

表題

新生児food protein-induced enterocolitis syndrome(FPIES)におけるメトヘモグ
ロビン測定の有用性に関する研究

論文の区分 論文博士

著者名 牧田 英士

所属 自治医科大学附属さいたま医療センター

総合医学第1講座小児科

2021年9月29日申請の学位論文

紹介教員

自治医科大学附属さいたま医療センター 総合医学第1講座 小児科

教授 市橋 光

目次

1. はじめに	3
2. 研究の対象と方法	4
3. 研究結果	6
4. 考察.....	15
5. おわりに.....	20
6. 謝辞.....	20
7. 引用文献.....	21

1. はじめに

Food protein-induced enterocolitis syndrome(FPIES)は嘔吐や下痢などの消化器症状のみを呈する IgE 非依存性のアレルギー性疾患である^{1,2}。FPIES は、症状による診断基準を満たす、もしくは食物負荷試験の陽性判定により診断される²。牛乳蛋白による FPIES は新生児期や乳児期早期に発症することが多いが、その時期は消化管機能の未熟性による一過性の嘔吐症や先天性の消化管の器質的疾患など、鑑別すべき疾患が多い。また、IgE 依存性の食物アレルギーにおける抗原特異的 IgE 抗体価のような疾患特異的な検体検査がないため、早期の診断は難しい。FPIES の診断が遅れた場合には繰り返す消化器症状で全身状態が悪化する危険があり、一方で FPIES ではない乳児を FPIES と誤診して食事制限を行うことは栄養状態の悪化のリスクがある。以上の理由により、FPIES の早期診断が重要である。

FPIES の重症例で、メトヘモグロビン血症を合併したという報告がいくつかあるが³⁻⁶、メトヘモグロビン血症の症状を有さない FPIES 症例群全体のメトヘモグロビン (MHb) 値を評価した報告はない。FPIES 症例の消化器症状発症後の MHb 値が高値となる傾向がみられるのであれば、MHb 測定が FPIES の診断に有用であるといえる。

今回我々は、新生児期発症の FPIES 症例について、入院中に測定した MHb

値を後方視的に評価し、FPIES 診断における MHb 測定の有用性について検討した。

2. 研究の対象・方法

対象：

2010 年 4 月から 2018 年 11 月の期間に、嘔吐を主訴に自治医科大学附属さいたま医療センターに入院した新生児 150 例を対象とした。早産児は、修正月齢 1 未満を新生児と定義した。FPIES と診断された新生児は 11 例（FPIES 群）、他の消化器疾患と診断された新生児は 139 例（非 FPIES 群）であった。FPIES の診断は症状による診断基準²を満たす、もしくは後日施行した食物経口負荷試験陽性²の症例とした。

方法：

(1) 評価項目

患者背景

性別、在胎週数、出生体重、分娩様式、発症日齢、入院期間、血便の有無、嘔吐出現時のバイタルサイン（体温、心拍数、呼吸数、血圧、経皮的動脈血酸素飽

和度)、最終診断病名、メロヘモグロビン血症の家族歴の有無を評価した。FPIES 症例では、診断基準に含まれる症状の有無と診断確定時期も評価した。

血液検査

メトヘモグロビン値：患児の静脈血を測定器 Radiometer Medical 社製、ABL800FLEX®を用いて測定した。Radiometer Medical 社製、ABL800FLEX®は、血液ガス分析と共に分光光度計法(修正 Evelyn-Malloy 法⁷⁾により MHb(%)も同時に測定する検査機器である。血液ガス分析の際に測定された MHb 値(%)のうち、消化器症状発症時から 48 時間後までの期間の最高値を評価した。

他のパラメーター：代謝性アシドーシスと炎症反応の評価を目的に、消化器症状発症時から 48 時間後までの期間の pH 最低値、HCO₃最低値、CRP 最高値を評価した。

FPIES 群では、牛乳特異的 IgE 抗体価、末梢血好酸球数、 κ -カゼイン・ラクトフェリン・ α -ラクトアルブミン特異的リンパ球刺激試験、便中好酸球の結果も記載した。

