

第3章 検査法

I 検査の目標

結膜あるいは全身における I 型アレルギー反応を証明する(図 3-1)。

II 結膜でのアレルギー検査

結膜における I 型アレルギー反応の存在を証明する臨床検査法としては、① 結膜における好酸球の同定法、② 点眼誘発試験、③ 涙液中総 IgE 抗体測定を用いる。

1. 結膜における好酸球の同定法

1) 検体採取法

眼脂または眼分泌物の採取法、ブラッシュサイトロジー法、結膜生体組織検査法(結膜生検)などがあげられる。

(1) 眼脂または眼分泌物の採取法

眼脂または眼分泌物検体の採取は、綿棒を用いると採取した検体をスライドガラスに移すことが難しいので、スパーテルやピンセットを用いるとよい。スライドガラスの上で薄く引き伸ばすと、細胞が重ならず判定しやすい。軽症で眼脂を認めない場合には、上眼瞼結膜を反転し、硝子棒で結膜表面をマッサージしてから、表面の眼分泌物をスパーテルで採取する方法や結膜組織からの検体採取が必要となる。

(2) ブラッシュサイトロジー法(図 3-2)

点眼麻酔後、上眼瞼を反転し、ブラシを用いて結膜面を数回擦過することにより、多数の結膜浸潤細胞を回収できる。ブラシをそのままスライドガラスに塗布することにより、細胞が観察できる。あるいは、ブラシに付着した細胞をリン酸緩衝液などのバッファーを含む遠心管の中で数回洗った後、遠心分離により細胞を回収する。遠心分離により回収できた細胞は、フローサイトメト

リーなど別の解析手技にも使用できる。

(3) 結膜生体組織検査法(結膜生検)

結膜の一部を外科的に採取する方法であるが、春季カタルの治療目的で行われる乳頭切除術以外は、侵襲が大きいため汎用されていない。得られた組織はヘマトキシリン・エオジン染色やギムザ染色などの病理組織検査をすれば、上記の細胞診に比べて、結膜乳頭における炎症細胞の分布など多くの情報が得られる。

2) 好酸球の検出

スライドガラスに塗抹した検体を染色し、光学顕微鏡で観察することで、検体中の好酸球を同定することができる。染色はキット製品が汎用されており、手技は容易である。以下に代表的な染色をあげる。

(1) Hansel 染色

好酸球中細胞質内の顆粒がピンク色に染色される(図 3-3)。

(2) ギムザ染色

Hansel 染色と比較すると、好酸球のみならず好中球、リンパ球など他の炎症細胞との区別に有用である(図 3-4)。

2. 点眼誘発試験

皮膚テストや血清抗原特異的 IgE 抗体測定検査などで抗原が推測できる場合、既知の抗原液を点眼することにより結膜炎の発症を確認する方法である。薄い濃度から抗原を点眼し、その 10 分後に痒痒感を確認し、細隙灯顕微鏡で臨床所見を観察する。痒痒感が出現しなければ、徐々に抗原濃度を上げていく。痒痒感や充血があれば陽性と判定する。片眼で誘発試験を行い、他眼には生理食塩水を点眼して対照とする。

3. 涙液中総 IgE 抗体測定

アレルギー性結膜疾患患者では、涙液中総 IgE 抗体の増加がみられる。涙液中総 IgE 抗体の簡易検査法と

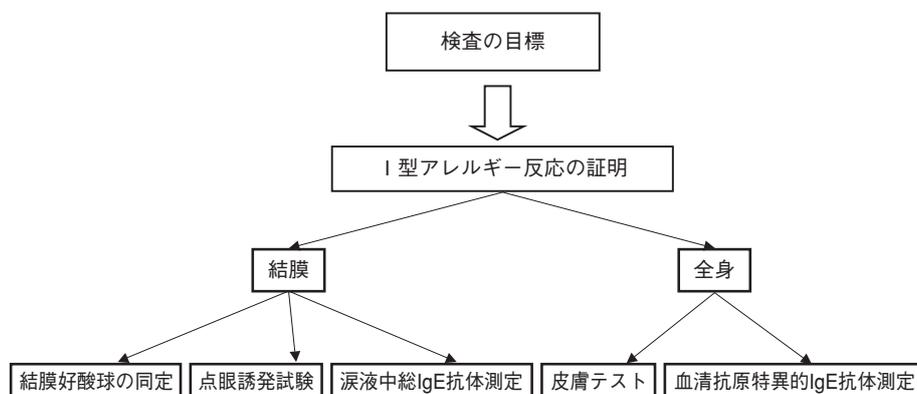


図 3-1 検査の目標。

I 型アレルギー反応を結膜あるいは全身で証明する。結膜では結膜好酸球の同定、点眼誘発試験、あるいは涙液中総 IgE 抗体を測定する。全身では皮膚テストあるいは血清抗原特異的 IgE 抗体を測定する。

