

タンナルビンによるアナフィラキシーの3例

群馬大学医学部小児科

前田昇三 加藤政彦 森川昭廣 黒梅恭芳

タンナルビンは、日本薬局方で、タンニン酸とアルブミンの化合物とされ、その収斂作用により、止痢剤として、小児科領域で広く用いられている。今回我々は、下痢に対しタンナルビンを投与後、喘鳴、呼吸困難、蕁麻疹などの即時型アレルギー症状を呈した3症例を経験した。いずれの症例も、1歳前より気管支喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどの重症のアレルギー疾患を有しており、入院歴も頻回であった。また検査所見では、3例とも多種抗原に対して RAST 陽性を示し、特に牛乳の RAST score は4であった。そこで、タンナルビンの成分について検討したところ、本剤にはアルブミンの代わりに、蛋白質としてカゼインが使用されていることが判明した。アレルギー学的検討では、タンナルビンにて作成した disc を用いて RAST を施行したところ、全例 RAST score 4を示し、皮膚プリック試験でも陽性を認めたため、タンナルビンによる即時型アレルギーと診断した。今後は、牛乳アレルギーを有する患者への、カゼインを用いたタンナルビンの投与は、十分な注意が必要と考えられた。

Key words: anaphylaxis — casein — cow's milk allergy — specific IgE antibody — tannalbin

はじめに

タンナルビン、すなわちタンニン酸アルブミンは、日本薬局方¹⁾でタンニン酸とアルブミンとの化合物とされており、主に十二指腸で胆汁により分解され、タンニン酸を遊離する。タンニン酸²⁾³⁾は、植物界に広く分布し、苦みの原因をなすもので、組織の蛋白と結合し不溶性の沈澱を作ることにより収斂作用を発揮する。タンナルビンはこの収斂作用により、現在でも止痢剤として小児科領域で広く用いられている薬剤である。一方、アルブミンは、タンナルビンが口腔内で溶解されることを防ぐ目的で用いられたが、現在日本で使用されているタンナルビンは、アルブミンの代わりにカゼインを用いたタンニン酸カゼインであり、タンナルビンの類似品として日本薬局方に記載されている。今回我々は、下痢に対し、このタンナルビンを投与後、喘鳴・呼吸困難・顔面紅潮・蕁麻疹などの即時型アレルギー症状を呈した3症例を経験した。牛乳アレルギーの既往とプリックテスト、特異 IgE 抗体、Im-

munoblotting などの免疫学的検査からタンナルビンのアナフィラキシーと判明した。カゼインを用いたタンナルビンは乳製品そのものであり、牛乳アレルギーを有する患者への投与は、十分な注意が必要と考えられた。

症 例

症例1 1歳女児

既往歴：重症アトピー性皮膚炎、気管支喘息にて通院中。血液検査などより、乳児期から牛乳・卵・大豆の除去食療法を行っていた。

家族歴：父がアトピー性皮膚炎、母がアレルギー性鼻炎。

現病歴：

平成1年11月食欲低下、水様性下痢が出現したため、当科外来を受診し、タンナルビン、天然けい酸マグネシウムの投薬を受けた。同日昼、本薬を服用したところ10分後より咳嗽が出現、顔面紅潮、眼瞼浮腫が著明となり、呼吸困難も出現したため当科を再受診した。来院時、咳嗽があり、喘鳴が聴取された。また顔面紅潮、眼瞼浮腫を認め、軀幹には蕁麻疹がみられた。治療として、気管支拡張剤の吸入、ステロイド剤の内服を行い、1時間後に喘鳴は消失し、他の症状も徐々に

Received: July 6, 1993

Accepted: September 7, 1993

Abbreviations: BSA bovine serum albumin; RAST radioallergosorbent test; SDS-PAGE sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

