

図3 100 kDaアレルゲンのリシルエンドペプチダーゼ分解で得られたペプチド1-4のアミノ酸配列とムラサキイガイパラミオシン(Pm)の対応する領域のアミノ酸配列.

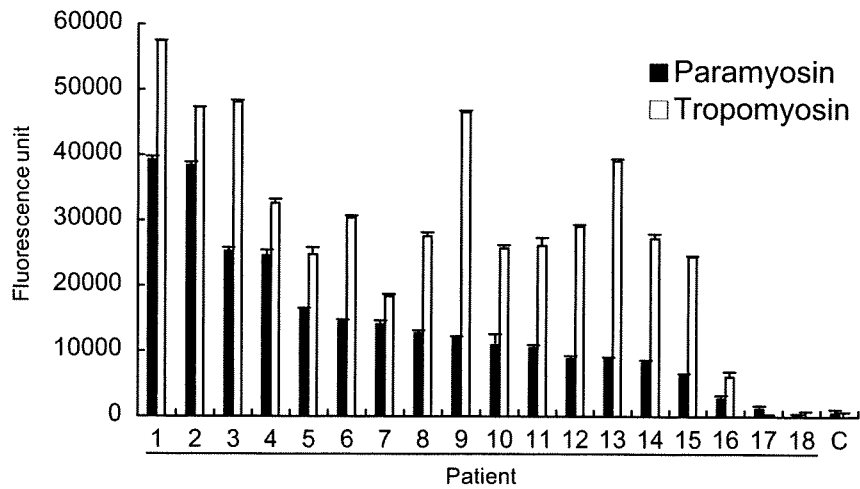


図4 クロアワビから精製したパラミオシン (100 kDaアレルゲン) およびトロポミオシンのIgE反応性(蛍光ELISA). 19人の健常者血清で得られたコントロールデータ (C) を平均し, 平均値+2SDを越える値を陽性と判断した.

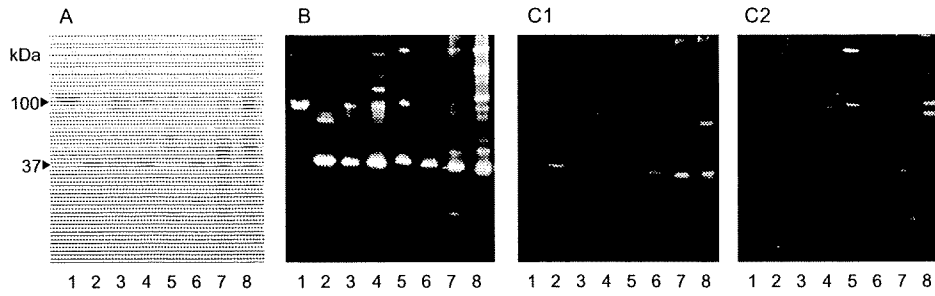


図5 6種軟体動物の非加熱抽出液のSDS-PAGE(A), イムノプロットイング(B)および阻害イムノプロットイング(C)による分析. レーン:1, クロアワビパラミオシン; 2, クロアワビトロポミオシン; 3, クロアワビ抽出液; 4, サザエ抽出液; 5, ムラサキイガイ抽出液; 6, ホタテイガイ抽出液; 7, スルメイカ抽出液; 8, マダコ抽出液.

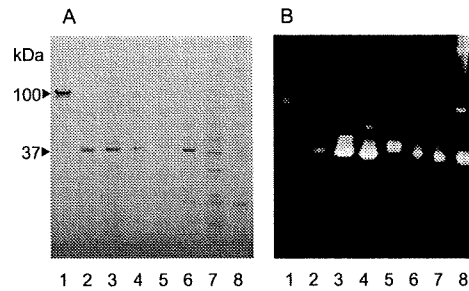


図6 6種軟体動物の加熱抽出液のSDS-PAGE(A), イムノプロットイング(B)および阻害イムノプロットイング(C)による分析. レーン:1, クロアワビパラミオシン; 2, クロアワビトロポミオシン; 3, クロアワビ抽出液; 4, サザエ抽出液; 5, ムラサキイガイ抽出液; 6, ホタテイガイ抽出液; 7, スルメイカ抽出液; 8, マダコ抽出液.

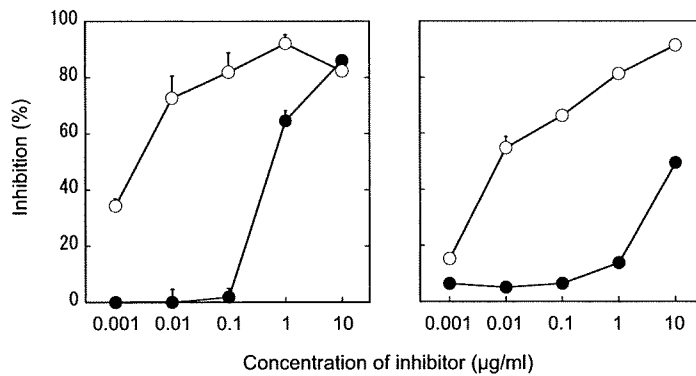


図7 阻害ELISAによるクロアワビパラミオシンとクロアワビトロポミオシンの抗原交差性分析. 患者血清10人のプール血清と固相化したパラミオシン(左)またはトロポミオシン(右)との反応性に対するパラミオシン(●)またはトロポミオシン(○)の阻害効果を調べた. 患者血清(1:100)を等量の阻害剤溶液と事前にインキュベートし, 一次抗体として用いた.

果実・種実類に含まれるアレルギー物質及び検知法に関する研究

研究分担者 安達 玲子(国立医薬品食品衛生研究所)
研究協力者 森山 達哉(近畿大学農学部)
柴田 治樹、山本 貴之、伊藤 花織(株式会社森永生科学研究所)
松本 貴之、森下 直樹(日本ハム株式会社)
上坂 良彦、柴原 裕亮(日水製菓株式会社)
山田 彰一(日本水産株式会社)
清木 興介、織田 浩司(株式会社マルハニチロホールディングス)
秋元 政信、加藤 重城(プリマハム株式会社)
谷口 嘉之、佐久間 恵、中尾 義喜(オリエンタル酵母工業株式会社)
蒲生 玲子、有馬 優美(株式会社ニッポンジーン)
酒井 信夫、中村 厚、穂山 浩、手島 玲子(国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨:食物アレルギー患者の安全管理と QOL の更なる向上を目的とし、食物アレルギー原因物質の解析及び検査法に関して、[1]特定原材料 ELISA キット用タンパク質抽出液の改良、[2]リンゴ検知ELISA法の開発、[3]加工食品に含まれる甲殻類の実態調査、[4]アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発、[5]ゴマアレルゲンの解析を行った。その結果、[1]毒物に指定された2-MEを含有する従来の抽出液に代わるものとして、亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いて標準品原液を調製したところ、タンパク質濃度がやや低くなる場合、SDS-PAGE 電気泳動像が若干異なる場合が見られたが、2-ME含有抽出液とはほぼ同等の結果が得られた。[2]リンゴアレルゲンタンパク質である Mal d 1、Mal d 4 の品種間差異や存在状態を解析し、両者とも各種リンゴにおいて一定レベルで含有されていることを示した。[3]魚肉すり身を原料とする加工食品であるちくわ、はんぺん、かまぼこ、さつま揚げ、合計 48 検体について、えび・かに混入の実態調査を行ったところ、ELISA 法で陽性となったものは 36 検体(75%)であったが、含有量は少ない(1 µg/g 未満:17 検体、1 µg/g 以上 5 µg/g 未満:17 検体、5 µg/g 以上 10 µg/g 未満:1 検体、10 µg/g 以上:1 検体)こと、PCR 法で陽性となったものは 36 検体(75%)であり、ほとんどの場合はえびが混入している(えび:35 検体、かに:1 検体)ことが明らかとなった。[4]牛乳の α -Casein のモノクローナル抗体の調製を目的としてハイブリドーマを作製し、未変性・変性両方の α -Casein に反応するハイブリドーマを得た。[5]ゴマ抽出タンパク質とゴマアレルギー患者血清とのウェスタンブロッティングより、主要アレルゲンである2S アルブミンの他に、タンパク量として最も多いアレルゲンである11S グロブリンにも患者 IgE が強く反応することが示された。

A. 研究目的

わが国では、食物アレルギー患者の原因食品摂取による健康危害を防止する目的で、特定原材料 7 品目(卵、乳、そば、小麦、落花生、えび、かに)の表示

が義務化されており、さらに特定原材料に準ずる 18 品目も表示が推奨されている。本研究においては、食物アレルギー患者の安全管理と QOL の更なる向上を目的とし、食物アレルギー原因物質の解析及び

