

呼吸器疾患における血清 IgE に関する研究

第1篇 血清 IgE の正常値に関する検討

京都大学結核胸部疾患研究所内科第2部門

今 井 弘 行

(昭和53年1月10日受付)

I. 緒 言

IgE の歴史は、1921年 Prausnitz¹⁾ が Küstner という魚アレルギー患者の血清を自分自身の皮内に注射し、一定時間の後に抗原を同一局所に注射することによって、発赤と膨疹を主とする反応が惹起されることを発見したことに始まる (Prausnitz-Küstner 反応, P-K 反応)。この易熱性の受身伝達可能な活性因子は Coca²⁾ らによって、atopic reagin と名付けられた。

atopic (奇妙な) の由来は 1) 疾病素因が強く, 2) 病変は組織の破壊を伴わない滲出性反応であり, 3) 好酸球増多を認めるという点が, それまでに知られていたアルサス反応や, アナフィラキシーショックとかなり異と考えられたためである。ところが reagin は *in vivo* で P-K 反応として捉えられはするが, *in vitro* では検出できなかった。

1964年より石坂³⁾ は reagin を含む血清を精細に分画し, 1966年に至り reagin はそれまで考えられていたように IgA ではなく, 新種の免疫グロブリンであることを証明し, IgE と命名した。

幸運にも翌年 Johansson⁴⁾ が世界で初めての IgE 骨髄腫を発見し, その患者から分離した IgE について基本的な化学構造や物理的性質の追求が行なわれた。その結果 IgE は電気泳動上 γ_1 の電気易動度を持ち, 沈降係数 8S, 分子量 190,000 の糖蛋白であることが初めて明

らかとなった。IgE は他の免疫グロブリンと同様に, 2本のL鎖と2本のH鎖とから成る基本構造を持っているが同そのH鎖中に ϵ 鎖と呼ばれる特有な抗原構造があることが特徴である^{5) 6)}。

IgE の発見およびそれに続く IgE 骨髄腫の発見により, 奇妙な病気であったアトピー性疾患は, 抗原抗体反応に引続き生じる chemical mediator の遊離によって起されることが判明し, 気管支喘息の病因, 病態の解析が一段と進歩した。しかし気管支喘息をはじめ種々の免疫学的疾患における IgE については現在尚不明な点が少なくない。

IgE の測定法には single radial immunodiffusion (SRD) と radioimmunoassay とがある。SRD には direct method⁷⁾ と indirect method⁸⁾ があるが, IgE が微量のため radioisotope や peroxidase, fluorescein を用いて感度を良くする工夫がなされている。radioimmunoassay には immunosorbent technique⁹⁾, double antibody technique¹⁰⁾ があり感度が SRD より秀れている。これらはいずれも総 IgE の測定法であるが, 疾患に直接関与する特異的 IgE の測定には radioallergo sorbent test (RAST)¹¹⁾, triple antibody technique¹²⁾ があり, それまでアレルギー性疾患の診断に用いられて来た皮内反応や P-K 反応, 誘発試験といった *in vivo* でしか計測出来なかった reagin 抗体を *in vitro* で定量的に測定することが可能と

なった。

血清 IgE 値はアトピー性疾患を始め、寄生虫感染症、肝硬変、ネフローゼなどの諸疾患で高値を示すことが知られてはいるが^{13) 14)}、今迄その基準となる正常値に対する考察が充分であったとは言い難い。特に健康者であっても、アトピー性素因の有無によって血清 IgE 値にどの程度の差異があるのか、また検体側の諸条件、年齢、性別による差、日内変動、食事の影響、保存の影響、凍結融解の影響についても充分明らかにされているとは言えない。その理由としては、他の血清化学検査法と比較して、方法が一般に普及してからの日数が浅く、知見の集積が充分でないためと考えられる。

この研究では血清 IgE 値を RIST (radio immunosorbent test) で測定するに当たり、最初に測定上の基礎的条件について検討を加え、その後健康者血清 IgE の正常値を求めた。次いで血清 IgE 値が上昇することが確認されている気管支喘息者の血清 IgE 値について測定を行ない、得られた値について正常値と比較検討した。

II. 研究方法

1. 研究対象

i. 健康者

〔H群〕採血時自覚的にも他覚的にも健康であった群をH群とした。

〔N群〕H群の中で問診によりアトピー性素因を全く有しない群をN群とした。この時に用

いた問診表は表1の通りで、被検者に記入させた後直接本人に面会して詳細に問診した。その結果N群の構成は男75人、女45人計120人となった。その年齢分布は15～89才で、15～19才に男6人、女6人計12人、20～29才に男20人、女12人計32人、30～39才に男18人女8人計26人、40～49才に男15人、女7人計22人、50～59才に

表1 アトピー性素因識別のための問診表

氏名	生年月日	明治 大正 昭和	年	月	日生
(1) 病歴(下記の症状あれば○印をつけて下さい)					
(イ) 喘 息 有 無					
(ロ) 鼻 炎 突然 クシャミ 水鼻が多く {出る 風に当たった時や {クシャミ} が {出る 気温の変化で {水 鼻} が {出ない					
(ハ) ジンマシンが {出る 出ない					
(ニ) 食餌アレルギー 特定のものを食べた時下痢, {ある 嘔吐, ジンマシンが {ない					
(ホ) 薬物アレルギー 特定のくすり (例えばピリン等) {出る でショックやジンマシンが {出ない					
(ヘ) 咽頭の癢痒感や皮膚がよく {する かぶれたりするか {しない					
(ト) その他の病気があれば書いて下さい ()					
(2) 家族の方に病気があれば○印をつけて下さい					
祖 父	—	父	—	兄弟姉妹	
祖 母	—	母	—	本 人	— 子供

表2 N群における年齢、性別による血清 IgE 値

	年 令	15～19	20～29	30～39	40～49	50～59	60～89	計
男	例 数	6	20	18	15	9	7	75
	平均値 (IU/ml)	165	112	123	108	114	111	117
	分布域 (IU/ml)	40～686	41～309	36～365	50～232	60～219	40～297	44～312
女	例 数	6	12	8	7	7	5	45
	平均値 (IU/ml)	83	121	106	109	107	114	108
	分布域 (IU/ml)	32～217	42～349	37～303	43～275	31～374	52～251	40～289
計	例 数	12	32	26	22	16	12	120
	平均値 (IU/ml)	117	115	117	108	111	113	114
	分布域 (IU/ml)	34～407	42～318	39～354	49～240	4 ～280	48～268	43～303

男 9 人同女 7 人計 16 人, 69~89 才に男 7 人, 女 5 人計 12 人であった (表 2)。

〔A 群〕 H 群の中でアトピー性素因を有する群を A 群とした。

問診によって N 群, A 群にはっきり断定しかねる例が存在したが, これらは不明群として H 群には残したが, A 群, N 群からは除外した。

その結果は,

H 群 ……215 例

N 群 ……120 例

A 群 …… 51 例

不明*…… 44 例

(* N 群にも A 群にも入れなかったもの) となった。

アトピー性疾患の血清 IgE 値について研究するためには, アトピー性素因が全くないグループ (N 群) を対照とすることが必要である。一方非アトピー性疾患の血清 IgE 値の研究では N 群のみを対照とすることは, その集団中にアトピー性素因を有する患者が混じっていることが予想され, 誤まった結論に達する恐れがあるため, H 群と比較することが合理的と考えられる。

ii. 気管支喘息患者: 本院の喘息外来を受診した気管支喘息患者 (AS) 171 例。その中で 1)

病歴および家族歴, 2) 皮内反応, P-K 反応, 好酸球増多, 3) 臨床的に感染症としての所見が認められなかつ, 4) 治療に対する反応の 4 点からアトピー性喘息 (AAS) と診断された症例は 89 例, また明らかに非アトピー性と思われる喘息例 (NAS: “感染性喘息” または “心因性喘息”) 32 例であった。その他の 50 例については混合型あるいは分類不能であったため AAS, NAS の両群からは除外した。

2. 測定方法

i. 検体の保存: 検体は血清分離後直ちに -20°C に凍結保存し, 測定時に室温で融解して使用した。

ii. 血清 IgE 濃度測定法: Phadebas® IgE Test Kit¹⁵⁾ を使用し, RIST (radio immunosorbent test) により測定した。

