

## ゼラチンアレルギー患児における HLA 解析 (続報)

熊谷 卓司、山中 樹、綿谷 靖彦 (札幌小児アレルギー感染症研究会)

堤 裕幸、千葉 俊三 (札幌医大小児科)

斉藤 明子、奥井 登代、矢野 昭起 (北海道立衛生研究所)

脇坂 明美 (日本赤十字血漿分画センター)

### 1. 研究目的

ゼラチン含有ワクチンが被接種者にゼラチンアレルギーを成立させ、アナフィラキシーを含むアレルギー症状を引き起こすことが知られるようになった<sup>1)</sup>。即時型アレルギー反応を呈した例では通常ゼラチン IgE が検出され<sup>2)</sup>、ゼラチン IgE が検出されない非即時型の症例でもゼラチン特異的なリンパ球の反応が検出される<sup>3)</sup>。最近になってゼラチンアレルギーの成立要因について検討が行われ、著者らの成績を含めていくつかの研究報告が見られる<sup>3-5)</sup>。これらの成績から、ワクチンに起因するゼラチンアレルギーにおいては、DTP ワクチンによって一次感作を受けた小児が再びゼラチンを含むワクチン接種による再暴露を受け、それに対して臨床症状を呈するという発症病理が強く示唆されている。

しかしながら、ゼラチンを含む DTP ワクチン接種が普遍的なリンパ球レベルの感作を引き起こすにも拘わらず<sup>6)</sup>、ごく一部の症例のみがゼラチン IgE を産生するに至る理由については良く知られていない。ゼラチン IgE の存在により、将来のゼラチンへの再暴露に際してアナフィラキシーを含む強いアレルギー反応を引き起こす可能性が有ることから、どのような集団がゼラチン IgE を産生するに至るかを特定することには重要な意義がある。

一方、Kelso はゼラチンアレルギーの症例報告が我が国に集中していることから ethnic background の存在を強く示唆している<sup>6)</sup>。ゼラチンアレルギーの発生が人類の一部の集団に偏在していることはこのアレルギーに特定の免疫調節遺伝子が関わっている可能性を示唆している。

このような問題に対するアプローチの一つとして著者らはゼラチンアレルギー患児の HLA typing を行い先般予備的成績を報告した<sup>7)</sup>。今回詳細に分析した結果、IgE 陽性のゼラチンアレルギーと日本人に特徴的な抗原である HLA-DR9 との間に強い相関があることを見出したので報告する。

## 2. 研究対象と方法

研究対象は 23 症例の即時型副反応群(男児 8 例, 女児 15 例, 平均年齢 1.8 歳)および 18 症例の非即時型副反応群(男 11 例, 女児 7 例, 平均年齢 1.9 歳)である。ゼラチン IgE, ゼラチン特異的細胞性免疫反応の両者あるいは片方が陽性であった場合にゼラチンアレルギーと診断した。副反応は多岐にわたった。即時型反応はじんま疹, 呼吸器・循環器症状を伴うアナフィラキシー症状であり, 非即時型反応はワクチン接種局所の発赤, 腫脹あるいは搔痒を伴わない全身の小発赤疹で色素沈着を残さずに 2, 3 日で消退した。原因物質はゼラチンを含む食物によって症状を示した即時型反応の 1 例を除いて, 全ての症例はゼラチン含有ワクチンによるものであった(Table 1)。

ゼラチン IgE 抗体は蛍光 ELISA 法にて測定した<sup>4)</sup>。陽性限界は 0.05 Ua/ml 以上とした。

ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験(LPT)では  $2.5 \times 10^6$ /ml の末梢血リンパ球を至適濃度のゼラチン抗原存在下に 5 日間培養し最後の 24 時間に  $^3\text{H}$ -Thymidine で標識しカウント後, 抗原添加, 非添加培養の uptake ratio すなわち stimulation index(SI)を算定した<sup>4)</sup>。SI 1.5 以上を陽性値とした。ゼラチン特異的 IL-2 反応性試験(AIR)は三菱化学ビーシーエルにて施行した<sup>5)</sup>。  $1 \times 10^6$ /ml の末梢血リンパ球を至適濃度のゼラチン抗原添加および非添加で 5 日間培養後, IL-2 を添加し更に 3 日間培養し, 蛍光色素を加え, IL-2 添加時と非添加時の蛍光度を測定し両者の比を IL-2 反応性, すなわち stimulation index(SI)として表した<sup>2)</sup>。ゼラチン抗原添加および非添加培養時の SI の差(SI increment) 0.08 以上を陽性と判定した。LPT および AIR のいずれかまたは両方陽性であったものをゼラチン特異的細胞性免疫反応陽性と判定した。

HLA class I (HLA-A, B および C)は microlymphocytotoxicity test によって検出を行った。また HLA Class II (HLA-DR, DQ)は DNA 増幅法(low resolution)によって検出し, その結果を 17 の相当する血清学的抗原特異性に translate して分析した。対照健常者は 72 から 314 例の健康な成人でいずれも北海道赤十字血液センターの職員である。各々の HLA 抗原の出現頻度を 2 群のゼラチンアレルギー患者および対照健常人について計算し分割表分析を行い  $\chi^2$  検定を用いて検定を行った。有意差の判定には,  $P$  値を allele の数で乗じた corrected  $P(P_c)$  値を用い, 有意限界を 0.05 に設定した。Relative risk (RR)は分割表から計算して求めた。

## 3. 結 果

対象者の臨床所見, 検査成績をTable 1に示す。即時型反応を呈した全ての症例においてゼラチンIgE抗体が陽性でその値は0.50~46.90Ua/mlに分布した。またLPT

およびAIRの両者を測定し得た即時型反応21症例中19例において両者が陽性であった。非即時型副反応症例でゼラチンIgEが陽性であった例はなく、また全18症例中LPTを施行した14例中6例、AIRを施行した全例が陽性であった。

