

スクラッチ用アレルゲンエキスをを用いた radioimmunoassay

による抗イカ抗原特異 IgE 抗体の測定

—イカによるアナフィラキシーショック例についての検討—

(昭和62年4月11日受付)

(昭和62年6月10日受理)

静岡県立こども病院感染免疫アレルギー科

三宅 健 河 盛 重 造 吉 田 隆 実

key words : squid, food allergy, anaphylactic shock, specific IgE antibody

要 旨

アナフィラキシーショックを呈したイカアレルギー患者を経験し、スクラッチ用アレルゲンエキスをを用いた radioimmunoassay で、イカ抗原に対する血清特異 IgE 抗体を証明した。他のアレルゲンにおいてもスクラッチ用アレルゲンエキスが市販されている場合には、同様に in vitro で簡単に特異 IgE 抗体を測定できると思われる。

はじめに

食物アレルギーの診断には抗原負荷試験、皮膚試験、血清特異 IgE 抗体検査 (RAST 法など) などが挙げられる¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾。その中で in vitro の血清特異 IgE 抗体検査である RAST 法は、in vivo の検査に比べて安全であり、今日多くの食物抗原の RAST 用 paper disc が販売され、臨床上の応用範囲も広い。しかし、イカのような比較的稀なアレルゲンに対する RAST 用 paper disc は販売されていないため、in vitro での特異 IgE 抗体の測定は困難であることが多い。今回、著者らはイカを摂取後にアナフィラキシーショック、喘息発作をおこした症例を経験し、临床上広く利用されているスクラッチ用アレルゲンエキスをを用いて、in vitro でイカ特異 IgE 抗体を測定したので報告する。

症 例

症例：4歳1か月 男児

家族歴：姉に気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎の既往があった。母にアレルギー性鼻炎と蕁麻疹が、父に気管支喘息、アレルギー性鼻炎の既往があった。また、父方の祖母に薬剤アレルギー(薬剤名不明)と食物アレルギー(カニ、アサリなど)の既往があった。

既往歴：妊娠中は軽度の妊娠中毒症があり、在胎40週で帝王切開にて分娩。出生時体重は3,178gであった。Apgar score は0であったため蘇生を行ったが、その

後脳性麻痺と診断された。人工栄養で育ち、生後7か月時に初めて鶏卵を与えたところ、蕁麻疹、喘鳴、呼吸困難となった。生後6か月頃よりアトピー性皮膚炎、1歳頃より気管支喘息(軽症)の既往があった。

現病歴：2歳頃にイカを極く少量食べたところ、数分後に口唇とその周囲に蕁麻疹と浮腫が出現し、顔色不良となった。その後はイカをほとんど摂取していなかった。

昭和61年12月に幼稚園でイカ片(およそ1g)を摂取したところ、1-2分後に咳嗽、喘鳴が出現し、呼吸困難となった。その後蕁麻疹、顔の腫脹が出現し、半昏睡状態になった。イカ摂取およそ30分後に近医を受診し、抗ヒスタミン剤の皮下注射を受けた。その1時間後(症状出現後およそ1時間30分)に当院を受診した。

来院時理学所見：蕁麻疹や顔の腫脹は既に消失しており、意識状態も正常であった。喘鳴があり、両肺野に高音性喘鳴が聴取された。

来院時検査成績：末梢血白血球数は12,100/mm³、好酸球は8%であった。血漿ヒスタミン値は8.4ng/ml (Shoreの変法、正常値2.5-8.5ng/ml)であった。

アレルギー学的検査成績：来院のおよそ1か月後に検査を行った。血清総IgE値は446IU/ml (PRIST法)と高値であった。血清特異IgE抗体はヤケヒョウヒダ

ニの RAST score は 4 であったが、卵白、大豆、小麦、米、タラはすべて 0 であった。吸入抗原 1 種と食物抗原 16 種についてプリックテストを行い、室内塵、イカ、タコ、エビ、カニ、アサリ、アワビが陽性であった。

in vitro での特異 IgE 抗体の測定方法

抗原：抗原として鳥居社製スクラッチ用イカエキス (lot No. G3S-cN) とタコエキス (lot No. G8S-aI)、スクラッチ用対照液 (lot No. TSS-B2) を用いた。

