

ハムスター飼育気管支喘息患者における ヒスタミン遊離試験の臨床的有用性

聖マリアンナ医科大学呼吸器・感染症内科

積 玲子

近年、我が国ではペットの飼育がブームとなり、ハムスターやモルモットなどのゲッ歯類も一般家庭で飼育されるようになった。その結果、ハムスター飼育が関与していると思われる気管支喘息患者(HKA)が急速に増加し、1997年にはペット飼育患者の20%にも及んでいるとの報告もある。当院で経験したHKA 28例を対象に、ハムスターアレルゲンを用いたヒスタミン遊離試験(HRT)を行い、血清特異的IgE抗体測定(CAP RAST)と比較して、臨床上的有用性を検討した。HRTは全血とHRT測定試薬による蛍光強度測定法を用いた。HKAのうちCAP RAST陽性例12名中7名及びCAP RAST陰性例16名中4名で15 ng/ml以上のヒスタミン遊離を認めた。これらのことより、HRTとCAP RAST両試験はともに、HKAの病因検索に有用であることが示唆された。また、HKA 28例のうち5例で飼育中に比して飼育中止後で喘息症状が改善し、HRTクラスの低下を認めたが、CAP RASTの推移は異なったことよりHRTは治療効果を判定する上でも有用であると考えられた。

Key words : asthma — hamster epithelium — histamine release test

はじめに

気管支喘息の原因となるアレルゲンとしては室内塵、ダニ、花粉などがある。他にも、ペットとして飼育されるイヌやネコの皮膚及び毛もアレルゲンとしての頻度が高いことが知られている。近年、我が国では、ペットブームを反映して、小動物であるハムスター飼育が増加している。それに伴い、ハムスター飼育後喘息症状を主訴に来院する患者が増えている。

気管支喘息の治療においては、関与するアレルゲンが明らかな場合には、その回避が最も重要視されなければならない。原因アレルゲンの検索には、米国アレルギー学会では問診とともに皮内テストが標準法として推奨されている^{1) - 3)}。一方、我が国では血清中アレルゲン特異IgE抗体(CAP RASTなど)の測定法が汎用されている。これには、医療保険制度の違いや、*in vivo*の検査法である皮内反応に比べて*in vitro*の検査

で、より簡便で安全に行えるなどの理由が考えられる。しかし、気管支喘息においては、吸入性アレルゲンが重要で、その確定には吸入誘発試験を行う必要がある。この検査は、時として危険を伴うことがあり、臨床の現場で行うことは実際には困難である。一方、最近開発されたヒスタミン遊離試験(histamine release test以下HRTと略)^{4) - 11)}は、I型アレルギー反応を*in vitro*で再現するものであり、生体反応に最も近い検査法であるといわれている。

今回、我々は、最近ペット喘息の一つとして患者の増加が問題になっているハムスター飼育が原因となったと考えられる気管支喘息患者(adult asthmatic patients who keep hamster以下HKAと略)を対象に、ハムスター抗原を用いたHRTを行い、CAP RASTと比較してその臨床的有用性を検討したので報告する。

対 象

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科外来通院中の42名を対象とした。患者の内訳は、ハムスター飼育中に喘息を発症した28名(男性12名、女性

Received : May 31, 2001

Accepted : October 2, 2001

Abbreviations : **HKA** adult asthmatic patients who keep hamster ; **HRT** histamine release test ; **NHKA** adult asthmatic patients who do not keep hamster ; **RAST** radioallergosorbent test

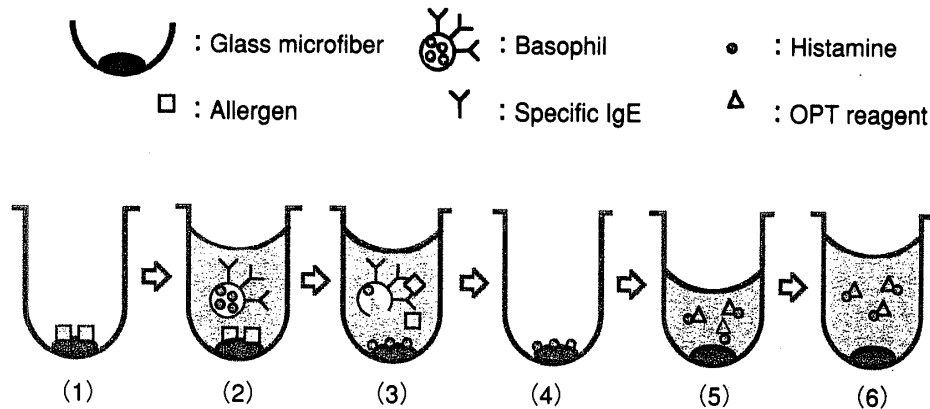


Fig. 1. A method of HRT measurement.