(2)統計学的検討

患者背景、発症時のバイタルサイン、血液検査データを後方視的に評価し、

FPIES 群と非 FPIES 群の比較検討を行った。

結果は中央値（範囲）で表記した。2 群間の比較は、連続変数の場合は Mann-Whitney U 検定、名義変数(比率)の場合には Fisher の正確検定を行った。 $p < 0.05$ を有意と定義した。

各パラメーターについて、FPIES と他疾患の判別を指標として Receiver operating characteristic (ROC)分析を行い、ROC 曲線下の面積(Area under the curve, AUC)の比較、カットオフ値での感度、特異度を求めた。

全ての統計学的解析はEZR 1.33 software (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan)⁸を使用した。

(3)倫理的配慮

ヘルシンキ宣言を順守した。本研究は自治医科大学附属さいたま医療センターの倫理審査委員会の承認を得ており（承認番号 S19-049）、オプトアウトを自治医科大学附属さいたま医療センターのホームページに掲載した。

3. 研究結果

対象：

FPIES 群

11 例全例が牛乳蛋白(普通ミルク)による FPIES だった。6 例はミルクを再度摂取した際に嘔吐を認め診断基準を満たし、5 例は後日施行した経口負荷試験陽性により診断確定された。認めた症状は、嘔吐 11 例(100%)、血便 7 例(64%)、下痢 3 例(27%)、活気低下 11 例(100%)、皮膚蒼白 4 例(36%)、低体温 0 例(0%)、低血圧 0 例(0%)だった。FPIES の診断確定の月齢の中央値(範囲) は 5 か月(0-15 か月)だった。FPIES の疑いが強いと判断された時点で哺乳は母乳もしくは普通ミルクに代わる特殊ミルクに変更された。特殊ミルクの内訳は高度加水分解乳(ニューMA-1[®]もしくは MA-mi[®]: 森永乳業株式会社、日本)が 9 例、アミノ酸乳(エレンタール P[®]: EA ファーマ株式会社、日本)が 2 例だった。

非 FPIES 群

非 FPIES 群 139 例のうち 36 例は器質的疾患であり、その内訳は、新生児メレナ 15 例、Hirschsprung 病 5 例(そのうちうっ滞性腸炎合併は 1 例)、中腸軸捻転症 4 例、食道閉鎖症 3 例、肥厚性幽門狭窄症 2 例、十二指腸狭窄 2 例、十二指腸閉鎖症・回腸閉鎖症・特発性胃破裂・胃軸捻転症・壊死性腸炎が各 1 例だった。103 例は血液検査や超音波検査、X 線検査で異常所見を認めず、数日で嘔吐症状は軽快したため未熟性が原因と考えられる一過性の特発性嘔吐症であった。

患者背景とバイタルサイン：

FPIES 群、非 FPIES 群の患者背景と発症時のバイタルサインを(表 1)に示す。

FPIES 群は非 FPIES 群に比べて発症時年齢が高く($p<0.001$)、血便を呈する症例が多く($p<0.001$)、入院期間が長かった($p<0.001$)。嘔吐症状出現時のバイタルサインに 2 群間の有意差はなかった。全症例でメトヘモグロビン血症の家族歴はなかった。メトヘモグロビン血症に合併し得る溶血性疾患症例はなかった。

表 1 患者背景と発症時のバイタルサイン

	FPIES 群 (n=11)	非 FPIES 群 (n=139)	p 値
在胎週数 (週)	38 (30-40)	38 (29-41)	0.067
出生時体重 (g)	2710 (1444-3440)	2880 (998-3732)	0.89
性別(男児：女児)	7：4 (64%：36%)	64：75 (46%：54%)	0.35
分娩様式(経膣：帝王切開)	7：4 (64%：36%)	105：34 (76%：24%)	0.471
発症日齢 (日)	16 (2-39)	1 (0-69)	<0.001
嘔吐	11 (100%)	139 (100%)	>0.99
血便	7 (64%)	7 (5%)	<0.001
入院期間 (日)	31 (8-65)	6 (1-330)	<0.001
体温 (°C)	37.2 (36.6-37.8)	37.1 (36.2-37.8)	0.41
心拍数 (/分)	141 (110-158)	134 (100-179)	0.18
呼吸数 (/分)	44 (36-52)	40 (30-84)	0.42
収縮期血圧 (mmHg)	77 (62-96)	70 (45-93)	0.053
拡張期血圧 (mmHg)	44 (28-62)	43 (24-59)	0.20
SpO ₂ (%) 室内気	100 (97-100)	100 (93-100)	0.25

表記は中央値 (範囲) もしくは 症例数 (%).

