

みで口腔症状と口周囲の蕁麻疹を確認した。

既往(アウトグロー)1例は、平成14年4月にアナフィラキシーがあり、IgE 21.6 UA/mlであった。その後全く摂取歴がないが、平成14年12月に5.52 UA/ml、平成18年10月には<0.35UA/mlと陰性化した。同時期に松の実でもアナフィラキシーを経験し、松の実 IgE 12.2 UA/mlであったが、これも同時に陰性化した。現時点で負荷試験を施行していないので、臨床的なアウトグローは確認できていない。

4. ナッツ間の IgE 抗体価の相関

ナッツ相互の相関係数の一覧を表 3-3 に示す。ピーナッツ IgE 抗体価は、他の項目との高い相関は見られなかった。

カシューナッツは、ピスタチオと相関係数 0.967 で強く相関した。臨床的に交差反応を認めないアーモンド・ハシバミ・エンドウ・ブラジルナッツなどとも相関係数 0.7 以上であった。

クルミは、同じクルミ科に属するペカンナッツと相関係数 0.970 と強い相関を認めたが、その他のナッツとは全く相関を認めなかった。

アーモンドとハシバミの間に 0.930 という強い相関係数を認めた。アーモンドアレルギーの1症例はアーモンド IgE 0.4UA/ml、ハシバミは 0.34UA/ml といずれも低値であったため、抗体価の相関と臨床症状の関連は検討できなかった。

4. 食物アレルギーと自覚する主として成人の実態 -生活状況、アレルゲン、アレルギー表示に関する知識・意向-

1. 調査法について

これまで小児アレルギー学会会員のいる医療機関に来院する患者を対象とした調査、患者会入会者を対象とした調査、協力医療機関での患者調査などが行われている。Webサイトを利用した調査は、その調査の信頼性についての議論が多くなされている。それは有意抽出であることに他ならないからである。しかし、上記のいずれの調査においても日本における医療機関において確定診断を得た食物アレルギーの患者の母集団からは有意抽出と考えられる。

そのため、今回は、主として成人を対象としたインターネットを利用できる人への調査として位置づけ必要以上の分析・考察はしない。

2. 各種調査について

1) 生活状況等調査

男性 20 歳台 1 名 30 歳代 3 名からなる 1 グル

ープと、女性 20 歳台 1 名 30 歳代 4 名からなる 1 グループの合計 2 グループがグルーピングされた。

発言は女性より男性のほうが 3 日間を通じて多かった。男女ともに抽出された項目とその内容を表 4-1 に示す。

ラーメンなどの出汁によってもアレルギー症状が惹起しており、重篤な人も見られた。健康危機回避のためには、積極的に尋ねていたり、表示を見てわからない場合には避けるなどがみられた。また、男性はさまざまな意見・態度を示していた。そのなかで、「患者として声をあげたほうがよいのかもしれない」との意見が聞かれた。また「同じアレルギーの人がいることがわかり安心した」との声もあった。

2) アレルゲンと表示に関する知識

回答者は 50 歳台が最も多く 29.3%、次いで 30 歳台 24.4%、40 歳台 21.9%であった(表 4-2)。食物アレルギーであると診断を受けた者は全体の 51.1%であった。

回答を精査したところ、その他に記載されていたもののうち、特定原材料等にそれが含まれている場合があった。また、その他において加工食品そのものが記載されている場合があり、不明として分類した。全対象者のアレルゲンを表 3 に示す。最も多かったのは「さば」で 21.1%次いで「卵」20.3%「えび」15.2%「かに」13.5%であった。上位 34 品目中に特定原材料等がすべて含まれていた。

食物アレルギーとの確定診断を得られているかは不明であるが、食物アレルギーがあると自覚している者はその健康被害防止のためには食物回避を図る。アレルギー表示によって、ある程度の回避ができると思われた。また、さまざまな食品によって食物アレルギーと自覚できる症状を惹起していた。

「魚介類」との表現では「タコ」や「イカ」「エビ」について含まれるか否か正解率が 80%以下であった。またマーガリンについても同様の結果であった。オンラインディスカッションでも「魚介類」の表記に注意をしているとあった。今後この表記については注意が必要と思われた。

3) 好ましいアレルギー表示方法について

最も好ましいとされたのは、一括欄外に別途欄を設けて特定原材料等について表記をするものであった(62.7%)。次いで一括表示内に別途ア

レルギー物質として記載したもの(16.8%)、これまでの個別表記(16.6%)であった。

健康危機回避のためには表示方法の改善が望ましいと考えられた。

D. 考察

1. 甲殻類の交差抗原性の検討

エビミックスとトロポミオシンに対する IgE 抗体結合能は、ダニを除く各抗原間で相関が見られたことから、昆虫鋼、頭足鋼における交差抗原性においてもトロポミオシンが重要な要素であることが確認された。ダニに対する IgE 結合能で相関が見られなかったことからダニにおけるトロポミオシンのアレルゲン性は高くないことが考えられた。

また、今回新たに抽出した「7134 いせえび・うちわえび・ざりがに類」に属する十脚目のロブスターとイセエビに対する相関はエビミックス、トロポミオシンとも 0.85 以上の高い相関を示した。このことから、これらの抗原に対するトロポミオシンの重要性が確認された。

IgE 抗原の抑制試験で、同一抗原により IgE 結合能が抑制されたことからこれら各抗原に対する IgE 結合は特異的なものであることが証明された。

2. 魚卵と魚肉との交差抗原性の検討

RAST 及び ELISA inhibition による結果から魚卵間には強い共通抗原性が存在し、鶏卵とは共通抗原性がないと考えられた。

一方、サケ肉とイクラでは部分的に抑制されることから、両者には弱い共通抗原性が推測され、イムノブロットの結果からビテロジェニンが共通抗原性に関与するものと考えられた。ビテロジェニンは環境ホルモンにより雄や未熟な雌の肝臓でも合成されることから、環境悪化の指標として測定される。このことから、ビテロジェニンがアレルゲンと同等されることは興味深いことであると考えられた。

しかし、 β' コンポーネントに反応するイクラアナフィラキシーを生じる症例 A と B はサケを食べてもアレルギーは生じず、魚アレルギーの C ではリポビテリンに反応しているにもかかわらずサケでイクラの IgE 抑制が見られなかったことに関しては、前者に関しては、 β' コンポーネントはビテロジェニンタンパク質として存在するときは 1 価の結合能しか持たないのではないかと、リポビテリンに対する IgE は 1 価のみで、それはビテロジェニンの表層にはないのではないかと、などが推測されるが、これに関して今後も検討していく必要があると考えて

いる。さらに、イクラは初回摂取でアナフィラキシーが起こる理由についても、これらサケからの交差反応によるのか、経胎盤もしくは母乳による感作なのかについても研究が必要であると考えられる。

3. ナッツ類アレルギーの臨床的・血清学的交差反応性の検討

昨年度に引き続き、小児のナッツ類アレルギー患者を集積して検討したところ、診断確定例としてはピーナッツに次いでクルミ、カシューナッツの症例が認められた。これは、日本の小児におけるナッツアレルギーの頻度をある程度反映しているものと考えられる。

カシューナッツアレルギー症例は、これまでに摂取経験のある他のナッツにアレルギー反応はなく、IgE 抗体価も低値であった。しかし、摂取歴はないが同種に属するピスタチオには高い IgE 抗体価を認めた。全症例の検討でも、両者の抗体価は強い相関関係にあるため、この 2 種については強い交差抗原性が存在することが示唆された。