Table 1 Laboratory findings 1

Case	Total IgE (IU/ml)	IgE RAST (score)							Eosino (%)
		Milk	Egg white	Soybean	Rice	Peanut	Df	HD	
No. 1	3601.1	4	4	2	3	4	2	2	15
No. 2	1850.6	4	3	2	0	1	4	4	1
No. 3	310.0	4	4	2	2	—	2	0	4

改善した。翌日には軽度の眼瞼浮腫を残すのみとなった。

症例2 19歳女性

既往歴：小児期より気管支喘息，牛乳アレルギーにて通院中。生後1カ月時初めて調整乳を哺乳したところ全身の発赤，浮腫が出現し，血液検査にて牛乳アレルギーと診断され，乳製品の除去食療法を行っていた。また，中学1年生時，牛乳誤摂取によるアナフィラキシーにて入院歴がある。

家族歴：父が湿疹，妹がアレルギー性鼻炎。

現病歴：

昭和60年2月12日腹痛，水様性下痢が出現したため当科外来を受診し，タンナルビン，天然けい酸マグネシウムの投薬を受けた。帰宅後，本薬を服用したところ，直後に口腔内に異常感があり，途中で服薬を中止したが，しばらくして喘鳴，呼吸困難が出現し，また腹痛の増強も認めた。しかし徐々に症状は改善し，やがて呼吸困難も消失したため，様子をみていた。翌日には軽度腹痛を残すのみとなった。

症例3 1歳男児

既往歴：生後5カ月時初めて卵製品を摂取したところ喘鳴呼吸困難となり入院し，以後食物アレルギーとして卵・牛乳・大豆などの除去食療法を行っていた。またその後は気管支喘息にて入退院を繰り返していた。

家族歴：従兄弟が気管支喘息。

現病歴：

平成2年6月18日喘息発作にて入院し，ネオフィリン持続点滴などの治療を受け，翌19日には喘息症状は改善傾向を示していた。ところが，6月20日になり下痢が出現したためタンナルビンとミヤイリ菌製剤を投与したところ5分後より喘鳴，呼吸困難が出現し，口唇にチアノーゼを認めた。直ちに酸素投与を開始したが，酸素投与後の血液ガス所見は，pH 7.066，PaCO₂ 71.2，PaO₂ 88.6，HCO₃⁻ 26.1，BE -11.8と，著明な呼吸性アシドーシスを認め，メイロン，ブレドニゾ

ロン静注，イソプロテノール持続点滴などを行い，数時間後には血液ガス所見は正常化し，呼吸困難も消失した。また，この間に全身に蕁麻疹が認められた。なお翌日には，軽度の喘鳴を残すのみとなった。

患者背景としての検査所見 (Table 1)

これら3症例のアレルギー検査所見については，血清総IgE値は310IU/mlから3601.1IU/mlと高値を示した。特異IgE抗体価は3例とも食物を含めた多種抗原に対して陽性を示し，特に牛乳のRAST scoreは全例4であった。末梢血好酸球数は，アトピー性皮膚炎症状の著明な症例1では15%と明らかな増加を示し，症例3は4%と軽度の増加を認めた。しかし成人である症例2では1%と正常範囲内であった。またブリックテストは症例1では牛肉と鶏肉，症例2では全卵のみ施行されていたが，いずれも陽性で，症例3は普段の症状が重篤なため施行されていなかった。

方 法

1. 抗原の作製

抗原は，タンナルビンに精製水を加え，アルカリ (NaOH) にて溶解した後，0.1N HCl にて pH 7に調整した水溶液を用いた。この水溶液をモルカット (HK スタットキット 分画分子量100000, MILLIPOA 社) にて限外濾過し，不溶物を除去した。なお，カゼインも同様の操作で水溶液を作成した。

2. ブリックテスト

上記抗原液を50%グリセリン加生理的食塩水にて希釈し，1.0mg/ml，0.5mg/ml，0.1mg/mlの各濃度のタンナルビン抗原液を作成し，薄い濃度より順次ブリックテストを行い，陽性となった濃度を閾値とした。また，同時にカゼインおよびウシ血清アルブミン (BSA) もそれぞれ同じ濃度に希釈し，同様にブリックテストを施行した。なお，ブリックテストは健康成人2名に対しても施行し比較した。

