

はほぼ同一であり、区別するのは困難である。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でない症例は35.3%と低かった。また、オキアミやシャ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ャ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る。以上より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、タコは図12、図13で示すように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抗体が認識するエビトープの問題で、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。

#### E. 結論

エビアレルギーの患者の多くは、1時間以内に症状を引き起こす即時型反応を起こしやすく、症状も2臓器以上に症状を発現するアナフィラキシーを呈する症例が多い。また、カニにも反応を示しており、トロポミオシンの相同性からも共通抗原性を示すため、今後エビの表示義務化にあたっては、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ことが妥当ではないかと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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アンケート

ID:

名前:

生年月日:M・T・S・H 年 月 日

性別: 男 ・ 女

職業:水産業・水産加工品業・飲食店

その他( )

該当するものに○印を付けるか、あるいはご記入下さい。

1. 基礎疾患

気管支喘息・アトピー性皮膚炎・アレルギー性鼻炎・アレルギー性結膜炎・蕁麻疹

食物アレルギー(原因食物: )

その他( )

Total IgE(RIST)( IU/ml)、好酸球数( / $\mu$ l: %)

2. エビアレルギー発症年齢

乳児期・幼児期・学童期・成人期( )歳頃

3. 症状発現までの時間

10分以内・1時間以内・1時間以上

4. エビアレルギーの症状(当てはまるものに○印を付けて下さい。複数回答可)

また摂食したエビの状態について○を付けて下さい

:生・加熱品(蒸しエビ、エビフライ、エビ天ぷら含む)・加工品

皮膚症状:蕁麻疹・痒疹・発赤・湿疹・灼熱感

循環器症状:心悸亢進・胸内苦悶・血圧低下・チアノーゼ

消化器症状:腹痛・悪心・嘔吐・下痢・血便

呼吸器症状:鼻汁・くしゃみ・鼻閉・咽頭違和感・咳嗽・喘鳴・呼吸困難

胸部圧迫感

眼症状:結膜充血・眼瞼浮腫・流涙

口腔アレルギー候群症状:口唇の浮腫・口腔内違和感

神経症状:頭痛・耳鳴・めまい・意識消失・けいれん

アナフィラキシーショック

その他( )

アンケート用紙①

5. エビアレルギーの診断

CAP-RAST( UA/ml:class )

RAST 法以外(MSAT・AlaSTAT・その他: )

皮膚テスト・負荷テスト

6. その他のアレルギー特異的 IgE(CAP-RAST のみ 測定値:class を記入下さい)

カニ( UA/ml:class )・イカ( UA/ml:class )タコ( UA/ml:class )・ダ

ニ( UA/ml:class )ゴキブリ( UA/ml:class )

7. エビ以外の甲殻類、軟体類、貝類摂食による反応

- カニ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
シヤコ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
オキアミ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
イカ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
タコ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
ホタテ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
アワビ： 生 :未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
その他の甲殻類:生:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
( )加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
その他の貝類： 生:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
( )加熱・加工品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )

8. その他のエビ・カニ製品の摂食

- かっぱえびせん:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
その他のエビ煎餅:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
カニエキス入り製品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
カニ風味材入り製品:未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )  
その他( ):未摂食・摂食したが問題なし・症状あり( )

アンケート用紙②



図4)エビアレルギーの  
症状出現までの時間

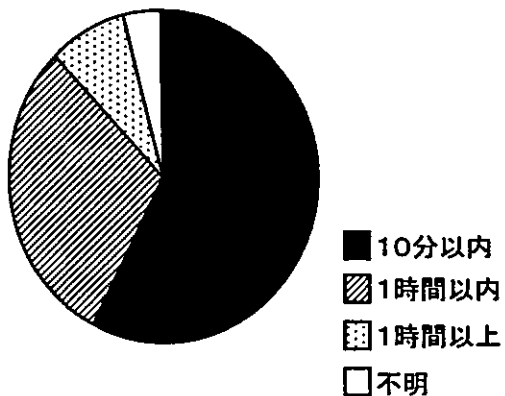


図5)エビアレルギーの  
エビ摂取時の形態

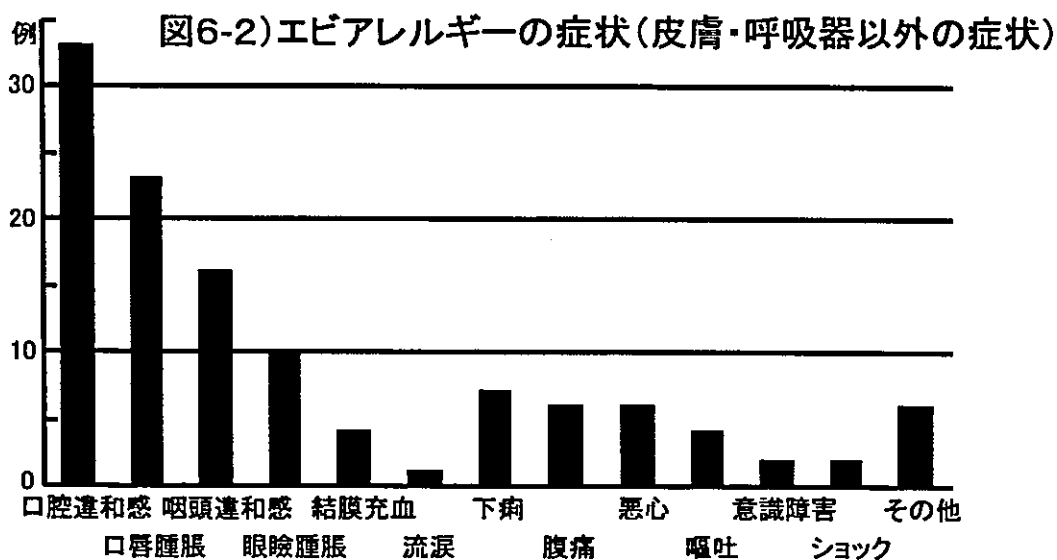
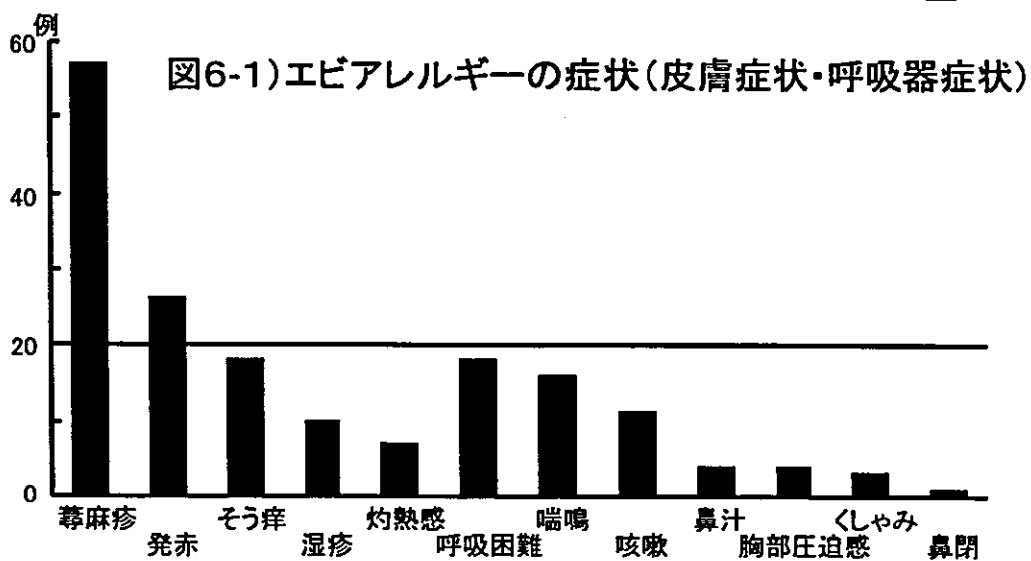
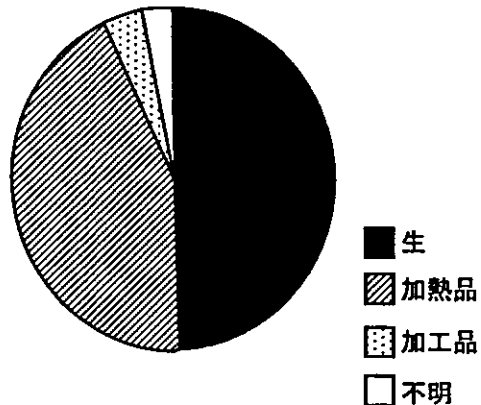


