

補体価の低下を伴った牛乳アレルギーの1例

大阪府済生会中津病院小児科, 免疫アレルギーセンター

林 野花 大和謙二 吉島 聡
畑中武志 末広 豊 四宮敬介

国立療養所南京都病院小児科

井上康広 細井 進

生後2週目から哺乳直後の水様下痢, 腹部膨満が出現し, ショック様状態で入院した生後1カ月の牛乳アレルギーの1例を経験した. 入院時本児の皮膚反応は陰性であったが牛乳抗原によるPK反応陽性, 血清総IgE高値, RASTによる牛乳特異IgE抗体陽性からI型アレルギーの関与が考えられた. さらにCH50の著明な低下と各免疫グロブリンの牛乳特異抗体, 特に牛乳特異IgG1抗体の上昇, 血清に牛乳添加することにより補体吸収反応の亢進がみられたことからIII型アレルギー反応の関与が考えられた. 605Zミルク開始後は血清総IgE値は1カ月後に低下しRASTは陰性化した. 牛乳特異IgM, IgA抗体は1カ月後には消失し, IgG抗体は5カ月まで徐々に低下した. 血清CH50は次第に上昇し正常化した. 牛乳抗原添加による補体吸収反応は3カ月で低下, 5カ月で消失した. また妊娠中母親は多量の牛乳を摂取していたが母血清中の牛乳特異抗体は上昇しておらず, 本児の牛乳に対する各免疫グロブリンクラスの特異抗体は胎盤移行性ではなく胎内感作により本児自身が産生したものと考えられた.

Key words: cow's milk allergy — cow's milk specific IgE antibody — cow's milk specific IgG antibody — hypocomplementemia

はじめに

食物アレルギーの診断はIgE抗体のみではなく皮膚反応, Prausnitz-Küstner (PK) 反応, 特異IgG抗体, リンパ球芽球化反応, 食物抗原の除去あるいは負荷試験などが用いられるが, その診断は必ずしも容易ではない.

私たちは哺乳時に水様下痢, 腹部膨満を伴いチアノーゼを呈した牛乳アレルギーの1例を経験した. この乳児では血清総IgE値の高値, RASTによる牛乳特異IgE抗体の他にIgG, IgM, IgA各クラスの牛乳抗原に対する特異抗体を認め, 血清CH50の低下があった. 急性期の本児の血清に牛乳抗原を添加することにより補体吸収反応が亢進したことから, 本児の発症に

はIgE抗体を介するI型アレルギー反応の他に補体結合性抗体を介するIII型アレルギー反応が関与していると考えられた. 食物アレルギー機序を考えるうえで貴重な症例と思われたので, 臨床経過と牛乳特異抗体の推移に文献的考察を加えて報告する.

症 例

症例: 生後29日, 女児.

主訴: 体重増加不良, 水様下痢, 腹部膨満, チアノーゼ.

現病歴: 在胎40週2日, 2978g, Apgar score 9にて出生. 混合栄養を行っていたが, 生後2週目ごろから哺乳力低下が始まり, 哺乳直後におこる水様下痢, 腹部膨満を伴うようになった. 生後28日目に突然ぐったりとなり, 全身チアノーゼが出現したため来院した.

家族歴: アレルギー歴は特になし. 母22歳. 牛乳嫌いのため12歳以降ほとんど牛乳を摂取していなかったが, 本児妊娠を機に妊娠5カ月から分娩まで毎日500mlの摂取を続けた.