検査法に関する以下の研究を実施した。

[1]特定原材料ELISAキット用タンパク質抽出液の改良

現在の特定原材料ELISAキットには、0.5% SDS 及び 2% 2-メルカプトエタノール (2-ME)を含む抽出用緩衝液が添付されており、この抽出液を用いて検体(加工食品)からタンパク質を抽出し、ELISA の試料とすることとなっている。また、検量線作成用標準品や希釈液にも 2-ME が含まれている。平成20年6月、2-ME が毒物に指定されたため、ELISA キット、検査廃液等を毒物として取り扱うこととなり、検査の現場においては保管や廃棄等の点で不便が生じている。また、食品メーカー等で自主検査への使用を考える際にも導入が難しい状態である。このような状況を考慮し、2-ME に代わる還元剤を用いた抽出液について、ELISA キットメーカー、標準品メーカーとの共同研究により検討を行う。21年度は亜硫酸ナトリウム(Na_2SO_3)を含有する抽出液を用い、ELISA キット用の標準品調製に関する検討を行った。

[2]リンゴ検知ELISA法の開発

特定原材料に準ずるものであり、口腔アレルギー症候群の原因食品でもあるリンゴについて、その検出法を開発するため、標的となるタンパク質の特性(品種間差異や存在状態)を解析した。

[3]加工食品に含まれる甲殻類の実態調査

魚肉すり身は、原料である魚が甲殻類を餌として摂取しているため、加工工程において甲殻類タンパク質が混入する可能性がある。筆者らはこれまでに魚介類加工食品へのえび・かにの混入に関する実態調査を行い、魚肉すり身 132 検体中 59 検体(44.7%)に甲殻類タンパク質が混入していることを報告している。本研究では、魚肉すり身を原料とする加工食品を対象としてえび・かにの混入に関する実態調査を行った。

[4]アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発

現在、公的機関や指定検査機関では、表示監視目的で、厚生労働省医薬局から示されている検査法(通

知検査法)に従った ELISA 法、ウェスタンブロット法、PCR 法などの検知法が実施されている。しかし食品事業者が食品工場等で自主管理を目的として上記の検査を行うことは、コスト面、設備面の問題から容易ではない。今後、表示が義務化される品目は増加していくものと考えられ、食品事業者が導入することが比較的容易で、安価、迅速、及び簡易な食物アレルギーの検出システムの構築はますます重要となる。そこで、このような検出システムの構築を目的とし、検討を行った。本年度は牛乳の主要アレルギーであるカゼイン(α -Casein)のモノクローナル抗体の調製を行った。

[5]ゴマアレルギーの解析

ゴマは、特定原材料及び特定原材料に準ずるものではないが、最近症例数が徐々に増加しており、要注意品目である。即時型食物アレルギー全国モニタリング調査では、食物アレルギー原因食品として、平成13-14年度には25位であったのが、17年度には17位、20年度には16位と、順位を上げている。また、EU、カナダ、オーストラリア・ニュージーランドでは、アレルギー表示品目に指定されている。

ゴマのアレルギータンパク質としては、2S アルブミン、11S グロブリン、7S グロブリン、オレオシン等が知られている。2S アルブミンは主要アレルギーであり、ゴマタンパク質の20-30%を占める。3種のアイソフォームがあり、そのうち1種類についてはエピトープ解析が行われている。11S アルブミンはゴマタンパク質の60-70%を占める、最も含有量の多いアレルギータンパク質であるが、詳細なエピトープ解析はまだ行われていない。そこで、本研究では11S グロブリンのエピトープ解析を行う。

B. 研究方法

[1]特定原材料ELISAキット用タンパク質抽出液の改良

現行の通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(最終改正 平成21年7月24日 食安発第0724第1号、以下通知検査法)別添4には、各特定

原材料の標準品規格が定められている。それぞれ一次標準粉末からタンパク質を抽出して標準品原液とし、さらに一次希釈液、高濃度標準液へと希釈される。現行の一次標準粉末からのタンパク質抽出液を表1に示す。本研究では、「0.5% SDS及び2% 2-ME」という部分を「0.6% SDS及び100 mM亜硫酸ナトリウム」に置き換えた抽出液を調製し、一次標準粉末からの抽出を行った。標準品規格に従い、各品目の一次標準粉末に抽出液を加えて一晚抽出し、不溶物を遠心分離及びろ過によって分離し、標準品原液とした。この標準品原液について、2-D Quant kit (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)によりタンパク定量を行い、またSDS-PAGE電気泳動像を確認した。同時に現行の2-ME含有抽出液による抽出も行い、亜硫酸ナトリウム含有抽出液との比較を行った。

[2]リンゴ検知ELISA法の開発

リンゴに含まれるアレルゲンタンパク質のうち、Mal d 1 及び Mal d 4 について、検出用のウサギポリクローナル抗体を作製した。9 種のリンゴ(サンフジ、ジョナゴールド、王林、サンムツ、シナノ、ムツ、世界一、インド、紅玉)について、果肉部及び果皮部における Mal d 1 及び Mal d 4 の含有レベルを上記の抗体を用いて解析した。また、リンゴをミキサーにより破碎(30 秒×2 回)しガーゼを用いてろ過した抽出液を遠心分離(10,000×g, 15 分)し、上清及び沈澱における Mal d 1 及び Mal d 4 の含有レベルについても解析した。市販のリンゴジュースについても解析を行った。

[3] 加工食品に含まれる甲殻類の実態調査

魚肉すり身の加工食品として、ちくわ、はんぺん、かまぼこ、さつま揚げの4種について、通常の市販製品からそれぞれ12製品を購入し検体とした。通知検査法に従い、2種類のELISAキット(甲殻類キット「マルハ」(マルハニチロ食品社製、以下Mキット)及びFAテストEIA-甲殻類「ニッスイ」(日水製薬社製、以下Nキット)による定量検査、及び、PCRによる確認検査を行った。検体からのDNA抽出にはGenomic-tip 20/G

(Qiagen社製)を用いた。えび、かに及びシャコPCRのプライマーセットはファスマック社より購入した。PCR産物のPAGE電気泳動にはアトー社製既製ゲル(e-パジェル E-R15L)を使用した。

[4] アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発

α -Caseinをラットに免疫し、ハイブリドーマを作製した。未変性状態のCaseinを96wellプレートにコーティングし、ハイブリドーマ培養上清の反応性を確認した。また、SDS-PAGEに供するサンプル前処理と同様の操作でCasein溶液と等量のサンプルPBSを混合し、95度で5分間加熱した変性サンプルを調製し、ELISAで培養上清の反応性を確認した。これらの結果に基づいて未変性、変性両方のタンパク質に対して反応するクローンを選別した。

[5]ゴマアレルゲンの解析

栽培用の種子ゴマ、及び食用の洗いゴマ、煎りゴマについて、それぞれ黒ゴマ、白ゴマ、金ゴマの市販品を購入した。これらのゴマをミルサーで粉碎し、0.6Mショ糖含有10mMリン酸バッファー(pH 7.5)中でホモジナイズした。ろ過後、10,000×g、15分遠心し、得られたペレットをMilli-Qに懸濁してソニケーションした。再遠心後得られた上清を抽出タンパク質溶液とした。この抽出液を非還元条件下電気泳動し、タンパク質染色及びウェスタンブロッティングを行った。ゴマアレルギー患者血清は、国立病院機構相模原病院 海老澤元宏先生、佐藤さくら先生よりご供与頂いた。11Sグロブリンのアイソフォーム1及び2に対するウサギ抗血清は(株)医学生物学研究所に委託して作製した。2Sアルブミンは抽出タンパク質溶液より硫酸分画及びゲルろ過により精製した。

C. 研究結果

[1] 特定原材料ELISAキット用タンパク質抽出液の改良

各特定原材料一次標準粉末から調製された標準品

原液のタンパク定量の結果を表2に示す。卵については、2ロットの一次標準粉末について検討した。卵、牛乳、小麦、甲殻類では、現行の2-ME含有抽出液を用いた場合と亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いた場合で大きな差は見られなかったが、そば、落花生では、亜硫酸ナトリウム含有抽出液の場合のタンパク定量値が、2-ME含有抽出液の場合と比較してやや減少していた。また、SDS-PAGE電気泳動像を図1に示す。卵では、250 kDaよりさらに大きい高分子領域に、亜硫酸ナトリウム含有抽出液の場合にのみ見られる薄いバンドがあった。また、甲殻類では、同じく高分子領域で、2-ME含有抽出液の場合にのみ見られる薄いバンドがあった。しかし、どの品目の場合も、タンパク質の泳動パターンについて両抽出液間で大きな差は見られなかった。

[2] リンゴ検知ELISA法の開発

リンゴのアレルゲンタンパク質としては、Mal d 1 (Bet v 1 ホモログ、PR-10、口腔アレルギー症候群主要抗原)、Mal d 2 (Thaumatin-like protein、PR-5)、Mal d 3 (Lipid transfer protein、PR-14、アナフィラキシー抗原)、Mal d 4 (Profilin、口腔アレルギー症候群主要抗原)がよく知られている。本年度は Mal d 1 及び Mal d 4 についてウサギポリクローナル抗体を作成し、リンゴ果実及びジュースにおける含有レベルを検討した。

