

〈特集：検査技術の新たな展望（3）〉

アレルギー特異IgE抗体測定キット「シーメンス・アラスタットIgEⅡ（アラスタット3g）」の特徴と有用性について

山川 祥一郎、奥田 裕子

Properties and applications of Siemens IMMULITE 2000XPi/IMMULITE 2000 3gAllergy Specific IgE assay kit

Shoichiro Yamakawa and Yuko Okuda

Summary The 3gAllergy Specific IgE assay (3gAllergy), a reagent for use on IMMULITE 2000 XPi and IMMULITE 2000 automated immunoassay analyzers, employs chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) and liquid-phase allergen technologies. With a wide measurement range from 0.1 IU/ml to 500 IU/ml and a high degree of sensitivity, 3gAllergy is considered as a promising methodology to be used in clinical settings. Previously, its clinical utility was demonstrated by the data reported by the 3gAllergy Clinical Evaluation Study Group (Masaaki Miyamoto et al.) at the Luncheon Program of the 24th Spring Meeting of the Japanese Society of Allergology.

Key words: IMMULITE 2000XPi/IMMULITE 2000, AlaSTAT 3g, Chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA), Liquid-phase allergens, High sensitivity, AlaSTAT 3gAllergy

I. はじめに

近年、わが国のアレルギー患者の数は増加傾向にあり^{1),2)}、また、昨今、マスコミなどでも学校給食でのアナフィラキシーの発症や花粉情報などを取り上げることも多く、数年前に比べその情報量は増加し、アレルギーに対する国民の関心も高まっている。

このような状況において、アレルギーの診断

には、*in vivo*で行われる皮膚テストや負荷試験、*in vitro*で行われるアレルギー特異的IgE抗体検査やヒスタミン遊離試験など様々な種類があるが、もっとも一般的なものはアレルギー特異的IgE抗体検査である。現在一般的に行われているアレルギー特異的IgE抗体検査を表1にまとめた。アレルギー特異的IgE抗体の測定は、1990年代の中ごろから普及し始めたイムノCAP（ファディア社、FEIA法）がもっとも多く使用されている

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社、CAI事業部
〒141-8673 東京都品川区大崎1-11-1
ゲートシティ大崎ウエストタワー

Siemens Healthcare Diagnostics K.K.
Gate City Osaki West Tower
1-11-1 Osaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-8673, Japan

表1 特異的IgE抗体検査薬の比較

製品名称	アラスタット 3gAllergy	従来法1	従来法2	従来法3
製造元	シーメンス	ファディア	日立化成	日本ケミファ
測定原理	CLEIA	FEIA	CLEIA	EIA
固相	ポリスチレン ビーズ	セルロース スポンジ	プラスチック ウェル	ガラスフィルター
リファレンス	WHO IgE標準品 (75/502)	WHO IgE標準品 (75/502)	無し	WHO IgE標準品 (75/502)
アレルゲン数	207 (単項目測定)	193 (単項目測定)	33 (多項目同時測定)	52 (単項目測定)
測定範囲	0.1~500 IU _A /mL	0.35~100 IU _A /mL	クラス判定	0.35~100 IU _A /mL

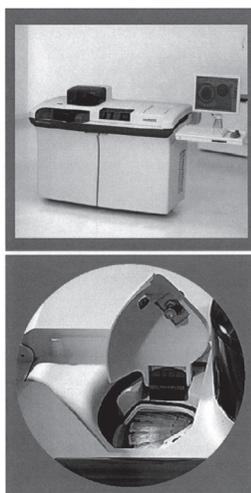


図1 イムライト2000XPiの概要

24項目同時搭載、90検体同時搭載可能

オンボード90日間の安定性

化学発光酵素免疫測定法(CLEIA法)

ポリエチレンビーズを用いた液相反応

自動デイリーメンテナンス

自動スタート

小児用検体カップ採用

が、低濃度域での不安定さや100 IU_A/mL以上が測定できないなどの問題点が指摘されている³⁾。特に小児分野では、食物アレルギー症状をもつ小児への、食物負荷試験におけるアレルゲン特異的IgE抗体検査の精度が重要性や⁴⁾、喘息をもつ小児でアレルゲン特異的IgE抗体が高値を示した患者において、その後の再発を予知、予防することの重要性が報告されている⁵⁾。今回、0.1 IU_A/mL~500 IU_A/mLと幅広い測定範囲を持つ、新しいアレルゲン特異的IgE抗体測定試薬である「シーメンス・アラスタットIgE II (以下アラスタット3g)」の特徴と臨床的有用性を紹介する。

