

Table 1. アナフィラキシー症状のスコアリング

Score 0	症状なし
1	口、耳、鼻、頭などを掻く、後ろ足で耳の穴を掻く
2	活動低下、呼吸が速くなる、1匹だけ離れている、眼・鼻・口の周囲の腫脹、立毛
3	1分以上動かない、うつぶせで横たわる、ゼーゼーと息を切らす、呼吸困難、口の周囲や尾のチアノーゼ、一過性の痙攣
4	ひげに触れても反応しない、刺激に対する反応の低下・無反応、意識消失、震え、痙攣
5	死亡

Table 2. 感作抗原

実験1 (1群8匹 x 5群)

群名	感作検体	感作抗原量	惹起方法	惹起検体
V	PBS + 0.5%SDS	-	i.p. (1 mg)	グルパール19S
HS	グルパール19S + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	グルパール19S
H	グルパール19S	500 µg	i.p. (1 mg)	グルパール19S
GS	グルテン + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	グルテン
G	グルテン	500 µg	i.p. (1 mg)	グルテン

実験2 (1群10匹 x 3群)

群名	感作検体	感作抗原量	惹起方法	惹起検体
V	PBS + 0.5%SDS	-	i.p. (1 mg)	グルパール19S
19S	グルパール19S + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	グルパール19S
HWP-D	HWP-D + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	HWP-D

実験3 (1群5匹 x 5群)

群名	感作検体	感作抗原量	惹起方法	惹起検体
V	PBS + 0.5%SDS	-	i.p. (1 mg)	グルパール19S
19S	グルパール19S + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	グルパール19S
A0h	0h酸加水分解グルテン + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	0h酸加水分解グルテン
A0.5h	0.5h酸加水分解グルテン + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	0.5h酸加水分解グルテン
A9h	9h酸加水分解グルテン + 0.5%SDS	500 µg	i.p. (1 mg)	9h酸加水分解グルテン

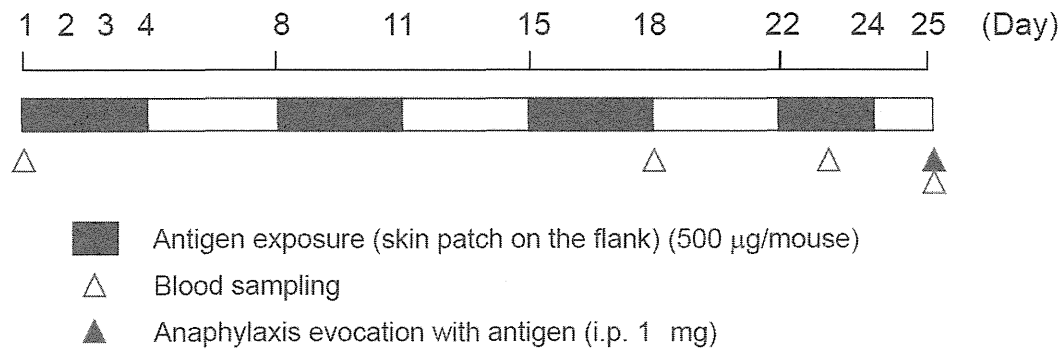
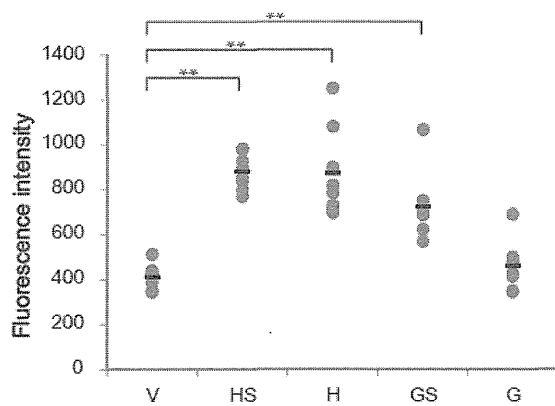
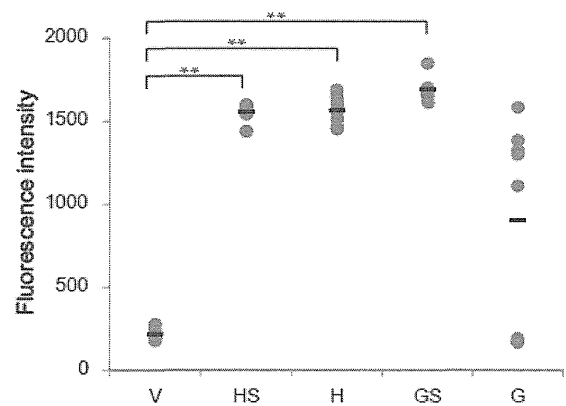


Figure 1. 経皮感作試験スケジュール

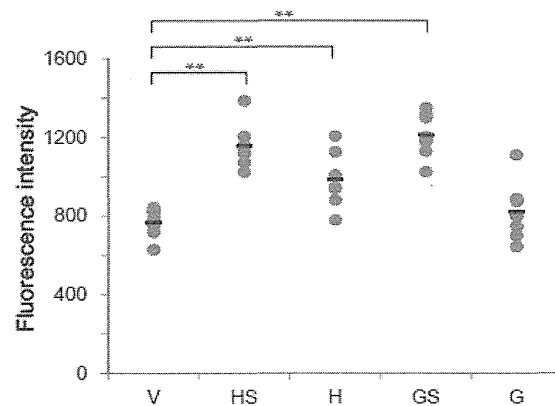
A. グルパール19S特異的IgE



B. グルパール19S特異的IgG1



C. グルテン特異的IgE



D. グルテン特異的IgG1

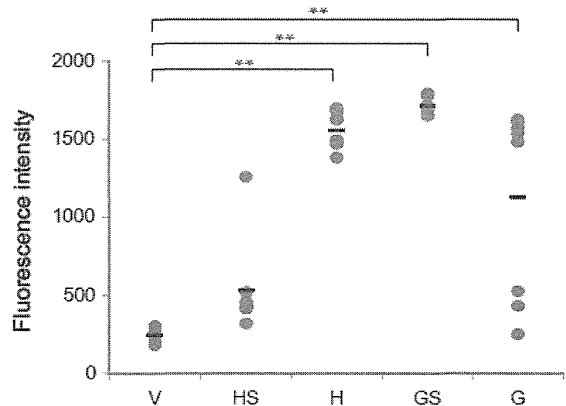
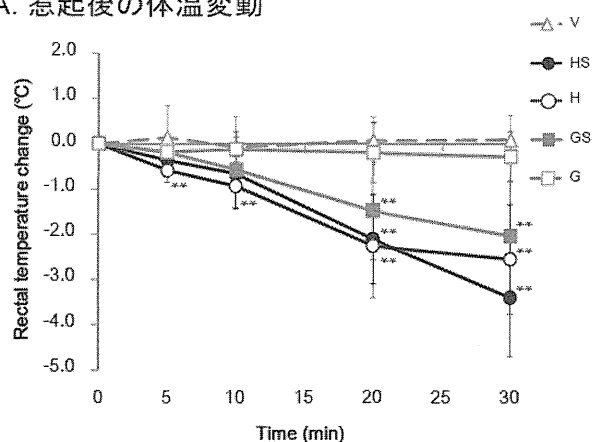
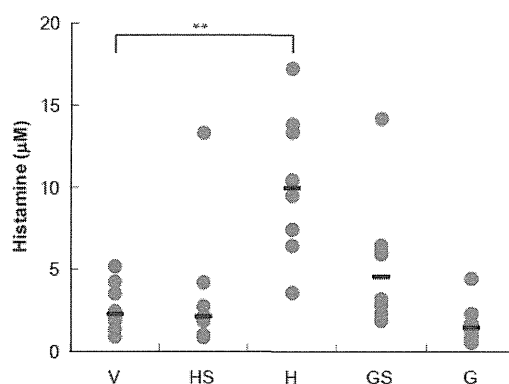


Figure 2-1 グルパール19Sおよびグルテン経皮感作4週後(Day 23)の抗原特異的抗体産生
 各群の処理抗原についてはTable2に示す。ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。
 **p<0.01

A. 惹起後の体温変動



B. 惹起30分後の血漿中ヒスタミン濃度



C. アナフィラキシー症状のスコアリング

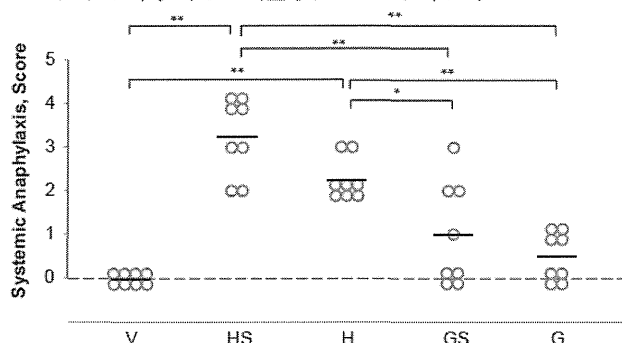
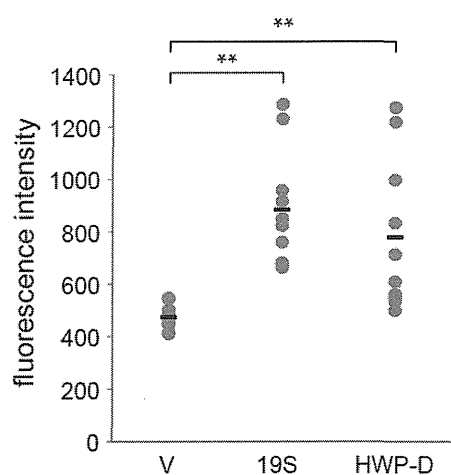


