

生牛肉の摂取によるアレルギーと診断された一例

野 中 昭 良¹⁾ 緒 方 美 佳²⁾ 高 松 伸 枝¹⁾
林 毅¹⁾ 陶 山 明 子¹⁾ 近 藤 康 人³⁾

1) 別府大学食物栄養科学部 2) 国立病院機構熊本医療センター
3) 藤田医科大学ばんだね病院

【要 旨】

症例6歳 男児。バーベキューで牛肉を食べた直後に口唇と顔面の腫脹が出現し、牛肉アレルギーを疑われ完全除去を継続していた。病院で精査した結果、生牛肉及びレア状態の肉に対するSPTが陽性であった。Immunoblotの結果から複数の特異的IgE結合が確認された。生牛肉を避けた食事を指示された後に再発はない。

【キーワード】

食物アレルギー 牛肉 BSA a-Gal

1. 背景

牛肉によるアレルギーは国内では多くない。近年の消費者庁による実態調査¹⁾においても、4851例のうち3例と非常にまれである。また牛肉によるアレルギーの症例報告は、欧米を中心になされているが、日本における牛肉アレルゲンに関する小児の症例報告は少ない²⁾。今回、牛肉アレルギーが疑われた症例を経験した。アレルゲンタンパク質の推定と最近増加傾向にある食物と食物抗原以外のタンパク質による交差抗原性について若干の文献を交えて考察する。

2. 症例

症例6歳 男児。主訴：口唇と顔面の腫脹

既往歴：アトピー性皮膚炎、喘息

家族歴：母がアトピー性皮膚炎、喘息

現病歴：バーベキューで牛肉を食べた直後に口唇と顔面の腫脹が出現し、牛肉アレルギーを疑われ完全除去を継続していた。牛肉に対する特異的IgE抗体価（ImmunoCAP[®]）が陰性、診断目的にて専門医紹介となった。十分に火の通っていない牛肉を食べると症状が出やすいと母の訴えあり、牛肉の焼き加減を変えてskin prick test (SPT) を施行した。また住居地が山間地域であり、山の中で遊んでいる際に原因不明のアナフィラキシーを生じることがあった。

3. 検査

血液検査：IgE抗体価 (ImmunoCAP®)：総IgE抗体価500IU/mL、特異的IgE抗体価 (クラス)：牛肉 (0)、ヤケヒョウヒダニ (6) スギ・オオアワガエリ・カモガヤ (1)、ブタクサ、ヨモギ、ハンノキ (0)、イヌ (2)。

SPT：肉類のプリック液は市販されていないため、prick-to-prick testを施行。プリック針はBifurcated needle® (Allergy Laboratories of Ohio, Inc.) を使用した。判定はプリックより15分後に施行し、0.1%ヒスタミン二塩酸塩水溶液を陽性コントロール、生理食塩水を陰性コントロールとした。出現した膨疹と紅斑の最大直径とそれに直角に交わる直径を計測して、その平均値で評価した。膨疹径が陰性コントロールより3mm以上大きい場合を陽性とした。

結果：膨疹径-紅斑径 (単位mm) ①生牛肉8-23、②レア牛肉 7-19、③ウエルダン牛肉 3-7、④ゆでた牛肉 4-9、⑤ヒスタミン 6-10、⑥コントロール 0-2であり、十分に火を通したものでは反応が微弱であった (写真1)。

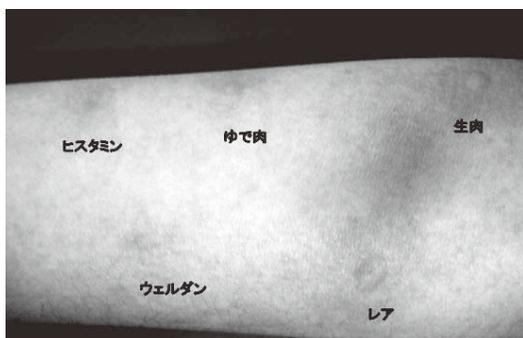


写真1 prick-to-prick test

食物経口負荷試験：オープン法 (open food challenge, OFC) で行った。新たな感作を避けるために生牛肉を除き、加熱加減の異なる牛肉 (レア・ウエルダン・ゆで) 及び十分に焼いて火を通した豚肉を摂取した。ウエルダン及びゆで牛肉、豚肉は陰性、レア牛肉は陽性であった。

