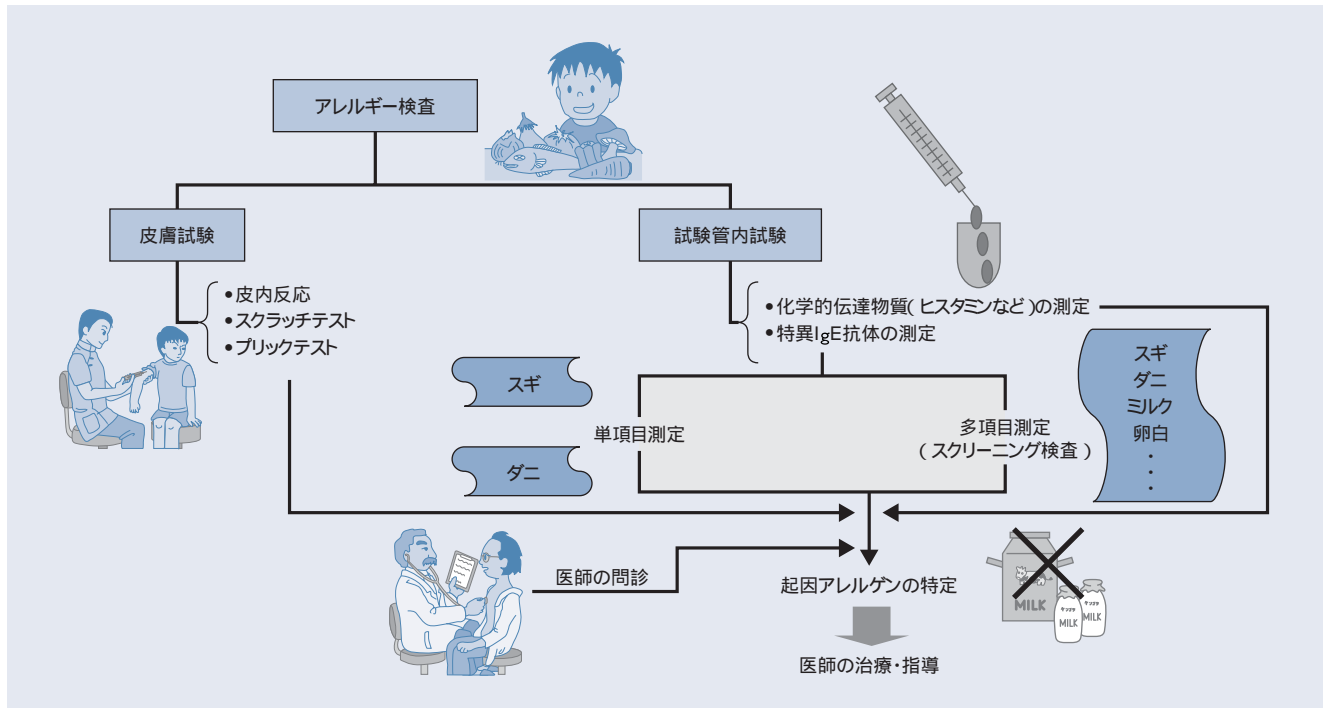


スクリーニング検査のためのアレルギー診断薬の開発と展開

Development and Prospects of Allergy Diagnostic Reagents for Screening Tests

澤崎 健 Takeshi Sawazaki 渡辺 博夫 Hiroo Watanabe



注：略語説明 IgE(Immunoglobulin E)

アレルギー検査の概要

アレルギー検査は、皮内反応やスクラッチテストといった皮膚試験と、化学的伝達物質や特異IgE抗体などを測定する試験管内試験に大別される。特異IgE抗体の多項目検査は、アレルギーのスクリーニング検査として広く用いられている。

皮膚試験と試験管内試験に大別されるアレルギー検査では、皮膚試験は患者への負担が大きいいため、試験管内試験が現在のアレルギー検査の主流となっている。中でも、測定が簡便なうえ、結果が客観的な数値として表れることから、血中の特異IgE抗体の測定が最も多く用いられている。アレルギー治療の第一歩は起因アレルギーの特定であるため、特異IgE抗体のスクリーニング検査が注目されている。