Figure 2-2. グルパール19Sおよびグルテン経皮感作マウスのアナフィラキシー反応惹起

A:各群の体温データをMean±S.D.で示す。B, C:ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

A. 抗原特異的IgE



B. 抗原特異的IgG1

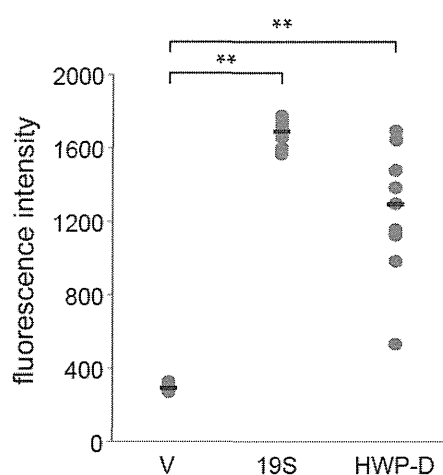
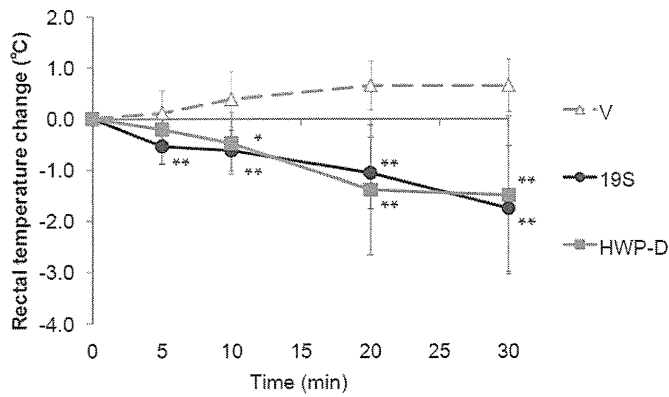


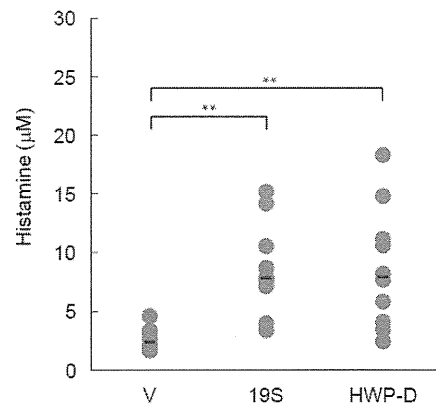
Figure 3-1 グルパール19S及びHWP-D経皮感作4週後(Day 23)の抗原特異的抗体産生

各群の処理抗原についてはTable2に示す。ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。** $p < 0.01$

A. 惹起後の体温変動



B. 惹起30分後の血漿中ヒスタミン濃度



C. アナフィラキシー症状のスコアリング

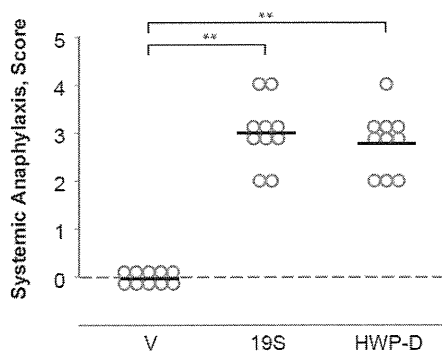
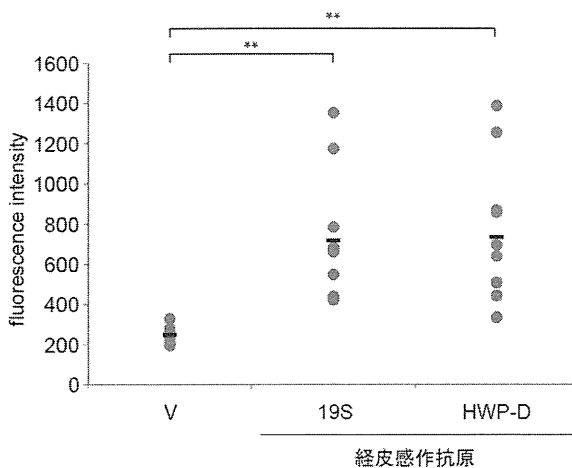


Figure 3-2 グルパール19SおよびHWP-D経皮感作マウスのアナフィラキシー反応惹起

A:各群の体温データをMean±S.D.で示す。B, C:ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。*p<0.05, **p<0.01

A. グルパール19S特異的IgE
(グルパール19Sを固相化)



B. HWP-D特異的IgE
(HWP-Dを固相化)

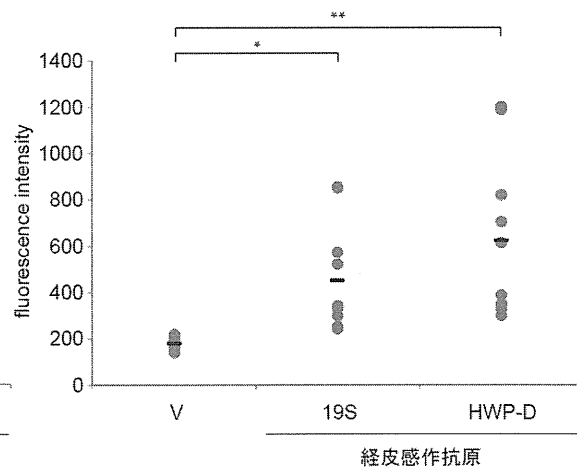


Figure 3-3 グルパール19SおよびHWP-Dの交差性の検討

ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。**p<0.01

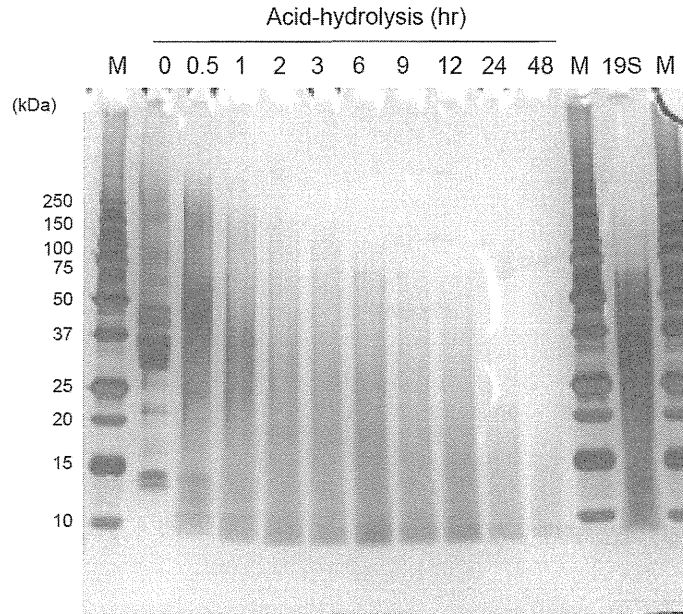
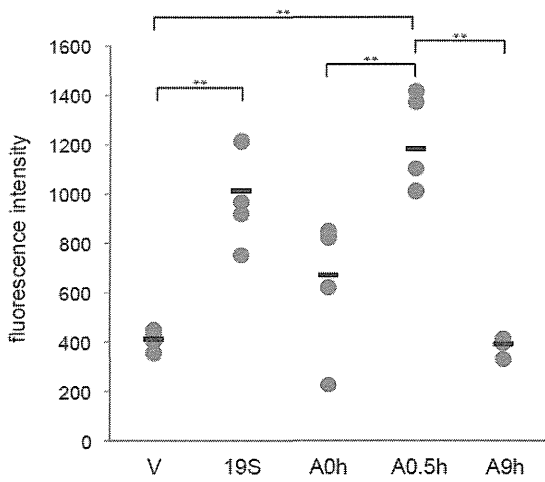


Figure 4-1 グルテン酸加水分解物のSDS-PAGE
10-20%ポリアクリルアミドゲルの銀染色パターン

A. 抗原特異的IgE



B. 抗原特異的IgG1

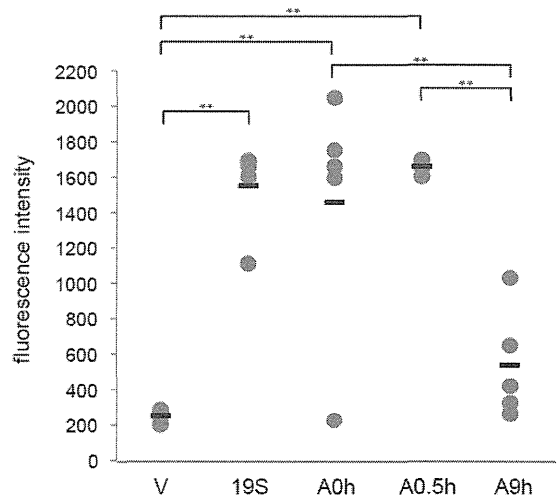
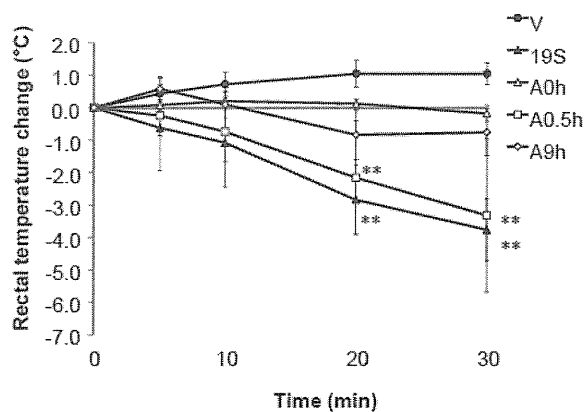
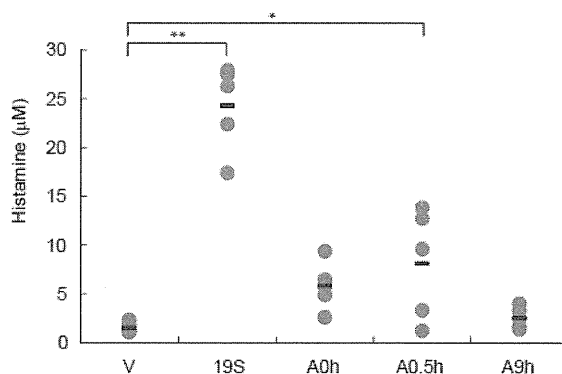