クルミアレルギーの症例も、クルミのみに反応するケースが多く、IgE 抗体価は同じクルミ科に属するペカンナッツと強い相関を認めた他は、他のナッツ類とは抗体価の相関は全く認められなかった。従って、クルミは他のナッツとは異なるアレルゲン性を持つことが示唆された。

その他には、これほど強い抗体価の相関関係を持ったナッツ類はアーモンドとハシバミ以外に存在しなかった。これらについては真のアレルギー症例が見いだされなかったために、臨床的な考察はできなかった。

抗体価の相関という検討からは、ピーナッツは他のナッツ類とは強い交差抗原性を認めなかった。

4. 食物アレルギーと自覚する主として成人の実態 -生活状況、アレルゲン、アレルギー表示に関する知識・意向-

1) 生活状況等調査

女性からの発言が多かったが、成人男性からも発言があり、さらに増えることが望まれた。また、相互に情報交換などができる場が必要である。

2) アレルゲンと表示に関する知識

分りにくい表記(魚介類など)をリストアップして検討する必要があると思われる。

3) 好ましいアレルギー表示方法について

健康危機回避のためには、一括表記などの表示方法の改善が今後の課題である。

E. 結論

1、甲殻類の交差抗原性の検討

十脚目以外の昆虫類や、頭足類(タコ、イカ)、二枚貝類(アサリ)に対しても IgE 抗体の相関が見られた。これらの相関はこれらの抗原に含まれるトロポミオシンによるものと考えられた。ダニとの相関は見られなかった。

「7134 いせえび・うちわえび・ざりがに類」に属する十脚目であるロブスターやイセエビに対して高い相関性がみられ、これらに対するトロポミオシンの重要性が示唆された。また、これらの IgE 抗体結合能は特異的なものであると考えられた。

2、魚卵と魚肉との交差抗原性の検討

イクラは魚卵間で共通抗原性をもち、サケとも部分的に共通抗原性を有する。その原因タンパク質として β' コンポーネントが考えられる。一方鶏卵とはいずれの症例でも共通抗原性を示唆するデータは得られなかった。

3、ナッツ類アレルギーの臨床的・血清学的交差反応性の検討

ナッツ類アレルギーにおいて、カシューナッツとピスタチオ、クルミとペカンの間に強い交差抗原性が示唆されたが、ピーナッツを含めてナッツ類全体としては、臨床的・血清学的な交差抗原性は認められなかった。

4、表示方法の検討

食物アレルギー患者にとって健康危機回避のためには表示方法の改善が課題である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tsuge I, Kondo Y, Tokuda R, Kakami M, Kawamura M, Nakajima Y, Komatsubara R, Yamada K, Urisu A. Allergen-specific helper T cell response in patients with cow's milk allergy: Simultaneous analysis of proliferation and cytokine production by carboxyfluorescein succinimidyl ester dilution assay. Clin Exp Allergy. 36:1538-1545. 2006.

2) Kondo Y, Komatsubara R, Nakajima Y, Yasuda

T, Kakami M, Tsuge I, Urisu A. Parvalbumin is not responsible for cross-reactivity between tuna and marlin: A case report. J Allergy Clin Immunol. 118:1382-1383.2006.

3) Koyama H, Kakami M, Kawamura M, Tokuda R, Kondo Y, Tsuge I, Yamada K, Yasuda T, Urisu A; Grades of 43 Fish Species in Japan Based on IgE-binding Activity Allergology International. 55,311-316,2006.

4) Yamakawa H, Akiyama H, Endo Y, Miyatake K, Sakata K, Sakai S, Moriyama T, Urisu A, Maitani TA, A Specific Detection of Soybean Residues in Processed Foods Using Polymerase Chain Reaction, Biosci Biotechnol Biochem, 2006 71, 269-272, 2007.

2. 学会発表

1) Urisu A, Nakajima Y, Komatsubara R, Hirata N, Kawamura M, Matsuyama H, Kakami M, Kondo Y, Tsuge I, Yamada K, Kimura M, Seki Aoral immunotherapy by heated and ovomucoid-depleted egg white to children with hen's egg hypersensitivity, X X V Congress of the European Academy of allergology and Clinical Immunology, 2006. Vienna, Austria, 10-14 June

2) Nakajima, Y, Tsuge, I, Komatsubara, R, Hirata, N, Kawamura, M, Kakami, M, Matsuyama, H, Kondo, Y, Urisu, A: Transcriptome analysis of allergen specific T cells in hen's egg allergy, X X V Congress of the European Academy of allergology and Clinical Immunology, 2006. Vienna, Austria, 10-14 June

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1-1. IgE 結合からみたエビミックスおよびトロポミオシンと各抗原との相関性

相関係数	エビミックス	トロポミオシン
ヤケヒョウヒダニ	0.25	0.23
ゴキブリ	0.70	0.65
アサリ	0.71	0.84
イカ	0.75	0.88
タコ	0.75	0.84
ロブスター	0.85	0.96
イセエビ	0.95	0.91