1) 緩衝液: pH 7.4 の燐酸緩衝液で, 標準 IgE の調製, 検体の希釈および抗 IgE 抗体セファデックス懸濁液の調製を行なった。

2) 標準 IgE による標準曲線の作成: まず 400 IU/ml の基準液を作成し, 緩衝液で希釈して 400 IU/ml のほかに, 200, 100, 40, 20, 10, 4, 2, 1 IU/ml の系列を作って標準曲線を作成した。

3) 抗 IgE 抗体結合セファデックス懸濁液:

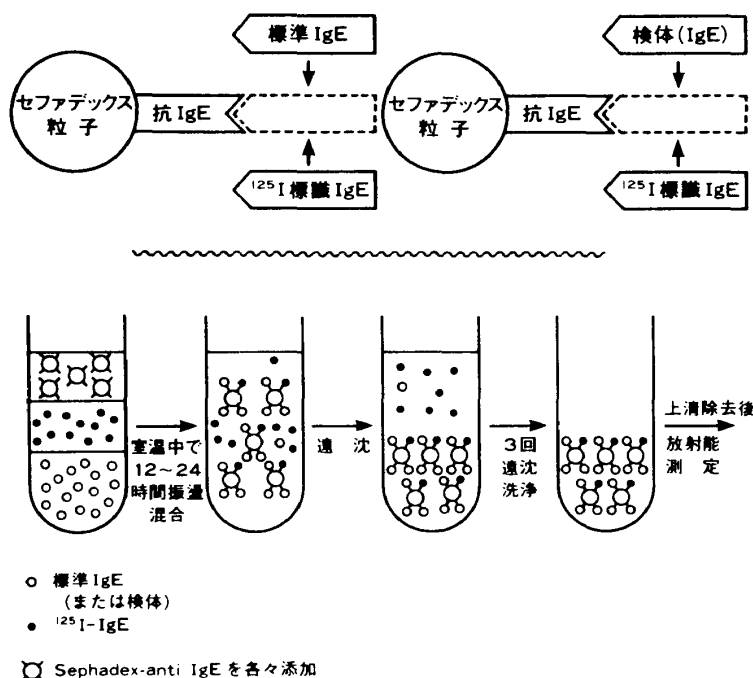


図 1 RIST (Radio Immuno Sorbent Test) の原理

ヒト IgE の Fc フラグメントでウサギを感作して作成した抗 IgE 抗体をセファデックスに化学結合させたものを, Tween 20 溶液 5 ml と緩衝液 55 ml に溶解し均一の浮游液とした。

4) ^{125}I -IgE: ^{125}I -IgE(2.5 μCi) を再蒸留水 5.5 ml に溶解した。

5) 被検血清の希釈: 血清を緩衝液で10倍に希釈して測定したが, 測定値が 4~100 IU/ml (原血清で 40~1,000 IU/ml) の範囲外にあったものについては再測定を行なった。IgE 濃度が高い時は希釈倍数をさらに10倍にして (原血清に対し100倍希釈) 測定した。

6) RIST の測定操作: IgE 濃度が微量であるので出来るだけ正確を期するため, オートマイクロピペットを使用した。

測定原理は 図 1 に示すように標準 IgE または検体 0.1 ml と ^{125}I -IgE 0.1 ml を入れたチューブに抗 IgE 抗体結合セファデックス懸濁液 1 ml を加え, 密栓後ローターに懸架して40時間インキュベートした。

インキュベーション終了後, 栓をしたまま遠沈器に架け 2,000 $\times$ g で2分間遠心分離してキャップの周囲に付着したセファデックス粒子を落としてから栓を取り, 更にもう一度遠沈した。吸引器を用いて上清液を吸引除去したが, この時セファデックス粒子を吸い込まないように吸引器にストッパーを取り付けて管底から約 5 mm 上清液を残すようにした。この後生理的食塩水を 2 ml 加え遠沈し上清液を吸引除去するという洗浄操作を計 3 回反覆した。

洗浄操作の終了したチューブをウエル型 γ カウンターにより放射能を測定した。 ^{125}I -IgE 液 0.1 ml を総放射能測定用に, 空のチューブをバック・グラウンド測定用に用いた。

この測定方法では検体中の IgE 濃度が低い程測定される放射能のカウント数 (cpm) は高くなる。

IgE 濃度が 0 の緩衝液だけの放射能測定値に対する放射能結合率を求めて, 標準曲線から IgE 値を読み取り, 希釈倍数を補正して原血清の IgE 濃度を算出した。

3. 統計処理

i. 測定精度の検討には算術平均 (AM) とその標準偏差 (SD) を用い, 変動係数 (coefficient of variance: CV) を求めた。CV は次の式で求められる。

$$\text{CV} = (\text{SD} / \text{AM}) \times 100 (\%)$$

ii. 各群間の差の検定には t 検定を用いた。

III. 研究成績

1. RIST の精度についての検討

i. 同一 assay 内の変動 (intraassay variance): 表 3 に示す如く IgE 値の高い血清から低い血清まで順に A, B, C, D, E, F と名付けた 6 種類の血清を用いて同一 assay 内で 5 重測定をした場合に得られた IgE 値は A および F を除いた B, C, D, E 4 種の血清については変動係数 (CV) が 10.1% 以下であった。一方 A の如く IgE 濃度の高い血清および F の如く IgE 濃度の低い血清では CV がそれぞれ 23.7, 17.2% と大きかった。従って以後の測定には, 1 度測定した結果 IgE 値が高かった場合希釈倍数を上げて再測定する必要があることが判明した。まず必ず同一検体について 2 重測定 (duplicate) を行ない, その測定値に 10% 以上の開きがある

表 3 RIST における同一 assay 内の血清 IgE 値の変動
(Intraassay variance)

血清	IgE 値 (IU/ml)	A.M. $\pm$ S.D.*	C.V. (%)†
A	950, 574, 695 1066, 883	834 $\pm$ 198	23.7
B	604, 711, 577 624, 693	642 $\pm$ 58	9.0
C	320, 326, 380 326, 326	339 $\pm$ 34	10.0
D	300, 297, 274 286, 203	292 $\pm$ 12	4.1
E	244, 276, 311 247, 262	268 $\pm$ 27	10.1
F	90.8, 119, 123 85.2, 123	108 $\pm$ 19	17.2

* AM $\pm$ SD: 算術平均 $\pm$ 標準偏差

† C.V.: coefficient of variance (変動係数) = $\frac{\text{SD}}{\text{AM}} \times 100$

表 4 RIST における異った Lot 番号の Kit を用いて行なった血清 IgE 値の変動 (Interassay variance)

血清	Lot 番号	IgE 値 (IU/ml)	A.M.±SD*	C.V.(%)†
A	2187	214	207±16	7.5
	2189	227		
	2668	210		
	5491	195		
	7498	188		
B	2187	356	384±21	5.4
	2188	380		
	2668	400		
	3607	374		
	5491	408		
C	2187	820	842±49	5.8
	2670	780		
	3603	910		
	5491	867		
	7498	834		

* AM±SD: 算術平均±標準偏差

† C.V.: coefficient of variance(変動係数) = $\frac{SD}{AM} \times 100$

ときは再測定した。

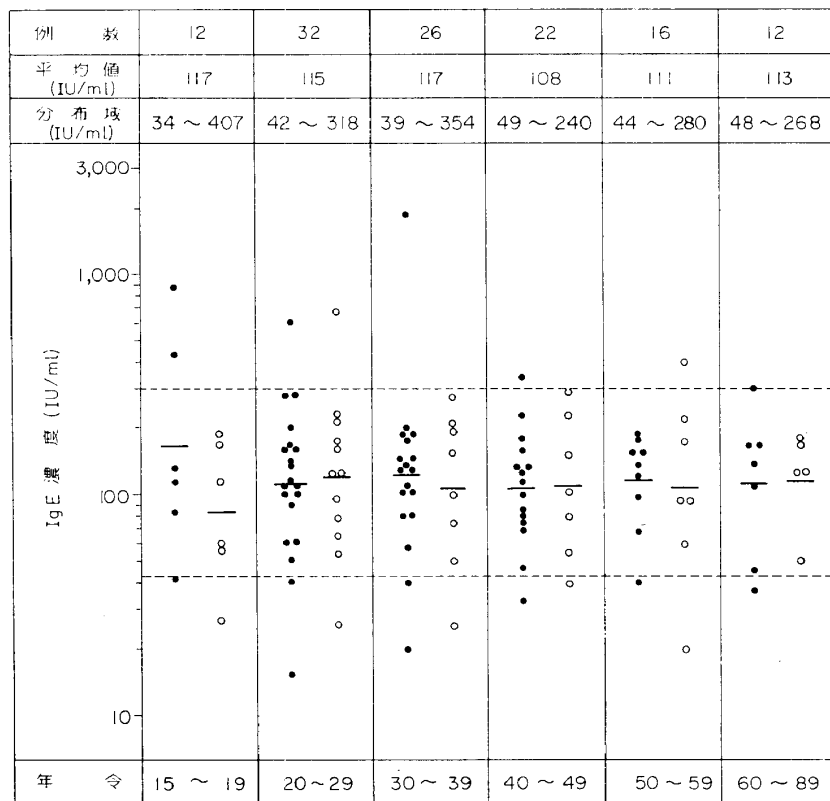
ii. 異なる assay 間の変動 (interassay variance): 表 4 の如く A, B, C 3 例の血清をそれぞれ 5 本の試験管に分注し, 各サンプルについて異なったロット番号のキットを用いて IgE を測定した。