日立化成工業株式会社は、200 μ Lの血清量で26項目のアレルゲンに対する特異IgE抗体を測定できる体外診断用医薬品「マストイムノシステムズ」の開発に加え、血清の使用量を変えずに、アレルゲンの数を33項目に増やした「マストイムノシステムズ」を開発中である。

今後、倫理的、社会的環境が整備されれば、近い将来にはアレルギー発症関連遺伝子が診断の主流になっていくものと考えられる。

1 はじめに

近年、アレルギー疾患を持つ人は増加の一途をたどり、老若男女を問わず日本人の半数以上が何らかの形でアレル

ギーとかかりを持っている。しかし、アレルギー疾患は根本的な治療法が確立されておらず、アレルゲン(アレルギーを引き起こす原因物質)に接触しないようにすることや、抗ヒスタミン剤や抗アレルギー剤などを服用したりするなどの対処療法しかなく、長期間苦痛を強いられることが多い。

アレルギー疾患を発症した場合は、適切な検査を行い、どのようなアレルゲンが原因となっているか調べることが重要である。そして、その起因アレルゲンをなるべく排除する環境や生活習慣を作ることが、治療の第一歩となる。

アレルギー検査には、皮膚試験、ヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質の測定、血中の特異IgE(Immunoglobulin E)抗体の測定などがある。これらの中で患者への肉体的負担も少なく、測定が簡便なうえ、結果が客観的な数値として表れるなどの理由から、血中の特異IgE抗体の測定が最も多く用いられている。

日立化成工業株式会社は、アレルギー検査試薬の研究開発を進めており、特異IgE抗体を測定する体外診断用医薬品(商品名：マストイムノシステムズ)を市販している。

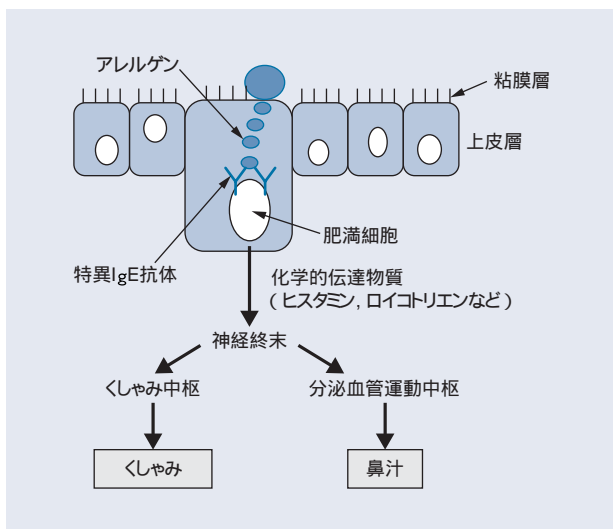
ここでは、マストイムノシステムズを中心に、現在のアレルギー検査の特徴とその将来像について述べる。

2 アレルギー検査

2.1 アレルギー疾患の発症メカニズム

花粉症を例に、アレルギー疾患の発症メカニズムについて以下に述べる。

通常、花粉が鼻粘膜などに付着すると花粉の外膜のタンパク質が秒単位で拡散し始め、2～3分の間に内膜のタンパク質が花粉の発芽口から拡散する¹⁾。スギ花粉などは発芽口がないため、水分を吸収した花粉の膨張、破裂によってアレルゲンが溶出される。溶出したアレルゲンは鼻粘膜の表層などに存在する肥満細胞や好塩基性細胞上の特異IgE抗体と反応し、それらの細胞を活性化させる。活性化された細胞はヒスタミンやロイコトリエンなどの化学的伝達物質を遊離し、こ



注：略語説明 IgE(Immunoglobulin E)