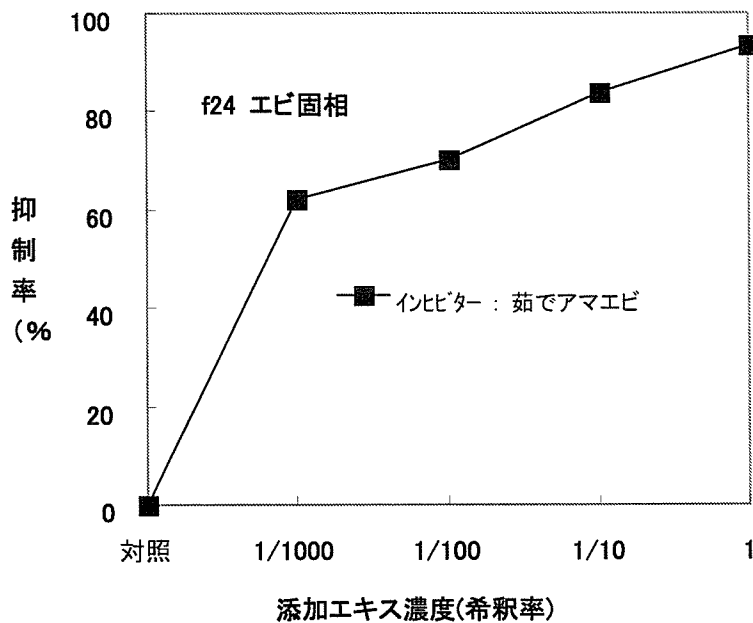


図1-1 茹でアマエビに対するIgE 結合の同一抗原による抑制試験

インヒビターである茹でアマエビの抗原量を増やすに従い、固相の茹でアマエビに対するエビアレルギー患者IgE 結合能が濃度依存性に抑制された

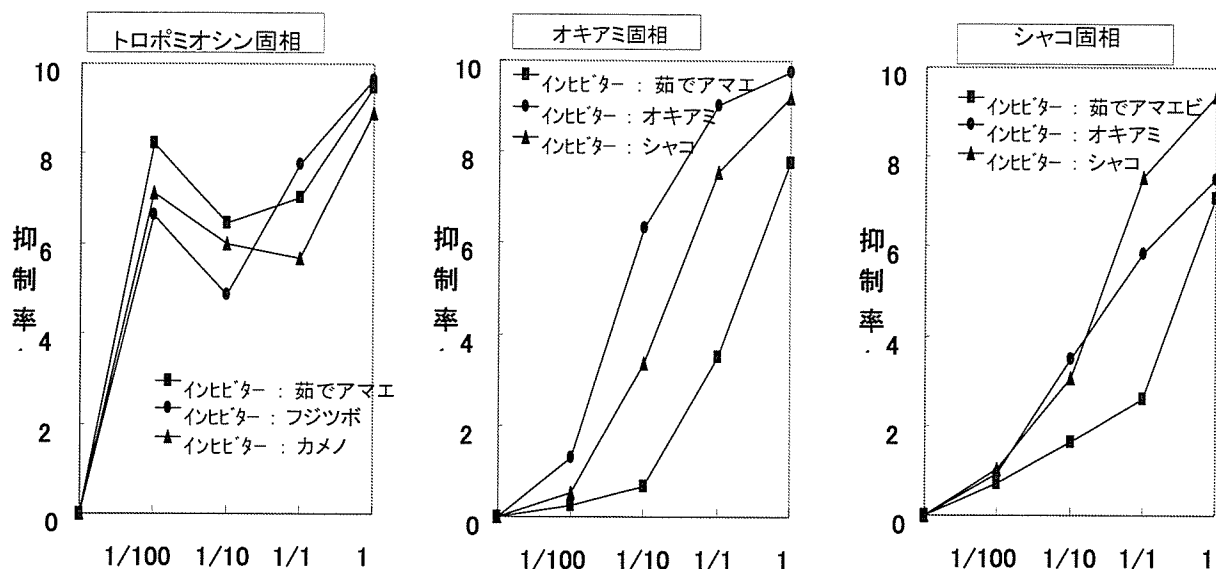


図1-2 トロポミオシン、オキアミ、シャコ抗原を固相とし、各抗原添加によるIgE 結合能抑制率についての検討

いずれの抗原の場合も、同一抗原以外の抗原により濃度依存性に抑制がかかり、これらの抗原間の共通抗原性におけるトロポミオシンの重要性が示唆された

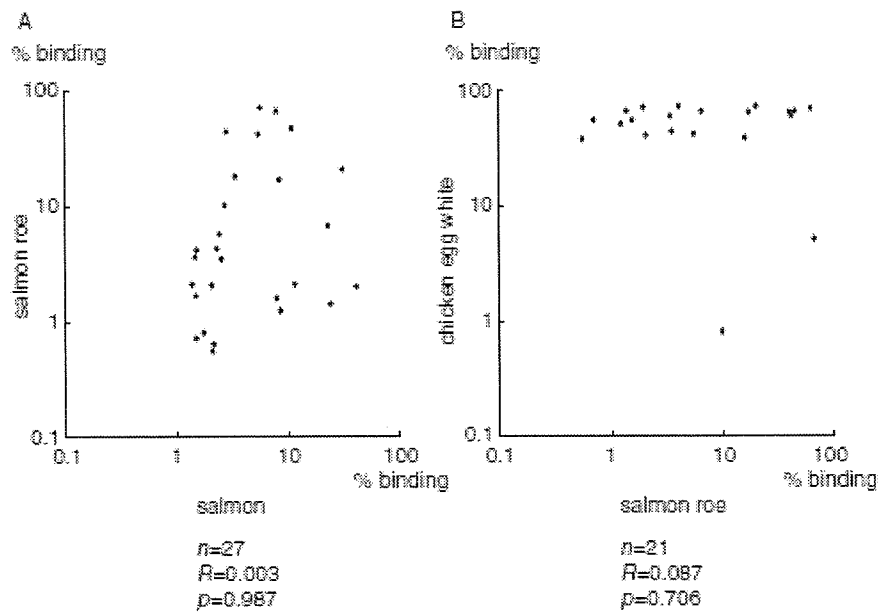


図2-1. イクラとサケおよび鶏卵とのIgE の相関

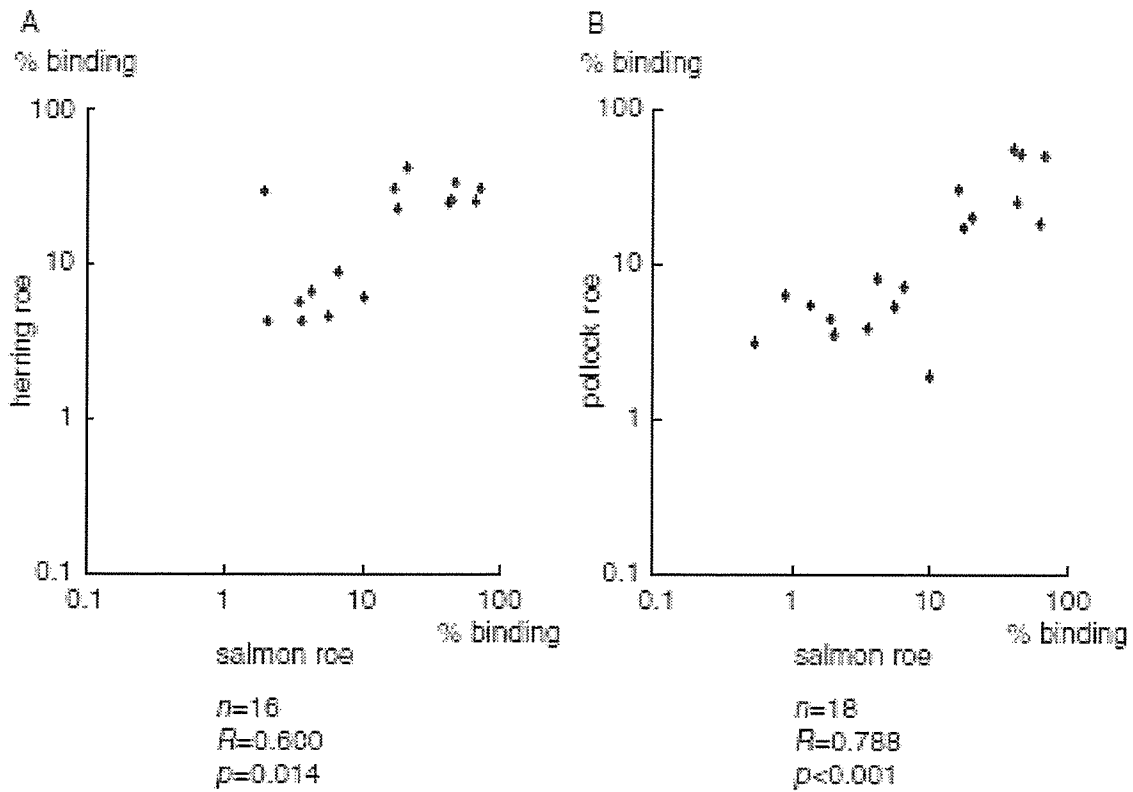


図2-2. イクラと数の子、タラコとのIgE の相関

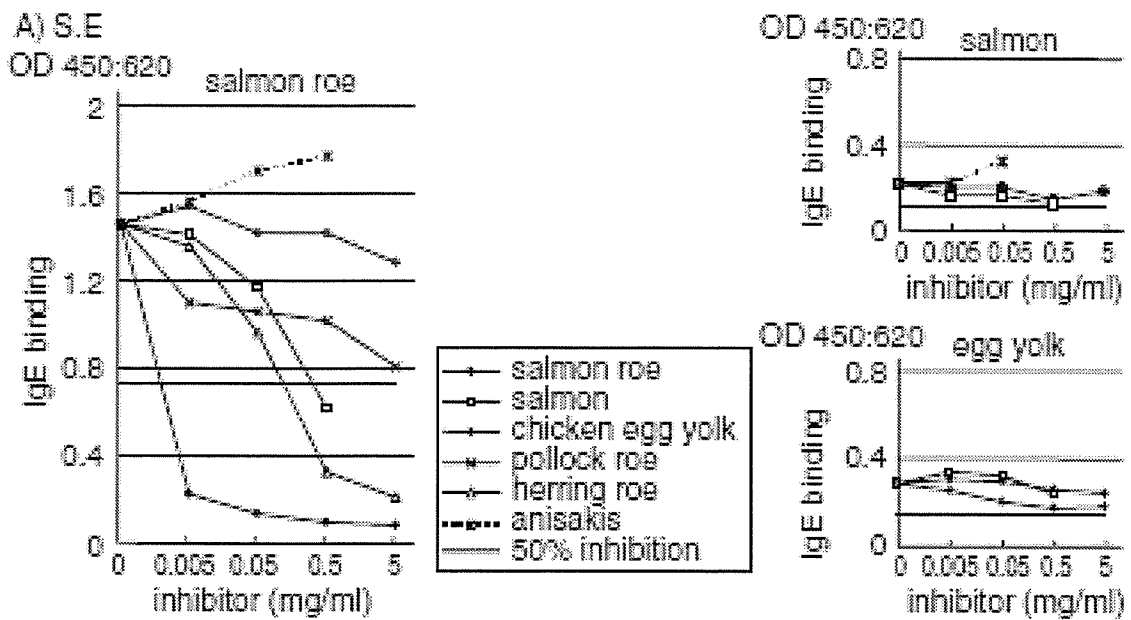


図2-3 イクラアナフィラキシー患者A における各抗原とのELISA inhibition

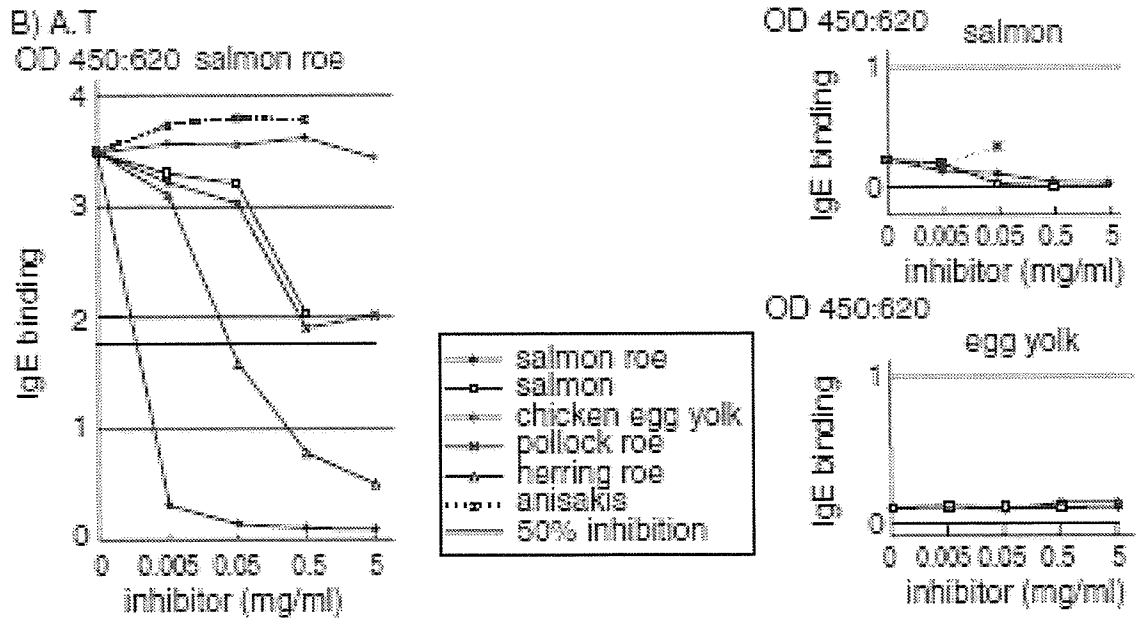


図2-4 イクラアナフィラキシー患者B における各抗原とのELISA inhibition

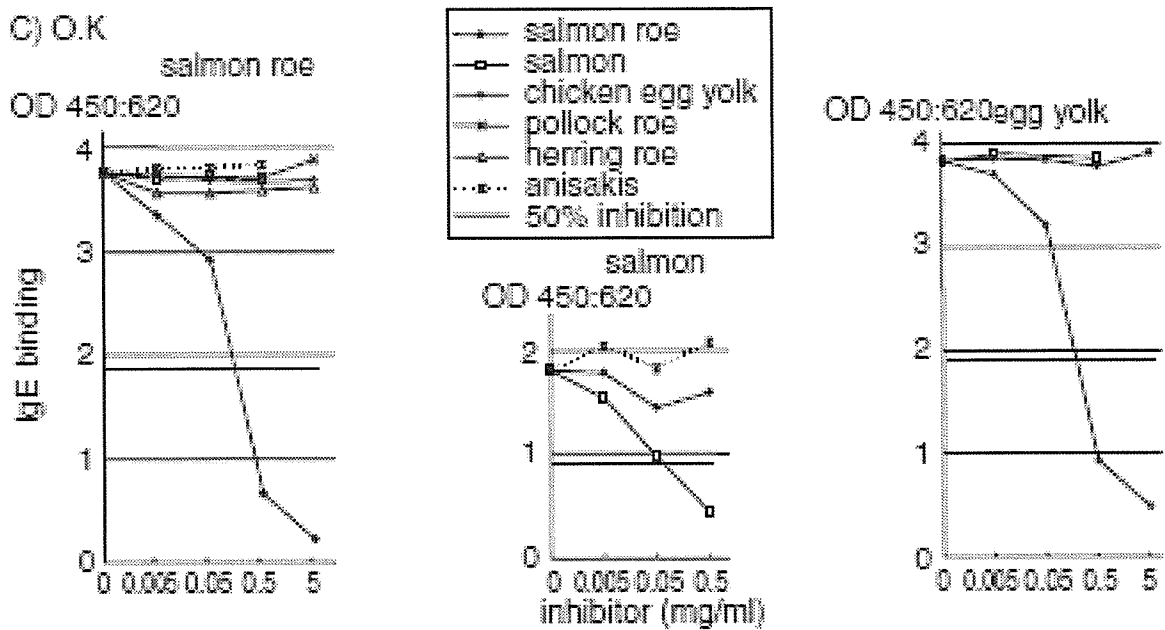


図2-5 魚アレルギー患者Cにおける各抗原とのELISA inhibition

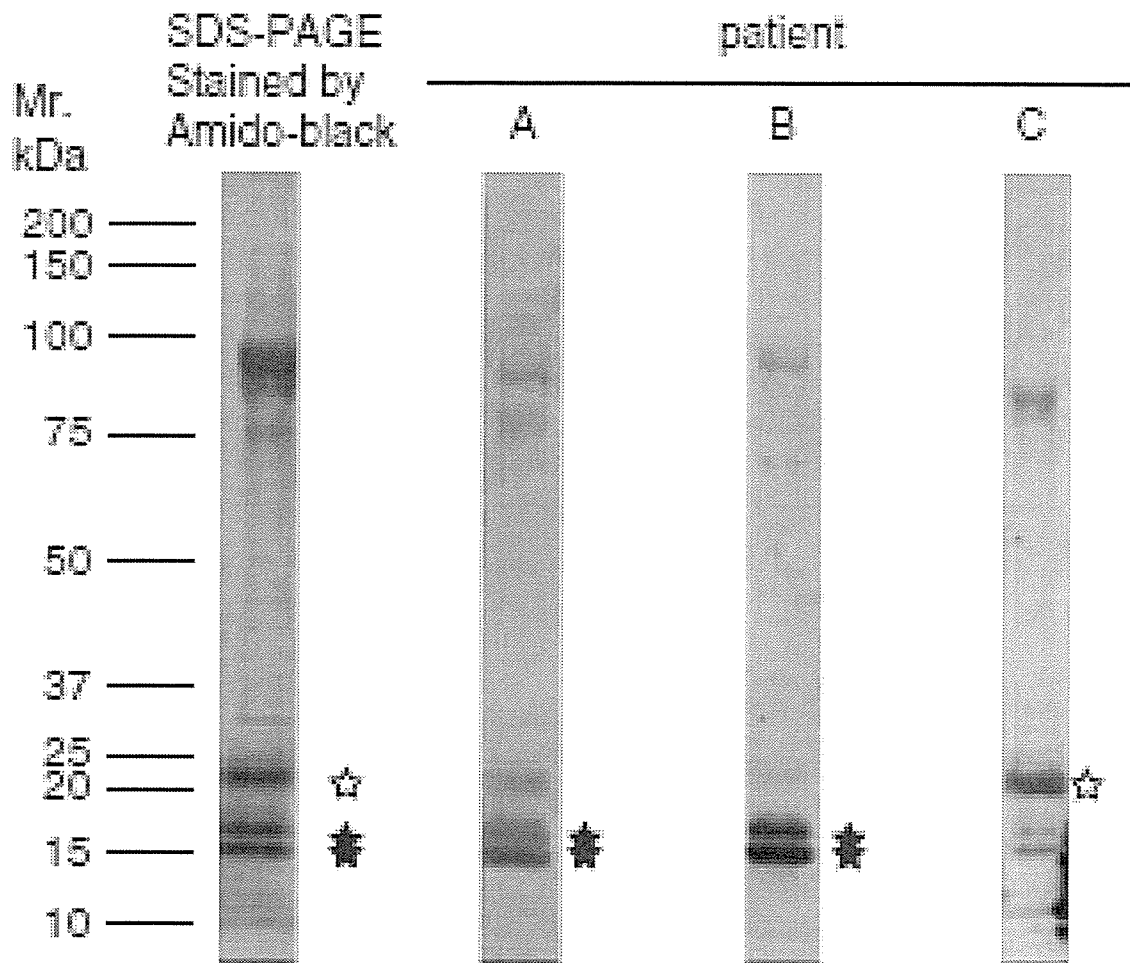


図2-6 イクラ抗原に対する患者血清によるイムノブロット

★: β' コンポーネント、 ☆:ホスビチン

表 3-1 カシューナッツアレルギー3例のナッツ類 IgE 抗体価

No	カシューナッツ	ピスタチオ	ピーナッツ	大豆	クルミ	ペカン	アーモンド	ハシバミ	ココナッツ	インゲン
1	49.9	43.5	5.75	6.52	0.34	0.37	4.72	3.8	1.99	0.4
2	15.8	9.59	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.98	0.34	0.34
3	73.7	30.3	0.34	0.34	7.65	4.35	0.34	0.34	0.48	0.34

No	カカオ	エンドウ	ブラジルナッツ	ゴマ	マカダミアナッツ	クリ	松の実	MUX F3	総 IgE
