

作マウスについて、感作部位の皮膚、腋窩リンパ節、鼠径リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、及び眼瞼について組織病理解析を行った。

皮膚の肉眼的観察では、4週感作後に Vehicle 群 (V[4w]) に比べグルパール 19S 投与群 (19S[4w]) で明らかな発赤、皮膚の肥厚及びびらんが認められた。病理組織学的観察では、表皮肥厚、角化亢進、基底細胞の液状変性及び炎症細胞浸潤が Vehicle 群に比べグルパール 19S 投与群で早期に高頻度で観察され、程度の増強が認められた。惹起後解剖した群では、皮膚の肉眼的及び病理組織学的病変は、両群ともに 4 週感作後より程度は低下したものの Vehicle 群 (V[ASA]) に比べグルパール 19S 投与群 (19S[ASA]) では多くの細胞浸潤が残存した。リンパ節の変化は被験物質を塗布した皮膚近傍の左腋窩リンパ節で最も強く認められた。グルパール 19S 投与群で、3 週感作後より、tingible body 並びに大型の 2 次濾胞を伴う濾胞過形成及びリンパ過形成が高頻度に認められたが、Vehicle 群ではより小型の濾胞過形成を認めるのみだった。惹起後解剖した群では、リンパ節病変の程度が増強され、その増強は Vehicle 群 (V[ASA]) に比べグルパール 19S 投与群 (19S[ASA]) でより顕著であった。

脾臓及び眼瞼に関しては、惹起後解剖した群 (V[ASA] 及び 19S[ASA]) で解析を行った。脾臓においては、V[ASA] 群、19S[ASA] 群ともに髄外造血の亢進が認められた。眼瞼については、19S[ASA] 群で肉眼的に眼瞼の浮腫が認められ、病理組織学的には肥満細胞を含む炎症性細胞の浸潤と表皮基底細胞の液状変性が認められた。

体重については、Vehicle 群とグルパール 19S 投与群との間に有意差は無く、また、V[ASA] 群、19S[ASA] 群と同日解剖に供した無処置群 (Ctrl) との間でも有意差は無かった。脾臓重量については、4 週感作後、19S[4w] 群の方が V[4w] 群と比較して有意に脾臓重量が大きかった。感作後惹起した群でも、19S[ASA] 群の方が V[ASA]

群よりも大きい傾向が見られたが有意差は無かった。またこの時両群とも無処置群 (Ctrl) よりも有意に大きかった。

血清中の抗原特異的抗体に関しては、グルパール 19S 投与群では 3 週感作以降、IgE 及び IgG1 が Vehicle 群と比較して有意に増大していた。抗原腹腔内投与によるアナフィラキシー惹起 30 分後、19S[ASA] 群では V[ASA] 群と比較して平均 4.5 度の体温低下が見られた。惹起 30 分後の血中のヒスタミン濃度に関しては、19S[ASA] 群では V[ASA] 群と比較してヒスタミン濃度が有意に増大していた。惹起後 30 分間のアナフィラキシー症状のスコアリングに関しては、V[ASA] 群では全匹スコア 0 であったのに対し、19S[ASA] 群では平均 3.4 という高いスコアであった。これらの結果から、組織病理解析のための本実験においても、グルパール 19S による経皮感作が確かに進行していたことが確認された。

#### 【実験 5】 Th2 型免疫応答性サイトカインの血中濃度の検討

Th2 型免疫応答時に機能するサイトカインとして、TSLP (Thymic stromal lymphopoietin) 及びペリオスチンの血清中濃度を、Vehicle 群 (19S 群) 及びグルパール 19S 経皮感作群 (19S 群) について、感作前 (Day 0)、感作 3 週 (Day 18)、感作 4 週 (Day 23)、及び惹起後 (Day 25) において比較検討した。TSLP 濃度に関しては、V 群では有意な変化は見られなかったが、19S 群では感作に伴って TSLP 濃度の増大が見られ、Day 25 では Day 0 の 1.4 倍となっていた。ペリオスチン濃度に関しては、V 群では有意な変化は認められなかったが、19S 群では、Day 25 では Day 0 の 1.2 倍、また、Day 25 における V 群の濃度の 1.4 倍であった。

#### 【実験 6】 加水分解コラーゲンの経皮感作性の検討

化粧品等に非常に多く用いられている加水分解コラーゲンの経皮感作性について検討を行っ

た。

血清中の抗原特異的抗体に関して、陽性対照であるグルパール 19S 感作群 (19S) では特異的 IgE、IgG1 が Vehicle 群 (V) と比較して有意に増加した。コラーゲン、ゼラチン、加水分解コラーゲン感作群 (BC, BG, FC, FG, A~D, 及び F~I) では V 群と比較して抗原特異的 IgE、IgG1 の増加は認められなかった。

抗原腹腔内投与によるアナフィラキシー反応惹起 30 分後、19S 群では体温が大きく低下し (2 回の実験でそれぞれ  $3.1 \pm 2.2^\circ\text{C}$ 、 $4.2 \pm 1.4^\circ\text{C}$ )、V 群と比較して有意差が認められた。一方、コラーゲン、ゼラチン、加水分解コラーゲン感作群では体温低下は認められなかった。惹起 30 分後の血清中ヒスタミン濃度に関しては、体温が大きく低下した 19S 群では、ヒスタミン濃度が大きく上昇していた。体温低下が認められなかったコラーゲン、ゼラチン、加水分解コラーゲン感作群では、ヒスタミン濃度の上昇は認められなかった。惹起後 30 分間のアナフィラキシー症状のスコアリングに関しては、19S 群では平均 3.0 と高いスコアであったのに対し、コラーゲン、ゼラチン、加水分解コラーゲン感作群では平均 1.0 以下と低いスコアであった。

#### 【実験 7】即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法のための陽性対照タンパク質に関する検討

本研究において確立した経皮感作実験系を基に、平成 24 年度報告書において、即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法 (概要) を提案した。この試験法に使用可能な陽性対照タンパク質について検討するため、卵白アルブミン (OVA) の経皮感作性について解析した。グルパール 19S 及び加水分解グルテンによる経皮感作実験では、これらの抗原の溶解性を高めるため 0.5% SDS を添加していたが、OVA は水溶性タンパク質であるため、貼付時に 0.5% SDS を添加する群と添加しない群を設定し、実験を行った。

抗原特異的抗体産生に関して、IgE については、

19S 群及び OVA200 群において、V 群と比較して有意な増加が認められた。OVA500S 群及び OVA500 群でもやや増加が見られたが、V 群との間に有意差は見られなかった。IgG1 については、19S 群、OVA500 群、OVA200 群において抗体濃度が大きく増大した。OVA500S 群でも有意な増加が見られた。OVA200S 群でもやや増加したが、V 群と比較して有意な差は見られなかった。

抗原腹腔内投与によるアナフィラキシー反応惹起 30 分後、19S 群では体温が大きく低下し ( $-3.9 \pm 1.1^\circ\text{C}$ )、V 群と比較して有意差が認められた。OVA500 群、OVA200 群、OVA500S 群でも体温が低下し ( $-5.3 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 、 $-3.7 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、 $-2.7 \pm 1.8^\circ\text{C}$ )、V 群との間に有意差が認められた。一方、OVA200S 群では有意な体温低下は見られなかった。惹起 30 分後の血清中ヒスタミン濃度に関しては、体温が大きく低下していた 19S 群、OVA500 群、OVA200 群では、V 群と比較して有意に上昇していた。同じく体温が低下した OVA500S 群ではやや上昇がみられたが、V 群と比較して有意ではなかった。OVA200 群ではヒスタミン濃度はほとんど上昇しなかった。惹起後 30 分間のアナフィラキシー症状のスコアリングに関しては、体温低下が大きく V 群との有意差が見られた 19S 群、OVA500 群、OVA200 群、OVA500S 群では、それぞれ平均 3.7、3.3、2.7、2.9 と高いスコアであった。OVA200S 群でも平均 2.9 と高いスコアであった。

#### D. 考察

我々は、茶のしづく石鹼の使用とコムギ摂取によるアレルギーの因果関係を検討するため、マウスを用いた経皮感作性試験を行ってきた。その結果、マウスの皮膚にグルパール 19S を浸潤させたパッチを貼付するという感作を 4 回 (4 週) 繰り返すことにより経皮感作が成立し、その後の抗原の腹腔内投与によりアレルギー症状 (アナフィラキシー) を惹起することが可能であることを示した。これらの研究結果は、食物由来タンパク質による感作が経皮的に起こりうるという他のグループの報告とも矛盾しない。

本研究では、マウスを使用する経皮感作モデル実験系を用い、①グルパール 19S の経皮感作性（用量依存性等）の検討、②グルパール 19S とは異なる方法（アルカリ分解、酵素分解）で調製したコムギタンパク質加水分解物の経皮感作性の検討、③グルパール 19S と酸、アルカリ、酵素加水分解グルテンとの交差反応性の検討、④グルパール 19S 感作時のマウス皮膚及びリンパ節等に関する組織病理解析、⑤Th2 型免疫応答性サイトカインの血中濃度の検討、⑥加水分解コラーゲンの経皮感作性の検討、⑦即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法のための陽性対照タンパク質に関する検討を行った。

