

Table 1 (Continued)

Case No.	Age (year)	Gender	Symptom(s)*	Causative food(s)	Time to reaction (h)**	CAP-FEIA (kUa/l)			
						Beef	Pork	Chicken	Cetuximab
27	78	M	U	Beef, pork, mutton, chicken meat and alcohol	Unknown	6.38	3.16	<0.35	n.d.
28	59	M	U	Beef liver and chicken meat	Unknown	58.4	n.d.	n.d.	103
29	57	M	U	Beef and alcohol	2	19.5	13.0	n.d.	84.1

*Symptom(s), U; urticaria, A; abdominal pain, V; vomiting, D; diarrhea, AS; anaphylactic shock.

**Time to reaction, time (h) taken for allergic symptom(s) to develop after eating causative food(s).

***n.d., not determined.

Sequence analysis

A homology search of proteins identified from the amino acid sequences was performed with BLASTp on the NCBI nonredundant protein sequence database. A conserved domain search was also performed on the NCBI platform.

Periodate treatment

Water-soluble beef proteins were separated on 7.5% SDS-PAGE under reducing conditions and electrophoretically transferred to a PVDF membrane. Membranes were incubated with a solution containing 50 mM sodium acetate (pH 4.5) and 20 mM sodium periodate for 1 h in the dark and further incubated with patient sera after washing with TBST. Bound IgE was detected as described above.

Inhibition assay by immunoblotting

Serum was diluted to 10% with blocking solution and incubated with different amounts of cetuximab (10, 100 µg) as an inhibitor, or PBS as control for 1 h at 37°C. The pre-incubated serum was reacted with water-soluble beef proteins electroblotted onto the PVDF membrane for 16 h at 28°C. Bound IgE was detected as described above.

Preparation of cetuximab CAP-FEIA

To prepare biotin-labeled cetuximab, cetuximab solution was dialyzed with PBS using the HiTrap desalting column (5 ml, GE Healthcare). The resultant solution, containing 3.3 mg of cetuximab, was labeled with 53.2 mmol biotin using the EZ-link sulfo-NHS-LC biotin reagent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) for 30 min at 28°C. Subsequently, unreacted biotin was removed by passing through the HiTrap desalting column. Protein concentrations were determined using the RC DC protein assay kit (Bio-Rad). Cetuximab biotinylation was confirmed by dot blot analysis using HRP-conjugated streptavidin and the ECL kit. To construct cetuximab CAP-FEIA, 5 µg of biotinylated cetuximab was bound to the streptavidin CAP-FEIA system (9, 17). The IgE value to cetuximab was compared with that to beef using the Spearman's rank order correlation test. Statistical analysis was performed with SPSS software, version 20 (IBM Corp.,

Armonk, NY, USA). A two-sided *P* value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

Results

IgE immunoblot analysis of meat proteins

Serum IgE binding to water-soluble beef proteins was examined by immunoblotting in 29 patients with beef allergy. Multiple bands were detected in all patients, as shown in Fig. 1A, and two bands were commonly seen at 240 kDa and 140 kDa. When serum IgE binding to the water-soluble and water-insoluble proteins of pork and chicken were analyzed by immunoblotting using sera from four patients (case Nos 1, 3, 5, and 7), the 240-kDa band was detected commonly with the water-soluble proteins of pork, but not with those of chicken (Fig. 1B). In contrast, the 140-kDa band in water-soluble proteins of pork was detected only in the serum of patient No. 3. The 140-kDa band seen in the water-insoluble proteins of beef and pork was nonspecific because this band was also seen in sera of healthy subjects.

Identification of the 240-kDa and 140-kDa allergens as laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain

On 2D-PAGE, two dominant IgE-binding spots were detected using sera from two patients (case Nos 1 and 3) at 240 kDa and pI 5 (spot 1) and at 140 kDa and pI 5.5 (spot 2) (Fig. 2A). The position of each spot was identical in the sera of the patients tested. IgE-binding spots were not detected in the sera of two healthy subjects (data not shown). The 240-kDa and 140-kDa protein spots were analyzed with PMF and MS/MS ion search using MALDI-TOF MS. MASCOT scores were significant in both PMF and MS/MS analyses (Table 2), and spots 1 (240 kDa) and 2 (140 kDa) were identified as laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *Bos taurus*, respectively. Other spots detected in the low molecular area by immunoblotting could not be identified because these proteins were not separated clearly (Fig. 2B).

Homology analysis showed that laminin γ -1 from *B. taurus* has significant homology with those from *Sus scrofa*, human, and *Gallus gallus* (Table 3). The collagen α -1 (VI) chain from *B. taurus* also has significant homology with those from human and *G. gallus* (Table 3). The homology between

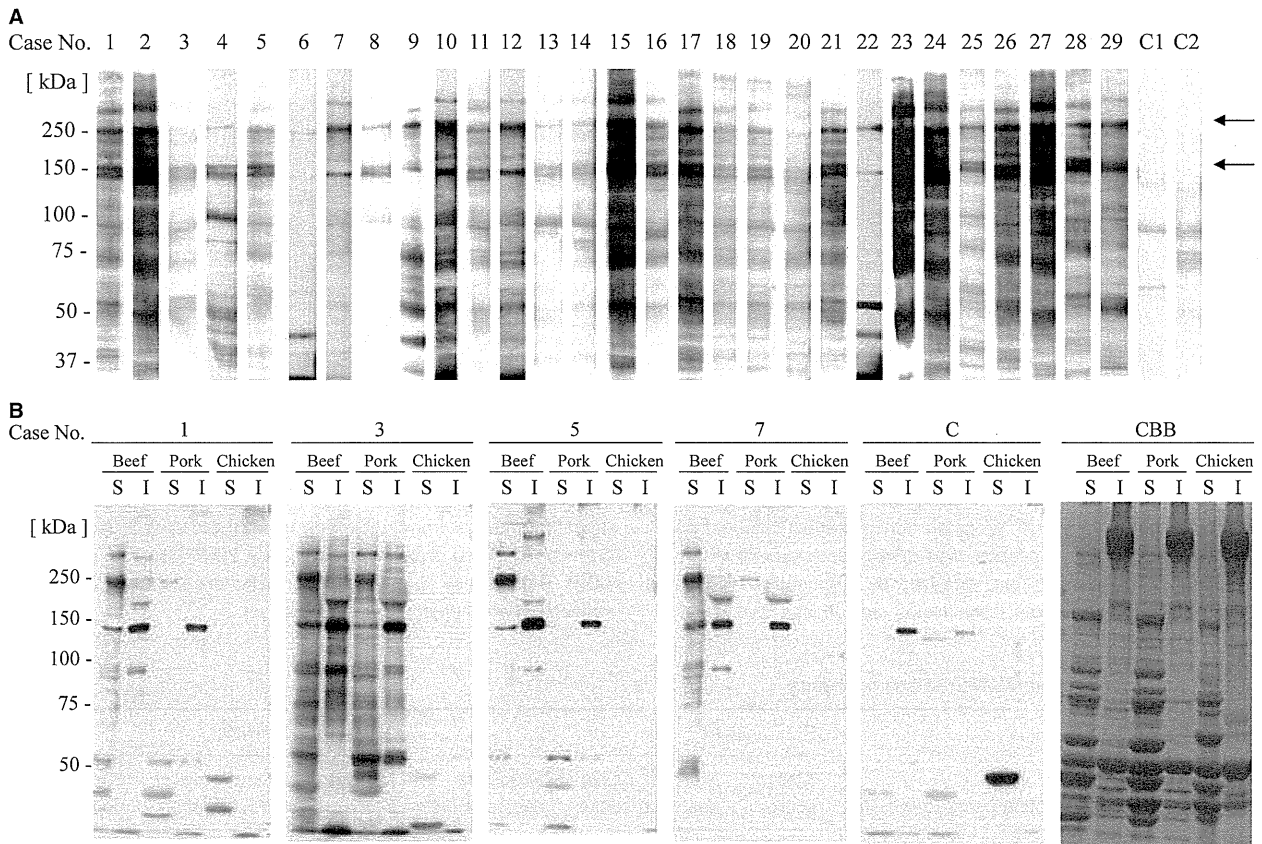


Figure 1 IgE immunoblotting of meat proteins. (A) IgE binding to water-soluble beef proteins was analyzed by immunoblotting using sera from all patients (case Nos 1–29). As a negative control, sera from healthy subjects were used (C1 and C2). Arrows indicate the 240-kDa and 140-kDa proteins. (B) Water-soluble proteins (S) and

water-insoluble proteins (I) of beef, pork, and chicken were separated by SDS-PAGE. IgE-binding proteins were detected using patient sera (case Nos 1, 3, 5, and 7). As a negative control, sera from healthy subjects were used (C). Total protein was stained with Coomassie Brilliant Blue (CBB).

laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *B. taurus* was low, and identity score and similarity were 30% (in a 43-amino acid overlap) and 69% (in a 43-amino acid overlap), respectively. Furthermore, the domain structure was not identical between laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *B. taurus*.

Determination of glycosylation in laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain

Because laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain are known to be glycoproteins (18–20), water-soluble beef proteins separated by SDS-PAGE were immunoblotted with anti- α -Gal monoclonal antibody. Proteins bearing α -Gal were detected at 240 kDa and 140 kDa, corresponding to the positions of laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain (Fig. 3A). To investigate whether IgE binding to laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain was directed against carbohydrate, PVDF-blotted water-soluble beef proteins were treated with periodate (Fig. 3B; + lanes) before the addition of sera from patients with beef allergy (case Nos 1, 3, 5, 7, and 9).

Periodate treatment caused the disappearance of the 240-kDa and 140-kDa IgE-binding bands (Fig. 3B).