図7) カニで症状を呈した症例

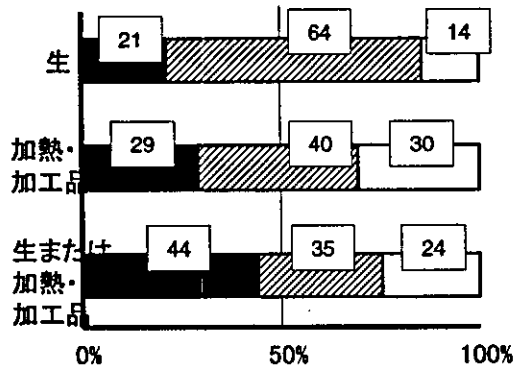


図8) シャコで症状を呈した症例

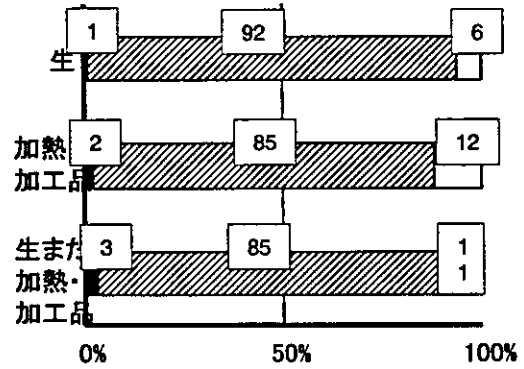


図9) オキアミで症状を呈した症例

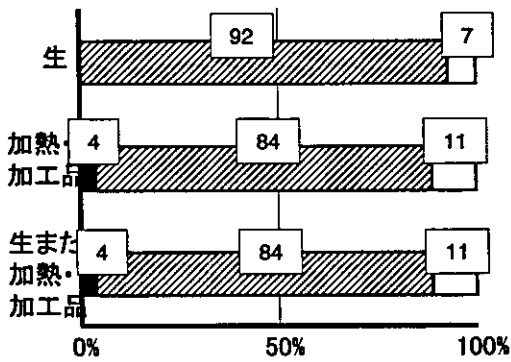


図10) その他の甲殻類で症状を呈した症例

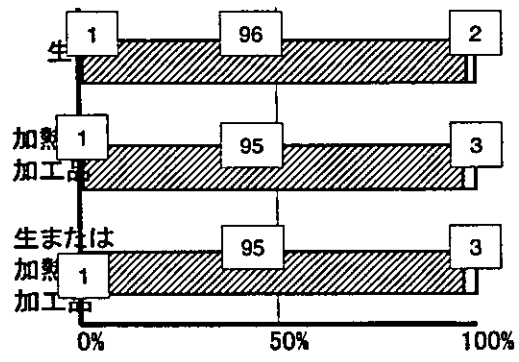


図11) かつぱえびせん・その他のエビ煎餅・カニエキス・カニ風味剤で症状を呈した症例

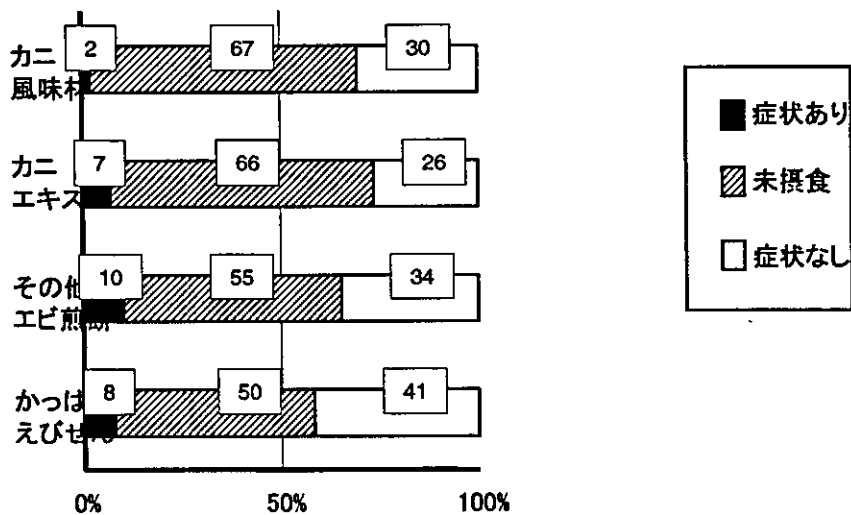


図12)イカで症状を呈した症例

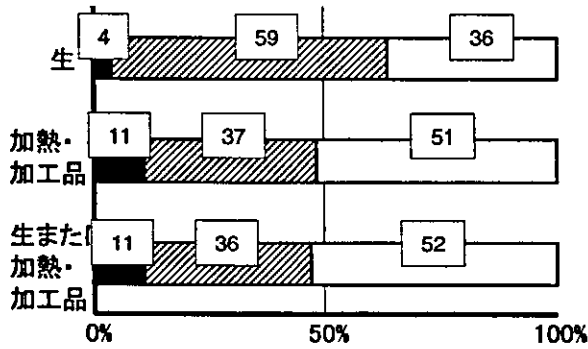


