

<<原著>>

Radioimmunosorbent test 法による IgE の測定について

金尾 啓右 井上 雅代 松雪 銀彦
弘重 尚久 三河 春樹

はじめに

1966年石坂ら¹⁾による IgE の発見以来多くの検討が重ねられた結果、IgE がアトピーの病像の形成に大きな部分を占めることが推定されるに至っている。この IgE の定量法については radial immunodiffusion 法および radioimmunoassay 法 (radioimmunosorbent test: RIST) があり、Berson ら²⁾によって確立された radioimmunoassay 法によるものは最も感度よく測定される。最近になって Sweden の Pharmacia 社によって開発された IgE radioimmunosorbent test(Phadebas IgE test kit) がわが国へ供給されるようになったことから、われわれはこの kit を用いることにより IgE の測定を日常化するために基礎的検討ならびに若干の臨床的応用を試みたので得られた成績について報告する。

測定原理および方法

この Phadebas IgE radioimmunosorbent test kit solid phase 法 (固相法) を用いている。すなわち未知試料中の IgE と ¹²⁵I 標識 IgE は sephadex-anti-IgE-complex に対して競合的に結合し、インキュベーション後の遠沈によって得られた沈降物が生理食塩水で洗滌されたのちに、未知試料の、あるいは標準試料の結合%として IgE 量算定に用いられる(図 1)。

血清は緩衝液によって10倍に希釈されたものを用いるが、これは血清中のタンパク濃度による非特異的反応の影響を防ぐためである。したがってタンパク量の少ない髓液などの IgE 量を測定する際は原液のまま用いる。また IgE 濃度は U/ml として表現される。

住友病院臨床検査部内科小児科
別刷請求先：大阪市北区中之島 5-15 (〒530)

住友病院臨床検査部
金尾 啓右

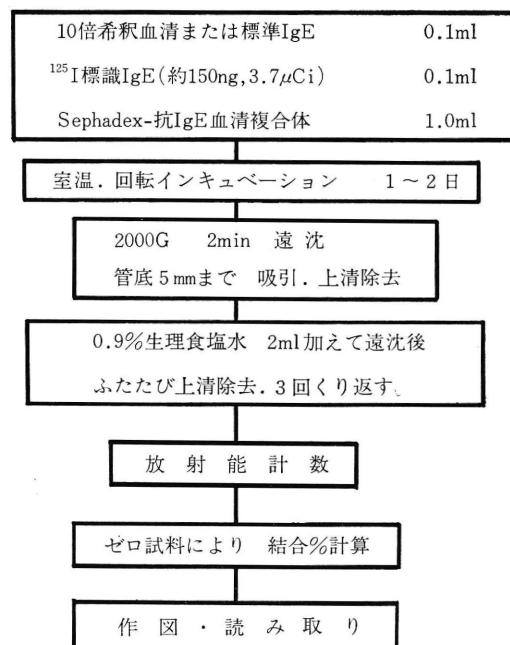


図 1 IgE radioimmunosorbent assay kit 操作法概要

成績および考察

1. 基礎的検討

インキュベーション時間が IgE と sephadex-anti-IgE-complex との結合%におよぼす影響について図 2 にみられるごとく、インキュベーション時間を延長することにより結合%は増加し、十分量の結合%を得るためにには少なくとも40時間のインキュベーション時間が必要と思われた。これにより測定感度は 1 U/ml まで上昇する。