To confirm that IgE bound to laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain through α -Gal, an IgE inhibition test was performed with cetuximab as the inhibitor, which is known to have α -Gal on its heavy chain. Pre-incubation of patients' sera with cetuximab resulted in the complete disappearance of IgE binding to the 240-kDa and 140-kDa bands (Fig. 3C). In addition, all patients with a beef allergy had IgEs that reacted with cetuximab (Table 1), and their binding values to cetuximab were well correlated with those to beef ($r = 0.77$, $P < 0.001$; Fig. 3D).

Discussion

In this study, we identified laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *B. taurus* as beef allergens and revealed that α -Gal in these allergens was responsible for IgE binding. As values of IgE reacting with beef were well correlated with those of that with cetuximab, α -Gal is possibly the major IgE-binding determinant in the patients studied. In addition,

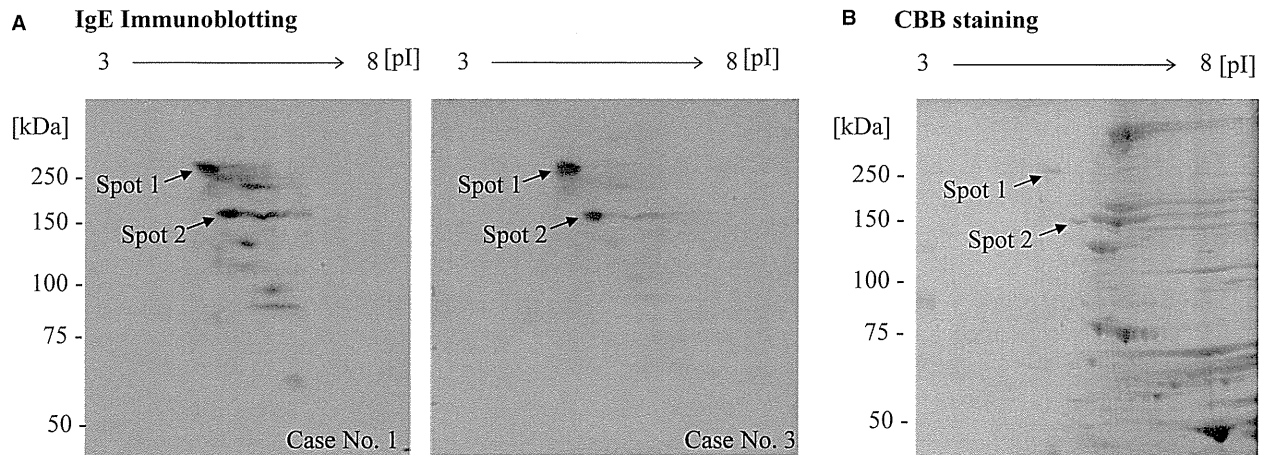


Figure 2 IgE immunoblotting of 2D-PAGE-resolved beef proteins. (A) The allergen-rich fraction, prepared from water-soluble beef proteins by ammonium precipitation, was developed by 2D-PAGE. The binding of IgE to proteins was analyzed by immunoblotting using the sera from two patients (case Nos 1 and 3) and two healthy

subjects after 2D-PAGE. Two dominant IgE-binding proteins were detected with IgE immunoblotting (spot 1 and spot 2, indicated by arrows). (B) Total protein developed by 2D-PAGE was stained by CBB. The protein spots were manually excised from the CBB-stained gel and subjected to MS analysis.

Table 2 PMF analysis and MS/MS ion search results

Spot No.	Accession number	Protein name (organism)	PMF analysis			MS/MS ion analysis		
			Mascot score	Matched peaks/ searched peaks	Sequence coverage (%)	Mascot score	Matched peaks/ searched peaks	Sequence coverage (%)
1	XP_611689	Laminin γ -1 (<i>Bos taurus</i>)	82	16/45	11	101	4/52	3
2	DAA32939	Collagen α -1 (VI) chain (<i>B. taurus</i>)	100	9/11	9	58	3/15	9

Table 3 Homology to laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *Bos taurus*

Organism	Laminin γ -1			Amino acids	Collagen α -1 (VI) chain			Amino acids
	Identity (%)*	Similarity (%)*	Accession number		Identity (%)**	Similarity (%)**	Accession number	
<i>Sus scrofa</i>	96	97	NP_001258644	1608	Unknown	Unknown	Not recorded	Unknown
Human	94	97	NP_002284.3	1609	91	95	NP_001839	1028
<i>Gallus gallus</i>	79	89	XP_001234659	1603	70	80	NP_990438	1019

*Homology to laminin γ -1 from *B. taurus* (accession number, XP_611689).

**Homology to collagen α -1 (VI) chain from *B. taurus* (accession number, DAA32939).

IgE from patient sera reacted to pork proteins, but not to chicken proteins, which is consistent with the patient's history of allergic episodes.

Whereas all patients' sera reacted commonly with the 240-kDa and 140-kDa proteins, multiple bands were detected in the low molecular area of the patients' sera (Fig. 1A). These bands were not recognized by anti- α -Gal antibody (Fig. 3A), but were diminished by peroxidase treatment and cetuximab treatment (Fig. 3B,C). We speculate that these are carbohydrate moieties mimicking α -Gal. These results indicate that laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain are the predomi-

nant IgE-reactive proteins, whereas other proteins might be involved in causing beef allergy. BSA, bovine IgG, and actin have been reported as allergens in patients with atopic dermatitis who experienced allergic reactions after consuming cow's milk and meat such as beef or pork (5, 8, 21). In the present study, IgE-reactive bands corresponding to bovine IgG (50 kDa) and actin (42 kDa) were observed in several patients upon IgE immunoblotting (Fig. 1), suggesting that bovine IgG may also be involved in the IgE-mediated allergic reactions seen after the ingestion of beef in these patients because the presence of α -Gal in bovine IgG has been reported (22).

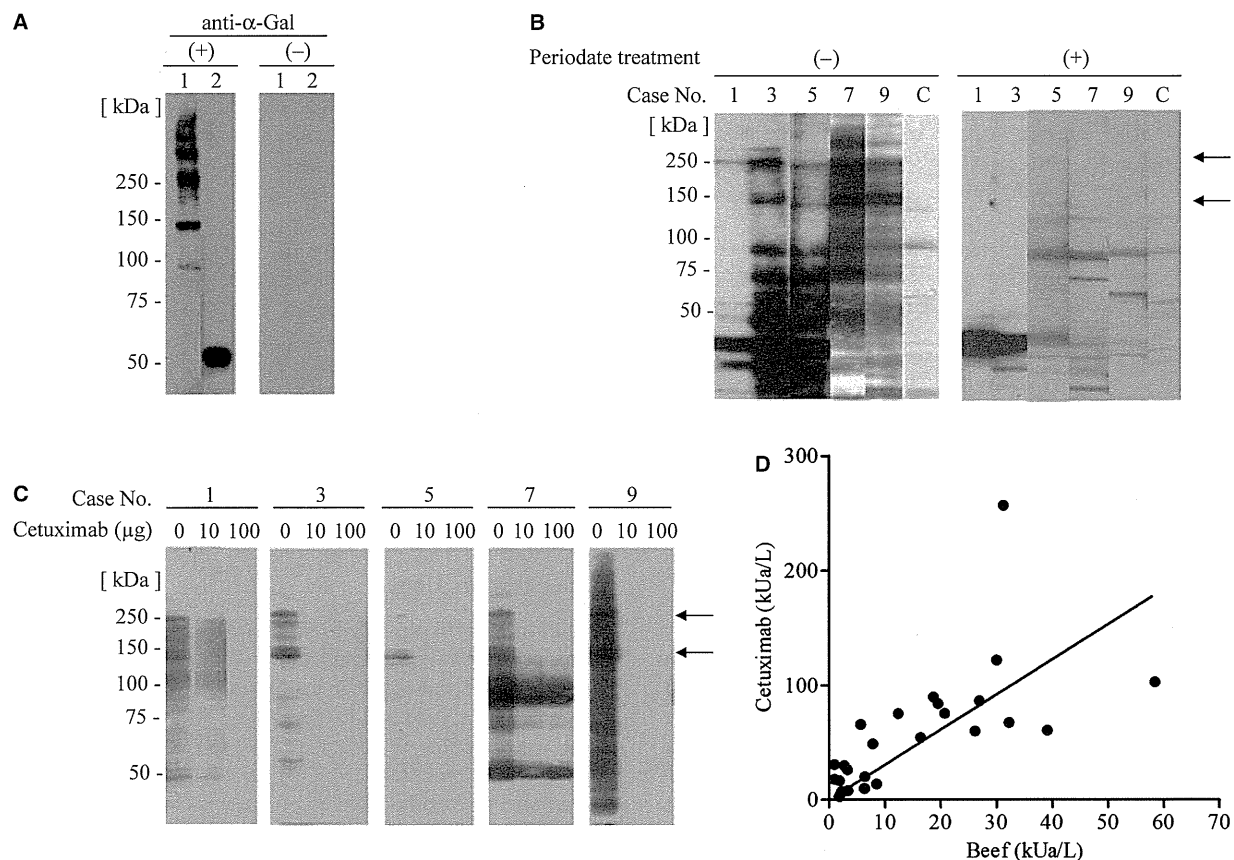


Figure 3 IgE reactivity to α -Gal on allergens. (A) Water-soluble beef proteins (lane 1) and cetuximab (lane 2) were separated by SDS-PAGE. The carbohydrate α -Gal was detected by immunoblotting using anti- α -Gal antibody (anti- α -Gal) (+). (B) Inhibition of IgE binding to beef proteins by periodate treatment. PVDF-blotted water-soluble beef proteins were incubated with a solution containing periodate (+) or without periodate (-), and were then reacted with patient sera (Case Nos. 1, 3, 5, 7, and 9). The serum of healthy subject was used as a negative control (C). IgE-binding proteins were visualized by IgE immunoblotting. Arrows indicate bands

corresponding to the position of laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain from *Bos taurus*. (C) Water-soluble beef proteins (25 μ g) were separated by SDS-PAGE and transferred to a PVDF membrane. Sera of patients (case Nos 1, 3, 5, 7, and 9) were pre-incubated with cetuximab (10 and 100 μ g). IgE-binding proteins were detected by IgE immunoblotting. Arrows indicate bands corresponding to the position of laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain. (D) Specific IgE values to beef and cetuximab were measured in patient sera ($n = 27$) by CAP-FEIA. IgE values specific to beef and cetuximab are plotted on the x- and y-axes, respectively.

