

新生児期特異 IgE 測定の基礎的検討

米森 宏子 花井 潤師 福士 勝 清水 良夫
菊地由生子 今井 敏夫¹⁾ 石井 敏明²⁾ 由利 賢次²⁾
藤枝 憲二³⁾

要 旨

小児アレルギーの発症について新生児期 Total-IgE, アレルギー家族歴を中心に検討を行ってきた。今回乾燥濾紙血液中の特異 IgE の測定を化学発光免疫法により検討し, 高感度の測定法を確立することができた。さらに新生児期における乾燥濾紙血液中の特異 IgE の測定を行った結果, すでにこの時期においてミルクをはじめとするアレルゲン特異 IgE 抗体の陽性例が認められた。

1. 緒 言

小児アレルギー発症と新生児期における Total IgE (以下 T-IgE) との関連について乾燥濾紙血液を用いて検討してきたことは本誌においても報告している¹⁾²⁾。すなわち生後6カ月時までのアレルギー症状の出現と新生児期 IgE またアレルギー家族歴について検討を行い有意な関連が認められた。今回アレルギーの原因となるアレルゲンにまで掘り下げた検討を特異 IgE の測定を行い進めることとした。

基礎的検討として新生児期乾燥濾紙血液中の特異 IgE (以下 S-IgE) の測定法を確立するとともに, 現在アレルギー発症について追跡している児について新生児期 S-IgE の測定を行い, アレルギー発症との関係を検討したので報告する。

2. 方 法

2-1 乾燥濾紙血液中 S-IgE の測定法の検討

限られた血液量しか得ることができない乾燥濾紙血液から, さらに極めて微量の S-IgE を検出するということが検出限界, 低濃度域での再現性の向上が要求された。そこで乾燥濾紙血液中 T-IgE と同様アクリジニウムエステルによる化学発光免疫法を利用し, ケミルミ特異 IgE キット (CIBA-CORNING 社製) による測定法にいくつかの検討を加えた。標準品はキットの校正用標準溶液を 10 ポイント濃度 (0.0-70.0 SU/ml) に調整し等量の洗浄赤血球と混合, スクリーニング用濾紙にスポットし乾燥させた。これをアッセイ毎に検体と同様に抽出, 測定を行い検量線を作成した。

2-2 新生児期乾燥濾紙血液中 S-IgE の測定

市内2病院における平成3年1月から平成4年8月までの出生児について新生児期 T-IgE, アレルギー家族歴調査, 生後6カ月時におけるアレルギー発症について行った調査結果及びその検討については既に報告している¹⁾²⁾。これらの児541例中の280例についてミルク, 卵白の新生児期 S-IgE を測定するとともにすでにアレルギーを発症し医師により原因アレルゲンが推定されている16例について原因アレルゲンを含めたミルク, 卵白, 大豆, 小麦等の食物アレルゲンの新生児期 S-IgE の測定を行った。

3. 結 果

3-1 乾燥濾紙血液中 S-IgE の測定法の確立

測定の概略をフローチャートに示した (図1)。

濾紙からの抽出方法については T-IgE の測定¹⁾に従い, ϕ 3 mm disk2枚に 75 μ l の PBS を加え2時間振とう抽出を行った。

a) 反応時間

この測定では検体とアレルゲン結合鉄微粒子との反応, さらにその固相化複合物とアクリジニウムエステル標識抗体との反応の2度の放置反応がある。低濃度域での再現性の向上を目指し, これらの反応時間について検討を行ったところ, 両反応とも経時的に発光強度の上昇を認めた。そこで再現性, 測定行程及び所要時間等の有効性からそれぞれ16時間放置することとして以後の検討を進めた (図2)。

