

2013-22042B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野)

成人独自のアナフィラキシーの 実態と病態に関する研究

平成23年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 福富 友馬

平成26(2014)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

成人独自のアナフィラキシーの実態と病態に関する研究

福 富 友 馬 1

II. 分担研究報告書

1. 加水分解小麦関連経口小麦アレルギーに関する普及啓発活動と
診療体制確立に関する研究

福 富 友 馬 11

2. 加水分解小麦の感作性・惹起性に関する研究

手 島 玲 子 15

3. 食物タンパク質由来化粧品添加物の抗原解析

板 垣 康 治 25

4. 交差反応によるアレルギーに関する研究

千 貫 祐 子 33

5. 加水分解コムギによる即時型コムギアレルギー患者の経過と
日常生活への影響

岸 川 禮 子 37

6. 加水分解小麦含有洗顔石鹸に関連した経口小麦アレルギー症例に
おける石鹸使用中止後の小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の経年的変化

福 富 友 馬 43

7. 成人に特異的なアレルギーとしての加水分解小麦感作による
小麦アレルギーと花粉感作による大豆アレルギーの検討

相 原 道 子 45

8. 加水分解コムギを含有する石鹸・シャンプーその他の化粧品の使用と
成人小麦アレルギーとの疫学的な関係

東 朋 美 51

9. 成人薬剤アレルギーの疫学調査

谷 口 正 実 55

10. カバノキ科花粉症関連成人果物野菜アレルギー患者における感作 アレルゲンプロファイル	福 富 友 馬	61
11. 成人大豆アレルギーにおける感作アレルゲンコンポーネント： カバノキ科花粉症との関連性	福 富 友 馬	65
12. ピーナッツアレルギー診断におけるアレルゲンコンポーネントの 有用性に関する研究	海老澤元宏	69
III-1. 研究成果の刊行に関する一覧表 平成 23 年度		75
III-2. 研究成果の刊行に関する一覧表 平成 24 年度		77
III-3. 研究成果の刊行に関する一覧表 平成 25 年度		81

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野))
総括研究報告書

成人独自のアナフィラキシーの実態と病態に関する研究

研究代表者	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
研究分担者	相 原 道 子	横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学	教授
	板 垣 康 治	北海道文教大学人間科学部健康栄養学科	教授
	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長
	岸 川 禮 子	国立病院機構福岡病院アレルギー科	医長
	谷 口 正 実	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	病態総合研究部部長
	千 貫 祐 子	島根大学医学部皮膚科	講師
	手 島 玲 子	国立医薬品食品衛生研究所	食品部 部長
	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	秋 山 一 男	国立病院機構相模原病院	院長
	池 澤 善 郎	国際医療福祉大学熱海病院	
	古 川 福 実	和歌山県立医科大学	医学部皮膚科学 教授
	松永佳世子	藤田保健衛生大学	医学部皮膚科学 教授
	森 田 栄 伸	島根大学医学部皮膚科学教室	教授
	松 倉 節 子	横浜市立大学附属市民総合医療センター	皮膚科 講師
	中 村 和 子	横浜市立大学附属市民総合医療センター	皮膚科 助教
	熊谷日登美	日本大学生物資源科学部生命化学科	教授
	佐 藤 里 絵	農研機構 食品総合研究所	食品分析研究領域 成分解析ユニット 主任研究員
	杉 山 晃 子	国立病院機構福岡病院	皮膚科医師
	下 田 照 文	国立病院機構福岡病院	臨床研究部長
	西 江 温 子	国立病院機構福岡病院	皮膚科
	岩 永 知 秋	国立病院機構福岡病院	院長
	安 達 玲 子	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部 第3室室長
	中 村 亮 介	国立医薬品食品衛生研究所	医薬安全科学部 第3室室長
	酒 井 信 夫	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部 主任研究官
	中 村 里 香	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部 研究員
	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
	田 中 宏 幸	岐阜薬科大学	機能分子学大講座 薬理学研究室
	佐 藤 さ くら	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 病因病態研究室長
	柴 田 夕 夏	国立病院機構相模原病院	
	南 崇 史	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	
	齋 藤 明 美	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
	安 枝 浩	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
	石 井 豊 太	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	
	中 澤 卓 也	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	

研究要旨：

成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは小児のそれと大きくその臨床像と病態が異なるにも関わらず、その病態に関しては十分に検討されてきていない。成人においても食物アレルギーなどが稀でないことを考えると、成人独特の病態にもっと多くの関心が払われるべきである。

本研究班は、社会問題になっている加水分解コムギに対するアレルギーの実態把握と病態解明と同時に、その他の成人の食物アレルギー病態に関する臨床研究、成人の食物・薬剤アレルギーに関する疫学研究を行い、成人における独自のアナフィラキシーの病態を明らかにすることを目標とした。

加水分解小麦への経皮経粘膜感作によって発症した小麦アレルギー（主に（旧）茶のしずく石鹼による小麦アレルギー）に関して、本研究班で明らかになったことを要約すると以下のとおりである。

- 1) 当該疾患による小麦アレルギーは、小麦の経口摂取により発症した小麦アレルギーと臨床像が大きく異なる。
- 2) 臨床的観察から、当該疾患の患者の大部分が加水分解コムギを含有する「（旧）茶のしずく石鹼」を使用していた。
- 3) この石鹼の使用と小麦アレルギーの流行の疫学的な関係も証明された。
- 4) この石鹼に含有されていたグルパール 19S という加水分解コムギは、天然の小麦にはない独自の抗原性を有している。さらにこの抗原性にはグルテンの脱アミド化と加水分解小麦の分子量が大きく関与している。
- 5) グルパール 19S は、天然小麦に比べて経皮的な感作能力が高い。
- 6) 経口小麦アレルギー症状の惹起には、体内の酵素 tissue transglutaminase による経口摂取されたグルテンの脱アミド化も関与している。
- 7) 当該疾患は石鹼の使用の中止（加水分解コムギへの暴露の消失）により、病態が改善傾向に向かう患者が多いが、現状では完治している症例は稀である。さらに臨床症状の予後は必ずしも IgE 抗体価の推移のみでは説明できない。
- 8) 当該疾患患者は「他との付き合い減少」により、QOL が著明に低下している。

