRTが最も低かった(24.5%)。

4. 臨床症状の発現様式による検討

食物摂取後の症状発現時間によって, 2時間以内の即時型反応と, それ以後の非即時型反応に分類して, 臨床症状をTable 4に示した。即時型反応は39件(65.0%), 非即時型反応は21件(35.0%)に認められた。全体の臨床症状は呼吸器症状15.0%, 消化器症状

13.3%, 皮膚症状93.3%で, 即時型反応群では多彩な誘発症状を示す傾向があったが統計学的には有意ではなかった。

検査法の感度の比較をTable 5に示した。即時型反応群のHRTの感度は69.2%, RAST 100%, ST 87.5%で, 非即時型反応群ではそれぞれ61.9%, 71.4%, 43.8%であった。即時型反応群の感度は非即時型反応群に比べRASTとSTで有意に高値($p < 0.01$)であったが, HRTでは差を認めなかった。しかし, HRTは即時型と非即時型の両方の反応をほぼ同程度の感度でとらえていた。

5. 年齢による検討

食物アレルギーは, 一般に年少児に高頻度に見られることから, 3歳未満と3歳以上に分けて, 各アレルギー検査法の一致度, 感度, 特異度, 陽性適中率をTable 6にまとめて示した。STは3歳以上に比較して, 3歳未満で一致度, 感度, 特異度, 陽性適中率ともに高く, RASTは3歳以上群で特異度が低下し, HRTは3歳以上でむしろ陽性適中率が高くなる傾向があったが統計学的に有意ではなかった。

6. HRTとRASTの相関

HRTクラスとRASTクラスの関係を図2に示した。両者のあいだには低い相関($r=0.513$, $p < 0.001$)が認められた。HRTとRASTの両者に高値であった例では臨床診断との一致度は高く, HRTクラス2でRASTクラス2以上の33例では, すべて臨床症状が認められた。

臨床診断陽性例(60件)と陰性例(164件)に分けて検討すると, 陽性例ではHRTとRASTは有意な相関($r=0.601$, $p < 0.001$)がみられたが, 臨床診断陰性例(164件)では相関($r=0.137$, $p=0.08$)を認めなかった。

Table 4 Clinical symptoms of immediate and non-immediate types of clinical reactions

Type of reaction	n	Cases of clinical symptom (%)		
		Respiratory	Alimentary	Skin
Immediate*	39	6(15.4)	6(15.4)	37(94.9)
Non-immediate**	21	3(14.3)	2(9.5)	19(90.5)
Total	60	9(15.0)	8(13.3)	56(93.3)

*Immediate type; manifestation of clinical symptoms within 2 hours after provocation.

**Non-immediate type; manifestation after more than 2 hours.

Table 5 Sensitivity of histamine release test (HRT), specific IgE antibody (RAST) and scratch test (ST) between immediate and non-immediate types of clinical reactions

Type of reaction	HRT	RAST	ST
Immediate	69.2%	100 %	87.5%
Non-immediate	61.9% NS*	71.4% **	43.8% **
Total	66.7%	90.0%	70.0%

*NS; not significant, **; $p < 0.01$.

Table 6 The difference in concordance, sensitivity, specificity and positive predictive value between two age groups for each diagnostic method (HRT, RAST and ST)

Diagnosis index	HRT		RAST		ST	
	<3 yrs (n=133)	≥3 yrs (n=91)	<3 yrs (n=133)	≥3 yrs (n=91)	<3 yrs (n=109)	≥3 yrs (n=54)
Concordance	85.7%(114/133)	84.6%(77/91)	72.9%(97/133)	67.0%(61/91)	88.1%(96/109)	77.8%(42/54)
Sensitivity	66.7%(20/30)	66.7%(20/30)	86.7%(26/30)	93.3%(28/30)	76.9%(20/26)	61.5%(8/13)
Specificity	91.3%(94/103)	93.4%(57/61)	68.9%(71/103)	54.1%(33/61)	91.6%(76/83)	82.9%(34/41)
Positive predictive value	69.0%(20/29)	83.3%(20/24)	44.8%(26/58)	50.0%(28/56)	74.1%(20/27)	53.3%(8/15)

Table 7 Concordances between histamine release test (HRT), specific IgE antibody (RAST) and scratch test (ST), and the results of McNemar's agreement analysis

