

厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

(H16-特別-017)

主任研究者 宇理須 厚雄

平成17年4月

目次

I. 総括研究報告書	
食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究	
宇理須 厚雄	1
II. 分担研究報告書	
1. 甲殻類(特に十脚類)の分類学的研究の再検討	
武田 正倫	7
2. エビ、カニ抗原性研究	
塩見 一雄	10
3. エビ摂食による即時型アレルギー症状を呈した症例に関する調査	
海老澤 元宏	17
4. えび・かに表示実現可能性評価研究	
仲野 照男	27
5. 食品中のアレルギー物質検知法開発研究	
穂山 浩	32
III. アレルギー物質を含む食品表示制度の改正に関する提案	
宇理須 厚雄	38

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究
総括研究報告書

主任研究者： 宇理須厚雄

藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科

研究要旨

食物アレルギーの実態調査では、特定原材料に準ずるものの中でエビは食物アレルギー惹起食品順位でも5位に入り義務品目と同等の発症件数である。さらに、アナフィラキシーショックのような重篤な症状の発症件数も義務品目に次ぐ6位の位置にある。このような背景から、エビアレルギー患者の食の安全・安心のために、エビを特定原材料とすることを視野に入れた早急な対策が必要とされている。

甲殻類の中の十脚目は長尾類(エビ類)、異尾類(ヤドカリ類)、短尾類(カニ類)に細分されるが、これらを「えび、かに」としてまとめるほうが合理的である。これは、甲殻類の主要アレルゲンとされるトロポミオシンのアミノ酸配列の相同性が高いだけでなく、エビアレルギーとカニアレルギーの合併率も高く、臨床的な交叉反応性も強いと考えられるからである。

エビアレルギー患者 IgE は甲殻類の中に属する生物由来の種々のトロポミオシンだけではなく、軟体類トロポミオシンに対しても反応した。さらに、甲殻類間、頭足類間だけではなく、甲殻類と頭足類の間にも抗原交差性がみられた。しかし、エビアレルギーと軟体類アレルギーの合併率はエビアレルギーとカニアレルギーの合併率と比較すると低く、エビと軟体類(タコ、イカ、アワビ)のトロポミオシンのアミノ酸配列の相同性は甲殻類トロポミオシン同士の相同性と比較すると低い。以上から、軟体類と甲殻類との間には交差反応性はあるが、アレルゲン性が異なる部分も大きいと考えられた。検知法でも甲殻類トロポミオシンに特異性が高い測定系が早期に確立することが可能であり、軟体類と区別できることが示唆された。しかし、エビとカニを区別する必要がある場合は、さらに PCR を利用した検知法を検討する必要があると考えられた。

甲殻類のうち食用とされるシヤコ類(口脚目)、オキアミ類(オキアミ目)、アミ類(アミ目)、フジツボ類(顎脚目)は十脚目であるエビやカニ類と系統的に大きく異なる。しかし、エビアレルギー患者 IgE はこれら十脚目以外の甲殻類にも反応性を呈し、トロポミオシン間にも交叉反応性が示された。十脚目とそれ以外の甲殻類とを区別可能な検知法が開発できるかが課題である。実際に表示する場合の問題点として、①小エビ、小カニ、アミなどの甲殻類が魚介産物に意図せずして混入することが多い、②エビ・カニの種類まで特定できないことがある、③エビ・カニは輸入水産原料が多いが、輸入業者にその種類まで表示を求めることは困難、④キトサン、調味料、香辛料、エキス類、タンパク加水分解物、魚醤、油(魚油と植物油を混ぜて精製する)、エビやカニを食した魚などをどのように表示したらよいかなどが列挙された。

分担研究者	
武田 正倫	国立科学博物館系統、 分類学部長
塩見 一雄	東京海洋大学海洋食品科学科 教授
海老澤元宏	国立病院機構相模原病院臨 床研究センターアレルギー性疾 患部 部長
仲野 照男	食品産業センター技術開発部 次長
穂山浩	国立医薬品食品衛生研究所 食品部 室長

A.研究目的

平成13年4月からアレルギー物質を含む食品の表示は、食品衛生法等の改正を行い制度化された。原材料に卵、乳、小麦、そば、落花生の5品目(以下、特定原材料という)を含む食品は表示を義務とし、原材料にあわび、いか、いくら、えび、オレンジ、かに、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、さけ、さば、大豆、鶏肉、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、りんご、ゼラチンの19品目(以下、特定原材料に準ずるものという)を含む食品は表示を奨励するとなっている。

特定原材料に準ずるものの中でも、食物アレルギーの実態調査では、エビは食物アレルギー発症件数全体で5位に入り義務品目と同等の件数であり、さらにアナフィラキシーショックのような重篤な症状の発症件数も義務品目に次ぐ6位の位置にある。このような背景から、エビについては、アレルギー疾患を有する者の健康被害防止の観点から、特定原材料とすることを視野に入れ早急な対策をとる必要性があるといえる。

一方で、特定原材料となったとしても、エビ類については、最近の知見より表示が必要とされていない、ザリガニ類、伊勢エビ類、ひいては表示が

同様に奨励されている品目である、カニ類と生物学的、免疫学的に関連性を指摘されており、それらについての詳細な研究を行わなければ、食品への表示の実現可能性という側面が担保できないと考えられる。

また、これらの問題点については、厚生労働省と農林水産省が共同で開催している「食品の表示に関する共同会議」における「アレルギー物質を含む食品の表示についての検討報告書」においても、指摘を受け、早急にその解決を求められている。

本研究を行うことにより、これらの問題点を解決し、食品によるアレルギー発症患者数を減らすという健康被害防止の目的を達成でき、最終的には広く国民の食に関する安全、安心の確保に寄与すると考える。

B.研究方法 C.研究結果 D.考察

1) 甲殻類(特に十脚目)の分類学的研究の再検討(武田正倫)

節足動物門甲殻綱の分類体系には異論が多く、現在なお定説がない。しかし、下等な甲殻類のうち食用とされるシャコ類(口脚目)、オキアミ類(オキアミ目)、アミ類(アミ目)、フジツボ類(顎脚目)はエビやカニ類(十脚目)と系統的に大きく異なるということは明らかである。いわゆる十脚甲殻類に対してエビ類、ヤドカリ類、カニ類という呼称が一般に使われるが、これは腹部がよく発達して後方に伸長している長尾類、腹部が右側に捩じれている異尾類、腹部が縮小して体の下側に畳まれている短尾類に対応する。しかし、このような分類は便宜的なものであって、分類学的には古くから様々な分類体系が提唱されている。

水産業上の重要種が多数含まれる十脚目はエビ類(長尾亜目)、ヤドカリ類(異尾亜目)、カニ類(短尾亜目)という基本的な分類体系が採用され

てきたが、現在はさらに細分化された分類体系が定着化しつつある。しかし、食用種に限れば、例えば「タラバガニをヤドカリと呼ぶべき」というような主張は現実的ではなく、十脚甲殻類に関しては、仮に細分化する場合でもエビとカニという分類分けで十分であると考えられる。同じ甲殻類とはいえ、エビ/カニ/シヤコ/オキアミ/アミ/フジツボという、それぞれ明らかに異なるグループであると分類する必要がある。このような観点からは、現行のアレルギー表示対象品目を設定している日本標準商品分類の商品項目を大改定する必要はないということとなるが、新たな輸入される外国産の活けや冷凍品、あるいは加工食品が多くなったことから、それらを容易に位置付けられるような改訂は必要と考えられる。

2) エビ、カニ抗原性研究(塩見一雄)