血液検査結果：

FPIES 群、非 FPIES 群の血液検査結果を(表 2)に示す。MHb (%)の中央値(範囲)は FPIES 群 1.1(0.6-10.9)、非 FPIES 群 0.6(0.3-1.2)で、FPIES 群が有意に高かった($p<0.001$) (図 1)。pH、 HCO_3^- 、CRP は 2 群間で有意差はなかった。

FPIES 群の牛乳特異的 Ig E 抗体価陽性(0.1 UA/ml 以上)は 11 例中 2 例(18%)、末梢血好酸球数増多(20%以上)は 11 例中 2 例(18%)、抗原特異的リンパ球刺激試験陽性(κ -カゼイン、ラクトフェリン、 α -ラクトアルブミンいずれかの陽性)は 9 例中 6 例 (67%)、便中好酸球陽性は 7 例中 1 例(14%)だった。

FPIES 群において、嘔吐以外の各症状(血便、下痢など)の有無、各検査(牛乳特異的 IgE 抗体価、末梢血好酸球数、抗原特異的リンパ球刺激試験、便中好酸球)と MHb 値の間に明らかな関連はなかった。

表 2. FPIES 群と非 FPIES 群の血液検査結果

	FPIES 群 (n=11)	非 FPIES 群 (n=139)	<i>p</i> 値
MHb (%)	1.1 (0.6-10.9)	0.6 (0.3-1.2)	<0.001
CRP (mg/dl)	0.71 (0.09-3.03)	0.23 (0.02-4.41)	0.061
pH	7.37 (7.10-7.43)	7.36 (7.05-7.46)	0.86
HCO ₃ ⁻	21.9 (4.8-28.0)	21.6 (11.3-24.3)	0.72

表記は中央値 (範囲)