【実験 1】グルパール 19S の経皮感作性（用量依存性等）の検討では、SDS を共存させない場合には、血中の IgE 及び IgG1 レベル、惹起後の体温低下、アナフィラキシー症状スコア、血中ヒスタミン濃度という 4 種の指標の全てにおいて、感作時のグルパール 19S の用量依存性が見られた。感作時に抗原の溶解性を高めるため 0.5% SDS を共存させた場合には、抗体レベル及び惹起後の反応の全てにおいて、SDS による促進効果が見られた。この時、HS500 群と HS200 群との間にほとんど差が無く、グルパール 19S の用量依存性が見られなかったのは、SDS の感作促進効果が大きかったためと考えられる。以上の結果から、グルパール 19S は用量依存的な経皮感作性を示すこと、及び SDS がグルパール 19S による経皮感作を促進することが示された。また、本研究で使用したマウスを用いる経皮感作実験系は大変有用であることも示された。

グルパール 19S はコムギタンパク質であるグルテンを酸性条件で加水分解することにより製造されたコムギタンパク質加水分解物である。一般的にタンパク質の加水分解方法としては、酸加水分解、アルカリ加水分解、酵素加水分解が考えられる。そこで、加水分解の条件や分解の程度によ

る皮膚感作性の違いについて検討するため、【実験 2】においては、グルテンのアルカリ加水分解物、及び酵素分解物を調製し、その経皮感作性の比較検討を行った。

SDS-PAGE パターンでは、アルカリ加水分解 0.5 時間においてグルパール 19S と同様に広範囲のスミアなバンドが観察され、アルカリ加水分解の進行に伴いこのスミアなバンドが低分子領域にシフトした。Alk0h、Alk0.5h、Alk12h の経皮感作性について検討を行った結果、Alk0.5h はグルパール 19S と同程度の経皮感作性を示し、能動的全身性アナフィラキシーの誘導実験においてもグルパール 19S と同程度の反応が見られた。Alk0h ではグルパール 19S より程度はやや弱い、感作性及びアナフィラキシー反応が見られた。一方 Alk12h では感作性、アナフィラキシー反応とも V 群との間に有意差は認められなかった。従って、グルテンの 0.5 時間アルカリ加水分解物も、グルパール 19S や 0.5 時間酸加水分解物と同様に、経皮感作性を示すと考えてよいだろう。

グルテンの酵素分解物に関しては、*Bacillus amyloliquefaciens* 由来のプロテアーゼである Neutralse を用いてグルテンの加水分解を行い、経皮感作性について検討した。*Bacillus amyloliquefaciens* は  $\alpha$ -アミラーゼ、プロテアーゼの工業的生産に利用されている好気性細菌である。Neutralse は至適 pH 5.5-7.5、至適温度 45-55°C のエンドプロテアーゼであり、食品加工等に汎用されている。海外におけるコムギタンパク質加水分解物に対するアレルギー発症事例に関する報告においても、コムギタンパク質の加水分解に用いられる酵素として名称が挙げられているため、本実験では Neutralse をグルテン加水分解の酵素として使用した。SDS-PAGE パターンでは、経時的に加水分解が進行し、高分子領域のバンドが徐々に消失していることが示されたが、酸あるいはアルカリ加水分解の場合とは異なり、広範囲のスミア状のパターンにはならず、グルテン中の個々のバンドがその形状を保持したまま徐々に薄くなっていった。この結果から、酸あるいはアルカリ加

水分解の場合はそれぞれのタンパク質のペプチド鎖が一斉に非常にランダムに切断されてスメア状のパターンとなるのに対し、酵素加水分解の場合は、それぞれのタンパク質がエンドペプチダーゼ活性により徐々に分解されていくことが示唆された。

12 時間酵素加水分解物(Enz12hr)の経皮感作性に関しては、特異的抗体産生量は 0.5 時間酵素加水分解物(Enz0.5hr)と比較してやや少なかったが、アナフィラキシー惹起時にはグルパール 19S や Enz0.5hr と同様に強い反応が見られた。これは、これまでに報告している 9 時間酸加水分解物あるいは 12 時間アルカリ加水分解物では経皮感作性がほとんど見られないという結果とは対照的である。酵素加水分解におけるペプチド鎖の切断は、酸あるいはアルカリ加水分解の場合ほどランダムではないため、加水分解が進行しても本来のエピトープ配列が切断されず残存している場合には、経皮感作性を示すのではないかと考えられる。

【実験 3】においては、グルパール 19S で経皮感作を行い、その後のアナフィラキシー惹起時に酸、アルカリ、酵素による 0.5 時間加水分解グルテンを用いることにより、グルパール 19S とこれらの加水分解グルテンとの交差反応性について検討した。その結果、酸加水分解物、酵素加水分解物、及びグルテンではグルパール 19S との強い交差反応性が見られたが、アルカリ加水分解物ではこのような強い交差反応性は見られなかった。我々は、グルパール 19S では、酸加水分解によりペプチド鎖の切断だけではなくグルタミン残基の側鎖のアミド結合も加水分解により脱アミド化され、グルタミン酸に変換されることを報告している。また、グルテン中のタンパク質の 1 種である  $\gamma$ -グリアジン中の PQQFP というアミノ酸配列においてグルタミンがグルタミン酸に変換された PEEPFP というアミノ酸配列が、グルパール 19S のエピトープとして重要であることも他の研究グループにより報告されている。グルパール

19S と同様に酸処理により加水分解を行った酸加水分解グルテンでは、グルパール 19S と同様のエピトープが出現していると考えられる。また、グルパール 19S にはグルテン中の本来のエピトープも残存していると思われ、そのためグルテンや酵素加水分解グルテンがグルパール 19S と交差反応性を示したものと考えられる。一方、アルカリ加水分解物に関しては、我々はこれまでに、グルタミンが脱アミド化される割合が酸加水分解グルテンよりも小さいこと、サイズ排除クロマトグラフィーによる検討より、アルカリ加水分解物の方が酸加水分解物よりも高分子領域のタンパク質の分解が速いことを報告している。従って、酸加水分解物とアルカリ加水分解物では含有されている分解産物の状態がかなり異なるため、酸加水分解物であるグルパール 19S とアルカリ加水分解物との交差反応性は低いものと考えられる。

【実験 4】ではグルパール 19S で感作したマウスについて組織病理解析を行った。その結果、感作部位である皮膚、リンパ節、及びアナフィラキシー反応惹起後の眼瞼において炎症性の病変が見られ、そのグレードは Vehicle 群と比較して高いという結果が得られた。脾臓については、グルパール 19S 感作により、重量は Vehicle 群と比較して増大したが、病理像における大きな違いは見られなかった。今後、他の臓器や血液等を含めた全身的な組織病理解析を行い、グルパール 19S により感作の詳細を明らかにするべきと考える。

我々は、これまでの検討において、グルパール 19S を用いて経皮感作を行ったマウスの脾臓細胞を培養し、グルパール 19S で抗原再刺激を行った場合、IL-4 や IL-5 等の Th2 型サイトカインが分泌されること、すなわちグルパール 19S に対して Th2 型の全身性免疫応答が起きていることを報告している。【実験 5】では、Th2 型免疫応答時に機能する別のサイトカインとして、TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)及びペリオスチンの血中濃度について検討した。その結果、これらのサイ

トカインの血中濃度がグルパール 19S の経皮感作により増大することが示された。

TSLP は、抗原提示細胞である樹状細胞に作用して免疫系をアレルギー発症の方向へと誘導するサイトカインであり、アレルギー発症のマスタースイッチとも言われている。アレルギー疾患患者の病変組織で高発現していることが知られている。また、皮膚においてペリオスチンは、IL-4 や IL-13 等の Th2 型サイトカインにより繊維芽細胞で産生が誘導され細胞外マトリクス中に大量に分泌される。アトピー性皮膚炎の慢性化の機序の中では、ペリオスチンがインテグリンを介してケラチノサイトからの TSLP の産生を誘導し、この TSLP がさらに Th2 型免疫応答を増強する、という経路が考えられている。本検討の結果は、グルパール 19S による経皮感作においても、アトピー性皮膚炎の場合と同様にペリオスチン/TSLP が機能している可能性を示唆している。今後、抗原感作部位におけるペリオスチン/TSLP の分布等を解析し、経皮感作のメカニズム、及びこれらのタンパク質のバイオマーカーとしての有用性を検討することが重要である。

コラーゲンは皮膚（真皮）、靭帯、腱、骨、軟骨等を構成するタンパク質の 1 種である。数種のタイプがあるが、脊椎動物で最も多く存在するのは I 型コラーゲンであり、真皮や骨に多く含まれている。生体内では分子量 10 万程度のポリペプチド 3 本がらせん構造を形成しており、不溶性の繊維状タンパク質である。ゼラチンは、熱によりコラーゲンのらせん構造を解離させ、変性したコラーゲン分子として可溶性にしたものである。コラーゲン（ゼラチン）は食物アレルギーを引き起こすアレルゲンタンパク質であることが知られている。

【実験 6】に供した加水分解コラーゲン 9 試料 (A~I) は、日本化粧品工業連合会を通じて入手した原料(溶液)である。試料添付文書に記載された平均分子量は 280~4,000Da 程度であった。通常の SDS-PAGE で分子量数千 Da 程度のポリペプチド

を分離・検出することは困難であり、これらの分子量のバンドは検出できていないが、それぞれの検体について分子量数 10kDa 程度のより高分子領域の成分はある程度検出されている。