検査後経過：バーベキューなどで牛肉を料理する際には十分に火を通すように医師より指示された。以降、症状の誘発はみられていない。

4. 原因タンパク質の検索

1) 方法

原因となる抗原タンパク質の同定を目的として、SDS-PAGE, Immunoblot, Immunoblot inhibitionを行なった。抗原サンプルの牛肉は、スーパーで購入しフライパンにて調理した。レアは両面で1分30秒、ウエルダンは両面4分、ゆでは湯中4分の加熱を行ったのち、サンプル重量の2倍量の1M KCl-PBS (pH7.2) にてover night抽出を行った。(Bradford法によるタンパク質量：生14.5mg/ml, レア8.1 mg/ml, ウエルダン1.8 mg/ml, ゆで1.5 mg/ml) SDS-PAGEはNuPAGE SDS-PAGE gel systemを用いた。NuPAGE Precast gel (4-12% Bis-Tris)、MOPS buffer (NuPAGE MOPS SDS Running Buffer) 及び還元剤を使用し、タンパク分離後 (10 μ L, 200v, 50min)、Western blot法にてPVDF膜 (Millipore immobilon;0.45 μ m, 400mA, 60min)

へ転写した。メンブラン膜に一次抗体として患者血清（1：30）、二次抗体にgoat-anti human IgE antibody (KPL, Gaithersburg, MD; 1:2000 dilution) を用いて反応させた後（3 h, 20℃）、BCIP/NBT Phosphatase Substrate (KPL) にて発色させ検出した。患者血清とIgE結合能がみられたタンパク質bandから原因タンパク質を推定した。

2) 結果

牛肉抽出サンプルと患者血清のImmunoblot結果を図1に示した（B：ゆで W：ウエルダン MR：レア R：生）。生肉のタンパクは低分子から高分子にわたり広く存在していたが、ウエルダン及びゆでサンプルでは50kDa以下のタンパクが主体となっていた。食物経口負荷試験にて陽性となったレア及び生肉サンプルにおける患者血清の特異的なIgE結合は、30kDa、35kDa、50kDa、70kDa、250kDa付近に複数みられた。

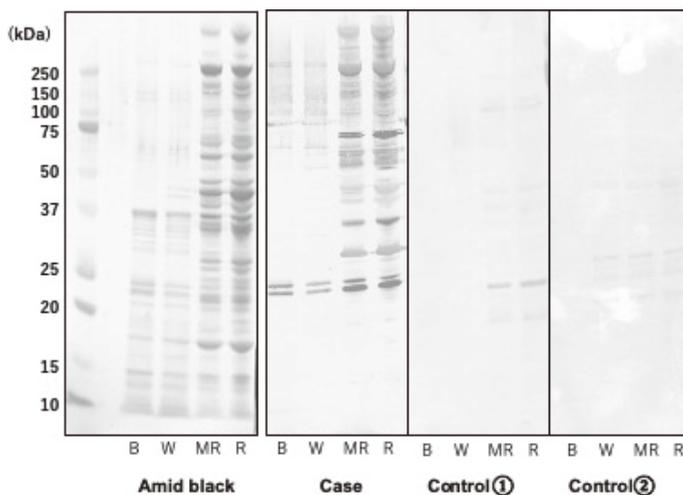


図1 牛肉抽出サンプルと血清によるImmunoblot結果

5. 考察

これまで牛肉のアレルギーに関する文献の多くは欧米で報告されており、WHO/IUISのAllergen Nomenclature³⁾では、Bos d2からBos d12まで11のアレルゲンが登録されている。主要なアレルゲンは血清アルブミン（BSA）とされている^{2) 4) 5)}。Han²⁾らは、日本の牛肉アレルギー患者10名と正常な5名の血清を用いて実験を行い、Immunoblotでは牛肉抽出タンパクの200kDa、67kDa、及び60kDaの成分が患者の血清と強い反応性を示し、67kDaはBSA、200kDaと60kDaは糖タンパク質であるとしている。またTanabe⁵⁾らは、BSAエピトープ解析でアミノ酸配列のEYAV (aa338-341) およびLILNR (aa453-457) がIgE結合エピトープのコアであることを明らかにしている。

血清アルブミンは加熱により変性を受けてIgE結合能を消失しやすい⁶⁾。今回の症例では、SPTにて生肉およびレア肉に対する反応が強くと十分に加熱した肉では反応が減弱していたこと、肉を十分に加熱した後に経口摂取することで症状誘発を防ぐことができていること、加えてBSAと推測される分子量67kDa付近に特異的なIgE結合がみられたことから、本症例のアレル