図13)タコで症状を呈した症例

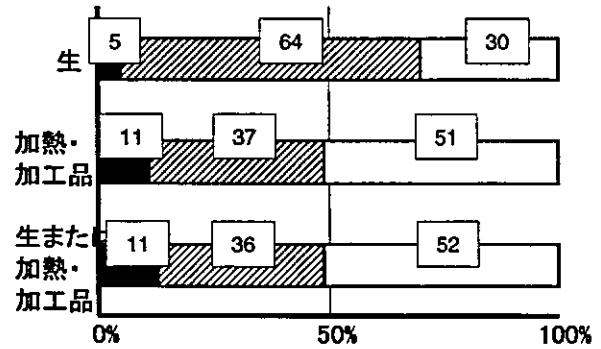


図14)ホタテで症状を呈した症例

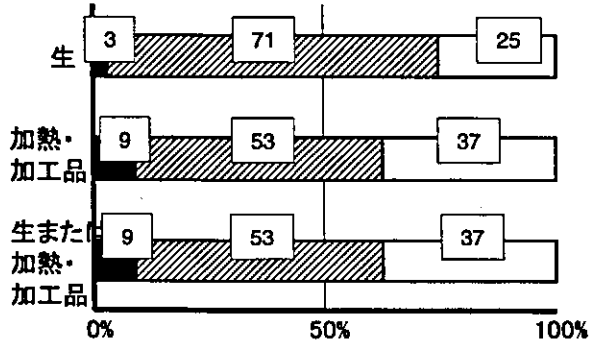


図15)アワビで症状を呈した症例

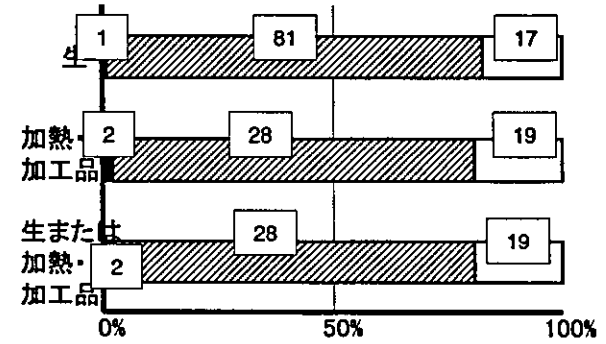
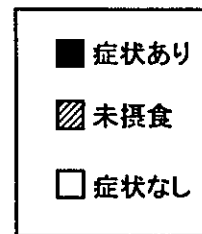
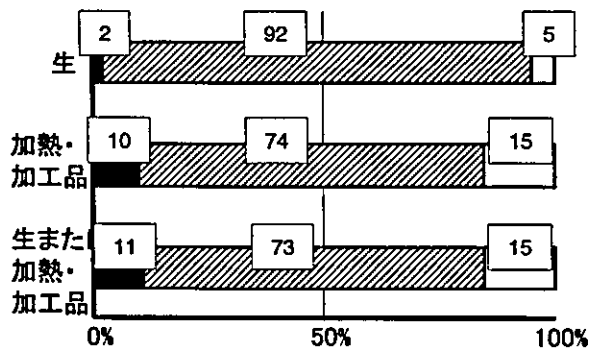
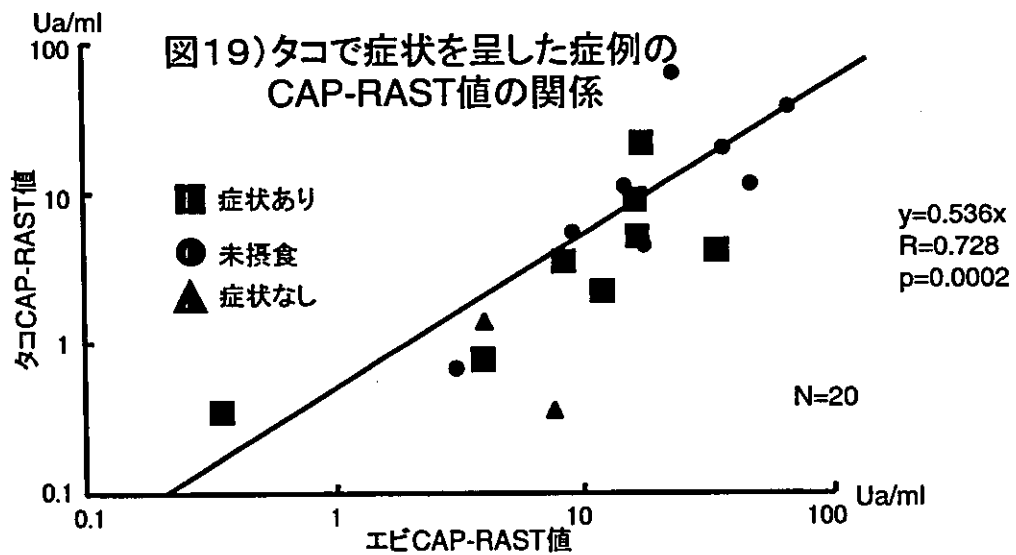
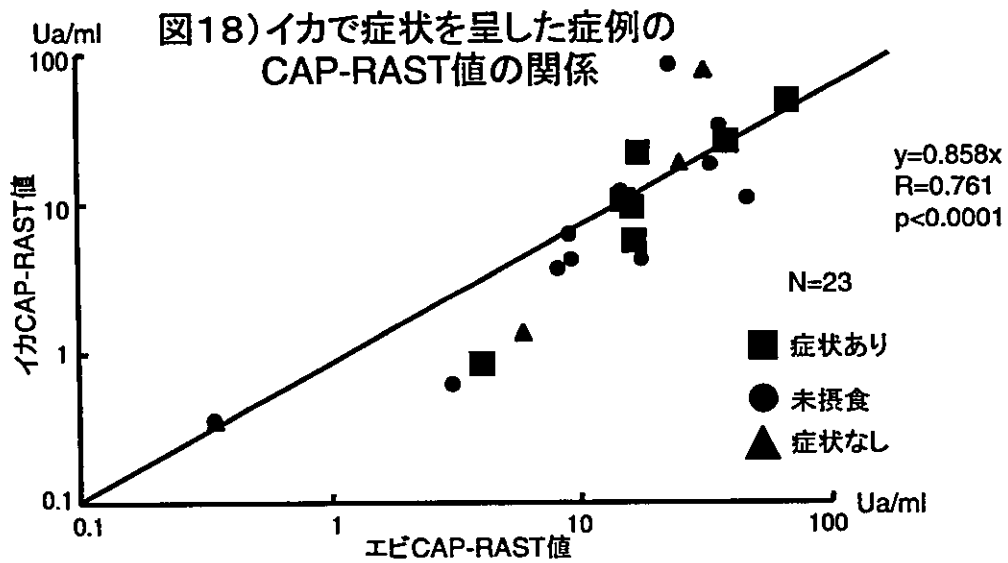
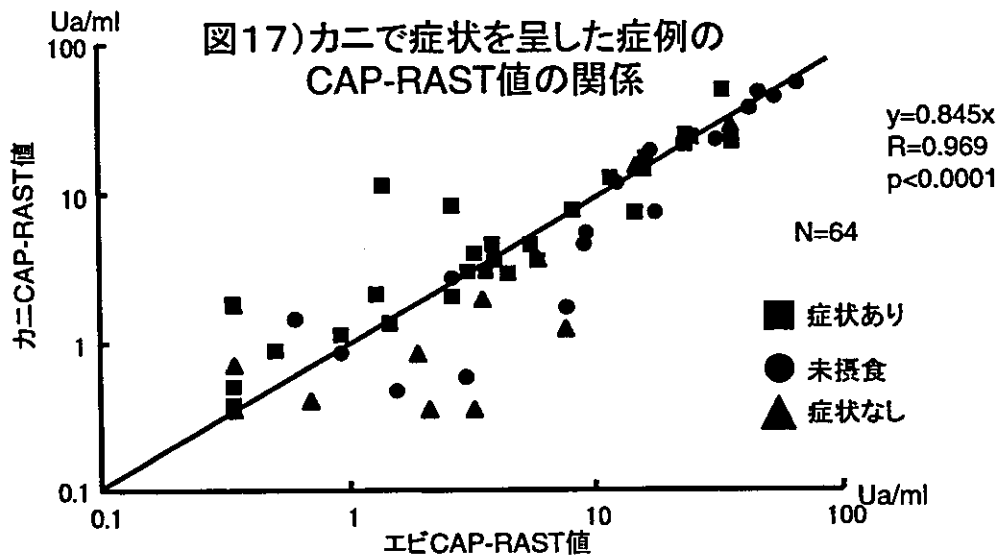