3. 総 IgE 抗体及び特異 IgE 抗体の測定

血清総 IgE は、Phadebas IgE PRIST kit (Pharmacia 社) を用いて測定した。

特異 IgE 抗体は、上記方法にて抽出作成したタンナルビンと BSA の抗原を、宮本や Ceska の方法⁴⁾⁵⁾に従い disc に結合させ、その disc を用いて RAST 法にて測定した。すなわち、cyanogen bromide で活性化した直径 6mm の paper disc (東洋濾紙 No. 6) に、各々の抗原を加え、coupling し、この disc に患者血清 50 μ l を加え 3 時間 incubate した後、洗浄し、¹²⁵I anti-IgE と 18 時間 incubate した。再び洗浄後、paper disc に結合した radioactivity をガンマカウンター (Aloka 社製, auto well system, JDC-755) で測定した。判定は、RAST キット付属の標準血清および標準 disc を用いた場合のカウント数から RAST score 0, 1, 2, 3, 4 で表示した (Phadebas RAST Kit, Pharmacia 社)。一方牛乳については Pharmacia 社製牛乳 disc を用い、上記の RAST 法で施行した。

4. RAST 抑制試験

RAST 抑制試験は、作成したタンナルビン、カゼイン、BSA の抗原を dilution buffer (0.05M phosphate buffer, 0.9% NaCl, 0.3% human serum albumin, 0.05% NaN₃, 0.1% Tween 20, pH 7.4) にて 10mg/ml より 10 倍の希釈系列で希釈し、それぞれを同量の患者プール血清と混合し 37°C, 3 時間 incubate した。つづいてタンナルビンの disc にこの混合液 50 μ l を加え、以後 RAST 法と同様の操作を行った。なお、抗原液の代わりに dilution buffer のみを使用した場合をコントロールとし、そのカウントをもとに抑制率を計算し、% で表示した。また、これらの実験は全て duplicate で行い、その平均値を求めた。

5. Immunoblotting

タンナルビンの抗原活性については、Immunoblotting 法にて検討した。すなわち、作成したタンナルビンの抗原 (4mg/ml) を、sample buffer (0.5M Tris/HCl, 2 mercaptoethanol, 0.05% BPB, pH 6.8) で 5 倍に希釈し、95°C, 5 分間煮沸後、TEFCO 社製 12% SDS-PAGE mini を用い 18mA にて電気泳動した。つづいて泳動された蛋白を、ゲルからニトロセルロース膜に 180mA にて 1 時間で転写し、blocking buffer (3%ゼラチン, Tris buffer) でブロッキング処理した後、抗体 buffer (1%ゼラチン, Tris buffer) にて 2 倍に希釈した患者血清を加え、室温にて 24 時間 incubate した。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgE

抗体 (DAKO 社) を加え、室温にて 6 時間 incubate し、再び洗浄後、4-chloro-1-naphtole を基質とした発色液にて発色させた。なお、分子量を求めるため、マーカーとして低分子域スタンダード (LMW kit E, Pharmacia 社) を用いた。

結 果

1. タンナルビンについての検討

タンナルビンのタンニン酸はガロイル没食子酸で Fig. 1 に示す構造である。一方アルブミンについては、初期は卵アルブミンが用いられていたとのことだが、1990年に上記の症例を経験した時点ではアルブミンと記載されているのみで、種類は不明であった。そこでタンナルビンの蛋白を確認するため、精製水を加え攪拌したが、タンナルビンは不溶性であり、またアルコール、クロロホルム、酸にても溶解されず、アルカリ (NaOH) にのみ溶解された。このアルカリ溶液中の蛋白の分子量を高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) で検討すると 30kD 以下に 2 つのピークが認められ、後に泳動した α 及び β カゼインのピークと一致した。