II. 測定装置と試薬構成

測定装置として用いることができるのはイムライズ2000およびイムライト2000XPiの2機種である。イムライト2000XPiはイムライズ2000の後継機種として2009年11月に発売された。本装置の機能は図1に示す通りである。化学発光酵素免疫測定法(CLEIA法)を用い、また、ポリエチレンビーズ固相を用いた液相反応であることから高感度かつ広範囲の測定領域を実現させている。また、図2に示す「高速遠心洗浄法

(以下スピウォッシュ)」は、ポリエチレンビーズの入ったサンプルカップを固定し7000 rpmの高速遠心をかけることでBF分離を行う特殊な方法であり、このスピウォッシュにより、洗浄効率が高まり、より精度の高いデータを得られると考えられる。

なお、本装置はアレルギー特異的IgE抗体の他に、甲状腺、性腺マーカー、腫瘍マーカー、サイトカイン等が測定できる。専用機以外で測定ができなかったアレルギー特異的IgE抗体が他の

免疫項目と同時に測定できるようになり病院検査室でのメリットが高まった。また、測定時間の大幅な短縮（65分）により診療前検査としての使用も可能となった。

アレルギー特異的IgE抗体の試薬構成について図3に示す。アラスタット3gは抗原試薬、アレルギー固相ビーズ、酵素標識抗体試薬、アジャスター、コントロール、PPD試薬（発光基質）で構成される。アレルギー固相ビーズ、酵素標識抗体試薬、アジャスター、コントロールはユ

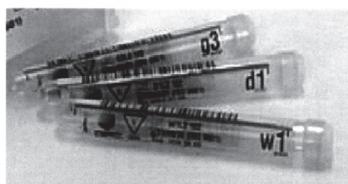
- ・項目ごとに抗原あるいは抗体を固相化
- ・高速遠心洗浄法(スピウォッシュ)により、効率の良い洗浄
- ・洗浄水は通常の精製水で可能

イムライズ2000およびイムライト2000XPiの高速遠心洗浄法



図2 スピウォッシュ BF分離機能

- ・ユニバーサルセット（600回用）
 - 酵素標識抗体(ALP標識抗ヒトIgEマウスモノクローナル抗体) (30mL×1)
 - 抗リガント固相化ビーズ (200個×3)
 - アジャスターL/アジャスターH/アジャスター抗体
 - コントロール1/コントロール2用/コントロール抗体
- ・抗原試薬（各20回もしくは40回）
 - 抗原（アレルギー） 205項目
- ・PPD試薬（発光基質）（共通）（1000回×2） 205mL×2



抗原（アレルギー）試薬



ユニバーサルセット

図3 アラスタット3gの構成試薬

ニバーサルキットとして同一キット内に同梱されている。アジャスターとはWHO2nd IRP75/502を標準物質としたトータルIgEに準拠したキャリブレーションカーブを補正するために用いるための試薬であり、機器に保存されたキャリブレーションカーブを適時補正する。

Ⅲ. アラストット3gの測定原理

アラstatt3gの測定原理を図4に示す。アラstatt3gは固相ビーズを用いた化学発光酵素免疫法を原理とする2STEPサンドイッチ法である。患者血清とビオチン化アレルゲンをアビ

ジン固相ビーズに加え、37℃ 30分間インキュベーションし反応させる。スピノッシュによるB/F分離後、酵素標識抗体試薬を加え、37℃ 30分間さらにインキュベーションする。最後にB/F分離後、発光基質であるPPD試薬を加え、37℃ 5分間インキュベーションして発光させ、ルミノメーターで発光量を測定する。