Allergen	HRT vs RAST	HRT vs ST	RAST vs ST
Egg	68.0% $p=0.004$	62.2% $p=0.013$	89.2% $p=1.00$
Cow's milk	48.9% $p<0.001$	88.2% $p=0.125$	67.6% $p=0.001$
Soy bean	53.2% $p<0.001$	85.7% $p=1.00$	51.4% $p=0.002$
Wheat	42.9% $p<0.001$	83.9% $p=0.063$	35.5% $p<0.001$
Rice	66.7% $p=0.023$	85.2% $p=0.125$	63.0% $p=0.002$
Total	56.0% $p<0.001$	80.5% $p=0.377$	62.2% $p<0.001$

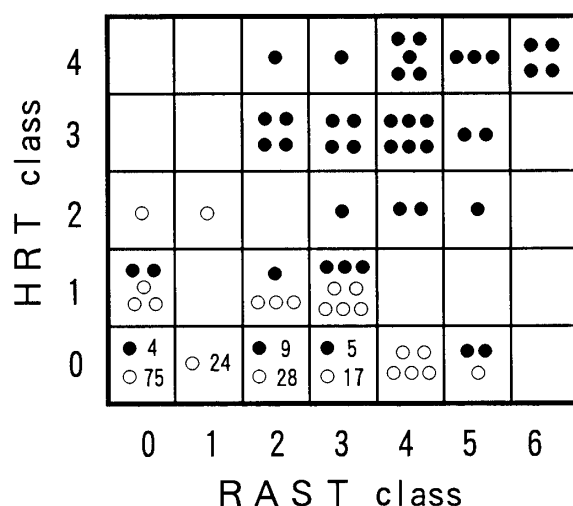


Fig. 2. Correlation between histamine release test (HRT) and specific IgE antibody (RAST) in 224 tests from 50 children. Closed circles show cases with positive clinical symptoms, and open circles show cases with negative clinical symptoms. In all cases, there is a significant correlation ($r=0.513$, $p<0.001$) between HRT class and RAST class. In cases with positive clinical symptoms, $r=0.601$, $p<0.001$ and in cases with negative clinical symptoms, $r=0.137$, $p=0.08$.

7. 検査法間の一致度

HRT, RAST, ST の間の一致度を Table 7 にまとめた。HRT と RAST の一致度は 56.0%, HRT と ST との一致度は 80.5%, RAST と ST の一致度は 62.2% であり, HRT と ST の一致度が高値であった。McNemar の検定では HRT と ST の間に一致度の相

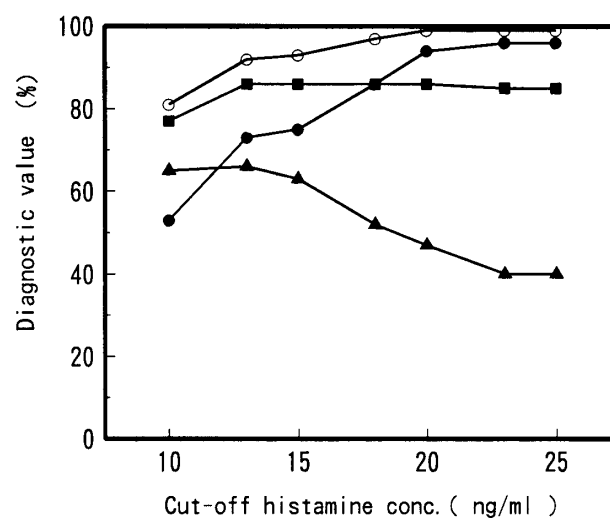


Fig. 3. Concordance, sensitivity, specificity and positive predictive value with clinical diagnosis according to the various cut-off levels of histamine release test (HRT). Closed squares correspond to concordance, closed triangles to sensitivity, open circles to specificity and closed circles to positive predictive value.

関がみられた ($p=0.377$).