Figure 4-2 グルテン酸加水分解物経皮感作4週後(Day 23)の抗原特異的抗体産生
各群の処理抗原についてはTable2に示す。ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。
**p<0.01

A. 惹起後の体温変動



B. 惹起30分後の血漿中ヒスタミン濃度



C. アナフィラキシー症状のスコアリング

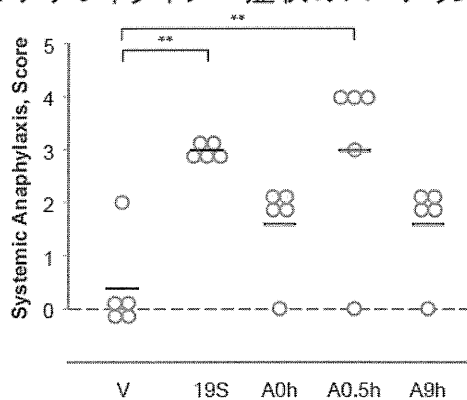
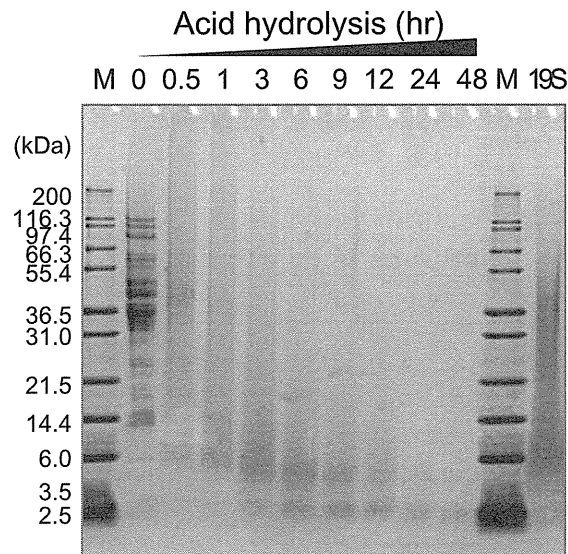


Figure 4-3 グルテン酸加水分解物経皮感作マウスのアナフィラキシー反応惹起

A:各群の体温データをMean±S.D.で示す。B, C:ドットはマウス各個体のデータを、バーは各群の平均値を示す。
*p<0.05, **p<0.01

A: 酸加水分解グルテンの分子量変化



B: 小麦アレルギー患者群によるHWPへの応答性の違い

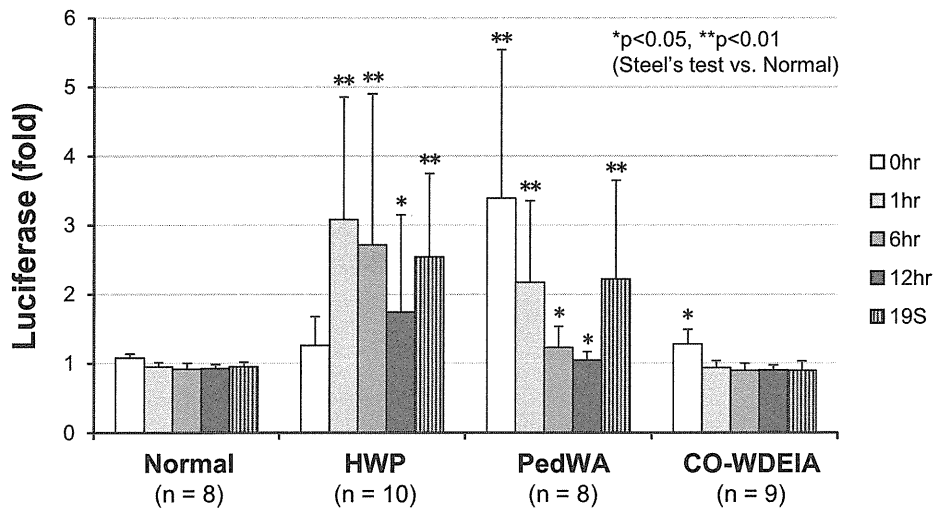


Fig 5-1. 小麦アレルギー患者群による酸加水分解HWPへの応答性の違い
 (A) 小麦グルテンを0.1N HCl存在下で0、1、6、12時間100°Cに加熱して加水分解し、15-25% SDS電気泳動を行なった際のCBB染色像。(B) 健常人(Normal)、HWP患者(HWP)、小児小麦食物アレルギー患者(PedWA)、成人通常型小麦依存性運動誘発アナフィラキシー患者(CO-WDEIA)におけるEXILE試験を行なった。抗原濃度は100ng/mlに固定した。19Sはグルパール19Sを指す。

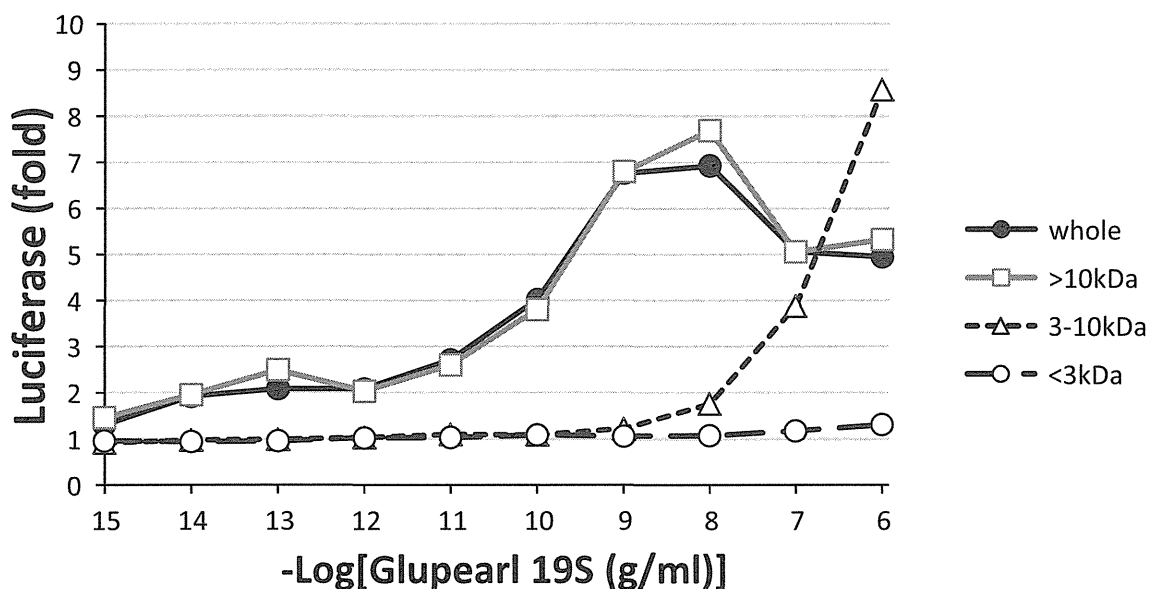
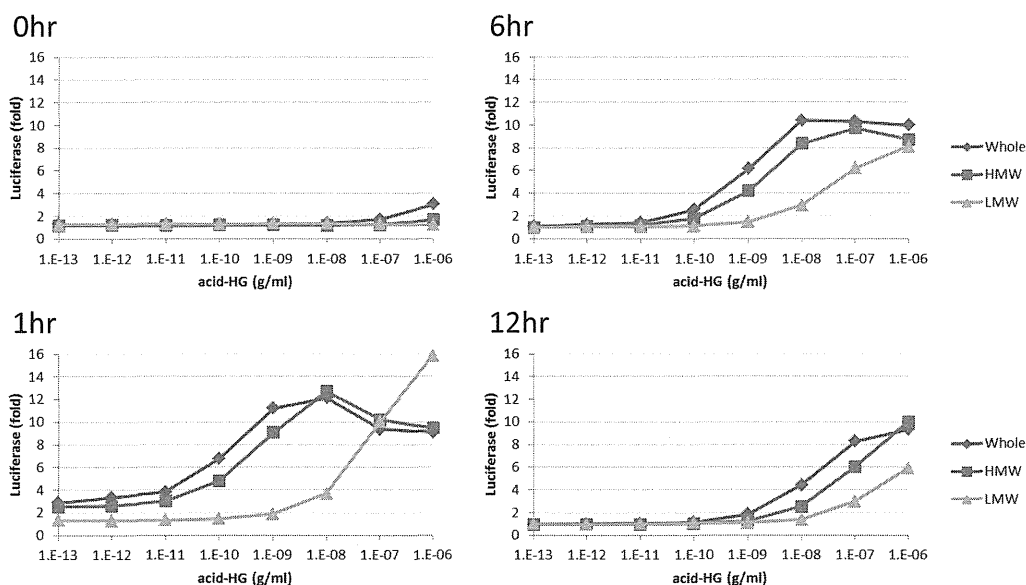