血清：患者血清はアナフィラキシーショックが生じた 1 か月後の血清を用いた。コントロール血清はアレルギー疾患の既往のない成人血清を用いた。

測定方法：イカに対する血清特異 IgE 抗体を、塩化ビニールマイクロプレートを用いた radioimmunoassay で測定した²³⁾。まず、イカエキスを 0.1M carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6) で希釈し、その 200 μ l を塩化ビニールマイクロプレート (96-well vinyl assay plate No. 2596, Coster) を各ウェルに注入し、4 $^{\circ}$ C で 24 時間 incubation を行った。洗浄液 (0.05% Tween 20 を含む PBS, pH 7.4) で 6 回洗浄後、1 mg/ml PBS の human serum albumin (Sigma, lot No. 83F-9315) 200 μ l を各ウェルに注入し、4 時間 blocking を行った。洗浄液で 6 回洗浄後、洗浄液で 5 倍に希釈した血清 100 μ l を各ウェルに注入し、4 $^{\circ}$ C で 24 時間 incubation を行った。洗浄液で 6 回洗浄後、¹²⁵I-標

識抗ヒト IgE 抗体 (Pharmacia Co. Ltd.) 50 μ l を各ウェルに注入し、4 $^{\circ}$ C で 24 時間 incubation を行った。その後 6 回洗浄し、各ウェルを切り離してガンマシンチレーションカウンター (Auto Well Gamma System, ARC-600, Aloka) で測定した。

抑制試験は血清に洗浄液またはアレルゲンエキスを対照液を洗浄液で 10 倍、1000 倍に希釈した液を等量加え、3 時間 incubation した後、さらに洗浄液で 2.5 倍に希釈したものをを用いて行った。

結 果

プレートに coating する至適抗原濃度の検討：イカエキスを 10 倍、100 倍、1000 倍、10000 倍に希釈してプレートに coating を行い、特異 IgE 抗体の測定を行った (図 1)。100 倍、1000 倍、10000 倍の希釈でカウントにほとんど差がないことから、以下の実験ではイカエキスを 1000 倍に希釈して coating を行った。

イカに対する特異 IgE 抗体：患者血清のイカに対する特異 IgE 抗体 (RI カウント) はコントロール血清に比べて極めて高値であった (図 2)。

イカエキスおよびタコエキス、対照液による抑制試験：患者血清中のイカに対する特異 IgE 抗体価は、加えたイカ抗原量に dose dependent に低下した (図 2)。コントロール血清ではそのような現象はみられなかった (図 2)。また、同様にして対照液とタコエキスをを用いて抑制試験を行ったところ、対照液では抑制され

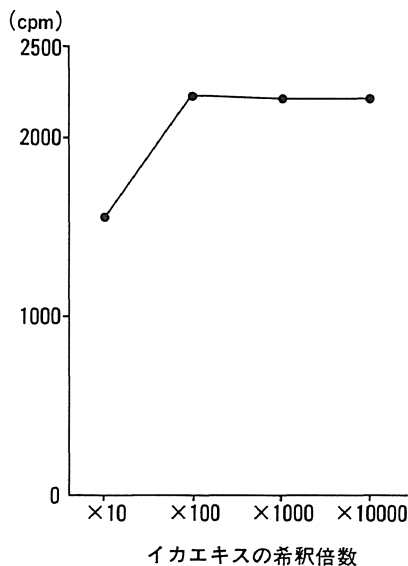


図 1 プレートに coating する場合のイカエキスの至適希釈濃度の検討。加えた RI カウントは 20666 cpm である。

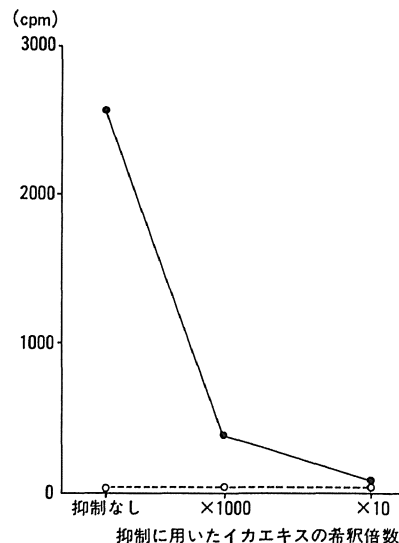


図 2 イカに対する血清特異 IgE 抗体およびイカエキスによる抑制試験。(●—●：患者血清 ○—○：コントロール血清) 加えた RI カウントは 18877 cpm である。