ゲンの1つである可能性が示唆された。

加えて、近年、米国で牛肉の摂取から数時間後にアナフィラキシーなどの重度のアレルギー反応を示す新しいタイプの牛肉アレルギーが報告されるようになった⁷⁾。主要原因エピトープは哺乳類の肉に含まれる糖鎖galactose- α -1,3-galactose (α -Gal) に対するIgE抗体によるものとされ、感作はマダニ *Amblyomma americanum* 咬傷との関連を指摘している。日本においても島根大学が報告を行っている。島根県東部は日本紅斑熱の好発地域であり、かつ牛肉アレルギー患者が多く存在する。千貫ら⁸⁾は、日本紅斑熱の媒介種であるフタトゲチマダニの唾液腺の解析で α -Galの存在とその抽出タンパクと牛肉アレルギー患者血清中のIgE結合を証明した。その結果フタトゲチマダニ咬傷によって、マダニ唾液腺中の α -Gal含有タンパク質に対するIgE抗体が産生されて感作が成立し、牛肉アレルギー発症に至ることを示唆している。

α -Galは哺乳類に豊富に存在する。この抗体をもつ患者は交差反応のために豚肉、羊肉、鯨肉などの哺乳類肉に対するアレルギーを生じるとともに、カレイ魚卵⁹⁾さらには抗悪性腫瘍薬で上皮細胞増殖因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR) モノクローナル抗体であるセツキシマブに対しても重篤な反応を生じる¹⁰⁾ことが知られている。 α -Gal含有エピトープは、140kDa及び240kDa¹¹⁾、また20-100kDa¹²⁾の低分子領域で複数明らかにされている。

本症例は、山中でのアナフィラキシー原因としてマダニ咬傷による感作・発症の可能性、Immunoblotにおける α -Gal含有タンパクにみられる50kDaから200kDaのブロードなIgE結合状態から交差反応が考えられたが、診断5年後の再診時検査にて α -Gal特異的IgE抗体価は陰性であった。今後も引き続き特異的IgE結合タンパクの解析を行う予定である。

この研究は、藤田保健衛生大学医学研究倫理審査委員会 (15-102) の承認を得て行ったものです。また研究費においてはJSPS科研費 (課題番号16K00936) の助成を受けたものです。ここに深謝申し上げます。

志半ばにて急逝された故林毅氏のご冥福を心よりお祈り申し上げます。

参考文献

- 1) 金田悟郎他. 平成30年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書. 即時型食物アレルギーによる健康被害に関する全国実態調査, 消費者庁, 2018.
- 2) Han GD, Matsuno M, Ito G, Ikeuch Y, Suzuki A. Meat allergy: investigation of potential allergenic proteins in beef. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000; 64 (9) : 1887-95.
- 3) [http://www.allergen.org/search.php?Species=Bos%20domesticus%20 \(Bos%20taurus\)](http://www.allergen.org/search.php?Species=Bos%20domesticus%20(Bos%20taurus))
- 4) Fiocchi et.al. Meat allergy: I-Specific IgE antibody to BSA and OSA in atopic, beef sensitive children. *Journal of the American College of Nutrition*. 1995; 14: 239-44.
- 5) Tanabe, et.al. Some human B and T cell epitopes of bovine serum albumin, the major beef allergen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 24: 293 (5) : 1348-53.
- 6) 海老澤元宏他. 食物アレルギー診療ガイドライン2016,2016,74.
- 7) Commins SP. et.al. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-[α]-1,3-. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123 (2) : 426-33.
- 8) 千貫祐子他. 牛肉アレルギー患者20例の臨床的および血清学的解析, 日本皮膚科学会雑誌, 2013; 123 (9) : 1807-14.

- 9) 神谷浩二他. 牛肉とカレイ魚卵によるアナフィラキシー, 日本皮膚科学会誌, 2014; 124 (2) 197.
- 10) Chung CH, et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *N Engl J Med.* 2008; 358 (11) : 1109-17.
- 11) H. Takahashi. et al. Laminin c-1 and collagen a-1 (VI) chain are galactose-a-1,3-galactose-bound allergens in beef. *Allergy.* 2014; 69: 199-207.
- 12) Apostolovic D. et. al. Immunoproteomics of processed beef proteins reveal novel galactose-a-1,3-galactose-containing allergens. *Allergy.* 2014; 69: 1308-1315.