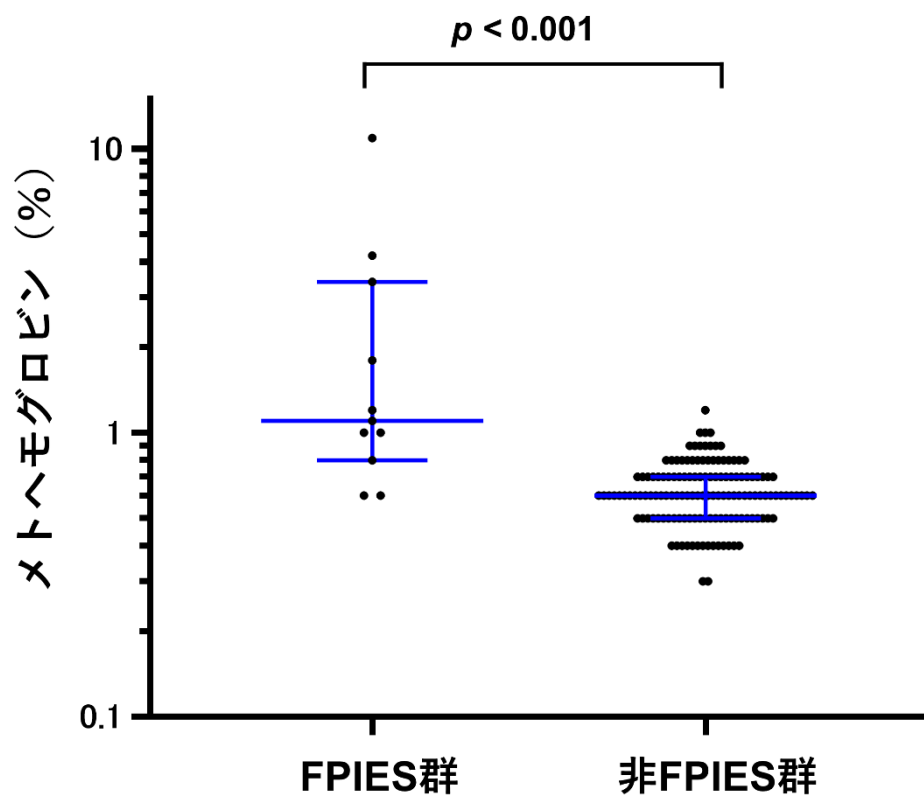


図 1. FPIES 群と非 FPIES 群におけるメトヘモグロビン値の比較

青色の平行線は中央値と四分位を示す。

Receiver Operating Characteristic (ROC)分析：

FPIES と他疾患の判別を指標とした、MHb(%)の ROC 分析の結果を示す(図 2)。ROC 曲線下の面積(Area under the curve, AUC)は 0.885 (95%CI 0.758-1) で、カットオフ値 1.0 (Youden index) のとき、特異度 97.1%、感度 72.7%であった。

