

- Paul Keith, Gideon Lack, Massimo Landi, Alberto Martelli, Fabienne Rancé, Hugh Sampson, Airton Stein, Luigi Terracciano and Stefan Vieths : World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines, *Pediatr Allergy Immunol.* 21 (Suppl. 21) ; 1-125. 2010.
- 52) Fiocchi A, Schünemann HJ, Brozek J, Restani P, Beyer K, Troncone R, Martelli A, Terracciano L, Bahna SL, Rancé F, Ebisawa M, Heine RG, Assa'ad A, Sampson H, Verduci E, Bouygue GR, Baena-Cagnani C, Canonica W, Lockey RF : Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA): A summary report. , *J Allergy Clin Immunol.*126(6) ; 1119-1128.e12. 2010.
- 53) Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, Imai T, Komata T, Hirota T, Harada M, Sakashita M, Suzuki Y, Shimojo N, Kohno Y, Fujita F, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Nakamura Y and Tamari M : 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.
- 54) Ebisawa M : 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.
- 55) Komata T, Söderström L, Borres MP, Tachimoto H, Ebisawa M : Usefulness of Wheat and Soybean Specific IgE Antibody Titers for the Diagnosis of Food Allergy, *Allergology International.* 58(4) : 599-603, 2009.
- 生に妊娠と飲酒に関するリーフレットを1回配布した場合の教育効果, *日本公衆衛生雑誌*, 57巻6号, 431-438, 2010.
- 59) 堀口逸子, 黒瀬琢也, 日高良雄, 丸井英二. 感染性胃腸炎対策研修プログラムにおけるゲーミングシミュレーション利用の評価. *厚生生の指標* 56 (10) 41-43, 2009.
- 60) 柳原康人, 森田一三, 坪井信二, 小林松美, 渡邊静男, 松久勝彦, 中垣晴男 住民の歯の健康づくり得点向上のための歯科衛生士訪問およびリーフレット郵送による介入研究, *日本公衆衛生雑誌*, 56巻11号, 795-804, 2009.

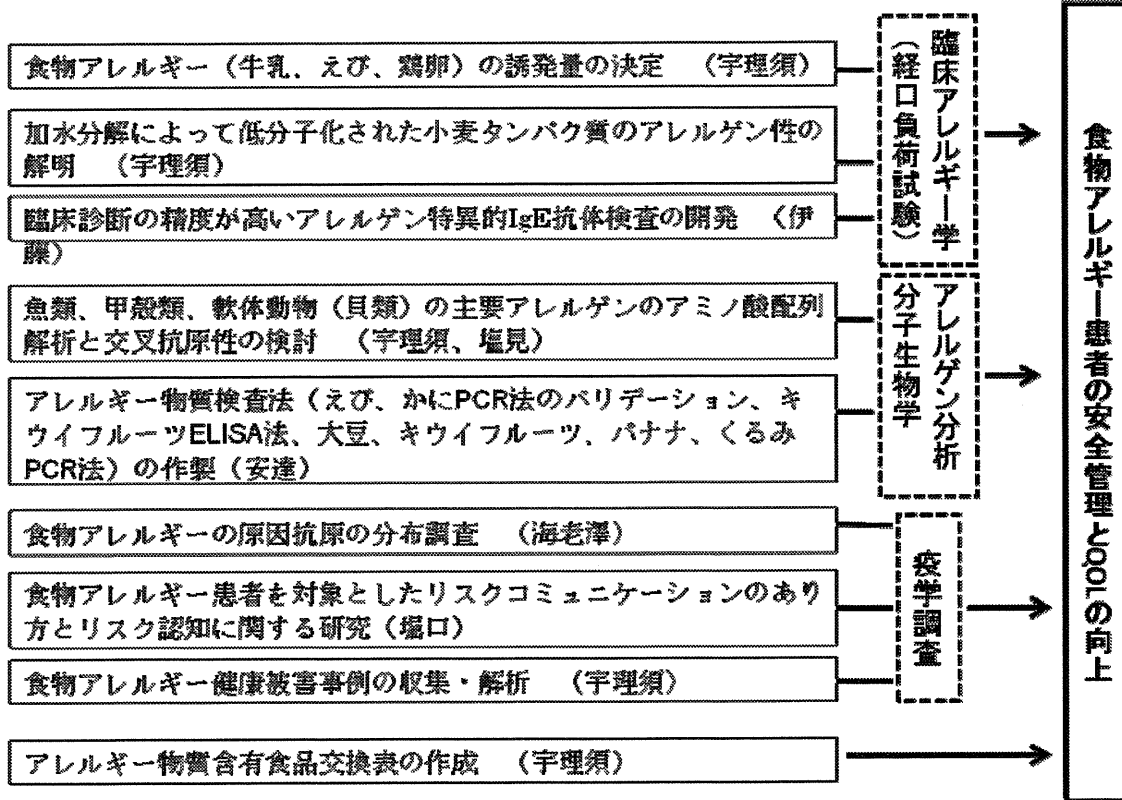
F.知的財産権の出願・登録状況

特になし

堀口

- 56) 堀川翔, 赤松利恵, 伊能由美子, 堀口逸子, 丸井英二 小学校の教職員を対象とした食の安全教育の現状と課題の質的検討 *栄養学雑誌* 69巻2号 P67-74, 2011.
- 57) 堀川翔, 赤松利恵, 堀口逸子, 杉浦淳吉, 丸井英二 : 小学校における食の安全教育を担う教職員の特徴—学校栄養士, 家庭科教諭, 養護教諭を対象とした調査— *栄養学雑誌*, 69(5) 253-260, 2011.
- 58) 三村明沙美, 須藤紀子, 加藤則子, 女子大学

図1科学的知見に基づく食物アレルギー患者の安全管理とQOL向上に関する研究



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）

平成 21-22 年度

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

平成 23 年度

食物アレルギー誘発量の決定とアレルギー物質含有食品早見表の作成に関する研究

研究分担者	宇理須 厚雄	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)
研究協力者	近藤 康人	(藤田保健衛生大学医学部 小児科)
	柘植 郁哉	(藤田保健衛生大学医学部 小児科)
	田中 健一	(藤田保健衛生大学医学部 小児科)
	安藤 仁志	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)
	鈴木 聖子	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)
	小松原 亮	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)
	平田 典子	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)
	成瀬 徳彦	(藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科)

研究要旨

1) 食物アレルギーの誘発量の決定: H21 年度から H22 年度にかけて食物アレルギー症状が誘発される最小誘発量検討のため、鶏卵 (90°C15 分) および牛乳で微量経口負荷試験を行った。加熱鶏卵陽性患者 112 名を対象に求めた 95%、99% 閾値はそれぞれ 29.2 μ g、2.7 μ g であった。牛乳アレルギー患者 102 名で求めた 95%、99% の患者をカバーする最小誘発閾値はそれぞれ 1265.5 μ g、22.9 μ g であった。このことから、大多数の患者は、加工食品の表示をみて購入すれば安全に食べる事が出来ると考えられた。しかし、ごく一部の患者は非常に微量でも症状が惹起され、最小誘発量を決定することは限界があることも判明した。また、特異的 IgE 抗体価や病歴から、誘発域値を推定することは不可能であることが分かった。よって、経口負荷試験を安全に行うために微量から開始した方が良いと思われる症例は、①一度も摂取歴がない食品の検査の場合、②誤食による誘発歴があっても域値が不明な場合、③負荷試験が陽性となる可能性が高い患者での誘発閾値を明らかにしたい場合等が考えられた。H23 年度は加熱エビ(ブラックタイガー)で微量経口負荷試験を行った。エビ陽性患者 54 名を対象に求めた 90%、95% 閾値はそれぞれ 88.4mg、35.4mg であった。

2) 食物アレルギー健康被害事例の収集・解析に関する研究:

これまでに収集した食物アレルギー健康被害事例の解析に基づき、発生場所を自宅、園学校、友人宅、外食とキャンプの 5 つのグループに分け、各グループにおける共通した原因に関する情報を拾い出すためのアンケートを作成しインターネットを利用して、食物アレルギーに関する約 400 例の健康被害事例を収集した。これらをグループ別に解析し、誤食の対策をまとめた冊子を作成した。H23 年におこった東日本大震災での食物アレルギーの患者および家族が体験した貴重な健康被害事例を収集し解析を行い、今後の震災時対策として掲載した。

3) アレルギー物質含有量に基づいた加工食品早見表の作成:

卵・牛乳・小麦・大豆など含有タンパク質量によってレベル別に分類した「加工食品のアレルゲン含有量早見表」をパンフレットとして作成した。ある程度食べられるようになった食物アレルギー患者の QOL 向上に役立つと期待している。しかし、このパンフレットの問題点は、メーカーが食品の規格を変えるごとに見直しが必要になる事であり、食品メーカー側との連携協力が不可欠という点である。

