

#### (5) 倫理面への配慮

本研究は、藤田保健衛生大学疫学・臨床研究倫理審査委員会の承認を得て行った。すなわち、ヘルシンキ宣言に準拠し、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除に配慮し、研究の内容について研究者から説明を行い書面での同意（インフォームド・コンセント）を得て行った。

### C. 研究結果

(1) GP19S 経皮感作コムギアレルギーについて特異的 IgE 抗体価の推移と臨床症状の全国追跡調査

(1)-1. 全国追跡調査を継続し症例の新たな登録はなくなり2014年10月に登録を終了とした。2014年10月20日時点、確実例は2,111例であった。女性2025例(95.9%)、男性86例(4.1%)であった。年齢は1歳(男児)から93歳(女性)、平均45.8歳で、多くは20代から60代の女性であった。

(1)-2. 登録患者の都道府県別陽性症例数は、福岡県がトップで311例、次いで東京都125例、北海道124例、大阪府123例、第5位は広島県110例であった(図2)。登録は最近はほとんど無くなっている(図3)。

(1)-3. 最終症例の間診結果を図3-7および表1、2に示す。

(1)-4. 確実例177例の経過では、GP19Sに対する抗体は多くの症例で減少している(図8)。参考までに厚生労働科学研究「生命予後に関わる重篤な食物アレルギーの実態調査・新規治療法の開発及び治療指針の策定」森田栄伸研究代表者のGP10による即時型コムギアレルギーの予後調査の結果を図9に示す。3か月間制限なく生活しコムギ摂取しても症状でない略治状態になる検定中央値は63.3か月であった<sup>2</sup>。

(2) 藤田保健衛生大学で経験した53例の症例について詳細を検討した結果、ELISA法によるGP19S抗体価は重症度と有意な相関を示した。

(3) 化粧品に含まれるタンパク質成分で、経皮感作食物アレルギーの原因として疫学調査で症例数の多かったコチニール色素の抗原について検討した。疫学調査で収集した症例を中心に7例(表3)を対象にした。その結果、比較的共通したものはCC38Kであったが、他の蛋白質にのみ反応する症例もあった。

(4) 加水分解コムギ末以外の化粧品に含まれるタンパク質について経皮感作食物アレルギーを発生した症例を継続調査した。原因タンパク質としてエステティシャンとして施術に使用していた全身ローションに含まれた大豆成分が確認された。

### D. 考察

GP19Sによるコムギアレルギー症例は全国調査で最終的に2,111名登録されており、実際の症例の大部分が集積されたと推定される。患者の予後については、研究代表者 森田栄伸の研究班(H24-難治等(免)-一般-005)によるGP19S即時型コムギアレルギーの予後調査の結果が報告されており、日常の生活で制限なくコムギ摂取しても即時型症状でない略治となる中央値は65.3か月であるとの結果が得られている。多くの症例がコムギ摂取可能になってきており、約4年半で半数が略治となることが期待できる。しかし、抗体が下がらず、症状の再燃をみる症例があり、現在もその治療方法の開発が待たれるところである。

GP19Sによる即時型コムギアレルギーの診断にはプリックテストとELISAによる抗体が有用であり、コムギ摂取可能か否かについては、好塩基球活性化試験、およびコムギ負荷試験などがより確

実な試験といえる。さらに抗原の解析は、本研究班でもすでに多くがなされているが、今後は他の加水分解タンパク質の経皮感作性の予知とリスク回避に有用な検査法が求められる。

化粧品に使用されている蛋白成分の色素、コチニールの共通抗原の一つはCC38Kであったが、他の蛋白質にのみ反応する症例もあり今後の検討が必要と考える。また、大豆成分の含有された化粧品に職業上毎日手で触れていたアトピー性皮膚炎の症例が、経皮感作による大豆の食物アレルギーを発症した症例を経験した。症例の数は多くはないが、このような症例が潜在している可能性があり、今後とも研究を継続していく必要がある。これらの個々の症例の診断と、その抗原解析には製品や成分のブリックテストと、2D-WB および質量分析が有用と考えられた。

#### E. 結論

- 1) GP19S による即時型コムギアレルギーは原因抗原の接触回避により、回復している。
- 2) 経皮感作食物アレルギーの症例の診断にはブリックテスト、ELISA 法、2D-WB が有用である。
- 3) GP19S 以外のタンパク質成分による経皮感作食物アレルギーの症例は、多くはないと推測される。
- 4) 食品成分を化粧品に使用する場合のリスク評価、安全性評価の方法をさらに研究し、再度、GP19S による即時型コムギアレルギーのような多数例の健康被害を出してはならない。

#### 文献

1. 茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギ(グルパール 19S)による即時型コムギアレルギーの診断基準(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作成 2011. 10. 11)

[http://www.fa.kyorin.co.jp/jsa/jsa\\_0528\\_09.pdf](http://www.fa.kyorin.co.jp/jsa/jsa_0528_09.pdf)