Fig. 5-2. グルパール19Sの分画とIgEの応答性

10kDaおよび3kDa分画分子量を持つ限外ろ過スピニングカラムにより、グルパール19Sを>10kDa, 3-10kDa, <3kDaの3分画に分け、HWP患者(42例女性)血清で感作したRS-ATL8細胞の応答性を調べた。濃度は、分画前のグルパール19S相当量で表している。10kDa以上の画分には分画前とほぼ同等のマスト細胞活性化能があったが、3-10kDaの画分にも弱いながら活性があることが分かった。一方、3kDa以下の画分にはマスト細胞は応答しなかった。

A: 分画分子量10kDaの限外ろ過の各画分へのEXiLE応答



B: 分画分子量3kDaの限外ろ過の各画分へのEXiLE応答

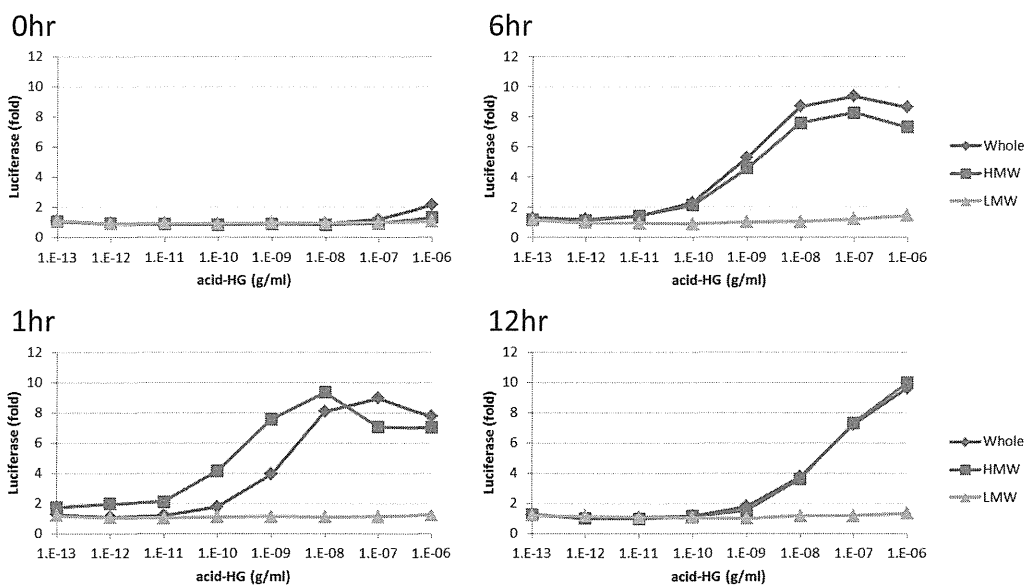


Fig. 5-3. 酸加水分解グルテンの分画とIgEの応答性

グルテンを0.1N HClに1mg/mlで懸濁し、100°Cで0, 1, 6, 12時間加熱したものを、(A) 10kDaまたは(B) 3kDa分画分子量を持つ限外ろ過スピカラムにより分画した。ここでは、分画前をwhole、限外ろ過膜上段に残った溶液をHMW、ろ液をLMWと記す。HWP患者(42例女性)血清で感作したRS-ATL8細胞の応答性を調べた。濃度は、分画前のグルテン相当量で表している。グルパール19Sの場合と同様に、3kDa以下の画分には応答性が認められなかった。

食物タンパク質由来化粧品添加物の抗原解析

研究分担者 板垣 康治 北海道文教大学人間科学部健康栄養学科 教授

研究協力者 熊谷 日登美 日本大学生物資源科学部生命化学科 教授

研究要旨:

平成 24 年度は、既報で報告されている γ -グリアジン、 ω 2-グリアジン共通のアミノ酸配列に存在するグルタミンをグルタミン酸に置換したペプチドを合成して、「茶のしずく」洗顔石鹸による小麦アレルギー患者血清との反応性を調べた。その結果、グルパール 19S に匹敵する程度の反応性を示したことより、「茶のしずく」洗顔石鹸によるアレルギーでは、分子中に含まれるグルタミンの一部が脱アミド化した小麦タンパク質が新たなアレルゲンとなっていることが推定された。次に、2 種類のタンパク質分解酵素（トリプシン、V8 プロテアーゼ）によるグルパール 19S の分解パターンの比較を行ったところ、V8 プロテアーゼにより顕著な低分子が確認された。V8 プロテアーゼはグルタミン酸のカルボキシル側を特異的に切断することから、グルパール 19S にはグルタミン酸が多く存在していることが推測された。したがって、グルパール 19S は、グルテンを酸加熱加水分解により製造される工程中、含有するグルタミンの一部が脱アミド化されグルタミン酸に変換されていることが示唆された。

A. 研究目的

現在、様々な食品成分が、長年の食経験に基づき安全性が担保されているとの認識で洗顔石鹸をはじめとする医薬部外品、化粧品等の添加物として利用されている。小麦加水分解物を洗顔石鹸などへの添加は、起泡性の付与や維持に効果があるとされている。また、食品そのものが美容目的で使用される場合もある。しかしながら、その安全性が確認されているのは、あくまでも経口的に摂取した場合においてであり、経皮的な安全性については検証されていない。実際に、これまでも、パパイヤ由来のたんぱく質分解酵素が添加された化粧水やキュウリパックによるアレルギー発症例などが報告されている。そこで、本研究では、成人食物アナフィラキシーの典型的モデルとなる病態として、化粧品・医薬部外品中の食物由来添加物の代表であるタンパク加水分解物への接触性アレルギーが原因となり発症した食物アレルギーに焦点をあて、当該症例の抗原解析を行うことにより、通常食物アレルギーにおける抗原との違いや抗原になりうる条件、さらに、変性などによってあらたな抗原が生成している可能性についても検証することにより、化粧品や医薬部外品に使用しても安全な小麦加水分解物を調製するための処理条件を検討することを目的とする。

平成 24 年度は、既知の小麦アレルゲンエpiteope に基づいて合成したペプチド(グルタミンをグルタミン酸に置換したもの)と患者血清との反応性、および 2 種類のタンパク質分解酵素(トリプシン、V8 プロテアーゼ)によるグ

ルパール 19S の分解パターンの比較を行った。

B. 研究方法

1. 合成ペプチドと患者血清との反応性

既報に報告されている既知の小麦アレルゲンエpiteope ペプチド(QPQQPFPPQ)、およびグルテンが酸加熱加水分解によって部分的な脱アミド化されていることを想定して、グルタミンをグルタミン酸に置換したペプチド(QPEEPPFE)を合成して、患者血清との反応性を阻害 ELISA により調べた。

2. グルテンおよびグルパール 19S 酵素処理

トリプシン、V8 プロテアーゼを用いてグルパール 19S を処理後、ゲルろ過により溶出パターンを比較した。なお、トリプシンは、膵液に含まれる消化酵素の一種で、塩基性のアミノ酸(リジン、アルギニン)のカルボキシル基側のペプチド結合を加水分解する。一方、V8 プロテアーゼは、微生物由来で、アスパラギン酸とグルタミン酸のカルボキシル側を特異的に加水分解する。炭酸水素アンモニウム緩衝液(pH7.8)あるいは酢酸アンモニウム緩衝液(pH4.0)中では、グルタミン酸のカルボキシル基側のみを切断する。リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.8)中では、グルタミン酸のカルボキシル基側だけではなく、アスパラギン酸のカルボキシル基側も切断する。グルタミンやアスパラギンは切断しない。グルテンはグルタミンを多く(約 40%)含む。酸加熱加水分解によって脱アミド化が起きるとグルテン中のグルタミンの一部はグルタミン酸に変換されている

ことが考えられ、V8 プロテアーゼにより積極的に切断され、低分子化が進むことが予測される。処理後の試料は、SDS-PAGE およびゲルろ過 (G3000SW XL, TOSOH) により評価した。

(倫理面への配慮)

使用した患者血清は、コード化して医療機関より提供されており、患者を特定できないように配慮されている。

C. 研究結果

1. 合成ペプチドと患者血清との反応性

合成ペプチド QPQQPFPPQ、QPPEPFPE ともに、詳細に患者血清との反応条件等の検討を行ったところ、プレートの洗浄などの操作条件を変更することによってグルタミンをグルタミン酸に置換したペプチドにおいてグルパール 19S と同等の反応性を認め、最大で約 50% の阻害活性を示した (図 1、2)。V8 で加水分解したグルパール 19S では、V8 で処理する前と比較して阻害率の低下が認められた。