21種甲殻類および9種頭足類の筋肉から調製した加熱抽出液を抗原としてイムノブロッティングを実施した結果、主要アレルギーは共通してトロポミオシンであることが判明した。トロポミオシンの抗原交差性は、甲殻類間、頭足類間だけでなく、甲殻類と頭足類の間でもみられた。5種甲殻類(クルマエビ、ウシエビ、タラバガニ、ズワイガニ、シヤコ)および5種頭足類(コウイカ、アオリイカ、スルメイカ、アカイカ、マダコ)のトロポミオシンについては、cDNA クローニングにより全アミノ酸配列を決定した。既知配列も含め、甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列は分類上の位置によらず89-100%と非常に高い相同性を示した。一方、頭足類トロポミオシンのアミノ酸配列はお互いに90%以上の相同性を示したが、他の軟体動物および甲殻類のトロポミオシンとの配列相同性はそれぞれ70-80%、60%で変異が大きいことを明らかにした。

各種甲殻類および頭足類の主要アレルギーは

相互に抗原交差性を示すトロポミオシンである。

3) エビ摂食による即時型アレルギー症状を呈した症例に関する調査(海老澤元宏)

各研究協力施設に対して添付した質問紙を配布し、エビ摂食時に症状を確実に呈した症例を抽出し、基礎アレルギー疾患、エビアレルギーに関して発症年齢・原因食品の調理加工形態・特異的IgE抗体価、他の甲殻類へのアレルギー反応の有無・あった場合は特異的IgE抗体価・症状について調査した。今回の調査ではエビアレルギー確定例として全部で99症例のデータが集積できた。その患者背景について、図1に示すように性別は男性44例、女性55例で年齢分布は1~6歳29例、7~19歳22例、20~39歳29例、40歳以上19例で、平均 19.5 ± 2.4 歳(mean \pm SE:以下全て同様に表示)であった。

エビ摂食による即時型症状を呈した症例99例についてエビアレルギーの症状、特異的IgE抗体、他の甲殻類、軟体類、貝類についてアレルギー症状の有無、特異的IgE抗体の相関性について調査した。エビアレルギーの症状は約88%が1時間以内に症状を呈し、皮膚症状を始めOAS様の症状や呼吸器症状を呈する症例が多くみられた。また症状の発現時間が10分以内で全体の58%を占め、1時間以内と併せると87.9%と即時型反応がほとんどであり、2臓器以上の症状を呈したアナフィラキシー症例は61例(61.6%)にのぼり、中にはアナフィラキシーショックも2例(2.0%)みられた。したがって、エビは即時型の食物アレルギー反応を起こし、さらにはアナフィラキシーを引き起こす危険性高い食品と考えられた。

カニアレルギーとの関連については、カニを摂食した約2/3の症例においてアレルギー症状の発現が認められた。また、特異的IgE抗体に関してはエビ・カニ間では相関関係が非常に強く認められた。われわれのデータでもカニを摂食して症

状の発現は 64.7%と高く、カニを摂食しても症状のでない症例は 35.3%と低かった。また、オキアミやシヤコなども甲殻類と分らずに食している場合もあるが、エビアレルギーがあることで自ずと甲殻類は控えるヒトが多く、実際にはオキアミやシヤコは摂食している様子がみられなかったため、実際に摂食した症例が少なく、症状出現の割合は不明であった。以上からカニ症状発現の割合と特異的 IgE 抗体値の相関性からもエビとカニを区別することは難しいと考えられた。

生物学的分類からするとエビ・カニ・ヤドカリ類からは離れる軟体類や貝類は交差抗原性を持つトロポミオシンを持っており、特異的 IgE 抗体値の相関性を持ち合わせてはいるが、軟体類のイカ、タコは摂食して症状が出ない症例が全体の約 50%強を占め、摂食して症状の出なかった割合ではそれぞれ 82.5%、79.7%であり、ホタテ、アワビでは全体の 37.3%、19.2%を占め、摂食して症状の出なかった割合ではそれぞれ 80.4%、90.5%とカニの 35.3%の症状発現しない割合に比べ高く、逆に症状発現の頻度は低かった。これは特異的 IgE 抗体が認識するエピトープの問題で、甲殻類と軟体類・貝類のトロポミオシンの一次構造の一部が異なるためと考えられる。食品表示を義務化する場合には、エビのみならず甲殻類(エビ、カニ、ヤドカリ含む)を表示対象として取り扱い、軟体類・貝類とは一線を画す対応が妥当と考えられた。

4) えび・かに表示実現可能性評価研究 (仲野照男)

財団法人食品産業センターの会員企業に対しアンケートによるえび・かに使用の実態を2005年1月に調査し、表示の実現可能性を評価した。

回収団体数は約11(調査20、回収企業数 67

社であった。使用実態を見ると、商品数は511、内訳はえび・かに使用割合5~30~100%、粉0.01程度%、エキス使用割合0.01~2%であった。

エビやカニを現在の特定原材料と同様の表示義務とすることは可能とする回答が多かった。

エビやカニを含む加工品の表示は「エビ、カニ、エキス」が多い。中には、それぞれの種類名を記している場合もあったが、「原材料の一部にかに・えびを含む」といった表示もされていた。これは、エビ・カニの種類まで特定できない場合があることや、混獲などによる意図せぬ混入が起きやすいからである。

エビ・カニなどの甲殻類の表示に伴ういくつかの質問や要望が提起された。

エビ・カニを含む高~中程度加工品の例として、キトサン、調味料、香辛料、エキス類(香料)、タンパク加水分解物、魚醤、等ある。これらの表示をどのようにしたよいか扱いを確定して欲しいという意見があった。また、エビ・カニを食した魚はどのように表示をしたら良いかという質問もあった。

検知用検査キットに関してはエビ・カニとこれら以外のシヤコ、オキアミのような甲殻類と区別できるのかという疑問もあった。

エビ・カニ類の種類まで記載することは、困難な場合があるので「甲殻類」のように一括表示が許されないかという意見と、反対に「甲殻類」では該当するものが多すぎイメージも悪く、消費者の疑問も起きる心配があるので種類まで記載するようにしてほしいという意見もあった。

その他、「魚介類」(無分別の場合)、油(魚油と植物油を混ぜて精製するのでコンタミが起きる)の表示法はどうしたらよいかといった質問もあった。

さらに、①えび・かに以外の甲殻類(シャコ、オキアミ、フジツボ、カメノテなど)はアレルギーの起こりやすさ、その実際の食品としての摂取量から表示すべき対象を決定してほしい。②えび・かには他の特定原材料に比べ混獲など意図せぬ混入がおきやすいので、混入の可能性が強く疑われるものは「原材料の一部に...」と表示をしてもよしとできないか。③えび・かにの高度～中等度加工品においてアレルギーが起こりにくい場合、表示の省略が可能にならないか、などの要望があった。

5) 食品中のアレルギー物質検知法開発研究 (滝山浩)

健康被害防止の観点から表示を奨励している19品目のうち、発症数の多く、過敏症状もアナフィラキシーのような重篤な症状惹起するとされているエビ・カニに関して検知法開発実現可能にするための抗体作製および遺伝子増幅法(PCR法)についての基礎的検討を行った。ブラックタイガー精製トロポミオシン(TM)及びTM配列内合成ペプチド(6種類)をウサギに免疫し、エビとカニのTMを特異的に検出可能なポリクローナル抗体の調製を目的に検討した。精製TMに対する抗体に関してマガキTM及びホタテTMを用いた吸収後は、エビ・カニ類の筋組織抽出液中TMに対する反応性が残存したが、軟体動物のTMに対する反応性は著しく減弱した。ペプチド抗体の中には甲殻類に高い特異性を示すものが調製された。両抗体を組み合わせることで、甲殻類に特異的な測定系を早期に確立することが可能であると考えられた。しかし、これらの抗体を用いても、エビとカニを区別できないことが判明した。エビとカニを分離して検知するためには、さらなる遺伝子レベルでの検知

