

〈新技術特集〉

アレルギースクリーニング検査試薬 「ドロップスクリーン 特異的IgE測定キット ST-1」について

谷本 功雄

Introduction of an allergy screening test reagent “DropScreen-specific IgE assay kit ST-1”

Norio Tanimoto

Summary Nippon Chemiphar Co., Ltd. has developed an allergy screening test reagent “DropScreen-Specific IgE Assay Kit ST-1” and automated immunoassay analyzer “DropScreen A-1.” The DropScreen system was developed using the concept “Collecting a small amount of blood reduces the burden on patients, and makes allergy testing more accessible.” The DropScreen measurement principal is a chemiluminescent enzyme immunoassay. DropScreen can be used with only 20 μ L of serum, plasma, or whole blood, and 41 test results can be obtained within 30 minutes. Allergens are immobilized using the new photoimmobilization technology. DropScreen A-1 has a compact design and is easy to use. Just push the start button after placing the cassette and reagent cartridge with the specimen in the device. The presence of DropScreen in the hospital is advantageous as the results are obtained within 30 minutes and it is possible to determine the diagnostics and treatment plan on the same day. We believe that DropScreen provides a new alternative for allergy diagnostics.

Key words: DropScreen-specific IgE assay kit ST-1, DropScreen A-1, Chemiluminescent enzyme immunoassay, Photoimmobilization, Allergens

I. はじめに

我が国において、全人口の約2人に1人が何らかのアレルギー疾患を有していると言われており¹⁾、平成26年6月には「アレルギー疾患対策基本法」が公布されるなど、国を挙げてアレルギー疾患への対策を進めている²⁾。

アレルギーの診断には、皮膚テスト、アレル

ゲン特異的IgE抗体検査、ヒスタミン遊離試験など様々な種類があるが、アレルゲン特異的IgE抗体検査が臨床の現場で広く利用され、各社から様々な製品が販売されている。

近年、アレルゲン特異的IgE抗体検査では、同時に多項目の測定が可能で、いわゆるスクリーニング検査の需要が高まってきている。しかし、現状のスクリーニング検査では、原因不明

日本ケミファ株式会社臨床検査薬事業部
〒341-0005 埼玉県三郷市彦川戸1-22-1
Tel : +81-48-953-8265 Fax : +81-48-953-8269
E-mail : n-tanimoto@chemiphar.co.jp

Nippon Chemiphar Co., Ltd. Diagnostics Department
1-22-1, Hikokawado, Misato, Saitama 341-0005, Japan

の食物アレルギーの検索や吸入抗原の感作状況を同時に検出することができるという利点がある一方、データの定量性が十分ではなく³⁾、また、イムノクロマト法を除く検査の多くは院外へ検査を依頼することも多いため、採血した当日に結果を聞くことができないという問題点がある。

そこで当社では、オリトンIgE「ケミファ」、DiaPack3000で迅速測定に取り組んできたノウハウを生かし⁴⁾、「微量採血で受診者の負担を軽減し、アレルギー検査をより身近に」というコンセプトのもと、微量検体で定量性があり、即日報告が可能なアレルギースクリーニング検査試薬「ドロップスクリーン 特異的IgE測定キット ST-1」、及びその測定装置「ドロップスクリーンA-1」を開発したので紹介する (Fig. 1, Fig. 2)。



Fig. 1 ドロップスクリーン特異的IgE測定キット ST-1.



Fig. 2 ドロップスクリーンA-1.

II. 製品の概要

「ドロップスクリーン 特異的IgE測定キット ST-1」は、「ドロップスクリーンA-1」との組み合わせにより、検体(全血、血漿、血清) 20 μ Lでアレルゲン41項目に対する特異的IgEの結果を30分で得ることができる。測定原理は、化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) である。

まず、基板に固定化させたアレルゲンに検体中のアレルゲン特異的IgEを反応させ、アルカリホスファターゼ (ALP) 標識抗IgEマウスモノクローナル抗体を反応させる。その後、発光基質としてDynaLight™ Substrate with RapidGlow™ Enhancerを反応させ、化学発光させることで基板に結合している複合体のALP活性を求める (Fig. 3)。基板に結合しているALP量はアレルゲン特異的IgEの量に応じて変化するので、検量線より濃度を求め、濃度よりクラスを分類する。クラスは0から6に分類され、クラス0を陰性、クラス1を疑陽性、クラス2以上を陽性と判定する。測定には全血、血漿、血清を用いることができ、全血を用いた場合は、ヘマトクリット値で補正して濃度を算出する。