The IgE in patients' sera reacted with laminin γ -1 and the collagen α -1 (VI) chain and was inhibited with cetuximab; however, their homology is low, indicating that α -Gal on both proteins is the IgE determinant. These data are supported by the fact that IgE from patient sera did not recognize human laminin γ -1 (data not shown), although human laminin γ -1 has high amino acid sequence homology to laminin γ -1 from *B. taurus*. These data are explained by the fact that the gene encoding α -1,3-galactosyl transferase to synthesize α -Gal on the carbohydrate chain is not functional in humans, apes, and old-world monkeys; therefore, these species cannot produce α -Gal (23).

The actual molecular size of laminin γ -1 (240 kDa) was much larger than the estimated molecular size from its amino acid sequence (140 kDa), indicating heavy glycosylation with N-linked oligosaccharides, including α -Gal (24), which is

consistent with a previous report by Maruyama et al. (25), indicating that bovine and pig laminin contain α -Gal. The collagen α -1 (VI) chain is one of the three subunits (α -1, α -2, and α -3) that comprise a heterotrimer glycoprotein (20, 26). Our results are consistent with the fact that collagen α -1 (VI) is highly glycosylated and exists mainly in the basement membrane (27), although the linking of α -Gal to the collagen α -1 (VI) chain has not been reported. It is known that bovine collagen α -1 (IV) contains α -Gal (28), but collagen α -1 (IV) was not detected in this study, which may be due to lower collagen α -1 (IV) content in our meat preparation.

According to EST profiles in the NCBI UniGene database, each gene encoding laminin γ -1, the collagen α -1 (VI) chain, and α -1,3-galactosyl transferase is expressed in the kidney, liver, muscle, and intestine, suggesting that almost all organs derived from *B. taurus* are allergenic. These data also explain

the clinical finding that some patients with beef allergy had an allergic reaction upon ingestion of grilled beef intestine.

Commins et al. described that characteristic features of red meat allergy are adult onset and have a delayed (3–5 h) appearance of the allergic reaction to mammalian meats (12). These features are consistent with our patients; 21 of 29 patients were over 60 years of age, and 10 of the 20 patients reacted to mammalian meats with a delay. We do not clarify the reason of this characteristic features in this study. Although some patients had an allergic reaction within 2 h, we speculate that the time to the reaction depends on the condition of the patients, mainly the condition of gastrointestinal tract, and not on the specific features of the patient. Similar observations were reported by Morisset et al. (14), where some patients developed an anaphylactic reaction within 2 h after ingesting meat or kidney.

A possible relationship of exposure to tick bites and adult-onset red meat allergy has been reported in the United States and Europe (29, 30). The report from the United States shows that the distribution of patients with Rocky Mountain spotted fever matches those of patients with red meat allergy who have specific IgEs against α -Gal (29); thus, bites from adult or larval ticks of the species *Amblyomma americanum* are suspected. Recently, Hamsten et al. (30) have reported that Swedish patients with red meat allergy have an IgE response to α -Gal, and the α -Gal epitope is present in the gastrointestinal tract of *Ixodes ricinus*, a common European tick. In Japan, Japanese spotted fever and Tsutsugamushi disease are well known as being due to tick infestation and are distributed widely. In this study, however, patient clinical information regarding tick bites was insufficient to examine the association between tick bites and beef allergy.

References

- Urisu A, Ebisawa M, Mukoyama T, Morikawa A, Kondo N. Japanese guideline for food allergy. *Allergol Int* 2011;**60**:221–236.
- Ayuso R, Lehrer SB, Lopez M, Reese G, Ibanez MD, Esteban MM et al. Identification of bovine IgG as a major cross-reactive vertebrate meat allergen. *Allergy* 2000;**55**:348–354.
- Fiocchi A, Restani P, Riva E. Beef allergy in children. *Nutrition* 2000;**16**:454–457.
- Fuentes MM, Palacios R, Garces MM, Caballero ML, Moneo I. Isolation and characterization of a heat-resistant beef allergen: myoglobin. *Allergy* 2004;**59**:327–331.
- Han GD, Matsuno M, Ito G, Ikeuch Y, Suzuki A. Meat allergy: investigation of potential allergenic proteins in beef. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;**64**:1887–1895.
- Restani P, Ballabio C, Tripodi S, Fiocchi A. Meat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;**9**:265–269.
- Tanabe S, Shibata R, Nishimura T. Hypoallergenic and T cell reactive analogue peptides of bovine serum albumin, the major beef allergen. *Mol Immunol* 2004;**41**:885–890.
- Werfel SJ, Cooke SK, Sampson HA. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* 1997;**99**:293–300.
- Chung CH, Mirakhur B, Chan E, Le QT, Berlin J, Morse M et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- α -1,3-galactose. *N Engl J Med* 2008;**358**:1109–1117.
- Commins SP, Platts-Mills TA. Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. *J Allergy Clin Immunol* 2009;**124**:652–657.
- Commins SP, Platts-Mills TA. Allergenicity of carbohydrates and their role in anaphylactic events. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010;**10**:29–33.
- Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD et al. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2009;**123**:426–433.
- Jacquet S, Moneret-Vautrin DA, Bihain BE. Mammalian meat-induced anaphylaxis: clinical relevance of anti-galactose- α -1,3-galactose IgE confirmed by means of skin tests to cetuximab. *J Allergy Clin Immunol* 2009;**124**:603–605.
- Morisset M, Richard C, Astier C, Jacquet S, Croizier A, Beaudouin E et al. Anaphylaxis to pork kidney is related to IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose. *Allergy* 2012;**67**:699–704.
- Saleh H, Embry S, Nauli A, Atyia S, Krishnaswamy G. Anaphylactic reactions to oligosaccharides in red meat: a syndrome in evolution. *Clin Mol Allergy* 2012;**10**:5.
- Sekiya K, Fukutomi Y, Nakazawa T, Taniguchi M, Akiyama K. Delayed anaphylactic reaction to mammalian meat. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2012;**22**:446–447.
- Sander I, Kespohl S, Merget R, Goldscheid N, Degens PO, Bruning T et al. A new method to bind allergens for the measurement of specific IgE antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;**136**:39–44.

Acknowledgments

This work was supported in part by Health and Labor Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan (H24-Research on rare and intractable diseases-005 to EM). The authors thank Dr. Koji Kamiya (Department of Dermatology, Okayama University Graduate School of Medicine, Okayama, Japan) and Dr. Akihisa Yamamoto (Department of Dermatology, Kobe Rosai Hospital, Kobe, Japan) for providing patient sera and Mrs. Kiyoe Ueda and Mrs. Kanako Yano for technical assistance.

Author contributions

All authors contributed to the manuscript. Hitoshi Takahashi performed most experiments and wrote the article. Yuko Chinuki and Eishin Morita evaluated the clinical findings, collected serum, and made diagnoses. Akira Tanaka measured the amount of serum-specific IgE values by CAP-FEIA. Eishin Morita thoroughly supervised the work and participated in writing of the manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest for the work presented in this study.

18. Timpl R, Rohde H, Robey PG, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR. Laminin- α glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem* 1979;**254**:9933–9937.
19. Tzu J, Marinkovich MP. Bridging structure with function: structural, regulatory, and developmental role of laminins. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;**40**:199–214.
20. Fujiwara S, Shinkai H, Timpl R. Structure of N-linked oligosaccharide chains in the triple-helical domains of human type VI and mouse type IV collagen. *Matrix* 1991;**11**:307–312.
21. Fiocchi A, Restani P, Riva E, Qualizza R, Bruni P, Restelli AR et al. Meat allergy: I-Specific IgE to BSA and OSA in atopic, beef sensitive children. *J Am Coll Nutr* 1995;**14**:239–244.
22. Thall A, Galili U. Distribution of Gal alpha 1—3Gal beta 1—4GlcNAc residues on secreted mammalian glycoproteins (thyroglobulin, fibrinogen, and immunoglobulin G) as measured by a sensitive solid-phase radioimmunoassay. *Biochemistry* 1990;**29**:3959–3965.
23. Galili U. The alpha-gal epitope and the anti-Gal antibody in xenotransplantation and in cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 2005;**83**:674–686.
24. Arumugham RG, Hsieh TC, Tanzer ML, Laine RA. Structures of the asparagine-linked sugar chains of laminin. *Biochim Biophys Acta* 1986;**883**:112–126.
25. Maruyama S, Cantu E 3rd, Galili U, D'Agati V, Godman G, Stern DM et al. alpha-galactosyl epitopes on glycoproteins of porcine renal extracellular matrix. *Kidney Int* 2000;**57**:655–663.
26. Zhang RZ, Pan TC, Timpl R, Chu ML. Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding the alpha 1, alpha 2 and alpha 3 chains of mouse collagen VI. *Biochem J* 1993;**291**(Pt 3):787–792.
27. Hesse H, Engvall E. Type VI collagen. Studies on its localization, structure, and biosynthetic form with monoclonal antibodies. *J Biol Chem* 1984;**259**:3955–3961.
28. Nayak BR, Spiro RG. Localization and structure of the asparagine-linked oligosaccharides of type IV collagen from glomerular basement membrane and lens capsule. *J Biol Chem* 1991;**266**:13978–13987.
29. Commins SP, James HR, Kelly LA, Pochan SL, Workman LJ, Perzanowski MS et al. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose-alpha-1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2011;**127**:1286–1293.
30. Hamsten C, Starkhammar M, Tran TA, Johansson M, Bengtsson U, Ahlen G et al. Identification of galactose-alpha-1,3-galactose in the gastrointestinal tract of the tick *Ixodes ricinus*; possible relationship with red meat allergy. *Allergy* 2013;**68**:549–552.