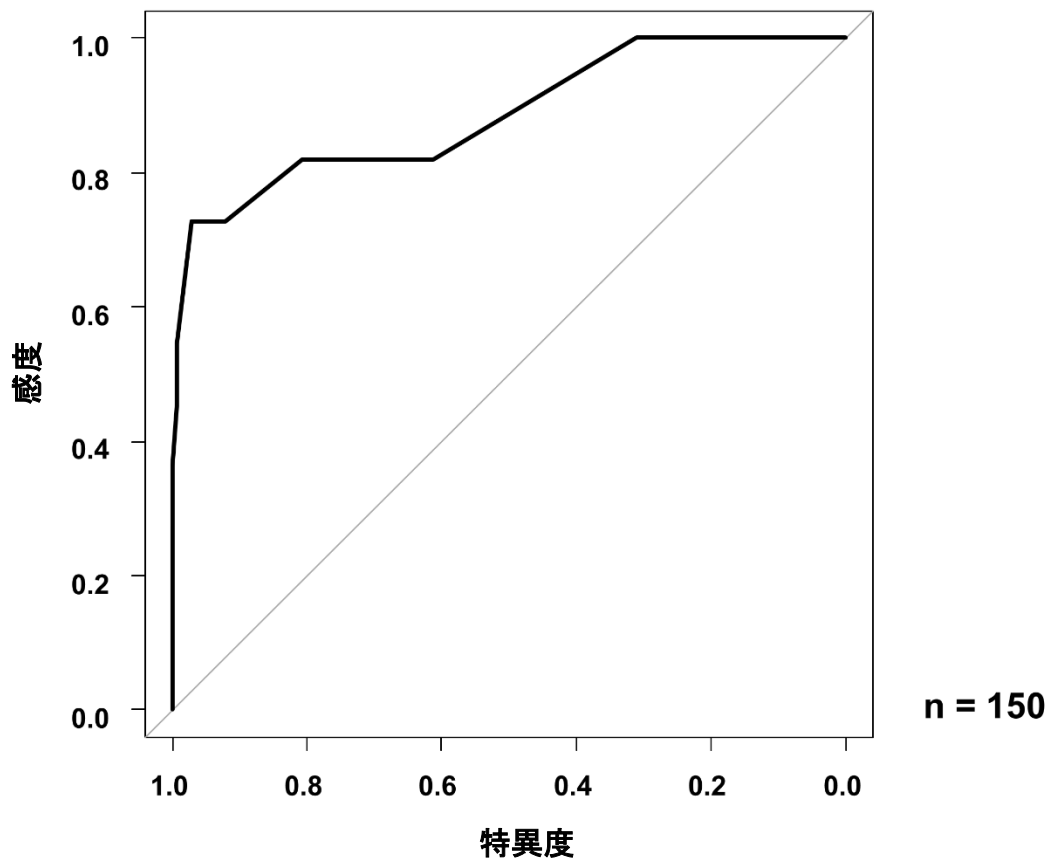


図 2. FPIES 診断予測におけるメトヘモグロビン値の ROC 分析の結果

4. 考察

本研究は、新生児期発症の FPIES の診断における MHb 測定の有用性を明らかにした初めての報告である。

FPIES は嘔吐や下痢といった消化器症状のみを呈する IgE 非依存性のアレルギー性疾患で、Major criterion (被疑食物摂取の 1-4 時間後に嘔吐があり、IgE 依存性アレルギーの様な皮膚・呼吸器症状を伴わない)に加えて、Minor criteria (同一の被疑食物摂取後の頻回嘔吐が 2 回以上、著明な活気低下、皮膚蒼白、救急受診が必要、24 時間以内の下痢、輸液が必要、低体温、低血圧、別の食物摂取から 1-4 時間後の頻回嘔吐) を 3 項目以上満たす場合に診断確定となる^{1,2}。症状や原因抗原が不明確な場合には食物経口負荷試験が推奨されているが、負荷試験により重度の症状を誘発するリスクもある²。食物経口負荷試験以外の検査によって FPIES の診断は出来ないが、検体検査によって FPIES である可能性が高いと事前に予測できれば、食物経口負荷試験による症状誘発のリスクが推定できる。症状誘発リスクが高い場合には食物経口負荷試験における抗原の負荷量を少なく設定するなど、重度の誘発症状のリスクを最小限にすることができる。

FPIES の検査データに関しては、経過フォローアップ中に原因抗原の特異的 IgE が陽性となる非典型例も 2-20%存在するとされているが²、典型例は IgE 陰性であり、IgE 測定による FPIES の診断は困難である。FPIES 症例の血液検

査データの評価を行った研究では、好中球の核の左方移動や、好酸球増多、代謝性アシドーシスを認める報告があるが、FPIES 診断のための有用性についての検討はなされていない^{4,6,9}。また、FPIES 診断のための κ -casein 特異的リンパ球刺激試験の有用性についての報告があるが、検査に特殊な技術を要するため一般的な検査機器による測定は不可能であり、さらに検査期間に数日間を要するという難点がある¹⁰。一方、MHb 値は一般的な検査室に設置される血液検査機器でリアルタイムに測定することができるという利点があり、本研究では FPIES 診断のための有用性が証明された。ただし、FPIES 診断予測の ROC 分析において、MHb の特異度は高かったが感度は高くなかった。つまり MHb 高値の症例は FPIES の可能性が高いと判断できるが、MHb 値が正常の症例は FPIES の除外が出来ないため、MHb 値の解釈には注意を要する。

FPIES の重症例では、メトヘモグロビン血症を合併したという報告がいくつかある³⁻⁶。正常なヘモグロビンは 2 価鉄を持つが、酸化されると酸素運搬機能を持たない 3 価鉄を持つメトヘモグロビンに変化し、血中メトヘモグロビン濃度が上昇した状態をメトヘモグロビン血症と呼ぶ。メトヘモグロビンは平常時にもわずかに存在するが、通常は 1%未満に維持されている¹¹。一般的にはメトヘモグロビン比率が 10-15%未満では無症状だが、それ以上になると低酸素血症や頻脈を認め、30%以上で疲労、混乱、多呼吸、50%以上で痙攣、昏睡に至り、

70%以上で死亡するとされる¹²。

今回我々は、メトヘモグロビン血症による症状がない場合にも FPIES 症例は MHb 値がわずかに上昇するという仮説を立て、本研究を行った。その結果、FPIES の新生児は他の消化器疾患の新生児と比較して MHb 値が有意に高かったため、MHb 測定は FPIES 診断において有用であると考えられた。