果物野菜アレルギーに関しては、PR-10 タンパクへの感作の重要性が再確認された。これらの知見は、上述の化粧品関連食物アレルギーと合わせて、成人食物アレルギーの発症において腸管外感作ルートに特に留意しなければいけないことを示している。

A. 研究目的

アナフィラキシーは、最重症型の致死性の即時型アレルギー反応であり、死の恐怖と隣り合わせで日常生活を送る患者のみならず、患者を抱える社会に対しても重大な負担を強いる原因となっている疾患である。

成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは小児のそれと大きくその臨床像と病態が異なるにも関わらず、その病態に関しては十分に検討されてきていない。成人においても食物アレルギーなどが稀でないことを考えると、成人独特の病態にもっと多くの関心が払われるべきである。さらに、成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは、成人の一般人口のアトピー体質を持つものの割合の増加に従って、その有

病率が今後増加してくることが推測される。小児の食物アレルギーと同様に、今後は、成人の食物アレルギーも今よりもっと大きな社会的インパクトを持ってくるようになると考えられる。

これまで多くの研究が、花粉など吸入性抗原に対する、経気道粘膜的感作が、成人の食物アレルギーの発症原因として非常に重要であることを示してきている。最近になって私たちは美容石鹼中の加水分解小麦に対する接触性感作により発症した小麦アレルギーの大流行を経験した。この事件は結果的に、成人における食物アレルギーの腸管以外の感作ルートの重要性を再認識させるものとなってしまった。さらに、この疾患は、我々が何気なく使用してい

る化粧品・医薬部外品など含有される食物タンパク質由来の添加物が、我々のアナフィラキシーの発症やその流行に関与している可能性を示唆しており、公衆衛生上の重大な問題であると考えている。

本研究班は、社会問題になっている加水分解コムギに対するアレルギーの実態把握と病態解明と同時に、その他の成人の食物アレルギー病態に関する臨床研究、成人の食物・薬剤アレルギーに関する疫学研究を行い、成人における独自のアナフィラキシーの病態を明らかにすることを目標とする。

B. 研究方法

＜加水分解小麦含有洗顔石鹸関連の小麦アレルギーに関する普及啓発活動、診療体制整備＞

① 福富（研究代表者）らは、インターネット上に情報ページを立ち上げることにより、一般市民、医療従事者を対象に、加水分解コムギの経皮経粘膜感作による小麦アレルギーという疾患・病態に関する正しい情報の普及啓発活動を行った。

＜加水分解コムギアレルギーの病態解明＞

② 手島（国立医薬品食品衛生研究所）らは、動物実験モデルにおいて、加水分解小麦の感作能を評価した。さらに小麦グルテンの経口摂取後の消化酵素やその他修飾による抗原性の変化に関して、独自に開発した細胞を用いる *in vitro* 惹起試験を用いて検討した。

③ 板垣（北海道文教大学）らは、ウエスタンブロットイング、陽性バンドの *in gel digestion* により消化後 MALDI-TOF/TOF により抗原解析を行った。また、グリアジンの加熱加水分解によって、経時的な加水分解率、脱アミド化率、IgE 反応性を調べた。

④ 千貫（島根大学）らは、各種の加水分解小麦を対象に、ウエスタンブロット法、患者好塩基球活性化マーカー CD203c 発現測定によりアレルギー性の違いについて検討した。

＜加水分解コムギアレルギーの臨床的検討＞

⑤ 岸川（福岡病院）らは加水分解コムギアレルギー症例に対してアンケート調査を行い、症状の経過と患者の QOL を評価した。

⑥ 福富（研究代表者）らは、加水分解小麦関連経口小麦アレルギー症例の、小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の経年変化により、長期予後

に関して検討した。

⑦ 相原（横浜市立大学）らは、加水分解小麦アレルギー 1 2 例の臨床経過、IgE 抗体価の推移に関して詳細に検討した。

＜食物・薬剤アレルギーの疫学調査＞

⑧ 中村、東（金沢大学）らはインターネットを介して、加水分解小麦アレルギーの大規模疫学調査を行った。

⑨ 谷口（相模原病院）らは、インターネットを介して薬剤アレルギーの疫学調査・実態調査を行った。

＜成人食物アレルギーの各種病態のアレルゲン解析＞

⑩ 千貫（島根大学）らは、牛肉アレルギー患者 20 名においてセツキシマブ特異的 IgE 抗体価測定を行い、 α -gal による交差反応性の有無を評価した。

⑪ 福富（研究代表者）らは、成人カバノキ科花粉関連果物野菜アレルギー患者 55 例を対象に感作アレルゲンプロファイル解析を行った。

⑫ 相原（横浜市立大学）、福富（研究代表者）らは、成人大豆アレルギー患者の感作プロファイル解析を行った。

＜食物経口負荷試験の重症度予測に関する研究＞

⑬ 海老澤（相模原病院）らは、小児鶏卵アレルギー患者の抗原刺激時の末梢血好塩基球 CD203c 発現量の測定が鶏卵負荷試験の重症度予測に有用かどうかを検討した。また、小児牛乳アレルギー患者の DBPCFC による負荷試験結果と、負荷試験前の血清トリプターゼの関係を検討した。

（倫理面への配慮）

研究対象となる患者、特に検体提供者となる患者に対しては十分な説明と同意を得た。実験動物に関しては動物愛護上の配慮を十分に行った。すべての研究過程や結果において匿名化を行い、個人情報保護に十分配慮した。