また測定精度につき検討したが、1~10U/ml の低濃度域では、17.1% (20例)、10~100U/ml の中濃度域で

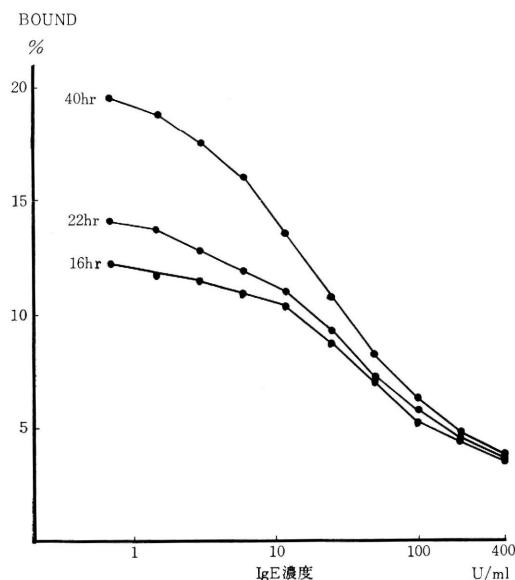


図2 Incubation時間の影響

は、11.0% (20例)、100~400U/ml の高濃度域で度域では6.2% (20例) という測定 IgE 値の変動率をみた (表1)。

回収率について検討したところ、IgE 添加量を増すに

表1 測定精度

濃度域	例数	変動率
低濃度域 (1~10 μ/ml)	20	17.1%
中濃度域 (10~100)	20	11.0
高濃度域 (100~400)	20	6.2

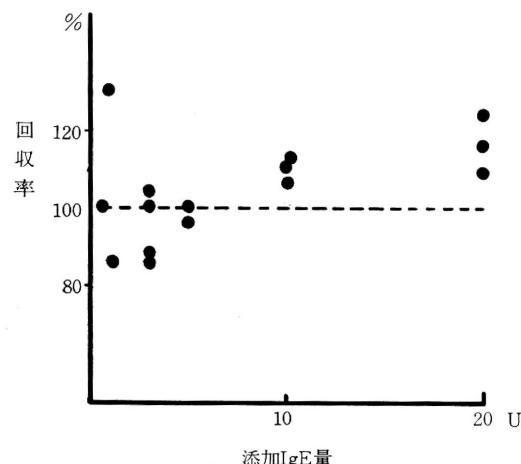


図3 回収率試験

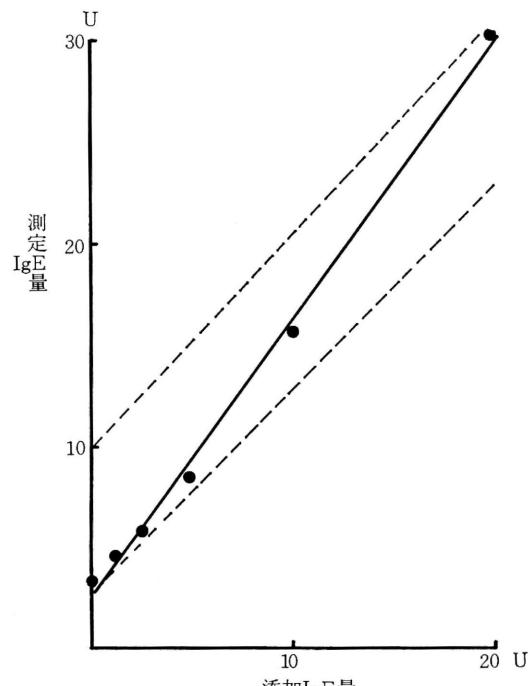


図4 回収率試験

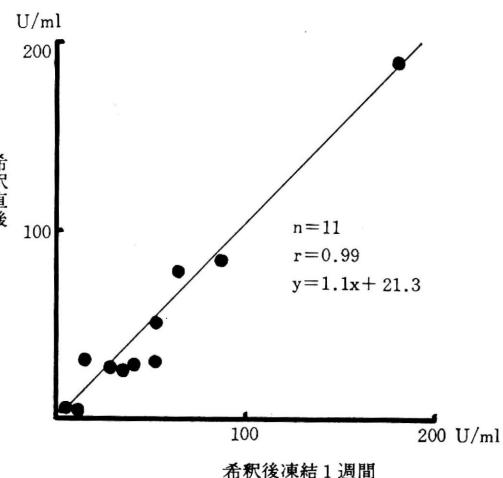


図5 IgE 希釈血清保存試験

つれて回収率の若干高くなる傾向がみられた。図3、図4にみられるごとく、20U の IgE 添加時の回収量は平均26.47U (132.3%) であり、10U 添加時の回収量は12.07U (120.7%) であった。さらに、10倍希釈の血清を一週間凍結保存したのち再測定を行なってみたが、前回測定 IgE 値との間に特に有意の差はみられなかった (図5)。