セツキシマブによるアナフィラキシーショックの4例— α-gal 特異的 IgE 検出による回避の可能性—

千貫祐子¹ 伊藤和行² 武田真紀子² 竹内 薫² 高橋 仁¹ 森田栄伸¹

要旨

セツキシマブによるアナフィラキシーショックの4例を経験した。糖鎖 α-gal が原因の牛肉アレルギーでは交差反応のためにセツキシマブアレルギーを生じるため、血清中牛肉特異的 IgE を定量したところ4例中3例で検出された。ウェスタンブロット法にて全例でセツキシマブ特異的 IgE が検出され、CAP-FEIA 法にて全例で α-gal 特異的 IgE が検出された。事前に牛肉、セツキシマブ、α-gal 特異的 IgE などを検索することにより、α-gal が原因のアナフィラキシーショックを回避することが可能であると考えられる。

はじめに

我々はこれまでに、本邦における牛肉アレルギー患者の主要原因抗原が米国における報告と同様に糖鎖 galactose-α-1,3-galactose (α-gal) であること、これらの患者は豚などの哺乳類肉、カレイ魚卵、抗悪性腫瘍剤のセツキシマブと交差反応することを報告した^{1) 2)}。特にセツキシマブは直接静脈内投与するために、これらの患者では重篤なアレルギー症状を誘発する可能性があり、啓発の必要性を訴えていた²⁾。今回 α-gal が原因と思われるセツキシマブによるアナフィラキシーショックの4例を実際に経験したので報告する。

症例提示

症例 1：66 歳女性。

既往歴：特記することなし。

現病歴：2013 年 3 月某日、喉頭癌と左鎖骨上窩リンパ節転移に対して、放射線治療後にセツキシマブの投

与が開始された。初回投与開始 10 分後に、全身のそう痒感と呼吸苦が出現した。さらに、全身の冷汗と上肢の発赤が出現し、血圧が低下(収縮期血圧 60 mmHg, 拡張期血圧測定不能)した。インフュージョンリアクションを疑われ、直ちにセツキシマブ投与中止の上で輸液と酸素投与が開始され、症状は徐々に改善した。

症例 2：81 歳男性。

既往歴：65 歳頃にカレイ魚卵摂取後に蕁麻疹が出現した。

現病歴：2013 年 6 月某日、中咽頭癌に対してセツキシマブの投与が開始された。初回投与開始 15 分後に、顔面の発赤が出現した。17 分後には顔面の発赤腫脹の増悪と呼吸苦が出現し、その後血圧が低下(収縮期血圧 50 mmHg, 拡張期血圧測定不能)し意識消失した。インフュージョンリアクションを疑われ、直ちにセツキシマブの投与中止の上でアドレナリン静注と輸液と酸素投与が開始され、症状は徐々に改善した。

症例 3：60 歳男性。

既往歴：特記することなし。

現病歴：2013 年 6 月某日、喉頭癌と口腔底癌に対して、放射線治療と並行してセツキシマブの投与が開始された。初回投与開始 10 分後に、全身のそう痒と顔面の発赤が出現し、15 分後には冷汗が著明となり血圧が低下(55/38 mmHg)した。インフュージョンリアクションを疑われ、直ちにセツキシマブの投与中止の上でアドレナリン筋注と輸液と酸素投与が開始され、症状は徐々に改善した。

1) 島根大学医学部皮膚科学講座 (主任：森田栄伸教授)

〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1

2) 松江赤十字病院耳鼻咽喉・頭頸部外科(主任：伊藤和行部長)

〒690-8506 島根県松江市母衣町 200

平成 25 年 10 月 19 日受付、平成 26 年 1 月 9 日掲載決定

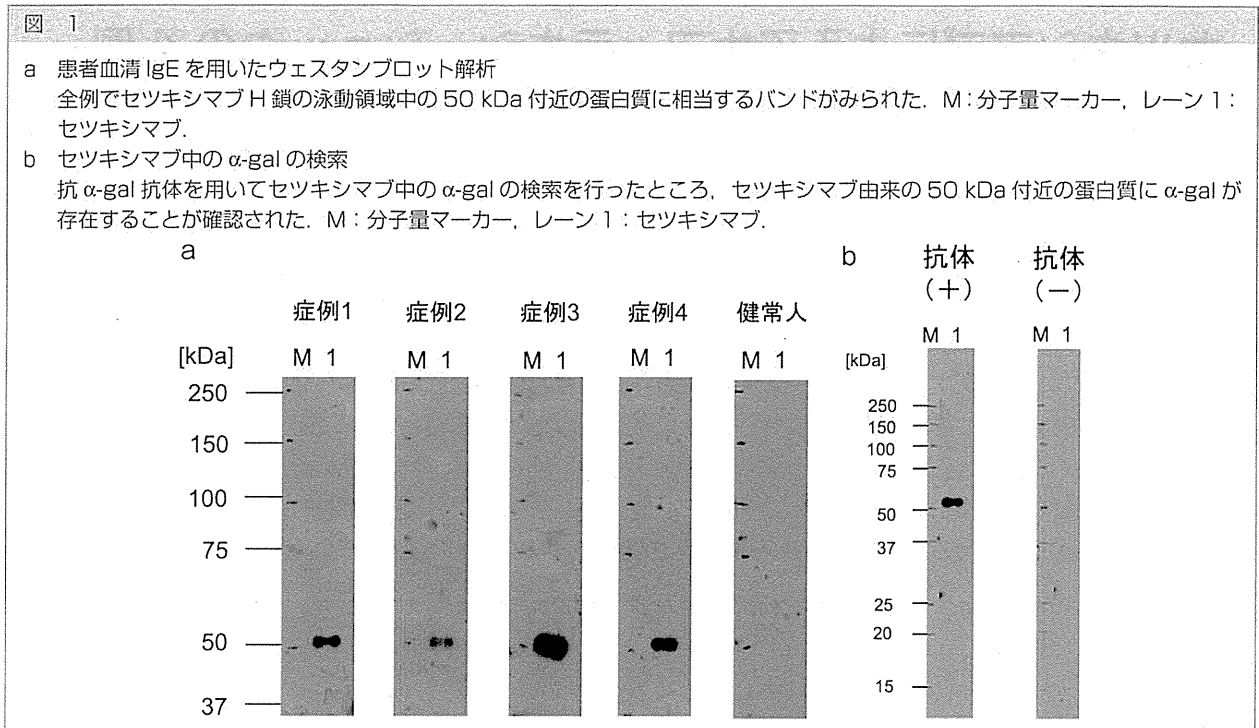
【別刷請求先】千貫祐子

島根大学医学部皮膚科学講座

〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1

電話：0853-20-2210 FAX：0853-21-8317

e-mail：ychinuki@med.shimane-u.ac.jp



症例 4：67 歳男性。

既往歴：特記することなし。

現病歴：2013 年 7 月某日、上咽頭癌と両側頸部リンパ節転移、肺転移に対して、放射線治療や各種化学療法施行後にセツキシマブの投与が開始された。初回投与開始 13 分後に、咳漱と咽頭違和感が出現し、意識朦朧となり血圧が低下 (49/18 mmHg) した。尿失禁、嘔吐などが出現し、インフュージョンリアクションを疑われ、直ちにセツキシマブの投与中止の上でアドレナリン静注と輸液と酸素投与が開始され、症状は徐々に改善した。経過中、皮疹の出現は確認されていない。

血清中抗原特異的 IgE 検査結果

ウェスタンブロット法

セツキシマブ (メルクセローノ株式会社, 東京) をサンプルバッファーで 20 ng/mL に希釈してポリアクリルアミド電気泳動 (25 μ g/Lane) に供し、PVDF 膜に転写後、患者血清を反応させた。血清中抗原特異的 IgE の検出には、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgE 抗体 (KPL 社, Gaithersburg, USA) と ECL Prime (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社, 東京) を用いた。全例で、セツキシマブ H 鎖の泳動領域中の 50 kDa 付近の蛋白質に相当するバンドがみられた (図 1a)。ウェ

スタンブロット法における患者血清中 IgE のセツキシマブへの結合が特異的なものであるか否かを確認する目的で、セツキシマブ (10 ng, 100 ng, 1 μ g) を患者血清 50 μ l と予め 37 $^{\circ}$ C で 2 時間反応させて特異的 IgE をセツキシマブと結合させ、ウェスタンブロット法に供したところ、患者血清中 IgE のセツキシマブへの結合は、患者血清と予め反応させたセツキシマブの濃度に依存して減弱、消失した。このことより、本結合がセツキシマブ特異的なものであることが確認された。

さらに、セツキシマブ中の α -gal の有無を検索するために、セツキシマブ 20 ng を泳動後、抗 α -gal マウス IgM 抗体 (エンゾ・ライフサイエンス社, NY, USA) をブロッキングバッファーで 5 μ l/mL に希釈したものを一次抗体として用いてウェスタンブロット法を施行した。 α -gal の検出にはペルオキシダーゼ標識抗マウス IgM 抗体 (KPL 社, Gaithersburg, USA) と ECL Prime (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社, 東京) を用いた。その結果、セツキシマブ由来の 50 kDa 付近の蛋白質に α -gal が存在することが確認された (図 1b)。

CAP-FEIA 法

サーモフィッシュャーサイエンティフィック社の供給する CAP-FEIA 法により、牛肉特異的 IgE および牛

表1 血清中抗原特異的IgE検査結果(CAP-FEIA法)

症例	牛肉特異的IgE値 (UA/mL)	α -gal特異的IgE値 (UA/mL)
症例1	<0.34	1.33
症例2	2.14	6.19
症例3	0.48	6.62
症例4	1.34	3.30