その成績は, CV は 5.4~7.5% で良好な再現性が得られた。すなわち異なった assay 間における測定値の変動は少なかった。

2. 被検者の年齢, 性別による血清 IgE 値の変動

Johansson ら⁹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ は先に年齢と血清 IgE 値の関係について研究し, 15才以下の若年者では成人と比較して血清 IgE 値が低いことを報告した。その後, 年齢と血清 IgE 値との関係については若干の報告があり, 年齢によって IgE 値が変化するという報告¹⁸⁾ と年齢による著明な差異はないとする報告がある¹⁹⁾。

著者は N 群について年齢別に IgE 測定値を



●: 男, ○: 女

図 2 N 群における年齢性別による血清 IgE 値の分布
N 群 120 例では平均値 114 IU/ml 分布域 43~303 IU/ml
年齢, 性別による IgE 値の変動は認められない。

整理し、比較検討した。その成績は図2の如く、研究対象となった15才以上の正常者については15～19才、20～29才、30～39才、40～49才、50～59才、60～69才の平均値はそれぞれ 117 IU/ml, 115 IU/ml, 117 IU/ml, 108 IU/ml, 111 IU/ml, 113 IU/ml であった。すなわち著者の成績では、15才以上の正常者については各年齢層の間に IgE 平均値の著明な差異を認めなかった。

また被検者の性別による IgE 値の差異についても比較検討した結果、男 117 IU/ml, 女 107 IU/ml と両者の間に著明な差異を認めなかった。

3. 検体の採血時間、保存および凍結融解による影響

表5 血清 IgE 値の測定に与える食事の影響

血 清	IgE 値 (IU/ml)		C.V. (%)*
	食 前	食 後	
A	368	372	0.8
B	270	278	2.1
C	87.8	94.1	4.9

* C.V.: coefficient of variance

$$(\text{変動係数}) = \frac{\text{標準偏差}}{\text{算術平均}} \times 100$$

表6 血清 IgE 値 (IU/ml) の日内変動

	A	B	C	D	E
6 時	823	41	573	139	595
9 //	862	45	497	118	613
12 //	863	46	491	127	675
15 //	803	60	521	108	634
18 //	751	36	547	149	748
21 //	818	43	500	88	676
24 //	797	43	598	123	668
AM	816.7	44.9	532.4	121.7	658.4
SD	39.0	7.4	41.5	20.1	50.6
CV	4.8%	16.6%	7.8%	16.5%	7.7%

AM: 算術平均

SD: 標準偏差

$$\text{C.V.: coefficient of variance}(\text{変動係数}) = \frac{\text{SD}}{\text{AM}} \times 100$$

i. 食事による影響: 3例の健康者について昼食前と、食後30分の2回採血し IgE 値を比較した。その結果は表5の如く、全例について食前、食後共、ほぼ同様 (CV<4.9%) の値が得られた。すなわち、食事による変動は認められなかった。

ii. 日内変動: 日内変動を調べるために、5例の対象に朝6時より24時まで3時間毎に7回ずつ採血を行って、血清 IgE 値を測定した。その結果は表6の如く、CV は4.8～16.6%の値であり、1日のうち特別なピークは認められなかった。測定値の変動はほとんどが、intra-assay variance の範囲内に存在した。

iii. 保存による影響: 長期保存による安定性をみるため、5例の血清について検討した。すなわち IgE を1度測定した後 -20°C で凍結保存した血清について1年後に再測定した。結果は表7の如く、5例全例について IgE 値の良好な再現性が認められた (CV<8.3%)。1年間の凍結保存では、IgE 値はほとんど変化

表7 凍結保存 (-20°C 1年間) による血清 IgE 値の変動

血 清	IgE 値 (IU/ml)		C.V. (%)*
	採 血 時	1 年 後	
A	64	72	8.3
B	290	292	0.5
C	583	550	4.1
D	944	1,012	4.9
E	1,721	1,578	6.1

* C.V.: coefficient of variance

$$(\text{変動係数}) = \frac{\text{標準偏差}}{\text{算術平均}} \times 100$$

表8 血清 IgE 値の測定に与える凍結融解の影響

血 清	IgE 値 (IU/ml)		C.V. (%)†
	凍結融解前	凍結融解後	
A	227	241	4.2
B	408	380	5.0
C	918	886	2.5

凍結融解は5回行ない、その前後で IgE 値を測定した。

† C.V.: coefficient of variance

$$(\text{変動係数}) = \frac{\text{標準偏差}}{\text{算術平均}} \times 100$$

表 9 RIST における血清の希釈による影響

希釈倍数	A	B	C	希釈倍数	D	E	F
×10	971 (100)	295 (100)	—	×10	2,428 (100)	3,201 (100)	—
×20	924 (95.2)	288 (97.6)	3,300 (100)	×100	1,340 (55.2)	2,916 (91.1)	12,912 (100)
×40	804 (82.8)	236 (80.0)	2,461 (74.6)	×200	1,380 (56.8)	2,847 (88.9)	10,920 (84.6)
×80	752 (77.5)	352 (119.3)*	2,310 (70.0)	×1,000	1,500 (61.8)*	3,043 (95.1)*	8,757 (67.8)*
×160	784 (80.4)*	—	2,345 (71.1)				

実数：それぞれの希釈で測定した値に希釈倍数を補正して得た IgE 値

()：最低希釈倍数で得た IgE 値に対する割合を%で示した

*：希釈して得た測定値が 40 IU/ml 以下となった場合

しないことが明らかとなった。

iv. 凍結融解による影響：3 例の血清について凍結融解を 5 回反覆した後 IgE 値の変動を調べた。結果は表 8 の如く、凍結融解の前後の血清について両者の値に差を認めなかった。

v. 被検血清の希釈による影響：表 9 の如く、被検血清の希釈倍数が大きくなると、得られる IgE 測定値が少しずつ低下していく傾向が見られた。このことは RIST の測定原理より推測して血清中に IgE と anti-IgE とが結合することを阻害する物質が存在し、希釈倍数が増すに

つれて阻害物質の影響が減少していくようにも考えられる。

一方希釈後の IgE 値が 4 IU/ml 以下になった場合は、その直前の倍数より逆に高値を示す傾向が見られた。このことは 4 IU/ml 以下では“hook effect”²⁰⁾²¹⁾ が出現するためと考えられる。

4. RIST による血清 IgE の正常値

H 群の血清 IgE 値の算術平均 (AM) は 312 IU/ml で標準偏差は ± 387 IU/ml であった。これをヒストグラムに描くと図 3 に示す如く最