これらの経皮感作性について検討したところ、コラーゲン、ゼラチン、加水分解コラーゲンではいずれも経皮感作は成立せず、能動的全身性アナフィラキシーについても誘導されなかった。原因としては、コラーゲンの抗原性（グルパール 19S の原料であるコムギタンパク質と比較して弱い可能性）や皮膚透過性の違い等が考えられる。また、コラーゲンの主な抗原部位は分子の末端部分（テロペプチド）に存在していることが知られている。酵素処理によりこのテロペプチドを切断し抗原性を低下させたものがアテロコラーゲンであり、医療用材料や化粧品等にコラーゲンが使用される際、実際にはこのアテロコラーゲンが使用されている場合がある。本研究に用いた加水分解コラーゲン検体がアテロコラーゲン由来であった場合には、感作性が見られなかったという結果は妥当なものと考えられる。更に、加水分解による低分子化の程度についても抗原性の重要な因子であると考えられることから、今後 SDS-PAGE だけでなくゲル濾過クロマトグラフィー等で確認することが重要と考えられた。

医薬部外品・化粧品の中には、製品に保湿効果等の特性を持たせるために、食品等に由来するタンパク質の加水分解物が配合されているものがある。医薬部外品原料規格 2006 によれば加水分解コムギ末、加水分解コラーゲン末以外にも、加水分解カゼイン、加水分解コンキオリン液、加水分解シルク末、加水分解卵白等、基原となるタンパク質に抗原性があることが既に知られているもの、あるいは疑われるものも数種存在する。これらのタンパク質加水分解物の経皮・経粘膜的な感作性についても今後検討を重ねることが必要であろう。

医薬品や医薬部外品・化粧品等の安全性試験のうち、皮膚感作性に関しては、従来モルモット皮

膚を用いる Maximization test 等が用いられてきた。また近年、マウスを用いる局所リンパ節アッセイ (Local lymph node assay, LLNA) が OECD テストガイドラインに追加されたことから、わが国で医薬部外品・化粧品 の安全性評価に活用されることとなった。しかし、これらの方法は低分子化学物質を対象とした遅延型アレルギー (IV 型アレルギー) に関する試験法である。タンパク質あるいはその分解物にも適用可能な即時型アレルギー (I 型アレルギー) に関する皮膚感作性試験法はまだ確立されていない。本研究で筆者らが用いたマウスを使用する経皮感作性の実験手法は、比較的短時間で I 型アレルギーによるアナフィラキシーを誘発できる有用なモデル実験系であり、再現性も良好である。そこで、この実験系を基にして、「即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法 (概要)」 (別紙) を作成した。今後種々の被検物質への適用可能性や再現性等について、他の専門家による評価を加え、皮膚感作性試験法として確立するべく検討を進めることが必要である。

【実験 7】においては、上記の経皮感作性試験法 (概要) にて使用可能な陽性対照タンパク質について検討するため、本実験系における卵白アルブミン (ovalbumin, OVA) の経皮感作性について解析した。OVA は分子量約 45kDa のタンパク質で卵白タンパク質の約 50% を占める。卵の代表的なアレルギータンパク質であり、多くの研究論文においてモデルアレルゲンとして使用されている水溶性タンパク質であり、マウスにおいて経皮的な感作が進行することも他のグループから報告されている。これまでグルパール 19S 及び加水分解グルテンによる経皮感作実験では、主にこれらの抗原の溶解性を高める目的で貼付時に 0.5% SDS を添加していた。OVA は水溶性タンパク質であるが、貼付時の SDS の影響について検討するため、0.5% SDS を添加する群と添加しない群を設定し実験を行った。その結果、SDS を添加せずに貼付する場合の方が、感作による抗体産生量が多く、アナフィラキシー惹起時の応答も強いことが示された。グルパール 19S 経皮感作時には、貼付時の

SDS 添加により抗体産生やアナフィラキシー反応が増強されるので、溶解性が高まることにより皮膚透過性が増大する、あるいは SDS そのものが皮膚免疫系に対して何らかのアジュバント作用を示すという可能性を考えていた。しかし OVA では逆の結果が得られたので、SDS の効果はどのような抗原に対しても普遍的というわけではなく、抗原タンパク質の特性により異なることが示された。また OVA 感作時の用量としては 2 点設定したが (500  $\mu$ g、200  $\mu$ g)、これら 2 群の間では大きな差は見られなかった。今後、感作における OVA の用量依存性について検討し、経皮感作性試験における陽性対照タンパク質としての有用性についてさらに解析を進める。

#### E. 結論

本研究では、マウスを用いた経皮感作モデル実験系を使用し、①グルパール 19S の経皮感作性 (用量依存性等)、②グルパール 19S とは異なる方法 (アルカリ分解、酵素分解) で調製したコムギタンパク質加水分解物の経皮感作性、③グルパール 19S と酸、アルカリ、酵素加水分解グルテンとの交差反応性、④グルパール 19S 感作時のマウス皮膚及びリンパ節等に関する組織病理解析、⑤Th2 型免疫応答性サイトカインの血中濃度、⑥加水分解コラーゲンの経皮感作性、⑦即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法のための陽性対照タンパク質 等に関する検討を行った。その結果、グルパール 19S が用量依存的に経皮感作性を示すこと、アルカリ加水分解の場合は 0.5 時間アルカリ加水分解グルテンではグルパール 19S と同等の感作性が認められ、その後のアルカリ加水分解の進行 (低分子化) に伴い、感作性が減弱すること、酵素加水分解の場合は 0.5 時間加水分解物だけではなく、SDS-PAGE 上でグルテンの主要なバンドがほぼ消失し 30kDa 以下までされた 12 時間酵素加水分解物でも強い経皮感作性が見られること、酸及び酵素による 0.5 時間加水分解グルテンはグルパール 19S との強い交差反応性を示すのに

対し、0.5 時間アルカリ加水分解グルテンはほとんど交差反応性を示さないこと（含有されている加水分解産物の特性が大きく異なるものと考えられる）等を示してきた。グルパール 19S で感作したマウスの皮膚、リンパ節、及びアナフィラキシー反応惹起後の眼瞼では炎症性組織病変が観察されること、グルパール 19S 感作マウスの血中では TSLP やペリオスチンのような Th2 型サイトカインの濃度が增大していることも示した。基原の異なる数種の加水分解コラーゲンの感作性を評価した結果、経皮感作は成立せず、能動的全身性アナフィラキシーも誘導されないことが示された。本実験系を基にして、「即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法（概要）」（別紙）を作成し、OVA が陽性対照タンパク質として使用可能であることを示した。

今後さらに検討を重ね、タンパク質加水分解物による経皮感作について、感作性や影響要因の詳細に関する解析を進めるとともに、即時型アレルギー誘発につながる経皮感作性試験法の確立を目指し、医薬部外品・化粧品等の安全性確保に資する知見を集積することが重要であると考えられる。

#### （参考文献）

- 1) 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* 2010; 127(2): 531-533.
- 2) Hsieh KY, Tsai CC, Herbert Wu CH, Lin RH. Epicutaneous exposure to protein antigen and food allergy. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1067-75.
- 3) Teshima R, Okunuki H, Sato Y, Akiyama H, Maitani T, Sawada J. Effect of Oral Administration of CpG ODN-OVA on WBB6F1-W/Wv Mice. *Allergol Int* 2006; 55: 43-48.
- 4) Wang JS, Zhao MM, Zhao QZ, Bao Y, Jiang YM. Characterization of hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis of wheat gluten. *J Food Sci* 2007; 72(2): 103-107.
- 5) Bouchez-Mahiout I, Pecquet C, Kerre S, Snégaroff J, Raison-Peyron N, Laurière M. High Molecular Weight Entities in Industrial Wheat Protein Hydrolysates Are Immunoreactive with IgE from Allergic Patients. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 4207-4215.
- 6) Laurière M, Pecquet C, Bouchez-Mahiout I, Snégaroff J, Bayrou O, Raison-Peyron N, Vigan M. Hydrolysed wheat proteins present in cosmetics can induce immediate hypersensitivities. *Contact Dermatitis* 2006; 54: 283-289.
- 7) Laurière M, Pecquet C, Boulenc É, Bouchez-Mahiout I, Snégaroff J, Choudat D, Raison-Peyron N, Vigan M, Branlard G. Genetic differences in omega-gliadins involved in two different immediate food hypersensitivities to wheat. *Allergy* 2007; 62: 890-896.
- 8) Akiyama H, Sakata K, Yoshioka Y, Murata Y, Ishihara Y, Teshima R, Sawada J, Maitani T. Profile Analysis and Immunoglobulin E Reactivity of Wheat Protein Hydrolysates. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 140: 36-42.
- 9) Strid J, Callrd R, Strobel S. Epicutaneous immunization converts subsequent and established antigen-specific T helper type 1 (Th1) to Th2-type responses. *Immunology* 2006; 119: 27-35.
- 10) Strid J, Hourihane J, Kimbert I, Callrd R, Strobel S. Epicutaneous exposure to peanut protein prevents oral tolerance and enhances allergic sensitization. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 757-66.
- 11) Wang YH, Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand and interleukin-25 in allergic responses. *Clin Exp Allergy* 2009; 39:

798-806.

12) Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Aoki S, Toda S, Inagaki N, Kurihara Y, Hayashida S, Takeuchi S, Koike K, Ono J, Noshiro H, Furue M, Conway SJ, Narisawa Y, Izuhara K. Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2590-2600.

13) Yokooji T, Kurihara S, Murakami T, Chinuki Y, Takahashi H, Morita E, Harada S, Ishii K, Hiragun M, Hide M, Matsuo H. Characterization of causative allergens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolyzed wheat proteins in facial soap. *Allergol Int*. 2013;62(4):435-445.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 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; 67:1392-1399.

