

ヒマワリの種子によるアナフィラキシーの1例

富山医科薬科大学医学部小児科学教室

*富山赤十字病院小児科

岩谷雅子	村上巧啓*	黒瀬京子	松野正知
尾上洋一	高柳 幹	萱原昌子	足立陽子
	足立雄一	岡田敏夫	

ヒマワリの種子によるアナフィラキシーと思われる14歳男児の1症例を経験した。食用に加工されたヒマワリの種子を食べた直後に嘔声、呼吸困難、嘔吐、結膜充血が出現し、15分後に全身に蕁麻疹を認めた。血圧低下も認められたが、治療により回復した。自家製のヒマワリの種子抗原による RAST スコアは3、プリックテスト陽性、皮内閾値は 10^{-8} (重量/容量比)を示した。また、ヒマワリの種子の感作抗原分画の検討を SDS-PAGE, Western blotting 法を用いて行ったところ、13.5Kd であると考えられた。

Key words: anaphylaxis — sunflower seed

はじめに

アメリカにおいてヒマワリの種子がよく食べられており、これまでそれによるアナフィラキシーの報告が散見される¹⁾²⁾。最近、我が国でもヒマワリの種子を食用に加工したものが販売されている。これを食べてアナフィラキシーを起こしたと考えられる。1男児例を経験した。この症例は我々の検索した範囲では本邦初の症例である。また、IgE-イムノブロット法によりヒマワリの種子抗原における感作分画の検討も行ったので報告する。

症 例

14歳の男児。

主訴：嘔声、呼吸困難、嘔吐、結膜充血。

家族歴：姉がスギ花粉症。

既往歴：幼児期に蕁麻疹があるが、気管支喘息、ア

レルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎等の既往はない。

現病歴：平成3年10月1日14時15分頃病院の売店で購入した、食用に加工されたヒマワリの種子を10粒ほど食べた直後に嘔声、呼吸困難、嘔吐、眼球結膜充血が出現し、14時30分に八尾総合病院小児科を受診した。なお、患児は幼児期にヒマワリの種子を一度食べたことがあるが、その時は無症状であった。

入院時現症：体格栄養中等度、血圧90/38mmHg。脈拍120/分。顔面は紅潮し苦悶様であったが、意識障害はなかった。呼吸は努力性で吸気性の呼吸困難を認めたが、聴診上ラ音を聴取せず、全身の蕁麻疹および眼球結膜充血、咽頭発赤がみられた。腹部、その他には特に異常所見はみられなかった。

一般検査 (Table 1)：末梢血液検査、血液像、生化学的検査、検尿等に異常を認めなかった。

経過：抗ヒスタミン剤、cortisone の静脈注射にてすみやかに呼吸困難は改善し、血圧も120/60mmHgと回復し、同日の17時頃には蕁麻疹も消退した。翌朝には眼球結膜の充血も認めず、全身状態良好で退院となった。

アレルギー学的検査：

(1) IgE (RIST) 300IU/ml. IgE (RAST), *Dermatophagoides pteronyssinus* で陽性 (RAST スコア 3, 10.1PRU/ml) の他は以下の項目はすべて陰性であった。牛乳、卵白、ピーナッツ、大豆、小麦、ライ麦、オート麦、トウモロコシ、エンドウ、米、ゴマ、

Received: September 6, 1993

Accepted: April 20, 1994

Abbreviations: PRU Phadebas RAST Unit; RAST radioallergosorbent test; RIST radioimmunosorbent test; SDS-PAGE sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis; TBS Tris buffered saline

Table 1 Laboratory findings on admission

Peripheral blood		Blood chemistry	
WBC	5700 / μ l	GOT	19 IU/l
St	4 %	GPT	14 IU/l
Seg	45	LDH	222 IU/l
Ly	36	Alp	552 IU/l
Mono	7	BUN	10 mg/dl
Eo	8	CRE	0.5 mg/dl
RBC	626 $\times$ 10 ⁴ / μ l	Na	140 mEq/l
Hb	15.3 mg/dl	K	3.1 mEq/l
Ht	45.8 %	Cl	103 mEq/l
Plt	34.9 $\times$ 10 ⁴ / μ l	CRP	(+)
Ulynalisis			
Protein	(-)		
Glucose	(-)		
O.B.	(-)		