図2及び図4に各種リンゴ及びリンゴジュースについての Mal d 1、Mal d 4 のウェスタンブロッティングの結果を示す。品種間での量的変動は多少見られたが、どの場合もほぼ一定レベルで Mal d 1、Mal d 4 が含有されていることが示された。但し、含有量は Mald4の方が一定している傾向にあった。また、Mal d 1 については、透明タイプのジュースよりも濁っているタイプのジュースの方が含有量が高いことが判明した。リンゴ抽出液に関しては、Mal d 1、Mal d 4 ともに、遠心上清にはほとんど存在せず、沈殿(主成分は繊維(パルプ))に含まれていた(図3、図4)。

[3] 加工食品に含まれる甲殻類の実態調査

魚肉すり身製品の代表的な加工方法である“焼く”、“ゆでる”、“蒸す”、“揚げる”にそれぞれ対応する製品として、ちくわ、はんぺん、かまぼこ、さつま揚げを対象とし、それぞれ12種類を検体とした。ELISA法では定量限界である0.313 µg/g以下を不検出(N.D.)とした。また、各検体から抽出したDNAに関しては、全ての検体について、DNA濃度は20-2,804 ng/mL、OD260/280比は1.8-2.0、OD260/230比は2.1-2.4の範囲となり、濃度、精製度ともに良好なDNAが得られた。

検査結果を表3に示す。ちくわについては、ELISA法では12検体中10検体(83%)が陽性(0.45-2.70 µg/g)であり、そのうち1 µg/g以上のものは5検体であった。PCR法では、11検体(92%)がえび陽性であり、かに陽性の検体は無かった。はんぺんについては、ELISA法では12検体中6検体(50%)が陽性(0.33-1.20 µg/g)であり、そのうち1 µg/g以上のものは1検体であった。PCR法では、6検体(50%)がえび陽性であり、かに陽性の検体は無かった。かまぼこについては、ELISA法では12検体中9検体(75%)が陽性(0.43-4.91 µg/g)であり、そのうち1 µg/g以上のものは5検体であった。PCR法では、10検体(83%)がえび陽性であり、かに陽性の検体は無かった。さつま揚げについては、ELISA法では12検体中11検体(92%)が陽性(0.37-11.74 µg/g)であり、そのうち1 µg/g以上5 µg/g未満のものは6検体、5 µg/g以上10 µg/g未満のものは1検体、10 µg/g以上のものは1検体、であった。PCR法では、8検体(67%)がえび陽性であり、1検体でかに陽性であった。また、全体をとおして、ELISA法では陽性だがPCR法では陰性となった検体が4検体(H-1、H-8、S-9、S-12)、ELISA法では陰性だがPCR法では陽性となった検体が4検体(C-2、H-4、H-6、K-5)見られた。

S-4、S-8については、かにPCR産物のアガロースゲル電気泳動においてポジティブコントロールのPCR産物と非常に近い位置にバンドが確認された。かにPCR法については、シャコが偽陽性となること、また、大豆由来のかにPCR産物が電気泳動上でかに由来

PCR産物に非常に近い位置に現れる場合がある(PAGE電気泳動により分離可能である)ことが報告・情報提供されている。そこで、それぞれのかにPCR産物のPAGE電気泳動を行った。結果を図5に示す。S-8では、ポジティブコントロール由来のかにPCR産物よりもやや下にPCR産物のバンドが見られ、このPCR産物がかに由来である可能性は非常に低いと考えられた。S-4では、PAGE電気泳動においてもポジティブコントロール由来のかにPCR産物と同じ移動度にPCR産物のバンドが見られた。また、シャコ検出用PCRを行ったところ、S-4由来のPCR産物は見られなかった。従ってS-4のかにPCR産物がかに由来であると判断した。

[4] アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発

各クローン培養上清の反応性を、未変性 Casein と変性 Casein を用いて確認したところ、良好に反応する4種クローン(2G12、3B11、3G6、2G7)が得られた。すべて未変性 Casein と変性 Casein の両方に反応した(図6)。

[5] ごまアレルゲンの解析

栽培用の種子ゴマ、食用の洗いゴマ、煎りゴマについて、それぞれ黒ゴマ、白ゴマ、金ゴマの市販品を購入した(黒、白、金は種皮の色の違いに基づく呼称であり、品種の違いではない)。それぞれタンパク質を抽出して電気泳動を行った結果を図7に示す。50 kDa 付近の2本のバンドが11S グロブリン、15 kDa 付近のバンドが2S アルブミンである。11S グロブリンには4種のアイソフォームが存在することが知られている。図7ではバンドが2本見られるが、分子量から判断して、下のバンドがアイソフォーム1(及び4)、上のバンドがアイソフォーム2(及び3)と思われる。また、2S アルブミンには3種のアイソフォームが存在するが、この電気泳動では分離されていない。煎りゴマでは、おそらく加熱によるタンパク質分解のために薄くなっているバンドも見られるが、洗いゴマ、種子ゴマ、煎り

ゴマの比較において、また、黒ゴマ、白ゴマ、金ゴマの比較において、タンパク質電気泳動像に大きな違いは見られなかった。

図8には、患者血清を用いたウェスタンブロッティングの結果を示す。ゴマ負荷試験陽性患者(A8-0001)血清中のIgE抗体は、11S グロブリン、2S アルブミンに強く結合した。ゴマ負荷試験陰性患者(A8-0005~0007)及び健常人(Normal)の血清では、このような強い結合は見られなかった。負荷試験未実施の患者(A8-0002~0004)では、A8-0004 でのみ強い結合が見られた。図中のバンド①Aは11S グロブリンのアイソフォーム1(Ses i 6) (and /or アイソフォーム4)、①B(①Aの上方の薄いバンド)はアイソフォーム2(Ses i 7) (and/or アイソフォーム3)であることを、ウサギ抗血清との反応より確認した。図7では2本のバンドのタンパク量はほぼ同等であるが、図8ではAの方が強く反応している。従って、患者血清中のIgEはアイソフォーム2(あるいは3)よりもアイソフォーム1(あるいは4)に強く結合することが示された。

D. 考察

[1] 特定原材料ELISAキット用タンパク質抽出液の改良

今年度は、亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いた標準品原液の調製について検討した。そば及び落花生においては、亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いた場合のタンパク質濃度が2-ME含有抽出液を用いた場合よりもやや低くなった。また、SDS-PAGE電気泳動像においては、卵及び甲殻類において、高分子領域に若干の違いが見られた。今後は、亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いて調製した標準品をELISAキットに適用し、検量線及び実際の食品の測定値等を2-ME含有抽出液を用いた場合と比較して、亜硫酸ナトリウム含有抽出液の妥当性を検討していく。

[2] リンゴ検知ELISA法の開発

ウサギポリクローナル抗体を用い、9種のリンゴ及びリンゴジュースについて解析した結果から、Mal d 1、

Mal d 4 いずれの抗原も、検知用の標的抗原として適用可能と考えられた。しかしながら、Mal d 1、Mal d 4 ともに可溶性抗原として知られているにもかかわらず、繊維(パルプ)とともに沈殿しやすいことに留意する必要がある。今回作製した抗体はリンゴの Mal d 1、Mal d 4 をウエスタンブロッティング法にて検出可能であった。今後、特異性の高いモノクローナル抗体との組み合わせによってサンドイッチ ELISA 検出系の構築が可能と考えられた。

[3] 加工食品に含まれる甲殻類の実態調査

ちくわ、はんぺん、かまぼこ、さつま揚げの4種の魚肉すり身加工食品において、ELISA 法陽性率はそれぞれ 83%、50%、75%、92%、えび PCR 法陽性率はそれぞれ 92%、50%、83%、67%であり、比較的高い陽性率であった。しかし、ELISA 法で 5 µg/g 以上 10 µg/g 未満であったものはさつま揚げ 1 検体、10 µg/g 以上であったものもさつま揚げ 1 検体のみであり、甲殻類タンパク質の含有量としては少ないものがほとんどであった。PCR 法で陽性となったのはほとんどがえび PCR 法であり、かに PCR 法で陽性となったのはさつま揚げ 1 検体(S-4)のみであった。S-8 において PAGE 上でかに PCR 産物と非常に近い位置に見られたバンドが何に由来するものであるかについては、塩基配列解析等さらなる検討が必要であろう。