4) 表示対象食品のアレルゲン性に関する検討：

H20 年度

「サケ」の範囲は、日本標準商品分類に基づいて決定されているため、陸封性の「マス」は対象外になっている。サケ科サケ属に属するさく河性であるベニザケ、ギンザケと陸封性であるヒメマス、ニジマスのアレルゲン性の検討をした。魚アレルギー患者 50 名を用いた IgE 結合能の相関関係は、ベニザケ-ヒメマス間が一番高かった。さらにサケアレルギー患者 6 名での ELISA インヒビションの結果では、ベニザケとヒメマスはお互いに同等(約 100%)の阻害率を示した。これらの結果から両魚種の IgE 結合能には交差抗原性があり、その強さは同等と考えられた。H21 年度イクラとウニとの間に共通抗原性があり、その原因として両者の低分子タンパクの相同性が考えられた。また、イクラアレルギーの一部の症例がウニによる誘発症状があったことから、今後、両者の共通抗原性について検討が必要であると思われる。

H22 年度

食品表示推奨品目の一つであるが、本邦におけるアレルゲンに関する報告はない。オレンジに対して口腔アレルギーを呈する 4 症例を集めて抗原解析を行った。オレンジ抗原の 13kDa, 23kDa, 37kDa の蛋白バンドに対して患者の多くが IgE 結合性を示した。これらのうち 13kDa および 37kDa はスギ抗原添加で結合の抑制がみられたことから両者の共通抗原性の可能性が示唆された。

A. 研究目的

1) 食物アレルギーの誘発量の決定

これまで鶏卵・牛乳アレルギーにおいて症状が誘発される微量の摂取量に関する検討はなされていない。

鶏卵、牛乳および甲殻類(エビ)誘発域値について各アレルギー患者の 95% (95%陽性値)、99% (99%陽性値)をカバーする閾値について検討した。

2) 食物アレルギー健康被害事例の収集・解析

事例の場面ごとでの対策マニュアルを作成するため、昨年度までに我々は、収集した食物アレルギー健康被害事例の解析に基づき、発生場所を自宅、園・学校、友人宅、外食とキャンプの 5 つのグループに分け、各グループにおける共通した原因に関する情報を拾い出すためのアンケートを作成した。

アンケートの記入はインターネットをとおして行い、食物アレルギーに関連した健康被害事例を収集解析した。これらを家庭・園・学校など場面ごとに分類し、各場面における食物アレルギー対策に役立つ事例集を作成した

3) アレルギー物質含有食品早見表(早見表)の作成

食物アレルギー患者のほとんどは加齢に従いある程度まで原因食品を食べられるようになってくる。これまでそういった患者が、安全に加工食品を選ぶ際に役立つシステムがなく誤食につながっていた。

含有タンパク質量によってレベル別に分類した食品早見表を作成すれば、このような問題を解決できると期待し、昨年度までに行った研究では、経口負荷試験から求めた推定安全ゾーンから安全に摂取できるための安全係数 1/1,000 から 1/10 について検討した。その結果安全係数は 1/100 が良いと思われた。これらの結果を踏まえて、卵・牛乳小麦、大豆含有量早見表を完成した。

4) 表示対象食品のアレルゲン性に関する検討

H21 年度

特定原材料に準ずる食品群の中で、「サケ」の範囲は、日本標準商品分類に基づいて決定されているため、陸封性の「マス」は対象外になっている。しかし、これらのアレルゲン性に関する検討はこれまで行われていない。そこで、サケ科サケ属に属するさく河性であるベニザケ、ギンザケと陸封性であるヒメマス、ニジマスのアレルゲン性の検討をした。

H22 年度

イクラは乳幼児期に即時型反応をきたす主要な原因の一つで、多くの症例は初回の摂取で症状

をきたす。このことから交差抗原性を有する食品による感作が既に成立している個体が、イクラを食べた時に発症すると考えられるが、これまで鶏卵やその他の魚卵とイクラとは有意な共通抗原性は見出されていない。

予備実験としてイクラアレルギー患者 10 名の血清を用いて、卵黄、サケ、タラコ、カズノコ、ウニ抗原と ELISA inhibition を行った結果、ウニを阻害抗原として使用した場合に最も高率にイクラ IgE 結合能を抑制した。この結果から、今回イクラとウニに焦点を絞り、両者の交叉反応性の検討を行った。

H23 年度

オレンジは食品表示推奨品目の一つであるが、本邦におけるアレルギーに関する報告はない。今回はオレンジのアレルゲン解析を試みた。

B. 研究方法

1) 牛乳、鶏卵の誘発量の決定に関する研究

負荷試験の方法は、加熱 (90°C、15 分) 鶏卵経口負荷試験で準備した食品は以下に示す A 液と B 液である。90°C15 分加熱全卵 (FASTKIT エライザ Ver. II で測定した卵タンパク質 1300mg) を 100ml のジュースに溶かし、そのうちの 0.1ml (卵タンパク 1300 μ g) を 50ml のジュースに溶かした A 液と、90°C15 分加熱全卵 (卵タンパク質 1300mg) を 50ml のジュースに溶かした B 液で、加熱 (90°C15 分) 微量負荷試験は 30 分ごとに以下の 1-4 の順に増量し初日は終了とした (加熱卵微量負荷試験)。

(FASTKIT エライザ Ver. II で測定した卵タンパク質量 mg)

- 1、A 液 0.1 ml (0.002mg)
- 2、A 液 1.0 ml (0.02mg)
- 3、A 液 10 ml (0.26mg)
- 4、A 液 30 ml (0.78mg)

これら微量負荷試験が陰性であった場合に、加熱 (90°C15 分) 鶏卵負荷試験を以下の 1-4 の順に 30 分ごとに実施した (加熱卵普通量負荷試験)。

(FASTKIT エライザ Ver. II で測定した卵タンパク質量 mg)

- 1、B 液 0.1 ml (1.3mg)
- 2、B 液 1.0 ml (13.0mg)
- 3、B 液 10 ml (130.0mg)
- 4、B 液 38.9 ml (505.0mg)

牛乳経口負荷試験で準備した負荷試験用食品は、

牛乳 100 μ l (0.1ml) (FASTKIT エライザ Ver. II で測定した乳タンパク質 2,200 μ g) 牛乳タンパク質量は約 2,200mg を 200ml のジュースに溶した牛乳微量負荷試験用もの (A 液と略す) と牛乳 (B 液と略す) 100ml で、牛乳微量負荷試験は 30 分ごとに、以下の 1-5 の順に増量し初日は終了とした。(FASTKIT エライザ Ver. II で測定した乳タンパク質量 mg)

1. A 液 0.6ml (0.006mg)
2. A 液 1.5ml (0.016mg)
3. A 液 15 ml (0.16mg)
4. B 液 0.05ml (1.1mg)
5. B 液 0.1ml (2.2mg)

これら微量負荷試験が陰性であった場合に、牛乳普通量負荷試験を以下の 1-4 の順に 30 分ごとに実施した。(FASTKIT エライザ Ver. II で測定した乳タンパク質量 mg)

1. B 液 0.1ml (2.2mg)
2. B 液 1ml (22.0mg)
3. B 液 10ml (220mg)
4. B 液 89ml (\approx 2000mg)

加熱エビ負荷試験陽性域値に関しても検討を行った。加熱エビ経口負荷試験に関しては、漸増法で行い、誘発症状が出たところまでの合計摂取量で表した。

2) 食物アレルギー健康被害事例の収集・解析に関する研究

インターネットをとおして食物アレルギーに関連した健康被害事例を収集解析し、家庭・園・学校など場面ごとに分類し、各場面における食物アレルギー対策に役立つ事例集を作成した。

3) アレルギー物質含有量に基づいた食品早見表の作成

日本全国で販売されている約 100 種類の加工食品の卵、牛乳、小麦、大豆、落花生のアレルゲンタンパク含有量を FASTKIT エライザ ver. II (日本ハム) で測定し、そのうち分類できる食品群ごとにわけ (内訳はクッキー・ビスケットが 12 種類、卵ボーロが 9 種類、食パンが 20 種類、菓子パン類が 24 種類、ハム・ソーセージ類が 15 種類) 含有食品中の (卵・乳) タンパク量別に表を作成した。またこの際に、経口負荷試験とのリンクを可能にするため、牛乳および鶏卵経口負荷試験の結果から求めた推定安全量 (積算) に、昨年度までに検討した安全係数 1/100 をかけたタンパク質

含有食品から試すことを表中に付記した。

4) 表示対象食品のアレルゲン性に関する検討 H21年度

各魚抗原の抽出は1M-KCl PBS バッファーで抽出し、各抗原に対する患者 IgE 結合能とイムノブロットパターンを比較した。次に ELISA inhibition、Immunoblot inhibition を行い抗原性の相違につき検討した。IgE 結合能の相関に関しては病歴から魚アレルギーが疑われて採血した患者 50 名から得られたものを使用した。ELISA inhibition と immunoblot 試験においては、サケアレルギーの病歴のある 6 名とサケアレルギーの病歴はないが、サケ特異的 IgE が高値の患者血清 2 名を選んで行った。血清は明らかな病歴および負荷試験でサケアレルギーと診断した患者から収集した。

H22年度

イクラアレルギー患者でウニ IgE 高値の患者を選び、イクラとウニ間での共通抗原性について検討した。イクラ・ウニ抗原はこれまでと同様 1M KCl-PBS バッファーで抽出し、イクラとウニの交叉反応性の検討には ELISA inhibition と Immunoblot inhibition を用いて検討した。