16名)およびハムスター飼育のないダニ陽性アトピー型成人気管支喘息患者 (adult asthmatic patients who do not keep hamster 以下 NHKA と略) 14名 (男性9名, 女性5名)である。また, コントロールとして, 健常者11名 (男性5名, 女性6名)についても検討した。HKAの平均年齢は44.5歳。ハムスター飼育期間は3~96カ月, 平均31.3カ月。HRT測定時, ハムスターを飼育していた患者は12名, 飼育をやめていた患者は16名であった。NHKAの平均年齢は42歳, 健常者の平均年齢は30.7歳であった。喘息スコアは, 日本アレルギー学会気管支喘息重症度判定の程度 (症状なし-0, 胸苦しい-1, 喘鳴-2, 軽度-3, 中等度-4, 高度-5) で示した。

方 法

上述した症例に対し, グリアー社製ハムスター上皮由来アレルゲンをを用いたHRTとCAPRAST法によるハムスター特異IgE抗体価を同時に測定し比較検討した。

1. ヒスタミン遊離試験 (HRT)

HRTの測定原理および測定手順は, 既報⁵⁾に従ったがその概略は以下の通りである。

1) 測定原理および手順

本法は, ヒスタミンの結合担体としてグラスファイバーを用いたマイクロプレートによるものである。Fig. 1にその測定原理を示す。

①ウエルにハムスターアレルゲン溶解液25 μ lを入れてアレルゲンを溶解。次に, 全血25 μ lを添加し, 37 $^{\circ}$ Cで90分間反応させ, 好塩基球からヒスタミン遊離を

起こさせる。

②蒸留水で洗浄し, 血漿と細胞成分を除去した後, プレートに洗浄液200 μ lを添加し, 37 $^{\circ}$ Cで60分間静置し, 残存する蛋白成分を除く。

③グラスファイバーに結合しているヒスタミンにOPT試薬を添加して発光させ, 発光強度を測定し, ヒスタミン遊離量を定量した。アレルゲンの最高タンパク濃度は, 1.9 μ g/l。希釈方法は, 最高タンパク濃度から5倍希釈で10段階の希釈系列を作製し, 順次1~10とした。

2) クラス判定法

クラス判定は, 最高アレルゲン濃度を基準に3.5倍希釈の6濃度と仮定して行っているが, 実際の測定では, アレルゲンは5倍希釈であるため, 3.5倍希釈系列時に遊離したと想定されるヒスタミン量を算出し, クラス判定を行った。今回の検討では, 最高アレルゲン濃度でのみカットオフ値を越えるヒスタミン遊離がみられる場合をクラス1, 最高濃度の3.5倍希釈の点でもカットオフ値以上の遊離がみられる場合をクラス2, 3.5倍の3乗倍希釈の点まで遊離がみられる場合をクラス3, 3.5倍の5乗倍希釈の点まで遊離がみられる場合をクラス4とし, 陽性と判定した。また, アレルゲン濃度が最高の場合にも基準値以上のヒスタミン遊離が得られない場合をクラス0とした。なお, HRTのカットオフ値は15 ng/mlとした。

2. 特異IgE測定法 (CAPRAST)

CAPRAST (Pharmacia Upjohn) の添付文書による方法で行った。判定はCAPRASTクラス0, 1, 2, 3, 4, 5, 6の7段階とし, クラス2以上を陽性とした。なお, 抗原にはハムスター上皮を使用した。