表 3 にはそれぞれの検体製品の原材料欄に記載されていた魚種名が示されている(空欄は魚種名が記載されていなかったものである)。タイ類、グチ、キス、ニシン、アジ等の比較的魚体の小さい魚では、加工過程において内臓を完全に除去することが困難なため、魚が摂取している甲殻類タンパク質がすり身に混入する可能性が高いと考えられる。本研究に用いた検体中、原材料欄に魚体の小さい魚が記載されていた 15 検体(C-2、C-7、C-9、C-12、H-4、K-1、K-2、K-4、K-7、K-8、K-9、K-11、K-12、S-1、S-9)では、ELISA 法あるいは PCR 法で陽性となった割合は 87%(13 検体)であり、一方、原材料欄に魚体の大きい魚のみが記載されていた 9 検体(C-8、C-11、H-2、H-5、H-8、

H-11、H-12、K-10、S-8)では 44%(4 検体)であった。この差は前述のような魚体の大きさによる甲殻類混入の違いを反映している可能性がある。

全 48 検体中、ELISA 法と PCR 法の結果が合致しないものが 8 検体あった。ELISA 法では陽性だが PCR 法では陰性となった検体については、含有量が少ないために ELISA 法では検出可能であっても PCR 法は検出できない可能性、あるいは、ELISA 法では検出されるが PCR 法では検出されない、えび・かに以外の甲殻類(オキアミ類、アミ類等)が含まれている可能性が考えられる。また、ELISA 法では陰性だが PCR 法では陽性となった検体については、加工過程においてタンパク質が分解され ELISA 法では検出されなかった可能性が考えられる。

[4] アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発

本検討で調製した4種のモノクローナル抗体は、未変性 Casein のみでなく変性 Casein にも反応する抗体であり、加工食品中の牛乳タンパク質を検出することが可能であると考えられる。また、モノクローナル抗体であるため半永久的な供給が可能であり、新規検出システムへの安価な抗体供給が見込まれる。

[5] ごまアレルギーの解析

11S グロブリンの4種のアイソフォームのうち、アイソフォーム1は Ses i 6、アイソフォーム2は Ses i 7 というアレルギー名称が付されている。アイソフォーム1はアイソフォーム2より42アミノ酸残基分短く、また、両者のアミノ酸相同性は36%程度である。患者血清中の IgE はアイソフォーム2(Ses i 7)よりもアイソフォーム1(Ses i 6)に対して強く反応したことから、アイソフォーム1(Ses i 6)に特徴的なエピトープに強く結合するものと考えられる。

E. 結論

[1] 特定原材料 ELISA キット用タンパク質抽出液の改良

特定原材料 ELISA キットにおいて使用するタンパク質抽出液について、毒物に指定された 2-ME を含有する従来の抽出液に代わるものとして、亜硫酸ナトリウム含有抽出液に関する検討を行った。亜硫酸ナトリウム含有抽出液を用いて標準品原液を調製したところ、そば及び落花生においてはタンパク質濃度が 2-ME 含有抽出液を用いた場合よりもやや低くなり、また、SDS-PAGE 電気泳動像においては、卵及び甲殻類において、高分子領域に若干の違いが見られた。今後は ELISA キットへ適用し、検量線及び実際の測定値についての検討を進める。

[2] リンゴ検知ELISA法の開発

Mal d 1, Mal d 4 とともに各種リンゴにおいて一定レベルで含有されていることから、リンゴ検知 ELISA 法のためのターゲット分子として、Mal d 1, Mal d 4 を選択することも可能であると考えられた。今後は、加工に対する安定性や、他の果実のホモログ分子とのホモロジーの程度なども考慮して決定する必要がある。

[3] 加工食品に含まれる甲殻類の実態調査

魚肉すり身を原料とする加工食品であるちくわ、はんぺん、かまぼこ、さつま揚げ、合計48検体について、ELISA 法および PCR 法について甲殻類(えび、かに)混入の実態調査を行った。その結果、ELISA 法で陽性となったものは36検体(75%)であったが、そのうち1 µg/g 以上5 µg/g 未満のものが17検体、5 µg/g 以上10 µg/g 未満であったものが1検体、10 µg/g 以上であったものが1検体であった。PCR 法で陽性となったものは36検体(75%)であり、そのうち35検体はえびPCR 法陽性、1検体のみかにPCR 法ようせいであった。以上の結果から、魚肉すり身を原料とする加工食品には比較的高い割合で甲殻類が混入しているが、その約半分は含有量が1 µg/g 未満と少ないこと、また、ほとんどの場合はえびが混入していることが示された。

[4] アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量

的検知法の開発

今年度は、牛乳の α -Casein のモノクローナル抗体の調製を目的に、ハイブリドーマ作製を行った。今後は、得られた抗体を組み合わせるにより、安価、迅速、簡易な食物アレルギーの検出システム構築を目指して検討を進める。

[5]ごまアレルギーの解析

ゴマ抽出タンパク質の電気泳動像から、栽培用の種子ゴマ、及び食用の洗いゴマ、煎りゴマについて、また種皮色の違いである白、黒、金について、タンパク質の発現パターンに大きな違いはないことが示された。また、ゴマ抽出タンパク質とゴマアレルギー患者血清とのウェスタンブロッティングより、主要アレルギーである2S アルブミンの他に、タンパク量として最も多いアレルギーである11S グロブリンにも患者 IgE が強く反応することが示された。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R, Doi H, Shibata H, Urisu A. Determination of walnut protein in processed foods by enzyme-linked immunosorbent assay: Interlaboratory study. J AOAC Int. in press.
- 2) Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R, Morishita N, Matsumoto T, Urisu A. Enzyme-linked Immunosorbent assay kit for the determination of soybean protein in processed foods: Interlaboratory evaluation. J AOAC Int. 93(1), 243-248 (2010)
- 3) Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Teshima R. Japanese Regulations and Buckwheat Allergen Detection. Molecular Biological and Immunological Techniques and Applications for Food Chemists, (Ed. Popping B, Diaz-Amigo C, Hoenicke K) John Wiley & Sons, Inc. (2009)
- 4) 酒井信夫、安達玲子、中村厚、柴原裕亮、上坂良彦、清木興介、織田浩司、穂山浩、手島玲子、いわゆる健康食品に含まれる甲殻類様タンパク質量の

- 実態調査. 日本食品化学学会誌 16(3), 118-122 (2009)
- 5) 穂山浩、安達玲子、手島玲子、食物アレルギーについて. 都薬雑誌, 31(10), 18-22 (2009)
- 6) 安達玲子、酒井信夫、穂山浩、手島玲子、アレルギー物質を含む食品の表示と検査法 ―えび、かにの表示義務化―. 食品衛生学雑誌 50(3), J225-230 (2009)
- 7) 安達玲子、酒井信夫、穂山浩、手島玲子、特定原材料えび・かにの表示と検査法について. 食品衛生研究 59(4), 7-14 (2009)
- 8) 穂山浩、安達玲子、手島玲子、アレルギー検知法の新たな開発状況. 臨床免疫・アレルギー科 51(4), 363-370 (2009)

学会発表

- 1) Adachi R, Sakai S, Akiyama H, Teshima R, Taguchi H, Watanabe S, Hirao T, Urisu A. Interlaboratory validation of PCR methods for the detection of shrimp and crab in processed foods. 123rd AOAC Annual Meeting and Exposition (2009. 9)
- 2) Taguchi H, Watanabe S, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Teshima R. PCR methods for differential detection of allergenic shrimp and crab. 123rd AOAC Annual Meeting and Exposition (2009. 9)
- 3) 安達玲子、酒井信夫、穂山浩、手島玲子、田口大夢、渡辺聡、平尾宜司、特定原材料えび・かにを検知する特異的定性 PCR 法の妥当性確認 第 97 回日本食品衛生学会学術講演会 (2009. 5)
- 4) 伊東花織、小山由利子、渡邊恵理子、鶴間理恵子、山本貴之、加藤正俊、本庄勉、安達玲子、穂山浩、手島玲子、新抽出液を用いた特定原材料タンパク質の測定 第 97 回日本食品衛生学会学術講演会 (2009. 5)
- 5) 鶴間理恵子、渡邊恵理子、伊東花織、小山由利子、山本貴之、加藤正俊、本庄勉、安達玲子、穂山浩、手島玲子、イムノクロマト法を用いた加熱加工食品中の特定原材料タンパク質測定について 第 15 回日本食品化学学会総会・学術大会 (2009.5)
- 6) 酒井信夫、安達玲子、穂山浩、手島玲子、いわゆる健康食品中に含まれる甲殻類タンパク質の実態調査 第 15 回日本食品化学学会総会・学術大会 (2009.5)
- 7) 秋田涼子、小泉大輔、織田浩司、清木興介、酒井信夫、安達玲子、穂山浩、手島玲子、イムノクロマト法による甲殻類原材料検出キットの開発 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会 (2009. 10)
- 8) 小泉大輔、清木興介、織田浩司、中村健人、酒井信夫、穂山浩、安達玲子、手島玲子、加工食品中に混入する甲殻類タンパク質について 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会 (2009. 10)
- 9) 安達玲子、酒井信夫、中村厚、穂山浩、手島玲子、魚肉すり身を原材料とする加工食品に含まれる甲殻類の実態調査 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11)
- 10) 橋本博之、中西希代子、眞壁祐樹、宮本文夫、長谷川康行、安達玲子、穂山浩、手島玲子、特定原材料検査における海苔製品からの DNA 抽出法の検討 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11)
- 11) 中村厚、佐藤里絵、安達玲子、手島玲子、ソバ 16kDa アレルゲンに対するサンドイッチ ELISA 系の構築 日本薬学会第 130 年会 (2010.3)
- 12) 安達玲子、アレルギー物質を含む食品の表示と検査法について 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会シンポジウム (2009.11)
- 13) 安達玲子、アレルギー表示の検査法 日本食品衛生学会第 12 回特別シンポジウム (2010.1)
- 14) 澤田絵理奈、近藤武晴、矢野えりか、森山達哉、河村幸雄「リンゴのアレルゲンレベルの品種間差違の検討:低含有品種の探索」2009 年度(第 48 回)日本栄養・食糧学会近畿支部大会(京都)2009 年 11 月