のサイログロブリンを抗原とした α -gal特異的IgEを検索したところ、牛肉特異的IgEが4例中3例で、 α -gal特異的IgEが4例全例で検出された(表1)。

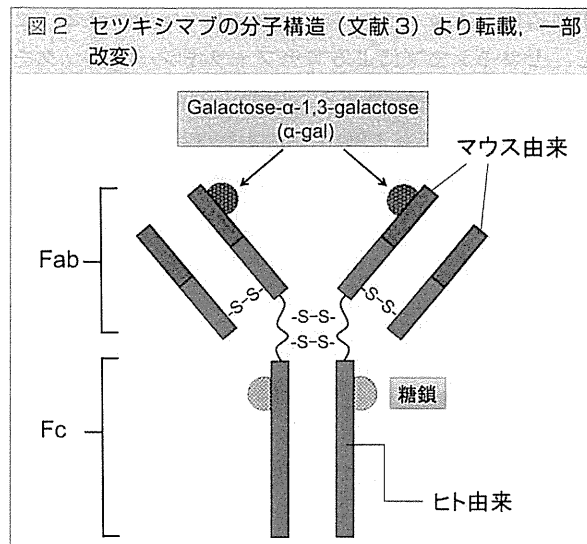
考察

セツキシマブは上皮細胞増殖因子受容体(Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR)を標的とする免疫グロブリン(Immunoglobulin; Ig) G1サブクラスのヒト/マウスキメラ型モノクローナル抗体製剤である³⁾。頭頸部癌とEGFR陽性の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対して使用されており、奏効率の上昇および無増悪生存期間の延長などが確認されている。抗体の変部はマウス由来、定常部はヒト由来であり、マウス由来の割合は約30%である。ヒト体内では生産されない糖鎖 α -galは、マウス由来のFab領域に存在する(図2)。

2008年、Chungらは、米国東南部においてセツキシマブによるアナフィラキシー症例が多発し、その主要原因がマウス抗体に由来する α -galに対する抗糖鎖IgE抗体であること、またセツキシマブに対するIgE抗体保有率が地域によって大きく異なり、米国東南部では住民の20%に及ぶことを報告した¹⁾。2009年になり、Comminsらは、獣肉摂取3~6時間後に発症する遅発性の蕁麻疹やアナフィラキシーの多発地域がセツキシマブ特異的IgE抗体保有率の高い地域に一致してみられること、その原因抗原はセツキシマブアレルギーと同様に α -galであることを報告した^{2) 6)}。このことから、セツキシマブアレルギーの原因と獣肉アレルギーの原因は、 α -galという同一の糖鎖であることが明らかにされた。さらに、我々の解析では、牛肉蛋白質中のラミニン γ 1とコラーゲン α -1に結合した α -galが牛肉アレルギーの主要抗原となっていることが分かっている⁷⁾。

我々はこれまでに、本邦の牛肉アレルギー患者の多くがマダニの媒介する日本紅斑熱発症地域に居住し、豚肉、セツキシマブ、カレイ魚卵と交差反応すること、

図2 セツキシマブの分子構造(文献3)より転載、一部改変)



その主要抗原は糖鎖 α -galであることを報告した¹⁾。そして、これらの患者の牛肉特異的IgE値とセツキシマブ特異的IgE値に、正の相関関係があることを確認した^{1)~3)}。このことから、牛肉アレルギー患者あるいは牛肉特異的IgEを有している患者がセツキシマブを投与された際に、アナフィラキシーを発症する可能性を危惧していた。

本邦においてもセツキシマブは頭頸部癌や大腸癌の治療薬として広く用いられており、80%以上の症例で蕁麻疹や皮膚乾燥、爪囲炎などの皮膚症状が出現することが知られている。重大な副作用として重度のインフュージョンリアクションがあり、死亡にいたる例も報告されている。そして、我々は重度のインフュージョンリアクションと考えられている症例の中には、IgE依存性アレルギー反応に基づくものが含まれている可能性があるのではないかと推察していた³⁾。

今回、我々が経験した4例は耳鼻咽喉・頭頸部外科で治療中の患者で、セツキシマブ初回投与直後にアナフィラキシーショックを発症していた。いずれも当初はインフュージョンリアクションとして対応されており、同様の症例が4例続いたことで、原因検索のために初めて当科に相談されることとなった。患者血清を用いたウェスタンブロット法およびCAP-FEIA法により、いずれもセツキシマブ上の α -galが原因抗原であると考えられた。

この4例のうち、問診上獣肉アレルギーの既往があると答えた患者はいなかったが、1例はカレイ魚卵アレルギーの既往があった。また、4例中3例は血液検査(CAP-FEIA法)で牛肉特異的IgEが検出されており、

事前に検査することによって α -gal アレルギーを予見し、セツキシマブによるアナフィラキシーショックを回避し得た可能性がある。ただし、牛肉特異的 IgE 検査を施行しても 4 例中 1 例はセツキシマブアレルギーを回避出来なかったであろうことから、回避の精度を上げるためにはセツキシマブ特異的 IgE の検出や α -gal 特異的 IgE の検出など、他の検査法による検討も必要と考えられる。サーモフィッシュサイエンティフィック社が供給している牛のサイログロブリンを抗原とした α -gal 特異的 IgE 検査 (CAP-FEIA 法) は、今回アナフィラキシーショックを発症した 4 例全例で陽性であり、全例で牛肉特異的 IgE 値より高値を示した。このことより、セツキシマブによるアナフィラキシーショック回避のための α -gal 特異的 IgE (CAP-FEIA 法) 測定は臨床上有用な検査と考える。本検査は保険適用されていないため、早期の保険適用が望まれる。

今回、牛肉特異的 IgE (CAP-FEIA 法) が検出された 3 例に問診上獣肉アレルギーの既往がなかった点については、3 例における牛肉特異的 IgE 値がさほど高くなかったためと考えられる。これまで我々の経験した獣肉アレルギー症例も、獣肉を摂取しても常にアレルギー症状を示してはならず、アレルギー症状の発現には獣肉の摂取量や患者の体調などの要因が関与している可能性がある。このため、この度の 4 症例も摂取量や体調によっては、今後、獣肉アレルギーを発症する可能性は十分考えられる。現在、獣肉の摂取制限までは行っていないが、一度に大量に摂取しないように指導し、アレルギー症状発症時のために抗アレルギー薬を処方して嚴重な経過観察を行っている。

また、米国ではセツキシマブや獣肉アレルギーの発症に地域性があり、これらの発症にマダニ咬傷が関与している可能性が報告されている⁸⁾。今回我々が経験した 4 例も、マダニが媒介する日本紅斑熱の発症地域あるいはその近辺に居住していたが、マダニ咬傷の既往は明らかではなかった。これらの患者の抗 α -gal 抗体産生にマダニ咬傷が関与しているとすれば、セツキシマブによるアナフィラキシー発症には地域性がある可能性があり、今後、患者分布実態の把握が必要と思われる。

おわりに

セツキシマブによるアナフィラキシー反応は、頻度はさほど高くはないものの、生命予後に関わる重要な

副反応である。自験例では、事前に詳細な問診や牛肉特異的 IgE 検査を施行していれば、少なくとも 4 例中 3 例はアナフィラキシーショックを回避し得た可能性がある。自験例を契機に、松江赤十字病院耳鼻咽喉・頭頸部外科におけるセツキシマブ投与予定患者には、全例で事前に皮膚科にてスクリーニング検査を行うこととなった。 α -gal が原因ではないセツキシマブアレルギーやインフュージョンリアクションが存在するであろうことから、全てのセツキシマブアレルギーやショックを防ぐことは困難であるが、交差反応を検出する問診や検査を施行することによって、少なくとも α -gal が原因のアナフィラキシーをある一定の確率で未然に防ぐことが可能になると思われる。今回経験した症例を契機に、現在我々はセツキシマブによるアナフィラキシー回避のための prospective study を開始している。糖鎖は広く種を超えて分布していること、糖鎖を有するヒト/マウスキメラ型モノクローナル抗体が悪性腫瘍治療薬として臨床利用されていることから、今後はこうした糖鎖における安全性の検討が望まれる。

文献

- 1) 千貫祐子, 高橋 仁, 森田栄伸: 牛肉アレルギー患者 20 例の臨床的および血清学的解析, 日皮会誌, 2013; 123: 1807-1814.
- 2) 千貫祐子, 高橋 仁, 森田栄伸: がん治療薬と食物アレルギー, 静脈経腸栄養, 2013; 28: 615-618.
- 3) 千貫祐子, 森田栄伸: 抗 EGFR 抗体製剤等による副作用～多様なアレルギー反応～, 日皮会誌, 印刷中.
- 4) Chung CH, Mirakhur B, Chan E, et al: Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose-alpha-1,3-galactose, *N Engl J Med*, 2008; 358: 1109-1117.
- 5) Commins SP, Satinover SM, Hosen J, et al: Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose, *J Allergy Clin Immunol*, 2009; 123: 426-433.
- 6) Commins SP, Platts-Mills TA: Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant, *J Allergy Clin Immunol*, 2009; 124: 652-657.
- 7) Takahashi H, Chinuki Y, Tanaka A, et al: Laminin γ -1 and collagen α -1 (VI) chain are galactose- α -1, 3-galactose-bound allergens in beef, *Allergy*, Epub.
- 8) Commins SP, James HR, Kelly LA, et al: The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose, *J Allergy Clin Immunol*, 2011; 127: 1286-1293.