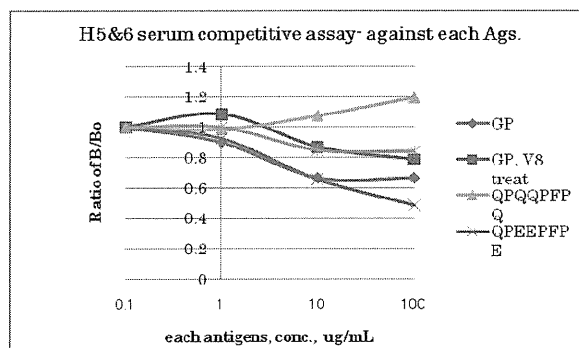


図1. 合成ペプチドを用いた阻害 ELISA
GP:グルパール 19S

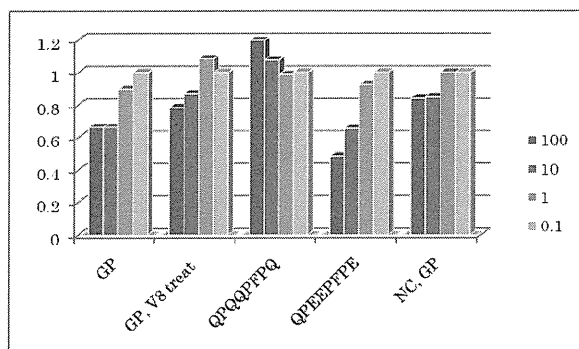


図2. 合成ペプチドを用いた阻害 ELISA
(図1を棒グラフで示した)

2. グルテンおよびグルパール 19S の酵素処理

グルパール 19S を V8 プロテアーゼで加水分解した場合、トリプシンと比較して、より顕著な低分子化が認められた。一方、グルテンについては、V8 プロテアーゼ、トリプシン処理ともに、積極的な低分子化は見られなかった (図3)。V8 プロテアーゼ処理したグルパール 19S をゲルろ過により分子量分布を調べた結果、V8 プロテアーゼ処理により、明らかな低分子化が確認された (図4、5、6)。

この結果より、グルテンは酸加熱加水分解によりグルタミンが部分的に脱アミド化されグルタミンに変換されていることが示唆された。

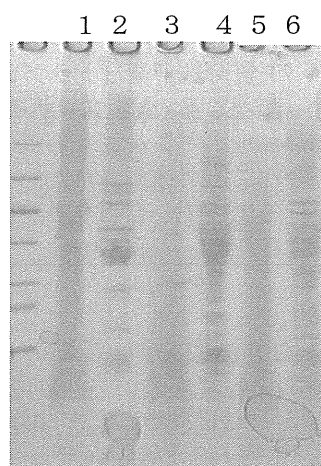


図3. グルテンおよびグルパール 19S のプロテアーゼ処理 (SDS-PAGE)

- 1; グルパール 19S (GP)
- 2; グルテン (GT)
- 3; GP, V8 digest 24hrs
- 4; GT, V8 digest, 24hrs
- 5; GP, Trypsin digest 24hrs
- 6; GT, Trypsin digest 24hrs

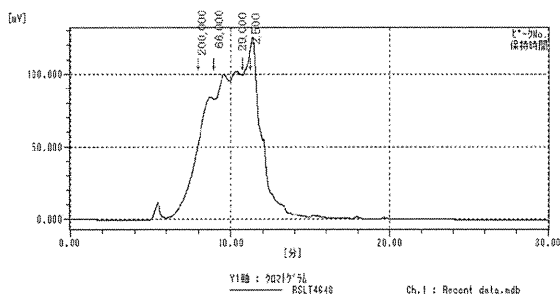


図4. グルパール 19Sのプロテアーゼ処理
(トリプシン)

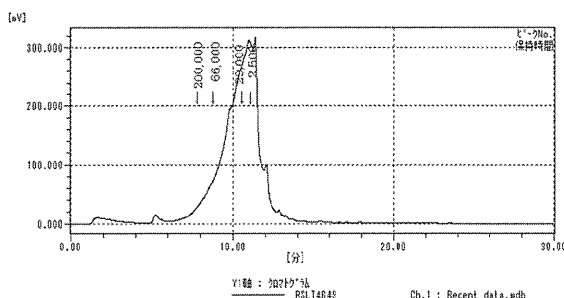


図5. グルパール 19Sのプロテアーゼ処理
(V8 プロテアーゼ)

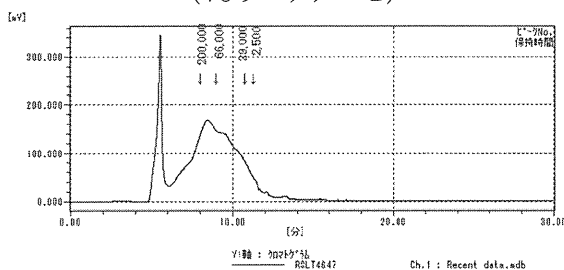


図6. グルパール 19Sのプロテアーゼ処理
(未処理)

D. 考察

小麦に含まれるタンパク質は共通して、グルタミン、プロリンを多く含んでいるのが特徴である。したがって、脱アミド化処理することにより、グルタミンはグルタミン酸に変換され、親水性、起泡性、乳化性などの性質が付与されるため、加工食品、化粧品、医薬部外品などにおいて広く活用されている。グルパール 19S は小麦タンパク質であるグルテンを酸加熱加水分解により製造されているため、グルタミンが脱アミド化されていることが推定される。そこで、グルパール 19S を、タンパク質のグルタミン酸残基を特異的に加水分解するV8プロテアーゼ処理したところ、顕著な低分子が確認された。その結果より、グルパール 19S はグルテン中に存在するグルタミンの一部が脱アミド化されグルタミン酸に変換されていることが考えられた。また、既報で報告されている γ -グリアジン、 ω 2-グリアジン共通のアミノ酸配列に存在するグルタミンをグルタミン酸

に置換したペプチドを合成して、「茶のしずく」洗顔石鹸による小麦アレルギー患者血清との反応性を調べた。その結果、グルパール 19S に匹敵する程度の反応性を示したことより、「茶のしずく」洗顔石鹸によるアレルギーでは、分子中に含まれるグルタミンの一部が脱アミド化した小麦タンパク質が新たなアレルゲンとなっていることが推定された。

E. 結論

1) グルパール 19S は、グルテンに含まれるグルタミンの一部が脱アミド化されグルタミンに変換されていることが示唆された。

2) 既報で示されている γ -グリアジン、 ω 2-グリアジン共通のアミノ酸配列に存在するグルタミンをグルタミン酸に置換したペプチドに対して「茶のしずく」アレルギー患者血清も反応した。

・今後は、これまでの結果を踏まえて、以下の項目について検討する。

1) V8 プロテアーゼ処理したグルパール 19S のゲル濾過による分画、および患者血清との反応性の検討

2) 1) により得られた反応ペプチドのエピトープ解析

以上により、抗原となっている物質の構造を明らかにする。

F. 健康危険情報

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(予定を含む)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

加水分解小麦のアレルゲン性に関する研究

研究分担者 千貫 祐子 島根大学医学部皮膚科 助教

研究要旨：

加水分解小麦は、主に小麦不溶性蛋白質のグルテンを酵素や酸で分解したもので、処理方法によっては粘弾性や保湿性を持つため、食品や化粧品の添加物として使用されている。近年、本邦において石鹼中の加水分解小麦で経皮感作されて小麦依存性運動誘発アナフィラキシーを発症したと思われる患者が多発した。今後の食品や化粧品の安全性を確保するために、加水分解小麦のアレルゲン性について検討する必要があると考え、石鹼に含有されていた加水分解小麦を含む計 6 種類の加水分解小麦のアレルゲン性について、ウェスタンブロット法、好塩基球活性化試験、ゲル濾過クロマトグラフィーなどを用いて検証した。その結果、不完全な分解あるいは処理中の再重合による高分子量の蛋白質から成る加水分解小麦が高いアレルゲン性を示すと考えられた。

A. 研究目的

加水分解小麦は、主に小麦不溶性蛋白質のグルテンを酸や酵素で処理して部分的に分解したもので、処理方法によっては保湿性や粘弾性を持つために、化粧品や食品の添加剤として利用されている。近年、本邦において加水分解小麦を含有した石鹼が発売され、女性を中心に広く用いられた。その結果、石鹼中の加水分解小麦 (HWP-A) に経皮または経粘膜的に感作され、後に経口摂取した小麦蛋白質との交差反応によって小麦依存性運動誘発アナフィラキシー (Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis: WDEIA) を発症したと思われる患者が多発した。今後の食品や化粧品の安全性を確保するために、なぜ、今回の石鹼含有加水分解小麦 (HWP-A) が特に高いアレルゲン性を有したのか、について検討する必要があると考えた。本研究では、石鹼に含有されていた加水分解小麦を含む、本邦で入手可能であった計 6 種類の加水分解小麦 (HWP-B~F) 各々のアレルゲン性を検証することを目的とした。

B. 研究方法

【対象】加水分解小麦に経皮感作され WDEIA を発症した事を確認し得た 5 名の女性患者 (年齢 ; 44~54 歳) を対象とした。

《確認方法》

- ① 加水分解小麦 (HWP-A) を含有した同銘柄の石鹼の使用開始後に WDEIA を発症した (5/5)。
- ② 小麦およびグルテン特異的 IgE (CAP-FEIA) を検出 (5/5)。
- ③ 加水分解小麦溶液を用いたプリックテストで陽性反応を示した (5/5)。

- ④ ウェスタンブロット法で加水分解小麦 (HWP-A) に反応する特異的 IgE を検出 (5/5)。
 - ⑤ 加水分解小麦 (HWP-A) による好塩基球活性化マーカー CD203c の発現増強を確認 (5/5)。
 - ⑥ 誘発試験で陽性を示した (3/3)。
- 以上①~⑥を満たした WDEIA 患者 5 名を対象とした。