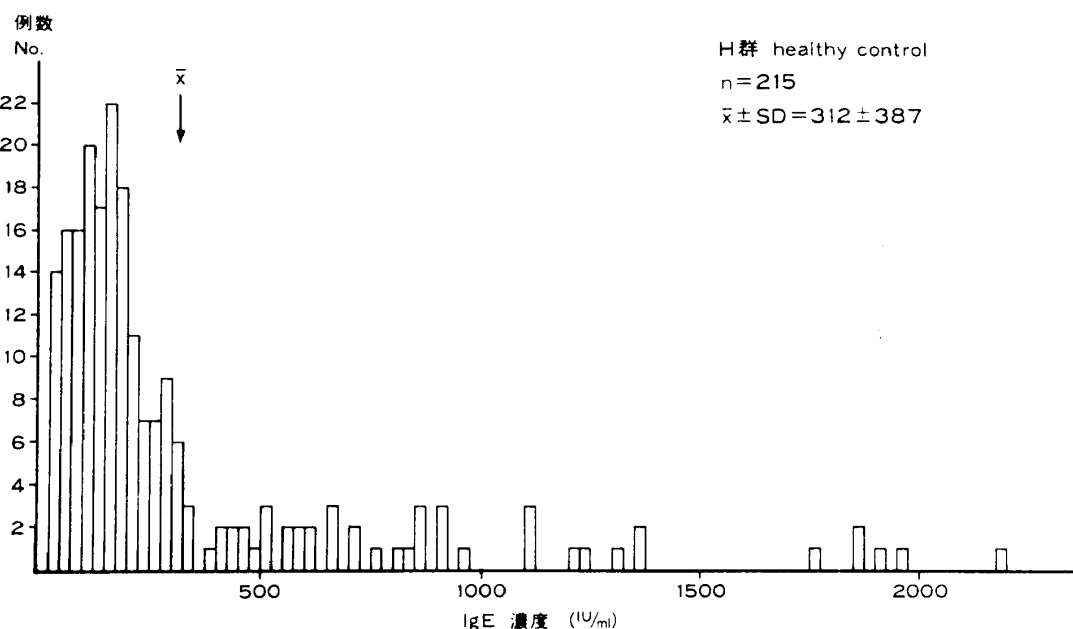


図 3 健康人群 (H 群) における IgE 値の分布

測定値を対数変換しない場合は平均値と最頻値は異っており、平均値より下に大多数が分布している。

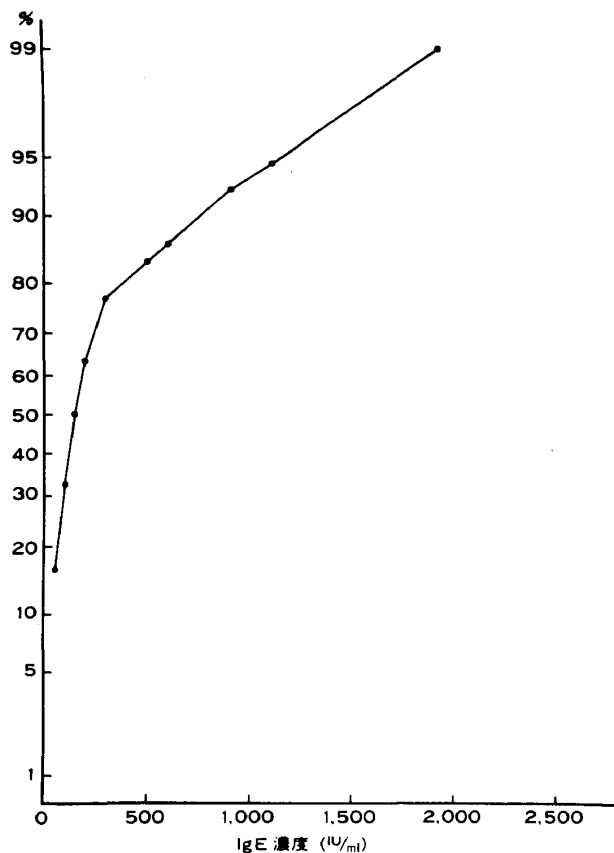


図4 正規確率紙による健康人群（H群）の血清IgE 値の分布の正規性の検討
累積度数(%)をプロットすると直線にはならず、上に凸の曲線を示す。

頻値は 150~175 IU/ml の間に存在し、75% が平均値より下に分布していた。このヒストグラムの累積度数分布を正規確率紙にプロットすると図4の如く上に凸になった。このことは、この分布様式は対数正規分布であることを示唆しているために、対数変換を行なったのち改めて平均値を求めた。このようにして求めた値をもとにもどすと幾何平均 (GM) を求めたことになる。H群の GM 値は 187 IU/ml でヒストグラムと対比してみると図5の如くほぼ最頻値と一致し、ほぼ左右対称となった。従って以後平均値は全て GM (幾何平均) を用いることにした。これを正規確率紙で検討すると図6に示す如く、Log IgE 値が 2.5 (316 IU/ml) の所まではほぼ直線関係が得られたが、Log IgE 値が 2.6 以上では直線関係を示さなかった。この事実はH群が複数の属性の集団より構成されていることを示し、両者の境界を 2.5 ± 0.1 とする

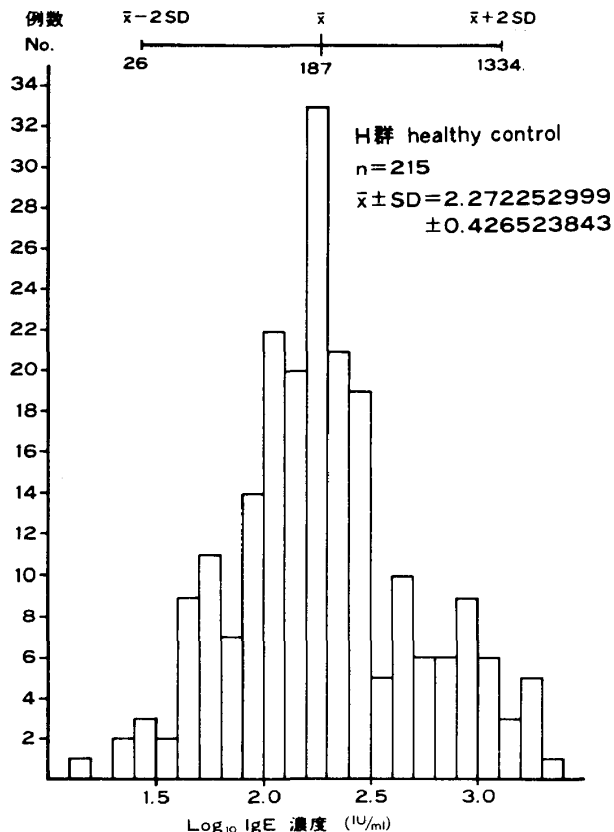


図5 健康人群（H群）における血清 IgE 値の分布
測定した IgE 値を対数変換すると平均値（幾何平均）と最頻値は一致する。

と 251~398 IU/ml がその境界域となる。

N群の GM は 114 IU/ml, A群の GM は 485 IU/ml を示し、N群とA群との差を検定するとA群が有意に高値を示した ($P < 0.001$)。N群, A群をそれぞれヒストグラムおよび正規確率紙にプロットすると図7,8に示す如く、それぞれ正規分布を示すことが明らかとなった。

健康人においてもアトピー性集因を有し血清IgE 値がN群に比して明らかに高値を示すA群がH群より抽出されたことから、疾患群との比較の際に目的によってN群, H群を使い分ける必要を感じさせる。例えばアトピー性素因を有する対象を除外したN群は、気管支喘息のようにアトピー性素因が病態に密接に関与する疾患について研究するときは対照として適当と思われる。一方アトピーと特別な関係のない疾患においては、アトピー性素因をもつものもH群におけると同様に、疾患群に含まれていると考え

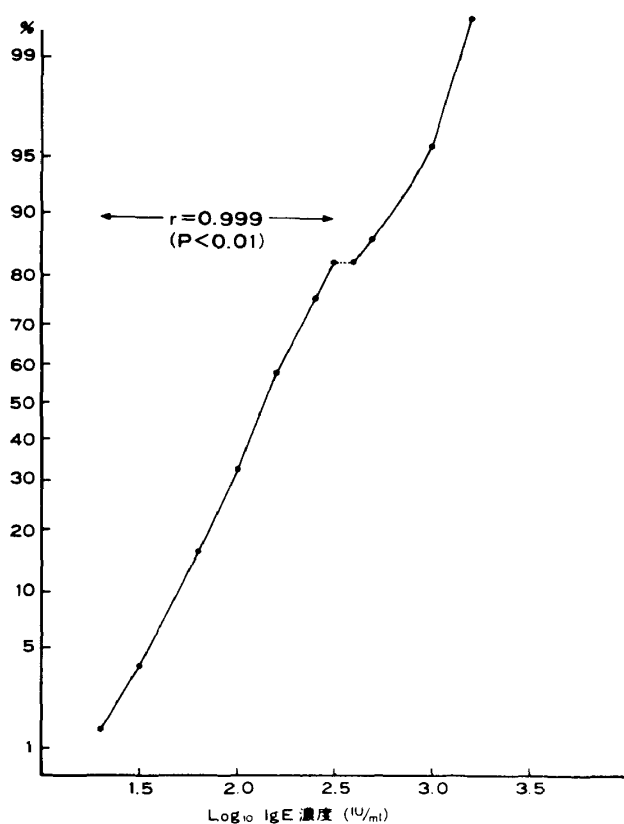


図6 正規確率紙による健康人群(H群)の血清IgE値の分布の正規性の検討
対数変換する事によりかなり直線性が良くなったが、Log IgE 濃度2.5以下と2.6以上は異なった属性の分布を示す。1.3~2.5の間の相関は $r=0.999$ と非常に高い値を示す。