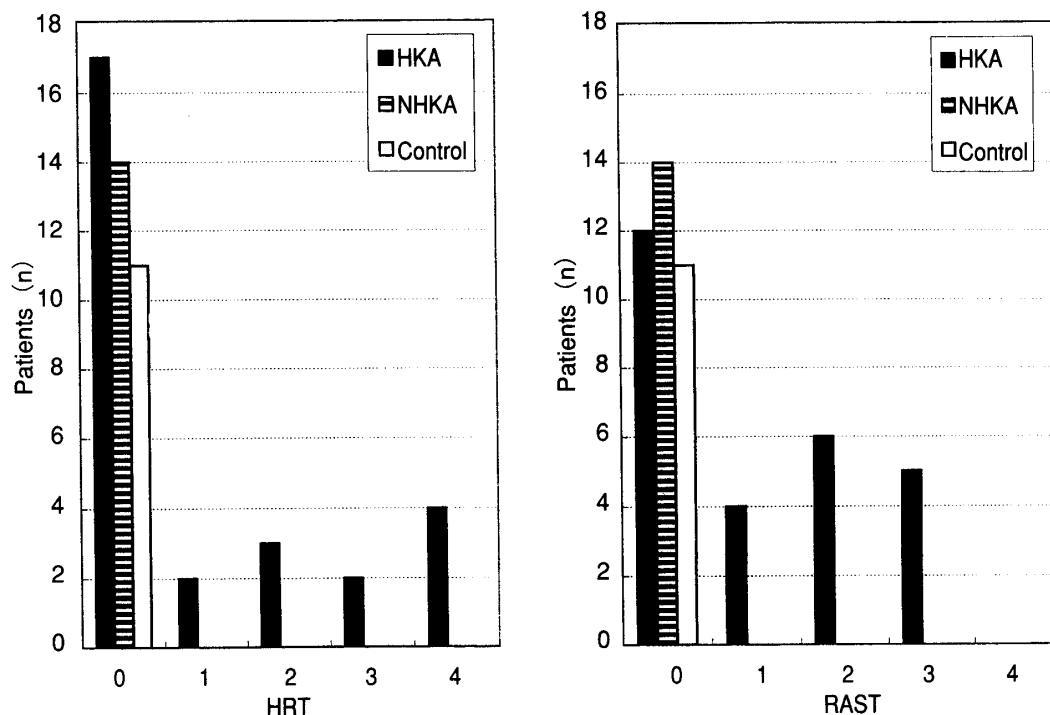


Fig. 2. A comparison of HRT and CAP RAST scores in the first medical examination. Eleven out of 28 patients (HKA) showed positive response by HRT. Twelve out of 28 patients (HKA) showed positive response by RAST. None of NHKA or normal controls showed positive response by HRT or by RAST.

3. 統計学的検討

2変量間の相関関係は、Spearman の順位相関係数で検討し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 初診時の HRT と CAP RAST (Fig. 2)

HKA 28 名の中で、初診時の HRT は 11 名が陽性 (39.3%)、17 名が陰性であった。一方、CAP RAST においては 12 名が陽性 (42.9%)、16 名が陰性であった。また、HRT、CAP RAST とともに陽性は 7 名 (25.0%)、HRT と CAP RAST とともに陰性は 12 名 (42.9%)、HRT が陽性で CAP RAST 陰性は 4 名 (14.2%)、HRT が陰性で CAP RAST 陽性は 5 名 (17.9%) であった。NHKA 14 名とコントロール 11 名では、HRT、CAP RAST とともに陰性であった。また、HKA における初診時の HRT と CAP RAST の間には正の相関関係を認めた ($r = 0.38$, $p = 0.045$, Fig. 3)。

2. 喘息発症までの期間と HRT・CAP RAST (Fig. 4)

ハムスター飼育開始より、症状発現までの期間と

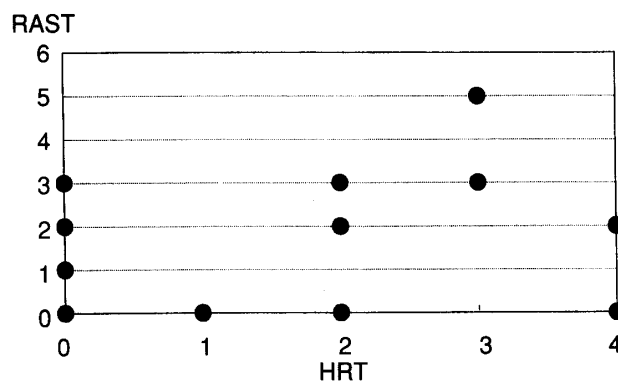


Fig. 3. Relationship between HRT and CAP RAST scores in the first medical examination in HKA. HRT and CAP RAST scores were correlated.

HRT、CAP RAST について各々検討した。両者に明らかな相関関係は認めなかった。

3. ハムスター飼育数と HRT・CAP RAST (Fig. 5)

飼育しているハムスターの数と HRT、CAP RAST について各々検討した。両者に明らかな相関関係は認めなかった。また、ハムスターの種類と HRT と CAP RAST の関係についても検討したが、明らかな相関関