2) 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; 160: 259-264.

3) 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.

*Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2013; 132; 1436-1438.

4) Adachi R, Nakamura R, Sakai S, Teshima R. Sensitization to Acid-Hydrolyzed Wheat Pro-

tein by Transdermal Administration. *Clinical Immunology & Allergy* 2013; 59, 598-602.

5) Sakai S, Nakamura R, Nakamura R, Adachi R, Teshima R. Allergy of Hydrolyzed Wheat Protein via Cutaneous Sensitization. *Kagaku To Seibutsu*, 2014;52:431-437.

6) Sakai S, Adachi R, Nakamura R, Kikuchi H, Watanabe T, Sasaki K, Nishijima K, Ataku H, Nishimaki-Mogami T, Teshima R. Molecular Profile Analysis of Allergenic Hydrolyzed Wheat Protein. *Clinical Immunology & Allergy*, 2014;62:492-495.

##### 2. 学会発表

1) 安達玲子、中村里香、酒井信夫、福富友馬、手島玲子、加水分解小麦による経皮感作に関するマウスモデル実験系を用いた検討 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2012.5)

2) 中村里香、中村亮介、安達玲子、板垣康治、福富友馬、手島玲子、酸加水分解小麦のIgE結合性および惹起能の比較検討 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2012.5)

3) 中村亮介、中村里香、安達玲子、板垣康治、松永佳世子、福富友馬、手島玲子、酸加水分解小麦含有石鹼で感作された患者IgEのin vitro活性化試験による交差反応性の評価 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2012.5)

4) 中村里香、中村亮介、酒井信夫、安達玲子、板垣康治、福富友馬、手島玲子、酸加水分解小麦含有石鹼に感作された患者血清IgE反応性の解析 第19回日本免疫毒性学会学術大会 (2012.9)

5) 安達玲子、中村里香、酒井信夫、福富友馬、手島玲子 各種加水分解小麦の経皮感作能に関するマウスモデル実験系を用いた比較検討 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2012.11-12)

6) 北野高道、山下弘高、安達玲子、手島玲子、福富友馬、松永佳世子、稲垣直樹、田中宏幸 加水分解小麦末による全身感作マウスに及ぼす抗原経口負荷の影響 第62回日本アレルギー学会秋



季学術大会 (2012. 11-12)

7) 中村亮介、中村里香、酒井信夫、安達玲子、福富友馬、手島玲子 EXiLE 法による加水分解小麦のアレルゲン性における分子サイズの影響の解析 第 85 回日本生化学会大会 (2012. 12)

8) Adachi R, Nakamura R, Sakai S, Fukutomi Y, Teshima R. Sensitization to acid-hydrolyzed wheat protein by transdermal administration to BALB/c mice. Society of Toxicology 52<sup>nd</sup> Annual Meeting and ToxExpo (2013. 3)

9) 安達玲子、酒井信夫、木村美恵、中村里香、福富友馬、手島玲子、小麦タンパク質経皮感作能への酸加水分解の効果に関するマウスモデル実験系を用いた検討 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2013. 5)

10) 中村亮介、中村里香、酒井信夫、安達玲子、宇理須厚雄、福富友馬、手島玲子、小麦グルテンはトランスグルタミナーゼ処理により酸加水分解小麦と同様の IgE 反応性を獲得する 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2013. 5)

11) 中村亮介、中村里香、酒井信夫、安達玲子、齋藤嘉朗、宇理須厚雄、福富友馬、手島玲子、酸加水分解コムギ特異的患者血清 IgE はトランスグルタミナーゼ処理小麦グルテンと交差反応する 第 20 回日本免疫毒性学会学術大会 (2013. 9)

12) 曹永晩、安達玲子、酒井信夫、木村美恵、中村里香、福富友馬、手島玲子、小川久美子、BALB/c マウスにおける酸加水分解コムギタンパク質による経皮感作に関する免疫学的及び病理組織学的解析 第 20 回日本免疫毒性学会学術大会 (2013. 9)

13) 酒井信夫、中村里香、靛島由二、福井千恵、鈴木孝昌、中村亮介、蜂須賀暁子、安達玲子、手島玲子、加水分解小麦(グルパール 19S)に特異的に発現するペプチドの探索及び同定 第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013. 11)

14) 中村亮介、中村政志、矢上晶子、酒井信夫、中村里香、安達玲子、齋藤嘉朗、相原道子、秀道広、千貫祐子、森田栄伸、松永佳世子、手島玲子、加水分解コムギ感作血清中 IgE の EXiLE 法による

検出とその有用性評価 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2013. 11)

15) 手島玲子、中村亮介、中村里香、酒井信夫、安達玲子、加水分解小麦による小麦アレルギー発症の基礎的検討 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2013. 11)

16) 酒井信夫、安達玲子、木村美恵、菊地博之、渡邊敬浩、佐々木和実、西嶋桂子、安宅花子、福富友馬、最上知子、手島玲子. 抗原性を呈する加水分解コムギの分子プロファイリング. 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2014. 5)

17) 酒井信夫、安達玲子、最上知子、手島玲子. 経皮感作性を有する加水分解コムギのスクリーニング用抗体について. 日本食品化学学会第 20 回総会・学術大会 (2014. 5)

18) 安達玲子、酒井信夫、手島玲子. 食物アレルゲンの経皮感作による即時型アレルギーモデル. 第 21 回日本免疫毒性学会学術年会 (2014. 9)

19) Sakai S, Nakamura R, Adachi R, Fukutomi Y, Saito Y, Mogami T, Teshima R. Experimental Assessments of the Cross-reactivity of IgE from Patients Sensitized with Acid-Hydrolysed Wheat Protein in a Cosmetic Soap. Food Allergy and Anaphylaxis Meeting 2014 (2014. 10).

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

(別紙)

即時型アレルギー誘発経皮感作性試験法 (概要)

I. 本ガイドライン案について

本ガイドライン案は、タンパク質及び加水分解等何らかの修飾を受けたタンパク質を対象として、即時型アレルギーを誘発する経皮感作性について検討するための試験法の案として作成したものである。今後、種々の対象検体に関する本試験法の結果と既報の知見との比較や、複数機関による妥当性検証等、更なる検討が必要である。

II. 試験実施要項

- 1 動物：原則として BALB/c マウスを用いる。
- 2 動物数：スクリーニング試験としては原則として 1 群 5 匹以上とする。確認用再試験としては原則として 1 群 8 匹以上とする。
- 3 試験群：原則として被検物質感作群、陽性対照感作群（注 1）、対照群（注 2）を設ける。
- 4 試験手順
  - 1) 感作
    - (1) 予め剃毛した動物の背部片側皮膚（約 2×2cm）に対してセロハンテープを用いてテープストリッピングを 10 回行う。試料（被検物質、陽性感作物質、または基剤の溶液）を閉塞パッチにて 72 時間貼付する (Day1-4)（注 3）。
    - (2) 上記貼付を 96 時間休止をはさみながらさらに 3 回繰り返す (Day8-11、Day15-18、Day22-25)。
  - 2) 抗体産生確認  
Day1、Day18、Day23 に採血し、感作抗原に対する特異的抗体（IgE 及び IgG1）の産生を ELISA にて確認する。
  - 3) 惹起 (Day25)  
被検物質または陽性感作物質 1 mg（10 mg/mL 溶液を 100  $\mu$ L）を腹腔内投与する（注 4）。30 分間、直腸温の測定及びアナフィラキシー症状のスコアリングを行う（注 5）。30 分後に採血し、血中のヒスタミン濃度を測定する。
  - 4) 評価  
上記 2) 及び 3) について、被検物質感作群と陽性対照感作群の結果を総合的に比較検討し、被検物質の感作性について判断する。

(注)

- 注 1：陽性感作物質としては、卵白アルブミン、あるいは、小麦グルテンを pH1、100°C で 30 分間加水分解した後中和したもの等を用いる。
- 注 2：対照群としては基剤処置動物を用いる。
- 注 3：通常、50  $\mu$ L の用量を用いる。陽性感作物質の濃度は 10 mg/mL あるいはより低濃度に設定する（予備試験を行って決定する）。溶液あるいは懸濁液を用いる。必要に応じてラウリル硫酸ナトリウム（終濃度 0.5%）を添加し被験物質の溶解性の向上をはかる。
- 注 4：対照群には陽性感作物質を投与する。
- 注 5：スコアリングは既報の方法を参考にして行う。

スコアの例を下記に示す。

スコア 0	症状なし
スコア 1	口、耳、鼻、頭などを掻く、後ろ足で耳の穴を掻く
スコア 2	活動低下、呼吸が速くなる、眼・鼻・口の周囲の腫脹、立毛
スコア 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
スコア 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、痙攣
スコア 5	死亡

(スコアリングについての参考文献)

1. Birmingham NP, Parvataneni S, Hassan HMA, Harkema J, Samineni S, Navuluri L et al. An adjuvant-free mouse model of tree nut allergy using hazelnut as a model tree nut. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;144:203-210.
2. Mathias CB, Hobson SA, Garcia-Lioret M, Lawson G, Poddighe D, Freyschmidt EJ et al. IgE-mediated systemic anaphylaxis and impaired tolerance to food antigens in mice with enhanced IL-4 receptor signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:795-805.
3. Zhang T, Pan W, Takebe M, Schofield B, Sampson H, Li XM. Therapeutic effects of a fermented soy product on peanut hypersensitivity is associated with modulation of Th1 and Th2 responses. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1808-1818.