G. 知的財産権の登録

なし

H. 参考文献

なし

表1. 各特定原材料の一次標準粉末から標準品原液を調製する際の抽出液(現行法)

卵、牛乳	0.5% SDS及び2% 2-MEを含有するPBS (pH 7.4)
小麦	0.5% SDS及び2% 2-MEを含有する0.1M Tris-HCl (pH 8.6)
そば、落花生	0.5% SDS, 2% 2-ME及び0.5M NaClを含有する20mM Tris-HCl (pH 7.5)
甲殻類	0.5% SDS、2% 2-ME、1% Inhibitor Cocktail、5mM EDTAを含有するPBS (pH 7.4)

表2. 亜硫酸ナトリウム含有抽出液により調製した標準品原液のタンパク定量結果

	2-ME (mg/mL)	Na ₂ SO ₃ (mg/mL)	Na ₂ SO ₃ /2-ME (%)
卵(Lot.1)	5.46 ± 0.06	5.19 ± 0.08	95.1
卵(Lot.2)	5.48 ± 0.06	5.56 ± 0.16	101.5
牛乳	3.30 ± 0.01	3.39 ± 0.07	102.7
小麦	5.01 ± 0.13	5.00 ± 0.03	99.8
そば	3.72 ± 0.12	3.22 ± 0.03	86.6
落花生	4.40 ± 0.15	3.97 ± 0.12	90.2
甲殻類	4.03 ± 0.04	4.04 ± 0.03	100.2

(n = 3) (n = 3)

表3. 魚肉すり身製品に含まれる甲殻類の実態調査結果

ちくわ

試料No.	ELISA (µg protein / g)		PCR			魚肉原材料表示
	Mキット	Nキット	えび	かに	動物	
C-1	N.D.	0.65	+ / +	- / -	+ / +	
C-2	N.D.	N.D.	+ / +	- / -	+ / +	たら、ぐち(9%)
C-3	0.98	1.13	+ / +	- / -	+ / +	たら、その他
C-4	1.56	0.93	+ / +	- / -	+ / +	
C-5	1.04	2.70	+ / +	- / -	+ / +	
C-6	N.D.	0.65	+ / +	- / -	+ / +	
C-7	1.67	1.56	+ / +	- / -	+ / +	いとよりだい、たら、えそ、れんこだい(10%)
C-8	0.67	0.96	+ / +	- / -	+ / +	たら、ほっけ
C-9	0.45	0.60	+ / +	- / -	+ / +	たら、ぐち(13%)、いとよりだい、その他
C-10	N.D.	0.53	- / +	- / -	+ / +	たら、その他
C-11	0.67	1.15	+ / +	- / -	+ / +	たら、ほっけ
C-12	N.D.	N.D.	- / -	- / -	+ / +	すけとうだら、たい、きす、こち

表3. 魚肉すり身製品に含まれる甲殻類の実態調査結果(続き)

はんぺん

試料No.	ELISA		PCR			魚肉原材料表示
	(μg protein / g)		えび	かに	動物	
	Mキット	Nキット				
H-1	N.D.	0.73	-/-	-/-	+ / +	
H-2	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	さめ、たら
H-3	0.39	0.62	+ / +	-/-	+ / +	
H-4	N.D.	N.D.	+ / -	-/-	+ / +	さめ、いとより
H-5	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	さめ
H-6	N.D.	N.D.	+ / +	-/-	+ / +	
H-7	1.20	0.69	+ / +	-/-	+ / +	
H-8	0.55	N.D.	-/-	-/-	+ / +	よしきりさめ、あおさめ
H-9	0.33	0.57	+ / +	-/-	+ / +	
H-10	N.D.	0.74	- / +	-/-	+ / +	
H-11	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	さめ、たら
H-12	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	たら、さめ、黒皮かじき

かまぼこ

試料No.	ELISA		PCR			魚肉原材料表示
	(μg protein / g)		えび	かに	動物	
	Mキット	Nキット				
K-1	N.D.	0.66	+ / +	-/-	+ / +	たら、いとより、きんときだい、その他
K-2	N.D.	0.64	+ / +	-/-	+ / +	たら、ぐち、その他
K-3	3.61	3.63	+ / +	-/-	+ / +	
K-4	0.62	1.15	+ / +	-/-	+ / +	たら、ぐち、いとよくだい
K-5	N.D.	N.D.	- / +	-/-	+ / +	たら、その他
K-6	N.D.	0.43	+ / -	-/-	+ / +	
K-7	1.68	1.28	+ / +	-/-	+ / +	たら、ちだい、いとより、その他
K-8	3.34	4.91	+ / +	-/-	+ / +	ぐち、たら
K-9	0.63	0.81	+ / +	-/-	+ / +	たら、ぐち、たい
K-10	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	たら
K-11	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	たら、いとよくだい、ぐち、その他
K-12	0.93	1.19	+ / +	-/-	+ / +	ぐち、いとよくだい、たら

さつま揚げ

試料No.	ELISA		PCR			魚肉原材料表示
	(μg protein / g)		えび	かに	動物	
	Mキット	Nキット				
S-1	2.70	2.12	+ / +	-/-	+ / +	にしん、たら、あじ、ぐち、その他
S-2	2.94	1.68	+ / +	-/-	+ / +	
S-3	11.74	9.22	+ / +	-/-	+ / +	
S-4	0.60	0.45	-/-	+ / +	+ / +	
S-5	1.57	1.19	+ / +	-/-	+ / +	
S-6	1.13	0.88	- / +	-/-	+ / +	
S-7	3.64	5.09	+ / +	-/-	+ / +	
S-8	0.55	0.75	+ / -	- / -*	+ / +	ほっけ
S-9	0.92	1.21	-/-	-/-	+ / +	にしん、たら、あじ、ぐち、その他
S-10	1.54	2.06	+ / +	-/-	+ / +	
S-11	N.D.	N.D.	-/-	-/-	+ / +	
S-12	N.D.	0.37	-/-	-/-	+ / +	