られるので、H群と比較する方が合理的であると思われる。

分布域の限界を標準偏差(SD)の2倍とすると、理論上95.44%がこれに含まれることになる。しかしこれでは異常値の検出力が不十分のため、多くの動物実験成績の検定には5%の検定的水準(α)をとることが通例となっている。この通例に従って含まれる範囲を90%とするとこの範囲は ± 1.645 SDとなる。さらに臨床的には異常値の検出力を上げるためにしばしば α を10%とすることがあるので²²⁾²³⁾、著者はこれに従って検定を行なった。この場合範囲は ± 1.282 SDとなった。H, N, A群のそれぞれの分布域を表10に示す。H, N, A各群についてそれぞれの差を検定すると、N群とH群の差は明らかであり($p<0.005$ で $N<H$)、アトピー性疾患において血清IgE値の高低を論じる

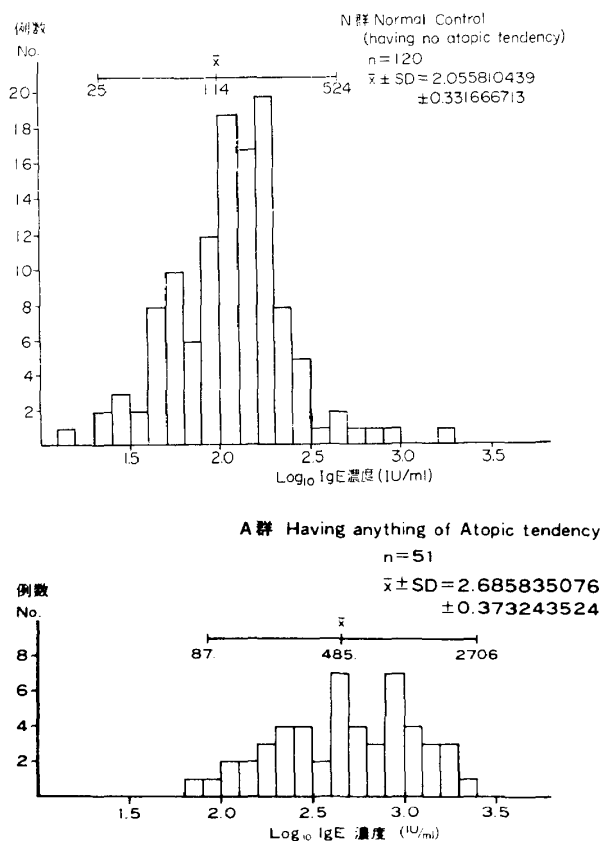


図7 アトピー性素因を持たない正常者群(N群)および何らかのアトピー性素因を持った健康人群(A群)における血清IgE値の分布—IgE値を対数変換したヒストグラム—

ときは対照としてN群の値を基準とすることにより、一層正確な比較ができることが明確となった。一方A群については $p<0.001$ で $H<A$ であった。

このように考えれば正常値としてはN群の $x+1.282$ SDの線(303 IU/ml)が臨床的な正常値上限として合理的であると考えられる。それに対応する下限は43 IU/mlとなる。

この基準からみればH群については、異常値を示すものが215例中51例(23.7%)もあることになる。この事実から患者血清のIgE異常を検出するに当たって、正常値としてH群の値を基準とすることは検出の精度を低下させる結果になることが明らかとなった。

5. 気管支喘息における血清IgE値

気管支喘息患者の血清IgE値を測定し、これを先に求めた正常値と比較した。気管支喘息

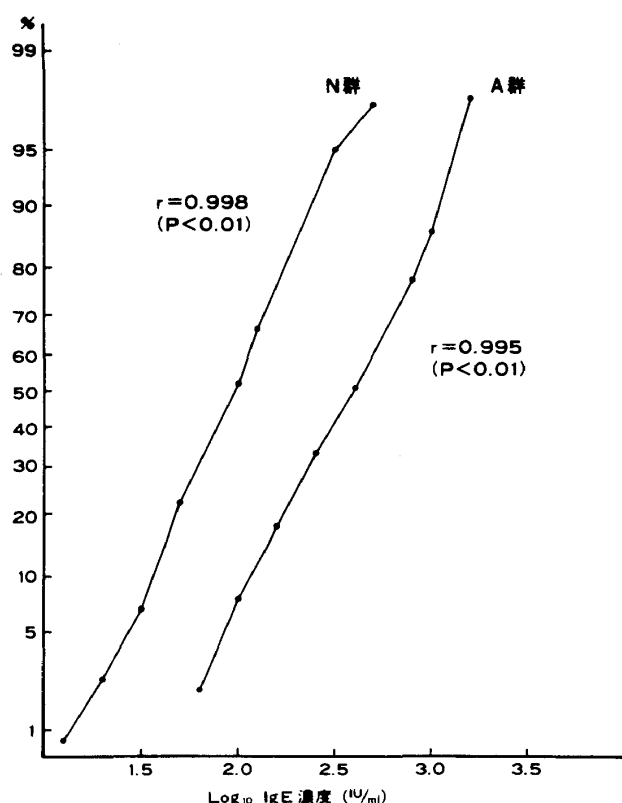


図8 正規確率紙によるN群とA群の血清IgE値の分布の正規性の検討
N群とA群とを分ける事によりH群で見られた不連続点は消失し、かつほぼ直線関係を示す。直線性の検討では、N群、A群の相関係数(r)はそれぞれ0.988, 0.995と高い相関関係を有する事を示している為、N群、A群は共に正規分布を示すと言える。

はアトピーの関与する疾患として知られているが、一方この疾患には類似の病状を呈するにもかかわらず特にアトピーの関与しない“感染性喘息”や“心因性喘息”もあることも判明している²⁴⁾。従って気管支喘息患者の血清IgE値を測定し、著者の討定した正常値と比較することによって、両者が鑑別できるか否かについて検討した。図9に示す如く、171例の気管支喘息患者全体の平均血清IgE値は538 IU/mlでN群はもとよりH群に対しても1%以下の危険率で有意に高かったがA群とは有意差を示さなかった。しかし89例のアトピー性喘息のみではその平均は791 IU/ml (209~2,991 IU/ml)と高値であり、これはA群と比較しても有意に高かった($p<0.01$)すなわちストピー性喘息では明らかに血清IgEが高値であることは従来の報告⁹⁾¹⁰⁾¹³⁾¹⁹⁾と同様であるが、著者の正常値と比較すると89例中72例(80.9%)が正常高値を示し、正常範囲に留ったものはわずか17例(19.1%)に過ぎなかった。一方非アトピー性喘息群32例の血清IgEの平均値および分布域は175 IU/ml (70~443 IU/ml)でH群よりは低値を示したが有意差は認められなかった。しかしN群よりは高値を示した($p<0.01$)。この中で正常値上限を越えたものは6例(18.8%)

表10 健康人各群の血清IgEの平均値および分布範囲

群	例数	$\bar{x}$ (IU/ml)	分 布 範 囲			
			$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm 1.282SD$	$\bar{x} \pm 1.645SD$	$\bar{x} \pm 2SD$
H	215	187	70~ 500	53~ 659	37~ 942	26~1,334
N	120	114	53~ 244	43~ 303	32~ 399	25~ 524
A	51	485	205~1,146	161~1,460	118~1,994	87~2,706
信頼区間に含まれる割合 (%)			68.26	80	90	95.44
信頼区間から外れる割合 (%)			31.74	20	10	4.56
信 頼 限 界 (%)			15.87	10	5	2.28