図16)その他の貝類で症状を呈した症例







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

えび・かに表示実現可能性評価研究

分担研究者 仲野照男 財団法人食品産業センター

研究要旨

健康被害防止のための表示制度ではあるが、実際にどのような食品に使われ、どのような形で存在し、現在どのような名称で流通しているのかなど、現状を把握しなければ、食品製造者等にその表示を義務づけるにあたり困難を来す可能性がある。えび、かniを使用した加工食品について現在表示がどのように行われているのか現状を把握し、加工食品内にどのように含まれているかについて踏み込んで研究を行う。

A.研究目的

えび・かにの学問的分類はかなり複雑で、アレルギーの強さもその種により異なる。

本研究は食品産業界において、えび・かにを使用している実態を調査し、使用した場合の表示可能性を評価することを目的とする。

B.研究方法

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。

(アンケートは別紙)

C.研究結果

回収団体数は約11(調査20、回収企業数 67社であった。

1. 使用実態

商品数 511

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

2. 表示

i)「エビ、カニ、エキス」が多い。

ii) 種類名もある。

iii) (原材料の一部にかに・えびを含む)

3. 現特定原材料の調査状況

i) 多くは、規格書、証明書、アレルギー調査書等で確認している。

ii) 原料と製品のアレルゲンを検査する。

iii) 原料により、立ち入り検査・コンタミ管理状況調査を実施。

iv) キャリーオーバー、加工助剤も調査。

v) 原材料表示はQ&Aで判断。

4. エビ・カニの遡及の可能性、その他問題点

①遡及

(一般的)

i) 現特定原料と同じレベルで基本的に可能。

ii) 水産原料は輸入が多いが、輸入者に保証してもらうのは困難。

iii) エビ・カニの種類まで特定できない場合がある。

iv) エビ・カニの種類、分類、アレルギー対象を明確にしてほしい。

(コンタミ、意図せぬ混入)

i) 水産原料(すり身でも)はコンタミ(意図せぬ混入)多く仕分け難。割合も不定。現特定原材料5品よりコンタミの可能性大。防止難。

ii) 混獲問題が多い例としては、ちりめん、煮干、しらす等がある。また小エビ、小ガニは海藻、貝、魚に付着して混入の可能性高い。

iii) 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、等あり、これらの扱いを確定して欲しい。

iv) エビ・カニを食した魚も対象となるか。

②検査

i) アレルゲン検査(公定法)は可能か(オキアミ、シヤコは疑陽性でないか)

ii) 現場で管理するため現特定原材料のような検査キットが必要。

③表示

i) 表示・印刷の準備に一定期間必要。

ii) エビ・カニの種類までの表示はスペース的にも難。

iii)エビ・カニ類は分類難。「甲殻類」のように一括表示できぬか。

iv)甲殻類では該当するものが多すぎイメージも悪くなる。消費者の疑問も起きる。

v)「魚介類」(無分別の場合)と表示しているものがあるが、これも特定原料扱いになるのか。

#### ④その他

i)コンタミ防止の為に生産効率の低下が予想される。

ii)エビ・カニ混入の確認に多大な労力を要す。

iii)油は魚油と植物油を混ぜて精製するのでコンタミが起きる。

#### D.考察

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、コンタミ、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、キットサン、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ャコ、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。

#### E.結論

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や疑問点が列挙された。さらに、次のような要望があった。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～中程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。

#### F.健康危険情報

特になし

#### G.研究発表

特になし

##### 1.論文発表

特になし

##### 2.学会発表

特になし

#### H.知的財産権の出願・登録状況

特になし

平成16年12月 日

各団体 御中

財団法人食品産業センター

理事長 岩崎 充利

アレルギー物質(エビ・カニ等)の表示に関する調査について

日頃から財団法人食品産業センターの業務につきましてはご指導とご理解をいただいております。厚くお礼申し上げます。

さて、既にご存知の通り、表題のアレルギー物質の表示につきましては、平成13年3月に通知され、現在に至っております。

その間、厚生労働省と農林水産省の「食品の表示に関する共同会議」において、アレルギー物質を含む食品に関する表示についても検討が行われ、平成16年7月23日付け検討報告書によると「現在表示が推奨されている品目である「エビ」について、詳細な技術的検討を開始する必要がある」との結論が得られております。

これを受け、本年9月に、エビ、カニ等に関し、特別厚生労働科学研究事業「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」(食物アレルギー研究班)が発足致しました。

つきましては、当研究班の研究課題の一つであるアレルギー物質の表示方法に関し、食品企業においては、現在エビ、カニ等の表示についてどのように対応しているか等を調査致したいと考えております。

貴団体におかれましては、添付のアンケート用紙を傘下の該当する主な企業に配布・回収し、平成17年1月14日までに下記宛てFAXにてご回答戴きたく、お願い申し上げます。

なお、配合割合、社名等をご記入願うわけですが、当方といたしましては、守秘事項としてお取扱いたしますので、お含み置き下さい。

以上

別添書類 アレルギー物質を含む食品に関する表示について検討報告書

1部

ご意見記入用紙 2枚

(ご回答期限 1月14日 )