H23年度

オレンジはミカン目ミカン科ミカン属オレンジ種に属する。オレンジに対して口腔アレルギーを呈する 4 症例を集めて抗原解析を行った。抗原抽出は 2M Sucrose buffer で行い、SDS-PAGE に引き続き Immunoblot を行い主要な抗原の検索を行った。その後スギ抗原を用いて Immunoblot inhibition も試み共通抗原性の有無を検討した。

C. 研究結果

1) 鶏卵、牛乳、エビの誘発量の決定に関する研究

H21年度：鶏卵あるいは牛乳アレルギー患者の 95% (95%陽性値) あるいは 90% (90%陽性値) をカバーする閾値について検討した。

加熱卵微量負荷試験を行った症例は 128 名(男児 81 名、女児 47 名：平均年齢 4.2±2.5 歳)、平均卵白特異的 IgE は 17.0±21.7UUA/ml、平均オボムコイド特異的 IgE は 12.1±20.0UUA/ml であった。陽性は 23 名 (男児 13 名、女児 10 名：平均年齢 3.4±1.3 歳)、平均卵白特異的 IgE は 15.3±14.9UUA/ml、平均オボムコイド特異的 IgE は 9.8±14.9UUA/ml。

加熱卵普通量負荷試験を行った症例は 168 名(男児 111 名、女児 57 名：平均年齢 4.7±2.7 歳)、平均卵白特異的 IgE は 12.9±19.8UUA/ml、平均オボムコイド特異的 IgE は 9.8±17.6UUA/ml であった。陽性は 89 名 (男児 55 名、女児 34 名：平均年齢 5.2±2.7 歳)、平均卵白特異的 IgE は 18.3±24.0UUA/ml、平均オボムコイド特異的 IgE は 14.6±22.0UUA/ml であった。

牛乳微量負荷試験を行った症例は 82 名(男児 54 名、女児 28 名：平均年齢 4.7±3.0 歳)、平均牛乳特異的 IgE は 12.4±21.1UUA/ml であった。

牛乳普通量負荷試験を行った症例は 122 名(男児 77 名、女児 45 名：平均年齢 4.9±2.9 歳)、平均牛乳特異的 IgE は 7.7±14.9UUA/ml であった。

陽性卵白タンパク質量と各抗体価の関係を図 1 と 2 に、牛乳陽性タンパク質量と牛乳特異的 IgE 抗体価の関係に関しては図 3 示す。また、加熱卵と牛乳の最小誘発量の検討(図 4)では、陽性者の 95%を含む域値は 29.2 μg、牛乳に関しては 1265.5 μg であった。99%のそれらに関する値は卵 2.7 μg、牛乳 22.9 μg であった(表 1)。

H23年度：加熱エビエビアレルギー患者の 90% をカバーする値は、106.2mg であった。エビ負荷試験陽性患者(54 名)での 90%および 95%陽性値はそれぞれ、88.4mg と 35.4mg であった(図 5)。

2) 食物アレルギー健康被害事例の収集・解析に関する研究

インターネットで約 400 例の事例が回収され、その中の 384 例が解析可能であった。その結果は、食品を摂取した後で誘発される例が多かった(図 6)が、中には接触によって誘発された症例もあった。約 40%が表示食品のチェックをきちっと行っていれば予防ができたと回答した(図 7)。それらの事例をまとめ解説し対策を加えた「食物アレルギーヒヤリハット事例集 2012」が完成した(図 8)。

3) アレルギー物質含有量に基づいた食品早見表の作成

測定したタンパク量に従い分類した卵・牛乳・小麦・大豆食品早見表をパンフレットとしてまとめた(図 9)。

4) 表示対象食品のアレルゲン性に関する検討
H21年度：サケとマスは同科同目同種に属する魚である(表 2)。魚アレルギー患者 50 名を用いた IgE 結合能の相関係数は、同種であるベニザケ

-ヒメマス間が一番高かった。(図 10 表 3)
各魚種との IgE 結合能の競合をみる試験では、患者により若干の差はみられたが、ベニザケ-ニジマス間ではどの患者でもお互いに 100%阻害を示した(図 11、図 12)。サケアレルギー患者でのイムノブロットで、ヒメマスにはベニザケでみられない高分子タンパクに質に対する IgE 結合能がみられた(図 13)。Inhibition immunoblot の結果いずれのタンパク質に対する特異的 IgE 結合も互いに阻害しあうことが判明し(図 14) ELISA インヒビションの結果と総合して両者の間には共通アレルゲン性が存在し、アレルゲン性はほぼ同一と考えられた。

H22 年度：イクラとウニ

イクラとウニの間には ELISA inhibition で共通抗原性があり(図 15) immunoblotting inhibition で低分子タンパク質が原因抗原と考えられた。また、イクラ患者の一部でウニによって誘発症状をきたした症例が存在した(Yasuto Kondo ら, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 107 (3): 283-4)。

H23 年度：オレンジ

4 名の患者を用いた Immunoblot の結果、3 名以上の患者が反応した蛋白バンドの分子量は 13kDa, 23kDa, 37kDa であった(図 16)。これらのうち 13kDa および 37kDa の一部の患者ではスギ抗原添加で結合の抑制がみられた(図 17)

D. 考察

1) 鶏卵、牛乳、エビの誘発量の決定に関する研究

鶏卵や牛乳アレルギー患者の 95%をカバーする値は、それぞれ 29.2 μ g、1265.5 μ g で、10 μ g を超える量で症状が惹起されることが判明した。エビアレルギー患者 54 名を対象に求めた 90%、95%閾値はそれぞれ 88.4mg、35.4mg であった。10 μ g を超える量で症状が惹起されることが判明した。

このことから、大多数の患者は、加工食品の表示をみて購入すれば安全に食べる事が出来ると考えられた。しかし、ごく一部の患者は非常に微量でも症状が惹起され、最小誘発量を決定することは限界があることも判明した。

経口負荷試験を安全に行うために微量負荷試験から行う必要性に関する検討では、鶏卵・牛乳とも、特異的 IgE 抗体価の高値やアナフィラキシー誘

発歴の存在から、誘発域値が低いと推定することは不可能であることが分かった。以上から、経口負荷試験を安全に行うために微量から開始した方が良いと思われる症例は、一度も摂取歴がない食品の検査の場合、誤食による誘発歴があっても域値が不明な場合、負荷試験が陽性となる可能性が高い患者での誘発閾値を明らかにしたい場合等が考えられた。

2) 食物アレルギー健康被害事例の収集・解析に関する研究

インターネットから回収された約 400 中、解析出来た 384 例と、その後回収されたアンケートが 130 例あり、合わせて 500 近くの食物アレルギーの健康被害事例が収集された。これらを場面ごとに解析し対策を記載した「ひやりはっと事例集 2012」が完成した。そこには震災時対策も記載できた。これらは来るべき災害の対策に役立つものと思われる。

3) アレルギー物質含有量に基づいた食品早見表の作成

卵・牛乳・小麦・大豆など含有タンパク質量によってレベル別に分類した食品早見表を作成し、パンフレットとして作成した。ある程度食べられるようになった食物アレルギー患者が過去に安全に食べられた食品が表中に見つかれば、それと同じレベルのタンパク含有食品の摂取が可能と分かり、患者の QOL 向上に役立つ。また安全係数を乗じることで、経口負荷試験とのリンクも可能であると考えている。

しかし、このパンフレットの問題点は、メーカーが食品の規格を変えるごとに見直しが必要になる事であり、食品メーカー側との連携協力が不可欠という点である。

また、この信頼性が高い早見表の作成は、これまで世界をリードして日本で開発されたアレルギー物質の検知法(公定法)によるところが大きい。

4) 表示対象食品のアレルゲン性に関する検討

H21 年度：サケ(さく河性)とマス(陸封性)の抗原性の検討で、魚アレルギー 50 名を用いた IgE 結合能の相関係数は同種であるベニザケ-ヒメマス間が一番高かった。サケアレルギー患者 6 名での ELISA インヒビションの結果ベニザケとヒメマスはお互いに同等の阻害率を示し、この結果からアレルゲン性は両者ほぼ同一と考えられた。

H22 年度：イクラとウニとの間に共通抗原性があ

り、その原因として両者の低分子タンパクの相同性が考えられた。しかし、この交差反応性がイクラ患者のどの位の頻度でみられる事なのかを検討しない限り、感作源であるかどうかについては現時点ではわからない。ただ、イクラアレルギーの一部の症例がウニによる誘発症状があったことから、今後、両者の共通抗原性について検討が必要であると思われる。

H23 年度

オレンジの 13kDa は分子量からプロフィリンであると考えられた。スギ抗原の添加により一部の患者でオレンジ 13kDa と 37kDa への結合が抑制されたことからこれら蛋白とスギ花粉抗原との共通抗原性が示唆された。今後、両者の共通抗原性について検討が必要であると思われる。