## 医薬部外品等の国内のアレルギー発症のアンケート調査

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

### 研究要旨

平成24年度から26年度までの3カ年にわたり、小麦を代表として、様々な食品を原料として製造される加水分解物、および動植物由来の食品由来の成分が添加されている化粧品や医薬部外品によって起きる食物アレルギーの現状をアンケート調査によって明らかにした。対象は北海道内で開業、または医療機関に勤務している皮膚科、内科、アレルギー科、眼科、耳鼻咽喉科等を専門とする医師とした。その結果、「茶のしずく」洗顔石鹸で使用されている小麦加水分解物(グルパール19S)以外的小麦加水分解物を添加している化粧品、医薬部外品でのアレルギー発症例は確認できなかった。小麦以外的小麦加水分解物を添加している化粧品、医薬部外品でのアレルギー発症例については、3名の医師が症例を経験していた。食品由来成分を添加している化粧品、医薬部外品について、原因が特定できているものとしては、コラーゲンが2件、キトサンで1件の発症例が確認された。発症例については、アナフィラキシーなど重症化の可能性も示唆された。

本研究の結果から、アレルギー以外の分野を専門とする医師、開業医などへの情報発信についても、より効果的に行う必要性が示唆された。また、食品成分を化粧品、医薬部外品の素材として製造する業者や、最終製品に使用する業者に対して、成分表示も含めて適切な製造方法を提示、指導することが重要であると思われる。さらに、国民に対しては、食品由来であっても、化粧品や医薬部外品に使用される場合には、アレルギー発症のリスクがあることを、直接、あるいは間接的に情報を正確にわかりやすく伝える必要があると考える。

### 協力研究者

手嶋哲子(北海道文教大学人間科学部健康栄養学科)

### A. 研究目的

小麦加水分解物を添加した洗顔石鹸が原因で発症する小麦アレルギーの症例が数多く報告され、大きな社会問題となった。加水分解物は小麦以外にもコラーゲンなど多くの食品を原料として製造されている。また加水分解物のほかにも、動植物から様々な成分が抽出され医薬部外品、化粧品に利用されている。これまで、小麦以外の加水分解物や動植物由来成分が原因で発症するアレルギーに関する疫学的な研究報告はほとんど

ないため、それらの成分が原因で起きるアレルギーの実態を把握することは、予防医学的な観点からも極めて重要である。

そこで、本研究では、国内で販売されている医薬部外品、化粧品に添加物として使用されている小麦および、コラーゲンなど小麦以外の食品を原料として製造された加水分解物、さらに動植物などから抽出した成分などに起因するアレルギーの発症状況をアンケート調査によって把握することを目的とした。

### B. 研究方法

本研究では、平成24年度から26年度までの3カ年にわたり、食品由来の成分が添加されている化粧品や医薬部外品によって起きる食物

アレルギーの現状をアンケート調査によって明らかにした。すなわち、平成 24 年度は、国内で医薬部外品、化粧品素材として利用されている小麦加水分解物すべてについて、アレルギー発症の実態をアンケート調査によって把握し、調製方法によるアレルギー性の有無や差異を検証した。平成 25 年度は、コラーゲンなど小麦以外の食品を原料として製造された加水分解物を含有する医薬部外品、化粧品によるアレルギー発症の実態を同様に実施した。平成 26 年度は、コチニール、パパインなど動植物由来の食品成分を含有する医薬部外品、化粧品によるアレルギー発症の実態について調査を実施した。対象は北海道内で開業、または医療機関に勤務している皮膚科、内科、アレルギー科、眼科、耳鼻咽喉科等を専門とする医師とした。

アンケート用紙の配布はメール便で行い、FAX（フリーダイヤル）で回収した。

### C. 研究結果

#### 平成 24 年度

以下にアンケート調査の集計結果を示す。

##### 1. アンケート配布数と回収率

アンケートは、2,336 施設、4,079 名の医師に配布し、290 施設、360 名から回答を得た。回収率は施設で 12.4%、医師で 8.8%であった。

##### 2. 回答者の性別

回答者 360 名中、男性は 304 名で 84.4%を占めていた（図 1）。

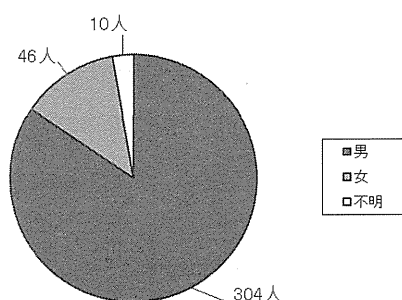


図 1. 回答者の性別

##### 3. 回答者の年齢

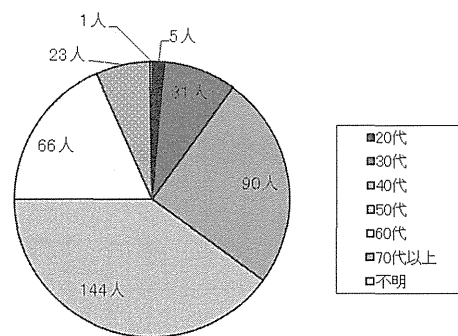


図 2. 回答者の年齢

回答者の年齢は、50 歳代が最も多く 40.0%を占めていた。次いで 40 歳代(25.0%)、60 歳代(18.3%)、30 歳代(8.6%)、70 歳代(6.4%)、20 歳代(1.3%)の順であった（図 2）。

##### 4. 専門分野

回答した医師の専門分野を図 3 に示した。内科が 155 名（43.0%）で最も多かった。

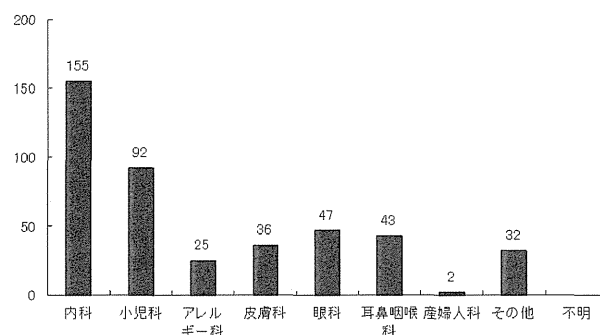


図 3. 専門分野

##### 5. 施設区分

回答した医師が働く医療機関の施設区分を図 4 に示した。診療所、すなわち開業医が約 7 割を占めていると思われる。

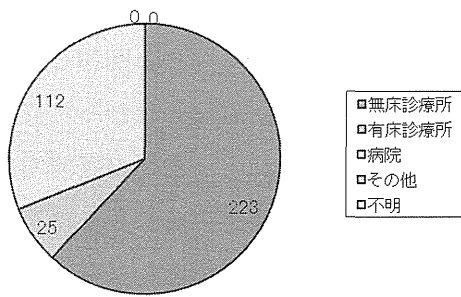


図4. 施設区分

### 6. 病床数

回答した医師が勤務している医療機関の病床数は無床が223名(61.9%)と最も多かったが、有床では、200床以上が23.1%を占めていた(図5)。

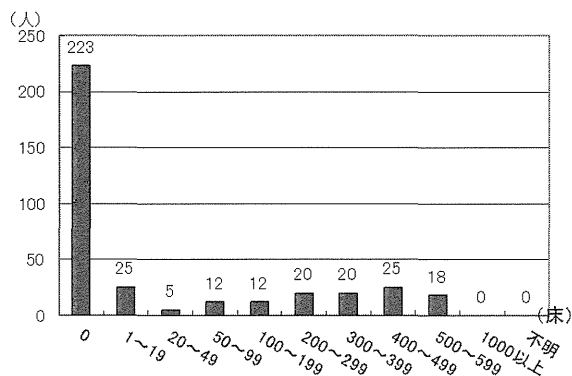


図5. 病床数

### 7. 受診者数

回答した医師が勤務する医療機関における1か月の受診者数は、診療所、病院ともに1,000~1499名が最も多く、次に多い500~999名を合わせると全体の約5割を占めていた(図6)。

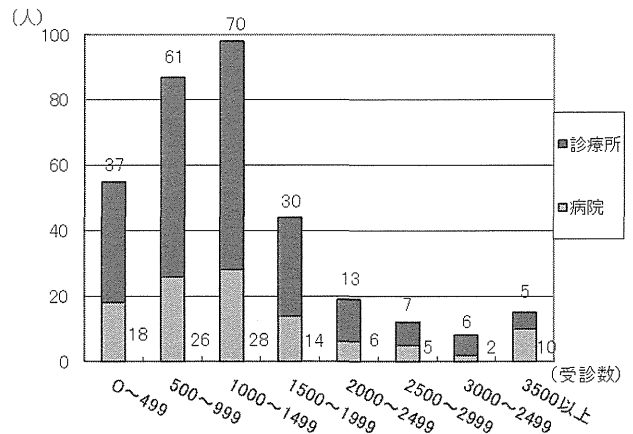


図6. 受診者数

### 8. 食品由来成分使用の認知度

「茶のしずく」洗顔石鹸のように、小麦加水分解物などの食品由来の成分が化粧品や医薬部外品に添加物として使用されていることを「知っている」と回答した医師は302名(84%)であり、大部分の医師は認知していた一方で、化粧品や医薬部外品に食品由来の成分が添加されていることを知らない医師もいることが明らかとなった(図7)。