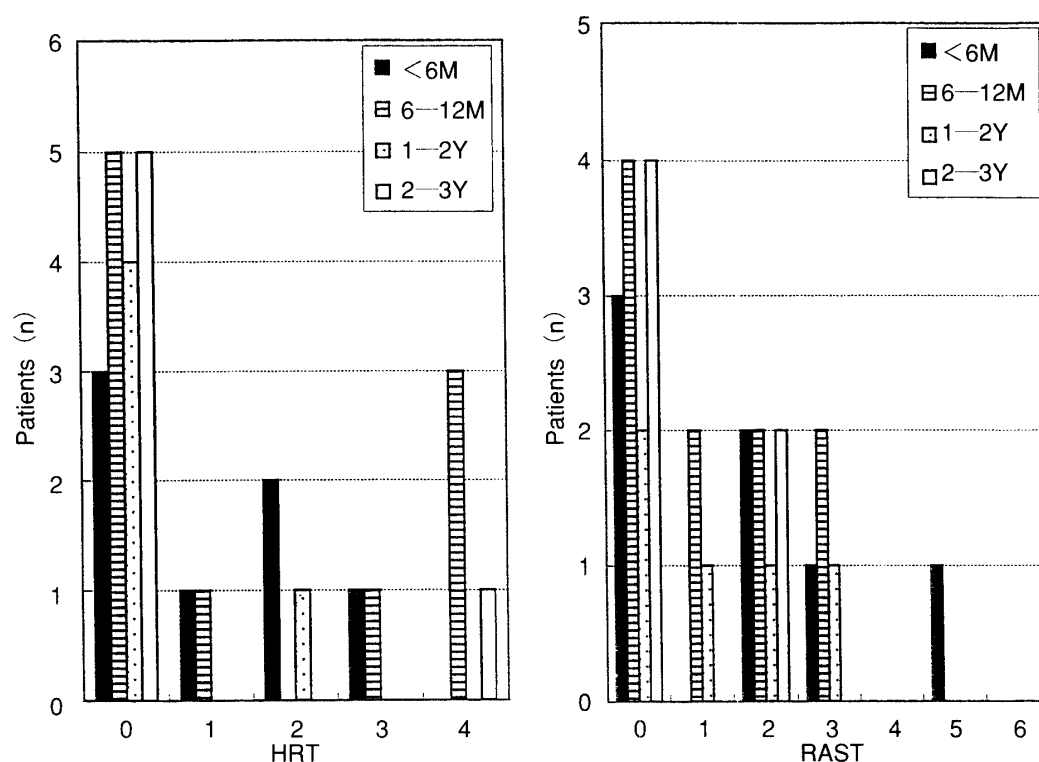


Fig. 4. Comparison of HRT and CAP RAST scores by the intervals of developing asthma. Neither HRT nor CAP RAST scores and intervals were correlated.

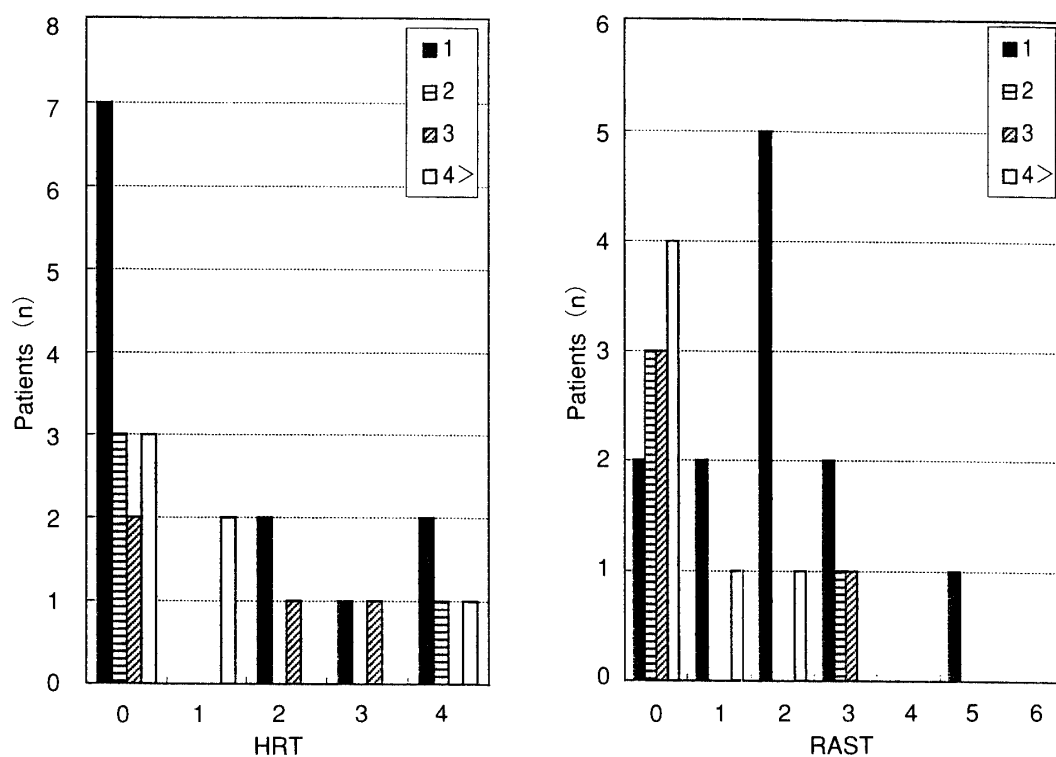


Fig. 5. Comparison of HRT and CAP RAST scores by the number of hamsters. Neither HRT nor CAP RAST scores and numbers were correlated.