III. 製品の特長

試薬、及び装置、それぞれの特長について以下に紹介する。

1. ドロップスクリーン特異的IgE測定キット ST-1

「ドロップスクリーン特異的IgE測定キット ST-1」は、アレルゲンカセット、試薬カートリッジ、検体ピペットから構成される測定キットである。アレルゲンカセットは、上カバー、下カバー、基板、吸水スポンジから構成されている (Fig. 4)。

本製品は、基板上で全ての反応が進行し、反応に使用した液は、カセットが傾くことにより吸水スポンジに保持される構造となっている。そのため、廃液によるユーザーへの汚染を防止するとともに、測定装置の排水設備を不要とした。

アレルゲンカセットには、吸入系・その他19項目、食物系22項目の合計41項目のアレルゲン、及び内部標準2項目が1枚の基板上にスポットさ

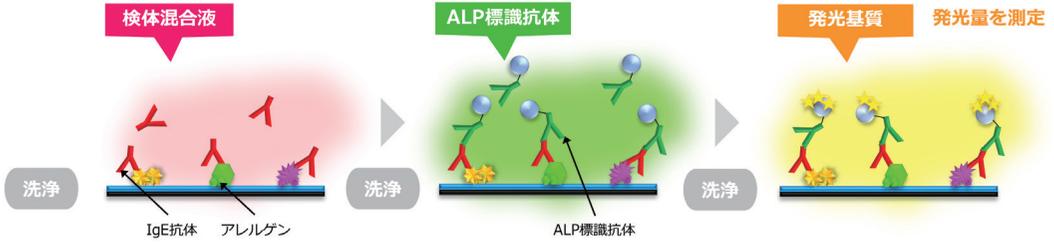


Fig. 3 ドロップスクリーン 特異的IgE測定キットの反応原理.



Fig. 4 アレルギーカセット.

れている (Table 1)。花粉、ダニなどの吸入系アレルギーからランパク、ミルクなどの食物系アレルギーまで、陽性率の高いアレルギーが含まれており、推定の難しい感作抗原の検索としてスクリーニング検査に用いることができる。

従来、複数の項目を測定するには、イムノクロマト法やマイクロプレートを用いるのが一般的であったが、本試薬では各アレルギーの基板への固定化に光固定化法を用いることで、1枚の基板の上に41項目のアレルギーをスポットでき、微量のアレルギーでの測定を可能とした。

光固定化法とは、理化学研究所の開拓研究本部伊藤ナノ医工学研究室 伊藤嘉浩主任研究員 (創発物性科学研究センター創発生体工学材料研究チーム・チームリーダー) によって開発された、生体由来の物質など有機化合物であれば何でも基板に固定化できる方法である^{5,7)} (Fig. 5)。この光固定化法を用いた診断薬の研究を理化学研究所と共同で進め、その成果として本製品を発売した。

Table 1 ドロップスクリーン特異的IgE測定キット ST-1 アレルギー項目一覧.

吸入系・その他 19項目	アレルギー 41項目	食物系 22項目
室内塵 ヤケヒョウヒダニ コナヒョウヒダニ ハウスダスト1	動物 ネコ皮膚 イヌ皮膚	卵 ランパク** オボムコイド
昆虫 コキブリ ガ	樹木花粉 スギ ハンノキ ヒノキ シラカンバ	小麦 小麦**
イネ科花粉 カモガヤ オオアワガエリ	雑草花粉 ブタクサ ヨモギ	牛乳 ミルク**
真菌 アルテルナリア アスペルギルス カンジダ	その他 ラテックス	豆・穀・種実類 ゴマ* 米 ソバ** 大豆* ビーナッツ**
		野菜・果物 トマト バナナ* キウイ* リンゴ* モモ*
		肉類 鶏肉* 牛肉* 豚肉*
		魚類 マグロ サケ* サバ*
		甲殻類 エビ** カニ**