【方法】①加水分解小麦の準備 (各製造会社、販売会社などからの取り寄せ)

HWP-A : 酸分解型加水分解小麦 (石鹼に含有されていたもの)

HWP-B : 酸分解型加水分解小麦

HWP-C : 詳細不明加水分解小麦

HWP-D : 酵素分解型加水分解小麦

HWP-E : 酵素分解型加水分解小麦

HWP-F : 酸・アルカリ分解、酵素処理加水分解小麦

②ウェスタンブロット : 5 名の患者血清を用いてウェスタンブロットを施行し、6 種類 (A~F) の加水分解小麦への反応性を検討した。

③好塩基球 CD203c 発現定量 : 5 名の患者全血を用いて、6 種類 (A~F) の加水分解小麦による好塩基球活性化マーカー CD203c 発現の定量を行った。

④ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量分布測定 : 6 種類 (A~F) の加水分解小麦について、ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量分布の測定を行った。

(倫理面への配慮)

研究施行に際しては、対象者に、本研究の目的を説明して同意を得た上で行った。同意は対象患者の意思によりいつでも撤回することができることとした。検査データは他の研究に供

することはなく、得られたデータの医学誌への掲載並びに学会での発表に際して個人名は公表しないこと、得られたデータは研究目的の他には使用しないこと、個人情報厳守することを説明し、かつ遵守した。

本研究は島根大学医学部医の倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：469, 703）。

C. 研究結果

1. 患者血清中 IgE は加水分解小麦の高分子量の蛋白質に強く反応する傾向があった。
2. 6 種類の加水分解小麦をゲル濾過クロマトグラフィーで解析した結果、HWP-A、B 以外の加水分解小麦には高分子量の蛋白質がほとんど含まれていなかった。
2. 患者好塩基球活性化マーカー CD203c は高分子量の蛋白質を含む加水分解小麦（HWP-A と HWP-B）によって有意に発現増強した。

D. 考察

HWP-A と HWP-B は、本来の小麦構成蛋白質よりも大きい分子量の蛋白質を含んでいた。両者とも酸分解された製品であるが、不完全な分解によるものと考えられた。

E. 結論

不完全な分解あるいは処理中の再重合による高分子量の蛋白質から成る加水分解小麦が高いアレルギー性を示すと考えられる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chinuki Y, Kaneko S, Dekio S, et al: CD203c expression-based basophil activation test for diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 129: 1404-1406, 2012.
2. Chinuki Y, Morita E: Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolyzed wheat protein in soap. *Allergol Int.* 529-537, 2012.
3. Chinuki Y, Takahashi H, Dekio I, et al: Higher allergenicity of large molecular weight hydrolysed wheat protein in cosmetics for percutaneous sensitization.

Contact Dermatitis. 68: 86-93, 2013.

4. 角田孝彦、吉澤秀華、千貫祐子：小麦アレルギー9例の小麦特異的IgEと皮内テストの検討。皮膚科の臨床。54: 841-844, 2012.
5. 相澤貴之、角田孝彦、日高高徳、千貫祐子：お茶石鹼により感作された小麦アレルギーの13例。山形済生館医誌。37: 64-67, 2012.
6. 山本祐理子、服部淳子、峠岡理沙、益田浩司、千貫祐子、他：茶のしずく石鹼以外の加水分解小麦含有石鹼を使用していた患者にみられた小麦アレルギーの1例。臨床皮膚科。66: 940-943, 2012.
7. 土井直考、稲葉 豊、金澤伸雄、古川福実、千貫祐子、他：石鹼含有加水分解小麦と ω -5 グリアジン双方に血中 IgE の結合を認めた小麦依存性運動誘発性アナフィラキシーの1例。J Environ Dermatol Cutan Allergol. 6: 427-432, 2012.
8. 角田孝彦、千貫祐子、伊藤義彦、他：お茶石鹼中の加水分解小麦に感作がみられた小麦アレルギーの6例。アレルギーの臨床。32: 162-165, 2012.
9. 千貫祐子、森田栄伸：加水分解小麦成分入り化粧品による眼瞼浮腫。Visual Dermatology. 12: 140-141, 2013.
10. 千貫祐子、松尾裕彰、高橋 仁、他：小麦アレルギーの主要アレルギーの同定。臨床免疫・アレルギー科。58: 63-71, 2012
11. 森田栄伸、千貫祐子、高橋 仁：「茶のしずく石鹼」による WDEIA。Visual Dermatology. 11: 280-283, 2012.
12. 千貫祐子、森田栄伸：旧「茶のしずく石鹼」中の加水分解小麦により感作された FDEIA。臨床皮膚科。66: 8-11, 2012.
13. 千貫祐子：加水分解小麦による FDEIA。皮膚アレルギーフロンティア 10: 52-54, 2012
14. 森田栄伸、千貫祐子：茶のしずく石鹼による小麦アレルギー。皮膚と美容。144: 63-66,

2012.

15. 千貫祐子 : 食物依存性運動誘発アナフィラキシー診断と生活指導. MB Derma. 194: 35-42, 2012.
16. 千貫祐子, 森田栄伸 : 食物アレルギーと経皮膚感作—加水分解小麦含有石鹼を含めて—. 小児内科. 44: 2015-2018, 2012.
17. 千貫祐子, 森田栄伸 : CD203c 測定の実際と蕁麻疹診療における位置づけ. アレルギー・免疫. 20: 234-235, 2013.

2. 学会発表

1. Chinuki Y, Kaneko S, Dekio I, et al: CD203c expression-based basophil activation test is useful in the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. 42nd Annual ESDR Meeting. Venice, 2012.
2. 千貫祐子 : 食物アレルギーの診断における好塩基球活性化マーカーCD203cの有用性. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 シンポジウム3, 北佐久郡, 2012.
3. 千貫祐子, 松尾裕彰, 新原邦江, 他 : リコンビナント小麦蛋白特異的 IgE 測定の有用性. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 ミニシンポジウム, 北佐久郡, 2012.
4. 千貫祐子, 金子 栄, 出来尾 格, 他 : 石鹼中の加水分解小麦で感作され小麦依存性運動誘発アナフィラキシーを発症した12例の解析. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2011年度 JEDCA 最優秀論文賞 受賞講演, 北佐久郡, 2012.
5. 田中 文, 糸井沙織, 寺尾美香, 松井佐起, 谷 守, 花房崇明, 井川 健, 片山一郎, 千貫祐子, 他 : 茶のしずく使用後に発症したWDEIAとOASを合併した1例 : 石鹼のInflammasome刺激作用の検討, 第111回日本皮膚科学会総会, 京都市, 2012.
6. 足立厚子, 西岡美南, 福田佳奈子, 一角直

行, 佐々木祥人, 下浦真人, 井口佳代, 上田正登, 千貫祐子, 他 : 加水分解小麦入り石鹼による感作が推測される, ω -5 グリアジン特異 IgE 陽性の小麦依存性 FDEIA3 例, 第111回日本皮膚科学会総会, 京都市, 2012.

7. 千貫祐子, 金子 栄, 高橋 仁, 他 : 加水分解小麦型 WDEIA の予後, 第111回日本皮膚科学会総会, 京都市, 2012.
8. 足立厚子, 西岡美南, 福田佳奈子, 一角直行, 佐々木祥人, 千貫祐子, 他 : 加水分解小麦含有石鹼に起因する小麦アレルギーと通常的小麦アレルギー, 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 北佐久郡, 2012.
9. 杉山晃子, 岸川禮子, 西江温子, 下田照文, 岩永知秋, 西間三馨, 嶋田清隆, 古江増隆, 田辺創一, 千貫祐子, 他 : 加水分解コムギにより生じたWDEIAにおける負荷検査の結果と有用性, 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪市, 2012.
10. 徳田玲子, 長尾みづほ, 杉本真弓, 細木興亜, 千貫祐子, 他 : 加水分解小麦末含有石鹼使用者に生じた小麦アレルギーにおける好塩基球活性化マーカーCD203c検査の意義, 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪市, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

お茶のしずく石鹸使用後発症した食物依存性運動誘発アナフィラキシーを含む
コムギ食物アレルギー患者の経過観察 —初診時より1年以上経過した症例の転帰—

研究分担者	岸川 禮子	国立病院機構福岡病院	医長
研究協力者	杉山 晃子	国立病院機構福岡病院	医師
	西江 温子	国立病院機構福岡病院	医長
	石松 明子	国立病院機構福岡病院	医師
	嶋田 清輝	国立病院機構福岡病院	運動療法士
	下田 照文	国立病院機構福岡病院	臨床研究部長
	小田嶋 博	国立病院機構福岡病院	副院長
	岩永 知秋	国立病院機構福岡病院	院長

研究要旨：

2004年頃から福岡で全国的に販売された加水分解コムギ入りの美容石鹸（お茶のしずく石鹸）を購入し、美容目的で定期的に洗顔して数か月～数年後の2008年頃からコムギアレルギー歴が今までなかった使用者がコムギアレルギーやコムギ食品依存性運動誘発アナフィラキシー（WDEIA）を主訴として当院を受診するようになった。