入院時現症: 体重3022g (生後7日目から6.3g/day

Received: March 23, 1992

Accepted: September 25, 1992

Abbreviations: ABTS 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate); α LA α -lactoalbumin; β LG β -lactoglobulin; ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; PBS phosphate buffered saline; PK Prausnitz-Küstner; RAST radioallergosorbent test

Table 1 Laboratory findings on admission

WBC	15100 /mm ³	pH	7.274	CD3	75.9 %
Stab.	23 %	PaCO ₂	17.2 mmHg	4	55.3 %
Seg.	24	PaO ₂	83.7 mmHg	8	23.2 %
Eosino.	0	HCO ₃	8.0 m mol/l	〔Urinalysis〕	
Baso.	0	BE	-16.1 n mol/l	pH	6.0
Lymph.	44	Glucose	121 mg/dl	Glucose	(-)
Atyp. Ly	1	Na	135 mEq/l	Protein	(±)
Meta.	4	K	4.1 mEq/l	Occult blood	(-)
Myelo.	3	Cl	115 mEq/l	〔Stool examination〕	
RBC	286×10 ⁴ /mm ³	BUN	6.3 mg/dl	pH	6.0
Hb	9.4 g/dl	Creatin.	0.7 mg/dl	Occult blood	(+)
Ht	28.2 %	TP	6.4 g/dl	Clini test	(-)
PLT	74.2×10 ⁴ /mm ³	ALB	3.3 g/dl	Sudan III	(+)
Reticulo.	27‰	T-Bil	0.4 mg/dl	Eosinophil	(-)
CRP	12.0 mg/dl	D-Bil	0.1 mg/dl	Bacterial culture	Normal Flora
		IgG	1386 mg/dl		
		M	128 mg/dl		
		A	194 mg/dl		
		CH50	<10.0 U/ml		

の増加), 身長51.4cm, 全身チアノーゼ, 四肢末梢は蒼白であった。湿疹, 出血斑などは認めなかった。心拍144/min, 呼吸数45/min, 血圧92/50, 体温37.1℃。著明な腹部膨満を認め, 腸蠕動は軽度亢進していた。心音 Levine II 度の収縮期雑音, 呼吸音清, 全体に筋緊張の低下を認めた。

入院時検査結果 (Table 1)

末梢血中の白血球はやや増加していたが好酸球の増加は認めなかった。血液ガスでは代謝性アシドーシスを呈していた。生化学検査ではアルブミン低値である以外は特に異常なく血清ビリルビン値も問題なかった。IgG, M, A, E 抗体はいずれも上昇しており CH50 の著明な低下がみられた。血尿は認めなかった。便は pH 6, クリニテスト陰性で Sudan III 染色陽性であった。便中好酸球はみられず便培養は normal flora であった。便の浸透圧は282mOsm/l であり浸透圧性下痢と考えられた。

入院後経過

輸液による pH 補正後チアノーゼはただちに消失した。ボンラクト (和光堂), MA-1 (森永乳業), non oil MA-1 (森永乳業) ミルクを使用したのが水様下痢は続き, 下腿の紅斑の出現, 真菌感染, 正球性, 正色素性貧血を併発してきたため完全中心静脈栄養を開始した。4 日間の絶食の後605Z (明治乳業) ミルクを浸透

圧を調整して持続注入を開始し次第に投与量を増加させたところ便性は改善し体重の増加がみられた。5 カ月からは積極的に離乳食を開始したが下痢の再発はなく 8 カ月の現在, 体重増加は順調で運動発達も良好である (Fig. 1)。

免疫学的検索

I. 方法

牛乳特異 IgG, IgM, IgA 抗体, 牛乳特異 IgG サブクラス抗体, 溶血性補体吸収反応については, 当院で分離した血清を-70℃で保存し国立療養所南京都病院で測定を行った。

1. 血清総 IgG, M, A 抗体はネフェロメトリー法で測定した。

2. 血清総 IgE 値は RIST 法にて測定。牛乳成分の特異 IgE 抗体は RAST 法 (Pharmacia 社) で測定した。

3. 皮膚反応は鳥居薬品製スクラッチエキスを, PK 反応は鳥居薬品製皮内反应用エキスをを用いた。

4. 牛乳特異 IgG, M, A 抗体

enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。phosphate buffered saline (PBS) に溶解した牛乳抗原 (鳥居薬品製) 20μg/ml, 100μl を microtiter plate に入れ 4℃, overnight 後 washing