SDS-PAGE では、やはり分子量 30kD 前後に 2 つのバンドが認められ、同時に泳動した牛乳と比較すると、カゼインのバンドと一致した (Fig. 2)。また、タンナルビンの水溶液を pH 4.6 に調整したところ、沈澱物が出現した。これらの結果より、タンナルビンの蛋白成分はカゼインであると同定した。

2. プリックテスト

プリックテストでは、タンナルビンに対しては症例 1, 2, 3 すべてが、最も濃い濃度の 1mg/ml で陽性を示し、症例 2 のみ BSA とカゼインに対しても同様 1mg/ml の濃度で陽性を示した。なお、健康成人 2 名ではいずれも陰性であった (Table 2)。

3. 特異 IgE 抗体価 (RAST 法)

タンナルビンに対しては 3 例とも RAST score 4 (17.5 以上 PRU/ml) であり、BSA に対しては症例

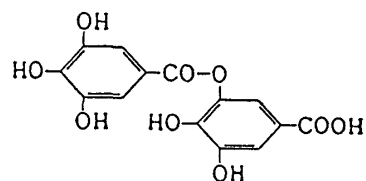
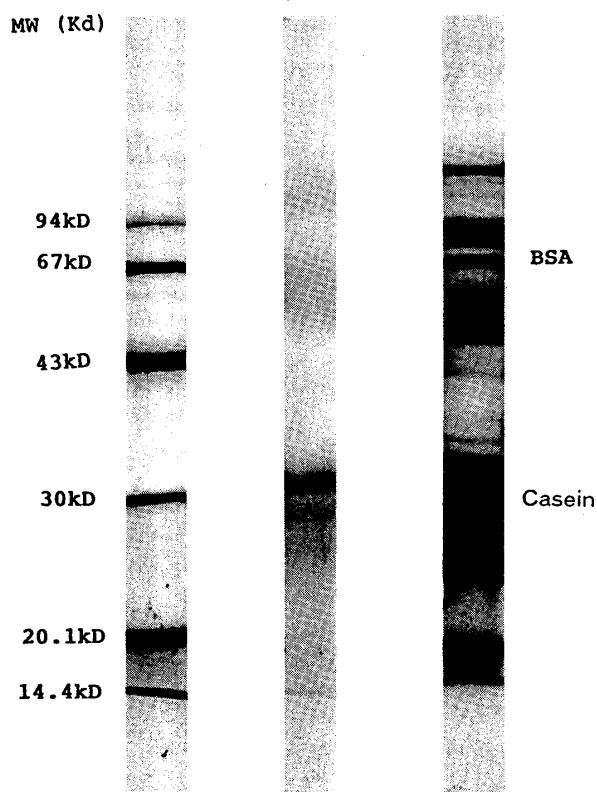


Fig. 1. Chemical structure of tannic acid.



Marker Tannalbin Cow's milk

Fig. 2. Fractionation of tannalbin and cow's milk by SDS-PAGE.

MW markers 94kD: phosphorylase b, 64kD: bovine serum albumin, 43kD: ovalbumin, 30kD: carbonic anhydrase, 20.1kD: soybean trypsin inhibitor, 14.4kD: α -lactalbumin

Table 2 Laboratory findings 2

Case	Prick test		IgE RAST score		
	Tannalbin	BSA	Tannalbin	BSA	Cow's milk
No. 1	+	—	4	0	4
No. 2	+	+	4	4	4
No. 3	+	N.M.	4	0	4
(Healthy 1	—	—	0	0	0
Adults) 2	—	—	0	0	0

N.M.: not measured

2のみ RAST score 4で、症例 1, 3は score 0であった。またカゼインに対する RAST は、施行した症例 2, 3はともに score 4であった。なお、同時に施行した健康成人 2名は、タンナルビン、BSA、牛乳ともに RAST score 0であった。