C. 研究結果

① 迅速な情報ページの立ち上げにより、効果的な普及啓発活動を行うことができた。

② マウス経皮感作実験から、グルパール 19S はグルテンと比較して強い経皮感作能を有することが示され、さらに強い Th2 型の免疫反応を惹起することを明らかにした。（Allergy 2012）。また、患者血清を利用した検討でもグルパール 19S や酸加水分

解したグルテンはグルテンに比べ惹起能が高いことが示された (IAAI 2012)。また、小麦グルテンが経口摂取されたあと、体内の Tissue transglutaminase という酵素により脱アミド化を受けることによって強い IgE 反応性を獲得することが明らかになった (JACI 2013)。

- ③ MALDI-TOF/TOF により抗原解析し、γ-グリアジン、LMW-グルテニンが原因アレルゲンとして推定された。グルテンの酸加熱処理による経時的な抗原性の変化が明らかになった。
- ④ 酸分解の高分子量の加水分解小麦が高い抗原性を有していることが明らかになり、不完全な分解もしくは処理中の再重合による高分子量の蛋白質から構成される加水分解小麦がアレルギーの発症の原因であることが示唆された。
- ⑤ 加水分解コムギアレルギー患者は「他とのつきあいの減少」を介して、その QOL が著しく低下していることが示された。
- ⑥ 加水分解小麦関連経口小麦アレルギー症例の多くにおいて、石鹼使用中止後、小麦タンパクに対する IgE 抗体価が低下を認め、このような病態においては石鹼使用の中止で経年的に病態が改善傾向に向かう可能性が示唆された。
- ⑦ 加水分解コムギアレルギーの臨床経過は必ずしも IgE 抗体価のみでは説明できず、臨床症状と抗体価の推移が一致しない症例も認めた。
- ⑧ 大規模なインターネット疫学調査により、(旧)茶のしずく石鹼の使用が、成人小麦アレルギーの流行に関与していることが明らかになった。
- ⑨ 成人の薬剤アレルギーの有病率は 8.4% であり、そのうちアナフィラキシーショックを疑う症状を有しているものも 10-20% に認め、重篤な薬剤アレルギーは一般集団で比較的稀ではない可能性が示唆された。また原因薬剤は抗生剤と解熱鎮痛剤の占める割合が高いことも明らかになった。
- ⑩ 牛肉アレルギー患者 20 例全例で、セツキシマブに対する特異的 IgE 抗体価の上昇を認め、牛肉特異的 IgE 抗体価とも相関を認めた。セツキシマブアレルギーの予測因子としての牛肉特異的 IgE 抗体価測定の有用性が示唆された。
- ⑪ マイクロアレイによる IgE 感作プロファイル解析により、PR-10 感作の由来がカバノキ科花粉であることが確認され、臨床症状が花粉 PR-10 と食物 PR-10 の交差反応性で説明できることが示された。

⑫ 成人大豆アレルギーにおける Gly m 4 感作の重要性が明らかになった (JACI 2012)。さらにその他のアレルゲンタンパクの関与が疑われる症例も存在することが明らかになった。

⑬ サブオプティマルの濃度における卵白および OVM 刺激による好塩基球 CD203c 発現量の測定は鶏卵負荷試験による全身症状誘発の予測に有用であることが示唆された。負荷試験前の血清トリプターゼ高値はより重篤な食物アレルギー症状と関連していた。

D. 考察

加水分解コムギへの経皮経粘膜感作によって発症した小麦アレルギー (主に (旧)茶のしずく石鹼による小麦アレルギー) に関して、本研究で明らかになったことを要約すると以下のとおりである。

- 1) 当該疾患による小麦アレルギーは、小麦の経口摂取により発症した小麦アレルギーと臨床像が大きく異なる。
- 2) 臨床的観察から、当該疾患の患者の大部分が加水分解コムギを含有する「(旧)茶のしずく石鹼」を使用していた。
- 3) この石鹼の使用と小麦アレルギーの流行の疫学的な関係も証明された。
- 4) この石鹼に含有されていたグルパール 19S という加水分解コムギは、天然の小麦にはない独自の抗原性を有している。さらにこの抗原性にはグルテンの脱アミド化と加水分解小麦の分子量が大きく関与している。
- 5) グルパール 19S は、天然小麦に比べて経皮的な感作能力が高い。
- 6) 経口小麦アレルギー症状の惹起には、体内の酵素 tissue transglutaminase による経口摂取されたグルテンの脱アミド化も関与している。
- 7) 当該疾患は石鹼の使用の中止 (加水分解コムギへの暴露の消失) により、病態が改善傾向に向かう患者が多いが、現状では完治している症例は稀である。さらに臨床症状の予後は必ずしも IgE 抗体価の推移のみでは説明できない。
- 8) 当該疾患患者は「他との付き合い減少」により、QOL が著明に低下している。

果物野菜アレルギーに関しては、PR-10 タンパクへの感作の重要性が再確認された。この知見は、上述の化粧品関連食物アレルギーと合わせて、成人食物アレルギーの発症において腸管外感作ルートに特に留意しなければいけな

いことを示している。

E. 結論

現在社会問題になっている加水分解コムギに対するアレルギーの実態把握と病態解明、さらには正確な情報の普及啓発活動を最重要課題とし、研究を進めてきた。本研究班の成果により、当該疾患の病態に関する多くのことが明らかになった。