なかったが、タコ抗原では抑制された (図3)。

考 察

食物アレルギー患者で食物摂取によりアナフィラキシーショックや喘息症状が誘発されることは知られているが、そのような症例は比較的少ないといわれている¹⁾⁷⁾。本症例はイカを摂取後にアナフィラキシーショック、喘息発作をおこした症例である。

食物に感作されている場合、その食物を負荷することによって、消化管粘膜に存在する肥満細胞の脱顆粒がおこり、消化管粘膜の透過性が亢進するといわれている⁸⁾⁹⁾。本症例の症状は病歴からイカによる即時型アレルギー反応がおこり、消化管や全身に存在する肥満細胞や好塩基球から化学伝達物質が放出され、それによってアナフィラキシーショックや喘息症状が誘発されたと推測された。そこで、来院時に血漿ヒスタミンを測定したが、正常の上限値を示した。ヒスタミンが明らかな高値を示さなかったのは、採血したのが症状出現後1時間30分以上を経過した時であり、すでにヒスタミンは代謝排泄されていたためと思われる。採血時には呼吸器症状を除く他の症状は、すでに消失していた。

即時型の食物アレルギーの診断には、いくつかの方法がある。in vitro の検査として RAST 法などによる血清特異 IgE 抗体の検出、末梢血を用いたヒスタミン遊離試験などが挙げられる¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。in vivo の検査と

してはプリックテスト、スクラッチテスト、皮内テスト、P-K テストなどの皮膚試験、抗原負荷試験などが挙げられる⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾。本症例は2歳時にイカを摂取してアナフィラキシーショック症状が出現した。さらに今回偶然にも抗原負荷が行われ、症状が再現された。また、イカエキスのプリックテストも陽性であった。

今日数多くの食物抗原の RAST 用 paper disc が入手可能であり、血清特異 IgE 抗体を測定することができる。しかし、イカの RAST 用 paper disc はない。そこで、我々が日常診療で使用しているスクラッチ用アレルギーエキスをを用いて、特異 IgE 抗体の測定法を試みた。患者血清の RI カウントはコントロールに比べて高値であり、その反応はイカエキスの抑制によって抑制され、対照液では抑制されないことより (図2, 3)、この測定方法は患者血清中のイカ抗原に対する特異 IgE 抗体を測定していると考えられた。

本症例はプリックテストでイカだけでなく、同じ軟体動物であるタコにも過敏であることが明らかであった。そこで、イカとタコに含まれるアレルギーの交叉抗原性について、抑制試験を用いて検討したところ、患者血清とイカ抗原との反応はタコ抗原によって抑制された。一方、同様に患者血清とタコ抗原との反応はイカ抗原によって抑制された (図4)。以上の結果から、イカとタコのアレルギーには、共通抗原があることが示された。本症例はこのようにタコに対しても過

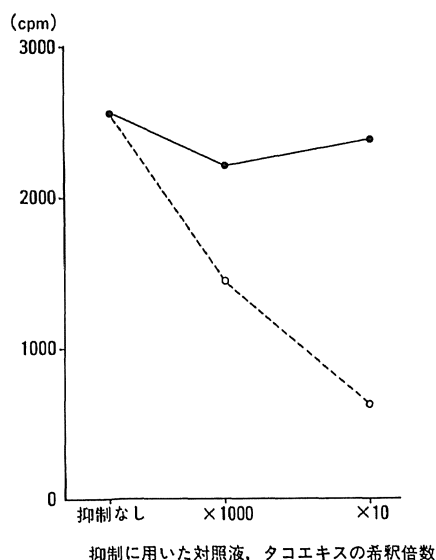


図3 対照液およびタコエキスによる抑制試験。
(●-●: 対照液 ○-○: タコエキス) 加えた RI カウントは18877cpm である。

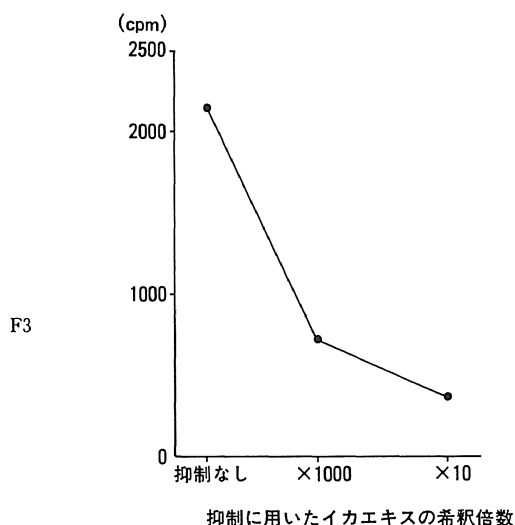


図4 タコに対する血清特異 IgE 抗体およびイカエキスの抑制試験。タコエキスを1000倍に希釈して、プレートに coating を行った。加えた RI カウントは18877cpm である。