(平成2年度厚生省乳幼児身体発育調査結果の資料より作製) 作図者 諏訪城三, 立花克彦 発行日 1992年9月1日

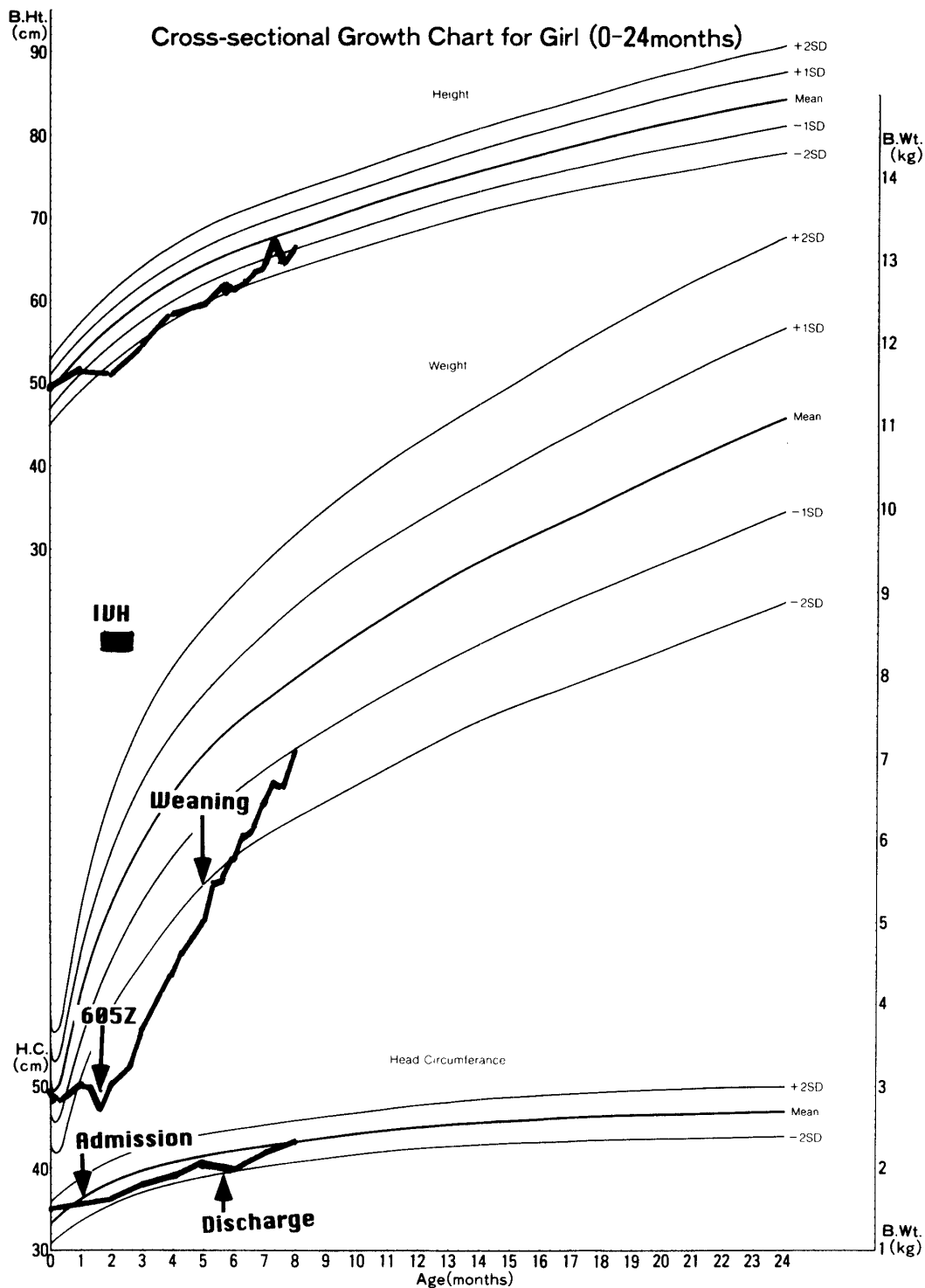


Fig. 1. Growth curve of body weight and height.