問合わせ及びご回答FAX宛先 TEL

技術開発部長 高野 靖 03-3224-2374

次長 仲野 照男 03-3224-2376

FAX 03-3224-2398

## ご回答用紙

貴団体名                      ご担当者名                      FAX

貴社名                          ご担当者名                      TEL

調査及びご意見記入用紙（ご回答期限 1月14日 ）用紙が不足の場合コピーしてお使い下さい。

### 1. 貴社におけるエビ・カニ等の現在の使用状況と表示について、ご記入下さい

製品名	エビ・カニ等の種類	配合割合(%)	表示
(記入例)カニ餃子	たかあしがに、ずわいがに	12%、0.5%	カニ、カニエキス

2. 現特定原材料(5品)についてキャリーオーバー、加工助剤、高度加工品の原料について、それぞれ遡及(トレイサビリティ)の実施状況をご記入下さい。

3. エビ・カニ等が特定原材料になった場合、原料の遡及が可能であるかご記入下さい。

4. エビ・カニ等が特定原材料になった場合の問題点、ご意見・ご要望等があればご記入下さい。

例1:オキアミ、しゃこ等の分類が難しいので、アレルギーの強弱を無視し包括的に甲殻等と表示。

例2:意図せぬ混入はどうか。

宛先      (財)食品産業センター 技術開発部 仲野 照男      FAX 3224-2398

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

食品中のアレルギー物質検知法開発研究  
分担研究者 穂山浩（国立医薬品食品衛生研究所食品部）

研究要旨：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構築できるものと考えられた。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検知 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クエ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。以上から、エビとカニを区別しない抗TM抗体を用いた検知法は早期に確立されることが予想されたが、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。

協力研究者

織田浩司、清水興介(マルハ株式会社中央研究所)  
吉岡靖雄、渡邊敬浩、米谷民雄(国立医薬品食品衛生研究所食品部)

A. 研究目的

食品中に含まれるアレルギー物質について、アレルギー表示の適正化の観点から、ELISA法、その他特定の蛋白質や核酸成分について定性、定量的に検証できる科学的検知法を開発する。本特別研究では、エビ・カニに関して早期の検知法開発にむけて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。

B. 研究方法

各種TMの精製

ブラックタイガー、タラバガニ、マガキ、ホタテガイ、スルメイカ筋肉を材料としてトロポミオシン(TM)の精製を行った。

各動物の筋肉からTMを含む画分を1M KCl存在下

で抽出し、硫酸分別(30-60%)、等電点沈殿、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー(Superdex 200pg)、逆相カラムクロマトグラフィー(Wakosil-II C18)によってTMの精製を行った。

ポリクローナル抗体の作製

ブラックタイガー由来精製TMおよび同じ *Penaeus* 属のブラウンシュリンプTMアミノ酸配列を基に合成したペプチド6種類の計7種類を抗原としてウサギに免疫し、抗血清を得た。

ポリクローナル抗体の特異性の検討

・ELISA法による検討

得られた抗血清の特異性を、ブラックタイガー、タラバガニ、マガキ、ホタテガイ、スルメイカ由来精製TMを固相化したDirect-ELISA法にて検討した。

また、交差反応性の低減を検討するため、ブラックタイガー由来精製TMに対する抗血清(抗TM抗体)に対して、マガキおよびホタテガイ由来精製TMをモル比1:200となるように混合し吸収操作を行った。得られた

吸収抗体について各種精製 TM に対する反応性を Direct-ELISA 法にて検討した。

#### ・ウエスタンブロット分析による検討

ブラックタイガー、アマエビ(Northern shrimp)、ガザミ(Swimming crab)、タラバガニ(King crab)、マガキ(Oyster)、ホタテガイ(Scallop)、スルメイカ(Common squid)、ミズダコ(Giant octopus)の筋組織抽出液を調製して、それぞれタンパク質量を一定にして SDS-PAGE に供し、ウエスタンブロット分析を行った。抗 TM 抗体については、マガキおよびホタテガイ由来精製 TM を用いて吸収抗体を作製し、吸収前後の反応性の変化について検討した。

#### PCR 検知法の検討

エビのトロポミオシン cDNA 配列より、エビを特異的に検知する検知プライマー対を設計し、甲殻類および軟体類 DNA を用いて特異性を確認した。

PCR 反応液組成は、1xPCR 緩衝液、0.20mM dNTP、1.5mM 塩化マグネシウム、0.2 μM 5' 及び 3' プライマー、及び 0.625units TaqDNA ポリメラーゼを含む液に、20ng/μL に調製した DNA 試料液 2.5 μL (DNA として 50ng) を加え、全量を 25 μL とした。PCR 反応条件は、95°C に 10 分間保ち反応を開始させた後、95°C 0.5 分間、55°C 0.5 分間、72°C 0.5 分間を 1 サイクルとして 40 サイクルの PCR 増幅を行い、終了反応として 72°C で 7 分間保った。

始めに、甲殻類・軟体類 DNA 検出用プライマー対 (s-actin1) を用いた PCR 増幅を行い、PCR 増幅に必要とされる品質を備えた DNA が抽出されていることの確認を行った。次いで、エビ・カニ検出用プライマー対を用いた PCR 増幅を行った。

#### 甲殻類検体、軟体類検体

甲殻類および軟体類検体それぞれ、エビ 8 種カニ 2 種、イカ、タコ 2 種、カイ 4 種について現行のアレルギー検査法(平成14年11月16日食発第1106001号通知)で規定されているイオン交換膜法(Genomic tip)により DNA 抽出を行った。

各検体の筋組織を粉砕した調製試料 2g に対して G2 緩衝液 7.5mL を加えてボルテックスミキサーで激しく混合した後、さらに G2 緩衝液 7.5mL、並びに α-アミラーゼ(1mg/mL) 200 μL を加え再びボルテックスミキサーで混合した。混合処理後、37°C で 1 時間加温した。次いで、ProteinaseK 100 μL ならびに RNaseA 20 μL

を加えボルテックスミキサーで混合した後、50°C で 2 時間加温した。加温処理後、低温下(4°C)、3,000xg 以上の条件で 15 分間遠心し、得られた上清をポリプロピレン製遠沈管(15mL 容)に移した後、溶液中に浮遊する残存物を除くためさらに軽く遠心した。遠心操作終了後の上清を、QBT 緩衝液 1mL を用いて平衡化しておいた QIAGEN Genomic-Tip20/G に 2mL ずつ数回に分けて負荷し、全量の負荷操作を終了した後、tip に QC 緩衝液 2mL を負荷し、洗浄した。同様の洗浄操作を合計 3 回繰り返した後、tip を新しいポリプロピレン製遠沈管(15mL 容)に移し変え、予め 50°C に温めておいた QF 緩衝液 1mL を加え DNA を溶出した。同 tip に対し、もう 1 度同様の溶出操作を行い、得られた計 2mL の溶出液に対して 0.7 倍量のイソプロピルアルコールを加えよく混合し、低温下(4°C)、10,000xg 以上の条件で 15 分間遠心し、DNA の沈殿を得た。沈殿に 70%エタノール 1mL を加え、低温下(4°C)、10,000xg 以上の条件で 5 分間遠心し洗浄した。アスピレーターを用いて 5 分間程度の真空乾燥処理を行い、水 100 μL を加え、65°C、5 分間の条件での加温処理、ならびにピペッティングにより DNA を溶解させ、DNA 試料原液とした。