E. 結論

1) 鶏卵や牛乳アレルギー患者の 95% をカバーする値は、それぞれ 29.2 μ g、1265.5 μ g で、ほとんどの症例が 10 μ g を超える量で症状が惹起されることが判明した。

エビ負荷試験陽性者 20 名で 90% の患者の最小誘発エビタンパク質量の検討を行った結果は、最小誘発量は 88.4 mg であった。

2) インターネットなどを介して食物アレルギーの健康被害事例が収集され、場面ごとに解析し対策を記載した「ひやりはつと事例集 2012」が完成した。そこには震災時対策も記載できた。

3) 卵・牛乳・小麦・大豆など含有タンパク質量によってレベル別に分類した食品早見表を作成し、パンフレットとして作成した。ある程度食べられるようになった食物アレルギー患者の QOL 向上に役立つと期待される。

4) 表示対象食品のアレルゲン性における検討で、H21 年度：サケ（さく河性）とマス（陸封性）は IgE 結合能からの検討結果から両魚種のアレルゲン性はほぼ同一と考えられた。

H22 年度：イクラに関するアレルゲン性の検討で、イクラとウニとの間に共通抗原性があり、その原因として両者の低分子タンパクの相同性が考えられた。

H23 年度：オレンジに関するアレルゲン性の検討で、オレンジの摂取で口腔アレルギー症候群をきたす患者の血清の IgE は、13kDa、23kDa、37kDa の蛋白バンドに反応した。13kDa と 37kDa はスギ花

粉との共通抗原性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe S, Taguchi H, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Urisu A, Teshima R. Specific detection of potentially allergenic peach and apple in foods using polymerase chain reaction. *J Agric Food Chem* 7, 2108-2115, 2012.
- 2) Taguchi H, Watanabe S, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Sakata K, Urisu A, Teshima R, Differential Detection of Shrimp and Crab for Food Labeling Using Polymerase Chain Reaction, *J Agric Food Chem*, 59, 3510-3519, 2011.
- 3) Sicherer SH, Urisu A, Natural History and Prevention, Food Allergy, Ed; John M James, Wesley Burks and Philippe Eigenmann, Pub ;ELSEVIER, 251-264, 2011.
- 4) Caubet JC, Kondo Y, Urisu A, Nowak-Węgrzyn A, Molecular diagnosis of egg allergy, *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 11, 210-215, 2011.
- 5) Urisu A, Ebisawa M, Mukoyama T, Morikawa A, Kondo N, Japanese guideline for food allergy. *Allergol Int*, 60, 221-236, 2011.
- 6) Kondo Y, Tanaka K, Inuo C, Tsuge I, Urisu A, A patient with salmon roe allergy showing taxonomy-unrelated cross-reactivity with sea urchin roe. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 107, 283-284, 2011.
- 7) Wakasa Y, Hirano K, Urisu A, Matsuda T, Takaiwa F, Generation of transgenic rice lines with reduced contents of multiple potential allergens using a null mutant in combination with an RNA silencing method, *Plant Cell Physiol*, 52, 2190-2199, 2011.

- 8) Benhamou AH, Caubet JC, Eigenmann PA, Nowak-Węgrzyn A, Marcos CP, Reche M, Urisu A, State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy, *Allergy* 65, 283-289, 2010.
 - 9) 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 International*, 93, 243-248, 2010.
 - 10) Nakamura R, Uchida Y, Higuchi M, Nakamura R, Tsuge I, Urisu A, Teshima R, A convenient and sensitive allergy test: IgE crosslinking induced luciferase expression in cultured mast cells, *Allergy*, 65, 1266-1273, 2010.
 - 11) Sakai Y, Ishihata K, Nakano S, Yamada T, Yano T, Uchida K, Nakao Y, Urisu A, Adachi R, Teshima R, Akiyama H, Specific detection of banana residue in processed foods using polymerase chain reaction, *J Agric Food Chem* 58, 8145-8151, 2010.
 - 12) Torii S, Torii A, Itoh K, Urisu A, Terada A, Fujisawa T, Yamada K, Suzuki H, Ishida Y, Nakamura F, Kanzato H, Sawada D, Nonaka A, Hatanaka M, Fujiwara S, Effects of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the symptoms and serum markers of atopic dermatitis in children., *Int Arch Allergy Immunol* 154, 236-245, 2010.
 - 13) Tsuge I, Kondo Y, Nakajima Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Ohara O, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Urisu A, Hyper IgM syndrome and complement C1q deficiency in an individual with systemic lupus erythematosus-like disease, *Clinical and Experimental Rheumatology* 28, 558-560, 2010.
 - 14) Kondo N, Nishimuta T, Nishima S, Morikawa A, Aihara Y, Akasaka T, Akasawa A, Adachi Y, Arakawa H, Ikarashi T, Ikebe T, Inoue T, Iwata T, Urisu A, Ebisawa M, Ohya Y, Okada K, Odajima H, Katsunuma T, Kameda M, Kurihara K, Kohno Y, Sakamoto T, Shimojo N, Suehiro Y, Tokuyama K, Nambu M, Hamasaki Y, Fujisawa T, Matsui T, Matsubara T, Mayumi M, Mukoyama T, Mochizuki H, Yamaguchi K, Yoshihara S; Japanese Society of Pediatric Allergy and Clinical Immunology, Japanese pediatric guidelines for the treatment management of bronchial asthma 2008, *Pediatr Int* 52, 319-326, 2010.
 - 15) Kondo Y, Urisu A, Oral Allergy Syndrome, *Allergol Int*, 58, 485-491, 2009.
 - 16) Hino S, Matsubara T, Urisu A, Aoki N, Sato C, Okajima T, Nadano D, Matsuda T, Periodate-resistant carbohydrate epitopes recognized by IgG and IgE antibodies from some of the immunized mice and patients with allergy, *Biochem Biophys Res Commun*, 380, 632-637, 2009.
 - 17) Kondo Y, Nakajima Y, Komatsubara R, Kato M, Hirata N, Matuyama H, Kakami M, Tsuge I, Ohya Y, Urisu A, Short-term efficacy of tacrolimus ointment and impact on quality of life, *Pediatric international* , 51, 385-389, 2009.
 - 18) Kondo Y, Ahn J, Komatsubara R, Terada A, Yasuda T, Tsuge I, Urisu A, Comparison of allergen properties in salmon (*Oncorhynchus nerka*) from landlocked and anadromous species, *Allergology International*, 58, 295-299, 2009.
 - 19) Ito K, Urisu A, Diagnosis of Food Allergy Based on Oral Food Challenge Test., *Allergol Int*, 58, 467-474, 2009.
2. 学会発表
- 1) 小松原亮、成瀬徳彦、平田典子、鈴木聖子、安藤仁志、宇理須厚雄、安 在根、湯川牧子、近藤康人、柘植郁哉、小麦アレルギー児に対する加水分解小麦経口負荷試験の検討、第 22 回、

日本アレルギー学会春季臨床大会, 京都, 平成
22年5月8日9日.

- 2) 鈴木聖子、成瀬徳彦、小松原亮、平田典子、
安藤仁志、宇理須厚雄、安 在根、湯川牧子、
近藤康人、柘植郁哉, アレルギー物質含有量に
基づいた加工食品交換表による食品指導の検
討, 第22回, 日本アレルギー学会春季臨床大
会, 京都, 平成22年年5月8日9日.
- 3) 田中健一、犬尾千聡、湯川牧子、高松伸枝、
近藤康人、柘植郁哉、小倉和郎、平田典子、
成瀬徳彦、小松原亮、鈴木聖子、安藤仁志、
宇理須厚雄、野村孝泰、土井悟、安田俊隆、
ウニアレルギー3例におけるアレルギー解析,
第60回, 日本アレルギー学会秋季学術大会、
学術大会, 東京, 平成22年11月25日-27日.
- 4) 田中健一、犬尾千聡、湯川牧子、高松伸枝、
近藤康人、柘植郁哉、小倉和郎、平田典子、
成瀬徳彦、小松原亮、鈴木聖子、安藤仁志、
宇理須厚雄、野村孝泰、土井悟、安田俊隆、
ウニ抗原とイクラ抗原との交差抗原性につい
ての検討, 第47回, 日本小児アレルギー学会、
横浜, 平成22年12月4日5日.
- 5) 鈴木聖子、小倉和郎、成瀬徳彦、小松原亮、
平田典子、安藤仁志、宇理須厚雄、田中健一、
犬尾千聡、湯川牧子、近藤康人、柘植郁哉、
アレルギー物質含有量に基づいた加工食品交
換表による食品指導, 第47回, 日本小児アレ
ルギー学会, 横浜, 平成22年12月4日5日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