さらに、この病態以外にも成人独特の発症機序による食物アレルギー病態が多く存在する実態が明らかになった。特に、アレルギー性鼻炎関連の食物アレルギーの発症が疫学的にインパクトが大きい。成人の食物アレルギー発症予防として、経粘膜的もしくは経皮的な環境アレルゲン暴露ルートの遮断が最も重要であることが本研究班の成果から示唆されている。これらの成果は成人食物アレルギー発症予防のための行政計画の学問的な根拠として貢献できると考えている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukutomi Y, Taniguchi M, Nakamura H, Konno S, Nishimura M, Kawagishi Y, Okada C, Tanimoto Y, Takahashi K, Akasawa A, Akiyama K. Association between Body Mass Index and Asthma among Japanese Adults: Risk within the Normal Weight Range: *Int Arch Allergy Immunol.* 2011 Oct 28;157(3):281-287.
- 2) Sekiya K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Tsuburai T, Mitsui C, Tanimoto H, Oshikata C, Tsurikisawa N, Hasegawa M, Akiyama K. Actual control state of intermittent asthma classified on the basis of subjective symptoms; *Intern Med.* 2011;50(15):1545-51.
- 3) Fukutomi Y, Taniguchi M, Watanabe J, Nakamura H, Komase Y, Ohta K, Akasawa A, Nakagawa T, Miyamoto T, Akiyama K. Time trend in the prevalence of adult asthma in Japan: findings from population-based surveys in fujieda city in 1985, 1999, and 2006; *Allergol Int.* 2011 Nov;60(4):443-8.
- 4) Sekiya K, Watai K, Taniguchi M, Mitsui C, Fukutomi Y, Tanimoto H, Kawaura N, Akiyama K. Latex anaphylaxis caused by a Swan-Ganz catheter; *Intern Med.* 2011;50(4):355-7.
- 5) Fukutomi Y, Itagaki Y, Taniguchi M, Saito A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Rhinoconjunctival sensitization to hydrolyzed wheat protein in facial soap can induce wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Feb;127(2): 531-533.e1-3.
- 6) Sekiya K, Fukutomi Y, Nakazawa T, Taniguchi M, Akiyama K. Delayed anaphylactic reaction to mammalian meat. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2012; 22(6): 446-7.
- 7) Nakamura R, Nakamura R, Adachi R, Itagaki Y, Fukutomi Y, Teshima R. Evaluation of Allergenicity of Acid-Hydrolyzed Wheat Protein Using an in vitro Elicitation Test. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012 Oct 17; 160(3): 259-264.
- 8) Adachi R, Nakamura R, Sakai S, Fukutomi Y, Teshima R. Sensitization to acid-hydrolyzed wheat protein by transdermal administration to BALB/c mice, and comparison with gluten. *Allergy.* 2012

Sep 21.

9) Mitsui C, Taniguchi M, Fukutomi Y, Saito A, Kawakami Y, Mori A, Akiyama K. Non Occupational Chronic Hypersensitivity Pneumonitis due to *Aspergillus fumigatus* on Leaky Walls. *Allergol Int.* 2012 Sep;61(3):501-2.

10) Konno S, Hizawa N, Fukutomi Y, Taniguchi M, Kawagishi Y, Okada C, Tanimoto Y, Takahashi K, Akasawa A, Akiyama K, Nishimura M. The prevalence of rhinitis and its association with smoking and obesity in a nationwide survey of Japanese adults. *Allergy.* 2012 May;67(5):653-60.

11) Fukutomi Y, Sjölander S, Nakazawa T, Borres P M, Ishii T, Nakayama S, Tanaka S, Taniguchi M, Saito A, Yasueda H, Nakamura H, Akiyama K. Clinical relevance of IgE to rGly m 4 in diagnosis of adult soybean allergy: *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Mar; 129 (3): 860-863. E3

12) Sekiya K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Mitsui C, Tanimoto H, Oshikata C, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Hasegawa M, Akiyama K. Persistent airflow obstruction in young adult asthma patients. *Allergol Int.* 2012 Mar;61(1):143-8. Epub 2011 Dec 25.

13) Fukutomi Y, Kawakami Y, Taniguchi M, Saito A, Fukuda A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Allergenicity and Cross-Reactivity of Booklice (*Liposcelis bostrichophila*): A Common Household Insect Pest in Japan.: *Int Arch Allergy Immunol.*

2012;157(4):339-348.

14) Fukutomi Y, Taniguchi M, Tsuburai T, Tanimoto H, Oshikata C, Ono E, Sekiya K, Higashi N, Mori A, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Obesity and aspirin intolerance are risk factors for difficult-to-treat asthma in Japanese non-atopic women: *Clin Exp Allergy.* 2012 May; 42 (5): 738-746

15) Takahashi K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Sekiya K, Watai K, Mitsui C, Tanimoto H, Oshikata C, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Minoguchi K, Nakajima H, Akiyama K. Oral Mite Anaphylaxis Caused by Mite-Contaminated Okonomiyaki/Pancake-Mix in Japan: 8 Case Reports and a Review of 28 Reported Cases. *Allergol Int.* In press

16) Nakamura R, Nakamura R, Sakai S, Adachi R, Hachisuka A, Urisu A, Fukutomi Y, Teshima R. Tissue transglutaminase generates deamidated epitopes on gluten, increasing reactivity with hydrolyzed wheat protein-sensitized IgE. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Dec;132(6):1436-1438.e4.

17) Sekiya K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Watai K, Minami T, Hayashi H, Ito J, Tanimoto H, Oshikata C, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Hasegawa M, Akiyama K. Age-Specific Characteristics of Inpatients with Severe Asthma Exacerbation. *Allergol Int.* 2013 Jun 25.

18) Nakazawa T, Khan AF, Yasueda H, Saito A, Fukutomi Y, Takai T, Zaman K, Yunus M, Takeuchi H, Iwata T, Akiyama K.

Immunization of rabbits with nematode *Ascaris lumbricoides* antigens induces antibodies cross-reactive to house dust mite *Dermatophagoides farinae* antigens. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013;77(1):145-50.