8. HRT のカットオフ値の検討

HRT のカットオフ値を, 10, 13, 15, 18, 20, 23, 25ng/ml まで順に変化させ, 臨床診断との一致度, 感度, 特異度, 陽性適中率を求め, その結果を Fig. 3 に示した。カットオフ値 15ng/ml 以上では特異度と陽性適中率が上昇したが感度は急激に低下し, 15ng/ml 以

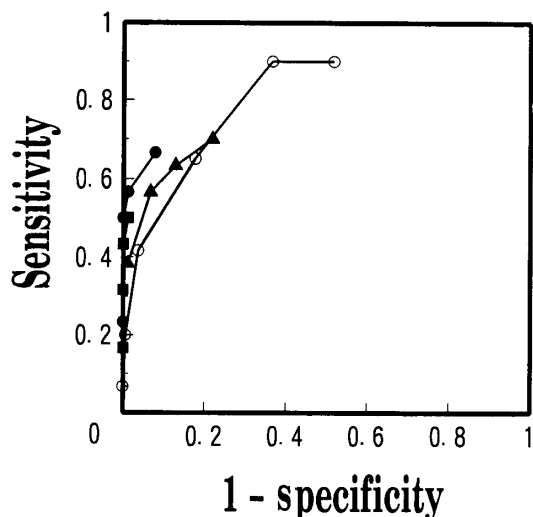


Fig. 4. Response operating characteristic (ROC) curve of histamine release test (HRT) and specific IgE antibody (RAST). Open circles correspond to RAST, closed triangles to 10ng/ml cut-off of HRT, closed circles to 15ng/ml cut-off of HRT, and closed squares to 20ng/ml cut-off of HRT. Sensitivity; the probability of correctly diagnosing a positive clinical case as positive, specificity; the probability of correctly diagnosing a negative clinical case as negative.

考 案

小児のアレルギー疾患では食物アレルゲンに対する特異的 IgE 抗体が証明される頻度は高い。しかし、そのすべてが食物アレルギー症状を示すわけではなく、臨床の間では問診と血清特異的 IgE 抗体、皮膚試験などの結果からアレルゲンを推定し、食物負荷試験によって確定診断が行われる。食物負荷試験を実施する場合の煩雑さと in vivo 検査法としてのリスクを考慮すると、より高い感度と特異度をもつ in vitro 検査法が期待されるところである。そこで今回、食物負荷試験を実施した食物アレルギー小児を対象に、全血を用いた新規な HRT を行い、その有用性を臨床診断、血清特異的 IgE 抗体、皮膚試験との関連から検討を加えた。HRT はアレルゲン添加による、in vitro での即時型アレルギー反応の再現であり、もっとも生体反応に近い試験法と考えられる。

今回の検討に用いた HRT 測定試薬は、マイクロプレート（96ウェル）上で操作するもので、10アレルゲンの6濃度系列に対して HRT が同時に、しかも1アレルゲンの1濃度当り25 μ lの少量の全血で測定可能である。本法の測定原理は OPT 発色による蛍光光度法に基づくが、ヒスタミンの結合担体としてガラスファイバーを用いているのが特徴で、従来の白血球分離によるヒスタミン定量法と良好な相関が報告されている⁵⁾⁶⁾。

従来の HRT は、白血球数を調製したヒスタミンの遊離率で検討されることが多いが、本法では遊離量で判定が行われており、このヒスタミン遊離率と遊離量は相関することが報告されている⁵⁾⁷⁾。ヒスタミン遊離量は個々の細胞からの総量であり、生体反応は遊離ヒスタミンの総量に比例すると考えられることから、遊離量に基づいた試験法の有用性は高いと思われる。本研究で健常成人の非特異的なヒスタミン遊離量の上限（15ng/ml）をカットオフ値と設定したが、Fig. 3 に示したカットオフ値の検討結果と、Fig. 4 の ROC 曲線の結果、ならびに食物負荷試験、RAST、ST が陰性であった対象症例のヒスタミン遊離量の mean+2SD が 11.4ng/ml であったことから、今回解析に用いたカットオフ値15ng/ml が適切であったことが確認された。

今回の結果では、臨床診断に対する HRT の一致度は85.3%、感度は66.7%、特異度は92.1%であった。RAST ではそれぞれ70.5%、90.0%、63.4%、ST では84.7%、71.8%、88.7%であった。HRT は RAST に

下では感度は変化なく、一致度、特異度、陽性適中率ともに低下した。

9. 食物アレルギーに対する HRT と RAST の診断的有用性の比較

HRT においてヒスタミン遊離量のカットオフ値を 10, 15, 20ng/ml と設定したときの 3 本の ROC 曲線と、同様に RAST のカットオフクラスをクラス 1 からクラス 6 に変化させたときの ROC 曲線を Fig. 4 に示した。ROC 曲線が図の左上隅に近い診断法ほど感度と特異性が高いことを示していることから、HRT は RAST に比較して診断的有用性が高い結果であった。