法開発が必要であると考えられた。

PCRを用いた検知法の検討では、エビのTM cDNA配列より、エビを特異的に検知するprimer対を設計した。作成した6種類のprimer対を用いて、甲殻類および軟体類のゲノミックDNAをPCR反応に供した結果、エビ検体のうちクルマエビ族にのみ増幅を示すprimer対が得られた。これらの増幅産物長は予想サイズを上回り、かつ増幅が認められた4種類の検体では断片長がそれぞれ異なった。上記結果を現在解析中であるが、ブラックタイガー由来増幅産物のシーケンス解析によって増幅領域にイントロンが含まれていることが示唆された。また同族検体間においてイントロンの配列に違いがあるため増幅産物長が異なっていたと考えられる。

E. 結論

節足動物門甲殻綱の分類体系には現在でも定説がないが、エビ類(長尾亜目)、ヤドカリ類(異尾亜目)、カニ類(短尾亜目)が属する十脚甲殻類に関しては、「えびとかに」という分類で十分であると考えられた。同じ甲殻類とはいえ、十脚目以外のシャコ、オキアミ、アミ、フジツボなどは明らかに異なるグループであると分類する必要がある。このような観点からは、日本標準商品分類の商品項目を大改定する必要はないということなるが、新たに輸入される外国産の活けや冷凍品、あるいは加工食品が多くなっていることから、それらを容易に位置付けられるような改訂は必要と考えられる。

甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列は相同性が非常に高いので、検知法の開発および表示にあたっては甲殻類として一括りにするのが適切である。一方、軟体動物トロポミオシンのアミノ酸配列はお互いに相同性が低いので、検知法の開発および表示にあたっては分類上の群ごとに考え

ていく必要がある。

エビは即時型の食物アレルギー反応を起こし、さらにはアナフィラキシーを引き起こす危険性が高い食品と考えられた。食品表示を義務化する場合には、エビのみならず甲殻類(エビ、カニ、ヤドカリ含む)を表示対象として取り扱い、軟体類・貝類とは一線を画す対応が妥当と考えられた。

エビやカニを現在の特定原材料と同様の表示義務とすることは可能とする回答が多かった。

具体的な表示方法に関しては色々な質問、疑問点、要望があり、今後、実現可能な表記とするための具体的な検討が課題として提起された。

マガキトロポミオシン及びホタテトロポミオシンを用いた吸収処理したブラックタイガー精製トロポミオシン抗体とペプチド抗体を組み合わせることによって甲殻類に特異的な測定系を構築できる目処がたった。しかし、エビとカニを区別する必要がある場合は、さらに PCR を利用した検知法を検討する必要があると考えられた。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Yoshioka H, Ohmoto T, Urisu A, Mine Y, Adachi T; Expression and epitope analysis of the major allergenic protein Fag e 1 from buckwheat. J Plant Physiology, 161, 761-767, 2004.
 - 2) Takagi K, Teshima R, Okunuki H, Itoh S, Kawasaki N, Kawanishi T, Hayakawa T, Kohno Y, Urisu A, Sawada J. Kinetic analysis of pepsin digestion of chicken egg white ovomucoid and allergenic potential of pepsin fragments. Int Arch Allergy Immunol, 136, 1, 23-32, 2005.
 - 3) Y. Lu, T. Ohshima, H. Ushio and K. Shiomi: Preparation and characterization of monoclonal antibody against abalone allergen tropomyosin. Hybridoma and Hybridomics 23, 357-361 (2004)
 - 4) K. Shimakura, Y. Tonomura, Y. Hamada, Y. Nagashima and K. Shiomi: Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion. Food Chem. 91, 247-253 (2005)
- ### 2.学会発表
- 1) 各務美智子、中島陽一、河村牧子、川口博史、近藤康人、柘植郁哉、小山晴美、安田俊隆、山田一恵、宇理須厚雄; 属が同じ魚種に対する特異的 IgE 抗体価の検討、第16回、日本アレルギー学会春季臨床集会、前橋、2004、
 - 2) 近藤康人、河村牧子、中島陽一、柘植郁哉、川口博史、各務美智子、徳田玲子、宇理須厚雄。小山晴美、山田一恵、安田俊隆; イクラと魚卵(タラコ、カズノコ)、魚肉(サケ)および鶏卵との交差抗原性について、第40回、中部日本小児科学会、岐阜、2004、8月29日、
 - 3) 元山かん奈、石崎松一郎、嶋倉邦嘉、長島裕二、塩見一雄: 頭足類トロポミオシンのアレルギー性および cDNA クローニング、平成17年度日本水産学会大会
 - 4) 須磨洋太、嶋倉邦嘉、長島裕二、塩見一雄: アメリカンロブスターの速筋および遅筋に含まれるトロポミオシンのアレルギー性比較、平成17年度日本水産学会大会

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究
分担研究報告書

甲殻類(特に十脚類)の分類学的研究の再検討

分担研究者 武田正倫 (国立科学博物館 動物研究部)

研究要旨

節足動物門甲殻綱の分類体系には異論が多く、現在なお定説がない。しかし、下等な甲殻類のうち食用とされるシャコ類(口脚目)、オキアミ類(オキアミ目)、アミ類(アミ目)、フジツボ類(顎脚目)はエビやカニ類(十脚目)と系統的に大きく異なるということは明らかである。水産業上の重要種が多数含まれる十脚目はエビ類(長尾亜目)、ヤドカリ類(異尾亜目)、カニ類(短尾亜目)という基本的な分類体系が採用されてきたが、現在はさらに細分化された分類体系が定着化しつつある。しかし、食用種に限れば、例えば「タラバガニをヤドカリと呼ぶべき」というような主張は現実的ではなく、十脚甲殻類に関しては、仮に細分化する場合でもエビとカニという分類分けで十分であり、現行のアレルギー表示対象品目を設定している日本標準商品分類により、当面は対象品目の検討は可能であると考えられる。

A. 研究目的

いわゆる十脚甲殻類に対してエビ類、ヤドカリ類、カニ類という呼称が一般に使われるが、これは腹部がよく発達して後方に伸長している長尾類、腹部が右側に振じれている異尾類、腹部が縮小して体の下側に畳まれている短尾類に対応する。しかし、このような分類は便宜的なものであって、分類学的には古くから様々な分類体系が提唱されている。近年の分子分析の手法も考慮して従来の体系を整理するとともに、現行のアレルギー表示対象品目を設定している日本標準商品分類との関係、当プロジェクトにより得られた抗原性などとの整合性について考察する。

B. 研究方法

文献資料を参照しつつ、とくにエビ、ヤドカリ、カニ類の境界域と考えられる種群について標本に基づいて系統関係を考察する。

C. 研究成果

1) 十脚甲殻類の伝統的な分類体系

i) 長尾類、異尾類、短尾類

十脚甲殻類の分類体系上の位置は目のレベルであり、十脚甲殻類全体としては単系統のまとまりの動物群である。しかし、亜目への細分に関しては古くから多くの異論が提唱されている。伝統的には腹部がよく発達している長尾類(エビ類)、腹部が右側に振じれている異尾類(ヤドカリ類)、腹部が退化縮小して腹側に折り畳まれている短尾類(カニ類)に細分されていた。典型的な種群においてはこの細分に問題なく、祖先形を残るエビ類から巻き貝目を利用するようになって適応的に腹

部が振じれたヤドカリ類、歩行を主体として生活に適応したカニ類という進化の図式が描かれていた。貝殻利用から離れて「二次的にカニ型になった」タラバガニ類という説明もそれなりに説得力があった。しかし、それぞれの境界域に多くの新種が発見されるようになり、文字でそれぞれを特徴づけるのが難しい状態になった。腹部がよく発達して長尾類のように後方に伸長している異尾類、腹部があまり縮小せず、その他の特徴も異尾類に近い短尾類もいる。