ソバ, インゲン, カモガヤ,

(2) 皮膚プリックテストは39種について行われ, HD 4 $\times$ 3/5 $\times$ 5mm (膨疹/発赤), ダニ 8 $\times$ 7/27 $\times$ 30mm, カモガヤ 6 $\times$ 5/27 $\times$ 20mm, ソバ粉 4 $\times$ 3/9 $\times$ 9mm にのみ陽性反応を認めたが, スギ, アカマツ, クロマツ, ヒメガマ, ブタクサ, カナムグラ, アルテルナリア, ペニシリウム, クラドスポリウム, アスペルギルス, カンジダ, ネコ毛, イヌ毛, 羽毛, 羊毛, ソバガラ, パンヤ, キヌ, 綿, タタミ, 米, 小麦, 牛乳, 卵黄, 卵白, 牛肉, 豚肉, 鶏肉, サケ, サバ, エビ, カニ, 大豆, ラッカセイ, チョコレートでは, 対照液 1 $\times$ 1/2 $\times$ 2mm (膨疹/発赤)と同様であり, 陰性と判定した.

(3) ヒマワリの種子抗原に対する反応をみるため, ヒマワリの種子を用いて抗原を作成し, 皮膚プリックテスト, 皮内テスト, RASTを行った. また感作抗原分画を明らかにするために SDS-PAGE, Western blotting 法を用いて検討した.

方 法

1. 抗原作成方法

ヒマワリの種子を乳鉢と乳棒で摩砕し, エーテルで3回脱脂処理後, Coca 液(NaCl 5 g, NaHCO₃ 2.75 g, phenol 4 g, H₂O 1000ml)で72時間抽出した. 濾過した後, 蒸留水で4 $^{\circ}$ C, 24時間透析し凍結乾燥した. 重量/容量比で20倍抗原液の蛋白量は3.5mg/ml (Lowry 法にて測定)であった.

2. 皮膚プリックテスト

ヒマワリの種子抗原末を50%グリセリン加生理食塩水で溶解し, 10倍液, 20倍液を作成し使用した. 20分後に膨疹の直径が4mm 以上で対照(0.9%NaCl, 0.5%phenol)より2mm 以上大きいものを陽性と判定した.

3. 皮内テスト

ヒマワリの種子抗原末を皮内テスト対照液(0.9%NaCl, 0.5%phenol)で溶解し, 重量/容量比10⁻⁶から10⁻¹⁰液を作成し使用した.

4. RAST

シアン化ブロムで活性化したペーパーディスク(東洋濾紙 No. 6, 直径6mm)と蛋白濃度1mg/ml に調整したヒマワリの種子抗原を1ml に20枚混合し, 4 $^{\circ}$ Cで48時間反応させた. さらに0.05M beta-monoethanolamine でブロックし, acetate buffer と RAST buffer で洗浄し, ヒマワリの種子抗原カップリングペーパーディスクを作成した. 特異 IgE 抗体はファデザイム RAST キット(Pharmacia, Sweden)を用いて測定した. また3名のアトピー型気管支喘息児(総 IgE 値はそれぞれ2300, 5000, 93IU/ml で RAST でダニ強陽性, 食物抗原にも多項目に陽性を示す)の血清でも行った.

5. SDS-PAGE (Fig. 1)

作成したヒマワリの種子抗原を5%メルカプトエタノールを添加し, 5分間煮沸後, 15~25%の gradient gel(第一ビュアケミカルズ化学薬品株式会社, 東京)を用いて直流20mA で電気泳動した.

6. Western blotting (Fig. 1)

SDS-PAGE で泳動された蛋白をゲルからニトロセルロース膜に転写(60V, 18時間)し, 0.1%Tween 20(TBS で希釈)で洗浄後, 3% Geratin 加工 TBS でブロッキングした. 洗浄後患者血清と一晚反応させ, 再び洗浄し¹²⁵I ラベルの抗ヒト IgE 抗体(Pharmacia, Sweden)と一晚反応された後, 洗浄し X 線フィルム(Kodak)上に3週間で感作抗原分画を検出させた. またコントロールとして非アトピー血清(3名)および TBS を, 患者血清と同様に反応させた.