10. 陰性アレルゲンによる HRT のヒスタミン遊離量

食物負荷試験、RAST、ST のいずれも陰性だったアレルゲンでの HRT のヒスタミン遊離量を検討した。該当アレルゲン数は延べ78件で、そのヒスタミン遊離量の平均値は3.6 $\pm$ 3.9ng/ml で、mean+2SD は11.4 ng/ml であった。

比較して感度は劣るが、特異度に優れており、陽性適中率は75.5%とともとも高く、偽陽性度は24.5%と低値であった。成人を対象とした検討⁹⁾でも RAST の感度は100%と高いが、特異度は46%と低く、HRT では RAST に比較して特異度が60%と高いことが報告されている。

ROC 曲線からみた食物アレルギーの診断的有用性は、HRT は RAST より高いが、臨床診断に対する感度は RAST が高値であり、したがって RAST は食物アレルギーのスクリーニングに適していると考えられる。

以上のことから、HRT は RAST より感度は劣るものの、HRT 陽性では食物負荷による症状が認められ、HRT 陰性では症状が認められない確率が高く、臨床場での確定診断に有用である。小児期では特異的 IgE 抗体が証明されるにもかかわらず、成長とともに食物負荷に対する耐性が獲得され、無症状(outgrow)となっていく頻度が高い⁹⁾¹⁰⁾。HRT の経時的な測定は食物除去の必要性を決定する一つの指標となると考えられる。

アレルギー別の検討で、Kleine-Tebbe ら⁷⁾は、病歴で鶏卵と牛乳に対する即時型アレルギー症状を確認した例を対象に検討し、病歴と HRT の一致度は鶏卵で89%、牛乳で64%と報告し、Prahll ら¹¹⁾は経口負荷試験で確認できた牛乳アレルギー小児のうち、I 型アレルギー反応が推測される蕁麻疹、アナフィラキシー、気管支喘息では HRT の陽性適中率は88%と報告している。今回の検討では、臨床診断と HRT の一致度、ならびに陽性適中率は、鶏卵で81.6%、100%、牛乳で89.4%、100%であり、ほぼ同様の結果であった。しかし、大豆、小麦および米については HRT の陽性適中率はそれぞれ50%、33.3%、22.2%と低く、検査陽性者のなかで食物アレルギー症状を示さない例が多かった。また、これらの3種類のアレルギーでは、RAST、ST の陽性適中率は更に低く、特異的 IgE 抗体の証明が必ずしも臨床診断に結びつかない結果であったが、臨床診断陽性例が極端に少なかったこともあり、今後の検討課題としたい。

今回の検討では、HRT クラスと RAST クラスは相関($r=0.513$, $p<0.001$)していたが、一致度は56.0%にすぎなかった。他の報告^{11)~14)}では HRT と RAST ならびに皮膚試験の一致度は70~80%である。HRT は RAST と一定の相関を示すが、完全に一致するわけではなく、したがって HRT は RAST と異なった in

vitro 診断法として考慮しておくべき検査法である。

食物アレルギーに対するヒスタミン遊離能は、小腸粘膜の肥満細胞と末梢血中の好塩基球では異なり、必ずしも一致しないことが報告されている。Nolte ら¹⁵⁾によると、好塩基球からのヒスタミン遊離は RAST および皮膚試験と相関するが、小腸肥満細胞からのヒスタミン遊離とは相関しなかったという。しかし、RAST 陰性で下痢症状のみを示す例では、小腸肥満細胞からのヒスタミン遊離が起こることを報告している。また血中好塩基球と皮膚、肺、腸管などに局在する肥満細胞が食物アレルギーに対して異なった反応様式をとる可能性も示唆されている¹⁶⁾¹⁷⁾。

Prahll ら¹¹⁾の検討では、好塩基球の HRT と臨床診断の一致度は腸管アレルギーでは低く、アトピー性皮膚炎ではほとんど陰性であった。これは血中好塩基球と局所の肥満細胞の反応の差と考えることも可能であろうが、今回の検討では Table 1 に示したように、皮膚症状があっても HRT が高値例もあった。通常、喘息発作、蕁麻疹、嘔吐などの多彩な症状を呈した例では HRT および RAST が高値を示すことが多く、一方 HRT 陰性例の多くは皮膚症状単独例であったことは、末梢血中の好塩基球からのヒスタミン遊離の大きさが症状の多様性に影響を及ぼしていることを示唆していた。また、HRT と RAST の間には Fig. 2 に示したように一定の相関が認められ、好塩基球からのヒスタミン遊離は血清中の特異的 IgE 抗体量にある程度の相関性を有する可能性を示唆するものと思われる。