19) 福富友馬. アレルゲンとしての食品 化粧品に含まれる食物アレルゲン 経皮感作による食物アレルギーについて: 日本小児アレルギー学会誌; 25 巻 1 号 p50-56, 2011

20) 福富友馬, 安枝 浩. 室内環境中のダニ・昆虫とアレルギー疾患: 都市有害生物管理; 1 (1) p32-42, 2011

21) 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 本邦の成人気管支喘息患者の実態; 国立病院機構ネットワーク共同研究からの知見: *IgE practice in asthma*, Oct-11 19-22 2011 メディカルレビュー社 東京

22) 福富友馬. 食物関連化粧品添加成分により発症する経口食物アレルギー; 臨床免疫・アレルギー科 2012 58(1): 57-6

23) 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 喘息亜型と難治化因子: 国内外の疫学研究からの知見; *IgE practice* 2012 15, 21-24

24) 福富友馬. 化粧品に含まれる食物アレルゲンによる経皮感作; *Visual Dermatology* 2012 11 (3): 284-286

25) 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 喘息亜型とのかかわりからみた難治性喘息; 呼吸器内科 2012 21(1) 61-68

26) 福富友馬, 秋山一男. ブナ目 (カバノキ科・ブナ科) 花粉症 -スギに隠れた花粉症-: *Pharma Media* 2012 30(2); 83-87

27) 福富友馬. 成人の食物アレルギー -発症の本当の原因は食物とは限らない-: 日本醫事新報 2012 4580; 86-87

28) 福富友馬. ハチおよびその他の昆虫アレルギー アレルギー・リウマチ膠原病診療 最新ガイドライン p121-124 2012 2012/4/11 (総合医学社 東京)

29) 福富友馬. (旧) 茶のしずく石鹼による小麦アレルギー問題からの教訓. 職業・環境アレルギー誌 20 (2) p1-11 2013

30) 福富友馬, 谷口正実. 難治性喘息の概念・定義・疫学 呼吸器内科 23 (2), p123-129, 2013

31) 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 喘息発症・難治化リスクとしての肥満 *IgE practice* 7(1), p21-24 2013

32) 福富友馬. 食品とアレルギー. *JAFAN* 3 3 (4) p231-249 2013

2. 学会発表

1) Yuma Fukutomi, Yasuharu Itagaki, Masami Taniguchi, Akemi Saito, Hiroshi Yasueda, Takuya Nakazawa, Maki Hasegawa, Hiroyuki Nakamura, Kazuo Akiyama. Rhinoconjunctival sensitization to hydrolyzed wheat protein in facial soap can induce wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. Food allergy and anaphylaxis meeting. 2011.2.17. Venice, Italy (ポスター)

2) Yuma Fukutomi, Sigrid Sjölander, Magnus P Borres, Takuya Nakazawa, Toyota Ishii, Satoshi Nakayama, Akira Tanaka, Masami Taniguchi, Akemi Saito,

Hiroshi Yasueda, Hiroyuki Nakamura, and Kazuo Akiyama. Soybean allergy in a population with a low prevalence of Betulaceae pollen allergy and a high soybean consumption: Food allergy and anaphylaxis meeting. 2011.2.18. Venice, Italy (ポスター)

3) Y. Fukutomi, M. Taniguchi, S. Nakayama, A. Tanaka, A. Saito, H. Yasueda, T. Nakazawa, M. Hasegawa, H. Nakamura, K. Akiyama. Sensitization to Profilin in Japanese Patients with Pollen-Food Allergy Syndrome: Its Source of Sensitization and Clinical Relevance. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology: AAAAI 2011 - 67th Annual Meeting. 2011.3.22. San Francisco, USA (ポスター)

4) Yuma Fukutomi¹, Masami Taniguchi, Akira Akasawa, Kazuo Akiyama. Association between asthma symptoms and severity of allergic rhinitis determined on the basis of ARIA classification: An internet-based survey; European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) congress 2012.6.17 Geneva, Switzerland (ポスター発表)

5) Yuma Fukutomi¹, Masami Taniguchi, Hiroyuki Nakamura, Kazuo Akiyama. Epidemiological link between wheat allergy and exposure to hydrolyzed wheat protein in skin and hair care products: European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) congress 2012.6.18 Geneva, Switzerland (ポスター発表)

6) 福富友馬, 中村裕之, 谷口正実, 千貫祐子, 森田栄伸, 岸川禮子, 西間三馨, 秋山一男. 加

水分解小麦を含有する石鹸・シャンプーその他の化粧品の使用と成人小麦アレルギーとの疫学的な関係: 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011.11.10 東京 (一般演題)

7) 福富友馬, 千貫祐子, 森田栄伸, 高橋健太郎, 谷口正実, 秋山一男. 茶のしずく関連経口小麦アレルギー症例における石鹸使用中止後の小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の経年的変化. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011.11.10 東京 (一般演題)

8) 福富友馬. 本邦成人喘息患者の難治化因子: アスピリン不耐症・難治性喘息研究会 2011. 2011.11.12 東京 (シンポジウム)

9) 福富友馬, 谷口正実, 赤澤晃, 秋山一男. アレルギー性鼻炎の ARIA による重症度と喘息症状との関係. 第 21 回国際喘息学会 日本・北アジア部会 2011.7.2.岐阜 (一般演題)

10) 福富友馬, 川上裕司, 谷口正実, 齋藤明美, 福田安住, 安枝 浩, 中澤卓也, 長谷川真紀, 秋山一男. アレルギー性喘息における昆虫アレルギー感作: 室内塵中に最も普遍的に認められる微小昆虫・ヒラタチャタテの抗原性. 第 51 回 日本呼吸器学会学術講演会 2011.4.22 東京 (一般演題)

11) 福富友馬, 谷口正実, 今野 哲, 西村正治, 大矢幸弘, 吉田幸一, 岡田千春, 高橋 清, 中村裕之, 秋山一男, 赤澤 晃. インターネット調査による本邦の喘息の ecological study: 有病率の地域差とその規定因子. 第 51 回 日本呼吸器学会学術講演会 2011.4.24 東京 (一般演題)