** 特定原材料 * 特定原材料に準ずるもの

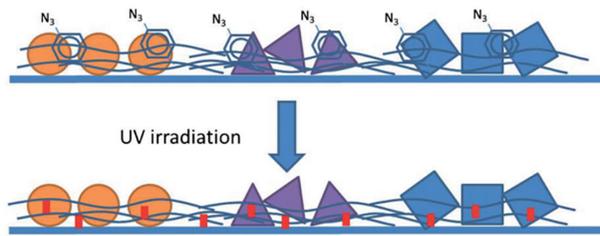


Fig. 5 光固定化法のイメージ (文献6)より引用).

様々な固定化法の中からアレルゲンの固定化に光固定化法を用いたのは次の2つの利点があるためである。

まず、1つ目の利点は、アレルゲンをランダムに固定化できる点である。アレルゲンには複数のエピトープが存在していることが知られているが、従来の特定の官能基で固定化する方法では全てのエピトープが、IgEの結合可能な表面に配向されていない可能性が考えられていた。しかし、光固定化法では、官能基の種類を問わず、ラジカル反応により共有結合で生体分子を強固に固定化することができる。光固定化法を用いることで複数のエピトープを持つアレルゲンを様々な向きで基板上に固定化することができるため、より多くのエピトープを特異的IgEが結合可能な表面に配向することができる。さらに、光固定化法は、従来の基板表面だけに単層で固定化するのではなく、表面に3次元の構造体を形成できるため、固定化量を増加させることもできる。

2つ目の利点は、生体分子が固定化されていない基板領域では、検体物質が結合しない（非特異的な相互作用がない）ため、ブロッキング処理を必要としないという点である。一般的にブロッキング剤としてBSAやスキムミルクなどが良く利用されているが、タンパク質を含むブロッキング剤は、それ自体がアレルゲンとなるため、利用できなかった。最近是非タンパク系のブロッキング剤も多くなっているが、いずれにしても基板にアレルゲンを固定化した後にブロッキングすることでオーバーブロッキングのリスクがある。しかし、光固定化法ではアレルゲンスポット後のブロッキングを必要としないため、より効率的にアレルゲンと血中のIgEを反応させることができる。

試薬カートリッジには、「洗浄液」、「検体希釈液」、「標識抗体」、「化学発光基質」が充填されており、さらに試料分注に必要なピペットチップも3本セットされている (Fig. 6)。オールインワンの試薬カートリッジのため、ユーザーは検体を添加、攪拌後、ドロップスクリーンA-1にセットするだけで測定が可能である。また、試薬カートリッジのバーコードには、ロット、使用期限の他、検量線、内部標準情報が入っており、測定毎にマスターカーブ情報を取得し、内部標準の結果より検量線を補正する。そのため、ユーザーがキャリブレーションを実施する必要はなく、定量的な結果を得ることができる。

2. ドロップスクリーン A-1

ドロップスクリーン A-1は、ドロップスクリーン 特異的IgE測定キットの専用測定装置である。本装置は、A3用紙サイズのコンパクト設計であり、全ての操作が前面のカラー液晶タッチパネルで直観的に操作することができる。測定は、検体を準備後、受診者・検体情報を入力し、アレルゲンカセット、試薬カートリッジを装置にセットし、測定開始ボタンを押すだけの



Fig. 6 試薬カートリッジ.

シンプル操作であり、測定開始後30分で結果が出力される。測定結果は、測定終了後、自動でプリンターから専用報告書に印刷される。

反応に必要な試薬は試薬カートリッジに充填されているため、ドロップスクリーンA-1は試薬カートリッジにセットされているピペットチップを装着し、カートリッジから吸引、カセット基板へ吐出する。また、カセットを傾けることで内部の吸水スポンジに排液が吸収されるため、給排水設備は不要で、設置場所も選ばない。検出はカメラ撮影による発光画像解析を行っている。1秒間、5秒間、20秒間、60秒間撮影し、4枚の画像から装置に内蔵されているソフトウェアにより発光量を求める。