下等な短尾類とされるアサヒガニ類 *Gymnopleura*、カイカムリ類 *Dromiacea*、ホモラ類 *Homoloidea* は一般的なカニの形をしているが、形態各部にヤドカリ類の特徴を残しており、また、生態的にも走触性を残している。最後の1対あるいは2対の脚が短く、背側に偏ってついている。砂に潜る、カイメンやホヤ、ヤギ類などを背負ったり、はさんだりして身を守る…など、使用目的はそれぞれの種群でやや異なるが、カニ類のように歩行に使われることはない。腹側を見ると、これら「下等なカニ類」では胸甲がほとんどなく、左右の歩脚が互いに接するような位置についている。カニでは広い胸甲が発達しており、左右の歩脚は体の左右に遠く離れてついている。また、第2歩脚の根元の節(座節)にメスの生殖孔(産卵孔)が開いているが、この特徴はエビ、ヤドカリ類に共通で、典型的なカニ類では第2歩脚がついている胸甲の中央部にある。このような生殖孔の位置は系統上著しく重要であると考えられることから、これら「下等なカニ類」は本来は異尾類(ヤドカリ類)として扱われるべき存在である。

ii) 遊泳類、歩行類

側扁し(左右に平たく)遊泳に適した体型の遊泳類、横扁し

(背腹に扁平)あるいは円筒形で歩行に適した体型の歩行類という、十脚甲殻類を大きく二分する分類体系も、長尾、異尾、短尾類という体系とほぼ平行的に使用されてきた。しかし、いわゆるエビ類には、遊泳型のクルマエビ類や多くのコエビ類のほか、明らかに歩行型のイセエビ類やザリガニ類がいることから、本来の系統を表現していない、あるいは歩行類をさらに細分しなければいけないのではないかなど反対論も根強く、現在は遊泳類、歩行類という分類体系がそのまま使用されることはない。

iii) 根鰓類、抱卵類

深海浮遊性のサクラエビ類と広義のクルマエビ類(約 470 種)は、他のすべてのエビ類(約 2,500 種)と異なって、メスが抱卵することはない。卵を抱くか抱かないか、抱くとすればどの発達段階まで抱くかなどは系統よりもむしろ生態を反映して特徴だと思われるが、見かけ上は大きな相違である。この2群では鰓が根鰓である。この鰓は糸状や薄葉状と異なり、鰓の表面積を広げるという観点からは下等と言わざるを得ない。泳ぎながら卵を産み放してしまう(必然的に、小卵多産型)ことと考え合わせて、エビ類中で下等な存在であることは明らかである。

他のエビ、ヤドカリ、カニ類では鰓の構造は上記の糸状か薄葉状で、メスは必ず抱卵して幼生が孵化するまで守る。十脚甲殻類をこのような観点から二分するにしても、異なる特徴をベースに命名するのは適当とは思われない。また、ここで提唱された抱卵類は、エビ類の大部分、ヤドカリ類とカニ類のD, D, 考察すべてを含むことになり、いわゆる根鰓類に対応させるために、さらに細分する必然性があるのは明らかである。

このような問題を解決するために、Barkenroad (1981) は、根鰓亜目、抱卵亜目に加えて、オトヒメエビ類を Euzygida、コエビ類を Eukyphida とする分類体系を提唱した。この体系を採用すると、かつての「遊泳類」はすっきりするが、「歩行類」はエビ型のザリガニ類とイセエビ類がヤドカリ類、カニ類とともにまとめられることになり、更なる検討が必要であると考えられる。

この場で新しい体系を提唱するのは適当ではないが、上述の体系に加えて、先述の「下等なカニ類」を異尾類に移して、新たに異尾類、短尾類を亜目と位置付けることを提唱したい。

歩行型エビ類であるザリガニ類とイセエビ類、従来は異尾類に位置付けられていたアナジャコ類の処遇が問題である。この問題を解説するために、現在、多くの研究者が採択する体系は亜目と科の間に下目というランクを新設することである。市販の図鑑などでは、根鰓亜目にクルマエビ下目を設け、抱

卵亜目をコエビ、ザリガニ、イセエビ、アナジャコ、異尾、短尾の6下目に分けるというものである。しかし、この分類体系は Euzygida, Eukyphida という分類法に無知であったか、無視したのか定かではないが、少なくとも考慮されていない。以下に示す分類体系が、少なくとも現状では、もっとも統一的なものと考えられる。

節足動物門 Arthropoda

甲殻綱 Crustacea

十脚目 Decapoda

根鰓亜目 Dendrobranchiata (クルマエビ上科、サクラエビ科)

オトヒメエビ亜目 Euzygida (オトヒメエビ科)

コエビ亜目 Eukyphia (テナガエビ科、モエビ科、テッポウエビ科、タラバエビ科など)

抱卵亜目 Pleocyemata

イセエビ下目 Palinurida (イセエビ類、ウチワエビ類など)

ザリガニ下目 Astacodea (ザリガニ類、アカザエビ類、ロブスター)

アナジャコ下目 Thalassinidea (アナジャコ類)

異尾下目 Anomura (ヤドカリ類、タラバガニ科、アサヒガニ科、ホモラ科、カイカムリ科)

短尾下目 Brachyura (真正カニ類)

十脚甲殻類をどのように細分しようとも、一般の方々もつエビ、ヤドカリ、カニのイメージは固定的である。上記の分類表から抱卵亜目の異尾下目と短尾下目以外はすべて「エビ」のイメージである。異尾類は広義のヤドカリ類であるが、ヤドカリというイメージと名称は定着しているが、典型的なヤドカリ類で食用とする種はほとんどなく、琉球列島以南に分布する陸生のヤシガニのほか、北海道以北に分布するオホーツクヤドカリの右側鉗脚程度であろう。ヤシガニは腹部が短縮し、左右相称になっているが、陸生の、そして巻き貝に入らないヤドカリとしてよく知られ、ヤシガニという名称が広く使われている。一方、オホーツクホンヤドカリの鉗脚は右側だけで(ホンヤドカリ科は寒海系で、すべて右側の鉗脚が大きい)、消費者の目には「カニのはさみ」と写る。もちろん、カニのはさみをヤドカリのはさみでは掌の手前の2節(長節と腕節)の長さが異なるので(長節が長く、腕節が短いのがカニ類のはさみ、その反対がヤドカリ類のはさみ)、慣れれば区別は容易であるが、一般に浸透させるのはほとんど困難であると考えられる。それに、

ヤドカリ類のはさみが商品として市場に出回るのは、オホーツクホソヤドカリが例外的に大きく、また、魚類を対象とした底引き網などに大量に入ることがあるためであるが、ローカル色豊かな商品の域を出ない。

異尾類中の例外的な種群であるタラバガニ・イバラガニ類には水産業上の重要種が含まれており、むしろ真正カニ類よりも重要とさえ言える。タラバガニ科の種が真のカニ類でないことは右側に振じれた腹部の形態だけでなく、触角、口器、鉗脚、第4脚、メスの生殖孔の位置など明らかにヤドカリ類の特徴を残しており、幼生もカニ類のゾエア幼生ではなく、ヤドカリ類のグラウコエ幼生である。よく知られているように、一般的な形態はカニ型で、Crab-shaped Anomura という表現がよく使われる。大きなはさみをもつこともカニのイメージを与える可能性は大きい(寒海にすむヤドカリであるので、必ず右側のはさみが大きい)、可動指、不動指の先端部が深くくぼんだ形状などは紛れもなく「ヤドカリのはさみ」である。とはいえ、水産業者がタラバガニをヤドカリと称して販売することは考えられない。

十脚甲殻類以外の甲殻類で積極的に食用とされる種はあまり多くなく、口脚目としてまとめられるシャコ類(日本ではほとんどがいわゆるシャコ)、オキアミ目としてまとめられるオキアミ類(ほとんどがナンキョクオキアミ)、アミ目としてまとめられるアミ類(佃煮として馴染み深いイサザアミ類)、磯から浅海の岩に固着するフジツボ類(蔓脚綱として分類されてきたが、近年の分類体系に従えば顎脚綱蔓脚目、本州北部から北海道に