12) 福富友馬. 成人における食物アレルギーの実態: 第 48 回日本小児アレルギー学会 2011.10.29 福岡. (シンポジウム)

- 13) 福富友馬. 成人の食物アレルギー. 第 5 回相模原臨床アレルギーセミナー 2011.8.5 横浜 (講演)
- 14) 福富友馬. 昆虫アレルギー: 第 5 回相模原臨床アレルギーセミナー 2011.8.6 横浜 (講演)
- 15) 福富友馬, 手島玲子, 松永佳世子, 板垣康治, 谷口正実, 秋山一男. グルパール 19S で感作された加水分解小麦アレルギー患者におけるその他の加水分解小麦への感作状況: 第 24 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2012.5.12 大阪 (一般演題)
- 16) 福富友馬, 南崇史, 谷口正実, 秋山一男. 通常の成人小麦アレルギーと加水分解小麦への経皮経粘膜感作により発症した小麦アレルギー患者の臨床像と臨床経過の差異: 第 66 回国立病院総合医学界 2012.11.16 神戸 (一般演題)
- 17) 福富友馬, 谷口正実, 粒来崇博, 谷本英則, 押方智也子, 小野恵美子, 関谷潔史, 東憲孝, 森晶夫, 長谷川眞紀, 秋山一男. 成人喘息の難治化因子: 非アトピー型女性喘息における肥満とアスピリン不耐症: 第 66 回国立病院総合医学界 2012.11.17 神戸 (一般演題)
- 18) 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 肥満と喘息: 第 22 回 国際喘息学会日本・北アジア部会 2012.7.7 福岡 (シンポジウム)
- 19) 福富友馬. 花粉症と P F A S における ImmunoCAP ISAC の使用経験: 第 3 回 Molleculler Allergology ワークショップ 2012.1.29 東京 (シンポジウム)
- 20) 福富友馬. アレルギー性鼻炎と喘息の疫学的な関係: 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 2012.4.21 神戸 (イブニングシンポジウム)
- 21) 福富友馬. (旧)茶のしずく石けんによる小麦アレルギー問題からの教訓: 第 43 回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 2012.6.15 東京(講演)
- 22) 福富友馬, 川上裕司, 谷口正実, 齋藤明美, 福田安住, 安枝 浩, 中澤卓也, 長谷川眞紀, 秋山一男. 室内塵中に最も普遍的に認められる微小昆虫・ヒラタチャタテの吸入性抗原としての独自性と交差性: 第 37 回 KRC 神奈川呼吸カンファレンス 2012.7.27 横浜 (シンポジウム)
- 23) 福富友馬. 茶のしずく石けんによる小麦アレルギーの総括. 第 13 回 食物アレルギー研究会. 特別プログラム 2013.1.27. 東京 (シンポジウム)
- 24) 福富友馬. 内科アレルギー科医師がみるアナフィラキシーの実態と対策. 第 25 回アレルギー学会 春季臨床大会. 2013.5.11 横浜 (シンポジウム)
- 25) 福富友馬. 加水分解コムギアレルギー: 最新の知見. 第 50 回日本小児アレルギー学会 2013/10/19 横浜 (シンポジウム)
- 26) 福富友馬. 成人の吸入性アレルギー・食物アレルギーにおけるアレルギーコンポーネント解析. 第 63 回 日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.29. 東京 (シンポジウム)

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

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野))
分担研究報告書

加水分解小麦関連経口小麦アレルギーに関する普及啓発活動と診療体制確立に関する研究

研究代表者 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
研究協力者 秋 山 一 男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター長
相 原 道 子 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学 教授
池 澤 善 郎 国際医療福祉大学熱海病院
岸 川 禮 子 国立病院機構福岡病院 アレルギー科医長
千 貫 祐 子 島根大学医学部皮膚科 講師
古 川 福 実 和歌山県立医科大学 医学部皮膚科学 教授
松永佳世子 藤田保健衛生大学 医学部皮膚科学 教授
森 田 栄 伸 島根大学医学部皮膚科学教室 教授

研究要旨：

本研究班設立当初から加水分解小麦関連の小麦アレルギーの問題は、本研究班で解決すべき最重要課題であったが、2011年に入ってから当該疾患が全国のアレルギー専門施設から多数報告されるようになり、同年5月20日に「(旧)茶のしずく石鹼(悠香)の自主回収が決定してから、この問題が急速に社会問題化した。一般市民と医療機関へのこの問題に関する正確な情報の早急な普及啓発活動と、診療体制の確立が必要となり、緊急でこの問題に対処するための情報ページをリウマチ・アレルギー情報センターのホームページ内に設立すべく準備を開始した。本研究は、日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会のバックアップのもとに行った。

我々研究班と両学会の有志の先生方のご協力により、緊急に情報ページを設立し、2011年6月8日にホームページを公開できた。同時に日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

迅速な情報ページの立ち上げによる、この問題に関する正確な情報の普及啓発効果は非常に大きかったと考えた。

A. 研究目的

本研究班設立当初から加水分解小麦関連の小麦アレルギーの問題は、本研究班で解決すべき最重要課題であったが、2011年に入ってから当該疾患が全国のアレルギー専門施設から多数報告されるようになり、5月20日に「(旧)茶のしずく石鹼(悠香)の自主回収が決定してから、この問題が急速に社会問題化した。一般市民と医療機関へのこの問題に関する正確な情報の早急な普及啓発活動と、診療体制の確立が必要となり、緊急でこの問題に対処するための情報ページをリウマチ・アレルギー情報センターのホームページ内に設立すべく準備を開始した。本研究は、日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会のバックアップのもとに行った。

B. 研究方法

我々研究班と両学会の有志の先生方により、緊急に以下の内容からなる情報ページを設立した。

日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

(倫理面への配慮)