Ⅳ. 性能

ドロップスクリーン 特異的IgE測定キット ST-1の性能を確認するために、血清検体を用いてドロップスクリーンA-1で、既承認医薬品 (FEIA法) と相関性試験を実施した。

相関性試験の結果 (2293例)、陽性一致率93.6%、陰性一致率98.3%、判定一致率94.1%と良好な結果を示した (Fig. 7)

Ⅴ. 院内測定

これまでは、アレルゲン特異的IgEの検査を院内で実施しようとする、測定時間、装置の設置スペースなどの問題に加え、測定には専門的な知識も必要であったことから、外部へアレルギー検査を委託することが多かった。

しかし、「ドロップスクリーン 特異的IgE測定キット ST-1」、「ドロップスクリーンA-1」の

システムは、「微量採血 (検体20 μ L)」、「測定時間30分」、「コンパクト」、「簡単操作」という特長により、院内への導入がより身近になった (Fig. 8)。

また、全血を用いる場合は指先から20 μ Lの採血で測定が可能のため、小児や注射器での採血に抵抗感のある受診者にも検査が受け入れやすくなったと考えている。さらに、院内へ導入することで受診当日に測定結果がわかるため、診断、治療方針の決定が当日にできるというメリットもある (Fig. 9)。

(クラス)

6			5	48	70	40	
5		1	17	47	11	2	
4		3	84	73	14	3	
3		2	89	180	58	9	
2	5	13	180	115	11	2	
1	13	13	23	5			
0	1081	30	36	8			
	0	1	2	3	4	5	6

既承認医薬品 (FEIA法)

Fig. 7 既承認医薬品との相関性試験結果。



Fig. 8 ドロップスクリーンシステムの特長。

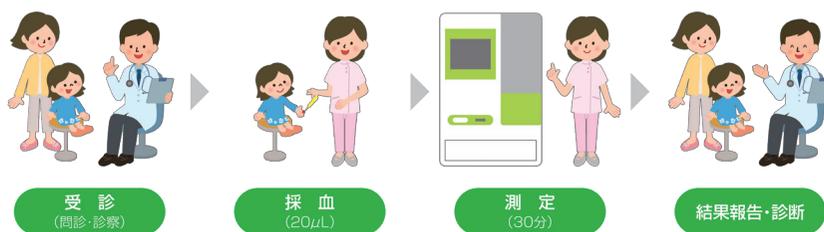


Fig. 9 ドロップスクリーンを用いた診療の流れ。

VI. おわりに

今回紹介した「ドロップスクリーン 特異的 IgE測定キット ST-1」、「ドロップスクリーン A-1」のシステムは、需要の高まっているアレルギースクリーニング検査市場において、院内測定による定量的な結果の即日報告、そして受診当日の診断、治療方針の決定という新たなアレルギー検査の選択肢を提供できると信じている。

本製品が、アレルギースクリーニング検査において、臨床の先生方の診断の一助になることを願っている。

文献

- 1) 厚生科学審議会疾病対策部会リウマチ・アレルギー対策委員会: リウマチ・アレルギー対策委員会

報告書. 平成23年8月

- 2) アレルギー疾患対策基本法（平成26年6月27日法律第98号）
- 3) 海老澤元宏、伊藤浩明、藤澤隆夫監修、日本小児アレルギー学会食物アレルギー委員会作成: 食物アレルギー診療ガイドライン 2016. 85-86, 協和企画, 東京, 2016.
- 4) 山本美由紀、脇田満、石井清、堀井隆、三宅一徳、大坂 顯通: アレルギー 特異IgE測定装置Dia-Pack3000の基礎的検討. 医学検査, 64: 66-71, 2015.
- 5) Ito Y: Photoimmobilization for Microarrays. Biotechnol Prog. 22: 924-932, 2006.
- 6) Ito Y, Moritsugu N, Matsue T, Mitsukoshi K, Ayame H, Okochi N, Hattori H, Tashiro H, Sato S, Ebisawa M: An automated multiplex specific IgE assay system using a photoimmobilized microarray. Journal of Biotechnology, 161: 414-421, 2012.
- 7) 伊藤嘉浩: 医療現場での多項目検査 マイクロアレイ・システム. PHARM STAGE, 18: 59-63, 2019.