buffer(0.05M phosphate buffer, 0.25M NaCl, 0.02% Tween-20) で3回洗浄, 0.1%ゲラチン加 washing buffer でブロック後, 被検血清 (IgG 400倍希釈, IgM 50倍希釈)100 μ l を入れ37 $^{\circ}$ C, 120分 incubate したのち washing buffer で3回洗浄した, ペルオキシダーゼ標

識抗ヒト IgG (IgM, IgA) 抗体 (TAGO 社) 100 μ l を加え37 $^{\circ}$ C 120分 incubate 後, washing buffer で5回洗浄したのち40mM ABTS (2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonate)) を加え OD 405nm にて吸光度を測定した. IgE, IgG 高応答者 (牛乳による

RAST 陽性のアトピー性皮膚炎男児)の血清を標準血清とし、200倍希釈 (IgM, IgA では50倍希釈) したものを1単位として定量に用いた。

5. 牛乳特異 IgG サブクラス抗体 (IgG1, IgG4) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。

PBS にて希釈した牛乳抗原 (鳥居薬品製) 20 μ g/ml, 100 μ l を microtiter plate に入れ、4 $^{\circ}$ C overnight 後3回洗浄した。500倍に希釈した被検血清100 μ l を加え

37 $^{\circ}$ C, 120分 incubate 後3回洗浄した。マウス抗ヒト IgG1抗体 (Sigma 社製) あるいは抗ヒト IgG4抗体を加え37 $^{\circ}$ C 120分 incubate したのち、ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG 抗体 (TAGO 社製) を添加して8mM ABTS を加えて OD 405nm にて測定した。

6. 溶血性補体吸収反応

被検血清160 μ l を56 $^{\circ}$ C 30分 で不活化し、 10^{-3} から 10^{-7} に希釈した牛乳抗原を添加して37 $^{\circ}$ C, 60分 incubate した。補体ソースとして Fresh Cord Sera 160 μ l を加え

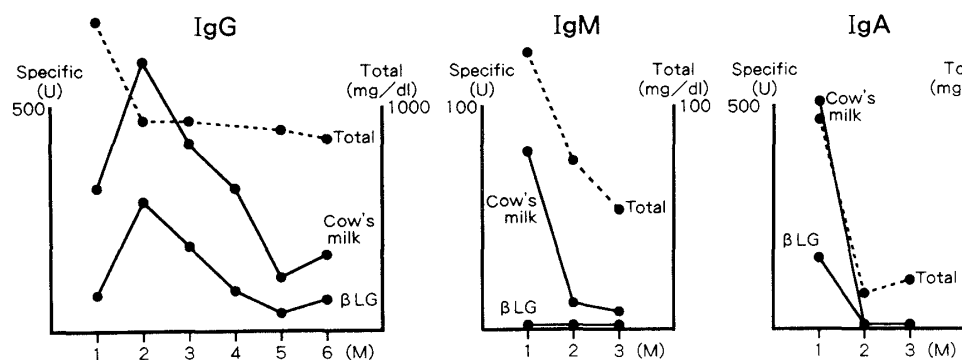
Table 2 Change of the specific IgE antibodies by RAST and the skin test

		Total IgE U/ml	RAST score						Skin prick test				PK test (cow's milk)
			Cow's milk	Casein	α LA	β LG	Soybean	Hen's egg white	Cow's milk	Soybean	Hen's egg white	<i>Candida</i>	
Age	1M	381.3	3	2	0	2	n.d	n.d	$\frac{0 \times 0}{4 \times 3}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 4}$	n.d	$\ominus$	$\frac{10 \times 9}{15 \times 15}$
	2M	16.0	0	0	0	0	0	0					
	3M	80.4	0	0	0	0	0	0					
	4M	63.3	0	0	0	0	0	0					
	5M	33.5	0	0	0	0	0	0	$\ominus$	$\frac{3 \times 3}{13 \times 15}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 5}$	$\ominus$	$\ominus$
	8M	<10.0	0	0	0	0	0	0	$\frac{0 \times 0}{4 \times 3}$	$\frac{4 \times 3}{6 \times 8}$	$\frac{5 \times 6}{23 \times 30}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 5}$	
Mother		47.8	0	0	0	0	0	0	$\ominus$				