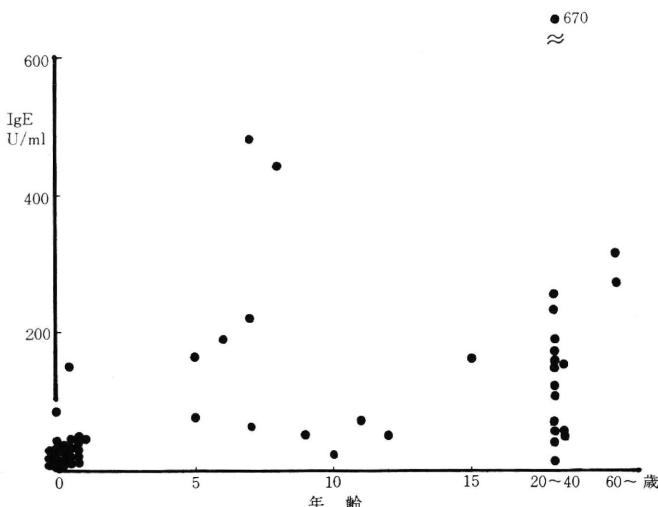


図 6 年齢別血清 IgE 正常値

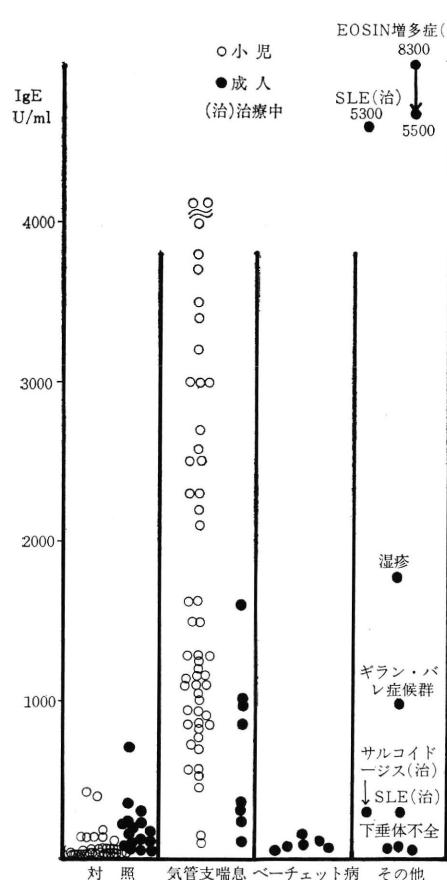


図 7 疾患別血清 IgE 値

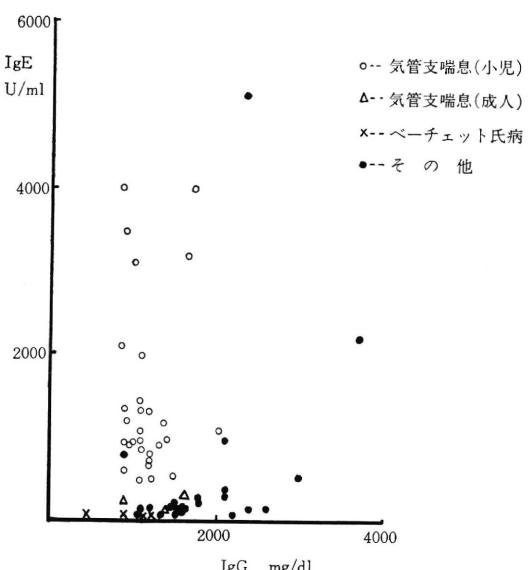


図 8 IgE-IgG の相関

以上の基礎的検討から Phadebas IgE radioimmunosorbent test kit は、これまでの radioimmunoassay 法によるインスリンや成長ホルモン、またはアルファヘトプロテインなどの測定手技に比較して、検体血清を10倍希釈する手間が加わるのみで、測定手技が容易であり、測定感度、精度等についても一応満足されるべき成績であると思われた。