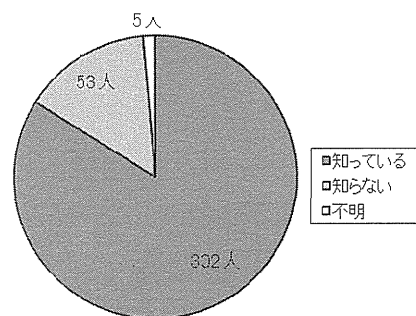


図7. 食品由来成分使用の認知度

### 9. 「茶のしずく」アレルギー患者診察の有無

「茶のしずく」洗顔石鹸使用により、小麦アレルギーを発症した患者を診察した経験があると答えた医師は37名(10.3%)であった。すなわち、

およそ 10 人に 1 人の割合で、「茶のしずく」洗顔石鹸による小麦アレルギー患者を診察していることが明らかとなった。なお、患者総数は 137 名であった。開業医で 50 名の「茶のしずく」アレルギー患者を診察している例もあった。

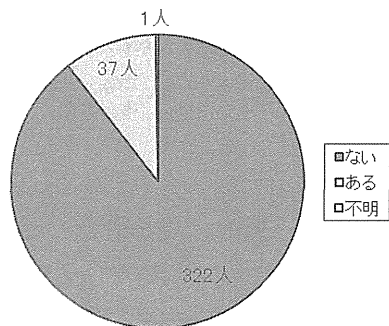


図 8. 「茶のしずく」アレルギー患者診察の有無

#### 10. 「茶のしずく」アレルギー患者登録の有無

日本アレルギー学会特別委員会では、「茶のしずく」洗顔石鹸の使用により小麦アレルギーを発症した患者を診察した医師に、専用の登録サイトへの患者登録を依頼しているが、本調査の結果では、「茶のしずく」アレルギー患者診察経験のある医師 37 名中、「登録していない」と回答した医師は 28 名で 76% を占めていることが明らかとなった。(図 9)

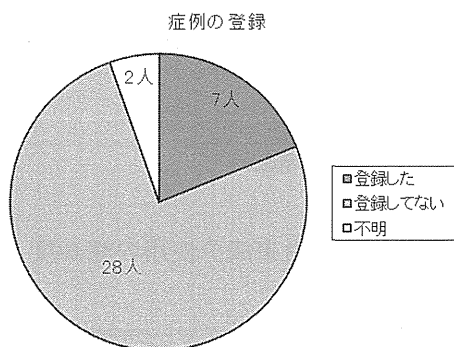


図 9. 患者の登録について

患者登録をしなかった理由については、28 人中、16 名が登録することを「知らなかった」と答えていた。次いで「忙しかった」と回答した医師が 3 名いたほか、「患者が希望しなかった」「患者の同意を得られなかった」「初期の症例であったため、カルテ番号の確認ができなかった」「他院へ紹介したため」などが理由として挙げられていた(図 10)。

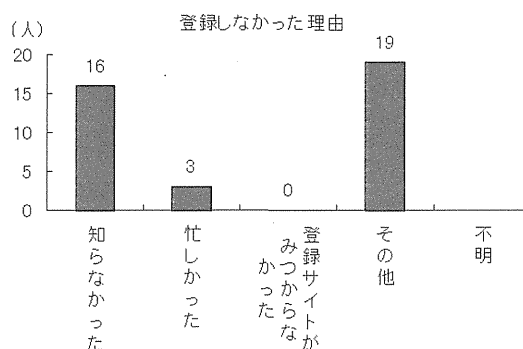


図 10. 患者登録をしなかった理由について

#### 11. 「茶のしずく」以外的小麦加水分解物によるアレルギー発症について

「茶のしずく」洗顔石鹸以外の、小麦加水分解物添加化粧品、あるいは医薬部外品を使用して小麦アレルギーを発症した症例は認められなかった(図 11)。

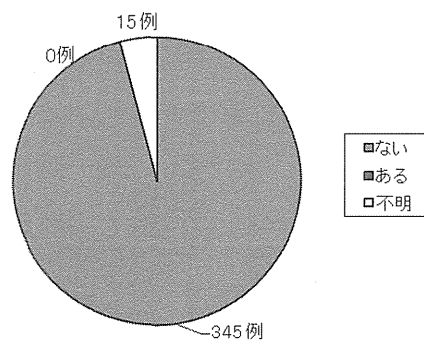


図 11. 「茶のしずく」以外的小麦分解物症例

12. 「茶のしずく」の使用期間について

「茶のしずく」の使用期間については、大部分の医師が回答していなかったため不明である（図12）。

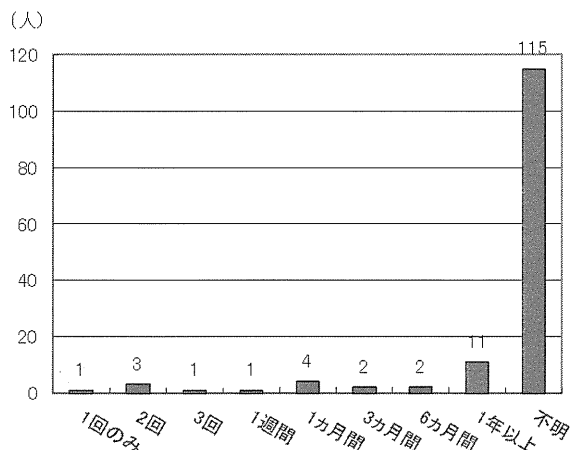


図12. 「茶のしずく」使用期間

13. 患者の性別

患者の性別については、83名が女性、3名が男性、不明が54名であった（図13）。

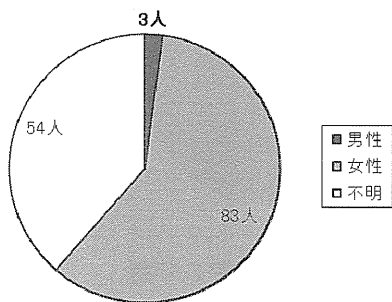


図13. 患者の性別

14. 患者の年齢

患者の年齢に関して、女性では、30歳代が最も多く（21名）、次いで40歳代（16名）、50歳代（16名）、60歳代（9名）、10歳代（6名）の順であった（図15）。ちなみに男性は、0～9歳が2名、20歳代が1名であった（表1）。

表1. 患者の年齢

	0～	10～	20～	30～	40～	50～	60～	不明
男性	2		1					
女性		6	12	21	16	16	9	57
総数	2	6	13	21	16	16	9	57

15. 発症部位について

発症部位については、顔（67名）、眼（55名）、鼻（44名）が多く、全体の68.6%を占めていた（図14）。

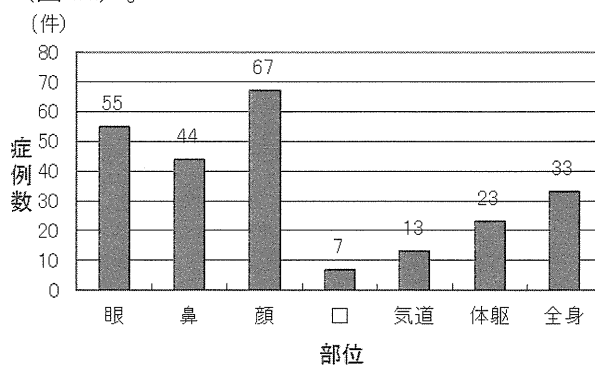


図14. 発症部位

16. アレルギー疾患の有無について

「茶のしずく」洗顔石鹸による小麦アレルギーを発症する以前のアレルギー疾患の既往歴について質問した結果、「ある」と回答した医師は13名（図15）で、アレルギー疾患の内訳は、アトピー性皮膚炎（4名）、食物アレルギー（3名）、花粉症（3名）、喘息（2名）であった（図16）。

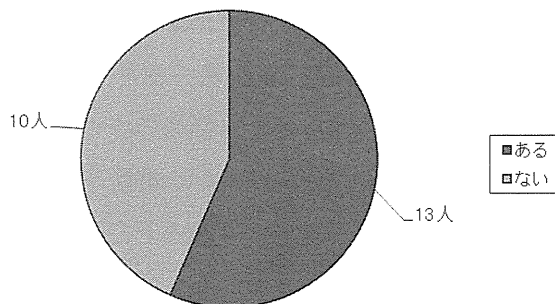


図15. その他のアレルギーの有無

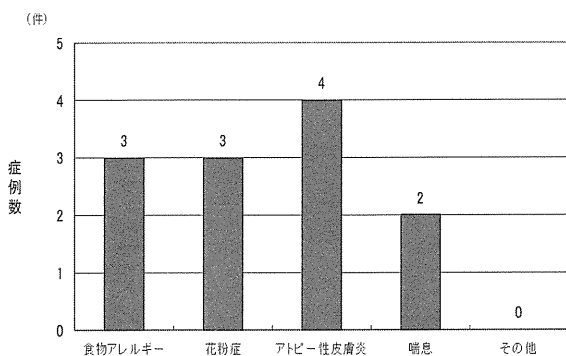


図 16. アレルギー疾患名

### 17. その他

化粧品や医薬部外品に添加されている食品由来成分について意見を聞いたところ、「あまりに多くの成分が添加されているので、何がかぶれやアレルギーの原因であるのか特定するのが難しいケースがみられる」、「我々医師にも啓発活動をお願いしたい」、「知らないことが多い」、「成分濃度などの記載がなく、効果の信憑性が疑わしい。個人的な使用者の感想ということで宣伝しているが、医学的に因果関係のうすいもの（効能）まで紹介しているものがある」、「茶のしずく以外、問題のある可能性のある製品について認識がない」、「加水分解小麦含有製品（グルパール 19S ではないと思うが）が、まだ販売されているが、今後、アレルギーをおこす可能性があるかもしれない」、「商品の説明文を見ると、添加物についての記載がわかりにくい」、「上記成分に含まれる食品由来成分を正確に分り易く表示することを義務づけるべきである」、「価格の安い製造会社のよく知られていない化粧品で頭髪や皮膚障害を起して来院する女性をよく診る」などが挙げられていた。