¹⁾札幌厚生病院小児科 ²⁾北海道社会保険中央病院小児科 ³⁾北海道大学医学部小児科

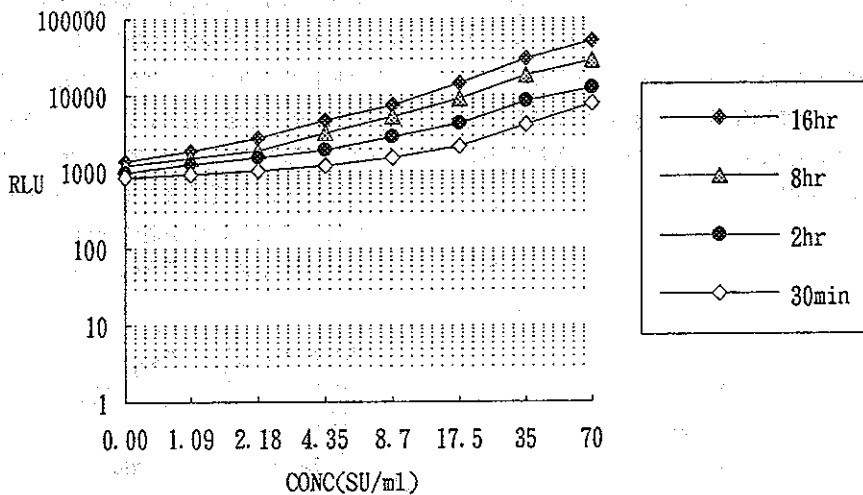
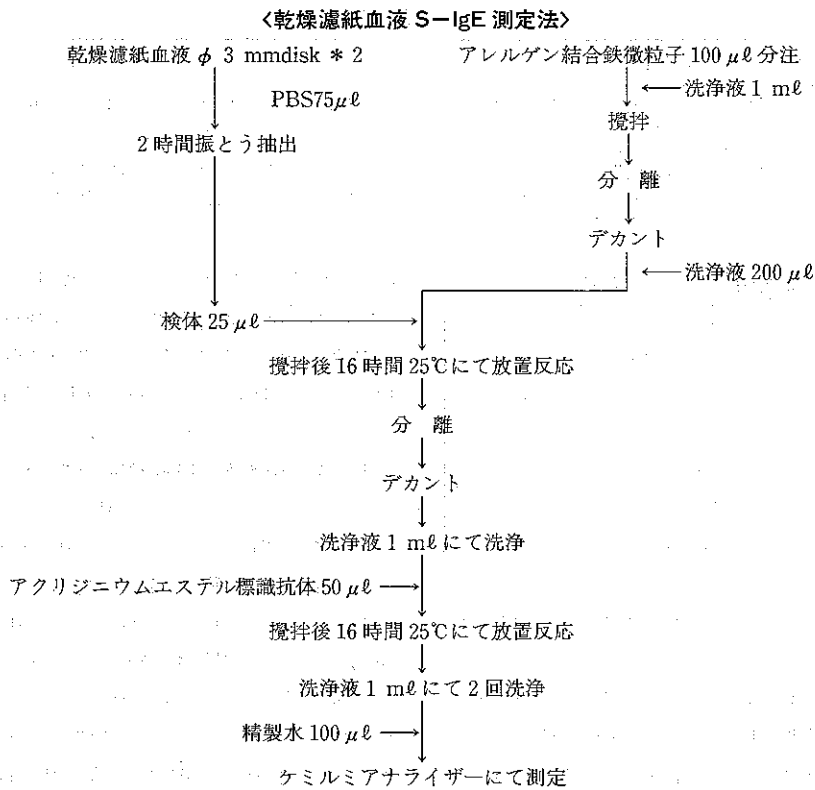


図2 反応時間と発光強度の関係

b) 測定の再現性

この測定法の再現性を6ポイント濃度 (S-IgE 2.18-70.0 SU/ml) について検討した。その結果変動係数が測定内で4.5~14.8%, 測定間で

5.1~15.4%となりほぼ良好な結果となった(表1)。

尚, 測定の検出限界は2.0 SU/mlであり, これ以上を相当アレルギー陽性のカットオフ値とした。この測定法により乾燥濾紙血液中 S-IgE を S-IgE レベル=

表1 再現性試験

	SU/ml	2.18	4.35	8.7	17.5	35	70
測定内 (n=4)	MEAN±SD	2.17±0.37	4.31±0.48	9.28±1.30	18.3±1.62	34.3±2.40	68.0±3.54
	CV(%)	14.8	9.6	12.1	7.7	6.1	4.5
測定間 (n=4)	MEAN±SD	2.11±0.38	4.17±0.57	8.13±0.87	16.95±0.99	34.93±4.19	72.73±5.28
	CV(%)	15.4	11.8	9.2	5.1	10.4	6.2

表2 測定結果の判定(血清)

S-IgE濃度(SU/ml)	S-IgEレベル	アレルギークラス
>300	Extremely High	5
100-300	Very High	4
20-300	High	3
4-20	Moderate	2
1.43-4	Low	1
<1.43	Absent	0