結 果

1. ヒマワリの種子抗原によるアレルギー検査 (Table 2)

プリックテストの結果は20倍液では7 $\times$ 18/35 $\times$ 35

1. SDS-PAGE

10~20% GRADIENT GELS

(DAIICHI PURE CEMIKALS, Tokyo)

running condition: 20mA of constant current
in reduced sample buffer (5% mercaptoethanol)

2. Western blotting

- a. Transfer of protein to the nitrocellulose membrane (Biorad)
60V, 18hrs
← washing with TBS +0.1% Tween 20
← blocking TBS +3% Gelatin (1hr)
+0.1% Tween 20
← washing with TBS +0.1% Tween 20
- b. Incubation with sera ($\times 1$) overnight
← washing with TBS+0.1% Tween 20
- c. Incubation with ^{125}I labeled anti-human IgE antibody (Pharmacia, Sweden) overnight
← washing with TBS+0.1% Tween 20
- d. Application to the X-ray film (Kodak, U.S.A.)
3weeks

Fig. 1. Procedure for detecting of major allergen of sunflower seed.

mm (膨疹/発赤), 10倍液では $8 \times 10/35 \times 35\text{mm}$ でいずれも陽性であった。

皮内閾値は 10^{-8} (重量/容量比) と極めて低濃度まで陽性を示した。ヒマワリの種子抗原の RAST スコアは 3 (10.1PRU/ml) であった。また同時に行った 3 名のアトピー型気管支喘息児血清においては, RAST スコア 0 ($< 0.34\text{PRU/ml}$) であった。

2. ヒマワリの種子抗原の感作分画の検討 (Fig. 2)

SDS-PAGE, Western blotting で得られた結果を Fig. 2 に示す。SDS-PAGE では 16 本のバンドが認められた。患児の IgE はそのうちの 13.5Kd のバンドに反応していた。コントロールとして行った非アトピー血清および TBS では反応は認められなかった。

考 案

ヒマワリの種子に対するアナフィラキシーの報告としては, これまで Noyes が 3 例¹⁾, Halsey が 2 例²⁾ 報告しているが, 我々が検索した範囲では, 本邦では報告がない。報告例と自験例を一覧表にして Table 3 にまとめた。報告例の症状としては, 数分から数十分で蕁麻疹および気管支攣縮や喉頭浮腫による呼吸困難がみられ今回の症例のように, 低血圧を呈する症例およ

Table 2 Allergological test
with sunflower seed

1. Prick test	
W/V; 1:20	$7 \times 8/35 \times 35\text{mm}$
W/V; 1:10	$8 \times 10/35 \times 35\text{mm}$
negative control	$1 \times 1/2 \times 2\text{mm}$
2. Intracutaneous test (end point)	
10^{-8}	
3. RAST	
10.1PRU/ml (score 3)	

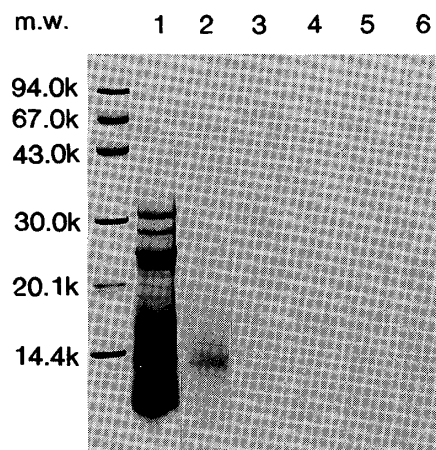


Fig. 2. Detection of specific IgE-binding to extracts of sunflower seed by SDS-PAGE (1) and Western blotting method, using patient serum (2), non-atopic sera (3-5) and TBS (6).

び意識障害をきたす症例も認められている。総 IgE 値は正常から高値を示すものまで様々であったが, ヒマワリの種子抗原による皮膚テストあるいは RAST は陽性であったと報告されている。今回の症例もヒマワリの種子を食べてから 15 分後に症状が出現し, 自家製のヒマワリの種子抗原による皮膚テスト, RAST の結果からヒマワリの種子によるアナフィラキシーと考えられた。なお, 今回使用したヒマワリの種子抗原の材料は患児が摂取したものと同一であるが, 商品化の過程で生のヒマワリの種子を菜種油とパーム油を用いて煎り, 食塩, グルタミン酸ソーダで味付けを行ったものである。今回の検討では, 脱脂, 透析しているために自家製ヒマワリの種子抗原には油脂や添加物は混入していないと考えられる。プリックテスト, 皮内反応, および RAST の結果より, 本症例では, 添加物ではなくヒマワリの種子に対するアレルギーが存在すると考えられた。