平成 25 年度

### 1. アンケート配布数と回収率

アンケートは 2,303 施設、3,995 名の医師に配布し、250 施設、278 名から回答を得た。回収率は施設で 10.9%、医師で 7.0%であった。

### 2. 回答者の性別

回答者 278 名中、男性は 240 名で 86.3%を占めていた（図 17）。

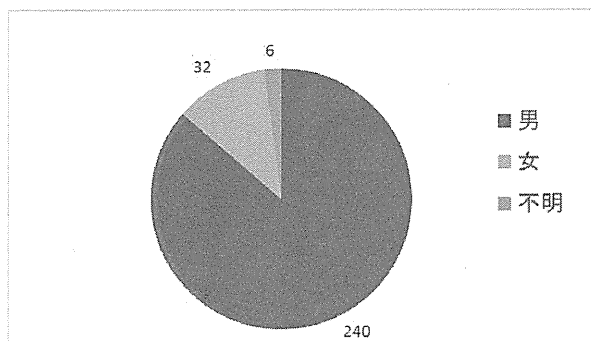


図 17. 回答者の性別

### 3. 回答者の年齢

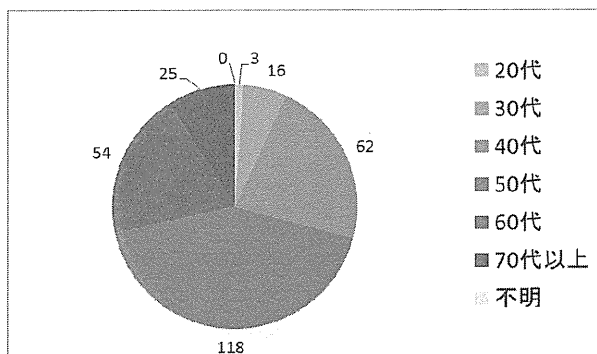


図 18. 回答者の年齢

回答者の年齢は、50 歳代が最も多く 42.4%を占めていた。次いで 40 歳代 (22.3%)、60 歳代 (19.4%)、70 歳代 (9.0%)、30 歳代 (5.8%)、20 歳代 (1.0%) の順であった（図 18）。

### 4. 専門分野

回答した医師の専門分野を図 19 に示した。内科が 134 名 (48.2%) で最も多かった。



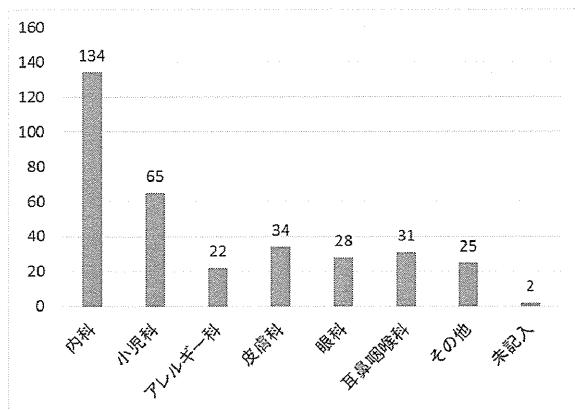


図 19. 専門分野

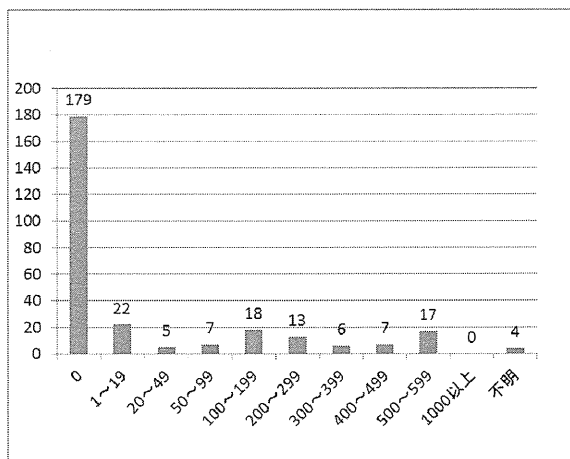


図 21. 病床数

### 5. 施設区分

回答した医師が働く医療機関の施設区分を図 20 に示した。診療所、すなわち開業医が約 7 割を占めていると思われる。

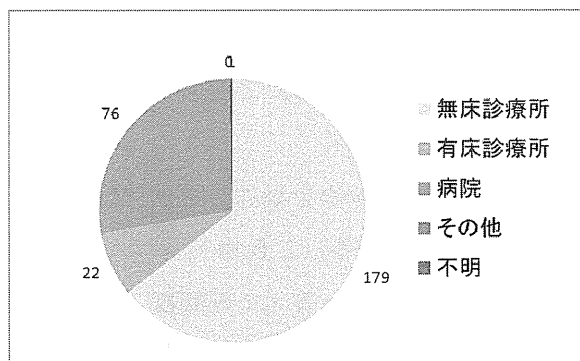


図 20. 施設区分

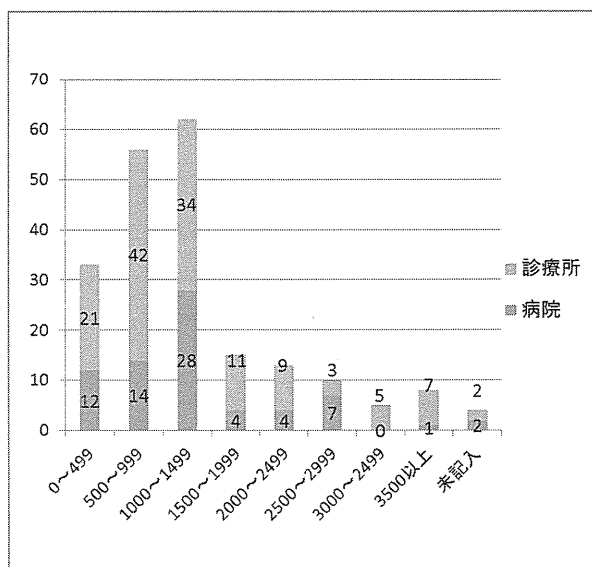


図 22. 受診者数

### 6. 病床数

回答した医師が勤務している医療機関の病床数は無床が 179 名 (64.4%) と最も多かったが、有床では、200 床以上が 15.5%を占めていた (図 21)。

### 7. 受診者数

回答した医師が勤務する医療機関における 1 か月の受診者数は、診療所、病院ともに 1,000~1499 名が最も多く、次に多い 500~999 名を合わせると全体の約 5 割を占めていた (図 22)。

### 8. 食品由来成分使用の認知度

「茶のしずく」洗顔石鹸のように、小麦加水分解物などの食品由来の成分が化粧品や医薬部外品に添加物として使用されていることを「知っている」と回答した医師は 242 名 (87%) であり、大部分の医師は認知していた一方で、前年度と同様に、化粧品や医薬部外品に食品由来の成分が添加されていることを知らない医師もいることが明らかとなった (図 23)。

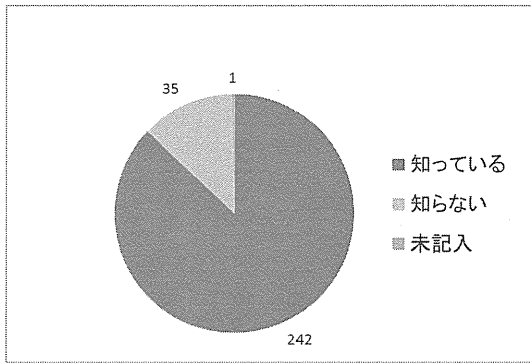


図 23. 食品由来成分使用の認知度

9. 「茶のしずく」アレルギー患者診察の有無

「茶のしずく」洗顔石鹸使用により、小麦アレルギーを発症した患者を診察した経験があると答えた医師は 35 名 (12.6%) であった (図 24)。

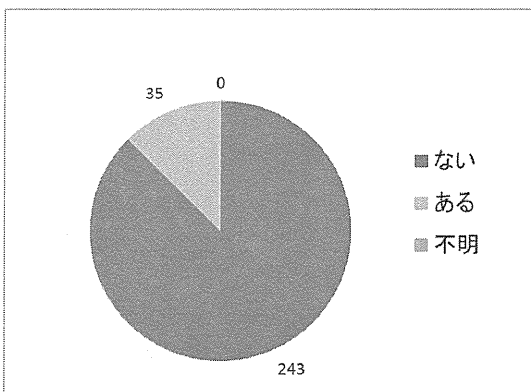


図 24. 「茶のしずく」アレルギー患者診察の有無

10. 「茶のしずく」アレルギー患者登録の有無

「茶のしずく」アレルギー患者診察経験のある医師 35 名中、「登録していない」と回答した医師は 27 名で約 77%を占めていた。(図 25)