図1 アレルギー疾患の発症メカニズム

肥満細胞や好塩基性細胞上に存在する特異IgE抗体とアレルゲンが結合し、細胞が活性化される。

れが知覚神経終末や結膜知覚神経終末を刺激して、くしゃみや鼻汁の増加、涙流などを引き起こす仕組みとなっている(図1参照)。

2.2 アレルギー検査試薬

アレルギー検査の中で、皮内反応やスクラッチテストなどの皮膚試験では、ショックを起こす危険性がある。そのため、患者への負担をできるかぎり減らす目的で、試験管内検査法が多く用いられている。試験管内測定法には、一般的に、化学的伝達物質の測定と特異IgE抗体の測定の2種類の測定法がある。しかし、化学的伝達物質を測定するためには、前もってアレルゲンで細胞刺激を実施し、ヒスタミンなどを遊離させておく必要があることから、手間と時間がかかる。

一方、特異IgE抗体の測定は、患者から血液を採取し、血清を分離するだけで非常に簡単に特異IgE抗体を測定できるため、今日では最も広く用いられている。

特異IgE抗体の測定試薬には、CAP RAST に代表される「単項目測定試薬」と、マストイムノシステムズに代表される「多項目測定試薬」がある。多項目測定試薬は少量の検体で複数の項目を一度に測定できる特徴を持っており、スクリーニング検査に用いられていることが多い。アレルギー診断では、医師の問診による起因アレルゲンの特定が重要であり、スクリーニング検査による特異IgE抗体の測定はその補助手段としてきわめて有効である。

3 アレルギーのスクリーニング検査

3.1 マストイムノシステムズ

マストイムノシステムズは、アレルギーのスクリーニング検査を目的とした多項目測定試薬であり、血清200μLで一度に26項目のアレルゲンに対する特異IgE抗体を測定できる(図2参照)。

26項目の内訳は、スギ、コナヒョウヒダニなどの吸入系と大豆、エビなどの食物系に大別される。この26項目でほとんどのアレルゲンを網羅しており、スクリーニング検査としては十分な性能を持っている。

マストイムノシステムズは、酵素免疫測定法を原理とする。専用の反応容器(ベツボディ)内にアレルゲンを固定化したセルロース糸が装着されており、一次反応として患者血清を反応させ、二次反応としてペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgE抗体を反応させる。血清中にアレルゲンに対する特異IgE抗体が存在すれば、アレルゲン-特異IgE抗体-ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgE抗体の複合体が形成される。これにリミノーと過酸化水素を加えて化学発光反応させ、その発光量が

) CAP RASTは、ファルマシア株式会社の商標である。

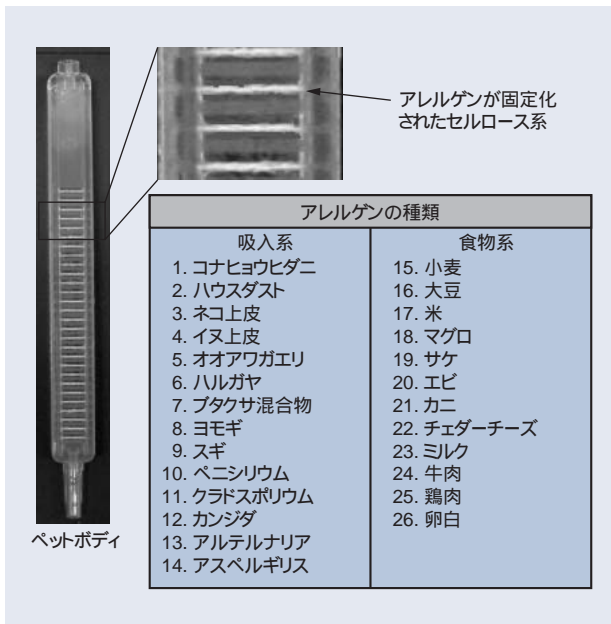


図2 マスティムシステムの概要

セルロース系にアレルゲンが固定化されており、200 μ Lの血清量で26項目のアレルゲンに対する特異IgE抗体を一度に測定できる。

ら特異IgE抗体の濃度を算出する。測定結果は専門家以外の一般の患者が容易に理解できるように、アレルギーの強弱を視覚的にとらえられるくふうをしている(図3参照)。

アレルギー検査試薬の中でも、単項目測定試薬は検査項目数に比例して血清の使用量が増加するため、採血量に制限がある小児などでは数多くのアレルゲンを測定することが困難である。この点で、マスティムシステムズは、小児に対しても容易に使用できるという大きな利点がある。しかし、生活環境の変化に伴い、新たなアレルゲンが原因と考えられる疾患が増加してきたため、アレルギーの臨床現場からさらに項目を増やして、スクリーニング試薬としてのパフォーマンスを向上させてほしいという要望が出されるようになってきた。