1	0.41	2.67	3.41	41.3	1.64	1.93	0.34	0.34	4442
2	0.34	0.38	0.41	0.91	0.34	0.34	0.34	0.34	138
3	0.34	0.36	0.34	0.68	0.34	0.34	0.34	0.34	48

表 3-2 クルミアレルギー症例のナッツ類 IgE 抗体価

No	診断	クルミ	ペカン	ピーナツ	大豆	アーモンド	ハシバミ	ココナツ	インゲン	カカオ	エンドウ
1	確定	24.6		100	9.55	4.72	8.86			0.95	
2	確定	6.38	5.65	2.14	0.57	0.36	0.64	0.57	0.59	0.34	0.37
3	確定	66.4	33.4	1.44	0.34	0.34	0.41	0.88	0.38	0.34	0.34
4	確定	25.9	24.1	0.83	1.41	2.26	4.33	3.33	0.37	0.34	0.82
5	既往	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
6	疑い	3.88	3.38	31.7	3.56	1.46	1.53	1.18	0.93	0.34	4.22
7	疑い	0.34	0.34	0.48	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34

No	ブラジルナツ	ゴマ	カシューナツ	ピスタチオ	マカダミアナツ	刈	松の実	MUXF3	総 IgE
1	9.86	28.3							2372
2	0.44	1.27	0.39	1.02	0.71	0.72	0.44	0.62	850
3	1.71	1.19	0.34	0.47	0.7	0.45	0.34	0.34	308
4	0.56	10.8	1.25	1.53	3.05	0.51	0.34	0.34	1254
5	0.34	1.15	0.34	1.01	0.44	0.34	0.34	0.34	628
6	1.28	4.01	1.62	2.09	1.21	0.78	0.58	0.34	1711
7	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	165

表3-3 Log換算をしたナッツ類に抗体価の相関係数 (n=42)

	ピー ナツ ツ	大豆	アーモ ンド	ハシバ ミ	ココ ナツ ツ	エンド ウ	ブラジル ナツ ツ	カガミ ナツ ツ	ヒメ材	カジュナツ	ゴマ	松の奥 割	イン ゲン	クルミ	ペカン	カカオ	MUXF3	
ピーナツツ	1.000	0.631	0.436	0.445	0.467	0.547	0.484	0.492	0.284	0.209	0.500	0.390	0.468	0.379	-0.039	0.063	0.195	0.308