Table 2に示すように、健常人対照者の24.0%で陽性であったHLA-DR9がIgE陽性ゼラチンアレルギー患者群では56.5%において陽性であった。算出された相対危険度(RR)は4.1であった。

即時型反応群(ゼラチンIgE陽性群)におけるHLA-B48, DQ3および非即時型反応群(ゼラチンIgE陰性群)におけるA31, DR8の出現頻度が対照群に比して明らかに高い傾向があったが、*P<sub>c</sub>*値を計算すると唯一DR9のみが有意差をもって即時型反応群に高頻度に出現していた。非即時型反応群においては対照群に比して明らかに頻度に偏りのある抗原は検出されなかった。

#### 4. 考 按

今回の研究の目的はゼラチンアレルギー患者群に高頻度に出現する特定の HLA ハプロタイプが存在するか否かを確認することであった。その結果、HLA-DR9 が日本人のゼラチン IgE 陽性ゼラチンアレルギー患者群に有意に高い頻度で出現していることが明らかとなった。HLA-DR9 は日本人の間に比較的広く分布しているが白人では極めて稀である<sup>9)</sup>。今回の研究結果はゼラチンアレルギーが日本人に高頻度で発生しているという臨床的事実をよく説明し得る様に思われる。また IgE 陽性群 23 例という比較的少数の検討であったにもかかわらず、このように強い相関が単一の HLA 抗原特異性との間で認められたことはやや驚くべき結果であった。またこの事実から即時型のゼラチンアレルギーが特定の MHC ハプロタイプに拘束された免疫調節異常症であり、CD4+ T 細胞と反応する特定のハプロタイプの MHC Class II 分子が、プロセスされたゼラチン抗原と複合体を形成しやすい構造を持っているということが考えられる。しかしながら、即時型ゼラチンアレルギーにおける DR9 抗原の出現頻度が 56.5%で有り、一方健常人における同抗原の出現頻度が 24.0%で有ることを考えるとこの遺伝子はゼラチン IgE 産生のスイッチを入れる必要条件である可能性が強いが十分条件とは言えない。ゼラチンアレルギーの報告が比較的近年になって急に増えたという事実からも遺伝的条件のみでなく、他の要因の関与が推定される。

HLA-DQ3 は日本人において DR9 と強い連鎖不平衡があることが知られており、今回の検討では *P<sub>c</sub>* 値で有意にならなかったが高頻度を示したことはよく理解し得る。DQ3 が第一義的役割を果たしている可能性は低い、DR9 と相補的に働くことも考慮しておく必要がある。今回の検討では、非即時型反応群では高頻度に出現する特定の HLA 抗原は認められなかった。即時型と非即時型ゼラチンアレルギー

をおこす患者は各々異なる免疫遺伝学的集団に属していると思われる。

(謝辞および付記)

ゼラチンアレルギー患者検体採取に御協力いただいた梅津愛子先生、田中洋子先生、守屋敬純先生に深謝いたします。また HLA typing は北海道赤十字血液センター（池田久實所長）の御協力を得て施行した。ここに記して謝意を表します。本稿要旨は Vaccine に投稿・受理されまもなく掲載される予定である。

(文 献)

1. Sakaguchi M, Ogura H, Inouye S. IgE antibody to gelatin in children with immediate-type reactions to measles and mumps vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:563-5.
2. Kumagai T, Yamanaka T, Wataya Y, Umetsu A, Kawamura N, Ikeda K, et al. Gelatin-specific humoral and cellular immune responses in children with immediate- and nonimmediate-type reactions to live measles, mumps, rubella, and varicella vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:130-4.
3. Nakayama T, Aizawa C, Kuno-Sakai H. A clinical analysis of gelatin allergy and determination of its causal relationship to the previous administration of gelatin-containing acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:321-5.
4. Kumagai T, Ozaki T, Kamada M, Igarashi C, Yuri K, Furukawa H, et al. Gelatin-containing diphtheria-tetanus-pertussis (DTP) vaccine causes sensitization to gelatin in the recipients. *Vaccine* 2000;18:1555-61.
5. Sakaguchi M, Inouye S. IgE sensitization to gelatin: the probable role of gelatin-containing diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTaP) vaccines. *Vaccine* 2000;18:2055-8.
6. Kelso JM. The gelatin story. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:200-2.
7. 山中樹, 綿谷靖彦, 熊谷卓司, 他. ゼラチンアレルギー患者の HLA. 厚生省「予防接種の効果と副反応の追跡調査及び予防接種の社会経済効果に関する研究」, 平成9年度研究報告書.
8. Noma T, Yoshizawa I, Aoki K, Sugawara Y, Odajima H, Kabasawa Y, et al. Correlation between antigen-specific IL-2 response test and provocation test for egg allergy in atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1120-30.
9. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T. Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. In: Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T, editors. *HLA 1991: proceedings of the eleventh international*

histocompatibility workshop and conference held in Yokohama, Japan, 6-13 November, 1991. Volume 1. Oxford: Oxford University Press; 1992. p. 1065- 1220..

Table 1. Clinical and laboratory data on patients.