Four Cases of Cetuximab-Induced Anaphylactic Shock: Possible Avoidance of the Reaction by Prior Examination of Anti-IgE Antibody against Galactose- α -1,3-galactose

Yuko Chinuki¹, Kazuyuki Ito², Makiko Takeda²,
Kaoru Takeuchi², Hitoshi Takahashi¹, Eishin Morita¹

We experienced four patients with cetuximab-induced anaphylactic shock. The diagnosis of infusion reaction was primary given for them. Three of them had beef-specific IgE in their sera, and one of these three also had a history of flounder roe allergy, but none of them had a history of beef allergy. Anti-IgE antibodies against cetuximab and galactose- α -1,3-galactose (α -gal) were detected in the sera of all the patients by IgE-western blotting and CAP-FEIA. These data suggest that the causative allergen of the cetuximab-induced anaphylactic shock was α -gal. We previously reported that clinicians should be aware of the possibility of cetuximab-induced allergy in the patients with red meat and/or flounder roe allergy because of their cross reactivity. The cases presented here confirm our above mentioned reports. Prior testing for anti-IgE antibodies against red meat, cetuximab, and α -gal could possibly prevent cetuximab-induced allergic reactions.

(Jpn J Dermatol 124: 179-183, 2014)

Key words: galactose- α -1, 3-galactose, cetuximab, red meat, flounder roe

1) Department of Dermatology, Shimane University Faculty of Medicine, Izumo, Japan

2) Department of Otolaryngology - Head and Neck Surgery, Matsue Red Cross Hospital, Matsue, Japan

Received October 19, 2013; accepted for publication January 9, 2014

VIII. トピックス

2. 蕁麻疹

～牛肉による蕁麻疹はセツキシマブの
アナフィラキシーを予知している～

Morita Eishin

森田 栄伸*1)

Chinuki Yuko

千貫 祐子*2)

Takahashi Hitoshi

高橋 仁*3)

*島根大学医学部皮膚科学 ¹⁾教授 ²⁾講師 ³⁾助教

Summary

日本皮膚科学会の蕁麻疹診療ガイドラインでは、蕁麻疹は4つの病型に区分され、16の病型が記載されている。本稿では、アレルギー性蕁麻疹のトピックスとして牛肉によるアレルギー性蕁麻疹の病態を解説した。牛肉アレルギーは、マダニへの頻回の咬傷によりマダニの消化管に含まれる galactose-alpha-1,3-galactose (α -gal 糖鎖) に感作され、発症すると推察される。さらに、 α -gal 糖鎖を有するセツキシマブとも交差反応するためこれらの患者にセツキシマブを投与する場合注意する必要がある。

Key Words

アレルギー性蕁麻疹/牛肉アレルギー/セツキシマブ/アナフィラキシー/ABO 血液型

はじめに

本邦における蕁麻疹の治療ガイドラインは2005年日本皮膚科学会から提唱され、2010年に改訂版が発表されている¹⁾。改訂版ガイドラインでは、蕁麻疹の病型をI 特発性蕁麻疹、II 刺激誘発型蕁麻疹、III 血管性浮腫、IV 蕁麻疹関連疾患に分類し、それぞれに細分化した病型が記載されている(表1)。治療に際しては、病型診断を行い、それぞれの病型に乗っ取った治療計画を立てることが推奨される。本稿は、蕁麻疹のトピックスであるため、このガイドラインの詳細な解説は避

け、最近当教室で重点的に病態解析を行っている牛肉アレルギーの病態を解説させていただくことにした。

I. 症例

【症例】50歳代の男性

既往歴：特記すべきことなし

現病歴：初診の半年前、昼食に焼肉(豚肉、牛肉)を食べ、15時に全身に蕁麻疹がでた。様子を見ていたら自然に消退した。その翌月、19時にすき焼きを食べ、20時30分に全身に蕁麻疹がでた。この時も自然に回復した。その2カ月後、

表1 蕁麻疹の主たる病型

- I. 特発性の蕁麻疹
 1. 急性蕁麻疹
 2. 慢性蕁麻疹
- II. 刺激誘発型の蕁麻疹（特定刺激ないし負荷により皮疹を誘発することができる蕁麻疹）
 3. アレルギー性の蕁麻疹
 4. 食物依存性運動誘発アナフィラキシー
 5. 非アレルギー性の蕁麻疹
 6. アスピリン蕁麻疹（不耐症による蕁麻疹）
 7. 物理性蕁麻疹（機械性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹、日光蕁麻疹、温熱蕁麻疹、遅延性圧蕁麻疹、水蕁麻疹、振動蕁麻疹〔振動血管性浮腫〕）
 8. コリン性蕁麻疹
 9. 接触蕁麻疹
- III. 血管性浮腫
 10. 特発性の血管性浮腫
 11. 外来物質起因性の血管性浮腫
 12. C1 エステラーゼ阻害因子（C1-esterase inhibitor；C1-INH）の低下による血管性浮腫（遺伝性血管性浮腫（hereditary angioedema；HAE）、自己免疫性血管性浮腫など）
- IV. 蕁麻疹関連疾患
 13. 蕁麻疹様血管炎
 14. 色素性蕁麻疹
 15. Schnitzler 症候群
 16. クリオピリン関連周期熱（CAPS：cryopyrin-associated periodic syndrome）

ガイドラインでは蕁麻疹の病型と4つに分類し、さらにそれぞれに細分化した病型が収載されている。

（文献1より引用）

19 時にもつ鍋を食べ、22 時に全身に蕁麻疹がでた。総合病院救急外来を受診し、治療を受けて回復した。この時血液検査をされ、牛肉/豚肉アレルギーと言われ制限を指導された。以後、牛肉、豚肉は食べないようにしていた。初診の1週間前、19時に子持ちカレイの煮付けを食べ21時に全身に蕁麻疹がでて、ショック状態となった。総合病院救急外来を受診し、入院後点滴加療にて回復した。

検査結果：血清総 IgE 269 IU/mL、抗原特異的 IgE 値（牛肉 1.78 Ua/mL、豚肉 1.35 Ua/mL、鶏肉、卵白、ミルク、小麦、 ω -5 グリアジン、カレイ、サバは全て 0.35 Ua/mL 以下）

診断と指導：以上の病歴と検査結果から牛肉および豚肉に対するアレルギー性蕁麻疹と診断し、カレイ魚卵への交差反応の可能性があると考えた。牛肉、豚肉の摂取を控えるように指示した。鶏肉の摂取は可とした。また、カレイ魚卵の摂取も禁止した。アレルギー症状がでた時に服用していただくために抗ヒスタミン薬を処方し経過をみているが、その後症状の再発はない。

II. 牛肉アレルギーとセツキシマブ^{注)}

このような牛肉アレルギー症例が、毎年数名当科を受診し、この10年間に30例近くの症例が集積されている。これらの症例の特徴は、ほとんど

Ⅷ. トピックス 2. 蕁麻疹～牛肉による蕁麻疹はセツキシマブのアナフィラキシーを予知している～

どが牛肉や豚肉を摂取して3時間以上経過して蕁麻疹などの症状を示していること、肉類を摂取していつもアレルギー症状を来すわけではないこと、肉類以外に子持ちカレイを食べてさらに強いアレルギー症状を呈していることである。筆者らは、患者血清を用いて牛肉アレルギーの検索を行い、牛肉のラミニンγ1とコラーゲンα-1サブユニットが抗原となっていることを明らかにした²⁾。

一方2008年、米国のテネシー州を中心とした地域で、セツキシマブ(注参照)を使用してアナフィラキシーを来した患者が多発したことが報告された³⁾。これらの患者のアレルギー検索が行われ、アナフィラキシーを起こす原因物質はセツキシマブに付随するgalactose-alpha-1,3-galactose(α-gal糖鎖)であることが明らかにされた³⁾。驚くべきは、テネシー州周辺の住民の約

20%がセツキシマブで治療を受けたことがないにもかかわらずセツキシマブα-gal糖鎖に対するIgE抗体をもっていたことである。その後、同じ研究グループはこの抗体保有者が牛肉などの獣肉アレルギーを起こすことを明らかにした^{4), 5)}。つまり、セツキシマブのアナフィラキシーの原因となるα-gal糖鎖は、牛肉、豚肉などの獣肉に豊富に含まれるため、セツキシマブアレルギーの患者はこれらの獣肉に対してもアレルギー反応を示すのである。

筆者らが島根県で経験した牛肉アレルギー患者で検討したところ、全例がセツキシマブα-gal糖鎖に対するIgE抗体を保有することが判明した(図1)⁶⁾。しかも、牛肉特異的IgEとセツキシマブα-gal糖鎖に対するIgEは極めてよく一致していた。もちろん、これらの患者はこれまでセツキ

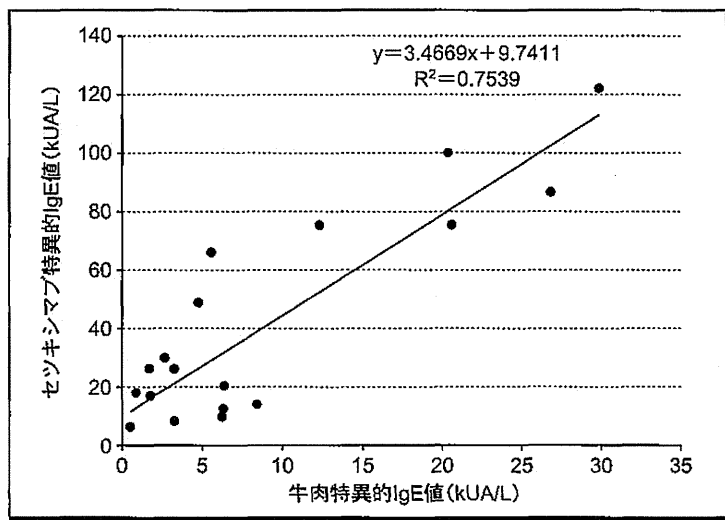


図1 牛肉アレルギー患者における牛肉特異的IgEとセツキシマブ特異的IgEの相関
両者は有意な相関を示した。

(文献6より引用)

α-gal糖鎖 (galactose-alpha-1,3-galactose)

シマブを投与された病歴はない。このことは、牛肉アレルギーを始めに発症し、セツキシマブと交差反応することを示している。ちなみに筆者らが³、牛肉アレルギーとして同定したラミニン γ 1 とコラゲン α -1 サブユニットも α -gal 糖鎖を保有している²⁾。