大豆		1.000	0.738	0.795	0.745	0.887	0.755	0.757	0.610	0.577	0.729	0.478	0.583	0.532	-0.002	0.117	0.308	0.308
アーモンド			1.000	0.930	0.833	0.834	0.891	0.822	0.781	0.761	0.706	0.571	0.635	0.440	0.157	0.255	0.403	0.266
ハシバミ				1.000	0.857	0.889	0.888	0.894	0.832	0.778	0.800	0.605	0.684	0.492	0.208	0.320	0.399	0.306
ココナツツ					1.000	0.785	0.770	0.879	0.680	0.640	0.769	0.644	0.595	0.608	0.262	0.396	0.326	0.495
エンドウ						1.000	0.883	0.790	0.748	0.715	0.717	0.555	0.573	0.534	0.104	0.209	0.338	0.281
ブラジルナツツ							1.000	0.781	0.786	0.772	0.725	0.448	0.497	0.373	0.161	0.231	0.373	0.233
カガミナツツ								1.000	0.718	0.623	0.814	0.734	0.744	0.693	0.287	0.446	0.316	0.585
ヒメ材									1.000	0.967	0.648	0.488	0.570	0.389	0.234	0.301	0.478	0.264
カジュナツ										1.000	0.579	0.380	0.441	0.308	0.189	0.233	0.477	0.155
ゴマ											1.000	0.402	0.589	0.387	0.053	0.164	0.358	0.335
松の奥 割												1.000	0.792	0.852	0.351	0.502	0.264	0.697
インゲン													1.000	0.673	0.223	0.360	0.421	0.470
クルミ														1.000	0.249	0.430	0.242	0.794
ペカン															1.000	0.970	0.073	0.242
カカオ																1.000	0.130	0.423
																	1.000	0.180