回収率試験では添加 IgE 量の増加とともに回収率も増す傾向があったが、この増加域は正常値域内を外れた

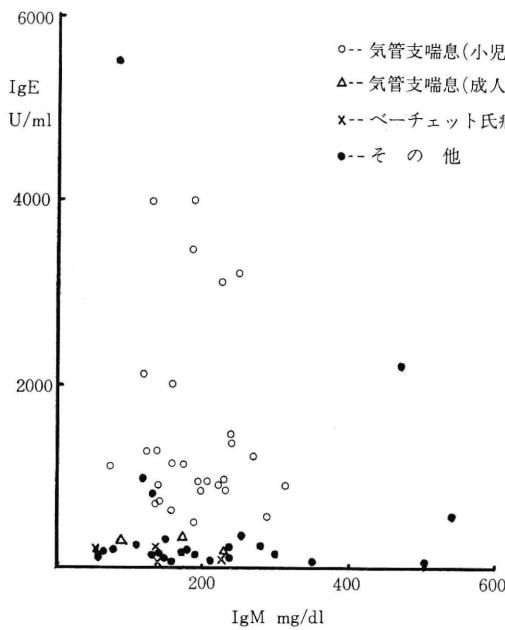


図 9 IgE-IgM の相関

高 IgE 濃度の部分を占めることから現状の IgE 測定値はこの程度であれば臨床的に容認できるものとして以後の臨床的検討を行なった。

2. 臨床的検討

まず、健康者の年齢別血清 IgE 値を55例について測定した(図6)。生後より1歳まではいずれも低値となり、50U/ml 未満の者が大部分を占めた。小児期は例数が不十分で傾向を正確に捉えることは困難であるが、お

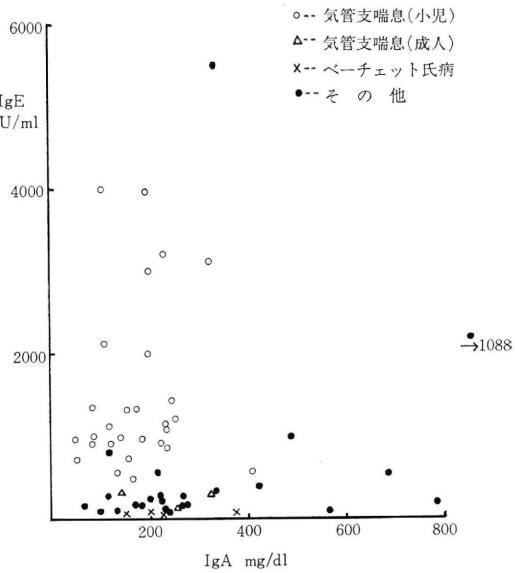


図 10 IgE-IgG の相関

およそ5歳頃より次第にばらつきを増しつつ成人値に近づくようであり、Berg ら²³の報告とよく一致する。成人では特異な1例を除いて17例が400U/ml 以下に留值し、 170 ± 148 (S.D) U/ml, 2シグマ幅をとっても500 U/ml 以下の値を示した。

疾患別の血清 IgE 値については essential eosinophilia, SLE の一部などの特異な症例を除き、われわれの対照群の中ではアトピー性疾患以外に特に高値を認めるのはなかった(図7)。

気管支喘息患者の血清 IgE 値では、小児の殆んどが正常値を越えている一方、成人の喘息では正常値内にと

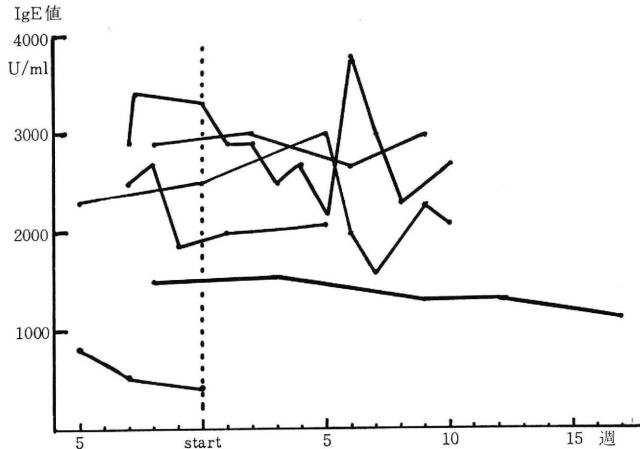


図 11 減感作療法前後における気管支喘息患児の血中 IgE の変化(短期)