#### C. 研究結果

##### 各種 TM の精製

ブラックタイガー TM の各精製ステップ、タラバガニ、マガキ、ホタテガイ、スルメイカ精製 TM の SDS-PAGE 像を図 1 に示す。一連の操作によって、いずれの TM も電気泳動的に 90%以上の純度まで純化されることが明らかとなった。

##### Direct-ELISA 法による特異性の検討

はじめに、得られた抗血清 7 種類の特異性を Direct-ELISA 法にて検討した。

抗 TM 抗体は、ブラックタイガーおよびタラバガニ由来精製 TM に対してほぼ同程度の強い反応性を示した(図 2A)。スルメイカおよびマガキ由来精製 TM に対しては、ブラックタイガーやタラバガニ TM に比べると弱いものかなりの反応性を認めた。また、ホタテガイ由来精製 TM に対しては、5 種類の中で最も弱いものの、やはり明らかな交差反応性を認めた。

抗 TM 抗体をマガキおよびホタテガイ由来精製 TM で吸収した結果、スルメイカを含む全ての軟体動物由来 TM に対する交差反応性が著しく減弱した(図 2B)。一方、ブラックタイガーおよびタラバガニ由来精製 TM

に対する反応性はほとんど低下しなかった。

合成ペプチドに対する抗血清(抗ペプチド抗体)の内、P1 および P6 はブラックタイガーおよびタラバガニ TM に同程度の強い反応性を示したが、スルメイカ、ホタテガイ、マガキ TM にはほとんど反応性を示さず、甲殻類 TM 特異的な抗体であることが示唆された(図 3A、D)。

P2 も甲殻類 TM に強い反応性を示し、軟体動物 TM には反応性を示さなかったが、ブラックタイガーとタラバガニの反応性には若干の差を認めた(図 3B)。

P5、P7、P8 は甲殻類 TM に比べると弱いものの、各種軟体動物 TM に明らかな交差反応性を示した(図 3C、E、F)。

#### ウエスタンブロット分析による特異性の検討

抗 TM 抗体ブラックタイガー、アマエビ、ガザミ、タラバガニといった甲殻類 TM に非常に高い反応性を示した。さらに、スルメイカ、ミズダコといった頭足類にも中程度の反応性を示し、マガキ、ホタテガイといった貝類にも弱いながら反応性を認めた(図 4A)。抗 TM 抗体をマガキおよびホタテガイ TM で吸収した結果、甲殻類 TM に対する高い反応性を保持したまま、軟体動物 TM に対する交差反応性が著しく減弱した(図 4B)。

抗ペプチド抗体 P5 は甲殻類 TM のみならず各種軟体動物 TM にも反応性を示した(図 4C)。

一方、抗ペプチド抗体 P6 は甲殻類 TM に対して非常に高い反応性を示したが、軟体動物 TM には反応性を認めなかった(図 4D)。

#### PCR 検知法の検討

作成した 6 種類のプライマー対を用いて、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プライマー対が得られた。得られた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 種類の検体間で断片長がそれぞれ異なった。これら検体のうち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。

#### **D. 考察**

エビ・カニの TM を特異的に検出可能なポリクローナル抗体を調製するために、各種精製 TM を用いた Direct-ELISA 法および各種筋組織抽出液を用いたウエスタンブロット分析により抗体の特異性を検討した。

抗 TM 抗体は軟体動物由来精製 TM に対してかなりの交差反応性を示すものの、マガキおよびホタテガイ

由来精製 TM を用いて吸収抗体を作製することにより交差反応性が著しく減弱することが、Direct-ELISA 法およびウエスタンブロット分析のいずれの方法によっても確認された(図 2、4)。

抗ペプチド抗体の特異性を Direct-ELISA 法で確認したところ、P1 および P6 が甲殻類に対して高い特異性を示すことが明らかとなり(図 3)、P6 の特異性はウエスタンブロット分析でも確認された(図 4)。

今後、より多種類のサンプルに対する特異性をウエスタンブロット分析により検討する必要があるが、これまでの検討結果より、吸収抗体およびペプチド抗体を組み合わせることによって、甲殻類 TM に特異性の高い測定系を構築し、早期に検知法が確立できる可能性は高いものと考えられる。しかし、抗 TM 抗体や抗ペプチド抗体のどちらの抗体群ともエビとカニは区別することは困難であると考えられた。そのため、エビとカニを区別する必要がある場合は、さらに遺伝子レベルでの検知法開発が必要であると思われる。

#### **E. 結論**

エビ・カニの TM を特異的に検出可能な複数のポリクローナル抗体を調製した。調製された抗体はすべてマガキおよびホタテガイ由来精製 TM には交差反応性が低かった。調製された吸収抗体およびペプチド抗体を組み合わせることによって、エビとカニを区別できないが、エビとカニには特異性の高い測定系を早期に構築できる可能性は高いものと考えられる。しかし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。

#### **F. 健康危険情報**

特になし

#### **G. 研究発表**

特になし

#### **H. 知的財産権の登録**

なし



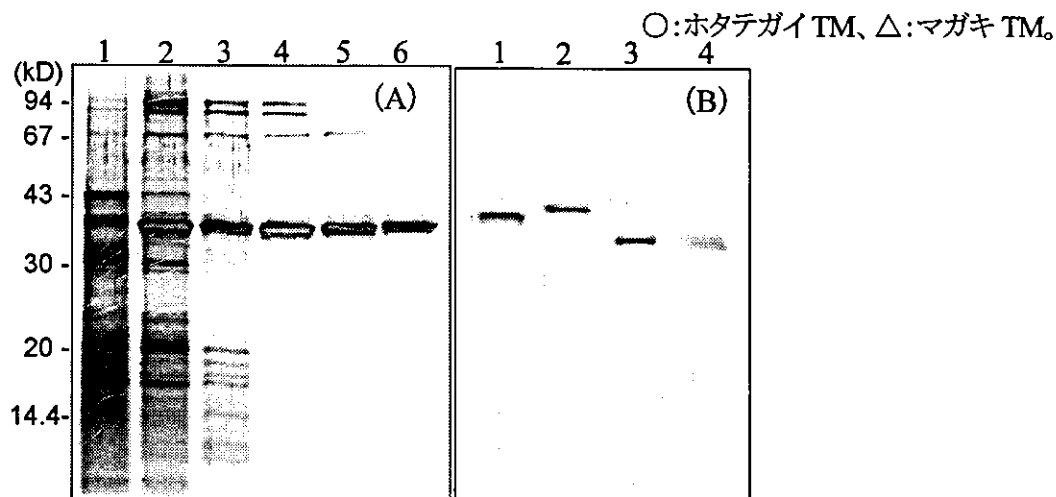


図1 各種 TM の精製

(A)ブラックタイガーTMの各精製ステップにおける SDS-PAGE パターン。レーン1:粗抽出液、2: 硫酸分別、3:等電点沈殿、4:第一回ゲル濾過クロマトグラフィー、5:第2回ゲル濾過クロマトグラフィー、6逆相クロマトグラフィー。