	相関係数>0.9
	相関係数0.8-0.9
	相関係数0.7-0.8

表 4-1 えび、かにに対してアレルギー症状を示すと自覚する成人の生活など

	男性	女性
発症から確定診断まで	小学2年生のときに牛乳でアレルギーと確定し、数年経過してから桜えびで診断を受けた。	給食などの集団で同一のものを食べる機会がない時期での発症の場合、初発の際に症状が軽症であれば医療機関を受診せず、確定診断を得るまでに時間(2年)がかかっている。
アレルゲン	甲殻類、貝類、イカ、タコで発症する。 また、アミ類でも発症する。 エビを揚げたてんぷら油で野菜を食べても発症する(微量)。 出汁ででる。 シャコででる場合もある。	えびのみの人とえびとかにの両方にアレルギーがある人。 火を通した場合に食べられる人もいる。 伊勢えびやロブスターについては、食べた経験がないひとがいる。 エキス類や出汁でも症状がでる。
症状	生の場合に症状が遅れてでてくる。 口腔内やのどがはれる。 呼吸器症状がでる。 蕁麻疹がでる。 疲れていると少量でもでる。 子どもの頃よりも軽くなった。 眼瞼が腫れる。 アナフィラキシーを起こしたことがある(救急搬送)。	皮膚症状だけでなく、呼吸器の症状などを示し、アナフィラキシーを起こす人もい
表示と喫食	チーズで発症し、メールで問い合わせをしたが、使用していないとの回答を得た。 後にチーズ売り場のプロに尋ねたところ、赤っぽいチーズはアナトー色素を使用していると聞き、調べたところ魚介類成分含まれていた。 魚介類と記載があると、避けるようにしている。 原材料の並び順は関係ない。 オイスターソースやキムチは喫食した経験で買うことがある。 表示にあって症状がでないもの(ホタテエキスと記載のあるシュウマイ)がある。 魚介エキスがやっかい。	魚介類という表示のものを食べたときに症状がでた経験がある。 魚介類との表示の場合に食べてみる。 最近では丁寧に表示されており、曖昧なものが少ないと感じている。 えび、かにが義務化されていないことは知らなかった。

<p>健康危機回避</p>	<p>お菓子は必ず確認する。</p> <p>表示を見て、判断に迷ったときは食べない。</p> <p>レストランで尋ねたが使用していないとの返事をもらった。</p> <p>しかし、症状がでてシェフが使用していたと謝罪にきた経験がある。</p> <p>自分のアレルギーが表示中に記載されていれば、並び順に関係なく食べない。</p> <p>ラーメン屋さんで「スープに魚介類を使っていますか？」とたずねる。</p> <p>旅先の宿で甲殻類が食べられないと事前にいう。</p> <p>家では、大丈夫そうなものを口にしてみることもある。</p> <p>表示で大丈夫と判断して、症状がでたことはない。</p>	<p>商品名でまずは回避する。</p> <p>症状がでたら、その後は喫食しない(経験に基づく)。</p> <p>ねり製品は一切食べない。</p> <p>怪しいと思ったら食べない。</p> <p>外食の場合に、店員などに使用の有無についてたずねる。</p> <p>友人宅での食事の場合には、事前にアレルギーについて告げる。</p> <p>一緒に食事をする周りにアレルギーであることを告げず「苦手」と表現して避けている。</p> <p>量が多くて発症するので、目視での判断で、表示で確認はしない。</p> <p>問い合わせの経験はない。</p>
<p>困った経験</p>	<p>ツアーで海外旅行にいったときにロブスターのみが出てきて、困った。</p> <p>集まりがあったときに甲殻類がたくさんできて食べられるものがイモフライしかなかった。</p> <p>鍋料理にエビが入っているだけですべてが食べられなくなる。</p> <p>スープやソースなどを誤って飲食してまって症状がでる。</p> <p>職場でまかない料理がでるので気づきにくい。</p> <p>忘年会シーズンはつらい。</p>	

態度や考
え方

惣菜購入時や友人との食事など常に気をつけている。

ラーメン屋さんや旅先の宿でたずねたり、食べられないものを言ったりするとき気を使う。

魚介類の表示をしてほしい。

アレルギーの表示は別途パッケージの表に表示してほしい。

ひとめでわかるアレルギーマークなどがあるとよい。

発症の可能性のあるたんぱく質を公表してほしい。

いつかえび、かにが食べられるようになりたい。

アレルギーを話しのネタにしている。

結婚の披露宴などでオマールエビができて食べないときに、わざわざアレルギーと言いつつのように聞こえていうのが苦痛。

お好み焼きやで別のグループが海鮮のものを食べていてその蒸気でぐったりしたことがある。

Webで調べてみるが、表示については情報が少ない。

有効な治療法を知りたい。

QRコードなどで調べるのは非現実的。

表示を記号化できないか。

表示のフォーマットを統一してもらいたい。

小さい文字が見づらくなってきている。

文字の羅列でアレルゲンを表示のなかから探すのが一苦勞。

もっと患者として声をあげたほうがよいのかもしれない。

自分からアレルギーであることを言い、材料について事前にたずねることは、アレルギーを持つものの自己責任であると考える。

アナフィラキシーの症状を起こすかどうか食物アレルギー患者の大きな分かれ目のような気がする。

もう少し自己管理をしっかりしなければならない。

同じアレルギーの人がいることがわかり安心した。

<p>周りの人の態度</p>	<p>周りが気を使ってくれる。</p> <p>かわいそうだねえといわれることがある。</p> <p>周りが自分の食べられないものを避けてくれている。</p> <p>鮭1人前で、食べられないものを一緒に会食しているひとに分けるため喜ばれているような気がする。</p> <p>周りにいないので、珍しいといわれる。</p> <p>商品の裏を念入りに見ていると、周りの目が気になる。</p> <p>かわいそうといわれる。</p> <p>変わっているといわれた。</p> <p>自分が出張などで不在のときに家族はえびを食べている。</p> <p>周りの反応は薄く、理解しがたいようだ。</p> <p>精神的なものではないかと疑われた。</p> <p>周りが理解してくれている。</p> <p>症状がでたときに、感染するものではないといっても、遠巻きに見ていた。</p>	<p>アレルギーだからと嫌な顔をされたことがない。(自分から事前に告げているから?)</p> <p>アレルギーでかわいそうと申し訳ない顔をされる。</p>
----------------	---	---

表 4-2 性・年齢別対象者

	16-19才	20-29才	30-39才	40-49才	50-59才	合計
男性	53	178	255	192	267	945
女性	78	239	296	303	395	1311
	131	417	551	495	662	2256