4. RAST 抑制試験

タンナルビン disc を用いた RAST 抑制試験の結果は、上記 3例のプール血清に対して、タンナルビンにより濃度依存的に抑制が認められ、50% inhibitionに必要な抗原量は $8\mu\text{g/ml}$ であった。また、カゼインでもタンナルビンとほぼ同様の抑制が得られ、BSA ではいずれの濃度でも抑制はみられなかった (Fig. 3)。

5. Immunoblotting

タンナルビンと牛乳を 3 レーンずつ SDS-PAGE にて電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写後、3 症例の血清をそれぞれ用い Immunoblotting 法にて IgE 抗体が結合する蛋白バンドを検討したところ、タンナルビンに関しては、症例 1 でごく薄く、症例 2 では薄

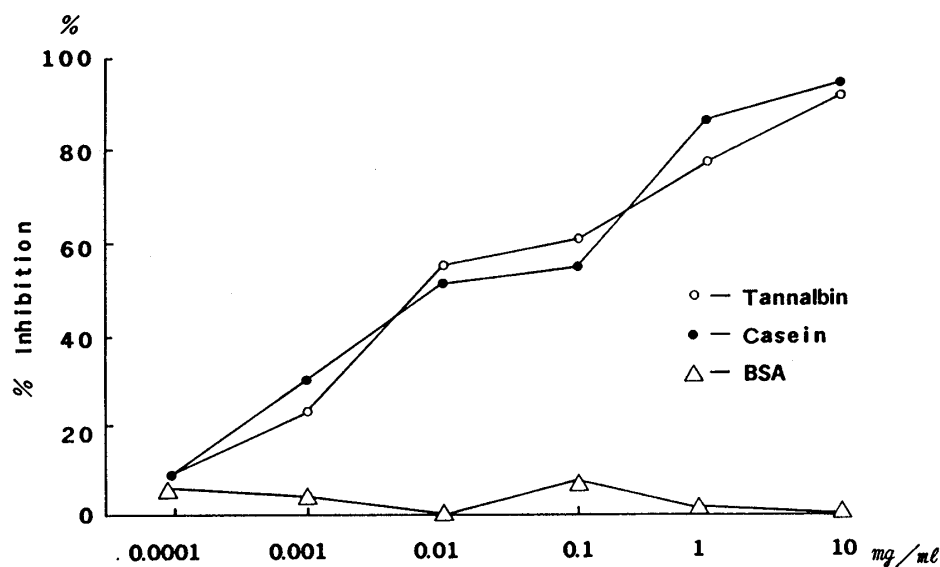


Fig. 3. Inhibition of tannalbin RAST with tannalbin, casein, BSA. The sera were from 3 patients with positive RAST to tannalbin.

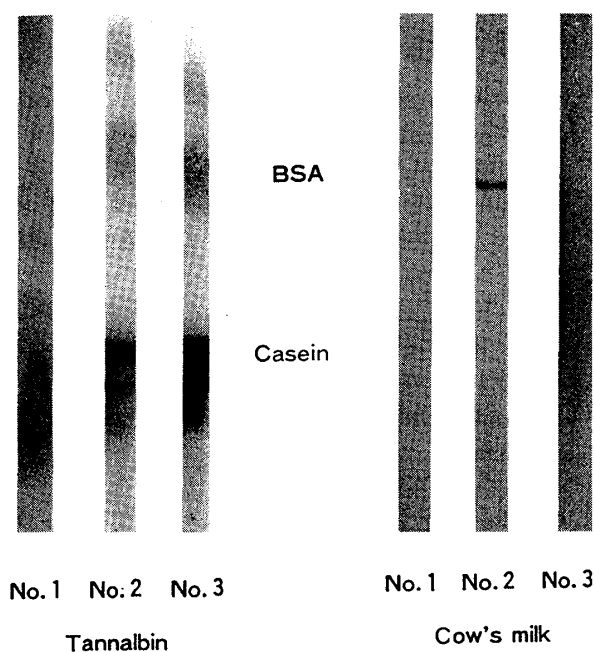


Fig. 4. Fractionation of tannalbin and cow's milk by SDS-PAGE and identification of IgE-binding components of tannalbin by Immunoblotting.