中年の女性が多く、症状は洗顔使用時の眼瞼浮腫、花粉症のような鼻炎・結膜炎、接触皮膚炎、ジンマシン、アナフィラキシー、アナフィラキシーショックなど多彩な症状が小麦食品摂取後に誘発され、当院ではWDEIA症例の受診が多く、皮膚テスト、血液検査、食物運動負荷検査で診断、治療、日常生活指導を行って経過観察を行っている。石鹸中止にて症状は軽快するが、誘発症状は続き、薬剤を使用しながらあるいは小麦食品摂取と運動を調整しながら工夫して日常生活を送っていることが分かった。2年以上経過した例では症状はかなり軽快しており、誘発されたとき、軽症の眼瞼浮腫・鼻症状の頻度が高かった。今後は、完治可能かどうかさらに経過観察が必要である。

A. 研究目的

2008年から2011年9月までに当院を受診して食物依存性運動誘発アナフィラキシーを含むコムギアレルギーと診断され、1年以上経過した症例について彼らの転帰について調査したので報告する。

B. 研究方法

対象は2008年5月から2011年9月までに当院を受診して上記疾患と診断された36例について2012年9月26日にアンケート調査表を郵送して調査した。質問の内容は1) 今も症状があるかどうか、2) ある場合、コムギ食品摂取についての質問、3) 使用している薬剤、4) 症状がない場合、小麦食品の回避状況、5) 薬剤の使用状況、6) 症状ありの場合の症状の種類、7) 病院受診状況の7問である。返信用封筒を同封し、2012年10月末までの約1か月に返信された症例について解析した。

(倫理面への配慮)

研究目的を当院倫理規程委員会に提出した。個人の同意を得て、また個人の不利にならないよう、さらにヘルシンキ宣言にもとづき、人権への配慮を行うことの審査を受けて承認された。

C. 研究結果

アンケート調査を郵送した36例は男性2名女性34名で平均年齢 36.1 ± 8.7 歳であった。回収された調査用紙は24名分、回収率67%であった。男性1名女性23名で平均年齢 36.8 ± 10.5 歳（17～56歳）で当院初診時よりアンケート調査までの期間は2年以上が13名（54%）で、平均 23.8 ± 9.5 か月（12～52か月）であった。

当院初診時の主訴はアナフィラキシー7名（29%）、小麦依存性運動誘発アナフィラキシー9名（38%）、蕁麻疹4名（17%）、眼瞼浮腫/鼻症状2名（8%）、小麦食物アレルギー1名（4%）、アレルギー検査希望1名（4%）であった。質問の回答では今現在も症状があるが17名（71%）で、なし7名（29%）であった。どんな症状が出現したかの回答では、無回答の1名を除いて16名中、アナフィラキシー2名（13%）、眼瞼腫脹8名（50%）、鼻症状7名（44%）、じんましん4名（25%）、全身倦怠感2名（13%）、吐気1名（6%）、喘鳴・咳痰2名（13%）など重複して症状が見られた。

薬剤の使用頻度は、なし6名（25%）、薬剤使用ありが18名（75%）で、使用薬剤は18名中17名（94%）、セレスタミンなどの合剤

を含むステロイド薬 4 名 (22%)、MDI (携帯用気管支拡張薬吸入剤) 1 名 (6%) であった。またエピペンを準備している症例が 1 名 (6%) あった。病院受診についての質問の回答は受診なし 3 名 (13%)、ほぼ定期的に受診が 14 名 (58%)、受診したいが時間がなく不定期や受診なしが 7 名 (29%) を占めた。小麦食品の摂取状況は、全面的に回避している 5 名 (21%)、全く気にせず摂取している 1 名 (4%) で、時間や量を工夫して摂取しているが 18 名 (75%) と最も多く見られた。

D. 考察

2004 年頃より福岡で美容石鹸として当該石鹸が全国的にインターネットなどを通して販売され、非常に多くの人々が購入して定期使用した。一部の消費者が 2008 年頃より上記疾患を発症して当院に紹介受診や、個人的にアレルギー科を受診が見られるようになった。現在の時点で 200 名を超える患者が受診しているが、初期とは異なって上記診断がつかない例が増加している。今回の症例はまだお茶のしずく石鹸によるアレルギー発症が不明の頃から典型的な症状が反復して起こる症状の継続・悪化で受診した重症例が多い。圧倒的に女性が多く、平均年齢 30 代後半であった。石鹸が高価であること、美容石鹸の必要性などから性・年齢の特徴が納得できるが、もう一方で定期に使用して年齢が中高年より若く、比較的短期間に感作・発症・増悪者が受診した可能性もある。受診時の主訴はアナフィラキシー・食物依存性運動誘発アナフィラキシーの頻度が 67% と高く、内科への受診時の症状の特徴であり、受診前に重篤な症状を経験した症例が多く見られた。当院を受診後、症状出現と食物または食物・運動との関係が判明し、石鹸使用中止、小麦食品回避、日常生活パターンの見直し、症状出現時の薬剤摂取などが基本的な対策であったが、食物運動負荷検査を施行した例があり、より具体的に治療対策に役立った。

今回の調査では当院を受診後平均 2 年以上の症例が半数を占めているが、小麦食品の摂取方法を時間・量の点で工夫しながら、薬剤を使用し、症状が出現しても局所反応で済んでいる症例が多かった。また局所反応の眼瞼症状、アレルギー性鼻炎症状は改善しにくいことが判明した。また石鹸中止して、食事摂取に気を付けた期間が長くても症状が続いている例があり、症例のアトピー素因や合併症などの影響がうかがわれた。定期的に病院受診している例は 14 例 58% と高率で時間が無いので定期受診ができない 7 名を考慮すると 21 名/23 名とほとんどの例が治療の他不安をいだいて医療機関

へ関心を残していた。

今後さらに経過観察を行うとともに本症例が完治するかどうか、また完治に要する期間を調査して行きたい。

また、本症例が使用するであろう他の化粧品や食物に混じている小麦類および共通抗原性を有するものにも注意深く観察して行きたい。

E. 結論

お茶のしずく石鹸による典型的なコムギアレルギー (WDEIA を含む) は石鹸中止、食物または運動回避・薬剤対策で症状は軽快するが、平均 2 年の経過では完治はしていない。さらに経過観察が必要である。

F. 健康危険情報

加水分解コムギ (グルパール 19S®) が混じられた美容石鹸を定期に 1 日 1~2 回、数か月~数年間使用することにより、洗顔時の眼瞼浮腫、花粉症のような症状の他、洗顔をなくしても小麦食品を摂取後に蕁麻疹や食物摂取後運動誘発アナフィラキシーおよびアナフィラキシーショックを来す恐れがある。現在当該石鹸は市場から無くなったが、まだ国内に残存している可能性もあり、症状出現と石鹸使用との関係に気づいてもらうべく対応が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. お茶石鹸使用開始後に発症した小麦によるアナフィラキシーおよび小麦依存性運動誘発アナフィラキシーの 12 例: 杉山 晃子, 岸川 禮子, 西江 温子, 竹内 聡, 下田 照文, 岩永 知秋, 西間 三馨, 古江 増隆. アレルギー, 60 (11): 1532-1542, 2011.

2. 小麦運動負荷試験を行った加水分解コムギ含有石鹸による wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis 40 例の臨床的検討: 杉山 晃子, 岸川 禮子, 西江 温子, 嶋田 清隆, 下田 照文, 岩永 知秋, 古江 増隆, 西間 三馨. (西日本皮膚科学会誌に投稿中)

3. 杉山晃子, 岸川禮子. 加水分解コムギにより生じた小麦アレルギーについて. 臨床免疫・アレルギー科 58(1), 77-84, 2012

2. 学会発表

1) 岸川禮子, 嶋田清隆, 下田照文, 岩永知秋: 美容石鹸定期使用中に生じたコムギ食品による FDEIA 症例、職業・環境アレルギー誌 18 (1) 38, 2010.

2) 岸川禮子, 杉山晃子, 嶋田清隆, 西江温子, 下田照文, 岩永知秋: アスピリン不耐症を疑わ

れて受診した加水分解小麦入石鹼による食物アレルギーの 1 症例、アレルギー60 (3,4) : 500,2011.

3) 杉山晃子、岸川禮子、西江温子、竹内 聡、下田照文、岩永知秋、西間三馨、古江増隆、嶋田清隆、福富友馬、松本貴之、森下直樹：加水分解小麦含有石鹼により生じたと考えられる小麦アレルギーの症例について、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2011 年 11 月東京。

4) 杉山晃子、岸川禮子、西江温子、下田照文、岩永知秋、西間三馨、嶋田清隆、古江増隆、田辺創一、千貫祐子、福富友馬、中村政志、松永佳世子。加水分解コムギにより生じたWDE I Aにおける負荷検査の結果と有用性。第 62 回アレルギー学会秋季学術大会 2012 年 11 月。大阪市

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

一般集団における自己申告の小麦アレルギー集団に対するクラスター解析

研究分担者 東 朋美 金沢大学医薬保健研究域医学系 環境生体分子応答学 助教
 研究協力者 福 富 友 馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 診断治療薬開発研究室長
 中 村 裕 之 金沢大学医薬保健研究域医学系 環境生態医学・公衆衛生学 教授
 谷 口 正 実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部部长

研究要旨：

一般に質問票調査のみでの食物アレルギーの診断は困難であると考えられている。成人の真の食物アレルギーも heterogeneous な集団であるが、自己申告による食物アレルギー集団はより heterogeneous な集団であることが質問票調査による食物アレルギー診断をより困難にしていることが考えられる。今回我々は、質問票調査により一般集団から見出した自己申告による小麦アレルギー集団に対して、アレルギー症状をもとにクラスター解析をし、この heterogeneous な集団を質問紙上での分類を試みた。