(B)その他の精製 TM。レーン1:タラバガニ TM、2:マガキ TM、3:ホタテガイ TM、4:スルメイカ TM。

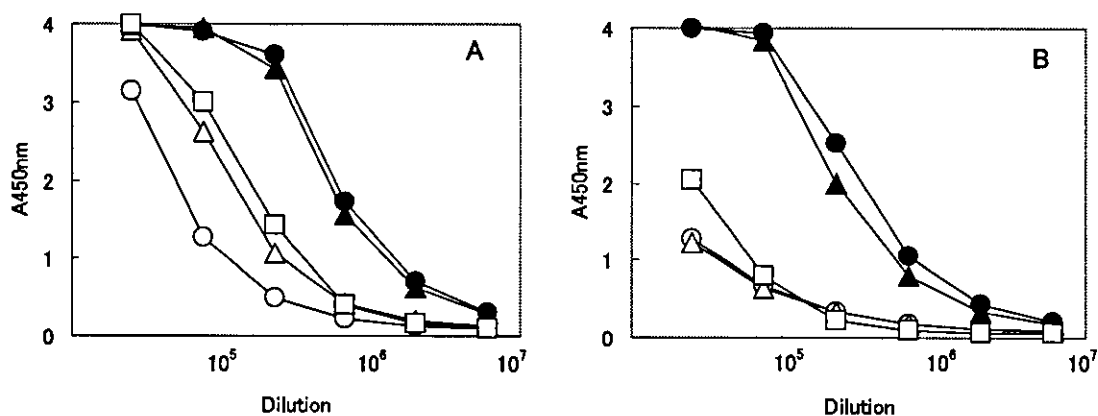
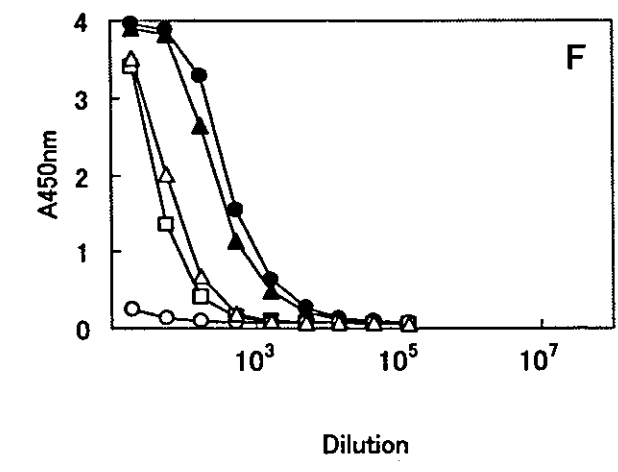
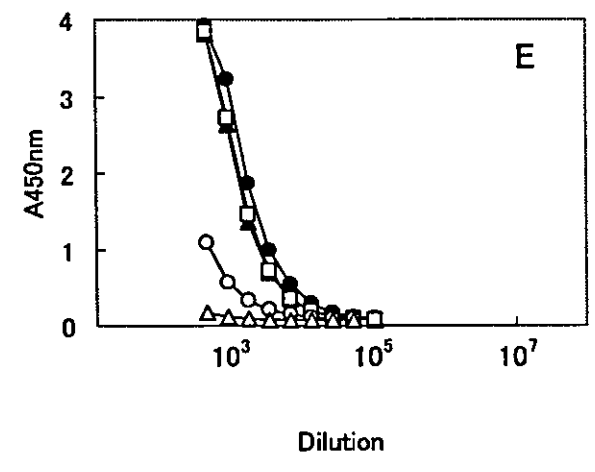
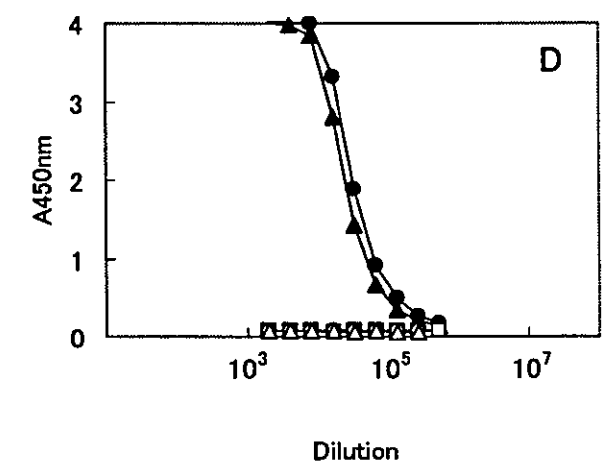
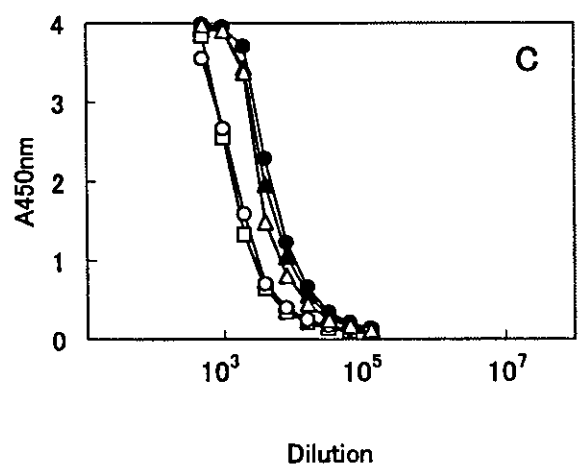
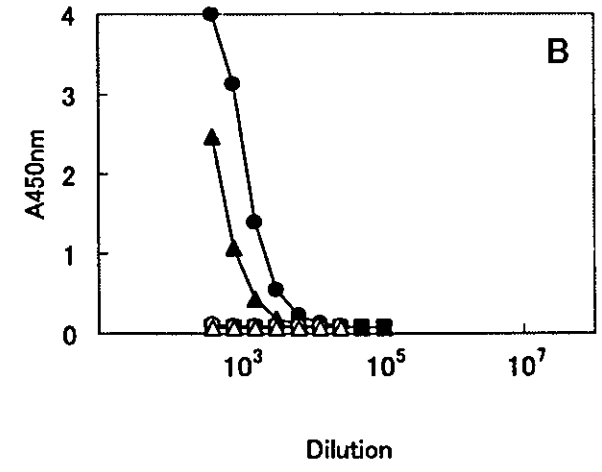
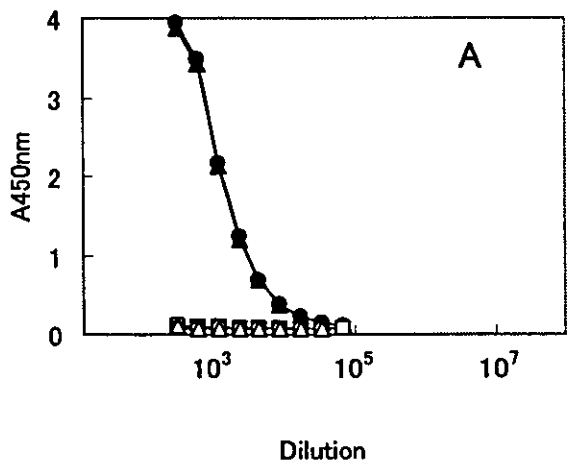