係は認めなかった。

4. 喘息スコアと HRT・CAP RAST との関連 (Fig. 6)

HKA 28 名において、初診時の喘息の程度をスコア化し、HRT, CAP RAST について各々検討した。喘息スコアと HRT の間には、明らかな相関関係は認められなかった ($r=0.21, p=0.28$)。一方、喘息スコアと CAP RAST の間にも明らかな相関関係は認められなかった ($r=0.12, p=0.54$)。

HRT and RAST

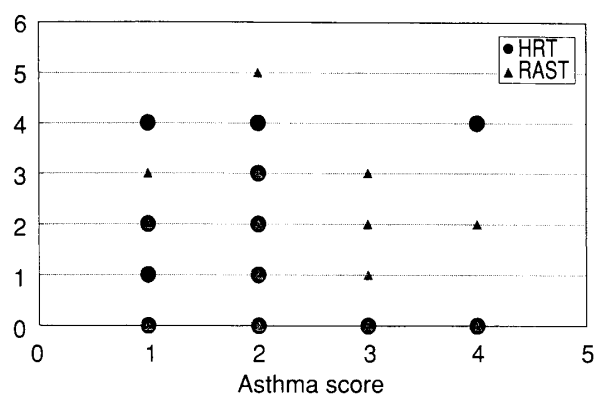


Fig. 6. Relationship between asthma scores and HRT or CAP RAST scores. Neither HRT nor CAP RAST scores and asthma scores were correlated.

5. 飼育の有無と喘息スコアの関係 (Fig. 7)

HKA 28 名のうち、飼育を途中で中止した 13 名と飼育を継続した 7 名において、飼育前後の喘息スコアについて検討した。

飼育を中止した 13 名は、全例飼育前に比べ喘息スコアの改善を認めた。飼育を続けている 7 名は、治療を開始していることもあり若干改善傾向にあった。

6. 飼育前後の HRT と CAP RAST の推移 (Fig. 8)

飼育中と飼育中止後で HRT を測定することが可能であった 5 名で検討した結果、飼育中止により全症例で HRT の低下を認めた。一方、CAP RAST の推移を検討した 10 名においては、飼育中止後 CAP RAST の低下を認めた症例は 6 名 (60%)、上昇した症例が 2 名 (20%)、変化なしが 2 名 (20%) であった。なお、同様に HKA 患者 28 名において、飼育中と飼育中止後で RIST を検討したところ、飼育を中止することで、RIST は若干低下する傾向があった。

考 察

気管支喘息の原因となるアレルゲンとして、ペットアレルゲンは非常に重要である。飼育されるペットは、これまでは主にイヌ、ネコが中心であったが、1995 年以降よりハムスターが急速に増加し、その飼育率が