Ⅳ アラストット3gの特長

アラstatt3gの最大の特長は0.1 IU_N/mL～500 IU_N/mLまでの広範囲を精度よく測定できることである。この特長を支えているのが液相反

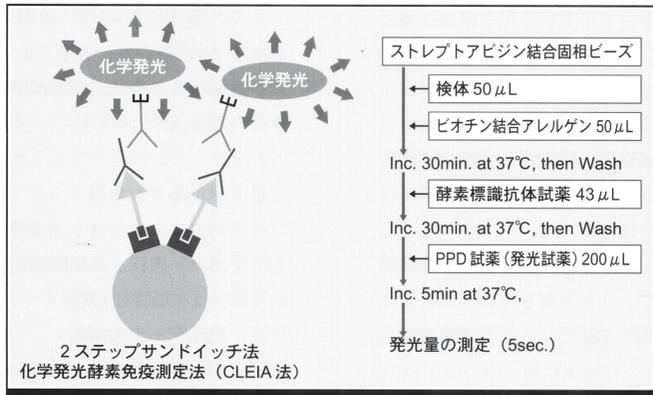


図4 アラストット3gの測定原理 (参考文献3)より引用

値付けの確認

検証方法

従来法のレファレンス A (0.35 UA/mL)～F (100 UA/mL)をアラstatt3gAllergyで測定し、表示値と比較した。

WHO 2nd 75/502に準拠した値付け

従来法 標準品		測定値(イムライト2000XPI)	
レファレンス	表示値(UA/mL)	レファレンス	測定値(UA/mL)
A	0.35	A	0.35
B	0.7	B	0.7
C	3.5	C	3.7
D	17.5	D	17.4
E	50	E	50
F	100	F	103

結果と証明

- アラstatt3gAllergyのレファレンスはWHO 2nd 75/502に準拠した標準品を使用している。
- 上記方法にて検証したところ、従来法の表示値と同じ値を示すことが確認できた。

アラstatt3gと従来法の値付けは同一である

図5 アラストット3gの値付け

応、CLEIA法の採用、スピントウォッシュである。液相反応についてはスポンジやマイクロプレートウェル等の固相反応に比べて立体障害を最小限にするとともに、液相内で球形の固相ビーズが回転するため抗原と抗体の出会う確率が高くなることが考えられる。またCLEIA法は化学発光を用いているためFEIA法に比べ光子収量が多く発光効率が良いと言われている⁶⁾。スピントウォッシュは先に述べたように高速遠心により固相ビーズに吸着していない余計な物質を高確率で除去できる。これらのことより、アラスタット3gの高感度、広い測定範囲、高い測定精度が実現している。アラスタット3gの値付けについては、WHO2nd75/502に準拠している。図5に従来法との値付けの比較を示した。従来法と比較してほぼ同様の値が得られている。また、測定装置から得られるそれぞれの濃度のカウント数(CPS)は濃度とほぼ比例し、低濃度から高濃度まで精度よく測定していることがわかる。

V. 臨床的有用性に関する評価

アラスタット3gに関する臨床評価はすでに多くのアレルギー専門医により行われているがその中から臨床的有用性について紹介する。

国立病院機構福岡病院の小田嶋博先生によると、図6に示すように、イムノCAPとアラスタット3gの相関性はいずれの項目においても良好である。また臨床診断との一致率は多くのアレルゲンにおいてアラスタット3gの方がイムノCAPに比べ高く、特異的IgE抗体検査が陰性で臨床診断が陽性（偽陰性）の割合はイムノCAPが検査陰性1527例中60件（3.93%）、アラスタット3gが1258例中17件（1.35%）とアラスタット3gは偽陰性の割合が低く、特に卵白においてその傾向が強かった⁷⁾と報告している。これはアラスタット3gが高感度に抗体を測定できていることを示している。また、国立病院機構相模原病院臨床研究センターの秋山一男先生によると、図7に示した臨床診断を加えた測定値のヒストグラムにおいて、左端の検査陰性のプロットでは、イムノCAP（下段）に比べアラスタット3g（上段）は臨床医が陽性と判断した症例が陰性と判定されることが少なく、また、右端のイムノCAPが100U_A/mLを超えて測定できない検体のプロットで、アラスタット3gは500 IU_A/mLまで測定可能であったと報告している³⁾。以上のことから、高感度で測定範囲の広いアラスタット3gは従来法と比べ臨床診断との一致率が高く、臨床的な有用性が期待されている。