No. 1~3; patients sera.

く、症例3では濃く IgE 抗体の結合を認め、牛乳に関しては、症例2では BSA の位置に濃く、症例3ではカゼインの位置にごく薄く、IgE 抗体の結合を認めた (Fig. 4).

考 案

薬剤アレルギーのうちで日常診療において最も懸念すべき反応は、特異 IgE 抗体にもとづく全身性アナフィラキシー反応であり、多くの報告がなされてきた。原因薬剤としては、抗生物質や鎮痛解熱剤など様々な薬剤が挙げられているが⁶⁾⁷⁾、タンナルビンに関しては、我々が1990年に学会報告するまで、薬剤アレルギーの報告はみられず、能書にもアレルギーに関する注意書きはみられなかった。

今回我々は、上記3症例のエピソードよりタンナルビンによるアナフィラキシー反応を疑い検討したところ、HPLC・SDS-PAGE・RAST 抑制試験等の結果より、患者に投与されたタンナルビンにはカゼインが用いられていることが、また日本で製造されているタンナルビンはすべてアルブミンの代わりにカゼインを使用したタンニン酸カゼインであることが判明した。

牛乳アレルギーにおけるカゼインの抗原性については、牛乳アレルギーの患者21名中20名に特異 IgE 抗体が検出されたという B. Gjesing らの報告⁸⁾や、牛乳アレルギー児用に用いられているカゼイン分解乳でさえアナフィラキシーの報告⁹⁾があるように、カゼインは β -ラクトグロブリンや α -ラクトアルブミン¹⁰⁾と同様、主要な牛乳抗原の一つと考えられている。すなわち、タンニン酸カゼインであるタンナルビン牛乳アレルギーを有する児に投与するとアナフィラキシー反応を呈する可能性は十分に考えられるはずである。

以上の点で、牛乳アレルギーの既往のある本3症例の症状はいずれも、タンナルビンに対するアナフィラキシー反応と考えられ、ブリックテスト、特異 IgE 抗体価、RAST 抑制試験、Immunoblotting などの結果も、この診断を支持していた。

さて、1895年 Knoll により創製されて以来、約一世紀に渡り、安全な止痢剤として頻用されてきた薬剤であるタンナルビンについて、なぜ今までアレルギーに関する報告がみられなかったのであろうか。近年、牛乳アレルギーを含めた食物アレルギーの増加などが影響している可能性も考えられるが、我々が学会報告したのち、さらに3例の報告¹¹⁾¹²⁾があり、今までタンナルビンが乳製品であるという認識がなく、このような症例が見落とされていたという可能性も考えられる。また、今回の結果からは、タンナルビンでは3例ともブリックテストが陽性となるものの、カゼイン単独では陽性とならない症例があり、タンニン酸が免疫活性になんらかの関与をしている可能性も考えられた。

また、今回の Immunoblotting の結果から、これら3症例は牛乳蛋白中の BSA やカゼインに対しては IgE 抗体の結合が認められるものの、 β -ラクトグロブリンや α -ラクトアルブミンに対しては IgE 抗体の結合が認められておらず、カゼインの牛乳蛋白に占める割合を考え合わせると、牛乳抗原としてのカゼインの重要性が示唆された。

今回の3例は多種抗原に対して RAST 陽性を示すなど、特にアレルギー体質が強い症例と思われるが、タンナルビンは現在でも小児治療指針などのマニュアル¹³⁾¹⁴⁾で止痢剤としての主要な地位を占め、多くの施設で用いられている薬剤であり、今後は、日本薬局方の注意書きに追加されたように、牛乳アレルギーを有する患者への本剤の投与は慎重に行われなくてはならない。