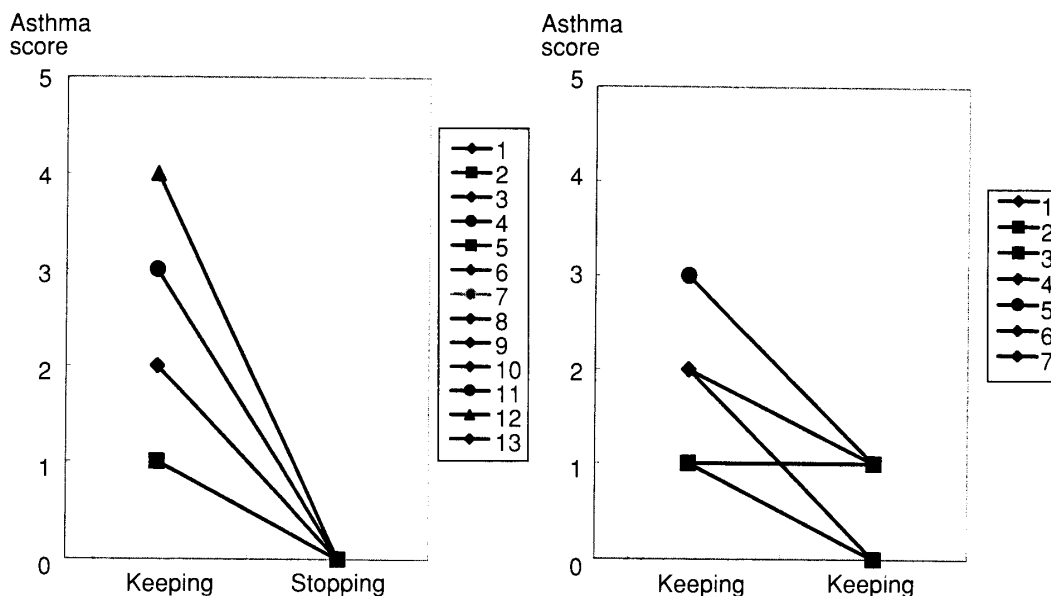


Fig. 7. Comparison of asthma scores between keeping and stopping keeping. Thirteen out of 28 patients (HKA) stopped keeping hamsters and they showed decreased asthmatic symptom scores.

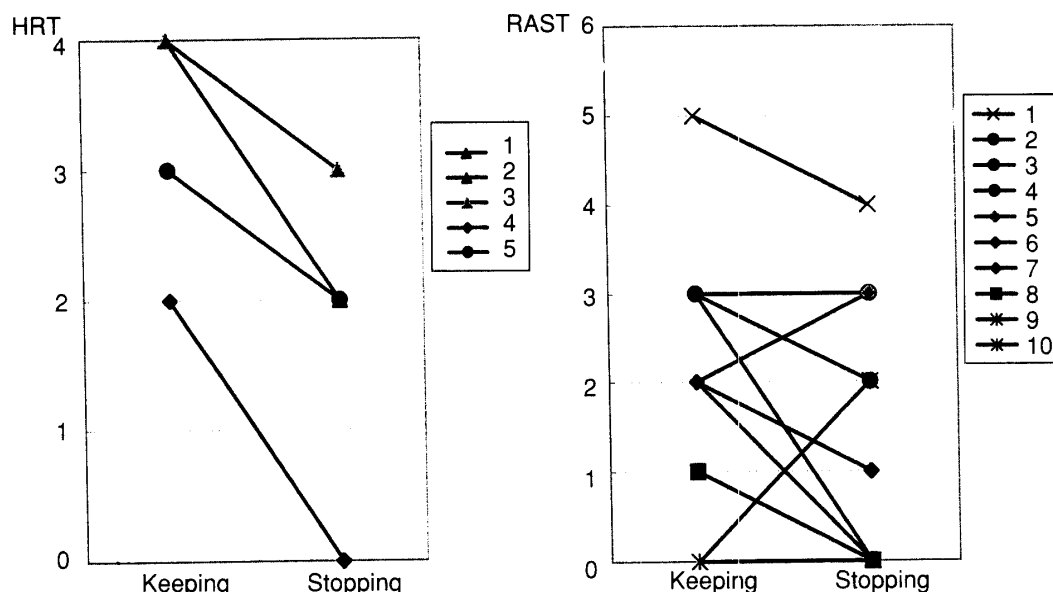


Fig. 8. Comparison of HRT and CAP RAST scores were analyzed before and after stopping keeping hamsters. Five subjects showed decreased HRT scores in all after stopping keeping hamsters, while six subjects out of 10 exhibited decreased CAP RAST scores.

ペット飼育気管支喘息患者の20%弱に及んでいるという報告もある¹²⁾。ゲッ菌類に属するハムスターによる喘息発症は、これまで実験動物飼育者にのみ問題とされていた¹³⁾。しかし、近年のペットブームの中で、ハムスターはマンション等屋内で手軽に飼育でき安価であるなどの理由から、一般家庭に急速に普及した。HKAの増加には、このような背景があると考えられる。

我々は、ハムスター飼育開始が契機となり喘息症状が発症した点、飼育中止や接触の機会を減らしてアレルギー暴露を減少させることにより臨床症状が改善した点より28名をHKAと診断し検討した。一般的には、HKAの臨床的特徴として、1)ほとんどの症例で、喘息発症までの期間が飼育開始後から1年未満と比較的短い、2)ハウスダストやダニなどとの重複感作のない例が多いことが報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。今回検討した28例でも、飼育開始後から喘息発症までの期間は平均13.4カ月であった。しかし、重複感作のない症例は、HRT陽性例11名のうち1名、CAP RAST陽性例16名のうち2名のみであり、これまでの報告¹⁶⁾とは異なる結果であった。HRT、CAP RASTの検査から実際にハムスターをアレルギーと同定しえたのは、CAP RAST単独では28名中12名(42.9%)、HRT単独では28名中11名(39.3%)、HRTまたはCAP RASTのい