陽性卵白タンパク質量と卵白特異的IgE値

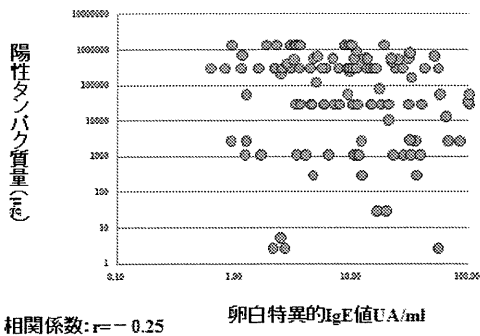


図1 陽性卵白タンパク質量と卵白抗体価の関係

食物アレルギー(牛乳・鶏卵・エビ)の誘発量の決定

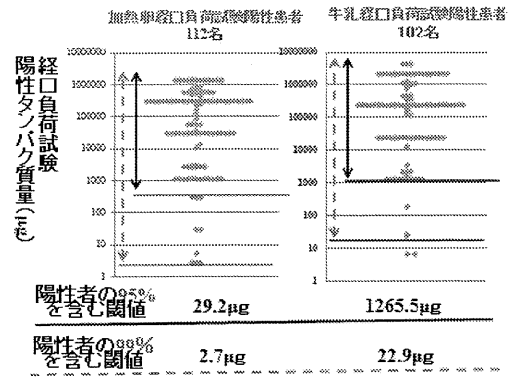


図4 加熱卵と牛乳の最小誘発量の検討

陽性卵白タンパク質量とオボムコイド特異的IgE値

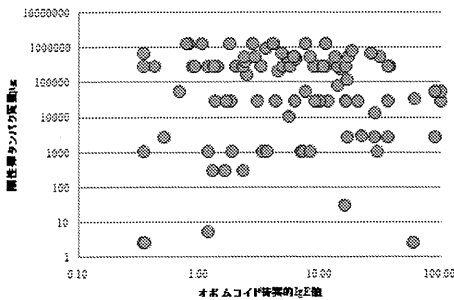


図2 陽性卵白タンパク質量とオボムコイド抗体価の関係

表1 各アレルギー陽性者における 95%および 99%誘発域値

	加熱卵	牛乳	エビ
陽性者数	N=112	N=102	N=54
陽性者の95%を含む閾値	29 μ g	1266 μ g	35.4mg
陽性者の99%を含む閾値	3 μ g	23 μ g	-

牛乳負荷試験陽性患者の牛乳特異的IgE値と陽性乳タンパク質量

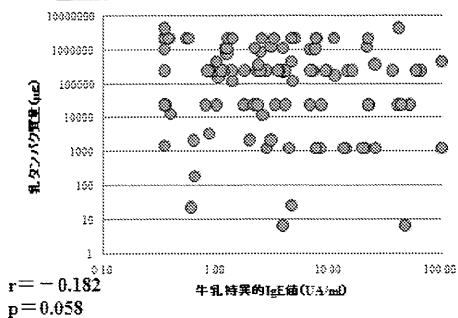


図3 陽性牛乳タンパク質量と牛乳抗体価の関係

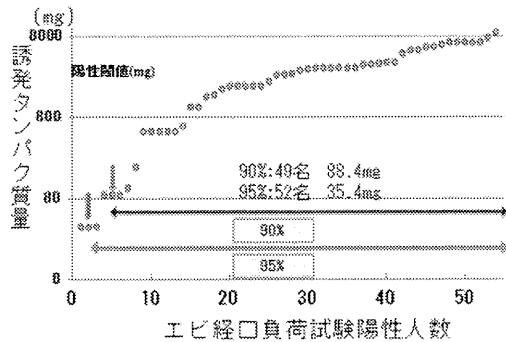


図5 エビ経口負荷試験陽性患者 54名の陽性閾値

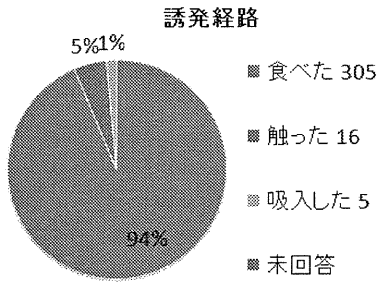


図 6 誘発経路

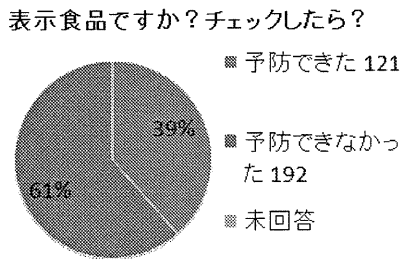


図 7 表示食品であったかどうか？

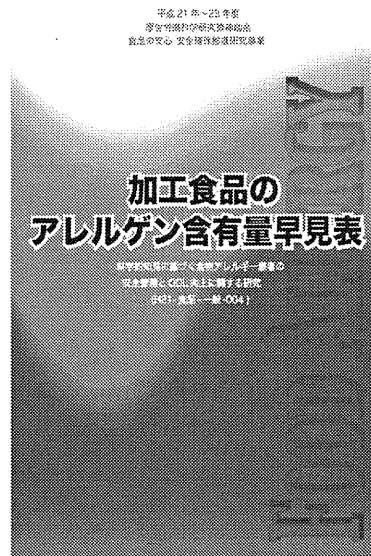


図 9 加工食品のアレルギー含有量早見表

表 2 サケとマスの生物学的分類

Order 目	Family 科	Genus 属	Species 種	Common name
Salmoniformes サケ	Salmonidae サケ	Oncorhynchus	Oncorhynchus	Kokanee 陸封
			Nerka	ヒメマス
		Oncorhynchus	Rainbow trout	さく河
			mykiss	ベニザケ
Perciformes スズキ	Carangidae アジ	Trachurus	Oncorhynchus	ニジマス 陸封
			Kusutch	Silver salmon
	Scombridae サバ	Thunnus	Trachurus	ギンザケ さく河
Thunnus			Japanese jack mackerel	
		Thunnus	マアジ	
		Thunnus	Bluefin tuna	
		Thunnus	ホノマヅロ	

ヒメマスとベニザケは同じ種である



図 8 食物アレルギーひやりはっと事例集 2012

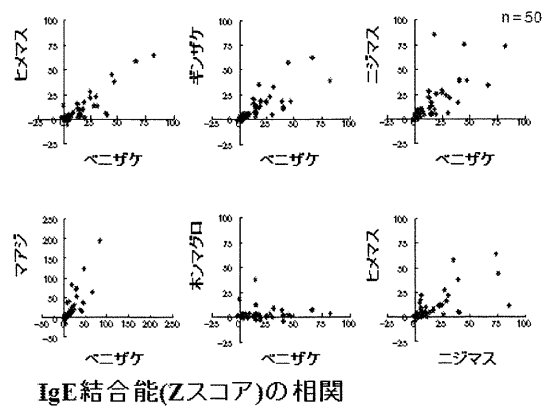


図 10 IgE 結合の相関

	Red salmon	Kokanee	Silver salmon	Rainbow trout	Jack mackerel
Kokanee	0.885				
Silver salmon	0.851	0.882			
Rainbow trout	0.706	0.746	0.849		
Jack mackerel	0.723	0.824	0.700	0.685	
Bluefin tuna	0.182	0.281	0.198	0.101	0.332