後天性メトヘモグロビン血症の発症機序については、2つの機序が想定されている。1つ目は、敗血症や著明なアシドーシスによるメトヘモグロビン血症のように、全身状態不良時に体の細胞内から大量の一酸化窒素(NO)が血中に放出され、NOによりヘモグロビンが酸化され、MHb濃度が上昇する、という機序である¹²⁻¹⁴。2つ目は、腸炎によって腸管内で上昇したNO₃⁻が腸内嫌気性菌によりNO₂⁻に還元され、腸管上皮へのNO₂⁻の取り込みが起こり、血液中に流入したNO₂⁻によりヘモグロビンが酸化されMHb濃度が上昇する機序である。つまり、腸管の上皮内の酸化酵素と腸内細菌叢の酵素活性のバランスの変化が起こり、亜硝酸塩が増える病態となり、亜硝酸塩により酸化されたMHb上昇が起こる。この機序は腸原性のメトヘモグロビン血症と考えられ、腸炎による一過性のメトヘモグロビン血症の合併の報告もある^{15,16}。

本研究の対象においては、FPIES群と非FPIES群の比較でpHやHCO₃⁻に有意差はなく、アシドーシスを伴っていないFPIES児もMHb上昇が認められて

いたため、腸原性の MHb 上昇の病態が関与していると推察される。しかし、腸内嫌気性菌の関与があるのは主に大腸であるが、炎症の首座が上部消化管のみと想定される嘔吐のみ(血便や下痢なし)の症例においても MHb 値は上昇していた。また、非 FPIES 群の壊死性腸炎とうっ滞性腸炎の患者では、腸炎にもかかわらず MHb 上昇は認めていなかった。これらの点からは腸原性の病態のみでは説明が難しく、FPIES の一部の症例においては敗血症やアシドーシスの機序が関与していることが推察された。

本研究では症例数が少なく、FPIES の各症状の有無、各種検査結果と MHb 値の間に特定の傾向を見出すことはできなかった。今後症例が集積されることで、MHb 値上昇と関連する症状、検査が明らかとなり、FPIES の病態の解明が進むことが期待される。

新生児期は以下の理由で MHb 値が上昇しやすいとされている。1つ目は胃液の pH が高く、硝酸塩を還元する大腸菌などの細菌が繁殖可能である。2つ目は、MHb 還元酵素活性が低く、成人の 60%程度と言われている。3つ目は、HbA に比べて酸化されやすい HbF が多いことである^{12,17}。これらの理由により、新生児期には軽微な病態の変化を MHb 値として鋭敏に反映する可能性がある。生後 2 か月未満の FPIES 症例では 13-18%の高い頻度で MHb 血症を合併するという報告もある^{4,5}。そのため、新生児期の方がそれ以降の時期よりも、FPIES 診断

における MHb 測定の有用性が高いと推測される。

本研究の限界点

本研究にはいくつかの限界点がある。

1 つ目は、対照群に感染性胃腸炎の症例がないことである。過去の研究で感染性を含む腸炎の乳児で MHb 血症を来すことが報告されている^{15,16}。しかし、本研究では新生児を対象としており、特に NICU に入院する患者において感染性胃腸炎は極めて稀である。そのため、頻度の高い新生児期の消化器疾患との鑑別に関する有用性は変わりないと考えられる。また、非 FPIES 群に含まれる壊死性腸炎の 1 例やうっ滞性腸炎を合併した Hirschsprung 病の 1 例は MHb 値上昇を認めなかったため、腸炎を来す疾患の中でも特に FPIES は MHb が上昇しやすい病態と言える。

2 つ目は本研究の対象症例に対して、先天性メトヘモグロビン血症に関する検査が行われていないことである。しかし、還元酵素活性測定や遺伝子検査は実施していないものの、メトヘモグロビン血症の家族歴はなく、入院期間中に全ての症例において MHb 最低値が 0–1% 程度であることは確認している。

3 つ目は、本研究は後方視的研究であり、MHb 測定の時期や頻度が決まっていない点である。しかし、本研究において MHb 値は血液ガス分析の際には毎回

同時に測定されており、急性期には1日1回以上は測定されていたため、全体の傾向は把握できたと考えられる。

4つ目は、本研究のFPIES症例は入院を要する重症例のみで軽症例は含まれていない点である。今後、軽症例も対象に含めた検討が望まれる。

5. おわりに

新生児期発症のFPIES症例は、消化器症状出現後のMHb最高値が他の消化器疾患症例と比べて有意に高かった。さらなる研究が必要ではあるが、消化器症状を認める新生児のMHb値を評価することによるFPIESの早期診断が期待される。