キク科であるヒマワリの花粉およびヒマワリから採

Table 3 Case reports of anaphylaxis to sunflower seed

case	Age	Sex	Symptoms	Total IgE (IU/ml)	RAST score (sunflower seed)	Scratch or Prick test (wheal size in mm)
1	58	M	tingling lips, itching, abdominal pain, angioedema, bronchospasm, hypotension	800	4	<4
2	11	M	generalized urticaria, bronchospasm	95	2	>10
3	50	F	generalized urticaria, facial angioedema, laryngeal edema, wheezing	67	2	5 × 8
4	37	F	urticaria, angioedema, nausea, vomiting, chest tightness, vascular collapse, loss of consciousness	58	4	16 × 16
5	29	F	urticaria, facial angioedema	ND	4	8 × 10
Pres.	11	M	dyspnea, nausea, vomiting, generalized urticaria, laryngeal edema, hypotension	300	3	7 × 18

れた蜂蜜に対するアレルギーも報告されているが³⁾⁴⁾, ヒマワリの種子とは交叉抗原性は有しないとされ, 花粉の吸入や蜂蜜の摂取による感作の可能性は少ないと考えられた. 今回の症状については, 幼児期に1度食べただけのヒマワリの種子により感作されていて症状を起こしたのか, あるいは交叉抗原性を持つ何らかの食物の摂取により感作されていたことも考えられた. しかし, RAST およびプリックテストでは調べられた範囲の食物の種子に対して陰性を示した. 今後, 他の食物との交叉抗原性については検討を要すると思われる.

Halsey らは, ヒマワリの種子に対してアナフィラキシーを起こすことが各種検査で証明されている2症例が, ヒマワリ油に対してはアレルギーを示さないと報告しており, ヒマワリの種子に多量に含まれる脂肪成分にはアレルギー性がないとしている²⁾.

今回の我々の検討からヒマワリの種子抗原における感作分画は少なくとも13.5Kdの蛋白成分に存在することが明らかになった. しかし1例のみの検討であり, この分画が major allergen であるのか, あるいは他にも minor allergen が存在するか等については, 更に多数例で同様の検討が必要である. ヒマワリの種子を食べる習慣はアメリカにおいてみられるが, その割には報告例が稀であることを考えるなら, アナフィラキシーを起こすことは比較的少ないと思われる. しかし, 特発性のアナフィラキシーとされたもののなかにヒマ

ワリの種子に対する皮膚テスト, 負荷テスト陽性の症例があったとの報告もある⁵⁾. 我が国でも近年, 食品の輸入増加に伴いヒマワリの種子が販売されるようになってきているため, 今後, 自験例のようにアナフィラキシーを起こす症例が増加する可能性が考えられ, 注意を要すると思われる.

文 献

- 1) Noyes, J.H., Boyd, G.K. and Settupane, G.A.: Anaphylaxis to sunflower seed. *J. Allergy Clin. Immunol.* **63**, 242-244, 1979.
- 2) Halsey, A.B., Martin, M.E., Ruff, M.E., Jacobs, F.O., Jacobs, R.L. et al.: Sunflower oil is not allergic to sunflower seed-sensitive patient. *J. Allergy Clin. Immunol.* **78**, 408-410, 1986.
- 3) Bousquet, J., Dhivert, H., Clauzel, A.M., Hewitt, B., Michel, F.B. et al.: Occupational allergy to sunflower pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* **75**, 70-74, 1985.
- 4) Birnbaum, J., Tafforeau, M., Vervloet, D., Charpin, J., Charpin J. et al.: Allergy to sunflower honey associated with allergy to celery. *Clin. Exp. Allergy* **19**, 229-230, 1989.
- 5) Stricker, W.E., Anorve-Lopertz, E., Reed, C.E.: Food skin testing in patients with idiopathic anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **77**, 516-519, 1986.

A CASE OF ANAPHYLAXIS CAUSED BY SUNFLOWER SEED

Masako Iwaya, Gyoukei Murakami*, Kyoko Kurose, Masatomo Matsuno, Yoichi Onoue, Miki Takayanagi,
Masako Kayahara, Yoko Adachi, Yuichi Adachi and Toshio Okada

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

**Department of Pediatrics, Toyama Red Cross Hospital*

A 14 years old boy experienced an anaphylactic reaction of dyspnea, vomiting, urticaria and hypotension after he ate sunflower seeds. Specific IgE-mediated hypersensitivity to sunflower seed extract was demonstrated by skin tests and radioallergosorbent test (RAST). By immunoblotting test analysis (SDS-PAGE, Western blotting method), the allergenic activity of sunflower seed were shown to be in the MW range of 13.5 Kd.