ずれかが陽性となった症例は28名中16名(57.1%)であった。ハムスター喘息の診断に対するHRT、CAP RASTの感度、特異度は、各々HRTで39.3%、100%、CAP RASTで42.9%、100%であった。臨床的には、ハムスターを起因アレルゲンとして強く疑うが、HRT、CAP RASTでの陽性率が低い理由として、まず使用する抗原の問題がある。今回の検討では、HRT、CAP RASTともに、ハムスター上皮由来の抗原を使用しているが、一般にゲッ菌類では、毛、皮膚からの分泌物のみならず尿もアレルゲンとなることが知られている¹⁷⁾。抗原が異なれば、陽性率もまた変化すると考えられる。また、HRT施行にあたっては、好塩基球に免疫学的刺激を与えてもヒスタミン遊離をしない(non-releaser)があり、アレルゲンであったとしても陽性にはならないので注意が必要である。一方、CAP RAST陰性でHRT陽性の症例が28名中4名(14.2%)と少数ではあるが認められた。CAP RASTに用いたアレルゲンがグリア社製のアレルゲンとその組成が異なることにより、CAP RAST陰性でHRT陽性の症例が存在したと考えられる。今回の検討により、両者とともに検査することで、アレルゲン同定の確率を高めることが可能であることが明らかになった。

気管支喘息の治療は、現在吸入ステロイド等の薬物療法が主体であるが、原因となるアレルゲンが明らか

であれば、それを取り除くことがまず優先される。これらの、アレルゲンを同定する簡便で安全な方法として RAST は臨床の場面で頻繁に使用されてきた。この方法は、臨床的には感作アレルゲンの有無の判定に有用であるが、疾患の原因アレルゲンの確定や重症度判定を行うには限界がある。一方、HRT は RAST に比較して感度は劣るが、特異度に優れており、確定診断には有用性が高いと言われている^{18) 19)}。また、HRT は症状の強さを反映するヒスタミン量およびアレルゲン感受性の両者の測定が可能であり、患者のアレルゲンに対する反応性、感受性を評価できるとされる²⁰⁾。今回の我々の検討では、喘息症状の強さ(喘息スコア)と HRT, CAP RAST については明らかな相関関係は認められなかった。また、症状の改善度と HRT, CAP RAST の改善度を数量化し、各々検討したが、これらについても相関関係は認められなかった。その理由として、今回の検討では症例数が限られていたために、統計学的な有意差が現われなかった可能性も否定できない。しかし、症例数は少なかったが、飼育中止後に全例で HRT のクラスが低下したことは、抗原回避が HRT の結果に影響することを示唆するものであり、治療効果判定上有用性が高いと推定される。今後更に症例を増やし検討を重ねたい。

グラスファイバーを用いた HRT は、少量の血液で測定が可能であり、生体反応により近い *in vitro* の検査として注目されてきた。今回の検討から、HRT が HKA 確定の補助診断として有用性が高いことが証明された。さらに、治療効果判定の指標にも用いる可能性が示唆された。ペット飼育による気管支喘息は、家庭環境の変化などを勘案すると今後も増加すると推定されている。HRT 検査の特性を考慮し従来の検査法と併用することにより、ペット喘息の臨床診断や治療効果判定の有効性を高めることが期待される。

結 語

気管支喘息患者 42 名について、HRT, CAP RAST の測定を行い下記の結果を得た。

1) HKA 28 名において、HRT では 39.3%, CAP RAST では 42.9% でハムスター抗原に対して陽性であった。

2) HKA 28 名において、飼育開始と飼育中止後に HRT, CAP RAST 測定が可能であった一部の症例で

は、HRT では 100%, CAP RAST では 60% にクラスの低下を認めた。このことより HRT は治療効果判定上の有用性が高いことが示唆された。

稿を終えるにあたり、HRT の測定にご協力いただいた旭化成診断薬事業部、御指導、御校閲を賜りました聖マリアンナ医科大学総合診療科中村俊夫教授、聖マリアンナ医科大学呼吸器感染症内科中川武正教授に深謝いたします。