本研究は、情報公開のみをその目的としており、個別の患者の臨床情報や検体の採取を必要としなかった。

C. 研究結果

以下のような内容の情報ページの立ち上げを、2011年6月8日に行うことができた。当該研究成果は現在も以下のホームページアドレスにて一般に公開されている

<http://www.allergy.go.jp/allergy/flour/index.html>

小麦加水分解物含有石鹼「茶のしずく」を使用したことにより発症する
小麦アレルギーに関する情報センター

当該ホームページは以下の4つのセクションからなる。

1."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーについてのFAQ（一般の方向け）

このセクションでは、一般の方を対象に、茶のしずく石鹼を使用して小麦アレルギーが発症する機序に関して、現在までの研究・検討で明らかになった知見に基づき、わかりやすく記載した。

2."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーについて疾患概念と診断の目安（医療従事者向け）

このセクションでは、主に医療従事者を対象に当該石鹼の使用により発症した経口小麦アレルギーと、経口的な小麦タンパクの感作によって発症したと思われる小麦アレルギー一症例について、その病態の違いと鑑別の方法を中心に記載した。

3.全国の"茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギー診療可能施設

このセクションでは、当該疾患の診療可能施設の一覧を公開した。日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

4."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーと診断された患者さんへ

このセクションでは、当該疾患の患者に対する日常生活の注意点に関してわかりやすく記載した。

D. 考察

本情報ページの迅速な立ち上げは、一般市民と医療従事者のこの問題に関する正確な情報の普及啓発に大きく寄与したと考えられる。我々の情報ページの立ち上げは、2011年7月からの日本アレルギー学会の“化粧品中のタンパク加水分解物の安全性に関する特別委員会”の活動への橋渡しの重要な役割があったと考えている。

E. 結論

迅速な情報ページの立ち上げによる、この問題に関する正確な情報の普及啓発効果は非常に大きかったと考えた。

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

総括研究報告書

G 研究発表

1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

総括研究報告書

G 研究発表

2 学会発表 参照のこと

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

加水分解小麦の感作性・惹起性に関する研究

研究分担者 手島玲子 国立医薬品食品衛生研究所 食品部 部長
研究協力者 安達玲子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 第3室室長
中村亮介 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 第3室室長
酒井信夫 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 主任研究官
中村里香 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 研究員

研究要旨：

近年、加水分解コムギ (HWP) を含有する洗顔石鹸の長期使用によりコムギアレルギーを発症する事例が数多く報告され、社会的に大きな問題となっている。本研究では、マウスを用いた経皮感作試験系を構築し、この試験系を用いて、茶のしずく石鹸に含有されていた加水分解コムギタンパク質であるグルパール 19S(19S)及び関連物質の経皮感作性について検討を行った。本試験系では、BALB/c マウスの背面皮膚に抗原を貼付(3日間/週×4週)して経皮感作を行い、抗原特異的IgE抗体等の産生、抗原の腹腔内投与によるアナフィラキシー反応惹起後の体温低下、アナフィラキシー症状スコアリング、血中ヒスタミン濃度測定等を行った。検体としては、19S及びその原料であるグルテン、グルテンの経時的酸加水分解物(0.1N塩酸中100℃で加水分解したもの)等を用いた。その結果、グルテンと比較して19Sあるいは0.5時間酸加水分解物の方がより高い経皮感作性を有しており、感作後の抗原腹腔内投与によりアナフィラキシー症状が誘発されること、また、加水分解の進行に伴い経皮感作性が消失すること等が示された。

また、HWPの交叉惹起能の検討として、ヒト化マスト細胞を用いた *in vitro* 惹起試験を行ったところ、次に示す結果が得られた。(i)酸加水分解時間の異なるHWPを用いてHWP患者および従来型の小児コムギアレルギー患者血清による免疫血清学的試験ならびに *in vitro* 細胞活性化試験を行ったところ、HWP患者血清では酸加水分解によりグルテンの惹起能が増大し、酸加水分解が進んでもその惹起能は減弱しにくい傾向にあった。一方、従来型小児コムギアレルギー患者血清では、グルテンの酸加水分解の処理時間に応じて惹起能は速やかに減弱した。(ii)限外ろ過膜を用い、各種HWPを非変性下でサイズ分画し、それぞれの画分のIgE応答性をEXiLE法により解析したところ、分画分子量3kDa以下の画分にはIgE反応性を誘導する能力がないことが示された。(iii)消化酵素、並びに小腸の粘膜固有層に存在する組織トランスグルタミナーゼ(tTG)処理したグルテンを用いて検討を行った結果、グルテンを胃酸や消化酵素で処理するのみではHWP患者IgEとの反応性はやや低下するのみであったが、tTGにより処理したところ、グルテンの脱アミド化が誘導され、Glp19Sに匹敵する応答性が認められた。tTGはセリアック病の病態に深く関与するグリアジンの脱アミド化酵素として知られており、同様に脱アミド化を受けているGlp19Sとの交差反応性IgEエピトープの生成にtTGが関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、加水分解コムギ (HWP) を含有する洗顔石鹸の長期使用により、コムギ製品を摂取した際にアレルギー症状を呈する事例が数多く報告されている。日本アレルギー学会特別委員会の疫学調査における平成26年1月20日現在の症例登録数は2,102例に達している。これらの患者には重篤な症例も多く、社会的に大きな問題となっている。洗顔石鹸の成分により感作される経路としては、皮膚から吸収される経皮感作、あるいは目や鼻の粘膜から吸収される経粘膜感作が考えられる。