*S-8 については PAGE 電気泳動によりかににである可能性は低いと判断した。

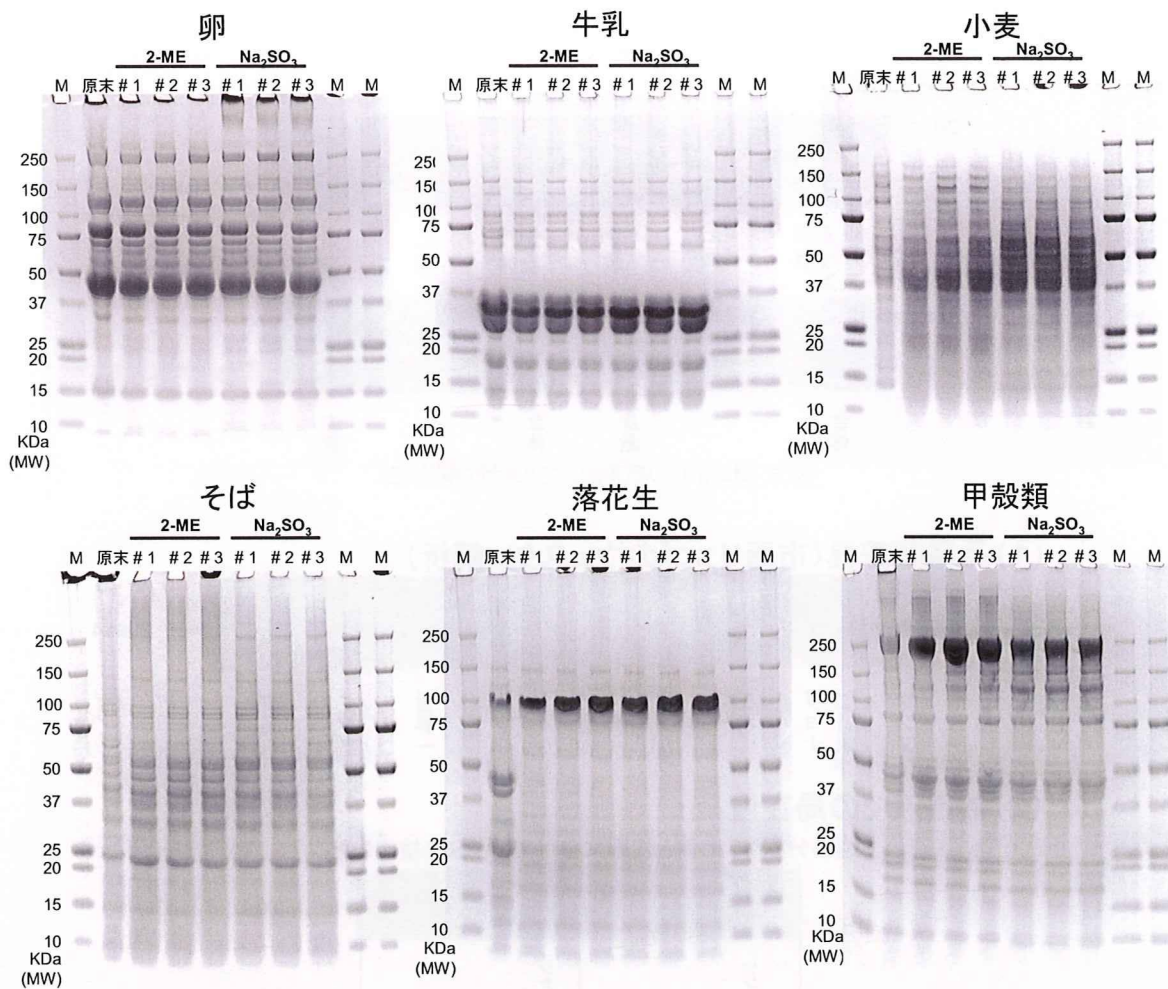
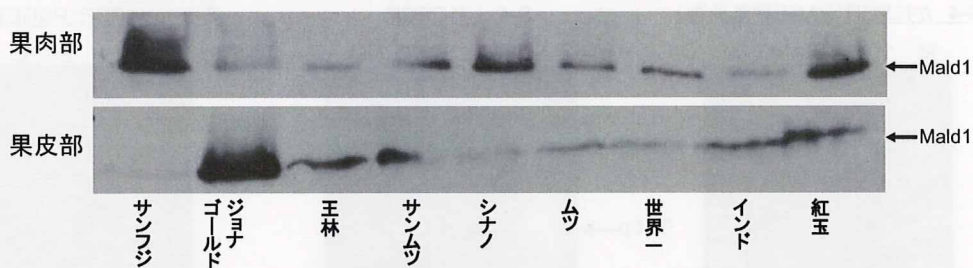


図1. 2-ME 含有抽出液及び亜硫酸ナトリウム含有抽出液により調製した標準品原液の電気泳動像

(1) 品種間差異(市販リンゴのウェスタン解析)



(2) リンゴジュースでの検出(市販リンゴジュースのウェスタン解析)
(1~6:透明なタイプのジュース) (7~9:濁ったタイプのジュース)

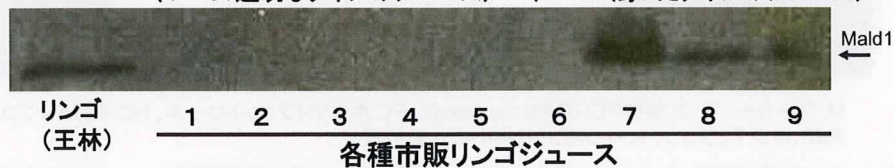
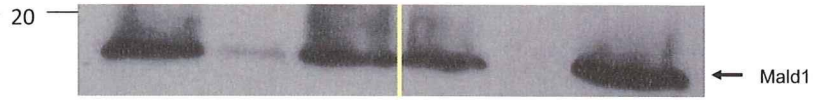


図2. Mal d 1 の抗原としての特性解析(1)

<リンゴ抽出液>



<リンゴジュース>

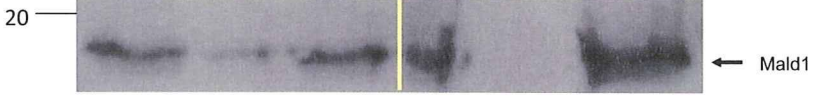
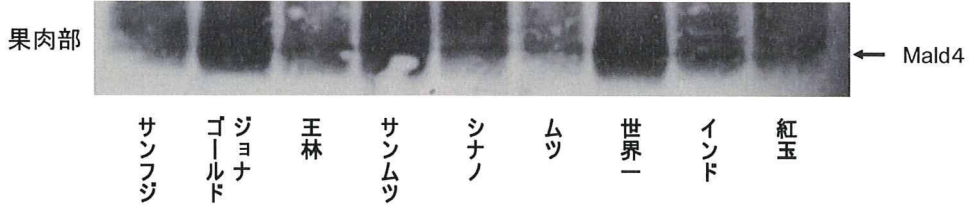


図 3. Mal d 1 の抗原としての特性解析 (2)

(1) 品種間差異(市販リンゴのウェスタン解析)



(2) 抽出液での局在性

遠心分離し、上清と沈殿に分けてMal d 4を検出した

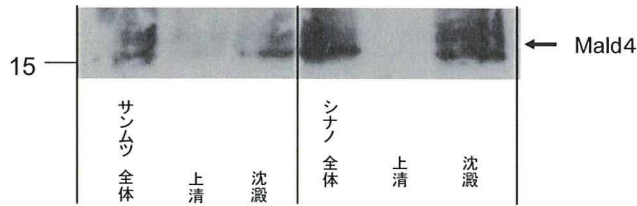
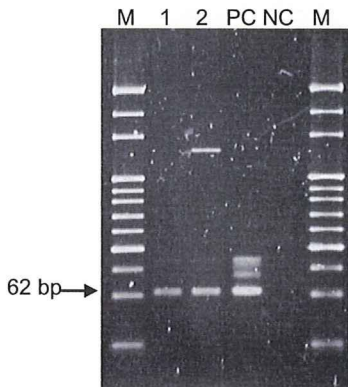


図 4. Mal d 4 の抗原としての特性解析

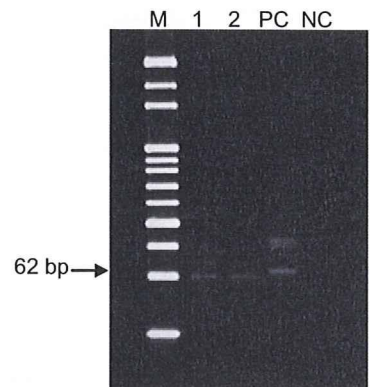
S-4 カニPCR (PAGE電気泳動)



S-4 シャコPCR



S-8 カニPCR (PAGE電気泳動)



M: マーカー、1, 2: 検体PCR産物 (duplicate)、PC: ポジティブコントロール、NC: ネガティブコントロール
矢印: ポジティブコントロールPCR産物の泳動位置