表 3 IgE 結合能の相関係数

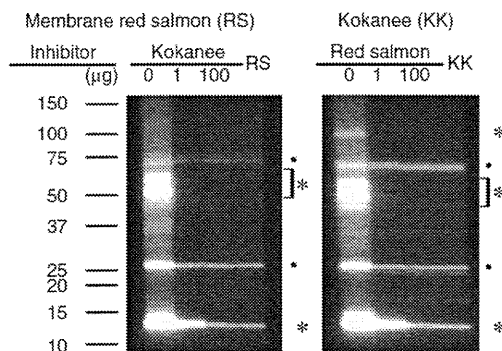


図 14 イムノブロットインヒビション試験

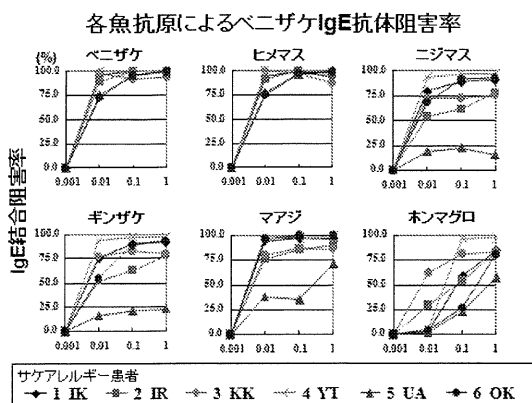


図 11 ベニザケ IgE 阻害率

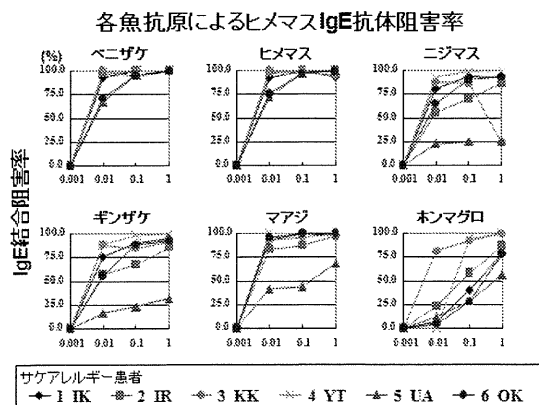


図 12 ヒメマス IgE 阻害率

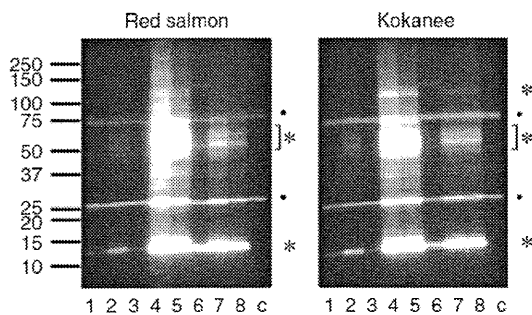


図 13 ベニザケ (red salmon) とヒメマス (Kokanee) のイムノブロット

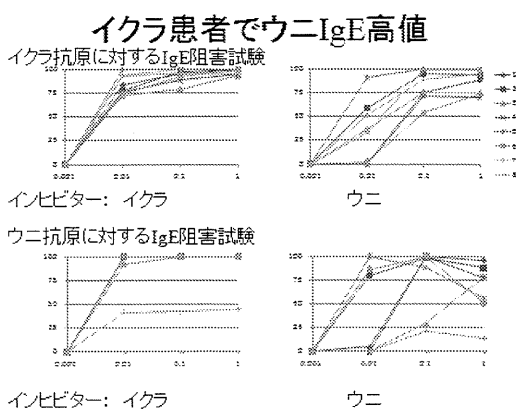


図 15 ウニ IgE 高値のイクラ患者での ELISA インヒビション

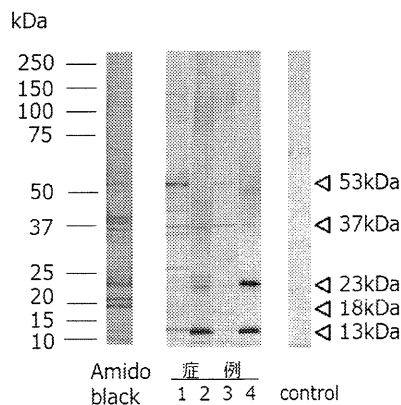


図 16 オレンジイムノブロット

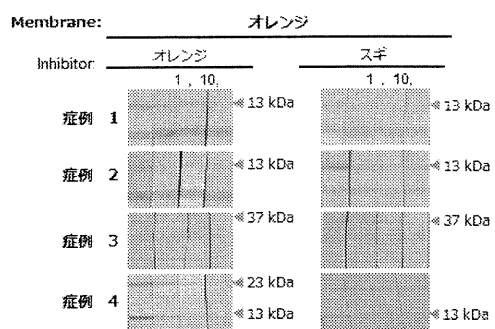


図 17 スギ抗原添加によるオレンジ IgE 結合の抑制

食物アレルギー分析の臨床診断への応用に関する研究

研究分担者	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
研究協力者	漢人直之	あいち小児保健医療総合センター	アレルギー科
	武田将典	あいち小児保健医療総合センター	アレルギー科
	安井正宏	あいち小児保健医療総合センター	アレルギー科

研究要旨

本研究では、食物アレルギーの経口負荷試験を軸とした正しい臨床診断をもとにして、既存の特異的 IgE 抗体検査の臨床的有用性を評価するとともに、アレルギーコンポーネント（精製又はリコンビナントタンパク）を用いた特異的 IgE 抗体検査を開発して、その有用性を検討した。

1) 小麦アレルギーにおいて、リコンビナントタンパクを用いた ω -5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査は、初期診断のみならず予後の推定においても有用な指標となることを報告した。本検査は保険収載されて、臨床診断に用いられている。

2) ピーナッツアレルギーにおいて、リコンビナントタンパクを用いた Ara h 2 特異的 IgE 抗体検査が、特異性に優れた有用な臨床検査になることを報告した。現在、保険収載に向けて申請中である。

3) 大豆アレルギーにおいて、Gly m 5、Gly m 6 は主要アレルギーではあるものの、特異的 IgE 抗体検査の有用性は粗抗原を用いた検査を超えるものではないことを確認した。Gly m 2S albumin 特異的 IgE 抗体検査は、臨床診断に用いる有用性が示唆され、リコンビナントタンパクを用いてより精度の高い臨床検査を検討している。

4) ゴマの主要な貯蔵タンパクである 7S ビシリン、11S グロブリン特異的 IgE 抗体はゴマ粗抗原と強く相関して、診断における特異度としては不十分であった。2S アルブミン、Hsp70、LTP ではゴマアレルギー患者で高い抗体価を示す傾向が得られた。今後は、これらのコンポーネントのリコンビナントタンパクなどを用いた臨床検査の有用性を検討していく予定である。

A. 研究目的

食物アレルギーの診断には血中抗原特異的 IgE 抗体検査が重要な位置を占めるが、その臨床的評価は必ずしも十分行われていなかった。特に、臨床診断に対する特異度が不十分であり、特異的 IgE 抗体検査の結果が不必要な食物除去を助長するといった問題が指摘されている。

本研究では、既存の食物抗原特異的 IgE 抗体検査を、食物経口負荷試験や明らかなアレルギー症状の既往を元にした正しい臨床診断と照らし合わせて評価するとともに、各食品のアレルギーコンポーネント特異的 IgE 抗体検査を開発して、より精度の高い臨床検査の開発を目的とした。

研究対象とした食物アレルギーは、小麦、ピーナッツ、大豆、ゴマの 4 種類である。以下、これ

ら食物ごとに研究方法と結果を示す。

B. 研究方法

1) 小麦

即時型小麦アレルギーは、臨床症状としてコメとは交差反応を認めないことから、臨床症状に関与する小麦アレルギーはコメとは交差反応しない成分であることを仮定して、両者の抗体価の比較、及び小麦特異的 IgE 抗体に対するコメ抗原による吸収試験を行った。また、 ω -5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査の臨床診断及び予後の推定における有用性について、後方視的な追跡調査で評価した。

2) ピーナッツ

ピーナッツと大豆は、同じマメ科に属するが、

ピーナッツアレルギーは臨床症状として大豆とは交差反応を認めないことから、両者の抗体価の比較を行って臨床診断における有用性を検討した。さらに、リコンビナントタンパクを用いた Ara h 1、Ara h 2、Ara h 3、Ara h 8、Ara h 9 特異的 IgE 抗体検査を開発し、ピーナッツ特異的 IgE 抗体陽性者における特異度を検討した。

3) 大豆

主要な貯蔵タンパクである Gly m 5、Gly m 6、Gly m 2S albumin を精製して、特異的 IgE 抗体検査の臨床診断における有用性を評価した。

4) ゴマ

ゴマ特異的 IgE 抗体検査の有用性をすりゴマ経口負荷試験の結果と比較して検討した。ゴマの主要な貯蔵タンパクである 7S ビシリン(Ses i 3)、11S グロブリン(Ses i 6, Ses i 7)、2S アルブミン(Ses i 1, Ses i 2)、及び Hsp70、LTP を精製して、それぞれの特異的 IgE 抗体検査の臨床診断における有用性を検討した。

なお、本研究における特異的 IgE 抗体検査は、すべてイムノキャップ®(Phadia KK, Uppsala, Sweden) を用いている。

C. 研究結果

1) 小麦

小麦アレルギー患者の小麦特異的 IgE 抗体価は、コメ特異的 IgE 抗体価よりも高値を示し、コメを用いた吸収試験における吸収率が低いことを確認した。

臨床現場において小麦アレルギーを疑って特異的 IgE 抗体検査を行った全 233 例（そのうち 59 例が小麦アレルギー確定診断）に ω-5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査を実施し、プロバビリティーカーブを報告した（図 1）。

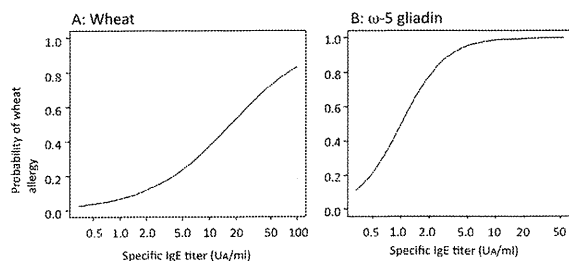


図 1 小麦・ω-5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査のプロバビリティーカーブ

小麦アレルギーと確定診断された 70 例を 2 年間フォローして、耐性獲得群 28 例、持続群 42

例における小麦及び ω-5 グリアジン特異的 IgE 抗体価の推移を検討したところ、ω-5 グリアジン特異的 IgE 抗体は耐性獲得と共に高率に陰性化することを見いだした（図 2）。

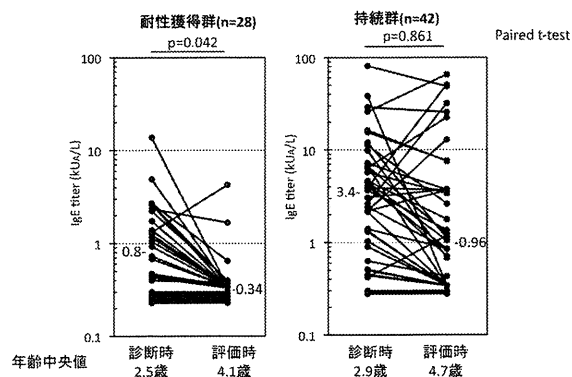


図 2 小麦アレルギーの耐性獲得と ω-5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査特異的 IgE 抗体価の推移