n.d.=not done $\ominus$ =negative

Table 3 Change of the specific antibodies to cow's milk

		Cow's milk specific IgG subclass antibodies		Cow's milk specific antibody titers						Total IgG (mg/dl)	Total IgM (mg/dl)	Total IgA (mg/dl)	CH50 (U/ml)
				IgG		IgM		IgA					
		IgG ₁	IgG ₂	Cow's milk	β LG	Cow's milk	β LG	Cow's milk	β LG				
age	1M	5.1	0.5	320.2	79.8	80.7	0	506.1	156.8	1386	128	194	< 10
	2M	11.4	0.3	603.8	289.9	11.3	0	0	0	938	77	28	34.3
	3M	12.7	0	425.0	188.9	7.1	0	0	0	945	55	43	32.6
Mother		n.d	n.d	60.4	6.7	15.3	28.3	59.2	13.7	1552	162	313	n.d



37°C, 60分 incubate 後各1ml ずつの血清希釈系列を作成し, 各々感作ヒツジ赤血球 1.5×10^8 /ml を100 μ l 加え37°C, 60分 incubate した. 遠心後上清を OD 412nm で測定し溶血率(蒸留水添加したときの溶血を100%とする)を算定した.

II. 免疫学的検索結果

入院時血清総 IgE 値は381.3U/ml と高値. RAST score は牛乳 3, カゼインと β -lactoglobulin (β LG) は 2, α -lactoalbumin (α LA) は 0 であった. 入院時に実施した本児の皮膚反応は牛乳では陰性にもかかわらず, 母に行った PK テストは陽性であった (Table 2). 牛乳特異抗体は IgG, IgM, IgA 抗体とも増加していた(本児の牛乳特異 IgG 抗体は320.2, 対照として健常児14例の平均は56.7). 牛乳特異 IgG サブクラス抗体は IgG4 抗体ではなく IgG1 抗体の増加がみられた (Table 3). 入院時の血清 CH50 の著しい低下がみられたので, この血清につき牛乳抗原添加による補体吸収試験を行ったところ補体吸収の亢進がみられた. 入院時の血清に牛乳抗原を添加しなくても補体吸収反応が認められた (Table 4). 605Z ミルク開始後牛乳特異抗体は IgE, IgM, IgA 抗体は 1 カ月で低下, IgG 抗体は 5 カ月まで徐々に低下した. 血清 CH50 は 20 日後には上昇し牛乳抗原添加による補体吸収反応は 3 カ月で減少, 5 カ月で消失した.

牛乳以外の反応について

離乳食開始後下痢もなく無症状であるがプリックテストにて 5 カ月で大豆, 8 カ月で卵白卵黄の反応が陽性となった. この時点で血清 IgE 10U/ml 以下, 牛乳,

大豆, 卵白とも RAST 0 であるが, ダ = RAST が 3 となった (Table 2).

考 察

食物アレルギーによってひきおこされる臨床症状は多彩であるが, その証明は容易ではない. これは食物アレルギーの発症において Coombs and Gell の I, III, IV 型アレルギーが複雑に関係しているためと思われる.

今回私たちは哺乳直後に水様下痢と腹部膨満をきたすことを主訴とする生後 1 カ月の女児例を経験した.

本児の検査所見として

1. 牛乳プリックテスト陰性, PK テスト陽性
2. 総 IgE 値高値, RAST にて牛乳特異 IgE 抗体陽性
3. 牛乳特異 IgG, IgM, IgA 抗体の上昇
4. 牛乳特異 IgG1 抗体の上昇
5. 血清補体価の著明な低下
6. 牛乳抗原添加による補体吸収の亢進

があげられる. 牛乳抗原を添加しない状態でも補体の吸収がみられたことから発症時にはかなりの量の免疫複合体が形成されていたと考えられた. また 605Z の使用, 症状の改善とともに補体価, 補体吸収反応の正常化, 牛乳特異 IgG 抗体の低下がみられた.