LOW, アレルギークラス=1まで検出することが可能となった。(表2)

c) 血清 S-IgE と乾燥濾紙血液中 S-IgE との相関

0歳~10歳の小児21名について同時に採血した血清と乾燥濾紙血液中における卵白, ミルク, ハウスダスト, ヤケヒョウヒダニの4種のアレルゲンについてS-IgE測定を行った。その結果卵白はすべて陰性であったが, ミルクで2例が, ハウスダストで3例, ダニで3例の陽性が認められた。これらの血清値と濾紙血液値のあいだには相関係数 $r=0.843$, 回帰直線の傾きが0.91と傾きがほぼ1:1の有意な相関が認められた(図3)($p<0.01$)。

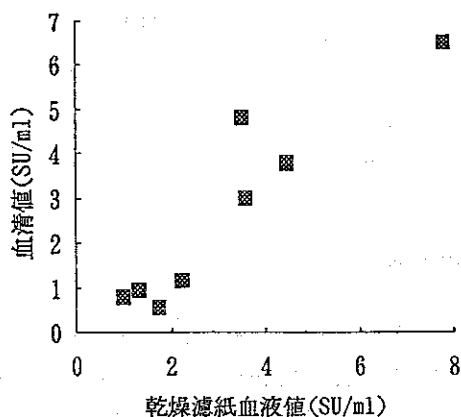


図3 乾燥濾紙血液 S-IgE と血清 S-IgE の相関

d) 乾燥濾紙血液中 S-IgE の安定性

室温及び4°C保存下での乾燥濾紙血液中S-IgEの安定性について検討を行った。その結果室温で2週間, 4°Cでは8週間経過でも90%以上の安定性が保持されていることが認められた(図4)。

3-2 新生児期乾燥濾紙血液中 S-IgE の測定

アレルギー発症について追跡している280例についてミルク, 卵白の新生児期S-IgEの測定を行った結果, ミルクで13例(4.6%), 卵白で8例(2.8%)の陽性例が認められた。これらのS-IgEはいずれもS-IgEレベル=LOW(4.0SU/ml以下)であり, T-IgEとの間に相関は認められなかったが, 21例のうち生後6カ月の時点でアレルギー症状を示しているのが12例(57%)と全体の発症率37%に比し高率であり, 特にミルク陽性例では62%であった。

また生後6カ月の時点で医師によりアレルギーと診断され, 原因アレルゲンが推定されている16例についてその原因アレルゲンを含めたミルク, 卵白, 大豆, 小麦のS-IgE測定を行った。その結果4例(2.5%)からミルク, 卵白などの原因アレルゲンのS-IgEが検出され, そのうち1例ではミルクのみが原因アレルゲンとして推定されていたが他に卵白, 小麦のS-IgEも検出された。以上のS-IgE値はいずれも4.0SU/ml以

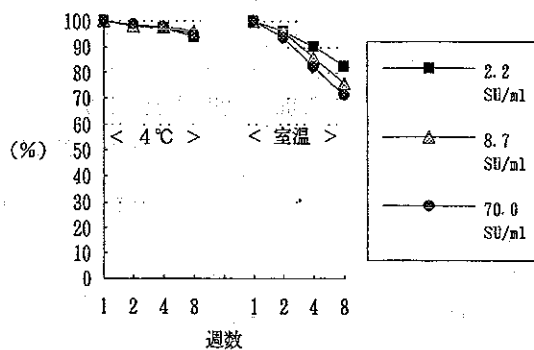


図4 乾燥濾紙血液中 S-IgE の安定性

下(S-IgE レベル=LOW)であり、T-IgE との間に相関は認められず、栄養法とのあいだにも有意な関連は認められなかった。また4例中3例にはアレルギー家族歴があった(表3)。

4. 考 察

アレルギー発症における遺伝的素因として抗原に特異的・非特異的因子の二者が考えられ、前者はすなわち今回検討を行ったS-IgEに関するものであり、ヒト組織適合抗原系(HLA)に関連している。後者の抗原非特異的素因にはHLAに関連した総合的なアレルギー反応亢進に関するものと、逆にHLAに関連しないT-IgE産生に関する因子があると考えられている³⁾。

血清中S-IgEは従来RAST法、MAST法、CAP-RAST法、FAST法などで行われているが⁴⁾、今回新生児期乾燥濾紙血液中の極めて微量のS-IgEを検出するため、すでに乾燥濾紙血液中T-IgE測定にて良好な結果を得ている化学発光免疫測定法により検討を行った。その結果血清での測定とほぼ同等の検出感度を得ることができ、再現性も良好であった。この測定法により280例のミルク、卵白の新生児期S-IgEを測定した結果、すでにこの時期において陽性例が認めら