表4-3 食物アレルギーと自覚している人のアレルゲン

順位	アレルゲン	度数	%	アレルゲン	度数	%
1	そば	475	21.1	コメ	9	0.4
2	卵	458	20.3	トマト	8	0.4
3	えび	343	15.2	ホタテ	8	0.4
4	かに	305	13.5	イワシ	7	0.3
5	そば	235	10.4	タコ	7	0.3
6	やまいも	214	9.5	ナス	7	0.3
7	乳	189	8.4	イチジク	6	0.3
8	キウイフルーツ	165	7.3	ニンニク	6	0.3
9	不明	121	5.4	ウニ	5	0.2
10	もも	106	4.7	ウリ科	5	0.2
11	りんご	97	4.3	カツオ	5	0.2
12	大豆	84	3.7	チョコレート	5	0.2
13	いか	81	3.6	ビール	5	0.2
14	小麦	74	3.3	マカデミアナッツ	5	0.2
15	落花生	69	3.1	イチゴ	4	0.2
16	カキ(貝)	65	2.9	ウメ	4	0.2
17	バナナ	57	2.5	カシューナッツ	4	0.2
18	ナシ	53	2.3	キュウリ	4	0.2
19	鶏肉	51	2.3	コーヒー	4	0.2
20	豚肉	49	2.2	ハチミツ	4	0.2
21	いくら	47	2.1	ビワ	4	0.2
21	牛肉	47	2.1	ブリ	4	0.2
23	メロン	45	2.0	マグロ	4	0.2
24	あわび	41	1.8	モモ	4	0.2
25	くるみ	40	1.8	アズキ	3	0.1
26	オレンジ	35	1.6	カカオ	3	0.1
26	さけ	35	1.6	カキ	3	0.1
28	タケノコ	33	1.5	カレイ	3	0.1
29	魚類	26	1.2	クジラ	3	0.1
30	貝類	23	1.0	ゴボウ	3	0.1
31	アルコール	20	0.9	サトイモ	3	0.1
32	ゼラチン	19	0.8	タマネギ	3	0.1
33	マンゴー	15	0.7	トウガラシ	3	0.1
34	まつたけ	14	0.6	パパイア	3	0.1
34	サクランボ	14	0.6	バラ科の果物	3	0.1
34	スイカ	14	0.6	ブドウ	3	0.1
37	パイナップル	12	0.5	アーモンド	2	0.1
38	シイタケ	11	0.5	アボガド	2	0.1
				アユ	2	0.1
				アンコウ	2	0.1
				イセエビ	2	0.1
				ウリ	2	0.1
				キノコ	2	0.1
				ギンナン	2	0.1
				ゴマ	2	0.1
				サンショウ	2	0.1
				サンマ	2	0.1
				シジミ	2	0.1
				シナモン	2	0.1
				スッポン	2	0.1
				タケコノ	2	0.1
				トコブシ	2	0.1
				ナノハナ	2	0.1
				ニシン	2	0.1
				ハマチ	2	0.1
				フキノトウ	2	0.1
				ホウレンソウ	2	0.1
				ミント	2	0.1
				ヨモギ	2	0.1
				ラード	2	0.1
				ワサビ	2	0.1
				柑橘類	2	0.1
				馬肉	2	0.1

表4-4 アレルギー表示に関連する知識

	T O T A L	○	×
「ロブスター」はザリガニ類である	2,256 100	1,623 71.9	633 28.1
「うどん」は「小麦粉」からつくられる	2,256 100	2,084 92.4	172 7.6
「チーズ」は「乳」からつくられる	2,256 100	2,216 98.2	40 1.8
「カニ」は魚介類である	2,256 100	1,171 51.9	1,085 48.1
「しょうゆ」は「大豆」からつくられる	2,256 100	2,230 98.8	26 1.2
「とろろ」は「やまいも」である	2,256 100	1,985 88.0	271 12.0
「タコ」は魚介類である	2,256 100	1,575 69.8	681 30.2
「マーガリン」の原材料は「乳」である	2,256 100	734 32.5	1,522 67.5
「エビ」は魚介類である	2,256 100	1,343 59.5	913 40.5
「油あげ」は「大豆」からつくられる	2,256 100	2,081 92.2	175 7.8
「豆乳」には「牛乳」が含まれている	2,256 100	220 9.8	2,036 90.2
「伊勢えび」はザリガニ類である	2,256 100	991 43.9	1,265 56.1
「かに玉」をつくるには「卵」が必要である	2,256 100	2,203 97.7	53 2.3
「味噌」は「大豆」からつくられる	2,256 100	2,193 97.2	63 2.8
「にじます」はサケ科の魚類である	2,256 100	1,494 66.2	762 33.8
「納豆」の豆は「大豆」である	2,256 100	2,181 96.7	75 3.3
「バター」の原材料は「乳」である	2,256 100	2,179 96.6	77 3.4
「タラバガニ」はヤドカリ類である	2,256 100	985 43.7	1,271 56.3
「乳化剤」は「牛乳」からつくられる	2,256 100	587 26.0	1,669 74.0
「イカ」は魚介類である	2,256 100	1,613 71.5	643 28.5
「シュリンプ」はえびである	2,256 100	2,021 89.6	235 10.4
「クラブ」はかにである	2,256 100	1,942 86.1	314 13.9

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
「食品中に含まれるアレルギー物質の検査法開発に関する研究」
分担研究報告書

甲殻類 ELISA 検知法の開発および
魚貝類アレルギーの特定・抗原交差性・一次構造解析

分担研究者 塩見一雄 東京海洋大学食品生産科学科
研究協力者 佐伯宏樹 北海道大学大学院水産科学研究院
稲山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部
松田りえ子 国立医薬品食品衛生研究所食品部
大橋英治 日本水産株式会社食品分析センター
阿部晃久 同上
梅田 衛 日水製薬株式会社診断薬研究部
岡 道弘 同上
織田浩司 株式会社マルハグループ本社中央研究所
清木興介 同上
石原好博 株式会社マルハグループ本社環境・品質保証グループ

研究要旨

甲殻類 ELISA 検知キットの開発と性能評価:ブラックタイガートロポミオシンに対するポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を利用したサンドイッチ ELISA 法に基づく 2 種類の甲殻類検知キット(甲殻類測定試薬「ニッスイ」および甲殻類キット「マルハ」)を開発した。各種食品で検討したところ、両キットとも甲殻類特異的で、加工食品にも適用できることを認めた。さらに甲殻類標準粉末を添加した 5 種類のモデル食品を用いた外部 10 機関によるバリデーションにおいても、両キットとも厚生労働省通知の基準(回収率 50-150%、室間精度 25%以下)を満たしていることが確認された。貝類のアレルゲン:11 種貝類(クロアワビ、サザエ、エゾボラ、エゾバイ、アカガイ、マガキ、トリガイ、ウバガイ、ミルカイ、マテガイ、アサリ)の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するとともに、貝類トロポミオシンは貝類間のみならず甲殻類および頭足類のトロポミオシンと抗原交差性を示すことを明らかにした。前年度の成果と合わせてエゾバイを除く 10 種貝類のトロポミオシンの全アミノ酸配列を cDNA クローニングにより決定し、配列相同性は目(または科)レベルでのみ高いことを示した。魚卵の検知法:魚卵の主要な卵黄タンパク質は、リポビテリン(Lv)、フォスピチン(Pv)および β' コンポーネント(β)である。本試験では、魚卵検知法の対象タンパク質として β の利用可能性を検討した。その結果、イクラを含むサケ科魚卵、スケトウダラ卵(タラコ)、カペリン(輸入シシャモ)卵については、抗 β -ウサギポリクローナル抗体(a- β)と β の組み合わせでの検知法開発が妥当と判断した。