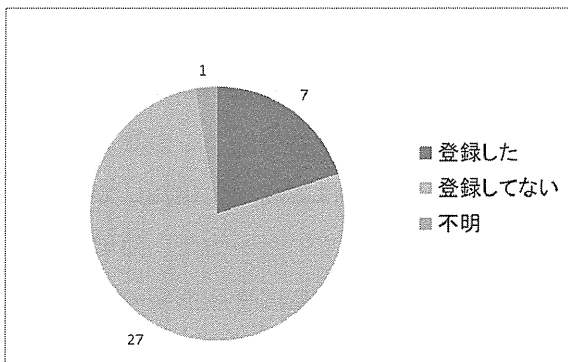


図 25. 患者の登録について

患者登録をどのように知ったかについては、7 名中、3 名が「学会 HP」と答えていた。また、前年度の「本アンケート調査」によって知ったと答えた医師が 2 名いた (図 26)。

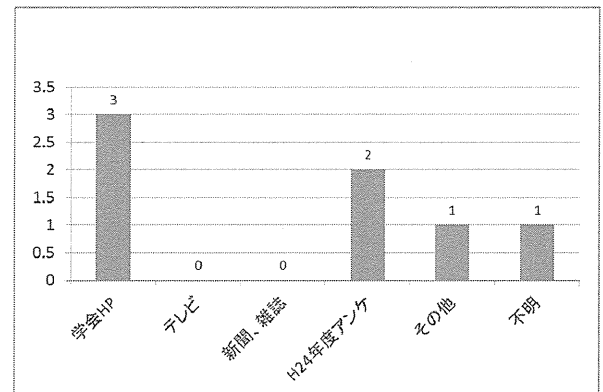


図 26. 登録制度をどのように知ったかについて

11. 小麦以外の加水分解物によるアレルギー発症について

小麦以外の加水分解物を添加した化粧品、あるいは医薬部外品を使用して食物アレルギーを発症した症例を経験したと答えた医師は 3 名であった (図 27)。

患者の状況を表 2 に示した。いずれも、原因物質は特定できていないが、アナフィラキシー、呼吸苦など重篤な症状を呈している症例もあることから、発症頻度は少ないものの、注意を要する。

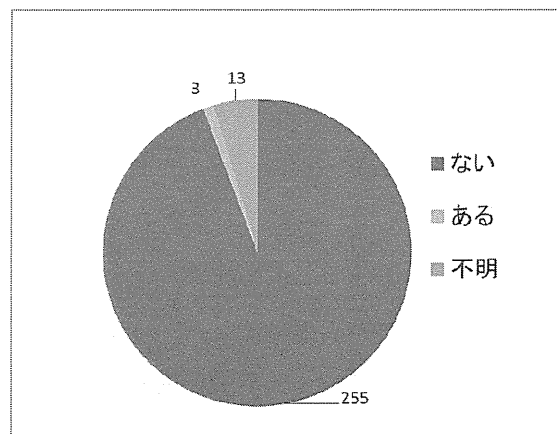


図 27. 小麦以外の加水分解物症例

表 2. 患者の状況

報告番号	原因商品	件数	使用期間	患者の性別	患者の年齢	発祥部位	他アレルギー疾患の有無
1	化粧品			女性			
2	不明	2~3	2回	女性	50~59歳	体躯・全身のかゆみ	無
3	不明	1	不明	女性	60~69歳	アナフィラキシー、喘息、呼吸苦、顔面浮腫、全身蕁麻疹	有

## 17. その他

化粧品や医薬部外品に添加されている食品由来成分について意見を以下に列記した。

現状については、

- 成分に関して含有量の表記がされていないものが多い。同じ成分でも純度、製造法によってアレルギーの発生頻度は異なると思う。

- 患者が副作用と考えず問診で話さないケースが多いと思う。一般用医薬品を含め情報が医師に入っていない。

- この数年、化粧品でのトラブルが多い（石ケンや美白に効果があるもの）ようだが、規制があまいのではないか。

- 食品由来成分に対するアレルギーの反応だと気付かなかったケースはあるかもしれない。

- 女性の化粧品の内容やアレルギーの情報がないため診断できない。

- 医薬品とちがい、イエローレター（「緊急安全性情報」）がないため、いったん問題が発生すると把握が難しい。

- 患者はみな副作用がないものであると信じているだけに危険である。

- 潜在的にはまだ他にも原因物質があるのでは、とは感じている。

- 最近、「経皮感作」ということがさかんに言われるようになったので、いろいろな物質で今後問題がおこりそうな気がします。

- 不明な添加物が含まれている場合が多いので気

をつけて使用しなければならないと思う。

- 最近豆乳を含む石鹸などが市販されており、アレルギーをおこす可能性があると思う。食品をせっけんなどに混ぜることはやめて頂きたい。

- 化粧の若年化など以前よりリスクは高まっていると考える。他方で過度の制限でアレルギーとは異なる影響の経験もあり、添加物の情報提供が大事である。

- 何らかの使用基準が必要ではないか。

- 規制、罰則が甘いと思う。

さらに、要望としては、

- 今までの小さな字での記載を大きくし、特に食品由来や生物由来は別表記とし販売時の説明を義務づけるような、法整備を検討してはどうか。

- （目で確認できるものについては）国民全体に広く周知し、迅速な対応がとれるよう対応等の立案をお願いしたい。

- 医師会などのメールを通じて情報がほしい。

- テレビコマーシャルの宣伝ももう少し規制した方がよい。

- 擬似薬品の広告宣伝に歯止めが必要だと考える。

- 数多くある添加物で、何がアレルギーを発症するか明確な所はなく、簡単に良し悪しの判断できないが、症例の蓄積と情報ネットワークでより早期に発症物質が判明されれば、被害は最小限に食い止められると思う。

- 食品由来成分の添加物に対する反応は個人差があると思うので、一律に禁止することは無理だと思うが、十分に検討してから製品化する努力を惜しまないで頂きたい。

- 化粧品、医薬部外品などによる健康被害発生の監視迅速に被害拡大の防止策を実行できる強力な国の体制を確立してもらいたい。

- 誇大広告の規制等を迅速に進めることを期待する。

・ビタミン剤、ミネラル、諸種食品栄養成分を添加して、皮膚から吸収され、又、皮膚組織の栄養成分となるごとき効能を書き並べているが、根拠がどこまで実証的であるのか、調査が望ましい。  
 ・食品由来だから安心、安全とあまり思わせない宣伝を願う。

以上のような意見が挙げられた。

## 平成 26 年度

### 1. アンケート配布数と回収率

アンケートは 2,343 施設、4,104 名の医師に配布し、220 施設、249 名から回答を得た。回収率は施設で 9.4%、医師で 6.1%であった。

### 2. 回答者の性別

回答者 249 名中、男性は 215 名で 86.3%を占め、前年度と同じであった（図 28）。

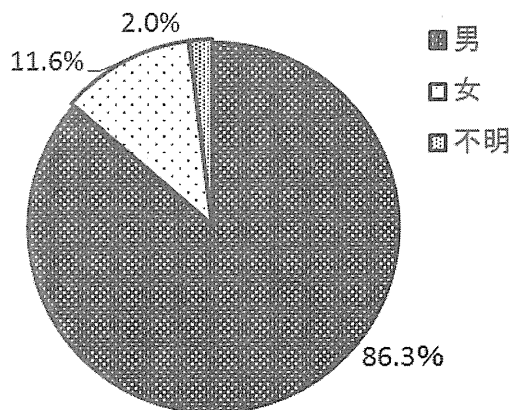


図 28. 対象者の性別

### 3. 回答者の年齢

回答者の年齢は、50 歳代が最も多く 41.0%を占めていた。次いで 60 歳代(22.1%)、40 歳代(18.9%)、70 歳以上(11.6%)、30 歳代(5.6%)、20 歳代(0.4%)の順であった（図 29）。

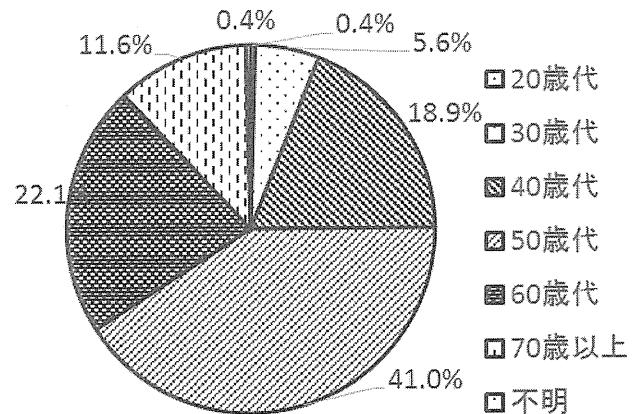


図 29. 回答者の年齢

### 4. 専門分野

回答した医師の専門分野を図 30 に示した。内科が 125 名（50.2%）で最も多かった。その他で最も多かったのは外科であった（8 名）。

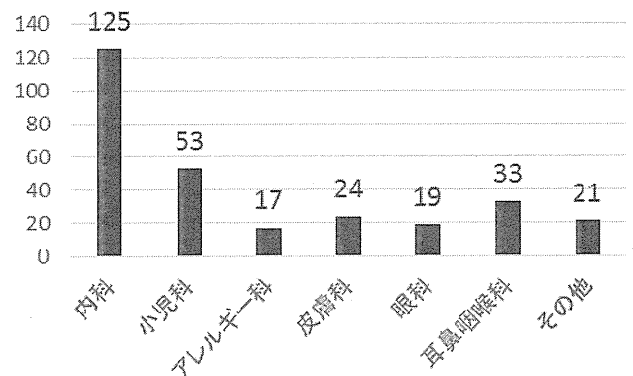


図 30. 専門分野

### 5. 施設区分

回答した医師が働く医療機関の施設区分を図 31 に示した。診療所、すなわち開業医が約 6 割を占めていると思われる。