III. 牛肉アレルギーとマダニ咬傷

前述の米国のグループは、テネシー州近辺はロッキー山紅斑熱というマダニが媒介するリケッチア感染症が多い地域であることに着目し、マダニ咬傷が獣肉アレルギーの原因であると推定した論文を発表した⁷⁾。その論文の中では、3例のマダニ咬傷を受けた患者を追跡調査し、マダニ咬傷の後に α -gal 糖鎖に対するIgE抗体が上昇することを示している。

筆者らの経験した牛肉アレルギーの患者は、そのほとんどがマダニ咬傷の自覚はない⁶⁾。しかし、元来マダニは吸血に際し、生体内に痛みを和らげる物質を注入しながら吸血するため、ヒトはマダニに吸血されても痛みを感じず、気付かないことがほとんどである。よって患者はマダニ咬傷を自覚せずに吸血された可能性はある。実際、これらの患者の多くが犬を飼育しており、マダニの生息する山野に頻回に足を踏み入れている。さらに、島根県ではチマダニによって媒介される日本紅斑熱リケッチアの多発地域があり、興味深いことに患者の多くが、日本紅斑熱の多発地域に居住していることが判明した。この事情は、米国においてロッキー山紅斑熱多発地域に牛肉アレルギー患者が多発していることと酷似しており、島根県の症例においてもマダニ咬傷が牛肉アレルギー発症の原因となっている可能性を支持する。

最近になり、スウェーデンの研究グループはマダニ虫体の免疫染色によりマダニの消化管に α -gal 糖鎖が広く存在することを明らかにした⁸⁾。マダニ咬傷から牛肉アレルギーが発症する可能性がさらに高まったのである。

IV. 牛肉と子持ちカレイの交差反応

当科を受診した牛肉アレルギー患者は、その多くがカレイ魚卵を食べてアナフィラキシーを経験している。これは、牛肉アレルギーを起すIgEが、セツキシマブの場合と同じようにカレイ魚卵のアレルゲンと交差反応するためと推察される⁹⁾。しかし、これまでの検討ではカレイ魚卵には α -gal 糖鎖は検出されず、どのようなアレルゲンと交差反応するのか現在研究を進めているところである。

V. 牛肉アレルギーと血液型

最近、牛肉アレルギー発症にABO血液型が関与しているとする論文がスウェーデンの研究グループから発表された⁹⁾。スウェーデンの牛肉アレルギー患者39名の血液型を調査したところ、A型とO型がほとんどでB型はわずかに1名であったというのである。つまり、B血液型を規定する糖鎖に α -gal 糖鎖と類似した構造があるため、B血液型のヒトはもともと α -gal 糖鎖に対して耐性を獲得しており、感作されにくいと考えられる。実際、当科を受診した牛肉アレルギー患者の多くがA型あるいはO型である。

VI. 牛肉アレルギーとセツキシマブアナフィラキシー

上述のように牛肉アレルギー患者ではセツキシマブに交差反応を示すことから(図1)、筆者らは

EGFR (epidermal growth factor receptor ; 上皮細胞増殖因子受容体)

Ig (immunoglobulin ; 免疫グロブリン)

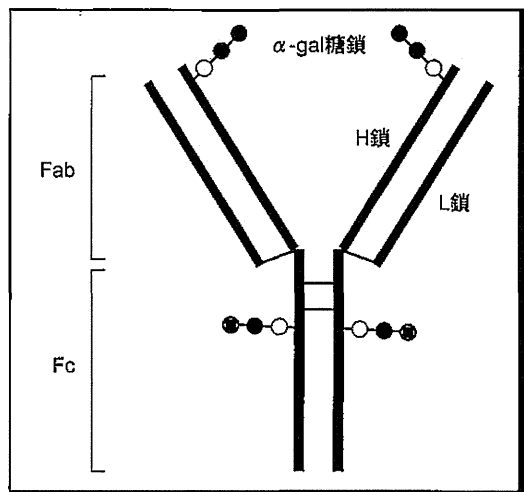


図2 セツキシマブの構造

マウス由来のFab部分にα-gal糖鎖が付着している。
(筆者作成)

セツキシマブによる治療を受ける患者には、予め牛肉アレルギーの間診を行うとともに、血液検査にて牛肉に対する特異的IgEを調べることで、投与時に起きるアナフィラキシー反応を予防できると考えている。国内で牛肉アレルギー患者がどのくらい存在するのか、現時点では明らかではないが、セツキシマブによる治療を受ける患者は増加していることを考慮すると、副作用を避ける点から今後この点を啓発する必要があると思われる。

注)セツキシマブ(商品名アービタックス)は上皮細胞増殖因子受容体(epidermal growth factor receptor:EGFR)に結合して、がん細胞の増殖を抑制する免疫グロブリン(immunoglobulin:Ig)G1サブクラスのヒト/マウスキメラ型モノクローナル抗体である。国内では、頭頸部癌とEGFR陽性の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対して使用されている。EGFRへ結合する可変部はマウス由来、それ以外の定常部はヒト由来であり、その構成は概ねマウス由来部分が約

30%、ヒト由来部分が約70%である(図2)。マウス由来のFab部分にgalactose-alpha-1,3-galactose(α-gal糖鎖)が付着しており、アナフィラキシーのアレルゲンになることが明らかにされている¹⁰⁾。

文献

- 1) 秀 道広, 森田栄伸, 古川福実ほか: 蕁麻疹診療ガイドライン. 日皮会誌 121: 1339-1388, 2011.
- 2) Takahashi H, Chinuki Y, Tanaka A et al: Laminin γ -1 and collagen α -1 (VI) chain are galactose- α -1,3-galactose-bound allergens in beef. Allergy 2013 Nov 4.[Epub ahead of print].
- 3) Chung CH, Mirakhor B, Chan E et al: Cetuximab- induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- alpha- 1,3-galactose. N Engl J Med 358: 1109-1117, 2008.
- 4) Commins SP, Satinover SM, Hosen J et al: Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. J Allergy Clin Immunol 123: 426-433, 2009.
- 5) Commins SP, Platts-Mills TA: Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. J Allergy Clin Immunol 124: 652-657, 2009.
- 6) 千貫祐子, 高橋 仁, 森田栄伸: 牛肉アレルギー患者 20 例の臨床的および血清学的解析. 日皮会誌 123: 1807-1814, 2013.
- 7) Commins SP, James HR, Kelly LA et al: The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose. J Allergy Clin Immunol 127: 1286-1293, 2011.
- 8) Hamsten C, Starkhammar M, Tran TA et al: Identification of galactose- α -1,3-galactose in the gastrointestinal tract of the tick Ixodes ricinus; possible relationship with red meat allergy. Allergy 68: 549-552, 2013.
- 9) Hamsten C, Tran TA, Starkhammar M et al: Red meat allergy in Sweden: Association with tick sensitization and B-negative blood groups. J Allergy Clin Immunol 132: 1431-1434, 2013.
- 10) 千貫祐子, 高橋 仁, 森田栄伸: がん治療薬と食物アレルギー. 静脈経腸栄養 28: 27-30, 2013.



VII. 重症薬疹としてのアナフィラキシー

Morita Eishin

森田 栄伸*

Chinuki Yuko

千貫 祐子**

Takahashi Hitoshi

高橋 仁***

*島根大学医学部皮膚科学講座教授 **島根大学医学部附属病院講師 ***島根大学医学部皮膚科学講座助教

Summary

アナフィラキシーは皮膚、気道、消化器、循環器などの複数の器官で急速に進展する即時型アレルギー症状を示す病態で、薬剤も主要な原因の1つである。最近、抗体を利用した生物学的製剤が多く開発され使用頻度が増してきたが、それに伴い抗体製剤のアナフィラキシーが見られるようになった。殊にセツキシマブは galactose-alpha-1,3-galactose (α -gal 糖鎖) が IgE 結合エピトープとなるマウスヒト型キメラ抗体で、アナフィラキシー患者の増加が懸念される。

Key Words

アナフィラキシー/セツキシマブ/ α -gal 糖鎖/牛肉アレルギー

はじめに

アナフィラキシーは皮膚、気道、消化器、循環器などの複数の器官で急速に進展する即時型アレルギー症状を示す病態で、適切な対処がなされないと生命に関わる重篤な疾患である。薬剤もアナフィラキシーの主要な原因の1つである。福田による薬疹情報第13版に記載されている薬疹報告例(1980～2008年)では、アナフィラキシーの原因となった薬剤のうち、セファクロル、セファレキシン、ミノサイクリンなど抗菌薬が上位を占め、リゾチーム塩酸塩、タンニン酸アルブミンなどの蛋白質製剤、アスピリン、アセトアミノフェン、ジクロフェナクナトリウムなどの非ステロイ

ド消炎鎮痛薬が続いていた¹⁾。最近、抗体を利用した生物学的製剤が多く開発され使用頻度が増してきたが、それに伴い抗体製剤のアナフィラキシーが見られるようになった。抗菌薬によるアナフィラキシー、非ステロイド消炎鎮痛薬によるアナフィラキシー、造影剤によるアナフィラキシーは本誌2013年12月号の特集「薬物アレルギー」にて詳細に記載されているのでそちらを参照いただき^{2)~4)}、本稿では主として抗体製剤、殊に今後増加が予測されるセツキシマブによるアナフィラキシーについて概説する。

I. 薬剤によるアナフィラキシーの病態

アナフィラキシーは、狭義には抗原特異的 IgE

IgE (immunoglobulin E)