敏であることが判明したが、今後イカアレルギー症例においてはタコアレルギーに関しても検査を行い、食事指導をする必要があると思われる。

本症例のように特殊な抗原に対する血清特異 IgE 抗体を in vitro で測定する場合、抗原の調製が困難であることが多い。以前より市販の皮膚反応用アレルギーエキスをを用いて、in vitro で特異 IgE 抗体を測定する試みがなされているが¹⁰⁾、必ずしも成功してはいない。今回著者らはイカのスクラッチ用アレルギーエキスをを用いて特異 IgE 抗体の測定を試み、満足な結果が得られた。この理由として、方法がマイクロプレートを用いた radioimmunoassay であり、この coating 条件でアレルギーエキス中のイカ抗原がうまくプレートに coating されたためと思われる。皮膚試験用アレルギーエキスはあっても、RAST 用 paper disc が販売されていない特殊なアレルギーに対する特異 IgE 抗体を検出するには、このようなアレルギーエキスをを用いて特異 IgE 抗体の測定することができる可能性があり、臨床上広く応用できるとと思われる。

文 献

- 1) Golbert, T. M., Patterson, R., Pruzansky, J. J. : Systemic allergic reactions to injected antigens. *J. Allergy* 44, 96-107, 1969.
- 2) 三宅 健, 河盛重造, 吉田隆実 : 卵アレルギー患者における血清抗鶏卵白リゾチーム特異 IgG, IgE 抗体価とその経時的変化. *アレルギー* 35, 171-179, 1986.
- 3) 三宅 健, 河盛重造, 吉田隆実 : 卵アレルギー患者における血清抗コンアルブミン特異 IgG, IgE 抗体価について. *児会誌* 91, 28-35, 1987.
- 4) Ass, K. : The diagnosis of hypersensitivity to ingested foods. Reliability of skin testing and the radioallergosorbent test with different materials. *Clinical Allergy* 8, 39-50, 1978.
- 5) Bock, S. A., Lee, W-Y., Remigio, L. K., May, C. D. : Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 62, 327-334, 1978.
- 6) Metcalfe, D. D. : Food hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 73, 749-762, 1984.
- 7) Onorato, J., Merland, N., Terral, C., Michel, F., Bousquet, J. : Placebo-controlled double-blind food challenge in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 78, 1139-1146, 1986.
- 8) Byars, N. E., Ferraresi, R. W. : Intestinal anaphylaxis in the rat as a model of food allergy. *Clin. exp. Immunol.* 24, 352-356, 1976.
- 9) Selbekk, B. H., Ass, K., Myren, J. : In vitro sensitization and mast cell degranulation in human jejunal mucosa. *Scand. J. Gastroent.* 13, 87-92, 1978.
- 10) 山田哲夫, 田口裕功, 西村 浩, 三田晴久, 信太隆夫 : 間質性膀胱炎のアレルギー学的研究. (1)イカとエビアレルギーによる間質性膀胱炎の1例. *アレルギー* 33, 264-268, 1984.

DETECTION OF SPECIFIC IgE ANTIBODIES TO SQUID BY RADIOIMMUNOASSAY WITH SQUID EXTRACT FOR SCRATCH TESTING

—A case of anaphylactic shock induced by squid—

Takeshi Miyake, Juzou Kawamori and Takami Yoshida

Division of Allergy, Clinical Immunology and Infectious Diseases, Shizuoka Children's Hospital

A child of squid allergy is reported. We detected specific IgE antibodies to squid in his serum with a microtiter solid-phase radioimmunoassay using extract of squid (including 50% glycerin, Torii & Co. Ltd, Tokyo) as an antigen, which have been used for scratch or prick testing in Japan.

Furthermore, we demonstrated cross-allergenicity between squid and octopus with inhibition technique.