本児は哺乳開始 2 週間ごろから哺乳直後の下痢と腹部膨満が始まり, ショック様状態になったこと, 牛乳成分特異 IgE 抗体が高値を呈し牛乳除去とともに IgE 抗体が低下したことから臨床的には I 型アレルギー反応が強くおこってきたものと考えられる. しかし血中に生じた免疫複合体が補体と結合し低補体血症を生じた反応が症状の発現に何らかの関与をしたことは考慮する必要がある. 不活化した本児の血清に牛乳抗原を添加すると血清中の補体結合性抗体と反応し新たに添加した補体の消費をおこしたことは, かなりの量の補体結合性抗体が存在したことを意味している. また牛乳除去後 CH50 値, 補体吸収反応の正常化, 牛乳特異 IgG 抗体の低下がみられるとともに症状の改善がみられたことは III 型アレルギー反応の関与を強く示唆するものと考えられる. 通常補体結合性抗原の関与するアレルギー反応はアルサス型を示すので血管病変をおこし腎, 皮膚, 肺などで出血性の変化を示してくるはずであるが, 本児は尿, 気道分泌物, 便(潜血反応は入

Table 4 Result of complement consumption test by cow's milk antigen

		(cow's milk(+)/cow's milk(-))	
		Cord sera ×50	×100
Age	1M	97/36	99/93
	2M	95/1	99/45
	3M	33/0	92/35
	4M	1/0	1/0
	5M	1/0	0/0
	6M	2/0	0/0
Mother		0/0	0/0

Heat inactivated serum of the patient was incubated with cow's milk antigen followed by adding of the human cord serum as complement source.

Then hemolytic complement absorption was examined.

院時のみ陽性)には明らかな血液混入はみられず, Goodpasture 様の症状を認めなかった。しかし経過中著しい正球性, 正色素性貧血がみられ2度にわたる濃厚赤血球輸血を必要とした。どこでそのような失血がおこったかは証明しえなかった。

中川ら¹⁾は卵に感受性のある成人気管支喘息患者5例に卵負荷を行いそのうち1例に卵摂取15分後に血中IgG1抗体の低下, 免疫複合体の増加を認めさらに8時間後には喘息症状を発現したことから食物アレルギーのある喘息ではIII型アレルギーの関与する可能性を示唆している。Inganas ら²⁾も ovalbumin (OA) の負荷により OA 特異 IgG 抗体が減少し OA を含む免疫複合体が上昇することを報告している。また Paganelli ら³⁾は食物アレルギーのある成人に食事抗原を負荷すると血清中に免疫複合体が上昇することを報告し, disodium cromoglycate の前投与で結果的に免疫複合体の上昇が抑制されることからまず消化管で IgE 抗体の関与する即時型反応により血管透過性が高まり抗原吸収が亢進する可能性を示唆している。本児は入院時牛乳特異 IgG1抗体が上昇していたが, Bielory ら⁴⁾は equine antithymocyte globulin を投与した再生不良性貧血患者の serum sickness 症状の出現する時期と IgG1抗体および免疫複合体の上昇する時期が一致し, IgG4抗体は免疫複合体の形成される時期よりも遅れて上昇することを報告している。入院時に行った皮膚反応で牛乳の反応が陰性であり母親を用いて行った PK 反応で陽性であったことは, 本児の入院時の状態がショック様であったことによる反応の抑制と考えられるが, IgE 抗体以外のクラスの牛乳成分特異抗体が存在したために阻止抗体として働き反応を抑制したことも考慮する必要がある。