H群：採血時健康であった群

N群：H群の中でアトピー性素因の認められなかった群

A群：H群の中でアトピー性素因を認めた群

$\bar{x}$ ：幾何平均値

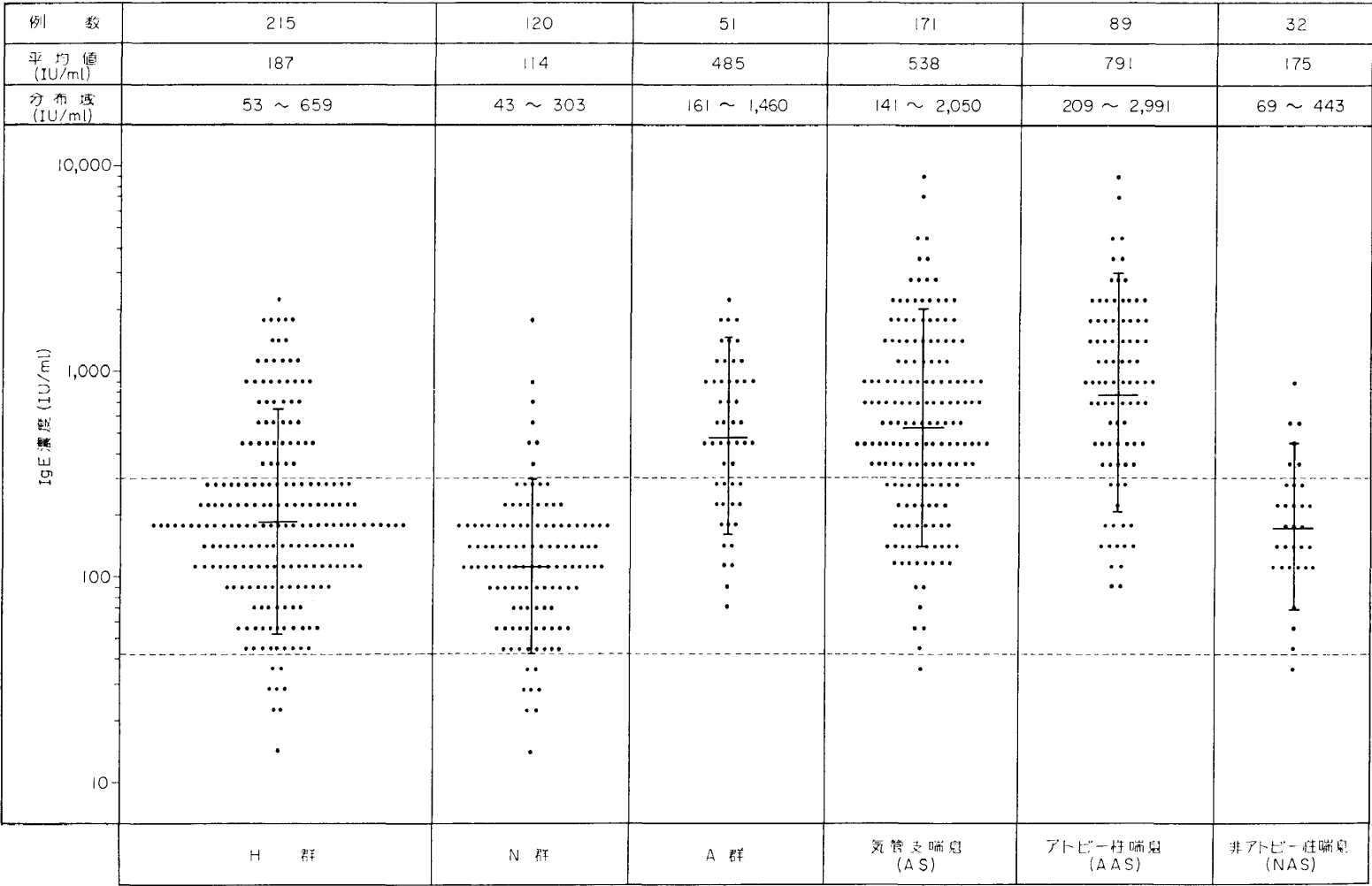
SD：標準偏差

分布範囲は限界をどこに決めるかによって大きく変化する。

分布域として採用した限界は10%で、信頼区間80%， $\bar{x} \pm 1.282SD$ である。

$N < H$ $p < 0.005$

$H > A$ $p < 0.001$



N < NAS < H < A < AS < AAS
(p<0.005) (NS) (p<0.001) (NS) (p<0.005)

図9 健康者群および気管支喘息群における血清 IgE の平均値（幾何平均）と分布
対照はN群，分布域： $\bar{x} \pm 1.282SD$

にすぎなかったため、アトピー性喘息と非アトピー性喘息を鑑別診断するに当って著者の設定した正常の上限 (303 IU/ml) が両者の血清 IgE 値の境界線としては妥当な線であると思われる。

IV. 考 按

IgE の測定に RIST が開発されて以来、放射性同位元素使用可能の施設においては比較的容易に多数の検体について検査できるようになった。著者は Pharmacia 社製 IgE 測定用キットを使用して健康人血清 215 例についての測定を行ない、その正常値について研究し、測定値に影響を与えられる種々の条件について検討を加えた。また気管支喘息患者 171 例についても血清 IgE 値の測定を行ない、健康者群から得た正常値と比較検討した。

著者が IgE 測定のため実施した RIST は、セファデックス粒子に結合させた抗 IgE 抗体に血清中の IgE および一定量の 125I-IgE を競合反応させ、沈澱させたものについて放射能を計測するという原理に基づいて IgE を測定する。血清中の IgE が一定濃度以下に低くなると反応時間 (incubation time) のとり方によって標準 IgE を添加しない検体より高い値の放射能が測定されることがある。この現象は “hook effect” と呼ばれるもので、井村²¹⁾ は competition の条件が失なわれ、見かけ上血清中の IgE と測定時添加した ¹²⁵I 標識 IgE との間に co-operation が生じたためと説明している。希釈による影響の項で述べた如く IgE が 40 IU/ml (実際は10倍希釈するので測定時の濃度は 4 IU/ml となる) 以下の血清について測定値が真の IgE 値より高値であると推定される著者の成績から、このような場合 paradoxical binding phenomenon が関与していることが推定され、通常の測定方法を用いる限り 40 IU/ml が良好な再現性を得られる下限ではないかと思われる。一方標準曲線作成時 100 IU/ml を越える部分は比放射圧が 20% 以下となるので、γ カウンターの計数誤差が 100 IU/

ml 以下では1~3, であるのに対し、7~10% と悪化した。標準曲線は 4 IU/ml 以下および 100 IU/ml 以上では直線性が失なわれることも考え併せると、信頼性の高い測定値が得られる範囲は 4 IU/ml~100 IU/ml (血清 IgE 濃度 40 IU/ml~1,000 IU/ml) と思われる。従って 1,000 IU/ml 以上の高濃度の IgE 値が得られた時は適当に希釈して再測定することが必要である。4 IU/ml (血清 IgE 濃度 40 IU/ml) 以下の測定を安定させる工夫は蒲生²⁵⁾ によってなされてはいるが日常の臨床検査に直ちに応用は出来ない。木野らは最近開発された PRIST では原血清を用いても通常の希釈を行なった測定値と比してほとんど変化がないと報告している²⁶⁾。

Interassay variance においては測定で直接得られる cpm で比較することはできないので cpm から換算して得られた IgE 値について比較したが $CV \leq 7.5\%$ と良好な再現性が認められた。この成績は著者の行なった測定方法が各ロット毎に標準曲線を作成することを前提とすれば安定した成績の得られる優れた方法であることを示唆している。

検体の安定性については凍結融解操作を反覆した場合の測定成績についても、1年間の長期凍結保存の測定成績から見ても良好な再現性が認められた。また血清 IgE 値に関しては15才~89才までの各年齢層の間に著明な差異を認めず、男女の性別による差異も認められなかった。日内変動や食事の影響はほとんど認められなかったことより、検体の採集についてこのような事項に関しては特別な配慮を必要としないものと考えられた。

血清 IgE の正常値については既に若干の報告^{9)10)14)16)18)19)27)~36)}があるのでこれらを表11に一括した。表中の I 群は IgE 値を ng を用いて示したもので直ちに著者の成績と比較できない。その理由としては ng から IU への換算の基本となる数字が $1 IU = 1 \sim 2.42$ と報告者によってかなり大きな差異があるためである³⁶⁾³⁷⁾。II 群は血清 IgE の平均値を算術平均によ