かけて食用とされるミネフジツボ)などである。

形態に基づく分類体系からみる限り、これらの種群は十脚目とは大きくかけ離れている。分岐分類学的に解析すればそれぞれ単系統群となるまとまりのある種群であり、体制から、十脚類より明らかに下等な位置におかれる。フジツボ類などは生態的に、結果として形態的にも、系統関係が不明などほど特化しているが、幼生は甲殻類の初期幼生であるノープリウスである。

D, 結論

上述のように、十脚甲殻類は分類学的にはエビ、ヤドカリ、カニ類という分類を基として、それらの境界域と考えられる種群を考慮して細分化が試みられている。しかし、水産業上の販売戦略と一般消費者の理解の現状を考えると、例えば「タラバガニをヤドカリと呼ぶべき」とは表明しにくい。したがって、一般的な大分類としては、同じ甲殻類とはいえ、エビ/カニ/シャコ/オキアミ/アミ/フジツボという、それぞれ明らかにことなるグループであると分類する必要がある。このような観点からは、現行のアレルギー表示対象品目を設定している日本標準商品分類の商品項目を大改定する必要はないということなるが、新たな輸入される外国産の活けや冷凍品、あるいは加工食品が多くなってことから、それらを容易に位置付けられるような改訂は必要と考えられる。

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究
分担研究報告書

エビ、カニ抗原性研究

分担研究者 塩見一雄 東京海洋大学海洋食品科学科

研究要旨

21 種甲殻類および 9 種頭足類の筋肉から調製した加熱抽出液をイムノブロッティングに供し、主要アレルゲンは共通してトロポミオシンであることを確認した。トロポミオシンの抗原交差性は、甲殻類間、頭足類間だけでなく、甲殻類と頭足類の間でもみられた。5 種甲殻類（クルマエビ、ウシエビ、タラバガニ、ズワイガニ、シャコ）および 5 種頭足類（コウイカ、アオリイカ、スルメイカ、アカイカ、マダコ）のトロポミオシンについては、cDNA クローニングにより全アミノ酸配列を決定した。既知配列も含め、甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列は分類上の位置によらず 89-100%と非常に高い相同性を示した。一方、頭足類トロポミオシンのアミノ酸配列はお互いに 90%以上の相同性を示したが、他の軟体動物および甲殻類のトロポミオシンとの配列相同性はそれぞれ 70-80%、60%で変異が大きいことを明らかにした。

A.研究目的

アレルギーを起こすおそれがあるエビ、カニ、軟体動物の適切な検知法および表示方法を検討するためには、アレルゲンに関する分子レベルの情報が必須である。そこで本研究では、エビ、カニを中心とした各種甲殻類および軟体動物のうちわが国で消費量が多い頭足類について、主要アレルゲンがトロポミオシンであるかどうかを確認するとともに抗原交差性を明らかにすること、さらに一部甲殻類および頭足類については抗原交差性の裏付けとなるトロポミオシンのアミノ酸配列を解明することを目的とした。

B.研究方法

試料: 試料として甲殻綱アゴアシ亜綱フジツボ目イワフジツボ科ミネフジツボの筋肉、ミョウガイ科カメノテの柄、軟甲亜綱オキアミ目ナンキョクオキアミ、十脚目根鰓亜目クルマエビ科クルマエビ、ウシエビ（ブラックタイガー）、サクラエビ科サクラエビ、抱卵亜目コエビ下目オキエビ科シラエビ、テナガエビ科スジエビ、タラバエビ科ポタンエビ、

ザリガニ下目アカザエビ科アメリカンロブスター、アカザエビおよびイセエビ下目セエビ科オオバウチワエビの尾肉、異尾下目タラバガニ科タラバガニ、イバラガニ、短尾下目アサヒガニ科アサヒガニ、クモガニ科ズワイガニ、ワタリガニ科タイワンガザミおよびクリガニ科ケガニの脚肉（タラバガニとズワイガニは脚肉と胴肉）、サワガニ科サワガニの全体、棘蝦亜綱口脚目シャコ科シャコの尾肉、頭足綱十腕形目コウイカ科コウイカ、ヤリイカ科アオリイカ、ヤリイカ、ケンサキイカ、アカイカ科スルメイカおよびアカイカの外套膜、八腕形目マダコ科マダコ、イイダコおよびミズダコの脚部筋肉、ユムシ動物門ユムシ科ユムシおよび脊索動物門ホヤ綱マボヤ科マボヤの筋肉を用いた。

加熱抽出液の調製: 各試料に 4 倍量の 0.6 M KCl-0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えてホモジナイズした。ホモジネイトを加熱 (100℃、10 分間) 後、冷却遠心分離 (18,000×g、4℃、20 分間) により得られた上清を加熱抽出液とした。

SDS-PAGE: SDS-PAGE には泳動装置として PhastSystem (Amersham Biosciences) を、ゲルと

して PhastGel Gradient 8-25 (Amersham Biosciences) を使用した。泳動に先立ち、各加熱抽出液、イセエビ精製トロポミオシンおよびスルメイカ精製トロポミオシンを 5% ジチオスレイトール-2.5% SDS 溶液とし、沸騰水浴中で 10 分間加熱変性した。泳動後のゲルは Coomassie Brilliant Blue R-250 で染色した。分子重量マーカーには Precision plus protein standards (Bio-Rad Laboratories) を使用した。

イムノブロットティング: SDS-PAGE で泳動させたタンパク質は PhastSystem の取扱説明書に従いニトロセルロース膜に転写した。転写後の膜は患者血清 (1:500) と 37°C、1 時間、次いでペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト IgE 抗体 (1:5000; Kirkegaard & Perry Laboratories) と 37°C、1 時間反応させた。検出には ECL plus western blotting detection system (Amersham Biosciences) を用いた。阻害イムノブロットティングの場合は、阻害剤 (イセエビ精製トロポミオシンまたはスルメイカ精製トロポミオシン 20・g/ml) と患者血清 (1:250) を等量ずつ混合し、37°C、1 時間プレインキュベートしたものを一次抗体として用い、その他の操作は上述のイムノブロットティングと同様に行った。

cDNA クローニング: 5 種甲殻類 (クルマエビ、ウシエビ、タラバガニ、ズワイガニ、シャコ) および 5 種頭足類 (コウイカ、アオリイカ、スルメイカ、アカイカ、マダコ) を実験に用いた。クルマエビ、ウシエビおよびシャコの尾肉、タラバガニおよびズワイガニの脚肉と胴肉、コウイカ、アオリイカ、スルメイカおよびアカイカの外套膜、マダコの脚部筋肉から mRNA を精製し、Marathon cDNA Amplification Kit (Clontech) を用いて cDNA ライブラリーを作製した。既知の甲殻類トロポミオシンまたは軟体動物トロポミオシンをコードする cDNA の塩基配列のうち、保存性の高い領域に基づいて特異プライマーを設計し、AP1 アダプタープライマーとの組み合わせによる 3' RACE および 5' RACE を行った。PCR 増幅産物の塩基配列を

分析し、トロポミオシンのアミノ酸配列を演繹した。

C. 研究結果

甲殻類のアレルゲン: 各種甲殻類の加熱抽出液を SDS-PAGE で分析したところ、シャコとサワガニを除くすべてにおいて約 37kDa のトロポミオシンのバンドが検出された (図 1A、2A)。シャコ筋肉ではトロポミオシン濃度が低いと判断されたが、サワガニの場合は全体を抽出したので、トロポミオシン濃度が相対的に低くなり検出されなかったと考えられる。イムノブロットティングでは、反応が弱かったシャコとサワガニも含めて、すべての甲殻類においてトロポミオシンに IgE 陽性反応が認められた (図 1B、2B)。ユムシのトロポミオシンはきわめて弱い反応を示したが、マボヤのトロポミオシンは陰性であった。阻害イムノブロットティングでは、阻害剤としてイセエビ精製トロポミオシンあるいはスルメイカ精製トロポミオシンを用いると、いずれの場合もすべての甲殻類トロポミオシンのプロットが消失あるいは減弱した (データ示さず)。