10年間牛乳を摂取しなかった母親が妊娠5ヵ月から多量の牛乳摂取をころがけた。入院時本児の血清では各クラスの牛乳成分特異抗体が上昇していたが, 同時に測定した母血清中の牛乳特異抗体が上昇していなかったことは本児の抗体が胎盤移行性ではなく, 本児自身が産生したものと考えられた。Michel ら⁵⁾は牛乳特異抗体陰性の母から牛乳特異抗体陽性の新生児が出現したことから, 食物抗原の母から胎児への先天感作が存在しうることを報告している。また川北ら⁶⁾は未

熟児は修正在胎36週から牛乳に対する IgG 抗体産生能をもつことから, 胎児が抗体を産生する可能性があるとしている。本児は出生後人工栄養で育てられ, すでに胎内感作状態のあるところにさらに抗原を与えられたために, 著しいブースター効果を与え, 特異抗体産生に拍車がかかったと推測される。このことは栄養を605Zのようなカゼインおよび各種の牛乳蛋白を分解したアミノ酸乳に変更し抗原刺激を除去した後は, 急激に牛乳特異 IgE, IgM, IgA 抗体が消失し IgG 抗体も次第に低下したことから察知できる。

本論文の要旨は第28回日本小児アレルギー学会で発表した。

文 献

- 1) 中川武正, 吉野谷定美, 高橋孝喜, 宮本昭正, 西村浩, 他: 成人気管支喘息患者における卵摂取試験後の IgG サブクラス抗体及び免疫複合体の変動. アレルギー 36, 184-189, 1987.
- 2) Inganas, M., Johansson, S.G.O. and Danneus, A.: A method for estimation of circulating immune complexes after oral challenge with ovalbumin. *Clin. Allergy* 10, 293-302, 1980.
- 3) Paganelli, R., Levinsky, R.J., Brostoff, J. and Wraith, D.G.: Immune complexes containing in normal and atopic subjects after oral challenge and effect of sodium cromoglycate on antigen absorption. *Lancet* 1, 1270-1272, 1979.
- 4) Bielory, L., Kemeny, D.M., Richards, D. and Lessof, M.H.: IgG subclass antibody production in human serum sickness. *J. Allergy Clin. Immunol.* 85, 573-577, 1990.
- 5) Michel, F.B., Bousquet, J., Greillier, P., Robinet-Levy, M. and Coulomb, Y.: Comparison of cord blood immunoglobulin E concentrations and maternal allergy for the prediction of atopic disease in infancy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 65, 422-430, 1980.
- 6) 川北 章, 神田康司, 後藤玄夫, 秋本憲一, 飯倉洋治: 未熟児の IgE と食物抗原に対する特異的 IgG の動き. 日小ア誌 2, 62-68, 1988.

A CASE OF SEVERE MILK ALLERGY
Relationship with Type I and Type III Allergic Reactions

Nobana Hayashi, Kenji Owa, Satoshi Yoshijima, Takeshi Hatanaka, Yutaka Suehiro and Keisuke Shinomiya
Division of Pediatrics, Saiseikai Nakatsu Hospital

Yasuhiro Inoue and Susumu Hosoi
Division of Pediatrics, National Minami-Kyoto Hospital

A case of cow's milk allergy related to type I and type III allergic reactions is reported. The patient is a one-month-old girl. She had watery diarrhea and abdominal distention soon after commencement of milk feeding two weeks after birth. She was cyanotic and floppy on admission. Intravenous complete hyperalimentation was tried to combat her diarrhea with good clinical effect. Then feeding with 605Z milk (enzyme digested cow's milk antigen, Meiji Milk Products Co., Ltd.) was started, and the diarrhea improved.

Laboratory findings showed positive milk PK test, elevated IgE score, and positive milk specific RAST score, decreased serum complement, elevated levels of each immunoglobulin class of milk specific antibodies, especially milk specific IgG1 antibody and increased complement absorption test. She was diagnosed as having milk allergy related to both type I and type III allergies from the above-mentioned results. Specific antibodies were diminished after feeding with 605Z.

Although her mother had not taken cow's milk over the past 10 years, she took a lot of milk during her pregnancy. But her serum milk specific antibodies were not elevated. It was suggested that the baby's antibodies were not derived from her mother but that the baby produced them by herself.