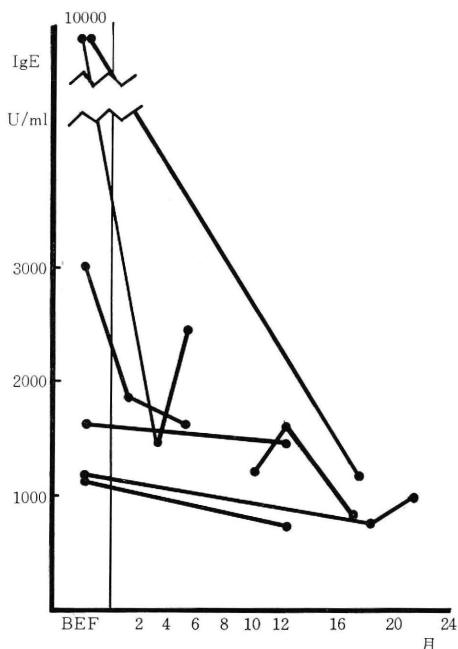


図 12 減感作療法前後における気管支喘息患児の血中 IgE の変化(長期)

どまる一群が認められており、感染性または内因性喘息の存在が推定された。また、ペーチェット氏病の 6 例はいずれも低値をとっているが、すべてステロイド治療中の患者であり、ステロイドの影響とも考えられる。この症例について他の免疫グロブリンと IgE との相関をみると、IgG, IgM は共に平行して低値をとっている反面、IgA は正常範囲内にあることがわかった(図 8, 9, 10)。

特異的減感作療法を受けつつある気管支喘息患児の血清 IgE 値の変動については、減感作療法を開始してより 5 週から 10 週の間では血清 IgE 値の著明な低下はみられず、むしろ一部の症例では一過性の上昇を認めるなど、多少の変動を伴いながらも傾向としては横ばいの状態が続くが(図 11) 数ヶ月より年余の経過を追うと相当な血清 IgE 値の低下を期待し得るようである。したがって、減感作療法の短期的な効果は、むしろ阻止抗体値の上昇によるものと理解すべきであろうが、血清 IgE 値の低下を長期間的な治療効果および治療の成功の目安としてとり上げることができるものと思われる(図 12)。

母体血と臍帯血中の IgE 値について測定したところ、母体血中の IgE 値は臍帯血中の IgE 値の約 20 倍におよぶもので、両者の間には少なくとも単純な意味での移

表 2 母血・臍帯血中 IgE 値 (u/ml)

CASE	臍帯血	母 血
T・Y	16	320
K・M	10	135
K・K	15	400

表 3 血中および髄液中の IgE 濃度

No.	血 清	髄 液
1	900	4.4
2	310	3.0
3	270	1.0
4	190	1.9
5	150	2.9
6	108	2.3
7	100	1.5
8	60	2.3
9	55	4.4
10	16	1.3

行はあり得ないものと思われた(表 2)。Johansson⁴⁾の研究報告にみられたところの結果はよく一致するが、これと同様な関係は次の表 3 に示した血清と髄液中の IgE 値の間にも認められており、特に髄液中の IgE 値はわれわれの測定法による測定限界に近いものであり、むしろ検出不能と表示されべきものであるかも知れない。この両者の事実を総括的に判断する場合、IgE は膜透過性に乏しいものと言えるのではないだろうか。

肝疾患については急性肝炎 4 例、慢性肝炎 3 例、肝硬変 7 例、原発性肝癌 2 例計 19 例について血清 IgE 値を測定し、肝硬変の 2 例にはほぼ 500U/ml、慢性肝炎の 1 例に 860U/ml のやや高値を認めたほかはすべて正常値の範囲内にあった。図 13 は約 3 ヶ月に亘って血清 IgE の経過を追跡し得たオーストラリア抗原陽性の慢性肝炎患者の諸検査成績を示したものである。黄疸指数、GOT, GPT, アルカリ fosfataze など肝障害の程度を反映するパラメータと血清 IgE 値の低下がよく一致しているが、この成因の解釈についてはなお今後の検討が必要と思われる。