2) ピーナッツ

ピーナッツ特異的 IgE 抗体陽性 187 例において、ピーナッツアレルギー患者（69 例）では、ピーナッツ特異的 IgE 抗体価は大豆よりも高値を示すことを確認した（図 3）。

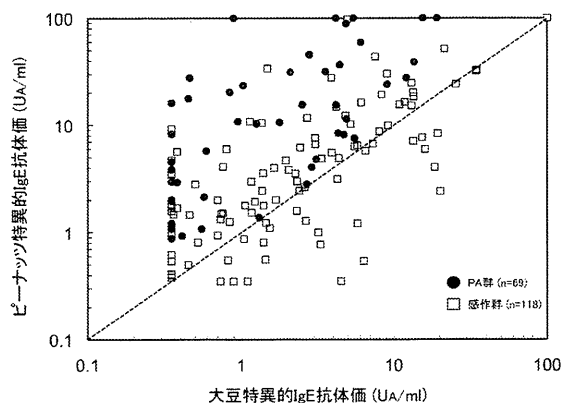


図 3 ピーナッツアレルギーの診断とピーナッツ・大豆特異的 IgE 抗体価の相関

コンポーネントを検討した 75 例（そのうちピーナッツアレルギー 42 例）では、Ara h 2 が感度・特異度ともに良好であり、Ara h 1 と組み合わせで評価するとより高い特異度が得られることを確認した（図 4）。

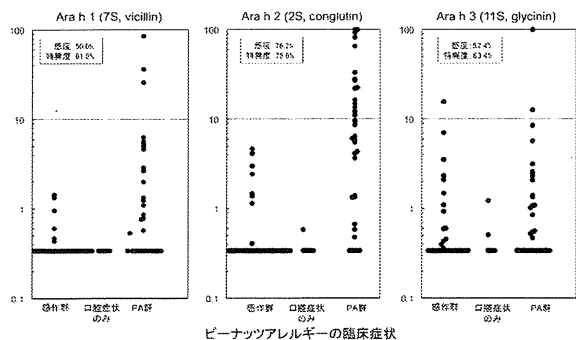


図 4 ピーナッツアレルギーの診断とピーナッツコンポーネント特異的 IgE 抗体価

3) 大豆

大豆アレルギー19例、無症状感作例36例を検討した。Gly m 5、Gly m 6 特異的 IgE 抗体価は、大豆粗抗原と強く相関し、感度は良好であるものの特異度は大豆と同等であった。Gly m 2S albumin は、大豆アレルギー患者でより高値を示し、特異度の良好なバイオマーカーとして有用性が示唆された (図 5)。

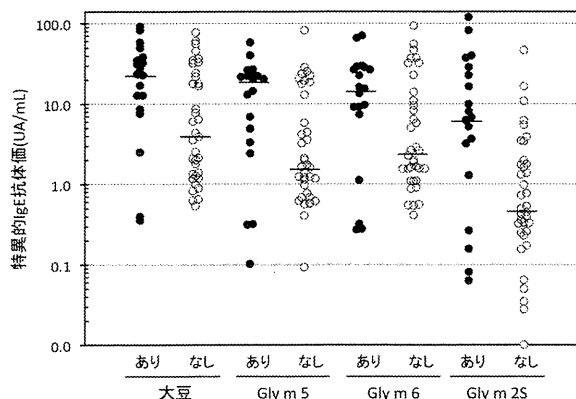


図 5 大豆アレルギーの診断と大豆コンポーネント特異的 IgE 抗体価

4) ゴマ

ゴマ負荷試験陽性32例、陰性44例におけるゴマ特異的 IgE 抗体価にはオーバーラップが大きく、抗体価のみでゴマアレルギーの診断ができるカットオフ値は求められなかった (図 6)。

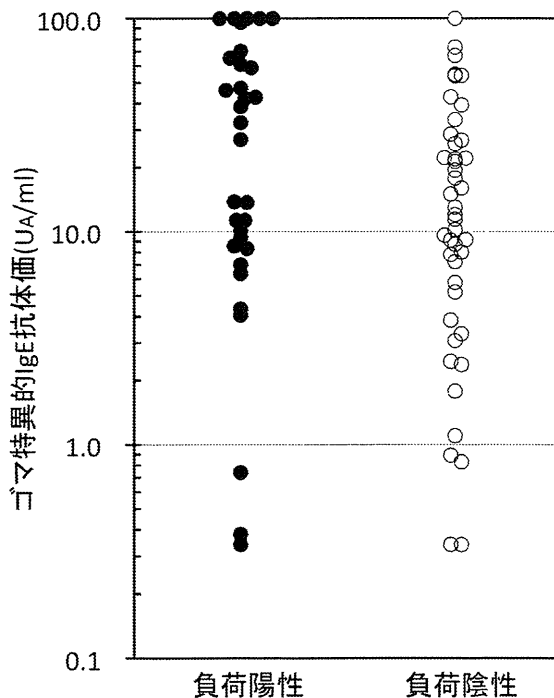


図 6 すりゴマ負荷試験の結果とゴマ特異的 IgE 抗体価

精製したゴマコンポーネントを用いた 43 例 (そのうち 14 例がゴマアレルギー) の検討では、ゴマの貯蔵タンパクとして含有量の多い 7S ビシリン、11S グロブリンは、ゴマ(f10)と強い相関を示して特異度が改善されなかった。一方 2S アルブミン、Hsp70、LTP 特異的 IgE 抗体価は、ゴマアレルギー患者ではほぼ 100%の陽性率を示すと同時に、症状陰性者と比較して高い抗体価を示す傾向が認められ、今後の臨床応用に向けた更なる検討が期待された (図 7)。

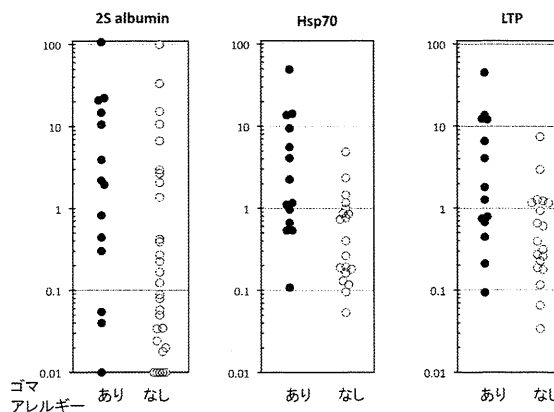


図 7 ゴマコンポーネント特異的 IgE 抗体価

D. 考察

小麦アレルギーの診断及び予後の推定における ω -5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査の評価はほぼ完了し、保険適応も取得して臨床診断として定着することが期待される。これは有用なバイオマーカーである一方で、すべての小麦アレルギーを ω -5 グリアジンで説明できるわけではなく、小麦アレルギー患者における検出感度が約 80%に留まることも事実である。同じグルテンを構成するグルテニンや水溶性アレルゲンも重要なアレルゲンとして報告されており、今後は、こうした他のアレルゲンも含めて総合的に小麦アレルゲンを評価して、感度・特異度ともに良好な臨床検査の組み合わせを開発する必要がある。

ピーナッツは、今回同定した Ara h 2 が最も有効なバイオマーカーであるが、感度・特異度を向上させるためには Ara h 1 など複数のコンポーネントを組み合わせた評価が望ましい。さらに、Ara h 8、Ara h 9 などはピーナッツに対する口腔アレルギー症候群の診断に有用なマーカーであることが期待され、今後さらに検討を重ねていく必要がある。

大豆及びゴマは、まだ抗体検査による診断精度が不十分であり、多くの場合経口負荷試験に依存した臨床診断が不可欠といえる。今後の検討が期待される 2S グロブリンは、ピーナッツの Ara h 2 に該当するコンポーネントであり、豆類・種子類におけるアレルゲンの鍵を握るタンパクである。今後、これらのリコンビナントタンパクを含めた検討を進め、より詳細なアレルゲン解析を行うと共に、より有効な臨床検査を開発していくことが望まれる。

アレルゲンコンポーネントを用いた臨床診断は、Molecular Allergology として世界中で研究が進められている。しかし、同じ食物に対するアレルギーも、国民の食生活や環境を反映して、国によって異なるアレルゲンコンポーネントが関与する可能性もあり、それぞれの国で臨床的な評価が進められる必要がある。

E. 結論

本研究では、小麦とピーナッツについては臨床応用可能なコンポーネントが確立した。 ω -5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査はすでに臨床応用されており、臨床医に対して正しい評価方法を啓発することが求められる。Ara h 2 は保険収載を申