Patient No.	Age (mo.)	Sex	Cause	Reactions	Gelatin IgE (Ua/ml)	LPT (SI)	AIR ( $\Delta$ SI)
Immediate							
1	34	F	MMR	Anaphylaxis	46.90	1.90	0.13
2	59	F	mumps	Anaphylaxis	30.70	2.40	0.49
3	15	F	measles	Anaphylaxis	3.92	1.40	0.38
4	22	F	measles	Anaphylaxis	2.20	5.20	0.07
5	27	F	Gummy	Anaphylaxis	2.20	2.58	0.31
6	24	F	measles	Anaphylaxis	5.27	3.60	0.28
7	36	M	rubella	Anaphylaxis	14.20	1.62	0.23
8	13	F	measles	Anaphylaxis	5.26	3.12	0.17
9	14	F	measles	Urticaria	5.95	3.90	0.12
10	13	F	measles	Urticaria	1.62	2.40	0.21
11	20	F	measles	Urticaria	1.86	NT*	NT
12	16	M	measles	Urticaria	0.83	2.39	0.38
13	14	M	measles	Urticaria	0.76	7.80	0.97
14	24	F	measles	Urticaria	0.67	1.66	0.08
15	15	M	measles	Urticaria	2.04	3.42	0.15
16	23	F	measles	Urticaria	5.98	6.54	0.38
17	15	F	measles	Urticaria	3.64	4.80	0.36
18	26	M	mumps	Urticaria	10.00	2.00	0.06
19	13	M	measles	Urticaria	3.02	1.00	0.78
20	15	F	measles	Urticaria	0.65	1.59	0.28
21	17	F	measles	Urticaria	0.50	5.20	0.58
22	26	M	measles	Urticaria	6.32	1.70	0.50
23	16	M	measles	Urticaria	0.96	NT	NT
Non-immediate							
1	33	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	1.00	0.19
2	12	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	10.50	0.72
3	36	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	6.21	0.43
4	16	F	measles	Miliary rash	0.05>	1.42	0.33
5	14	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	0.50	0.48
6	13	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	1.03	0.27
7	18	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	0.80	0.31
8	15	M	measles	Miliary rash	0.05>	0.80	0.35
9	15	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	1.30	0.38
10	16	F	measles	Erythema, swelling	0.05>	2.20	0.56
11	14	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	0.50	0.49
12	15	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	6.23	0.40
13	22	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	NT	0.78
14	22	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	4.85	0.62
15	13	M	measles	Erythema, swelling	0.05>	7.35	0.09
16	36	M	rubella	Erythema, swelling	0.05>	NT	0.13
17	59	M	rubella	Erythema, swelling	0.05>	NT	0.55
18	48	M	rubella	Erythema, swelling	0.05>	NT	0.18

\* Not tested

Table 2. Phenotype frequencies of the HLA antigens in Japanese patients with gelatin allergy with or without IgE specific to gelatin.

Type	HLA	Patients (%) <sup>*</sup>	Controls (%) <sup>*</sup>	$\chi^2$ <sup>‡</sup>	P value	P <sub>c</sub> value <sup>§</sup>	Relative risk
Immediate (IgE positive)	B48	21.7% (5/23)	7.6% (24/317)	3.851	0.05	NS <sup>¶</sup>	
	DR9	56.5% (13/23)	24.0% (24/100)	9.403	0.002	0.034	4.1
	DQ3	73.9% (17/23)	44.4% (32/72)	6.061	0.014	NS	
Non-immediate IgE negative	A31	38.9% (7/18)	13.9% (44/317)	8.254	0.005	NS	
	DR8	38.9% (7/18)	17.0% (17/100)	4.511	0.042	NS	
	DR9	44.4% (8/18)	24.0% (24/100)	3.226	NS	NS	

<sup>\*</sup>Frequency of phenotypes carrying the allele.

<sup>‡</sup>Chi-square test with Yates' correction if needed.

<sup>§</sup>Corrected for the number of alleles tested.

<sup>¶</sup>Not significant.

# ゼラチン含有 DTP ワクチンにより感作されたゼラチンアレルギー 症例におけるリンパ球増殖反応試験の経時的推移について

熊谷 卓司、鎌田 誠、五十嵐千春、由利 賢次

古川 秀嗣、長田 伸夫（札幌小児アレルギー感染症研究会）

斎藤 明子、奥井 登代、矢野 昭起（北海道立衛生研究所）

## 1. 研究目的

ゼラチン含有 DTP ワクチン接種がワクチンに関係したゼラチンアレルギーの一義的感作要因であることを示す成績が蓄積されつつある<sup>1-3)</sup>。それはまた、DTP ワクチンからゼラチンが除かれて以来ゼラチンアレルギーの発症例数が激減しているという臨床的経験からも裏付けられる。しかしながらゼラチン含有 DTP ワクチンにより少なくともリンパ球レベルの感作を受けた症例は相当数に上ると想像されることから、その様な感作を受けた DTP ワクチン被接種者がその後どのような転機をとるかが懸念される。著者らは今般、ゼラチン含有 DTP ワクチンの接種を受けゼラチン特異的細胞性免疫反応が陽性であることが確認された被接種者について数年経過後に同様にリンパ球の反応性を測定する機会を得たので報告する。

## 2. 研究対象と方法

検討対象症例の臨床所見を table に示す。ゼラチン含有 DTP1 期接種時に副反応を呈し、ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験(LPT)が陽性であった 28 症例(Table 症例 1 から 28, 平均月齢 10.4 ヶ月, 男児 21 例, 女児 7 例)を対象として 3 年ないし 3 年半経過時にゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験を施行した。またゼラチン非含有 DTP ワクチンを接種した後、ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験が陰性であった 8 症例(Table 29 から 36, 平均月例 10 ヶ月, 男児 2 例, 女児 6 例)について 2 ないし 3 年経過時に同様にゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験を施行した。

ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験は  $2.5 \times 10^6 / \text{ml}$  の末梢血リンパ球を至適濃度のゼラチン抗原存在下に 5 日間培養し最後の 24 時間に  $^3\text{H}$ -Thymidine で標識しカウント後、抗原添加、非添加培養の uptake ratio すなわち stimulation index(SI)を算定した<sup>2)</sup>。SI 1.5 以上を陽性値とした。

ゼラチン IgE 抗体は蛍光 ELISA 法にて測定した<sup>2)</sup>。陽性限界は 0.05 Ua/ml 以上とした。



### 3. 結 果

検討対象にした症例は DTP ワクチン接種直後において全てゼラチン IgE 陰性であったが、今回の検討でもゼラチン IgE が検出された例はなかった。

症例 1 から 28 におけるリンパ球増殖反応試験の経時的推移を Figure 1 に示す。全 28 症例中、7 例のみが時間の経過とともにゼラチン特異的リンパ球の活性が陰性化していたが、残り 21 症例においては陽性が持続し 10 症例ではむしろリンパ球活性が増加していた。DTP ワクチン接種直後と今回の検索時の SI 値の平均は、全 28 症例では各々 3.84, 3.42, 陽性が持続した 21 症例では各々 4.23, 4.15, 陰性化した 7 症例では各々 2.66, 1.21 であった。