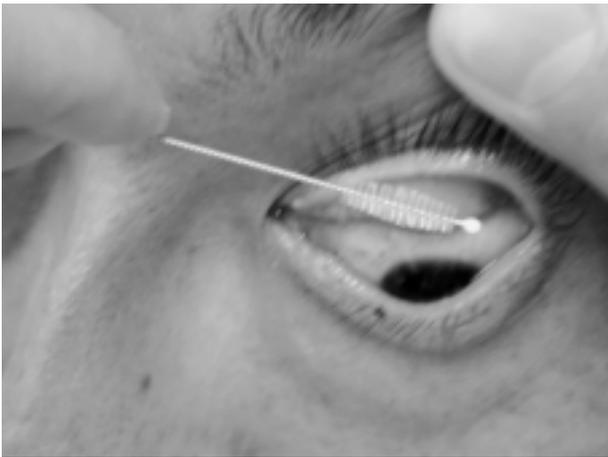


図 3-2 ブラッシュサイトロジー。
ブラッシュサイトロジーの実際。上眼瞼を反転し、ブラシで数回擦過する。

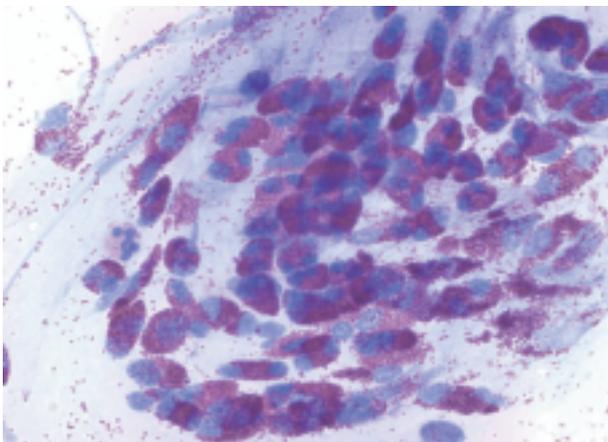


図 3-3 結膜擦過物の Hensel 染色。
細胞質内の顆粒が染色された多数の好酸球を認める。
(山口大学医学部分子感知医科学(眼科学)講師 福田憲先生のご厚意による)

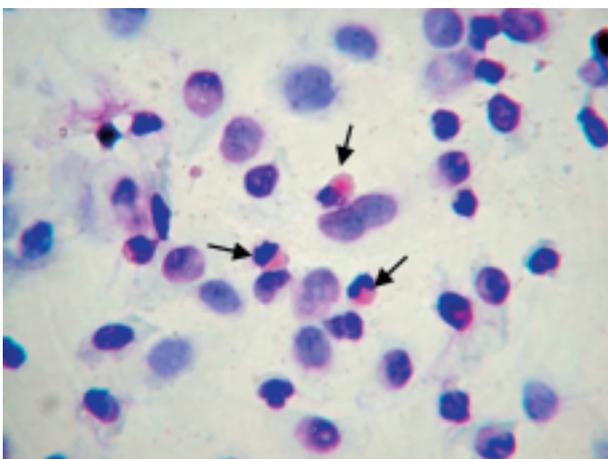


図 3-4 結膜ブラッシュサイトロジーにより得られたサンプルのギムザ染色。
細胞質が赤く染まっている好酸球(→で示す)のみならず、リンパ球や好中球を認める。



図 3-5 皮膚テスト。
ダニに陽性反応(15 mm 以上の紅斑)を認めるが、対照、スギ、ハウスダストには反応を認めない。(眼アレルギーフォーラム 21 スライドキットより抜粋)

表 3-1 皮膚テストの判定基準

	陽性	陰性
紅斑	15 mm 以上	14 mm 以下
膨疹	5 mm 以上	4 mm 以下

(対照の 2 倍以上でも陽性とする)

しては、涙液を試料としてイムノクロマト法により涙液中総 IgE 抗体を測定するキットがある。ただし、半定量的検査である点、抗原特異的 IgE 抗体ではなく総 IgE 抗体を検出している点に留意する⁴⁾。

Ⅲ 全身のアレルギー検査

全身の検査では抗原特異的 IgE 抗体の存在を検出する。皮膚テストと血清を用いた検査に大別される⁵⁾(図 3-1)。

1. 皮膚テスト

安価で短時間に判定でき、なおかつ患者がその結果を直接みることができる。皮膚テストは前腕皮膚に抗原を皮内注射する皮内テストと、皮膚を擦過し、スクラッチエキス®を滴下するスクラッチテストに大別される。15 分後に皮膚の紅斑や膨疹の程度から判定する(図 3-5、表 3-1)。検査に疼痛を伴い、腫脹がしばらく残ることもある。また、針刺しによる肝炎ウイルスなどの感染に気をつける必要がある。