本研究では、「成人独自のアナフィラキシーの実態と病態に関する研究」の基礎部門の中で、

より抗原性の低い食物タンパク質由来成分が化粧品、並びに医薬部外品の原料となるような加工方法、濃度、使用方法の提唱を大きな目的とし、動物、細胞モデルを用いる加水分解小麦の感作性並びに惹起能に関する研究を担当した。(a)動物モデルを用いたHWPの感作性に関する研究では、多くのアレルギー症状を引き起こした株式会社悠香(福岡)の茶のしずく石鹸に含まれていたHWPであるグルパール19S(19S)(片山化学工業株式会社)、及びその原料であるグルテンの経皮感作性、19Sの感作性に関する用量依存性、グルテンの酸加水分解による経時的な感作能の変化等に関して検討を行った。また、他のHWPの経皮感作性につ

いて検討し、19S と比較検討した。(b) ヒト化マスト細胞を用いる *in vitro* 惹起試験では、グルパール 19S とグルテン、および酸加水分解が進んだグルテンの惹起能についても検討し、惹起能を持つ分子サイズについても検討を加え、さらに摂食したコムギグルテンが体内で何らかの代謝を受けることにより新たな IgE エピトープが生じ、Glp19S との交差反応性を獲得する可能性について検討を行った。

B. 研究方法

HWP 懸濁液の調製およびグルテンの酸加水分解

19S は片山化学工業株式会社より入手した。19S 及びグルテン(Sigma)粉末を乾燥重量で 100 mg/mL となるよう 1M Tris (pH11.4) に加えて懸濁し、終夜室温に静置してストック懸濁液を作製した。経皮感作には、ストック懸濁液を PBS で 10 倍希釈し、pH を 8 付近に調整したものをを用いた。

グルテンの酸加水分解は、グルテンのストック懸濁液に、グルテン終濃度 40 mg/mL かつ pH1 となるように 1N 塩酸を加え、100°C のヒートブロック上で、0.5, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 48 時間加熱した。所定の時間経過後、1.5N 水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和し加水分解反応を停止した後、加水分解グルテン終濃度が 10 mg/mL となるように PBS にて希釈した。分解 0 時間のサンプルは、1N 塩酸を予め中和した溶液中にグルテンストック懸濁液を 40 mg/mL 加え、加熱は行わずに調製した。作製した酸加水分解グルテンの一部に 2 × Laemmli sample buffer (Bio-Rad) 及び 5% 2-mercaptoethanol を加えて 95°C で 5 分間加熱し、15-25% アクリルアミドゲル (D.R.C. 株式会社) 中で SDS 電気泳動により分離した。

マウスを用いた経皮感作試験

動物は、7 週齢の雌性 BALB/c マウスを日本エスエルシーより購入し、MF 飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を給餌した。1 群中の匹数は 5 匹以上とし、8 週齢時に背面片側を剃毛し (Day 0)、翌日より 3 日間 HWP 懸濁液を剃毛部に貼付して経皮感作を行った (Day 1-3)。HWP 懸濁液の貼付には、パッチテスター「トリー」(鳥居薬品株式会社) を 2 cm 角に切ったものを用い、パッド部に 50 µL の抗原溶液 (500 µg protein) を浸潤させ剃毛部に貼付した。パッチテスターの上からサージカルテープを巻いてパッチを保護し、さらにマウスの首にエリザベスカラーを装着してパッチの剥脱を防いだ。3 日間の感作後にパッチを外し

(Day 4)、その後 4 日間休ませるという操作を 1 クールとし、4 クール (Day 1-3, 8-10, 15-17, 22-24) の感作後、抗原特異的 IgE/ IgG1 抗体を ELISA 法で測定した。アレルギー反応の惹起は、Day 25 に、感作抗原 1 mg/ 100 µL を腹腔内投与 (i.p.) して行った。i.p. 後 30 分間のマウスの直腸内体温変化およびアナフィラキシー症状を観察し、スコア 0 (症状なし) からスコア 5 (死亡) までの基準に従ってスコアリングした。また、惹起 30 分後に麻酔下で全血および脾臓を採取し、血清あるいは血漿中のヒスタミン濃度を、Histamine EIA Kit (SPI-BIO) にて測定した。脾臓は孔径 70 µm のメッシュに通し、5 × 10⁶ cells/ well で 24 well プレート (Corning) に播種し、10% FCS を含む RPMI1640 培地 (Life technologies, Coop.) 中で抗原 100 µg/mL の濃度で 3 日間再刺激を行った。3 日後の培養上清を回収し、上清中の Th1/Th2 サイトカイン量を Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Th1/Th2 Panel (Bio-Rad) にて測定した。

【実験 1】

19S 及びグルテンの経皮感作性について検討を行った。また、感作時の界面活性剤の共存効果を調べるため、ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) を終濃度 0.5% となるように抗原懸濁液に添加する群も設定した。

【実験 2】

貼付 1 回あたりの 19S の貼付量を、20 µg (HS20)、100 µg (HS100)、500 µg (HS500) と変化させ、貼付抗原の用量依存性を検討した (0.5% SDS 共存下)。

【実験 3】

分解時間を変化させた酸加水分解グルテンを抗原とし、経皮感作性について検討した。グルテンの酸加水分解は上述のとおりに行った。中和した懸濁液に SDS を終濃度 0.5% となるように添加し、貼付抗原とした。未分解グルテン (A0h)、19S と同様の SDS-PAGE パターンを示したもの (A0.5h)、および加水分解が進み、SDS-PAGE で 30 kDa 以上のタンパク質バンドがほぼ消失しているもの (A9h) を抗原として選択した。1 回の抗原貼付量は 500 µg とし、0.5% SDS 共存下で感作を行った。

【実験 4】

分解時間を変化させた酸加水分解グルテンを抗原とし、経皮感作 4 週間 (Day 23) における抗原特異的 IgE 及び Total IgE を感作性の指標として評価した。グルテンの酸加水分解は、上述のとおりに行った。中和した懸濁液に SDS を終濃度 0.5% となるように添加し、A0h 及び A0.5h を貼付抗原とした。