A. 研究目的

サンドイッチ ELISA 法に基づいて開発した 2 種類の甲殻類検知キット(甲殻類測定試薬「ニッスイ」および甲殻類キット「マルハ」)について、その特異性を確認するとともに、外部機関による性能評価を行うことを目的とした。軟体動物(イカ、アワビ)検知法に関しては、その基本情報として知見が乏しい各種貝類トロポミオシンの抗原交差性と一次構造解析を目指した。魚卵の主要な卵黄タンパク質は、リポビテリン(Lv)、フォスピチン(Pv)および β' コンポーネント(β)である。本試験では、これらのタンパク質の存在をさまざまな

魚類で調査し、魚卵検知法の対象タンパク質として利用できるか検討した。

B. 研究方法

1) 甲殻類検知キット(甲殻類測定試薬「ニッスイ」)の性能

試料:用いた 84 種類の食品(えび類、かに類、やどかり類、しゃこ類、おきあみ類、ふじつぼ類、いか類、たこ類、貝類、魚類、水産食品、生鮮肉類、海藻類、食用鳥卵、乳、穀類、豆類、野菜、果実、きのこ類、香辛料、茶、ゼラチン)はスーパーマーケットならびに市場で購入した。

トロポミオシンの精製:精製トロポミオシンは 6 種

甲殻類(ブラックタイガー、クルマエビ、アメリカンロブスター、ズワイガニ、タラバガニ、ナンキョクオキアミ)および7種軟体動物(マダコ、スルメイカ、クロアワビ、エゾバイ、アサリ、ホタテガイ、マガキ)より調製した。

標準溶液の調製:ブラックタイガーの筋肉をホモジナイザーで均一化し、凍結乾燥を行った。乾燥終了後、再びホモジナイザーで均一化して得たブラックタイガー筋肉の粉末 0.1 g を 0.5% SDS、2% 2-メルカプトエタノールおよび Protease Inhibitor を添加した PBS (pH 7.4) 20 mL と混合して一晩(15時間)振とう抽出を行った。抽出液を 10,000xg で 30 分間遠心分離して上清を回収し、孔径 0.8 μm のマイクロフィルターでろ過を行った。ろ液を 100 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間加熱したものを標準溶液原液とした。タンパク質濃度は 2-D Quant kit (Amersham Biosciences) を用いて測定した。

試料溶液の調製:ホモジナイザーで均一化した試料 1 g に特定原材料抽出用試薬(森永生科学研究所)より調製した抽出液 19 mL を混合して一晩振とう抽出を行った。次いで 3,000xg で 20 分間遠心分離して上清を回収し、試料抽出液を得た。試料抽出液を検体希釈液で 20 倍に希釈して試料溶液とした。

測定方法:測定操作は次のように行った。モノクローナル抗体を固相化したマイクロプレートに標準溶液あるいは試料溶液を 100 μL 添加した。常温で 1 時間反応させた後、洗浄液で 5 回洗浄した。次いで酵素標識ポリクローナル抗体溶液を 100 μL 添加し、常温で 1 時間反応させた後、5 回洗浄した。酵素反応のために酵素基質液を 100 μL 添加し、常温で 20 分間放置後、反応停止液を 100 μL 添加した。吸光度はマイクロプレートリーダーを用いて、主波長 450 nm、副波長 650 nm で測定した。データの解析は 4 係数ロジスティック解析で行った。標準曲線をもとに試料溶液で得られた吸光値から試料溶液のタンパク質濃度を求め、さらに試料溶液を調製した際の希釈倍率(400 倍)を乗じて食品に含まれる甲殻類総タンパク質濃度を算出した。

2) 甲殻類検知キット(甲殻類キット「マルハ」)の性能

本年度は、平成 17 年度に構築したサンドイッチ ELISA 法に基づくエビ・カニ原材料検知法を、モデル加工食品、各種原材料および市販加工食品を用いて評価した。

測定溶液の調製法:試料をホモジナイズ後、1 g をポリプロピレン製遠心管に取り、抽出液(森永生科学研究所製、特定原材料抽出液)を 19 mL

加え、遠心管を横にして振盪機で一晩(12 時間以上、室温)振盪しながら抽出を行った。抽出終了後、3,000xg、20 分間遠心分離し上清を分取した。上清をろ紙でろ過後、検体希釈液で 20 倍希釈して測定溶液とした。一部試料では、測定溶液を 2 倍段階希釈したものも用いた。

測定法:一次抗体固相化プレートの各ウエルに標準溶液(0、0.78-50 ng/mL)または測定溶液を 100 μL ずつ添加した。室温(20-25 $^{\circ}\text{C}$)にてインキュベートし、洗浄後、酵素標識抗体溶液を各ウエルに 100 μL 添加して室温にてインキュベートした。洗浄後、酵素基質溶液を各ウエルに 100 μL 添加し、室温遮光下で 20 分間反応させ、反応停止液を各ウエルに 100 μL ずつ分注し酵素反応を停止させた。プレートリーダーで主波長 450 nm、副波長 650 nm の各ウエルの吸光度を測定した。**各種甲殻類、軟体動物との反応性の検討:**各種甲殻類、軟体動物の可食部から測定溶液を調製し、反応性を評価した。

モデル加工食品を用いた本法の評価:バリデーション用に製造した5種類のモデル加工食品(表1)を用いて回収率、希釈直線性を評価した。魚肉ソーセージと FD 卵スープは㈱マルハグループ本社が、トマトソースとクリームコロッケは日本水産㈱が、鶏肉団子は国立医薬品食品衛生研究所が調製した。

各種原材料との交差反応性の検討:特定原材料および特定原材料に準ずるもの(上述の甲殻類、軟体動物を除く)を含む各種原材料(肉・卵・乳製品 9 種類、穀類・豆 7 種類、果実・ナッツ 9 種類、スパイス 2 種類、野菜・きのこ・芋 11 種類、魚介類・藻類 8 種類)との交差反応性について検証を行った。

市販加工食品を用いた本測定法の評価:各種市販加工食品(冷凍食品 13 種類、内甲殻類の表示のあるものが5種類;スプレードライ食品3種類、内表示あり2種類;レトルト食品5種類、内表示あり3種類;菓子3種類、内表示あり1種類;インスタント麺3種類、内表示あり1種類)を用いて本測定法における反応性を検討した。

3) 甲殻類検知キットのバリデーション

10 箇所の試験室にエビ標準品を添加した共通試料(モデル加工食品)5 種類を配布し、2 種類のキット(甲殻類キット「マルハ」、甲殻類測定試薬「ニッスイ」)で分析した結果から、それぞれのキットの真度、併行精度、室間精度を求めた。

試料:エビ一次標準粉末を添加した試料として、魚肉ソーセージ、FD 卵スープ、トマトソース、クリームコロッケ、鶏肉団子を作製した(表 1)。エビ一次標準粉末の調製はエビ(ブラックタイガー)