また、“nondairy”という表示の食品あるいは牛乳使

用に関する表示のない食品を牛乳アレルギーの児が摂取してアナフィラキシー反応を呈し、その食品を検討したところ乳清蛋白の混入が認められたとの報告¹⁵⁾があるように、現在食品の成分表示についても問題視されてきている。また食物由来の蛋白質を用いた薬剤として、鶏卵由来の塩化リゾチームを卵アレルギーの児に投与してショック症状を呈した症例の報告¹⁶⁾¹⁷⁾があるように、最も信頼されるべき薬剤については、今後は様々な食物アレルギーを考慮し、薬剤そのものの内容はもちろん、賦形剤などの内容に関しても正確に表示し、周知させる必要があるのではないかと考えられた。

文 献

- 1) 日本公定書協会：日本薬局方解説書，第11改正，広川書店，東京，pp.C-1011-1013，1986。
- 2) 山田常雄編：生物学辞典，第3版，岩波書店，東京，pp.821-822，1986。
- 3) 日本公定書協会：日本薬局方解説書，第11改正，広川書店，東京，pp.C-1009-1011，1986。
- 4) 宮本昭正，真野健次，伊藤幸治，富谷百合子，堀内淑彦：paper diskを用いてのradioallergosorbent test (RAST)に関する研究，アレルギー 22，584-593，1973。
- 5) Ceska, M., Eriksson, R. and Varga, J.: Radioimmunosorbent assay of allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 49, 1-9, 1978。
- 6) 中村正治：薬物アレルギー，臨床薬理 18，437-440，1987。
- 7) 瀬戸嗣朗，三河春樹：薬剤アレルギー，小児科臨床 39，1800-1807，1986。
- 8) Gjesing, B., Osterballe, O., Wahn, U. and Lowenstein, H.: Allergen-specific IgE antigenic components in cow milk and milk substitutes. *Allergy* 41, 52-56, 1986。
- 9) Saylor, J.D. and Bahna, S.L.: Anaphylaxis to casein hydrolysate formula. *J. Pediatrics* 118, 71-74, 1991。
- 10) Goldman, A., Anderson, D.W. Jr., Sellers, W.A., Saperstein, S., Kniker, W.T. and Halpern, S.R.: Milk allergy. I. Oral challenge with milk and isolated milk proteins in allergic children. *Pediatrics* 32, 425-443, 1963。
- 11) 医薬品副作用情報，No. 110，1991。
- 12) 松本 勉，大塚 武，内田啓司，尾登 誠，桑原圭子，他：タンニン酸アルブミンによるアナフィラキシーショックの1例，アレルギー 41，360，1992。
- 13) 今日の小児治療指針，第8改訂，医学書院，東京，1987。
- 14) 入戸野博，新小児医学大系 小児治療学総論 I，中山書店，東京，p.345，1985。
- 15) Gern, J.E. Yang, E.B.S., Evrard, H.M. and Sampson, H.A.: Allergic reactions to milk-contaminated "nondairy" products. *N. Engl. J. Med.* 4, 976-979, 1991。
- 16) 里見正義，里見行義，牛島信雄：塩化リゾチーム過敏の1症例，日小会誌，86，1504，1982。
- 17) 大野秀子，宮田 曠：塩化リゾチームによるアナフィラキシーショックから allergic march の経過をとった1例，小児科臨床 41，1049-1052，1988。

THREE CASES OF ANAPHYLAXIS BY TANNALBIN

Shozo Maeda, Masahiko Kato, Akihiro Morikawa and Takayoshi Kuroume
Department of Pediatrics, Gunma University School of Medicine

We reported 3 cases of patients developed moderate to severe anaphylactic reaction induced by tannalbin as antidiarrhoeica. Specific IgE-mediated hypersensitivity to tannalbin was demonstrated by history, prick skin test, RAST and Immunoblotting. We also certified that tannalbin is composed by tannic acid and casein using HPLC and SDS-PAGE.