6. 謝辞

本研究について御指導いただきました市橋光教授、またデータ収集などにご協力いただきました自治医科大学附属さいたま医療センター小児科の皆様に深謝致します。

7. 引用文献

1. Nowak-Węgrzyn A, Katz Y, Mehr SS, Koletzko S. Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 135:1114-24, 2015
2. Nowak-Węgrzyn A, Chehade M, Groetch ME, Spergel JM, Wood RA, Allen K, Atkins D, Bahna S, Barad AV, Berin C, Brown Whitehorn T, Burks AW, Caubet JC, Cianferoni A, Conte M, Davis C, Fiocchi A, Grimshaw K, Gupta R, Hofmeister B, Hwang JB, Katz Y, Konstantinou GN, Leonard SA, Lightdale J, McGhee S, Mehr S, Sopo SM, Monti G, Muraro A, Noel SK, Nomura I, Noone S, Sampson HA, Schultz F, Sicherer SH, Thompson CC, Turner PJ, Venter C, Westcott-Chavez AA, Greenhawt M. International consensus guidelines for the diagnosis and management of food protein-induced enterocolitis syndrome: Executive summary-Workgroup Report of the Adverse Reactions to Foods Committee, American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 139:1111-1126, 2017
3. Anand RK, Appachi E. Case Report of Methemoglobinemia in Two Patients with Food Protein-Induced. *Clin Pediatr.* 45: 679-682, 2006
4. Hwang JB, Lee SH, Kang YN, Kim SP, Suh SI, Kam S. Indexes of suspicion of typical cow milk protein-induced enterocolitis. *J Korean Med Sci.* 22:993-997,

2007

5. Hwang JB, Sohn SM, Kim AS. Prospective follow-up oral food challenge in food protein-induced enterocolitis syndrome. *Arch Dis Child.* 94:425–428,

2009

6. Murray KF, Christie DL. Dietary protein intolerance in infants with transient methemoglobinemia and diarrhea. *J Pediatr.* 122:90-92, 1993

7. Evelyn KA, Malloy H. Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin, and sulfhemoglobin in a single sample of blood. *Biological Chem.* 126:655-62,

1938

8. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 48:452, 2013.

9. Kimura M, Shimomura M, Morishita H, Meguro T, Seto S. Eosinophilia in infants with food protein-induced enterocolitis syndrome in Japan. *Allergol Int.* 66:310-316, 2017

10. Kimura M, Oh S, Narabayashi S, Taguchi T. Usefulness of Lymphocyte Stimulation Test for the Diagnosis of Intestinal Cow’s Milk Allergy in Infants.

Int Arch Allergy Immunol. 157:58-64, 2012

11. Ash-bernal R, Wise R, Wright SM. Acquired methemoglobinemia: a

retrospective series of 138 cases at 2 teaching hospitals. *Medicine*. 83:265-273, 2004

12. Wright RO, Lewander WJ, Woolf AD. Methemoglobinemia: etiology, pharmacology, and clinical management. *Ann Emerg Med*. 34:646–56, 1999
13. Roediger WEW, Radcliffe BC. Role of nitrite and nitrate as a redox couple in the rat colon: Implications for diarrheal conditions. *Gastroenterology*. 94:915-922, 1988
14. Ohashi K, Yukioka H, Hayashi M, Asada A. Elevated methemoglobin in patients with sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand*. 42:713-6, 1998
15. Leiby T, Roco JJ, Arcinue EL. Infantile methemoglobinemia associated with acute diarrheal illness. *Am J Emerg Med*. 11:471-472, 1993
16. Dagan R, Zaltzstein E, Gorodischer R. Methaemoglobinaemia in young infants with diarrhoea. *Eur J Pediatr*. 147:87-89, 1988
17. Ross JD. Deficient activity of DPNH-dependent methemoglobin diaphorase in cord blood red blood Erythrocytes. *Blood*. 21: 51-62, 1963