表11 既に報告された血清 IgE の正常値

		報 告 者	年 代	平 均 値	正 常 域	例 数
I	1	Johansson ⁹⁾	1967	330 ng/ml	105~1,394	61
	2	Johansson ¹⁶⁾	1968	248 ng/ml	61.4~1,000	125
	3	Gleich ら ¹⁰⁾	1971	179 ng/ml	6~780	96
	4	Polmar ら ²⁹⁾	1972	105 ng/ml	5~2,045	73
	5	Waldmann ²⁸⁾	1972	90 ng/ml	5~2,045	73
	6	Waldmann ²⁹⁾	1974	96 ng/ml	15~592	74
II	1	中 島 ら ¹⁹⁾	1972	130 IU/ml	—	14
	2	水 野 ら ¹⁹⁾	1972	89.2 IU/ml	—	10
	3	山 口 ³⁰⁾	1974	174 IU/ml	±68	19
	4	高 山 ら ³¹⁾	1974	196.8 IU/ml	±160.3	20
	5	有 森 ら ³²⁾	1974	226 IU/ml	±194	30
	6	木 村 ら ³³⁾	1975	224 IU/ml	±133	50(H)
III	1	Jacobs ら ³⁴⁾	1972	215 IU/ml	85~740△	100(H)
	2	八 倉 ら ³⁵⁾	1972	295 IU/ml	8~750△	51(N)
	3	堀 内 ら ³⁶⁾	1973	160 IU/ml	37~700	63(H)
	4	近 藤 ら ¹⁹⁾	1974	142.4 IU/ml	26.4~768.6†	139(H)
	5	鳥 居 ら ¹⁴⁾	1974	120 IU/ml	88~140† ††	101(N)
	6	水 野 ¹⁸⁾	1975	106 IU/ml	37~307*	172(N)
		著 者	1977	187 IU/ml	53~659** (26~1,334)	215(H)
				114 IU/ml	43~303** (25~524)	120(N)

例数後の(H), (N)は著者のH群, N群に対応することを示す

I : 表示単位が ng/ml を用いており比較出来なかった群

II : 平均と平常域の算出に算術平均を用いている群

III : 幾何平均を用い, 表示単位が IU/ml, かつ測定法に RIST を用いた群

△ : range で表現しているため, 直接の比較不能

† : 95% Confidence interval を使用

†† : 小児

* : $\bar{x} \pm SD$ である。 $\bar{x} \pm 2SD$ とすると (12.6~889) となる

** : $\bar{x} \pm 1.282SD$ () 内に $\bar{x} \pm 2SD$ を記した

って求めているため著者の成績と比較が困難である。Ⅲ群は幾何平均によって平均値を求めているので著者の成績と比較できるが, Jacobs ら¹⁴⁾, 堀内ら³⁶⁾, 近藤ら²⁹⁾はH群全体について平均値を求めたためその平均値はそれぞれ 215 IU/ml, 160 IU/ml, 142.4 IU/ml といずれも著者の得た正常値の平均 114 IU/ml と比べるとかなり高値である。アトピー性素因を持つ対象 (A群) が混入したためと思われる。一方八倉ら³⁵⁾, 鳥居ら¹⁴⁾, 水野¹⁸⁾は著者のN群と同様アトピー性素因のあるものを除外した健康者について正常値を求めた。八倉ら³⁵⁾の報告

では正常者の IgE 値の分布範囲 (8~750 IU/ml) は示されているが, 標準偏差に関する記載がないため著者の成績と正確な比較ができない。鳥居ら¹⁴⁾の報告は検査対象が小児に限られていたにもかかわらず正常者 IgE 平均値は 120 IU/ml で著者の得た成績に比して有意差を認めなかった。この事実は血清 IgE 値に関する年齢差は鳥居らの対象 (1~15才) と著者の対象 (15~89才) の間ではほとんど認められないことを示唆している。しかし水野¹⁸⁾は15~60才のアレルギー疾患のない健康人 172 例について血清 IgE 濃度を測定し, 平均値 106.0

IU/ml (37~307 IU/ml) を得たが、同時に加齢による IgE 値の減少を認めたと報告している。

加齢による血清 IgE 値について Johansson ら⁹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ は臍帯血で 7~44 U/ml, 生後加齢とともに徐々に増加し, 11才~15才で成人値に達するが, その後加齢とともに低下の傾向があると述べている。著者の場合これと比較するには測定例数が不十分であるが, 15才~89才のアトピー性素因を有しない対象について測定した限りでは表2 見られる如く, 血清 IgE 値の加齢による著明な変動は認められなかった。

著者は血清 IgE 正常値の範囲をどこに設けるのが最も合理的であり, かつ診断学上有用であるかについて検討した。その理由として従来の報告はほとんどすべてこの点についての検討が不十分で単に測定値の分布範囲を示すのみか, あるいは平均値±標準差を示すに留まった。本研究においてはN群の他にA群, H群についても血清 IgE 平均値を求め, それぞれ 485 IU/ml, 187 IU/ml を得た。これらの値とN群の IgE 平均値 114 IU/ml の3者について互に比較した結果, A>H>N の順でいずれも有意差が認められた。

H群はA, N 両群を含む健康者群であるが, その血清 IgE 値の累積度数を正規確率紙にプロットするとH群は複数の属性の集団によって構成されていることが明瞭に示された。すなわち図5, 6に見られる IgE 高値の集団と低値の集団は Log IgE 値の 2.5 ± 0.1 (251~398 IU/ml) を境として屈折している。従ってこの範囲内にN群とA群の境界があるものと推定される。一方N群の IgE 値は検定の水準(α)を10%にとると, その上限は 303 IU/ml となる。この値は図6の境界域内に存在する。この値を実際にアトピー性喘息患者(AAS群)に適用してみると, 同患者の80.9%がその303 IU/ml より高い IgE 値を有し, わずかに19.1, が正常範囲内に留っていたに過ぎなかった。すなわち理論的に求めた正常値上限を実際にAAS群について応用した結果, 好成績が得られた。正常値の上限を低くすればする程, 正常者につい

て“false positive”の率が増加し, またその上限を高くすればする程患者の検出率が低下する。従って著者は両者を勘案し, 血清 IgE 正常値の最も合理的な上限として 303 IU/ml を撰んだ。また正常者の血清 IgE 対数値が正規分布するという前提に立って上限値に対応する下限値として 43 IU/ml と定めた。

気管支喘息患者(AS)の中からアトピーの明瞭なAAS群と明らかに非アトピー性喘息(“感染性喘息”および“心因性喘息”)と思われるNAS群を撰出し, 各群について血清 IgE 平均値を求めたところ, それぞれ 771 IU/ml, 175 IU/ml と顕著な差異を認めた。これと同様の成績は従来から多数報告されている⁹⁾¹⁰⁾¹³⁾¹⁹⁾。著者の採用した正常範囲の上限 303 IU/ml を基準としてAAS群とNAS群について個々の症例の血清 IgE 値の分布を調べるとAAS群では81.2, が 303 IU/ml より高値であったが, 一方NAS群ではわずかに18.8%に過ぎなかった。従って著者の定めた IgE 値の正常範囲は実地臨床上アトピー性喘息と非アトピー性喘息とを鑑別するためのひとつの有力な根拠となりうるものと考えられる。

V. 要 約

1. 健康人215例および気管支喘息患者171例の血清 IgE について radio immuno sorbent test (RIST) を用いて測定し, 血清 IgE の正常値を決定するための検討を行なった。
2. 血清 IgE の測定において著者の使用した RIST は 1,000~40 IU/ml の範囲内で良好な再現性を認めた。また正常人については, 15才~89才では加齢, 性別による IgE 値の変動を認めず, 食事の影響や日内変動も認められなかった。また凍結融解操作, 1年間の凍結保存, ロット番号の異なるキットの使用による IgE 値の変化は認められず, 常に安定した成績が御られた。
3. 健康人215例の血清 IgE 値を算術平均すると 312 IU/ml を得たが, この値はヒストグラムの最頻値とは一致しなかった。測定した

IgE 値を対数変換して得られた値を用いた幾何平均では 187 IU/ml であり最頻値と一致した。この成績より本研究における血清 IgE 平均値はすべて幾何平均を用いた。健康人について得られた Log IgE 値を正規確率紙にプロットして作成した累積度数曲線より、健康人の中に血清 IgE 値に関する複数の属性集団が認められた。