請中であり、これが認可されると危険を伴う経口負荷試験の回避と、不必要なピーナッツ除去の排除という双方に成果が期待される。

大豆及びゴマについては、今後リコンビナントタンパクを含めた詳細な検討を進めるべきターゲットが見いだされ、次のステップに向けた検討が進行中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Komei Ito, Atsuo Urisu. Diagnosis of food allergy based on oral food challenge test. *Allergology International* 58, 467-474, 2009.
- 2) 伊藤浩明. 食物アレルギー診療のエンドポイント. *アレルギー* 58(12), 1557-1567, 2009.
- 3) 伊藤浩明. 血中抗原特異的 IgE 抗体測定の現状と今後の課題. *日本小児アレルギー学会* 24(1), 9-16, 2010.
- 4) 高岡有理、二村昌樹、坂本龍雄、伊藤浩明 遷延する牛乳アレルギーの予後に関連する因子の検討. *アレルギー* 59(11), 1562-1571, 2010.
- 5) Ito K, Sjölander S, Sato S, Movérare R, Tanaka A, Söderström L, Borres M, Poorafshar M, Ebisawa M. IgE to Gly m 5 and Gly m 6 is associated with severe allergic reactions to soybean in Japanese children. *J Allergy Clin Immunol.* 128(3), 673-5, 2011.
- 6) 尾辻健太、二村昌樹、漢人直之、林啓一、伊藤浩明. ω -5 グリアジン特異的 IgE 抗体検査の臨床的有用性について. *アレルギー* 60(8), 971-982, 2011.
- 7) Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K. Clinical Utility of IgE Antibodies to ω -5 Gliadin in the Diagnosis of Wheat Allergy: A Pediatric Multicenter Challenge Study. *Int Arch Allergy Immunol* 158, 71-76, 2012.
- 8) Ito K, Futamura M, Moverare R, Tanaka A, Kawabe T, Sakamoto T, Borres MP. The usefulness of casein-specific IgE and IgG4 antibodies in cow's milk allergic children. *Clinical and Molecular Allergy* 10, 1, 2012.

2. 学会発表

1) 尾辻健太、平山美香、二村昌樹、伊藤浩明。当院におけるピーナッツ・ナッツ類経口負荷試験の検討。第59回日本アレルギー学会秋季学術大会。秋田, 2009, 10月。

2) 尾辻健太、平山美香、二村昌樹、伊藤浩明。当院における魚、大豆、甲殻類、ゴマ、ソバ、肉、果物などの経口負荷試験に関する検討。第46回日本小児アレルギー学会。福岡, 2009, 12月。

3) 伊藤浩明。血中抗原特異的IgE抗体測定の実状と今後の課題。第46回日本小児アレルギー学会シンポジウム。福岡, 2009, 12月。

4) Otsuji K, Hirayama M, Kando N, Ito K, Muto T, Sakamoto T. Introduction of allergenic food after positive oral food challenge test. AAAAI 2010, New Orleans, 2010, 2月。

5) Ito K, Ebisawa M, Sato S, Sjolander S, Borres M. Specific IgE to Gly m 5 and Gly m 6 in children with soybean allergy in Japan. AAAAI 2010, New Orleans, 2010, 2月。

6) Sjolander S, Bernhardsson F, Brostedt P, Borres M, Tanaka A, Ito K, Ebisawa M, Utsumi S, Poorafshar M. High IgE Reactivity to subunit G5 from the soybean legumin allergen Gly m 6 in sera from soy allergic Japanese children. AAAAI 2010, New Orleans, 2010, 2月。

7) Sjolander S, Bernhardsson F, Ito K, Ebisawa M, Poorafshar M, Brostedt P. Diagnostic value of measuring IgE to soybean 2S albumin in clinical assessment of soybean allergic Japanese children. EAACI 2010, London, 2010, 6月。

8) 伊藤浩明、漢人直之、安井正宏、小林貴江、田中昭。小麦アレルギーの耐性化予測因子としての ω -5グリアジンIgE抗体検査。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010, 11月。

9) 安井正宏、小林貴江、漢人直之、伊藤浩明。ピーナッツアレルギーの診断におけるピーナッツ/大豆特異的IgE抗体の検討。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会。東京, 2010, 11月。

10) 伊藤浩明。食物アレルギーの知識と食物アレルギーの診断。第47回日本小児アレルギー学会。横浜, 2010, 12月。

11) 安井正宏、小林貴江、漢人直之、伊藤浩明。ピーナッツアレルギーにおけるアレルギー成分の検討。第47回日本小児アレルギー学会。横浜, 2010, 12月。

12) Ito K. Soy & Milk allergen components - diagnostic tools to help identify patients at risk. Food Allergy and Anaphylaxis Meeting 2011. Venice, 2011, 2月。

13) 伊藤浩明。小児の食物アレルギー。第23回日本アレルギー学会春季臨床大会, 千葉, 2011, 5月。

14) Ito K, Kando N, Kobayashi T, Yasui M, Tanaka A. Specific IgE to ω -5 gliadin as a predictive marker for tolerance to wheat allergy. EAACI 2011, Istanbul, 2011, 6月。

15) Brostedt P, Sjolander S, Ericson C, Holtz A, Carlsson R, Ito K. Measurement of IgE to purified sesame seed proteins in sera from sesame allergic Japanese children. EAACI 2011, Istanbul, 2011, 6月。

16) 伊藤浩明。Oral Food Challenge。第48回日本小児アレルギー学会/第16回アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学会。福岡, 2011, 10月。

17) 伊藤浩明。アレルギーコンポーネントの免疫応答。第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011, 11月。

18) 日野明日香、前田徹、羽根田泰宏、小林貴江、安井正宏、漢人直之、伊藤浩明。食物経口負荷試験における新たなスコアリングシートの提案と検討。第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011, 11月。

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

平成 21-22 年度

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

平成 23 年度

魚貝類アレルゲンの分子生物学的性状および 魚類 ELISA 検知法の開発に関する研究

研究分担者	塩見一雄	東京海洋大学食品生産科学科
研究協力者	石崎松一郎	東京海洋大学食品生産科学科
	嶋倉邦嘉	東京海洋大学食品生産科学科
	上坂良彦	日水製薬株式会社研究開発部
	柴原裕亮	日水製薬株式会社製品開発部
	山田彰一	日本水産株式会社食品分析センター
	汪 俊	日本水産株式会社食品分析センター

研究要旨

1) サケ類 *Oncorhynchus masou masou* の陸封型（ヤマメ）と降海型（サクラマス）のバルブアルブミン比較：ヤマメおよびサクラマスの背側普通肉から調製した加熱抽出液を SDS-PAGE で分析したところ、バルブアルブミン含量はヤマメの方が高いことが示唆された。ELISA により、バルブアルブミン含量はヤマメでは 1.8-7.8 mg/g、サクラマスでは 0.28-0.52 mg/g と測定された。次に、ヤマメおよびサクラマスから 3 成分のバルブアルブミンをゲルろ過、逆相 HPLC により精製した。3 成分のバルブアルブミンの逆相 HPLC における保持時間および MALDI/TOF-MS により測定した分子量は、両魚種間でお互いによく一致した。 2) チダイに含まれるバルブアルブミンアイソフォームの性状：タイ類には 12 kDa のバルブアルブミン（PA II）の他に 14 kDa のアレルゲン（PA I）が存在することが示唆されていた。チダイから PA I および PA II をゲルろ過および逆相 HPLC により精製し、リシルエンドペプチダーゼ分解ペプチドのアミノ酸配列を分析したところ、両成分はバルブアルブミンのアイソフォームであることが判明した。PA I の IgG（バルブアルブミンに対するモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体）との反応性および魚類アレルギー患者の血清 IgE との反応性は、PA II を含む他の魚類バルブアルブミンと比較するとかなり弱かった。PA I および PA II のアミノ酸配列を cDNA クローニング法により解析したところ、他の魚類バルブアルブミンと比べると PA I はいくつかの位置で特有のアミノ酸残基を持ち、IgG 反応性および IgE 反応性の弱さとの関連が示唆された。 3) 甲殻類 sarcoplasmic calcium-binding protein (SCP) の一次構造解析：甲殻類の新しいアレルゲンとして同定された SCP に着目し、3 種甲殻類（ブラックタイガー、クルマエビおよびズワイガニ）の SCP をコードする cDNA をクローニングし、塩基配列解析により全アミノ酸配列（いずれも 192 残基）を決定した。ブラックタイガーとクルマエビの SCP はお互いに 96% と高い配列相同性を示した。また、ブラックタイガーおよびクルマエビの SCP が α 鎖と β 鎖より成るか不明であるが、コウライエビ SCP の α 鎖とは 91-94%、 β 鎖とは約 80% の相同性を示し、 α 鎖と非常に類似していた。ブラックタイガーおよびクルマエビの SCP はザリガニ類 SCP とは 81%、ズワイガニ SCP とは約 75% の相同性を、ズワイガニ SCP は他の甲殻類 SCP と 72-79% の相同性を示すというように、各種甲殻類の SCP はお互いに類似していた。一方、甲殻類と軟体動物（貝類）の SCP との間の相同性はわずか 10-21% で、非常に低かった。 4) ブラックタイガー SCP の大腸菌における発現：ブラックタイガーの SCP を、pFN6A (HQ) Flexi vector 系を用いて HisGln (HQ) タグつきタンパク質として大腸菌で発現した。組換え SCP (rSCP) は大腸菌の抽出液（可溶部）に得られ、HisTrap Chelating HP カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーにより精製