頭足類のアレルゲン: 9 種頭足類の加熱抽出液の場合、SDS-PAGE ではすべてに約 37kDa のトロポミオシンのバンドが検出され (図 3A)、イムノブロットティングでは反応には強弱があるもののトロポミオシンの IgE 反応性が確認された。また、阻害剤としてイセエビ精製トロポミオシンあるいはスルメイカ精製トロポミオシンを用いた阻害イムノブロットティングでは、トロポミオシンのプロットはすべて消失あるいは減弱した (データ示さず)。

甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列: 5 種甲殻類 (クルマエビ、ウシエビ、タラバガニ、ズワイガニ、シャコ) のトロポミオシンの全アミノ酸配列を決定し、既知甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列と並べて図 4 に示した。甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列の相同性はお互いに 88.7-100% と非常に高く、中でもクルマエビ、ウシエビおよびブラウン

シュリンプのトロポミオシンのアミノ酸配列は完全に一致した。なお、タラバガニの場合、脚肉および胴肉にそれぞれ同じ2成分のトロポミオシンが含まれていたが、アメリカンロブスターで報告されている3成分のトロポミオシン(fast、slow、slow-tonic)の配列と比較して、fastとslow-tonicであると考えられた。また、ズワイガニの脚肉および胴肉には同じトロポミオシンが含まれており、slow-tonicと判断された。

頭足類トロポミオシンのアミノ酸配列: 5種頭足類(コウイカ、アオリイカ、スルメイカ、アカイカ、マダコ)のトロポミオシンの全アミノ酸配列を決定し、既知軟体動物トロポミオシンおよびクルマエビトロポミオシンのアミノ酸配列と並べて図5に示した。頭足類のうち、イカ類トロポミオシンの配列相同性は96.1-99.6%と非常に高く、イカ類とマダコのトロポミオシンの配列相同性も91.5-92.3%と高かった。しかし、頭足類トロポミオシンと他の軟体動物のトロポミオシンとの相同性は70-80%程度とやや低く、クルマエビトロポミオシンとの相同性はさらに低く約63%であった。

D. 考察

これまでに調べられた甲殻類および軟体動物では、主要アレルゲンはすべてトロポミオシンであることが証明されている。本研究でも、SDS-PAGEならびにイムノブロットングにより、21種甲殻類および9種頭足類の主要アレルゲンはトロポミオシンであることが確認された。さらに阻害イムノブロットングの結果から、トロポミオシンの抗原交差性は甲殻類間、頭足類間だけでなく、甲殻類と頭足類の間でもみられた。

トロポミオシンのアミノ酸配列は、甲殻類については軟網亜綱十脚目根鰓亜目(ブラウンシュリンプ)と抱卵亜目ザリガニ下目(アメリカンロブスター)および短尾下目(シマイシガニ)に属する種類でしか解析されていなかった。本研究では、根鰓亜目の2種類(クルマエビ、ウシエビ)、抱卵亜

目の1種類(ズワイガニ)に加えて、異尾下目のタラバガニ、棘蝦亜綱口脚目のシャコを取り上げてトロポミオシンのアミノ酸配列を明らかにしたが、分類上の位置が異なっても甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列の相同性は88.7-100%と非常に高いことが判明した。甲殻類の中では、アゴアシ亜綱のミネフジツボ、カメノテ、軟網亜綱オキアミ目のナンキョクオキアミも食用になっているので、今後はこれらのトロポミオシンのアミノ酸配列も明らかにし、甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列と分類上の位置との相関をさらに検討する予定である。

一方、頭足類トロポミオシンのアミノ酸配列は本研究で初めて明らかになったが、甲殻類トロポミオシンとの配列相同性は約60%と低く、さらに他の軟体動物のトロポミオシンとの相同性も70-80%程度とそれほど高くなかった。軟体動物のうち、ミミガイ科2種(トコブシ、アカネアワビ)、イガイ科2種(ヨーロッパイガイ、ムラサキイガイ)、イタヤガイ科3種(ヒオウギ、ホタテガイ、アズマニシキ)のトロポミオシンのアミノ酸配列が報告されているが、同じ科では90%以上の配列相同性がみられるのに対し、科が異なると配列相同性は70%程度である。このように軟体動物トロポミオシンのアミノ酸配列は分類上の位置によって変異が大きいので、IgE結合性や抗原交差性の基礎データとしてできるだけ多くの種類の軟体動物についてトロポミオシンのアミノ酸配列を解明することが必要である。

E. 結論

各種甲殻類および頭足類の主要アレルゲンはお互いに抗原交差性を示すトロポミオシンである。甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列は分類上の位置が異なっても相同性が非常に高いので、検知法の開発および表示にあたっては甲殻類として一括りにするのが適切である。一方、軟体動物トロポミオシンのアミノ酸配列はお互いに相同

性が低いので、検知法の開発および表示にあたっては分類上の群ごとに考えていく必要がある。

F.健康危険情報

特になし。G.研究発表

1.論文発表

- 1) Y. Lu, T. Ohshima, H. Ushio and K. Shiomi: Preparation and characterization of monoclonal antibody against abalone allergen tropomyosin. *Hybridoma and Hybridomics* 23, 357-361 (2004)
- 2) K. Shimakura, Y. Tonomura, Y. Hamada, Y. Nagashima and K. Shiomi: Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion. *Food Chem.* 91, 247-253 (2005)

2.学会発表

- 1) 元山かん奈、石崎松一郎、嶋倉邦嘉、長島裕二、塩見一雄:頭足類トロポミオシンのアレルギー性および cDNA クローニング、平成 17 年度日本水産学会大会
- 2) 須磨洋太、嶋倉邦嘉、長島裕二、塩見一雄:アメリカンロブスターの速筋および遅筋に含まれるトロポミオシンのアレルギー性比較、平成 17 年度日本水産学会大会

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし。

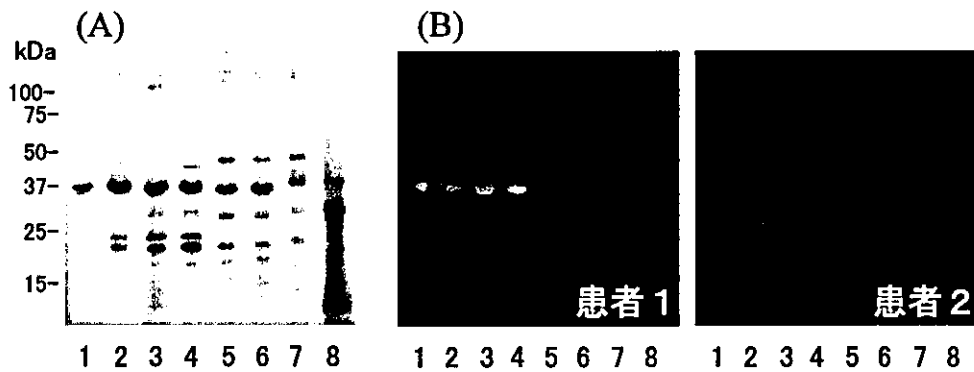


図1. 5種甲殻類加熱抽出液のSDS-PAGE(A)およびイムノブロットイング(B). 1:アメリカンロブスター精製トロポミオシン、2:アメリカンロブスター(尾肉)、3:クルマエビ(尾肉)、4:ウシエビ(尾肉)、5:ズワイガニ(脚肉)、6:ズワイガニ(胴肉)、7:タラバガニ(脚肉)、8:タラバガニ(胴肉)