妊娠から産褥期に至る血清 IgE 値は極めて興味ある経過を示した(図 14)。妊娠中の母体における血清 IgE 値は 2 カ月、6 カ月、10 カ月と次第に増加の傾向にあり、特に胎児分娩後数日間には明らかな母体における IgE 値の上昇が認められた。こうした血清 IgE 値の変

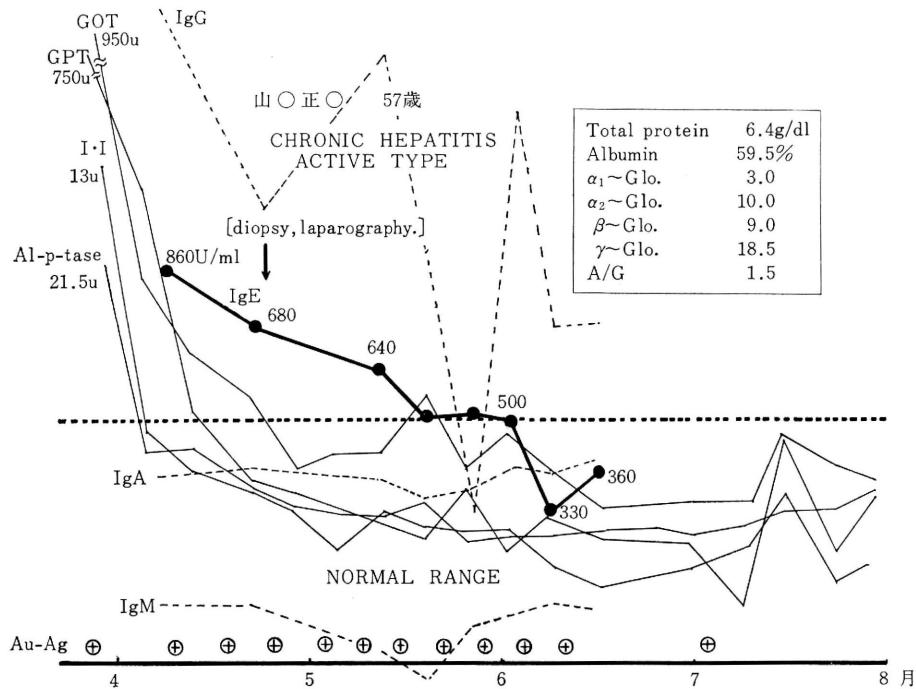


図 13 慢性肝炎患者の IgE 変動の一症例

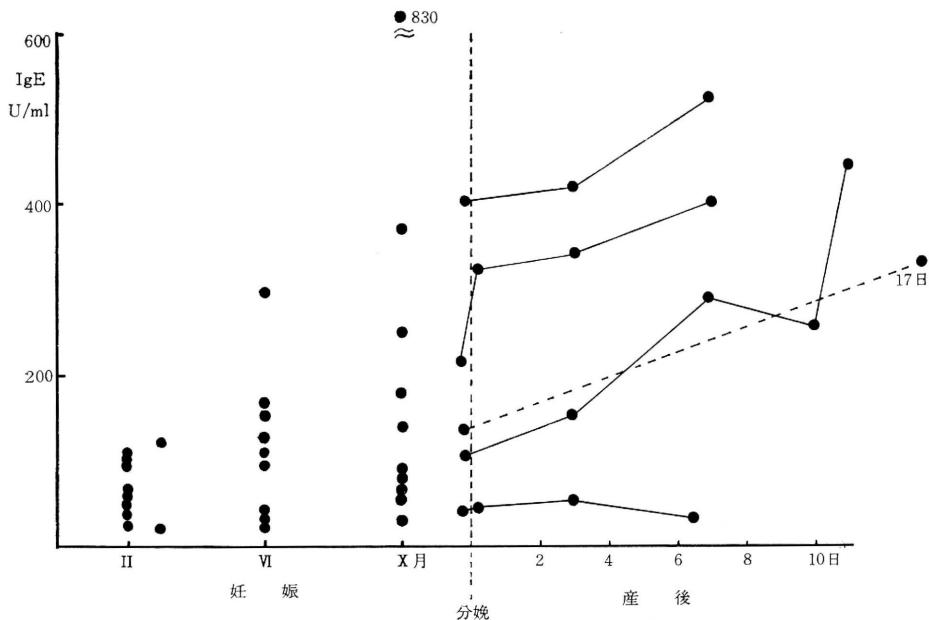


図 14 妊娠から産褥期に至る母体血中 IgE の変動

動については妊娠期の母体リンパ球の blastogenesis の変動と併せ考える時、母体に対する胎児の異物化の一部

分微候とも考えられる。

結 語

以上われわれは IgE radioimmunosorbent test kit の基礎的検討にはじまり、健康者、諸種疾患の血清 IgE 値を測定し、以下の現象を認めることができた。

1. Phadebas IgE radioimmunosorbent test kit は回収率においてやや難点があるが、他の基礎的成績についてはほぼ満足すべき結果が得られ、臨床上十分使用にたえるものである。

2. 健康者の血清 IgG 値は、1歳未満で 50U/ml 以下の低値をとり、5歳頃より次第に 500U/ml 以下の成人値に近付く。

3. Essential eosinophilia 等の特異な一部症例を除き異常高値を示すものはアトピー性疾患患者に限られる。

4. ベーチェット氏病の6例につき、IgE と他の免疫グロブリンの相関をみると、IgG, IgM は共に平行して低値をとっている反面、IgA は正常範囲内にあった。

5. 気管支喘息患児に対して特異的減感作療法を行なう場合、1~2カ月の短期間には血清 IgE 値の一過性上昇を認める場合もあり得るが、年余の経過をとれば明らかな低下を期待し得る。

6. 母体血と臍帶血、血清と髄液の間には IgE 値に極端な差があり、両者の間には IgE の移行を想定することは困難であった。

7. 妊娠、産褥期を通じて母体の IgE 値は上昇した。終りに臨み、assay kit の供与を受けた第1ラジオアイソトープ研究所に心からなる謝意を表します。

参考文献

- 1) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Hornbrook, M. M.: J. Immunol. 97 : 75, 1966.
- 2) S. A. Berson and R. S. Yallow: Adv. in Biol. and Med. Physics. 6 : 350, 1958.
- 3) T. Berg and S. G. O. Johansson: Acta. Paediat. Scand. S. G. O. Johansson: Int. Arch. Allergy. 34 : 1, 1968.

On the Measurement of IgE by Radioimmunosorbent Test

K. KANAO, M. INOUE, Y. MATSUYUKI, N. HIROSHIGE and H. MIKAWA
Radioisotope Laboratory, Sumitomo Hospital, Osaka