対照群として検討したゼラチン非含有 DTP ワクチン被接種者 8 症例においては、当初ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験は全例陰性であったが、今回の検討でそのうち 5 例が活性は低いものの陽性を示した(Figure 2)。

### 4. 考 按

ゼラチン含有 DTP ワクチンにより感作され、ゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験が陽性を示す症例がその後どのような転機をとるかについて検討した成績は見られない。

今回の検討でひとたび感作を受けた個体においては、リンパ球レベルのメモリーはなかなか減弱しないことが明らかとなった。今回検討対象となった症例においてはゼラチン IgE が陽性化した例はなかった。著者らは IgE 陽性のゼラチンアレルギー患者の HLA について検討し報告したが<sup>4)</sup>、ゼラチン IgE が陽性になる症例においてはさらにいくつかの未だ明らかでない条件が有るようである。

今回検討したゼラチン非含有 DTP ワクチン被接種者において、8 例中 5 例において陰性であったリンパ球増殖反応試験が陽性を示したことは大変注目すべき成績である。食餌等のワクチン以外のゼラチン感作ルートが存在し、健康小児においてリンパ球レベルのゼラチン感作が進んでいることが想像される。このことが将来問題を引き起こす可能性については現時点で明らかでないが、日本の小児がおかれている環境が食餌等を含めて変化してきていることを示唆していると思われた。

#### (文 献)

1. Nakayama T, Aizawa C, Kuno-Sakai H. A clinical analysis of gelatin allergy and determination of its causal relationship to the previous administration of gelatin-containing acellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:321-5.
2. Kumagai T, Ozaki T, Kamada M, et al. Gelatin-containing diphtheria-tetanus-pertussis

- (DTP) vaccine causes sensitization to gelatin in the recipients. *Vaccine* 2000; 18:1555-1561.
3. Sakaguchi M, Inouye S. IgE sensitization to gelatin: the probable role of gelatin-containing diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTaP) vaccines. *Vaccine* 2000; 18:2055-8.
  4. Kumagai T, Yamanaka T, Wataya Y, et al. A strong association between HLA-DR9 and gelatin allergy in the Japanese population. *Vaccine* 2001(in press).

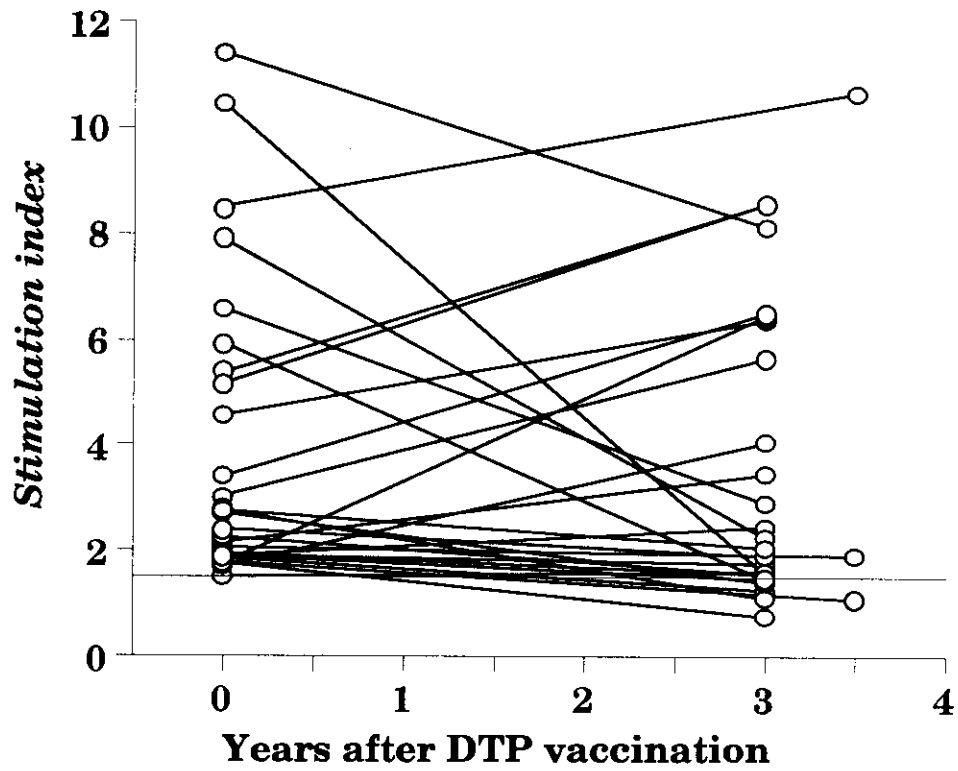
**Table** Clinical characteristics on patients

Patient No.	Age* (mo.)	Sex	Gelatin** (mg/shot)	Reactions
1	10	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
2	5	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
3	9	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
4	4	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
5	6	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
6	9	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
7	15	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
8	9	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
9	10	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
10	10	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
11	6	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
12	7	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
13	24	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
14	7	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
15	14	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
16	14	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
17	8	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
18	7	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
19	7	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
20	8	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
21	12	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
22	7	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
23	10	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
24	23	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
25	12	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
26	8	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
27	8	M	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
28	22	F	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
29	9	F	None	None
30	11	F	None	None
31	8	F	None	None
32	10	M	None	None
33	11	M	None	None
34	8	F	None	None
35	11	M	None	None
36	8	M	None	None