4. 健康者群 (H) 中、正常者 (N) 120 例、アトピー性素因を有する者 (A) 51 例における血清 IgE の平均値はそれぞれ 187, 485 IU/ml であり、正規確率による検定では Log IgE 値がそれぞれ正規分布を示す事が判明した。N 群と A 群の比較では $p < 0.0001$ で A 群が高値であった。
5. 3. で得た累積度数曲線より N 群と A 群の境界域が 251 IU/ml ~ 398 IU/ml に存在するという事実と、N 群の分布の信頼限界を 10% とした時に得られる分布域の上限が 303 IU/ml (境界域内) であったことより、正常範囲の上限を 303 IU/ml とし、また同群の Log IgE 値が正規分布しているという理由でその下限を 43 IU/ml とした。
6. 171 例の気管支喘息患者における血清 IgE の平均値は 538 IU/ml であった。この群よりアトピー性喘息 (AAS) 89 例および非アトピー性喘息 (NAS) 32 例を撰んで血清 IgE の平均値を求めた結果それぞれ 791, 175 IU/ml であった。AAS と NAS を比較すると $p < 0.0001$ で AAS が有意に高値であった。

AAS では血清 IgE が 303 IU/ml 以上の高値であった症例が 80.9% あったが、一方、NAS では 81.2% が正常範囲に含まれ、著者の定めた正常範囲はアトピー性喘息患者の診断上有用であると思われた。

本論文の要旨については第 5 回臨床免疫学会で報告した。

謝 辞

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました大島駿作教授に篤く御礼申し上げます。また、研究面で、

始終、御指導を頂いた木野稔也博士に深く感謝いたします。実験遂行の上で御協力をいただいた今井保代氏、吉田修子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Prausnitz, C. and Küstner, H.: Studien über die Überempfindlichkeit, Zentralblatt Bakteriologie, Parasitenk., Abt. I. Orig., **86**: 160, 1921.
- 2) Coca, A. F. and Groove, E. F.: Studies in hypersensitiveness. XIII. A study of the atopic reagins, J. Immunol., **10**: 445, 1925.
- 3) Ishizaka, K., *et al.*: Physicochemical properties of reaginic antibody. IV. Presence of a Unique Immunoglobulin as a Carrier of Reaginic Activity, J. Immunol., **95**: 75, 1966.
- 4) Johansson, S. G. O. and Beninch, H.: Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin, Immunology, **13**: 381, 1967.
- 5) Bennich, H. and Johansson, S. G. O.: Novel Symposium III; p. 199 Almquist and Wiskell, Stockholm, 1967.
- 6) Kochwas, S.: Structural studies of immunoglobulin E, Ann. New York Acad. Sci., **190**: 49, 1971.
- 7) Mancini, G., *et al.*: Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion, Immunochemistry, **2**: 235, 1965.
- 8) 多田富雄, 高橋英則: IgE の測定法: Indirect single radial immunodiffusion method. 免疫実験操作法, 208, 1971.
- 9) Johansson, S. G. O.: Raised levels of a new immunoglobulin class (IgND) in asthma, Lancet, **ii**: 951, 1967.
- 10) Gleich, G. J., *et al.*: Measurement of IgE in normal and allergic serum by radio-immunoassay, J. Lab. Clin. Med., **77**: 690, 1971.
- 11) Wide, L., *et al.*: Diagnosis of allergy by an in-vitro test for allergen antibodies, Lancet, **ii**: 1105, 1967.
- 12) 伊藤幸治, 佐野靖之: 二重抗体法によって測定した IgE 抗体価と RAST score との比較, 臨床免疫, **7**: 1269, 1975.
- 13) 伊藤幸治: 各種疾患における IgE レベル, 最新医学, **27**: 1472, 1972.
- 14) 鳥居新平他: 小児のネフローゼ症候群における

- IgE, アレルギー, **23**: 765, 1974.
- 15) Phadebas® IgE Test (Radioimmunoassay kit), Directions for use, Pharmacia AB, Uppsala, 1972.
- 16) Johansson, S. G. O.: Serum IgND levels in healthy children and adults, *Int. Arch. Allergy*, **34**: 1, 1968.
- 17) Berg, T. and Johansson, S. G. O.: Immunoglobulin levels during childhood with special regard to IgE, *Acta Pediat. Scand.*, **58**: 513, 1969.
- 18) 水野勝之: IgE と気管支喘息, *現代医学*, **23**: 19, 1975.
- 19) 近藤有好他: 各種呼吸器疾患における免疫学的考察—血清 IgE について—, *日胸*, **33**: 238, 1974.
- 20) 信太隆夫, 小笠原光子: Sephadex を固相とした radioimmunosorbent test (Phadebas IgE Test) の基礎的検討, *基競と臨床*, **7**: 215, 1973.
- 21) 井村裕夫: Competitive Radioassay 一序論, *最新医学*, **30**: 544, 1975.
- 22) 古川俊之他: 多変量解析法の応用, *総合臨床*, **17**: 2407, 1968.
- 23) 水野哲夫: 臨床統計学, 治療評価を中心として, 医学書院, 東京, 1976.
- 24) 大島良雄, 川上保雄: 喘息の治療, 朝倉書店, 東京, 1969.
- 25) 蒲生鐵男: 低レベル血清 IgE 値の測定法の検討, RIST の一改良法について, *アレルギー*, **22**: 693, 1973.
- 26) 木野稔也: Paper disc radio immunosorbent test (PRIST) による血清 IgE 値の測定—測定精度の検討と RIST による測定値との比較, *臨床免疫*, **10**: 1978. (印刷中)
- 27) Polmar, S. H., *et al.*: IgE in Immunodeficiency, *Am. J. Path.*, **69**: 499, 1972.
- 28) Waldmann, T. A., *et al.*: Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases
II. Serum IgE concentration of patients with acquired hypogammaglobulinemia, myotonic dystrophy, intestinal lymphangiectasis and Wiskott-Aldrich syndrome, *J. Immunology*, **109**: 304, 1972.
- 29) Waldmann, T. A., *et al.*: Serum immunoglobulin E levels in patients with neoplastic disease, *J. Immunology*, **113**: 379, 1974.
- 30) 山口道也: 血清 IgE 値の各種呼吸器疾患における比較と気管支喘息での変動について, *アレルギー*, **24**: 120, 1975.
- 31) 高山哲也: スギ花粉症における血清 IgE の季節変動, *アレルギー*, **23**: 663, 1974.
- 32) 有森茂也: 重症筋無力症患者で増生型胸腺を摘出した後の血清 IgE, T および B リンパ球の変動, *アレルギー*, **23**: 737, 1974.
- 33) 木村郁郎他: 悪性リンパ腫における血清 IgE に関する臨床的研究—Hodgkin 病を中心に—, *臨床血液*, **16**: 1117, 1975.
- 34) Jacobs, D., *et al.*: Circulating levels of immunoglobulin E in patients with cancer, *Lancet*, **ii**: 1059, 1972.
- 35) 八倉隆保, 志水正敏: IgE の測定法, *最新医学*, **27**: 1943, 1972.
- 36) 堀内淑彦, 伊藤幸治: 血清 IgE レベルとその臨床的意義, *最新医学*, **28**: 1473, 1973.
- 37) 奥田稔也: IgE の臨床, *臨床免疫*, **5**: 1255, 1973.
- 38) Bazard, M. and Hamburger R. N.: Standardization and stability of immunoglobulin E (IgE), *J. Allergy Clin. Immunol.* **49**: 189, 1972.

STUDIES ON SERUM IgE LEVEL IN HEALTHY AND RESPIRATORY DISEASES

1st report: A range of serum IgE value in healthy humans

Hiroyuki IMAI

The Second Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University

- 1) Serum IgE values of 215 healthy persons were measured in order to determine a range of normal IgE level by using radio immuno sorbent test (RIST).
- 2) Good reproducibility of serum IgE value was found by this method in the range between 40–1,000 IU/ml. Fluctuations of serum IgE values according to age, sex, diet and sampling time were very little. Changes of the values were not found after five times freezing and thawing, or after deep-freezing for one year.
- 3) The geometric mean obtained from serum IgE values of 215 healthy persons was 187 IU/ml. This group was statistically divided into two groups: One was non-atopic group (N) and another was atopic group (A). The mean values of serum IgE were 114 and 485 IU/ml respectively. The former is significantly lower than the latter ($P < 0.0001$).
- 4) The range of serum IgE value in N group was determined as 43–303 IU/ml on the base of the results obtained from 120 non-atopic healthy persons by using statistical procedure.
- 5) It was suggested that the normal range of serum IgE value was clinically useful in order to make diagnosis of atopic asthma, because 72 cases (80.9%) among 89 cases of atopic asthma showed higher serum IgE value than 303 IU/ml.