図2 抗 TM 抗体の吸収前(A)および吸収後(B)の各種 TM に対する反応性の変化。●:ブラックタイガーTM、▲:タラバガニ TM、□:スルメイカ TM、○:ホタテガイ TM、△:マガキ TM。



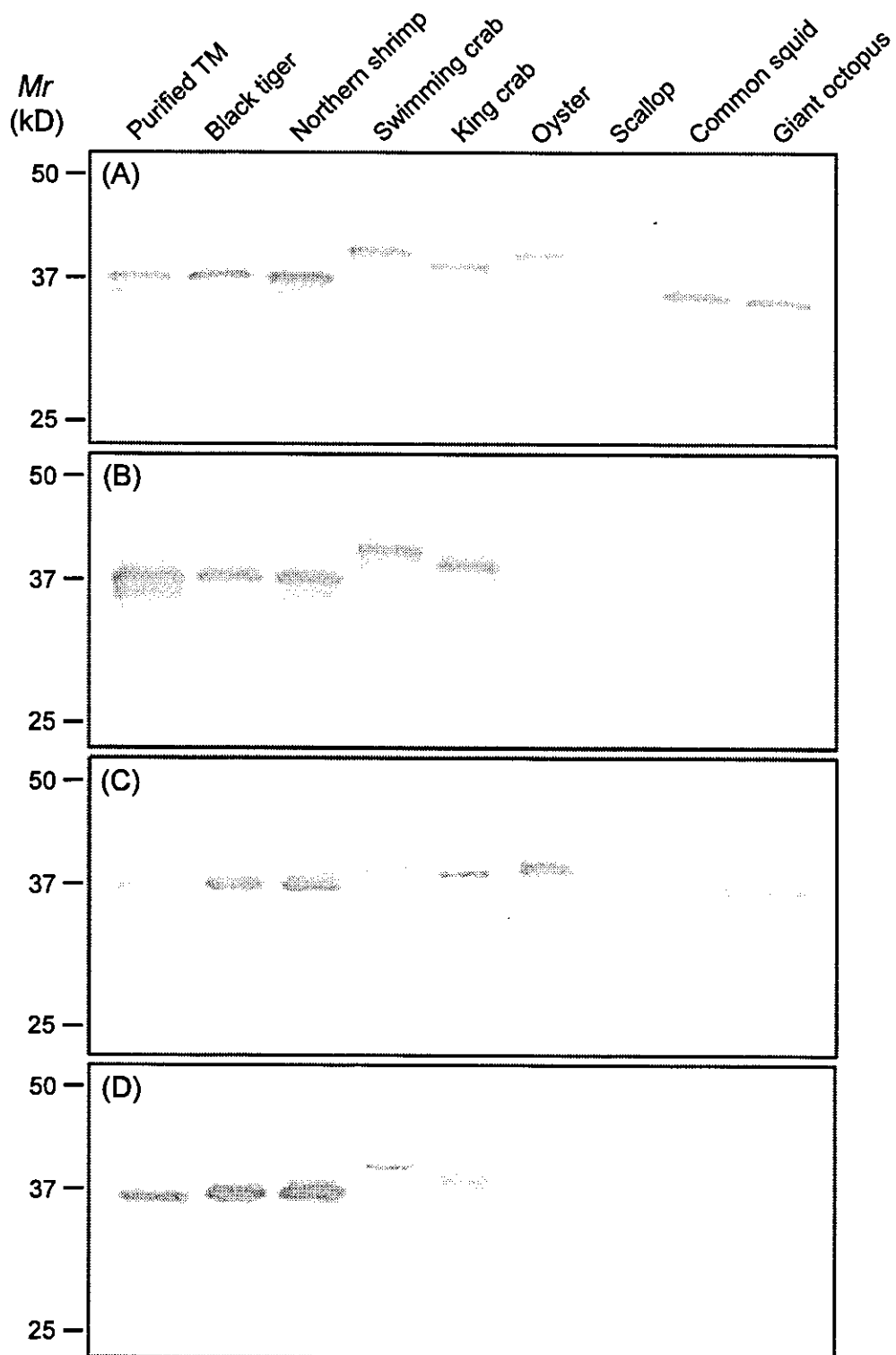


図4 各種TMに対するウエスタンブロット分析結果。A:抗TM抗体(吸収前)、B:抗TM抗体(吸収後)、C:抗ペプチド抗体(P5)、D:抗ペプチド抗体(P6)。

## 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

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

### A. はじめに

平成13年4月から、食物アレルギーによる健康被害予防のために、アレルギー物質を含む食品についての表示は食品衛生法等の改正を行い制度化された。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・落花生）の計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た。

制度導入後行われた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）によれば奨励19品目に含まれるえび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。アナフィラキシーショックのような重篤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、えびについては、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。

えびを表示義務品目に変更する際に必要な情報を得るために、平成16年度に「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」を行った。この研究で得られた成果に基づき、えびの食品表示方法に関する提言をする。

### B. 成果

本研究班では下記の研究を分担して行い、次のような成果を得た。

1) 甲殻類（特に十脚類）の分類学的研究の再検討（武田正倫）

①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ことは明らかである。

②甲殻類の中の十脚目に対してエビ類、ヤドカリ類、

カニ類という呼称が一般に使われるが、これらに対しては仮に細分化する場合でもえびとかに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、シャコ、オキアミ、アミ、フジツボは十脚目と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。

③日本標準商品分類の商品項目を大改定する必要はないが、新たに輸入される外国産の冷凍品、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。

2) エビ、カニ抗原性研究（塩見一雄）

①甲殻類由来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。

②頭足類由来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%と変異が大きいことが明らかとなった。

③甲殻類および頭足類の主要アレルゲンであるトロポミオシンは相互に抗原交差性を示す。

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）

①エビは即時型の食物アレルギー反応を起こすことが多く、アナフィラキシーを引き起こす危険性も高い食品と考えられた。

②エビアレルギー患者の64.7%はカニアレルギーを伴う。

③特異的IgE抗体に関してはエビとカニとの間で相関関係が非常に強く認められた。

④オキアミやシャコなどの甲殻類は摂食経験があるエビアレルギー患者が少なく症状出現の割合は不明である。

⑥軟体類のイカ、タコは症状の出なかった割合はそれぞれ82.5%、79.7%であった。

⑦カニ摂取で無症状の患者が35.3%であることと比べると、ホタテやアワビの摂食で症状が出なかった割合は、それぞれ80.4%、90.5%であり、高値であった。

⑧食品表示を義務化する場合には、エビのみなら