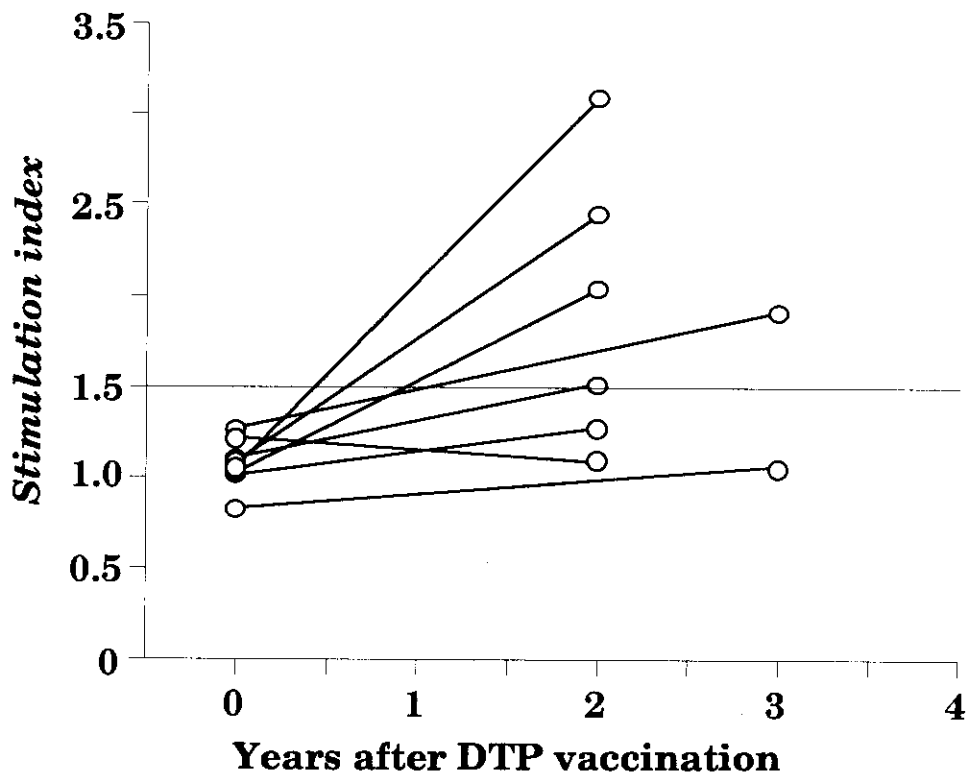
\* Age at the enrollment in the study.

\*\* These data were obtained from the manufacturer's literature, which gives the contents and the volume of vaccine administered except for that of DTP. Amount of gelatin contained in DTP was estimated by calculation from the basic materials used and the dilution factor of the manufacturing process.

**Figure 1**



**Figure 2**



# ゼラチンアレルギー患児におけるゼラチン特異的免疫反応の経時的推移

熊谷 卓司、鎌田 誠、五十嵐千春、由利 賢次

古川 秀嗣、長田 伸夫（札幌小児アレルギー感染症研究会）

奥井 登代、斎藤 明子、矢野 昭起（北海道立衛生研究所）

## 1. 研究目的

種々のゼラチン含有ワクチン接種あるいはゼラチン含有ワクチン摂食に際して副反応あるいは臨床症状を呈した症例において、陽性であったゼラチン特異的 IgE や細胞性免疫反応がその後、時間の経過とともにどのような推移を示すのかについての検討はなされていない。著者らは今回、ゼラチンアレルギーの診断を受けてから数年経過した症例について再びゼラチン IgE 抗体測定およびゼラチン特異的リンパ球増殖反応試験(LPT)を行う機会を得たのでその成績を報告する。

## 2. 研究対象と方法

検討対象症例の臨床所見を table に示す。ゼラチン含有ワクチン接種あるいはゼラチン含有食品摂食時に即時型副反応を呈し、ゼラチン IgE 抗体およびゼラチン特異的 LPT が陽性であった 15 症例(Table 症例 1 から 15, 平均月齢 26.1 ヶ月, 男児 6 例, 女児 9 例), 並びに非即時型反応を呈しゼラチン IgE 抗体が陰性でゼラチン特異的 LPT が陽性であった 22 症例(Table 症例 16 から 37, 平均月例 47.4 ヶ月, 男児 13 例, 女児 9 例)を対象とした。症状発現時にゼラチン IgE 測定およびゼラチン特異的 LPT を施行しゼラチンアレルギーと診断した後、3 年ないし 5 年経過した時点で同様の検査を施行した。

即時型反応を呈した症例についてはゼラチンを含有する食品の摂食をさけるように指導したが、非即時型反応群については特段の食餌制限の指導は行わなかった。

ゼラチン特異的 LPT は  $2.5 \times 10^6$  / ml の末梢血リンパ球を至適濃度のゼラチン抗原存在下に 5 日間培養し最後の 24 時間に  $^3\text{H}$ -Thymidine で標識しカウント後、抗原添加、非添加培養の uptake ratio すなわち stimulation index(SI)を算定した<sup>1)</sup>。SI 1.5 以上を陽性値とした。

ゼラチン IgE 抗体は蛍光 ELISA 法にて測定した<sup>2)</sup>。陽性限界は 0.05 Ua/ml 以上とした<sup>1)</sup>。またゼラチン IgG 抗体は Miyazawa らの方法で測定した<sup>3)</sup>。

### 3. 結 果

即時型反応を呈した症例1から15におけるゼラチンIgE値とゼラチン特異的LPTの経時的推移をFigure 1に示す。さらにそのゼラチンIgE抗体価の経時的推移をFigure 2に、ゼラチン特異的LPTの経時的推移をFigure 3に示す。ゼラチンIgE値は時間の経過とともに明らかに低下し、15症例中10症例で陰性となった。さらに一般的に用いられている0.35 Ua/mlをcut off値とすると14例が陰性化したことになった。臨床症状を呈した直後のゼラチンIgE値の平均は2.45 Ua/ml、3年ないし5年経過後のそれは陰性を仮に0.04として計算すると0.18 Ua/mlであった。これに対してゼラチン特異的LPTは時間の経過とともにSI値がむしろ増加した症例が10例、減衰した例が5症例であり陰性化したのはわずか1例にとどまった。臨床症状を呈した直後のゼラチン特異的LPTの平均SIは6.68、3年ないし5年経過後のSIは6.44であり、減衰傾向は全く認められなかった。これらの症例でゼラチンIgGが陽性となった例はなかった。