表 3-2 血清抗原特異的 IgE 抗体測定の特徴および測定域(スコア)^{5)改変}

測定法	原理	備考
高感度迅速測定法(単項目別)		
UniCAP	蛍光 EIA (イムノキャップ)	自動化
AlaSTAT	EIA (可溶性ポリマー)	自動化
LMD	化学発光(磁性マイクロビーズ)	自動化
同時多項目測定法(簡便性)		
MAST	化学発光(チャンパー)	個々の抗原でなく, 抗原群の検査かスクリーニングテスト

平成 22 年度診療報酬点数表では, 特異的 IgE 検査は 110 点, 特異抗原の種類ごとに所定点数を算定。ただし, 患者から 1 回に採取した血液を用いて検査を行った場合は, 1,430 点を限度として算定。

表 3-3 通年性アレルギー性結膜炎セット

ダニ	スギ
ハウスダスト	ヒノキ
ネコ上皮	ハルガヤ
イヌ上皮	カモガヤ
カンジダ	ブタクサ
アルテルナリア	ヨモギ
ハンノキ	

2. 血清抗原特異的 IgE 抗体測定法

採血により得られた血清を検査室に依頼する。数値化されて判定されるものの, 疑陽性, 疑陰性ともにより得る。また, 検査にかかる費用が高価な点が問題であるが, 保険適用を受けているものもある。

項目別に検査する方法と多項目を同時に検査する方法があり, 前者は目的とする抗原が予測される場合に行い, 後者はスクリーニングを目的として行う⁵⁾(表 3-2)。本検査法にも多数の方法があり, 抗原の種類により取捨選択してオーダーする必要がある。しかし, 最近検査のセットとして通年性のセット(表 3-3)や季節ごとのセットなどのオーダーセットもあり, 問診から抗原を推測できる場合に役立つ。血清総 IgE 抗体の定量はアトピー性皮膚炎の有無など全身のアレルギーを反映するが, アレルギー性結膜炎単独の場合は正常値のことが多い。しかし, 眼症状を伴うアトピー性皮膚炎の患者では, 眼症状を伴わない患者と比べて有意に上昇しているとの報告⁶⁾もあり, アトピー素因の有無を調べる上で意義がある。

3. ヒスタミン遊離試験(histamine release test : HRT)

肥満細胞の代わりに血液中で肥満細胞と同じ働きをする好塩基球を利用してヒスタミンの遊離量を測定する方

表 3-4 病態を理解する上で役立つ検査法

1. 涙液中に存在するアレルギーと関係する分子の同定
涙液は毛細管あるいはシルマー試験紙を用いて採取する。採取した涙液を必要に応じ 2~10 倍に希釈し, 後述する分子の存在を調べる。
1) 涙液中 IgE ⁷⁾
2) 涙液中ケミカルメディエーター: ヒスタミン ⁶⁾ , サブスタンス P ⁸⁾ , ロイコトリエン B ₄ ⁶⁾ , ECP (eosinophil cationic protein) ⁹⁾
3) 涙液中サイトカイン, ケモカイン: IL-4, IL-5 ¹⁰⁾¹¹⁾ , エオタキシン ¹²⁾ , エオタキシン 2
2. 結膜サンプルを用いた解析
1) サイトカインと Th ₁ /Th ₂ バランス: 細胞培養上清 ¹³⁾ , フローサイトメトリー ¹⁴⁾ , reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)法 ¹⁵⁾
2) 結膜増殖性変化の病態解析: 免疫組織化学法 ¹⁶⁾ , 結膜線維芽細胞培養 ¹⁷⁾¹⁸⁾
3. 画像診断による検査法
1) 充血画像解析法
2) ocular surface thermographer

法である。HRT は細胞からの化学伝達物質の遊離反応をみることから, 特異性が高く, 生体内の反応に近いとされている。一度に複数の抗原を検査できるなどの利点もある。

IV 病態を理解する上で役立つ検査法

上記の検査によりアレルギー反応の有無は判定できるが, 近年の研究の進歩により, 結膜局所での病態を把握する上で役立つ検査が開発されてきた。これらの検査は実験室レベルで行われるものであり, 現時点では診断に直結するものではないが, アレルギー性結膜炎の発症機序ならびに重症化のメカニズムを理解する上で有用である。それらの項目を表 3-4 に列記する。