文 献

- 1) VanArsdel, P.P. Jr., Larson, E.B. : Diagnostic tests for patients with suspected allergic disease. *Ann. Intern. Med.* **110**, 304-312, 1989.
- 2) American College of Physicians : Allergy testing. *Ann. Intern. Med.* **110**, 317-320, 1989.
- 3) Lieberman, P., Anderson, J.A. : Allergic disease ; diagnosis and treatment. Humana Press Totowa NJ, pp. 27-36, 1997.
- 4) 中川武正 : アレルゲン試験管内評価法の現状と将来展望. 聖マリアンナ医大誌 **26**, 727-736, 1998.
- 5) 大山邦夫, 倉持健太郎, 芹沢 領, 岡本孝志, 山越勝, 他 : アレルギー診断薬 HRT の基礎的検討. 医学と薬学 **31**, 113-125, 1994.
- 6) 安枝 浩 : ヒスタミン遊離試験. 臨床免疫 **20** [Suppl. 13], 237-247, 1998.
- 7) 田部 一秋, 金子富志人, 川村則行, 大友 一守, 前田裕二, 他 : 全血法による多種抗原同時ヒスタミン遊離試験の臨床的検討—吸入誘発試験との相関について—. アレルギー **43**, 527-534, 1994.
- 8) 鎌田由美子, 荏原順一 : ヒスタミン遊離試験. 臨床科学 **34**, 817-820, 1998.
- 9) Skov, P.S., Norn, S., Weeke, B. : A new method for detecting histamine release. *Agents Actions* **14**, 414-416, 1984.
- 10) Skov, P.S., Mosbech, H., Norn, S., Weeke, B. : Sensitive glass microfibre based histamine analysis for allergy testing in washed blood cells. *Allergy* **40**, 213-218, 1985.
- 11) Nolte, H., Schiøtz, O., Skov, P.S. : A new glass microfibre based histamine analysis for allergy testing in children. *Allergy* **42**, 366-373, 1987.
- 12) 前田裕二, 工藤 誠, 富田尚吾, 長谷川真紀, 秋山一男 : アレルギー患者家庭における 10 年間のペット飼育の変遷. アレルギー **48**, 27-32, 1999.
- 13) 前田裕二, 大砂博之 : 宮本昭正(編集), 中川武正(企画) : 気管支喘息とその周辺 (I) 分子生物学からみた気管支喘息, 分子生物学からみた発症要

- 因—アレルゲン—ペット皮膚。現代医療社，東京，pp. 133-145, 1995.
- 14) 大砂博之，前田裕二，三田晴久，安枝 浩，金子富志人，他：ペットとして飼育していたハムスター・モルモットが原因抗原と考えられた気管支喘息の18例。アレルギー **46**, 1072-1075, 1997.
 - 15) 前田裕二：抗原除去（ハムスター）により劇的に症状の改善が見られた気管支喘息患者の一例。アレルギーの臨床 **18**, 729-732, 1998.
 - 16) 川合弘太郎，白井敏博，鈴木研一郎，千田金吾，中村浩淑：ハムスターの飼育を中止した後に無症状となった軽症アスピリン喘息の1例。日呼吸会誌 **38**, 298-301, 2000.
 - 17) Taylor, A.N., Longbottom, J.: Respiratory allergy to urine proteins of rat and mouse. *Lancet* **22**, 847-849, 1977.
 - 18) 岩崎栄作，山浦美砂，増田 敬，宮林容子，山口公一，他：グラスファイバーを用いた好塩基球ヒスタミン遊離試験の食物アレルギー診断における臨床評価—血清特異的IgE抗体，皮膚試験との比較—。アレルギー **43**, 609-618, 1994.
 - 19) 田所憲治，三田晴久，秋山 一男，早川哲夫，長谷川真紀，他：RAST用ペーパーディスクを抗原とする全血ヒスタミン遊離試験の臨床的検討—皮内テスト，RAST，眼反応との相関—。アレルギー **40**, 1447-1484, 1991.
 - 20) 宮本昭正，秋山 一男，金子富志人，馬場 実，岩崎栄作，他：多項目ヒスタミン遊離試験法HRTの特性とその臨床意義について。医学と薬学 **31**, 127-140, 1994.

CLINICAL USEFULNESS OF THE HISTAMINE RELEASE TEST IN ASSESSING ADULT ASTHMATIC PATIENTS WHO KEEP HAMSTER

Reiko Seki

*Division of Respiratory and Infectious Disease, Department of Internal Medicine,
St. Marianna University School of Medicine*

Recently, the prevalence of keeping pets, such as hamsters and guinea pigs, at home has been increasing in Japan. The number of adult asthmatic patients who keep hamster (HKA) has increased, and accounted for 20% of all pet owners in 1997. Histamine release tests (HRT) were performed on 28 patients of HKA, who consulted with the outpatient clinic of our department, and the results were compared with CAP-RAST. HRT were performed with peripheral blood obtained from each subject, and histamine content was measured by fluorescent assay. 7 in 12 RAST positive patients and 4 in 16 RAST negative patients in HKA had histamine release titer reaction over 15 ng/ml. HRT and CAP-RAST scores were correlated in HKA, and HRT could be evaluated before and after stopping keeping hamsters in five subjects to find decreased HRT scores in all. The results obtained indicate that those tests were useful for the clinical diagnosing and monitoring of HKA.