非即時型反応群22症例(症例16から37)のゼラチン特異的LPTの経時的推移をFigure 4に示す。これらの症例において3年経過後の再検査でゼラチンIgEが陽性化した例はなかった。ゼラチン特異的LPTは時間の経過とともにSI値がむしろ増加した症例が9例、減衰した例が13症例あり陰性化したのは2例であった。臨床症状を呈した直後のゼラチン特異的LPTの平均SIは10.38、3年経過後のSIは8.30であり、明らかな減衰傾向は認められなかった。

### 4. 考 按

ゼラチンIgEは時間の経過と共に低下し、陽性群15例中10例において検出感度以下となった。しかしながらゼラチン特異的なリンパ球の活性は即時型反応群、非即時型反応群共に多くの症例で陽性を持続しており、活性値も低下傾向を認めなかった。

ゼラチンIgEが、食餌制限下ではあれ時間の経過とともに低下しその多くが検出感度以下になったことはいつ起こるか分からないアナフィラキシーにおびえる必要が無くなったという観点から朗報であった。しかしながらこれらの症例がゼラチン含有食品を摂取するようになったときに再びゼラチンIgE値が陽性あるいは高値になるか否かについての知見は現時点で得られていない。少なくともゼラチン食品の摂取は慎重に開始し、引き続き観察が必要と思われる。

さらに即時型、非即時型の両群ともゼラチン特異的なリンパ球の反応性が高値のまま維持されていることから、将来何らかの問題を引き起こす可能性についての検討が必要と思われた。

ほぼ全てのワクチンからゼラチンが除かれ、ワクチンに対する副反応としてのゼラチンアレルギーは解決済みと言っていい状態になった。ゼラチンアレルギーはワ

クチン添加物をめぐる議論に一石を投じたが、問題が起こってからの原因の追及と確認、さらに対策(今回の場合はゼラチンの除去)がとられるまでの経過が十分に迅速であったか否かについての検証が必要であろう。

(文 献)

1. Kumagai T, Ozaki T, Kamada M, et al. Gelatin-containing diphtheria-tetanus-pertussis (DTP)vaccine causes sensitization to gelatin in the recipients. *Vaccine* 2000; 18:1555-1561.
2. Kumagai T, Yamanaka T, Wataya Y, et al. Gelatin-specific humoral and cellular immune responses in children with immediate- and nonimmediate-type reactions to live measles, mumps, rubella, and varicella vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:130-4.
3. Miyazawa H, Saitoh S, Kumagai T, et al. Specific IgG to gelatin in children with systemic immediate- and nonimmediate-type reactions to measles, mumps and rubella vaccines. *Vaccine* 1999; 17:2176-80.

**Table** Clinical characteristics on patients

Patient No.	Age* (mo.)	Sex	Vaccine	Gelatin** (mg/shot)	Reactions to vaccine
1	15	F	Measles	1	Wheezing, dyspnea, urticaria
2	13	F	Measles	1	Wheezing, dyspnea, urticaria
3	18	M	Measles	1	Wheezing, dyspnea, urticaria
4	15	M	Measles	1	Urticaria
5	23	F	Measles	1	Urticaria
6	16	M	Measles	1	Urticaria
7	14	M	Measles	2.5	Urticaria
8	15	M	Measles	1	Urticaria
9	59	F	Mumps	1	Wheezing, dyspnea
10	21	F	Mumps	1	Urticaria
11	35	M	Mumps	1	Urticaria
12	60	F	Mumps	1	Urticaria
13	16	F	Rubella	2.5	Urticaria
14	30	F	Varicella	13.5	Urticaria
15	42	F	Gummy***	unknown	Wheezing, dyspnea, urticaria
16	12	F	Measles	1.5	Mild systemic skin rash
17	17	M	Measles	1	Erythema, swelling at the local injection site
18	12	M	Measles	1	Mild systemic skin rash
19	128	M	Mumps	1	Erythema, swelling at the local injection site
20	47	M	Mumps	1	Mild systemic skin rash
21	87	F	Rubella	2.5	Erythema, swelling at the local injection site
22	63	M	Rubella	1	Erythema, swelling at the local injection site
23	126	F	Rubella	2.5	Erythema, swelling at the local injection site
24	27	M	Rubella	1	Erythema, swelling at the local injection site
25	31	F	Varicella	13.5	Erythema, swelling at the local injection site
26	16	M	Varicella	13.5	Mild systemic skin rash
27	39	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
28	25	F	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
29	40	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
30	27	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
31	35	F	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
32	24	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
33	38	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
34	38	F	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
35	33	M	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
36	25	F	DTP booster	0.02~0.1	Erythema, swelling at the local injection site
37	153	F	Hamburger***	unknown	Swelling on the lips