そのため、日立化成工業株式会社は、使用血清量を200 μ Lのままで、アレルゲンの数を33項目に増やした「マスティムシステムズ」を開発することにした。

3.2 マスティムシステムズ

マスティムシステムズでは新たに7項目(カモガヤ、ヒノキ、ハンノキ、シラカバ、ラテックス、ソバ、ピーナッツ)を追加し、合計33項目の測定を可能としている(図4参照)。

マスティムシステムズを開発するにあたり、従来のセルロース系からポリスチレンに固相を一新し、アレルゲンの固定化量を増加させ、感度やダイナミックレンジなどの基本性能の向上を図った。感度の向上により、測定時間は、従来の1日から約6時間へと大幅に短縮された。血清使用量を減らすため、ペットボディ内の容積をできるかぎり小さく設計した。しかし、洗浄効率が悪いなどの問題が生じ、内容積を200 μ L以下にできなかった。これを解決するために、血清を希釈し、

No.	アレルゲンの種類	測定値	クラス	= 1	2	3
ダニ						
01	コナヒョウヒダニ	OVER	3	*	*	*
ちり						
02	ハウスダスト	31.70	3	*	*	*
吸入						
02	ネコシヨウヒ	41.20	3	*	*	*
04	イヌシヨウヒ	41.10	3	*	*	*
05	オオアワガエリ	OVER	3	*	*	*
06	ハルガヤ	65.80	3	*	*	*
07	ブタクサコンゴウブツ	8.74	1	*	*	*
08	ヨモギ	46.10	3	*	*	*
09	スギ	2.89	1/0	*	*	*
10	ペニシリウム	2.60	1/0	*	*	*
11	クラドスポリウム	1.81	1/0	*	*	*
12	カンジダ	2.58	1/0	*	*	*
13	アルテルナリア	2.66	1/0	*	*	*
14	アスペルギリス	5.00	1	*	*	*
食物						
15	コムギ	8.03	1	*	*	*
16	ダイズ	10.70	1	*	*	*
17	コム	34.10	3	*	*	*
18	マグロ	0.00	0	*	*	*
19	サケ	0.72	0	*	*	*
20	エビ	2.14	1/0	*	*	*
21	カニ	2.52	1/0	*	*	*
22	チェダーチーズ	0.30	0	*	*	*
23	ミルク	0.89	0	*	*	*
24	キュウニク	0.82	0	*	*	*
25	ケイニク	1.78	1/0	*	*	*
26	ランバク	5.09	1	*	*	*

図3 マスティムシステムの測定結果例

アレルゲン別に特異抗体の濃度を五つのクラス(0, 1/0, 1, 2および3)に分類してある。

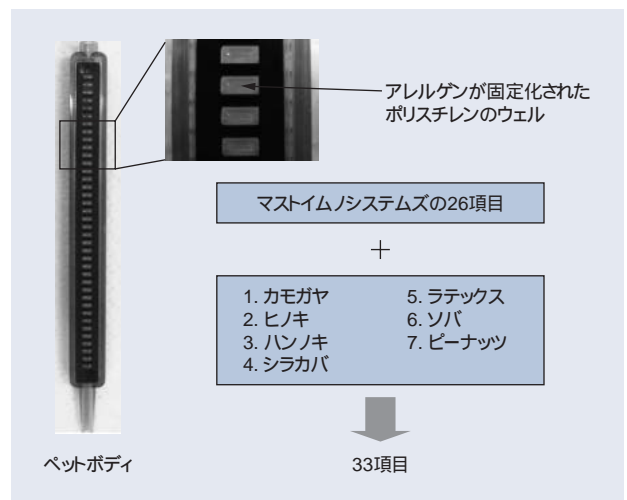


図4 マスティムシステムの概要

ポリスチレンにアレルゲンが固定化されており、200 μ Lの血清量で33項目のアレルゲンに対する特異IgE抗体を一度に測定できる。

増感剤を併用してペットボディ内に注入することで、従来の200 μ Lの血清量のままで33項目を測定できるようにした。さらに、マスティムシステムズでは用手法であったのに対して、マスティムシステムズでは専用の自動機の開発も進めており、顧客の利便性を大幅に向上させた試薬システムの構築を目指している。