(immunoglobulin E) の産生に基づくアレルギー反応と定義される。IgE は組織の肥満細胞や流血中の好塩基球の高親和性受容体に結合し、対応する抗原と結合してこれらの細胞を活性化し、ヒスタミンなどのケミカルメディエーターを放出させる。こうしたケミカルメディエーターにより種々の組織の平滑筋が収縮反応をきたす状態である。皮膚では微細静脈の収縮による毛細血管透過性の亢進により、膨疹や血管性浮腫をきたす。気道では軟部組織の充血・浮腫や気管支平滑筋の収縮による気道狭窄、分泌腺の亢進による鼻汁などが見られる。消化器では平滑筋の収縮による腹痛、嘔吐や腸管の浮腫による下痢をきたす。循環器では血圧低下から心拍数の増加、意識消失に至ることもある。これらの症状が様々な組み合わせで生じる。

薬剤に対する特異的 IgE が産生され、再度薬剤が投与されてアレルギー反応が惹起される場合が薬剤性アナフィラキシーであるが、アスピリンなどの非ステロイド系消炎鎮痛薬や造影剤などの場合には IgE 産生を介さない非アレルギー性機序でアナフィラキシーをきたす場合もある⁴⁾。

一方、投与された薬剤の代謝産物が抗原となると推察される場合も少なくない。筆者らが既に本誌に報告したが、エペリゾン塩酸塩によるアナフィラキシーでは即時型アレルギーの臨床像を示すが、エペリゾン塩酸塩によるプリックテストや末梢血好塩基球の活性化試験は陰性となる⁵⁾。体内で代謝された中間産物が抗原となっていると推定されるが、詳細は明らかでない。

II. 抗体製剤によるアナフィラキシー

抗体製剤投与時に投与時反応 infusion reac-

tion と呼ばれる様々な副反応がみられることが知られている。その機序の全貌は明らかでないが、一部に即時型アレルギー反応が含まれる。米国のテネシー州を中心とした地域で、セツキシマブ(注参照)を使用してアナフィラキシーをきたした患者が多発したことが、2008年に報告された⁶⁾。セツキシマブの IgE 結合エピトープ検索が行われ、セツキシマブのマウス由来 Fab 部分に付着する galactose-alpha-1,3-galactose (α -gal) 糖鎖であることが明らかにされた⁶⁾。従来から糖鎖自体がアレルゲンとなることはあまり認識されていないため、この報告はこれまでのアレルゲンの認識を新たにするものであった。驚くべきは、テネシー州周辺の住民の約 20% がセツキシマブで治療を受けたことがないにもかかわらずセツキシマブ α -gal 糖鎖に対する IgE 抗体をもっていたことである。その後、同研究グループはこの抗体保有者が牛肉などの獣肉アレルギーを起こすことを明らかにした^{7), 8)}。つまり、セツキシマブのアナフィラキシーの原因となる α -gal 糖鎖は、牛肉、豚肉などの獣肉に豊富に含まれるため、セツキシマブアナフィラキシーの患者はこれらの獣肉に対してもアレルギー反応を示すのである。

筆者らはこれまで島根県では牛肉アレルギー患者が多発し、その全例がセツキシマブ α -gal 糖鎖に対する IgE 抗体を保有していることを報告してきた⁹⁾。これらの患者はセツキシマブによる治療歴はないが、これらの患者とは別に、セツキシマブ投与を受けアナフィラキシーを発症した症例を複数集積した^{10), 11)}。本院での症例は、治癒切除不能な直腸癌の 60 歳代男性で、セツキシマブ投与開始 5 分後に、全身の発赤と嘔吐がみられ心肺停止となった。回復後の問診で、牛肉、豚肉、カレ

α -gal (galactose-alpha-1,3-galactose)

表1 セツキシマブによるアナフィラキシー症例の検査結果

症例	治療施設	牛肉アレルギーの既往	牛肉特異的IgE (U/mL)	α -gal特異的IgE (U/mL)	年齢
60歳代男性	島根大学医学部 附属病院	あり	8.11	未検査	10
66歳女性	松江赤十字病院	なし	< 0.34	1.33	11
81歳男性	松江赤十字病院	なし	2.14	6.19	11
60歳男性	松江赤十字病院	なし	0.48	6.62	11
67歳男性	松江赤十字病院	なし	1.34	3.30	11
75歳女性	広島赤十字病院	なし	< 0.34	1.40	-

セツキシマブ投与によってアナフィラキシーを発症した症例を示す。島根大学の例のみ牛肉アレルギーの既往を認めた。

(筆者作成)

イ魚卵アレルギーがあることが判明した。その後、松江赤十字病院から4例、広島赤十字病院から1例のセツキシマブによるアナフィラキシーショックの症例を収集した。その検査結果を表1に示す。牛肉アレルギーの頻度の高さと考え併せて、島根県は α -gal糖鎖による感作率が高い地域である可能性がある。興味深いことに本院以外の患者は牛肉アレルギーの既往はなく、このことは牛肉アレルギーの発症よりセツキシマブによるアナフィラキシーの発症の閾値が低いことを示している。牛肉アレルギーは、牛肉を摂取して腸管からアレルゲンが吸収されてはじめてアレルギー症状をきたすが、セツキシマブアナフィラキシーは、セツキシマブを直接静脈内投与されるため体内に入る抗原量が多く低い抗体値でもアレルギー症状をきたすためと考えられる。また、これらの患者の牛肉特異的IgE値も陰性あるいは低値であるが、牛サイログロブリンを抗原とした α -gal特異的IgE検査はいずれも陽性で、牛肉特異的IgE検査より α -gal特異的IgE検査の検出感度が高いことが判る。

Ⅲ. α -gal糖鎖に対するIgE抗体産生の機序

2011年、Comminsらにより α -gal糖鎖に対するIgE抗体産生の誘因はマダニ咬傷と関連しているとする報告がなされたが¹²⁾、これはセツキシマブによるアナフィラキシーが多発したテネシー州近辺はロッキー山紅斑熱というキララマダニ *Amblyomma americanum* が媒介するリケッチア感染症が多い地域であるとの疫学的観察による。彼らはさらに3例のマダニ咬傷を受けた患者を追跡調査し、マダニ咬傷の後に α -gal糖鎖に対するIgE抗体が上昇することを示し、マダニ咬傷が獣肉アレルギーの原因であると推定したのである。その後の調査で *Amblyomma americanum* は米国東南部に広く分布することが明らかになり、これはセツキシマブによるアナフィラキシーの多発地域の分布とよく相関していた。

牛肉アレルギーの患者は、米国の他オーストラリア¹³⁾、フランス^{14), 15)}、スペイン¹⁶⁾、ドイツ¹⁷⁾、日本^{9), 18)}、スウェーデン¹⁹⁾からも報告されている。オーストラリアやスウェーデンからの報告で

は、マダニ *Ixodes holocyclus* が原因と推察されている。また、スウェーデンの研究グループは、マダニ *Ixodes holocyclus* 虫体の免疫染色により、マダニの消化管に α -gal 糖鎖が広く存在することを明らかにした¹⁹⁾。

島根県では主としてチマダニ *Haemophysalis* によって媒介されるリケッチア感染症(日本紅斑熱)が島根半島で多発している。筆者らの検討で、県内の牛肉アレルギー患者の多くが日本紅斑熱多発地域に居住していることが判明した⁹⁾。この事情は、米国においてロッキー山紅斑熱多発地域に牛肉アレルギー患者が多発していることと酷似しており、島根県の症例においてもマダニ咬傷が牛肉アレルギーやセツキシマブアナフィラキシー発症の原因となっている可能性を支持する。

IV. 抗菌薬によるアナフィラキシーの診断と予防

薬疹は治療目的にて投与された薬剤の予期せぬ副反応にて患者に大きな不利益をもたらす事態であることから、原因薬剤の確認と予防は極めて大きな意味を持つ。しかし、その病態は多彩であり、原因薬剤の同定は必ずしも容易ではない。前述のように薬剤によるアナフィラキシーの多くが即時型アレルギー機序によるため、その診断、予防に皮膚テスト(皮内テスト、プリックテスト、スクラッチテスト)が行われてきた。

抗菌薬のうちペニシリン系抗菌薬およびセフェム系抗菌薬による即時型アレルギー反応の頻度が高いことから、投与前に皮内テストにて感作の有無を確認することが推奨されていた。しかし、皮内テストがアナフィラキシーを予防できるとするエビデンスが乏しいこと、皮内テスト陽性でも実

際にはアナフィラキシーを生じない場合が多いと推定されることから、患者に必要な抗菌薬の投与が行われない不利益の方が大きいと考えられ、2003年8月に日本化学療法学会が皮内テストの義務化廃止を提言した²⁰⁾。厚生労働省医薬食品局は日本化学療法学会の提言に同意する指針を示した²¹⁾。これを契機に皮内テストの実施は徐々に行われなくなり、抗菌薬の投与に際して投与後の患者の厳重な観察にて対処されることとなった。

V. セツキシマブによるアナフィラキシーの診断と予防

セツキシマブなど抗体製剤の投与時に、悪寒、発熱、めまいやアナフィラキシー様症状をきたすことがあり、総じて infusion reaction と呼ばれている。このため前投薬として抗ヒスタミン薬を、場合によっては副腎皮質ステロイドを投与する。Infusion reaction の症状が悪寒、発熱、めまいなど軽度の場合が多いが、前述の通り、重篤なアナフィラキシー様症状をきたすことがある。この場合は、即時型アレルギー反応である可能性が高く、前述の如くセツキシマブではエピトープ解析が行われ、哺乳類細胞に由来する α -gal 糖鎖が原因であることが明らかにされた⁶⁾。殊に CHO 細胞を利用して作成された場合に α -gal 糖鎖が付与されることも明らかにされている。セツキシマブによるアナフィラキシーでは牛肉・豚肉などのアレルギーを合併することから、これらのアレルギーの問診がアナフィラキシーの予測につながる可能性がある。しかし、前述したようにセツキシマブアナフィラキシー患者の一部は牛肉アレルギーを発症していないため、その精度は低い。一方、 α -gal 特異的 IgE 抗体価の感度、特異度は高

EGFR (epidermal growth factor receptor : 上皮細胞増殖因子受容体)

Ig (immunoglobulin : 免疫グロブリン)