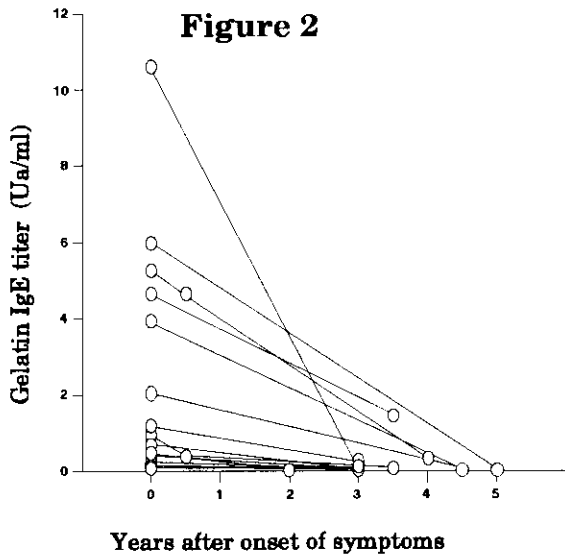
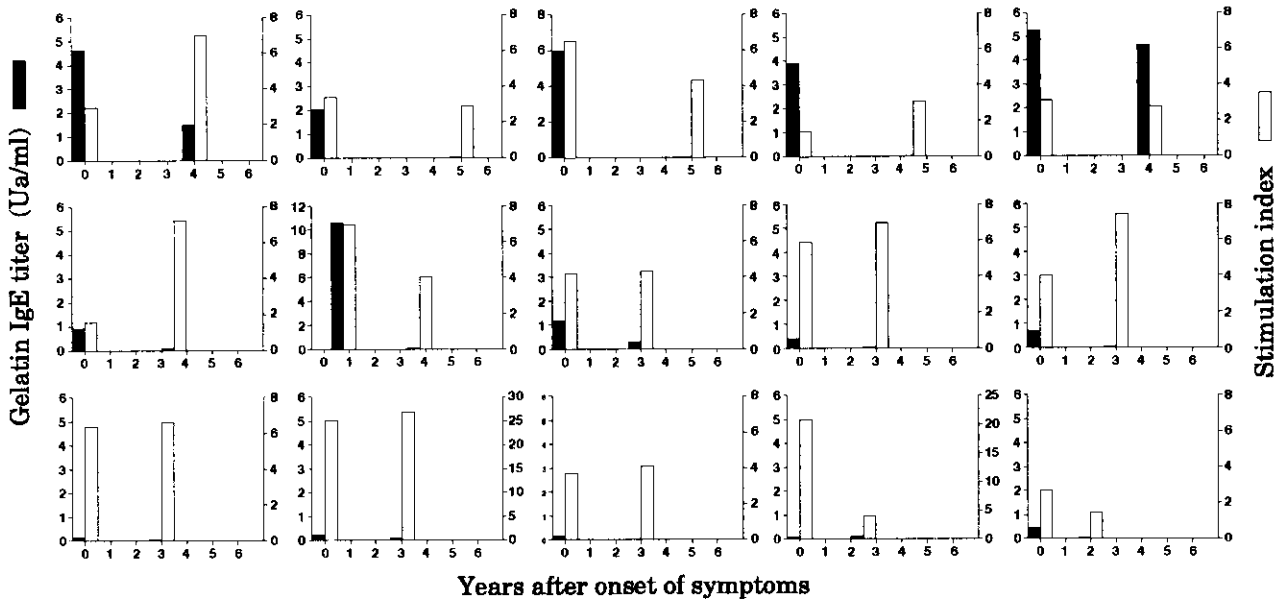
\* Age at the enrollment in the study.

\*\* These data were obtained from the manufacturer's literature, which gives the contents and the volume of vaccine administered except for that of DTP. Amount of gelatin contained in DTP was estimated by calculation from the basic materials used and the dilution factor of the manufacturing process.

\*\*\* Symptoms were elicited by ingestion of gelatin containing food in these patients .



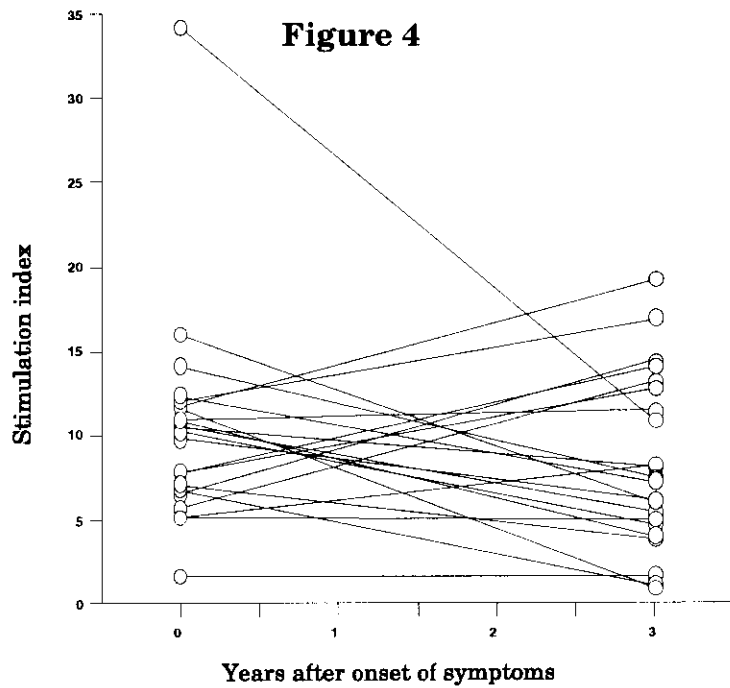
**Figure 1**



**Figure 2**

**Figure 3**

**Figure 4**



## ワクチン接種後の副反応

市販後調査 1994-2000

中山 哲夫 (北里研究所 ウイルス1室)

ワクチンが予防医学に果たしてきた役割は大きなものがあるが、ワクチンをとりまく状況は厳しく、ワクチンに対する正当な評価がゆがめられている。cost/benefit の概念からアメリカでは積極的にワクチン接種を推進しているが、我が国の接種率は世界の平均レベルよりも低い状況である。その原因がどこにあるか深く考えていく必要がある。母親にワクチン接種の重要性を理解させワクチン接種を向上するためには、cost/benefit ではなく、ワクチンを受けないで自然感染したときの合併症の頻度とワクチンの副反応の頻度を比較する potential risk/benefit の考え方を普及すべきである。そのためにはワクチン接種後の副反応の頻度を把握しておく必要がある。実態のはっきりしない副反応の恐怖がワクチン普及の妨げになっている。ワクチン接種後の副反応モニター制度がスタートしワクチン接種後のよく見られる副反応は把握できるが、極めて稀に出現する重篤な副反応の頻度はその母数が少ないため各ワクチンメーカーの市販後調査に頼らざるを得ない。1994年4月から2000年12月までの北里研究所製造のワクチンの副反応調査を集計した。