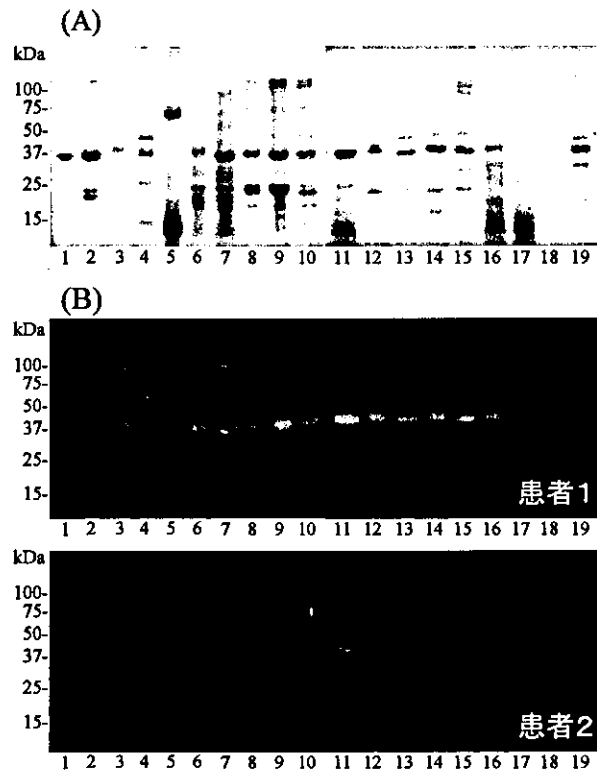


図2. 16種甲殻類、マボヤおよびユムシの加熱抽出液のSDS-PAGE(A)およびイムノブロットイング(B). 1:アメリカンロブスター精製トロポミオシン、2:アメリカンロブスター(尾肉)、3:ミネフジツボ(筋肉)、4:カメノテ(柄)、5:シャコ(尾肉)、6:ナンキョクオキアミ(尾肉)、7:サクラエビ(尾肉)、8:シラエビ(尾肉)、9:スジエビ(尾肉)、10:ボタンエビ(尾肉)、11:アカザエビ(尾肉)、12:オオバウチワエビ(尾肉)、13:イバラガニ(脚肉)、14:アサヒガニ(脚肉)、15:ケガニ(脚肉)、16:タイワンガザミ(脚肉)、17:サワガニ(全体)、18:マボヤ(筋肉)、19:ユムシ(筋肉)

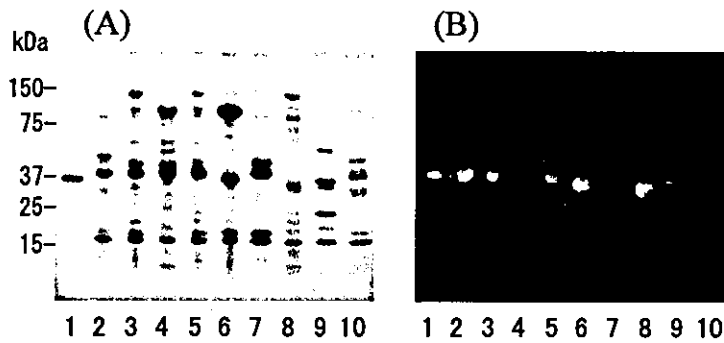


図 3. 9 種頭足類の加熱抽出液の SDS-PAGE(A) およびイムノブロッティング(B). 1:スルメイカ精製トロポミオシン, 2:コウイカ, 3:アオリイカ, 4:ヤリイカ, 5:ケンサキイカ, 6:スルメイカ, 7:アカイカ, 8: マダコ, 9:ミズダコ, 10:イイダコ

```

1  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q H X E A N H R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N 80
2  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
3  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
4  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
5  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
6  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
7  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
8  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
9  ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
10 ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N
11 ND A I K K K N Q A M K L E K D N A M D R A D T L E Q Q N K E A N N R A E K S E E E V H H L Q K R M Q Q L E N D L D Q V Q E S L L K A N I Q L V E K K D K A L S N

1  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R 160
2  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
3  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
4  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
5  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
6  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
7  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
8  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
9  A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
10 A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R
11 A E G E V A A L N R R I Q L L E E D L E R S E E R L N T A T T K L A E A S Q A A D E S E R M R K V L E N R S L S D E E R M D A L E N Q L K E A R F L A E E A D R

1  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E 240
2  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
3  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
4  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
5  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
6  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
7  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
8  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
9  K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
10 K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E
11 K Y D E V A R K K L A M V E A D L E R A E E R A E T G E S K I V E L E E L R V V G N H L K S L E V S E E K A N Q R E Z A Y K E Q I K T L T N K L K A A E A R A E

1  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y 284
2  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
3  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
4  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
5  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
6  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
7  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
8  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
9  F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
10 F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K E K Y K S I T D E L D Q T F S E L S G Y
11 F A E R S V Q K L Q K E V D R L E D E L V N E K

```

図 4. 甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列. 1:クルマエビ, 2:ウシエビ, 3:タラバガニ fast, 4:タラバガニ slow-tonic, 5:ズワイガニ, 6:シャコ, 7:ブラウンシュリンプ, 8:アメリカンロブスターfast, 9:アメリカンロブスターslow, 10:アメリカンロブスターslow-tonic, 11:シマイシガニ.

```

1 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE 80
2 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
3 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
4 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
5 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
6 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
7 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
8 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
9 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
10 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
11 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
12 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE
13 MDAIKKKMLANKMEKEVATDKAEQTEQSLRDLDAKMKTEEDLSTLQKKYSHLENDFDNAHEQLTAANTHLEASEKRVAE

1 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR 160
2 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
3 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
4 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
5 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
6 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
7 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
8 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
9 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
10 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
11 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
12 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR
13 CESEIQGLHRRRIQLEEDLERSSEERLTSAQSKLEDAKAADESERGRKVLNRSQGDEERIDLLEKQLESAKWIAEDADR

1 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA 240
2 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
3 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
4 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
5 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
6 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
7 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
8 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
9 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
10 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
11 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
12 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA
13 KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAKIVLEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQREDSYEETIRDLTHRLKEAENRAA

1 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY 284
2 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
3 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
4 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
5 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
6 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
7 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
8 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
9 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
10 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
11 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
12 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY
13 EAERTVSKLQKEVDRIEDELLEAEKERYKISDELDDQTFAEELAGY

```

図 5. 軟体動物トロポミオシンのアミノ酸配列. 1:コウイカ, 2:アオリイカ, 3:スルメイカ, 4:アカイカ, 5:マダコ, 6:ヨーロッパイガイ, 7:ムラサキイガイ, 8:ヒオウギ, 9:ホタテガイ, 10:アズマニシキ, 11:トコブシ, 12:アカネアワビ, 13:クルマエビ.

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に関する研究
分担研究報告書

エビ摂食による即時型アレルギー症状を呈した症例に関する調査

分担研究者：海老澤元宏	国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター
研究協力者：鈴木直仁	同愛記念病院 内科
柴田瑠美子	国立病院機構 福岡病院 小児科
宇理須厚雄	藤田保健衛生大学 坂文種報徳會病院 小児科
伊藤浩明	あいち小児保健医療総合センター アレルギー科
伊藤節子	同志社女子大学 生活科学部 食物栄養科学科
粒来嵩博	国立病院機構 相模原病院 アレルギー科
富川盛光	国立病院機構 相模原病院 小児科

研究要旨

エビ摂食による即時型症状を呈した症例 99 例についてエビアレルギーの症状、特異的 IgE 抗体、他の甲殻類、軟体類、貝類についてアレルギー症状の有無、特異的 IgE 抗体の相関性について調査した。エビアレルギーの症状は約 88% が 1 時間以内に症状を呈し、皮膚症状を始め OAS 様の症状や呼吸器症状を呈する症例が多くみられた。カニアレルギーとの関連についてはカニを摂食した約 2/3 の症例においてアレルギー症状の発現が認められていた。また、特異的 IgE 抗体に関してはエビ・カニ間では相関関係が非常に強く認められた。甲殻類と同じようにトロポミオシンを持つ軟体類（イカ・タコ）や貝類について特異的 IgE 抗体は相関しているが、摂食での症状は多くて 20% 程度とカニに比べて低く、摂食しても約半数は症状が出現しなかった。食品表示を義務化する場合には、エビのみならず甲殻類（エビ・カニ・ヤドカリ含む）を表示対象とし、軟体類・貝類とは一線を画す対応が妥当と考えられた。