好塩基球のヒスタミン遊離には IgE 抗体による特異的な抗原抗体反応のほかに、IgG サブクラス抗体関与の可能性¹⁸⁾¹⁹⁾、あるいは IL-3 や GM-CSF などのサイトカインによるヒスタミン遊離能の増強²⁰⁾、好塩基球の releasability²¹⁾²²⁾などの多くの因子が関与すると考えられている。今回検討した HRT は全血を用いるため、これらの諸因子の関与を総合的に評価することが可能である。

現在のところ、食物アレルギーの診断は食物負荷試験によって確定されるが、in vivo 検査としての危険性が指摘されていることから、問診、血清特異的 IgE 抗体の測定、皮膚試験などに加えて、今回我々が検討した全血を用いた好塩基球ヒスタミン遊離試験を行うことによって、臨床診断の正確度は高まると考えられた。

結 語

食物負荷試験が施行された食物アレルギー小児を対象として、HRT, RAST, ST を実施した。その結果、臨床診断に対する HRT の一致度は85.3%, 感度は66.7%, 特異度は92.1%, RAST ではそれぞれ70.5%, 90.0%, 63.4%, ST では84.7%, 71.8%, 88.7%であった。臨床診断と HRT との陽性適中率は75.5%と高く、偽陽性度は24.5%と低値であった。以上より、HRT は RAST に比較して感度は劣るが、特異度に優れており、食物アレルギーの確定診断に応用できると考えられた。

文 献

- 1) Metcalfe, D.D. and Sampson, H.A.: Workshop on experimental methodology for clinical studies of adverse reactions to foods and food additives. *J. Allergy Clin. Immunol.* 86(3, part 2), 421-442, 1990.
- 2) Skov, S.P., Norn, S. and Weeke, B.: A new method for detecting histamine release. *Agents Actions* 14, 414-416, 1984.
- 3) Nolte, H., Storm, K. and Schiøtz, P.O.: Diagnostic value of a glass fibre-based histamine analysis for allergy testing in children. *Allergy* 45, 213-223, 1990.
- 4) Nolte, H., Skov, P.S., Kruse, A. and Schiøtz, P.O.: Histamine release from dispersed human intestinal mast cells. A method using biopsies from children and adults. *Allergy* 44, 543-553, 1989.
- 5) Skov, S.P., Mosbech, H., Norn, S. and Weeke, B.: Sensitive glass microfibrebased histamine analysis for allergy testing in washed blood cells. *Allergy* 40, 213-218, 1985.
- 6) Nolte, H., Schiøtz, O. and Skov, P.S.: A new glass microfibre-based histamine analysis for allergy testing in children. Results compared with conventional leukocyte histamine release assay, skin prick test, bronchial provocation test and RAST. *Allergy* 42, 366-373, 1987.
- 7) Kleine-Tebbe, J., Werfel, S., Roedsgaard, D., Nolte, H., Skov, P.S., et al.: Comparison of fiberglass-based histamine assay with a conventional automated fluorometric histamine assay, case history, skin prick test, and specific serum IgE in patients with milk and egg allergic reactions. *Allergy* 48, 49-53, 1993.
- 8) Nørgaard, A. and Bindsløv-Jensen, C.: Egg and milk allergy in adults: Diagnosis and characterization. *Allergy* 47, 503-509, 1992.
- 9) Eggleston, P.A.: Prospective studies in the natural history of food allergy. *Ann. Allergy* 59(5, part 2), 179-182, 1987.
- 10) 岩崎栄作: 食物抗原の感作状況と食物アレルギーの予後について. *Ther. Res.* 11, 2508-2517, 1990.
- 11) Prahl, P., Krasilnikof, F., Skov, S.P. and Norn, S.: Basophil histamine release in children with adverse reactions to cow milk. *Allergy* 43, 442-448, 1988.
- 12) Nolte, H.: Histamine release in food hypersensitivity. *Immunol. Allergy Pract.* 12, 9-13, 1990.
- 13) Clinton, P.M., Kemeny, D.M., Amlot, P., Urbanek, R. and Lessof, M.H.: Histamine release from peripheral blood leukocytes in egg-allergic patients. *Clin. Allergy* 16, 345-354, 1986.
- 14) Werfel, S., Werthmann, I., Schorsh, T., Kleine-Tebbe, J., Skov, S.P., et al.: Comparison of a microfibre based histamine assay with RAST and skin prick test in patients with food allergic reactions. *Allergol. B.* 1366(E), 40, 1989.
- 15) Nolte, H., Schiøtz, P.O., Kruse, A. and Skov, S.P.: Comparison of intestinal mast cell and basophil histamine release in children with food allergic reactions. *Allergy* 44, 554-565, 1989.
- 16) Lowman, M.A., Rees, P.H., Benyon, R.C. and Church, M.K.: Human mast cell heterogeneity: Histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils, and colon in response to IgE-dependent and nonimmunologic stimuli. *J. Allergy Clin. Immunol.* 81, 590-597, 1988.
- 17) Tharp, M.D., Kagey-Sobotka, A., Fox, C.C., Marone, G., Lichtenstein, L.M. and Sullivan, T.J.: Functional heterogeneity of human mast cells from different anatomic sites: In vitro responses to morphine sulfate. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 646-653, 1987.
- 18) Hindocha, P. and Wood, C.B.: Histamine release from human leukocytes by IgG4 subclass in the sera of allergic children. *Allergy* 40, 523-528, 1985.
- 19) Poulsen, L.K., Skov, S.P., Mosbech, H. and Weeke, B.: Role of IgG4 in histamine release from human basophil leukocytes. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 86, 383-390, 1988.
- 20) Kristensen, K.S., Bendtzen, K., Norn, S., Skov,