4 アレルギー検査の将来像

4.1 マイクロチップを用いたアレルギー検査試薬

今後のアレルギー検査試薬開発の方向としては、マイクロ

チップなどを用いた集積化による検体の少量化、項目数の増加、測定時間の短縮などが考えられる。また、イムノクロマトのような安価で簡便な試薬へのニーズも、今後さらに高まるものと予想される。

4.2 アレルギー発症関連遺伝子

一方、従来のアレルギー検査とはまったく次元が異なる検査方法も注目され始めている。アトピー性皮膚炎や気管支ぜんそくなどのアレルギー疾患は、糖尿病や高血圧症などと同じ多因子遺伝疾患である。この多因子遺伝疾患の発症には、古くから遺伝因子と環境因子が深くかかわっていることが知られており、その総合作用によって発症すると考えられている。典型的な遺伝病とは違い、発症しやすい遺伝子を持っていても、環境によっては発症しないこともある。アレルギー疾患の遺伝要因としては、IgE抗体やサイトカイン（インターロイキンなどのタンパク質性細胞間情報伝達物質）の産生方法や作用、炎症反応調節に関与する多くの遺伝子が関係していると考えられている。

近年、ヒト遺伝子の解明に伴い、SNP（Single Nucleotide Polymorphism：一塩基多型）の解析が大量に実施できるようになり、全ゲノム領域にわたって体系的な関連解析が可能となった。SNPは、遺伝子の塩基配列が1か所だけ異なる状態で、1,000塩基当たり1か所の頻度で存在し、個人差の原因と言われている。このSNP解析法を用いて疾患群と非疾患群における特定のSNPが出現する頻度の差を統計的に解析することによって、アレルギー疾患発症関連遺伝子の解析が進められている。

この解析には、過去の知見に基づき、病態に関連すると

予測される候補遺伝子を選択して進める「候補遺伝子アプローチ」と、候補遺伝子を想定しないで、連鎖不平衡の強さから疾患感受性遺伝子が存在する部位を決める「連鎖不平衡マッピング」の二通りの方法がある。前者のアプローチでは、インターロイキン4や13など多くの有力なアレルギー発症関連遺伝子が報告されている。一方、後者では、独立行政法人理化学研究所遺伝子多型研究センターなどで大規模な解析が進められており、SNPを疾患発症リスク診断や治療薬の使い分け診断に利用することが可能である²⁾。

アレルギー発症関連遺伝子診断は、現状ではまだ倫理的、社会的環境が未整備であるため臨床応用されていないものの、近い将来には診断の主流になっていくものと考えられる。

5 おわりに

ここでは、アレルギー疾患の発症メカニズムと検査方法について述べた。

アレルギーのスクリーニング検査の重要性は年々高まっており、マストイムノシステムズへの期待は大きい。日立化成工業株式会社は、一日も早くこの開発を終了し、この期待にこたえていくほか、今後はアレルギー発症関連遺伝子診断についても注目し、研究を進めていく考えである。

参考文献

- 1) R. B. Knox：花粉とアレルギー，朝倉書店（1990）
- 2) 中村祐輔，外：SNP遺伝子多型の戦略 ゲノムの多様性と21世紀のオーダーメイド医療，中山書店（2000）

執筆者紹介



澤崎 健

1989年日立化成工業株式会社入社，機能性材料事業本部 医薬品事業部 開発グループ 所属
現在，アレルギー診断薬の開発に従事
日本アレルギー学会会員，日本臨床化学学会会員
E-mail：t-sawazaki @ hitachi-chem. co. jp



渡辺 博夫

1985年日立化成工業株式会社入社，研究開発本部 ライフサイエンスセンター 所属
現在，マイクロチップ関連事業の開発に従事
日本感染症学会会員
E-mail：hiro-watanabe @ hitachi-chem. co. jp