A. 研究目的

食物アレルギーによる健康被害予防のために、2002 年 4 月より食品衛生法が改正となり、症例数の多い 3 品目（鶏卵・乳製品・小麦）と、重篤例の多い 2 品目（ソバ・ピーナッツ）の計 5 品目について加工食品の表示が義務化され、その他 19 品目については表示が奨励化された。その後の今井らの全国モニタリング調査（2001 年度～2002 年度厚生労働科学研究）により奨励 19 品目に含まれるエビ摂食によるアナフィラキシーを含む即時型反応は鶏卵・牛乳・小麦・ソバに続いて 5 番目に多いことが報告された。エビを表示義務品目に変更する際に如何にすべきかを検討するために、今回われわれは臨床面からの検討として、エビによる食物アレルギー患者の臨床的特徴をまとめ、他の甲殻類摂食時の症状、特異的 IgE 抗体に関する交差抗原性について調査、検討した。

B. 研究方法

各研究協力施設に対して添付した A4 2 ページの質問紙を配布し、エビ摂食において確実に症状を呈した症例を抽出し、基礎アレルギー疾患、エビアレルギーに関して発症年齢・原因食品の調理加工形態・特異的 IgE 抗体価、他の甲殻類へのアレルギー反応の有無・あった場合は特異的 IgE 抗体価・症状について調査した。

（倫理面への配慮）

質問紙には氏名を記入する欄を設けたが、イニシャルで記載している回答もみられ、解析のため入力した際には全てイニシャルとし、個人が同定できないよう配慮した。

C. 研究結果

今回の調査ではエビアレルギー確実例として全部で 99 症例のデータが集積できた。その患者背景について、図 1 に示すように性別は男性 44 例、女性 55 例で年齢分布は 1～6 歳 29 例、7～19 歳 22 例、20～39 歳 29 例、40 歳以上 19 例で、平

均 19.5 ± 2.4 歳 (mean \pm SE: 以下全て同様に表示) であった。図 2 に示すように基礎疾患としてエビ以外の食物アレルギーを持つ症例が最も多く (75 例)、次いでアトピー性皮膚炎 (47 例)、気管支喘息 (43 例)、アレルギー性鼻炎 (27 例) と続いていた。エビによる食物アレルギー以外に全くアレルギー性疾患を持たない人が 1 例いた。また、基礎疾患に気管支喘息を有する症例では成人が 65% を占めており、逆にアトピー性皮膚炎では小児が 78% を占めていた。Total IgE 抗体の平均は 1791 ± 437 IU/ml と高く、平均好酸球数も 505 ± 398 / μ l と好酸球増多を認めた。エビ特異的 IgE 抗体価 (CAP-system) (以下特異的 IgE 抗体価は全て CAP-system のみ記載する) の平均値は 10.6 ± 1.9 Ua/ml であった。

エビ摂食による症状について、発症年齢は図 3 で示すように幼児期 (38 例) が最も多く、成人期 (26 例)、学童期 (21 例)、乳児 (8 例) の順であった。対象は小児と成人ほぼ半数であったが、発症年齢に関しては小児期が全体の 67.7% (67/99) を占め、成人発症の中でも 20 歳代が半数を占めていた。したがって、エビによる食物アレルギーは若年発症が大多数を占めていると考えられた。図 4 に示すように症状出現までの時間は 10 分以内 (57 例) が最も多く、1 時間以内 (30 例)、1 時間以上 (8 例) で、1 時間以内に症状を呈する症例は全体の 87.9% (87/99) に達していた。食したエビの形態は生 (49 例) が約半数を占め加熱 (43 例)・加工品 (4 例) でも症状が出ていた (図 5)。症状としては (図 6-1, 6-2) 皮膚症状を呈する症例が最も多く、何らかの皮膚症状を呈する症例はのべ 75 例 (75.8%) にみられた。次に口腔アレルギー症候群 (OAS) 様症状を呈する症例は 49 例 (49.5%)、呼吸器症状 32 例 (32.3%)、腹部症状 17 例 (17.2%) となっていた。皮膚症状の中でも蕁麻疹 (57 例) が最も多く、ついで皮膚の紅潮 (26 例)、そう痒感 (18 例) がみられた。次に多い OAS 様症状では口腔違和感 (33 例)、咽頭違和感 (23 例)、口唇の腫脹 (16 例) であった。呼吸器症状では、呼吸困難 (18 例)、喘鳴 (16 例) と続いた。2 臓器以上の症状を呈したアナフィラキシー症例は 61 例 (61.6%) にのぼり、中にはアナフィラキシーショックも 2 例 (2.0%) みられた。

エビ摂食でアレルギー症状を呈し、カニを摂食してアレルギー症状を呈する例 (図 7) は生・加

熱・加工品を含めて 44 例あり、摂食した中で症状の出た症例の割合は 64.7% であった。以下同様にシャコ (図 8) では 3 例 (21.4%)、オキアミ (図 9) では 4 例 (26.7%)、その他の甲殻類 (図 10) では 1 例 (25.0%)、かっぱえびせん (図 11) では 8 例 (16.3%)、その他のエビ煎餅 (図 11) で 10 例 (22.7%)、カニ風味材 (図 11) で 2 例 (6.3%)、カニエキス (図 11) で 7 例 (21.2%)、イカ (図 12) では 11 例 (17.5%)、タコ (図 13) では 13 例 (20.3%)、ホタテ (図 14) で 9 例 (19.6%)、アワビ (図 15) で 2 例 (9.5%)、その他の貝類 (図 16) で 11 例 (42.3%)、であった。逆に摂食しても症状の出なかった症例はカニから順に 24 例 (35.3%)、シャコで 11 例 (78.6%)、オキアミで 11 例 (73.3%)、その他の甲殻類で 3 例 (75.0%)、かっぱえびせんで 41 例 (83.7%)、その他のエビ煎餅で 34 例 (77.3%)、カニエキスで 26 例 (78.8%)、カニ風味材で 30 例 (93.7%)、イカで 52 例 (82.5%)、タコで 52 例 (79.7%)、ホタテで 37 例 (80.4%)、アワビで 19 例 (90.5%)、その他の貝類で 15 例 (47.7%) 認められた。

甲殻類・軟体類の主要抗原はトロポミオシンであるがそれらの相同性は既に知られている。今回測定し得たカニ、イカ、タコの特異的 IgE 抗体値とエビの特異的 IgE 抗体値との相関について検討した。エビとカニでは回帰直線の傾きは 0.845 で相関係数は $0.969, p < 0.0001$ と強い有意な相関を示した (図 17)。以下同様にイカ (図 18) では $0.858, 0.761, p < 0.0001$ 、タコ (図 19) では $0.536, 0.728, p = 0.0002$ と有意な相関を示した。

D. 考察

エビ摂食によるアレルギー症状は皮膚症状が最も多く (75.8%)、OAS 様症状 (49.5%) や呼吸器症状 (32.3%) も多くみられた。また症状の発現時間が 10 分以内で全体の 58% を占め、1 時間以内と併せると 87.9% と即時型反応がほとんどであり、2 臓器以上の症状を呈したアナフィラキシー症例は 61 例 (61.6%) にのぼり、中にはアナフィラキシーショックも 2 例 (2.0%) みられた。したがって、エビは即時型の食物アレルギー反応を起こし、さらにはアナフィラキシーを引き起こす危険性高い食品と考えられた。

他の甲殻類との関連については生物学的分類からするとエビはカニ・ヤドカリ類とは非常に近く、抗原となるトロポミオシンのタンパクの構造