図 5. さつま揚げ検体 (S-4, S-8) のカニ PCR 産物 PAGE 電気泳動及びシャコ PCR の結果

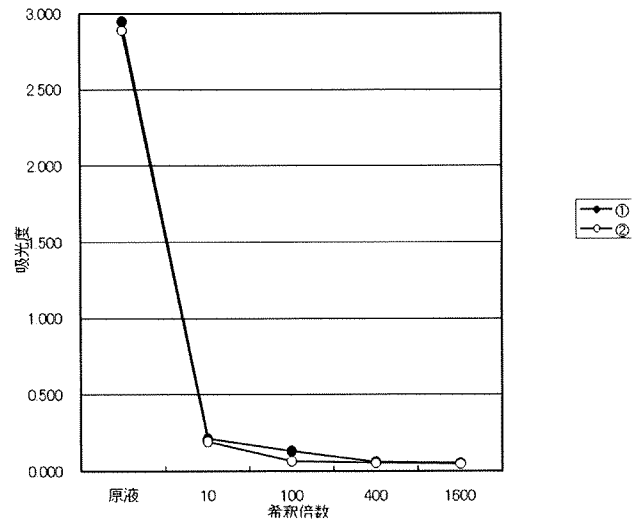
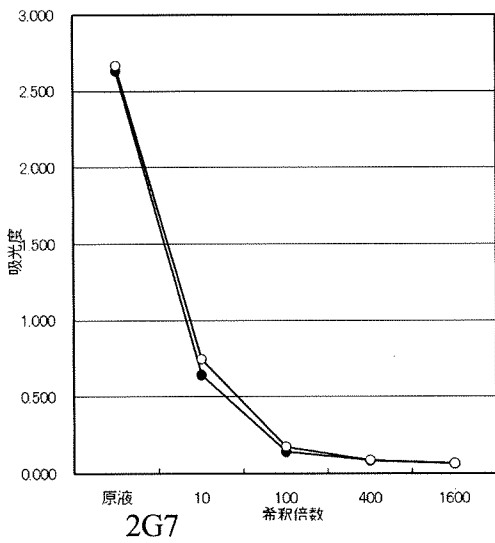
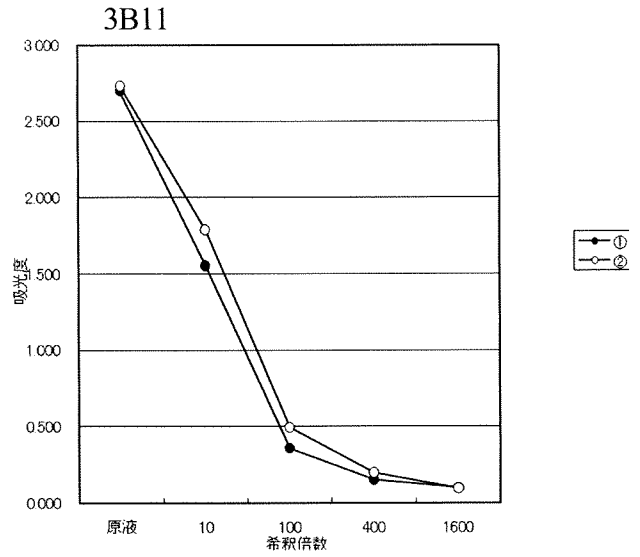
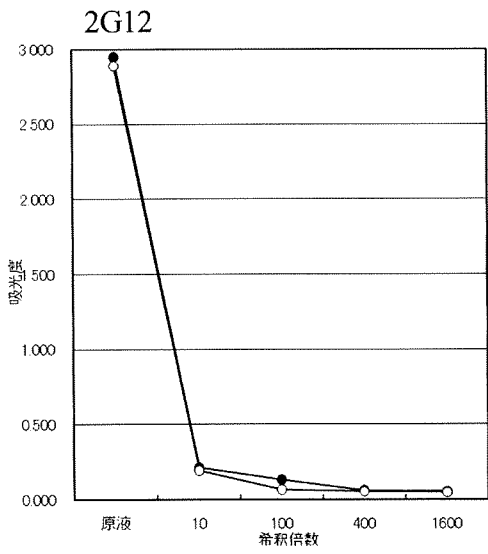


図6. α -Casein 培養上清抗体価確認(ELISA)

コーティング: 抗原 $1 \mu\text{g/ml}$ $100 \mu\text{l/well}$ 4°C over night

ブロッキング: x4 ブロックエース $200 \mu\text{l/well}$ 25min shake

1次抗体反応: $100 \mu\text{l/well}$ 60min shake

2次抗体反応: 抗ラット IgG POD 標識抗体 $100 \mu\text{l/well}$ 45min shake

発色反応: ABTS \cdot H₂O₂ $100 \mu\text{l/well}$ 15min shake 415nm

①: 未変性 α -Casein

②: 変性 α -Casein

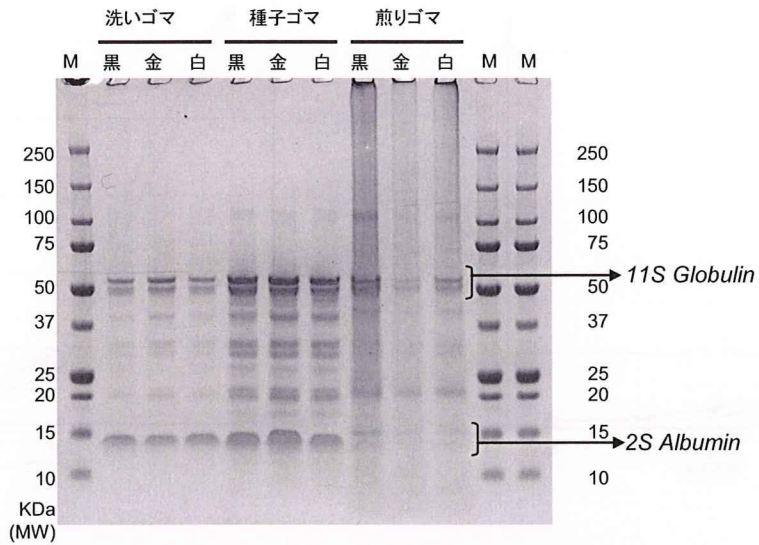


図7. ゴマタンパク質の電気泳動像(非還元条件下)

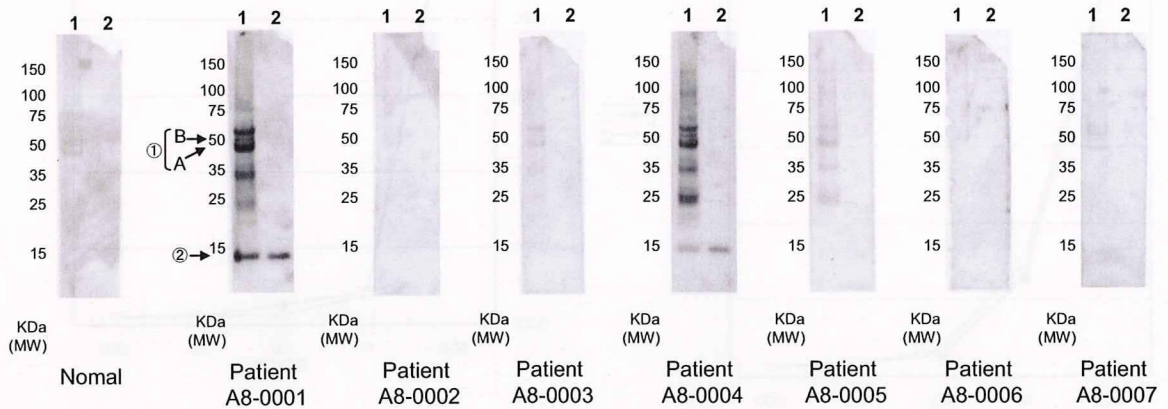


図8. ゴマタンパク質とゴマアレルギー患者血清との反応性解析

レーン1: ゴマ抽出タンパク質(洗いゴマ黒)、レーン2: 精製2Sアルブミン

Normal: 健常人、A8-0001: ゴマ負荷試験陽性、A8-0002~4: ゴマ負荷試験未実施、A8-0005~7: ゴマ負荷試験陰性

① : 11S グロブリン(A: isoform 1 (Ses i 6), B: isoform 2 (Ses i 7))

②: 2S アルブミン

食物アレルギーの原因抗原の分布調査

研究分担者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部
研究協力者 今井 孝成 国立病院機構相模原病院 小児科
杉崎 千鶴子 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部

研究要旨

背景：食品衛生法アレルギー物質を含む表示が始まり 8 年が経過するが、表示ミスに関する検証が行われたことはない。

目的：即時型食物アレルギー全国モニタリング調査から得られた表示ミス症例に対して二次調査を行い、本法の表示ミスの現状を把握し、問題を表出させることを目的とする。

結果：回収された 41 例中、分析不適当な 16 例以外の 25 例を分析対象とした。衛生法違反が 15 名 (60.0%)、店頭表示ミスが 7 名 (28.0%) であり、表示ミスの多くが製造・販売元の認識不足や誤解であった。衛生法違反 15 例のうち、表示の問題を製造・販売元に通報していたのは 53%、保健所へ通報していたのは 20% であった。

結論：食品衛生法アレルギー物質を含む表示の製造・販売業者、消費者（患者）、そして医師に対する普及啓発活動が強く求められる。

A. 研究目的

我が国では、食物に起因するアレルギー反応の健康被害を未然に防ぐ目的で、平成 13 年に食品衛生法アレルギー物質を含む食品の表示が始まり、容器包装された食品および食品等に対して特定原材料 5 品目（現在は 7 品目）に義務表示、特定原材料に準ずるもの 19 品目（現在は 18 品目）に推奨表示が課せられた。

それから 8 年が経過し、本法は即時型食物アレルギーの疫学の結果をもとに、定期的にその妥当性の検証が行われてきた。

しかしこれまで表示違反に関する調査はなく、それに基づいた本法の検証はない。このため今回、即時型食物アレルギー全国モニタリング調査から得られた表示ミス症例に対して二次調査を行い、本法の表示ミスの現状を把握することを目的とする。

B. 研究方法

対象は、平成 20 年即時型食物アレルギー全国モニタリング調査（詳細は※参照）にて、即時型食物アレルギー症状の発症原因が“表示ミス”で返信があった 63 名（41 施設）とし、2 次調査を郵送法で平成 21 年 11～12 月に行った。調査内容

は患者背景（年齢、性別、事故当時の除去食物）、表示ミスの原因食物と具体的な食品名、ミスの原因と発覚した理由、事故後の対応として製造・販売元への指摘と対応、保健所への指摘と対応などとした。