### 1 ワクチン接種後のアレルギー反応

1994年になって生ワクチン接種後のアナフィラキシー反応が多数報告されはじめ問題となった 1)。その原因は安定剤として使用していたゼラチンに対するアレルギー反応であることが明らかとなり、一部メーカーのゼラチンを含んだDPTがその感作を増幅していた事が明らかとなった 2)。1998年からゼラチンを除いた改良DPTが販売され1999年からは全メーカーのDPTからゼラチンが除かれ、ゼラチンアレルギーは解決された 3)。表1に1994年からの各ワクチン接種後のアレルギー反応の報告例を示した。血清アルブミンの潜在的危険性をさけるため低アレルギー性の豚皮膚コラーゲンを加水分解したゼラチンに1998年から変更した。それまで麻疹ワクチン100万接種機会に11例、風疹ワクチンでは4例、ムンプスワクチンでは24例の頻度で出現していたアナフィラキシー反応が激減している。低反応性のゼラチンに変更した1998年以降麻

疹、ムンプスワクチン接種後に各1例のアナフィラキシー反応が報告されたが、いずれもその前にゼラチンを含有したDPTワクチンの接種を受けていたことがわかっている。ゼラチンを使用していないDPTワクチン接種後にもアナフィラキシー反応があること、日本脳炎、インフルエンザワクチンには0.02%低反応性ゼラチンを含有したが、2000年度のインフルエンザワクチンにはゼラチンは含まれていない。アナフィラキシー例はゼラチンIgE抗体は陰性で、ゼラチンアレルギーは解決されたものの、不活化ワクチンには原因の特定できないアナフィラキシー反応があり注意が必要である。

表1 ワクチン接種後のアレルギー性副反応報告例数(1994年6月-2000年12月)

アレルギー反応	麻疹		風疹		ムンプス		日本脳炎		インフルエンザ			DTaP
	B*	P#	B*	N~	B*	P#	P*	P#	P*	P#	N~	
アナフィラキシー	18	1	9	0	17	1	2	1	0	4	2	3
蕁麻疹	64	1	9	0	22	0	3	5	0	2	1	4
発疹	205	3	76	7	48	1	7	1	5	65	23	54
出荷数(千)	1667	727	2054	685	700	252	2389	1258	290	1057	1794	3511

安定剤として生ワクチンはゼラチン0.2%、日本脳炎・インフルエンザワクチンは0.02%

B\*: 和光純薬牛ゼラチン, P#: Prionex豚皮膚コラーゲン加水分解ゼラチン,

N~: ゼラチン、ヒト血清アルブミン free, P\*: メルク社豚ゼラチン

Prionex使用の麻疹ワクチン接種後のアナフィラキシー反応が2000年になって1例報告され、

ムンプスワクチン接種後の1例もゼラチンアレルギーで、生ワクチン接種前にゼラチン含有DPTを受けていた。

Prionex使用のインフルエンザワクチン接種後のアナフィラキシー反応4例中2例にゼラチンIgE抗体を測定したが陰性で原因は不明。

## 2 インフルエンザワクチン接種後のアナフィラキシー反応

インフルエンザワクチンが成人のワクチンとして見直され製造量が増加し多くの老人に接種されてくるようになった。30分以内に出現するアナフィラキシー以外に接種後10時間以上経過して発症する呼吸困難、循環系ショックが3例報告された。また、心筋梗塞が1例報告され、ワクチン接種と因果関係が不明のアナフィラキシー様症状があり注意を要する。

## 3 自然感染とワクチン接種

自然感染後にどういう合併症がどのくらいの頻度で起こるかに関しては教科書的に記載されている4)。ワクチンの有効性、安全性の限界を明らかにするためにまとめて麻疹、風疹、ムンプスの自然感染の副反応の頻度と北里研究所の市販後調査の結果を比較して表2に示した。

野生株麻疹ウイルスに感染すると1000~2000例に1例の脳炎を合併し、中枢神経系に持続感染し、約10万人に1例の割合で亜急性硬化性全脳炎(SSPE)

という重篤な合併症を起こす事が知られている。ワクチン接種後の副反応として接種後 5-10 日後ぐらいに発熱・発疹は 10-20%にみられ、脳炎や SSPE 例も 100 万 dose に 1 例以下といわれている。ワクチン接種後に麻疹様症状を認めた症例からは野生株の遺伝子が検出され、野生株の潜伏期間にワクチン接種が重なり、時間的な経過からあたかもワクチンの副反応として紛れ込んでくる 5)。

表 2 自然感染の合併症とワクチンの副反応

A) 麻疹		出庫数 239 万 dose(1994-2000)
	自然感染	ワクチン接種後
発熱	ほぼ 100% *	10~20% (5~ 7 日後)
発疹	ほぼ 100%	5~10% (7~10 日後)
脳炎・脳症	1/1000-2000	2**
SSPE	8.5/100 万	-
その他	中耳炎 7~9%	血小板減少症(4)
	肺炎 1~6%	VAHS(1)

\*; 自然感染の麻疹では 38.5 C 以上の発熱が少なくとも 5-9 日持続し、ワクチン接種後の発熱は接種後 5-7 日に通常 38 C 前後で、39 C 以上の高熱は 100 人に 1 人程度で、ワクチンでは麻疹様の症状はでない。

\*\* ; 教科書的には 0.3/100 万程度。脳炎・脳症の 2 例は 2-3 時間後と、17 日後に発症しており、因果関係は不明。VAHS の 1 例も因果関係不明。

血小板減少症の 4 例中 2 例にウイルス学的検査を行い麻疹ウイルス遺伝子が検出され塩基配列から野生株と判定された。

B) ムンプス

B) ムンプス		出庫数 95 万 dose(1994-2000)
	自然感染	ワクチン接種後
中枢神経合併症		
無菌性髄膜炎	10~15%	100 (1 例;急性小脳失調症)
脳炎	1/5,000-6,000	1*
難聴	1/15,000	2 (聴力障害)
ADEM		1*
睾丸炎	20~25%	8
膝炎	6%	-

\* ; 髄液よりエンテロウイルス遺伝子が検出された。