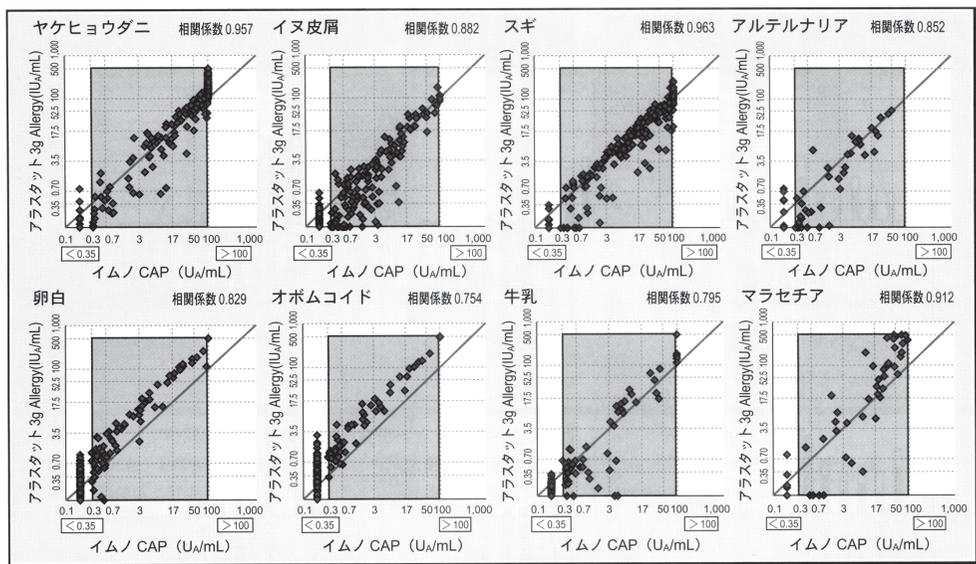


図6 相関性（参考文献7）より引用

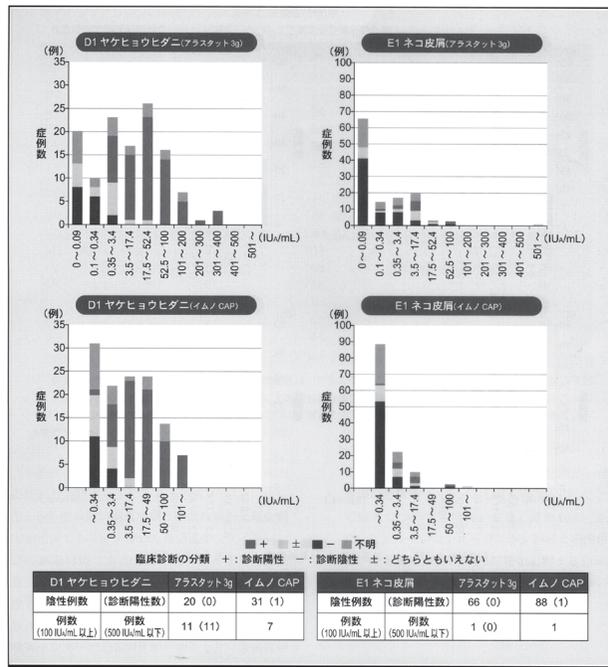


図7 測定値のヒストグラム (参考文献7)より引用)

VI. まとめ

アレルギーの患者が増加傾向にある中、アレルギーの検査も年を追うごとに増えつつある。中でもアレルギー特異的IgE抗体の検査は、今後も増加を続けると考えられる。今回、紹介した高感度ワイドレンジのアレルギー特異的IgE抗体測定試薬、アラスタット3gが臨床の先生方の診断の一助となり、また、患者のQOL向上のための手助けになることができれば幸いに思う。

参考文献

1) アレルギー疾患に関する調査研究報告書: 厚生労働省2007年3月

2) アレルギー疾患対策の現状、評価、課題: 厚生労働省2010年8月

3) 秋山一男ほか: アラスタット3g Allergyの臨床的有用性に関する検討 -第一報- 多施設共同研究による評価(内科・耳鼻咽喉科における検討). アレルギー・免疫, 19: 1970-1984, 2012.

4) 伊藤節子: 食物アレルギーの診断と治療の標準化. アレルギー, 55: 1495-1496, 2006.

5) 高橋 豊ほか: 初めて呼吸性喘鳴を呈した小児のアレルギー学的検査所見の検討. アレルギー, 51: 476-481, 2002.

6) 笠原 靖: 酵素と発光物質を用いる発光免疫イムノアッセイ. 臨床化学, 42(3): 287-292, 1998.

7) 小田嶋博: アレルギー疾患における特異抗体の意義Ⅱ, アレルギー特異IgE抗体の新しい測定法2, アラスタット3g Allergy. アレルギー・免疫, 20: 46-54, 2013.