※平成 20 年即時型食物アレルギー全国モニタリング調査はアレルギーを専門とする医師（日本アレルギー学会指導医および専門医、日本小児アレルギー学会会員）968 名の参加協力をえて行われた。調査対象は“何らかの食物を摂取後 60 分以内に症状が出現し、かつ医療機関を受診したもの”とした。調査項目として、症状発症が初発/誤食なのかを聴取し、このうち誤食が原因であった場合、それが食品衛生法アレルギー物質を含む表示のミスか否かを調査している。

C. 研究結果

調査票は回収率が 70.7% (31/41 施設) であり、41 名 (61.9%) が集積された。このうち医師や患者の誤解や勘違いなどの 16 例を除いた 25 名を分析対象とした。

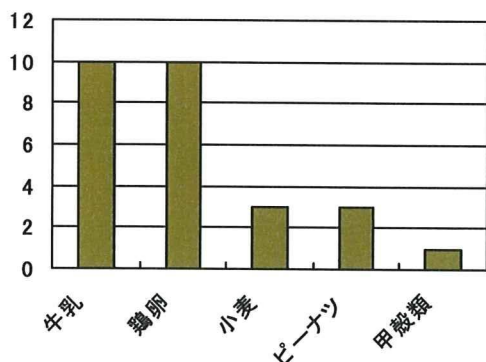
対象年齢は 3.3 ± 2.1 歳（平均±標準偏差）、男女比は 1.5 (15/10) であった。除去品目数は一人当たり 1.8 ± 0.9 品、鶏卵 21 名、牛乳 12 名、小麦 5 名、その他 7 名であった。

1) 表示ミス内訳

衛生法違反が15名(60.0%)、店頭表示ミスが7名(28.0%)、詳細不明が3名であった。食品別には牛乳と鶏卵が各10例で最も多く、以下小麦、ピーナツが続いた(図1)。

衛生法違反15例の詳細を以下に示す(具体的食品(抗原))。症例はイチゴ豆乳(乳)、きな粉パン(卵、乳)、和菓子(卵)、アメリカンドック(乳)、クッキー(乳)、よもぎ餅(小麦)、ふりかけ(卵) ハンバーグ(乳)、ベーグル(乳)、豆腐ドーナツ(乳)、ミートボール(甲殻類)、コ

図1 表示ミスの原因食物



ッペパン(乳)、詳細不明×3(卵、ピーナツ×2)であった。

店頭表示ミス7例の詳細を同様に以下に示す。症例は、うどん(卵)、お好み焼き(卵)、クレープ(卵)、アイス(卵)、フォカッチャ(乳)、惣菜(卵)、和菓子(卵)であった。

2) 表示ミスの原因

表示ミスが発覚した理由は、“症状が現れないはずの食品表示で症状が誘発されたため”が17例、“原因不明の症状を精査する過程”が6例、“記入なし”が2例であった。

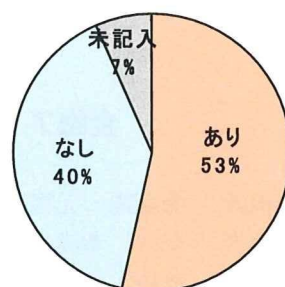
表示ミスの原因は、“食品会社がアレルギー表示法を認識していなかった”が6例、“原因食物の混入”が5例、“食品会社がアレルギー表示法を誤解していた”が4例、“原料の変更に対応せず、記載もれ”が3例、“店頭販売なのでもともと記載なし”が2例、“不明”が1名、“記入なし”が4例であった。

3) 事故後の対応

3-1) 製造・販売元

表示ミス25例のうち、製造・販売元への問題の通報が行われていたのは15例(60.0%)、通報していなかったのが8例(32.0%)、未記入が2例であった。

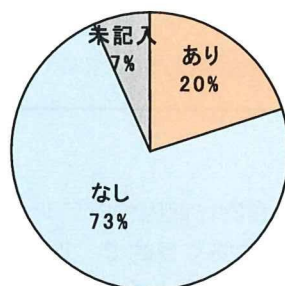
図2 製造・販売元への通報



事業所へ問題を通報した15例のうち、先方の対応や説明に対して、“非常に満足していた”のは1例、“満足していた”のは9例で、合計10例(66.7%)が対応に満足していた。一方で“やや不満”が4例、“不満”が1例であった。

衛生法違反の15例に限ってみれば、事業所へ

図3 保健所への通報



問題の通報が行われていたのは8例(53.3%)、通報していなかったのが6例(40.0%)、記入なしが1例であった(図2)。

問題を通報した8例のうち、製造・販売元の対応や説明に対して、非常に満足していたのは1例、満足していたのは3例で、合計4例(50.0%)が対応に満足していた。一方でやや不満が3例、不満が1例であった。

3-2) 保健所など

衛生法違反の15例に関して、保健所通報をしたのは3例、なしが11例、記入なしが1例であった(図3)。

またELISA法による抗原検索は1例で実施され、未実施は9例であった。ELISA法を特異的IgE値の検査と勘違いしている例が3例、記入なしが2例であった。

製造・販売元への行政処分があった例はなく、8例が処分なし、6例が不明、記入なしが1例であった。

D. 考察

今回の調査で表示ミスは 2 つに分類される。ひとつは容器包装された加工食品などに対する表示ミスであり、これはつまり食品衛生法違反に該当する。もう一つは店頭における表示ミスで、これは容器包装されていないので、食品衛生法違反に該当しないが、不適切な表示の結果、患者が健康被害に見舞われている例である。何れもそれぞれに問題を包含する。

表示ミスの約 3 割を占める容器包装されていない店頭販売の商品の表示は本来アレルギー表示法の管轄外である。しかし、十分にアレルギー表示に関する理解がない消費者（患者）は、店頭の商品のアレルギー表示を見たときに、アレルギー表示と見間違えるのは想像に難くない。このためアレルギー表示法の説明を行うときは、容器包装されていないもの（店頭販売やレストランなど）が本来の表示法の対象外であることを強調する必要がある。

またアレルギー表示法が発行され既に 8 年が経過した今になっても、法規違反が 15 件/年あることはゆゆしき問題である。表示ミスの原因も様々あるが、食品会社の認識不足や誤解、管理不足など、製造販売元の原因が主因であり、未だに一部の事業所では同法が周知されているとは言えない状況があることが分かる。こうした結果より、ますます引き続き同法の普及に注力する必要が示唆される。

事故後の対応として、衛生法違反 15 例の検証では、事業者へ通報した割合は 53%に過ぎず、さらに保健所への通報は 20%でしかなかった。本来は、さらなる健康被害の拡大を防ぐためにも事業者および保健所への通報は必須のはずであるが、医師の表示違反に対するアクションは低調であった。悪質な事業者への営業停止などの行政処分の社会的制裁を加えて行くことは、本法の周知にも一役を買おうと考えられる。そのためには表示ミスを疑うもしくは判断するケースに関しては、医師が起こすべきアクション（保健所へ通報するなど）が周知される必要がある。

ところが、現実には表示違反を発見した医師が、適切なアクションを起こすことが出来ていたとは言えない。そもそも今回の調査では、事前のモニタリング調査において表示ミスで登録された症例のうち、2 次調査で 34.2%が登録医師や患者の勘違いや誤解で除外症例となった。また

原因抗原診断に必要な ELISA 検査法を抗原特異的 IgE 検査と誤解している例があり、関係者の法制に対する理解度に大きな疑問が残った。

E. 結論

食品衛生法アレルギー物質を含む表示の製造・販売業者、消費者（患者）、そして医師に対する普及啓発活動が強く求められる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y Hitomi, M Ebisawa, M Tomikawa, T Imai, T Komata, T Hirota, M Harada, M Sakashita, Y Suzuki, N Shimojo, Y Kohno, K Fujita, A Miyatake, S Doi, T Enomoto, M Taniguchi, N Higashi, Y Nakamura and M Tamari: Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 124(4) 779-785, 2009
- 2) Tokuo Miyazawa, Kazuo Itahashi, Takanori Imai: Management of neonatal cow's milk allergy in high-risk neonates. *Pediatrics International* 51 544-547, 2009
- 3) Motohiro Ebisawa: Management of Food Allergy in Japan "Food Allergy Management Guideline 2008 (Revision from 2005)" and "Guidelines for the Treatment of Allergic Diseases in Schools". *Allergology International* 58(4) 475-483, 2009
- 4) Takatsugu Komata, Lars Söderström, Magnus P. Borres, Hiroshi Tachimoto, Motohiro Ebisawa: Usefulness of Wheat and Soybean Specific IgE Antibody Titers for the Diagnosis of Food Allergy. *Allergology International* 58(4) 599-603, 2009
- 5) Motohiro Ebisawa: How to Cope with Allergic Diseases at Schools in Japan From the standpoint of a pediatric allergist. *Japan Medical Association Journal* 52(3) 164-167, 2009