3群のクラスターに分類された。クラスター1は小麦アレルギーの症状として鼻粘膜症状が強く、茶のしずく石鹸の使用率が高い、運動誘発の因子が強い群、クラスター2は全身性蕁麻疹が主体の運動誘発アレルギー群、クラスター3は、実際には小麦アレルギー症状をほとんど経験していない群であった。クラスター1, 2と3では小麦摂取状況、医師による小麦アレルギーの診断の割合が大きく異なっていた。

クラスター解析により、自己申告による小麦アレルギーのうち、実際に症状の強い患者群(クラスター1, 2)とほとんど症状を経験していない患者群(クラスター3)があることが明らかになった。小麦アレルギーの症状を具体的に聞く質問の追加により、自己申告による小麦アレルギー集団の半数以上が実際には小麦を通常に摂取できている実態が明らかになった。

自己申告による食物アレルギーのクラスター解析により、自己申告による食物アレルギー集団の実態が明らかになった。

A. 研究目的

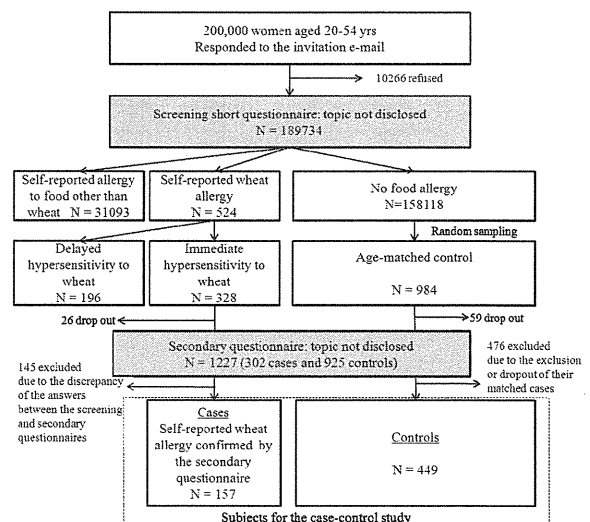
一般に質問票調査のみでの食物アレルギーの診断は困難であると考えられている。成人の真の食物アレルギーも heterogeneous な集団であるが、自己申告による食物アレルギー集団はより heterogeneous な集団であることが質問票調査による食物アレルギー診断をより困難にしていることが考えられる。今回我々は、質問票調査により一般集団から見出した自己申告による小麦アレルギー集団に対して、アレルギー症状をもとにクラスター解析をし、この heterogeneous な集団を質問紙上での分類を試みた。

B. 研究方法

マクロミル社のネットリサーチモニタを対象に調査を行った。2011年1月に全国の20-54歳の女性20万人を対象にウェブ上で調査を依頼し、スクリーニング質問票で見出した自己申告による小麦アレルギー症例157例を見出した(図1)。この群において小麦摂取時の症状の出現パターンに関して追加質問を行い、小

麦摂取時の症状出現パターンに関して階層的クラスター解析を行った。

図1 研究デザイン



(倫理面への配慮)

本研究は国立病院機構相模原病院における倫理委員会の承認の元行われた。

C. 研究結果

自己申告による小麦アレルギー157例を対象に階層的クラスター解析を行い、3群のクラスターを見出した(図2)。クラスター1は小麦アレルギーの症状として鼻粘膜症状が強く、茶のしずく石鹸の使用率が高い、運動誘発の因子が強い群、クラスター2は全身性蕁麻疹が主体の運動誘発アレルギー群、クラスター3は、実際には小麦アレルギー症状をほとんど経験していない群であった(表1)。クラスター1, 2と3では小麦摂取状況、医師による小麦アレルギーの診断の割合が大きく異なっていた。

図2 一般集団から見出した自己申告による小麦アレルギー集団に対するクラスター解析

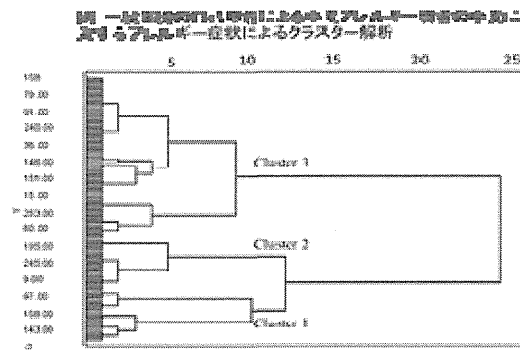


表1 見出された各クラスターの特徴

	Whole subjects with wheat allergy (n=157)	Cluster 1 Rhinitis/eosinophilic (n=92)	Cluster 2 Skin predominant (n=33)	Cluster 3 Low symptoms (n=32)	P value
Age, mean ± SD	33.2 ± 7.9	33.3 ± 7.5	34.3 ± 8.4	33.4 ± 7.9	0.960
Eye/eye-conjunctival	0.68 ± 0.73	1.88 ± 0.31	0.47 ± 0.45	0.37 ± 0.44	<0.001
Nasal	0.31 ± 0.73	1.28 ± 0.66	0.42 ± 0.68	0.39 ± 0.45	<0.001
Skin	0.97 ± 0.74	1.22 ± 0.66	1.79 ± 0.38	0.25 ± 0.45	<0.001
Respiratory	0.48 ± 0.65	0.99 ± 0.84	0.37 ± 0.49	0.34 ± 0.51	<0.001
Abdominal	0.34 ± 0.69	0.39 ± 0.72	0.39 ± 0.72	0.35 ± 0.59	0.939
Collapsyptosis	0.23 ± 0.47	0.44 ± 0.63	0.39 ± 0.47	0.14 ± 0.40	<0.001
医師の診断による小麦アレルギー-症状の程度	67 (43)	31 (33)	10 (30)	16 (50)	0.091
アレルギー-症状の程度					
1-2	28 (18)	3 (3)	1 (3)	24 (75)	
1-3	46 (29)	9 (9)	7 (21)	25 (78)	
2-3	37 (23)	7 (7)	5 (15)	24 (75)	
4-5	18 (11)	1 (1)	1 (3)	1 (3)	
11	30 (19)	4 (4)	9 (27)	17 (53)	0.002
小麦摂取状況					
Yes	13 (8)	2 (2)	3 (9)	8 (25)	
A little	48 (30)	10 (10)	10 (30)	19 (59)	
Not eating before EXX	9 (6)	3 (3)	3 (9)	3 (9)	
Eating as usual	90 (57)	9 (9)	14 (42)	46 (143)	
小麦アレルギー-医師による診断	81 (52)	23 (23)	18 (54)	40 (125)	0.003
医師からのWZELIAの診断	31 (20)	18 (18)	7 (21)	9 (28)	<0.001
医師からアレルギー-検査					0.004
Positive	71 (45)	17 (17)	16 (48)	28 (88)	
Negative	4 (2)	2 (2)	2 (6)	3 (9)	
Never using	67 (42)	7 (7)	11 (33)	49 (151)	
1 day/1 week	10 (6)	4 (4)	2 (6)	4 (12)	
洗剤のアレルギー-程度	34 (21)	13 (13)	13 (42)	28 (88)	0.217
入浴剤のアレルギー-程度	69 (44)	18 (18)	17 (51)	34 (105)	0.023
茶のしずく石鹸の使用					<0.001
Currently using	17 (11)	9 (9)	9 (27)	3 (9)	
Never used	32 (20)	4 (4)	1 (3)	7 (22)	
Never used	124 (82)	17 (17)	23 (71)	84 (260)	

D. 考察

クラスター解析により、自己申告による小麦アレルギーのうち、実際に症状の強い患者群(クラスター1, 2)とほとんど症状を経験していない患者群(クラスター3)があることが明らかになった。小麦アレルギーの症状を具体的に聞く質問の追加により、自己申告による小麦アレルギー集団の半数以上が実際には小麦

を通常に摂取できている実態が明らかになった。

E. 結論

自己申告による食物アレルギーのクラスター解析により、自己申告による食物アレルギー集団の実態が明らかになった。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照のこと

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanii H, Higashi T, Demura M, Saijoh K. Repeated Exposure to Cruciferous Allyl Nitrile Protects against Chemically Induced Skin Inflammation in the Mouse. Food and Nutrition Sciences, 3, 1037-1042, 2012.

Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Hirose M, Higashi T, Ishigaki Y, Endo Y, Takino T, Sato H, Sai Y, Miyamoto K, Motoo Y, Kawakami K, Minamoto T.

Aberrant glycogen synthase kinase 3β is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy.

PLoS One, 8(2), e55289, 2013

(書籍)

Higashi T, Saijoh K. Health Effects of Asian Dust (Kosa). In: Environmental Health and Education for Sustainable Development (Nakamura H, Suzuki K, Hayakawa K, eds). Kanazawa e-Publishing Co. Ltd., Kanazawa, Japan, 45-50, 2012.

(書籍)

Saijoh K, Higashi T. Several tips to stay healthy abroad. In: Environmental Health and Education for Sustainable Development (Nakamura H, Suzuki K, Hayakawa K, eds). Kanazawa e-Publishing Co. Ltd., Kanazawa, Japan, 13-16, 2012.

2. 学会発表

Kobayashi F, Maki T, Kakikawa M, Yamada M, Matsuki A, Naganuma T, Higashi T, Iwasaka Y. The research of atmosphere bioaerosol over Antarctica, 5th International Symposium on the Environment of the Rim-Japan Sea Regions, 2012.2.3. Kanazawa, Japan.