- S.P., Pedersen, M. and Permin, H.: Cytokines modulate IgE-mediated histamine liberation from human basophils. *Agents Actions, Special Conference Issue*, C260-C264, 1992.
- 21) May, C.D.: High spontaneous release of histamine in vitro from leukocytes of persons hypersensitive to food. *J. Allergy Clin. Immunol.* 58, 432-437, 1976.
- 22) Akagi, K. and Townley, R.G.: Spontaneous histamine release and histamine content in normal subjects and subjects with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 742-749, 1989.

DIAGNOSTIC VALUE OF GLASS MICROFIBRE-BASED BASOPHIL HISTAMINE
RELEASE TEST IN FOOD ALLERGIC CHILDREN
Comparison with Specific IgE Antibody and Skin Scratch Test

Eisaku Iwasaki¹⁾²⁾, Misa Yamaura¹⁾, Kei Masuda¹⁾, Yoko Miyabayashi¹⁾, Koichi Yamaguchi¹⁾,
Masafumi Zaitu¹⁾, Kyoko Fujimaki²⁾ and Minoru Baba¹⁾

¹⁾*Department of Pediatrics, Doai Memorial Hospital*

²⁾*Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical College*

We evaluated the diagnostic value of the glass microfibre-based histamine release test (HRT), which allows measurements to be performed using small amounts of whole blood, in 50 children with food allergy case histories. The patients were evaluated by radioallergosorbent tests (RAST), skin scratch tests (ST) and food challenge tests. Of the 50 patients, 39 had a confirmed clinical diagnosis of food allergy from food challenge tests and case histories, and were affected by a total of 60 positive allergens (egg 37, milk 11, soy beans 4, wheat 5, rice 3). The concordance, sensitivity, and specificity of HRT with the clinical diagnosis were 85.3%, 66.7% and 92.1%, those of RAST were 59.4%, 90.0% and 48.2%, and those of ST were 84.7%, 71.8% and 88.7%, respectively. The positive predictive values of HRT, RAST and ST were 75.5%, 38.8% and 66.7%. The false positive ratio of HRT (24.5%) was the lowest among all the tests. There was a significant correlation between HRT and RAST ($r=0.513$, $p<0.001$). However, the concordance of HRT with respect to RAST was 56.0%. The concordance and specificity of HRT in relation to the clinical diagnosis were higher than RAST and the same as ST. The sensitivity of RAST was higher than that of HRT. From these results, we concluded that RAST is good for the screening of allergens and that HRT is a useful diagnostic method for the confirmation of a clinical allergy.