れ、これらの群では生後6カ月までのアレルギー発症が対照群に比し高率あり、特にこの傾向はミルク陽性例で顕著であった。また原因アレルゲンが推定されているアレルギー発症児16例について食物アレルゲンを中心に新生児期S-IgEを測定したところ、4例から原因アレルゲンと推定されていたミルク、卵白のS-IgEが検出され、同時に小麦のS-IgEが1例から検出された。今回検出されたS-IgEはいずれも40SU/ml以下でありS-IgEレベル=LOWに相当するが、アレルゲンの侵入経路、遺伝的素因等を含め興味深い結果である。今後は新生児期の吸入アレルゲンS-IgEについての測定も行い、アレルギー症状との関連についてさらに検討が必要と考えられる。

5. 結 語

新生児期乾燥濾紙血液中におけるS-IgEの高感度な測定を確立した。またアレルギー発症について追跡中の児について新生児期S-IgEの測定を行ったところ、いくつかの陽性例が認められ、それらの群では高率にアレルギー発症が認められた。今回行った新生児期S-IgEについての基礎的検討、興味ある測定結果をもとにアレルギー発症に関するT-IgE、アレルギー家族歴そしてS-IgE等の因子の関連についてさらに検

表3 原因アレルゲン推定症例のS-IgE結果

No.	性別	発症月齢	家族歴(+)	T-IgE(IU/ml)	栄養法	症 状	原因アレルゲン	検出S-IgEアレルゲン
1	♂	4	母親	0.2	母乳	湿疹	ミルク	(-)
2	♂	6	父親	0.6	人工乳	湿疹	卵, ミルク	ミルク, 卵白
3	♀	5	父親, 母親, 兄	0.3	母乳	湿疹	ミルク	ミルク, 卵白, 小麦
4	♀	0	父親	0.1	混合	湿疹, 皮膚炎	ペット	(-)
5	♀	5	父親	0.2	母乳	湿疹	離乳食	(-)
6	♂	2	父親	0.1	混合	湿疹	卵白	(-)
7	♂	5	父親, 兄	6.2	母乳	湿疹	ミルク	(-)
8	♂	1	母親, 兄	0.7	母乳	湿疹, 気管支障害	米, 砂糖	(-)
9	♀	5	父親	0.1	人工乳	湿疹	ミルク	(-)
10	♂	1		0.1	混合	湿疹, 気管支障害	米, ミルク, 卵, 砂糖	ミルク, 卵白
11	♀	1		0.2	混合	湿疹	卵	(-)
12	♀	1	母親	0.5	母乳	湿疹	ミルク, 卵	ミルク
13	♂	5		0.3	?	湿疹	ミルク	(-)
14	♂	6	父親	1.7	母乳	湿疹	卵	(-)
15	♀	6	兄	0.1	?	湿疹	ハウスダスト	(-)
16	♂	3		0.4	母乳	胃腸障害	母乳中	(-)

討を進めていきたい。

6. 文 献

- 1) 米森宏子, 他: 札幌市衛生研究所年報, 18, 94-99, 1991.
- 2) 米森宏子, 他: 札幌市衛生研究所年報, 19, 109-114, 1992.
- 3) Ivan Roitt, et al (多田富雄監訳): 免疫学イラストレイテッド, 221-238, 南江堂, 1988.
- 4) 中川色大: 臨床検査, 35, 89-91, 1991.

A Fundamental Study Concerning the Measurement of Specific IgE in Newborns.

Hiroko Yonemori, Junji Hanai, Masaru Fukushi, Yoshio Shimizu,
Yuko Kikuchi, Toshio Imai¹⁾, Toshiaki Ishii²⁾, Kenji Fujieda³⁾

A study has already been made concerning T-IgE measurement of dried blood samples taken from newborns as a way of detecting allergic diseases.

In this report, We describe a fundamental study, where the Specific IgE (S-IgE) of newborns is measured in dried blood samples by immunochemiluminometric assay. The assay proved sufficiently sensitive (2.0SU/ml) and had good reproducibility.

A total of 16 infants suspected of having some allergic disease were detected by positive S-IgE readings.

¹⁾Department of Pediatrics, Sapporo Kousei Hospital.

²⁾Department of Pediatrics, Hokkaido Central Hospital for Social Health Insurance.

³⁾Department of Pediatrics, Hokkaido University School of Medicine.