A sensitive method for measuring serum IgE level has been developed by the radiommunoassay technique.

Fundamental investigation and measurement of IgE level of healthy individuals and cases with various diseases by using Phadebas IgE radioimmunosorbent Kit were performed.

The results were as follows.

1) Fundamental investigation by Phadebas IgE radioimmunosorbent Kit suggested that it was possible in clinical application to determine serum IgE level.

2) Serum IgE level in healthy individual is less than 50 U/ml up to 1 year after birth, thereafter, increases gradually with age and reaches to about 500 U/ml of adult level.

3) Abnormal high level of serum IgE is mostly limited to atopic diseases with the exception of a few other diseases as essential eosinophilia.

4) In 6 cases with Behcet's disease, the relationship between IgE and other immunoglobulins was investigated.

IgG and IgM were parallel to low level of IgE, but IgA was within normal limit.

5) In some of children with bronchial asthma treated with specific hyposensitization therapy, the transient rise of IgE was recognized in the short period of 1-2 months after the beginning of the therapy, but a fall of IgE level could be suspected 1-2 years after the therapy.

6) There was extreme difference between the level of IgE in serum from the mothers and that of their respective newborns (cord serum), and the same difference was found between the level of IgE in serum and liquor cerebrospinalis.

7) Slight gradual rise of IgE level during pregnancy and short period after delivery was noted.