2. 千貫祐子, 河野邦江, 高橋 仁, 塩飽邦憲, 森田栄伸: 加水分解コムギアレルギー疫学データまとめ、研究代表者: 森田栄伸 平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患等実用化研究分野) 免疫アレルギー疾患実用化研究分野) 生命予後に関わる重篤な食物アレルギーの実態調査・新規治療法の開発及び治療指針の策定 (H24-難治等(免)一般-005)

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nishigori C, Aoyama Y, Ito A, Suzuki K, Suzuki T, Tanemura A, Ito M, Katayama I, Oiso N, Kagohashi Y, Sugiura S, Fukai K, Funasaka Y, Yamashita T, Matsunaga K. Guide for medical professionals (i.e. dermatologists) for the management of Rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol*. 2015;42:113-128.
2. Sasaki M, Kondo M, Sato K, Umeda M, Kawabata K, Takahashi Y, Suzuki T, Matsunaga K and Inoue D. Rhododendrol, a depigmentation-inducing phenolic compound, exerts melanocyte cytotoxicity via a tyrosinase-dependent mechanism. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2014;27(5):754-63.
3. 松永佳世子. 化粧品による皮膚障害. *現代医学*. 2014;62(1): 101 -105.
4. Tatebayashi M, Oiso N, Wada T, Suzuki K, Matsunaga K and Kawada A. Possible allergic contact dermatitis with reticulate postinflammatory pigmentation caused by hydroquinone. *J Dermatol*. 2014;41(7):669-670.
5. Nakamura M, Yagami A, Hara K, Sano A, Kobayashi T, Aihara M, Hide M, Chinuki Y,

- Morita E, Teshima R, Matsunaga K. A new reliable method for detecting specific IgE antibodies in the patients with immediate type wheat allergy due to hydrolyzed wheat protein: correlation of its titer and clinical severity. *Allergol Int.* 2014;63(2):243-9.
6. Horita K, Tanoue C, Yasoshima M, Ohtani T, Matsunaga K. Study of the usefulness of patch testing and use test to predict the safety of commercial topical drugs. *J Dermatol.* 2014;41(6):505-13.
  7. 青山裕美, 伊藤明子, 鈴木加余子, 鈴木民夫, 種村篤, 錦織千佳子, 伊藤雅章, 片山一朗, 杉浦伸一, 松永佳世子. ロドデノール誘発性脱色素斑症例における一次全国疫学調査結果. *日皮会誌.* 2014;124(11):2095-2109.
  8. Kasamatsu S, Hachiya A, Nakamura S, Yasuda Y, Fujimori T, Takano K, Moriwaki S, Hase T, Suzuki T, Matsunaga K. Depigmentation caused by application of the active brightening material, rhododendrol, is related to tyrosinase activity at a certain threshold. *J Dermatol Sci.* 2014;76(1):16-24.
  9. Kuroda Y, Takahashi Y, Sakaguchi H, Matsunaga K, Suzuki T. Depigmentation of the skin induced by 4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanol is spontaneously re-pigmented in brown and black guinea pigs. *J Toxicol Sci.* 2014;39(4):615-23.
  10. Yagami A, Suzuki K, Morita Y, Iwata Y, Sano A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis caused by 3-o-ethyl-L-ascorbic acid (vitamin C ethyl). *Contact Dermatitis.* 2014;70(6):376-7.
  11. 矢上 晶子, 松永 佳世子. 皮膚のアレルギーのトピックス. *皮膚と美容.* 2014;46(2).
  12. Thokin M, Kaniwa N, Saito Y, Sugiyama E, Kurose K, Nishikawa J, Hasegawa R, Aihara M, Matsunaga K, Abe M, Furuya H, Takahashi Y, Ikeda H, Muramatsu M, Ueta M, Sotozono C, Kinoshita, Z Ikezawa. A whole-genome association study of major determinants for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(1):60-9.
  13. Morita Y, Suzuki K, Yagami A, Isami M, Sano A, Yokoyama Y, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis caused by N,N-diethyl-p-phenylenediamine used in water quality analysis. *Contact Dermatitis.* 2013;69(2):118-9.
  14. 松永佳世子, 矢上晶子, 中村政志, 佐野晶代, 小林東. (旧) 茶のしずくによる石鹼アレルギー. *公衆衛生* 2013;77(10):801-806.
  15. 矢上晶子, 松永佳世子. 加水分解コムギ含有石鹼によるコムギアレルギーの疫学と社会的意義. *アレルギー・免疫.* 2013;20(2).
  16. 古田加奈子, 伊佐見真実子, 矢上晶子, 鶴田京子, 田中紅, 美浦麻衣子, 廣川景子, 亀山梨奈, 稲葉弥寿子, 鈴木加余子, 松永佳世子. 化粧品パッチテスト 2009年のまとめ. *日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌.* 2013;7(1):34-43.
  17. 西村 景子, 矢上 晶子, 佐野 晶代, 古田 加奈子, 伊佐見 真実子, 松永 佳世子. 化粧品パッチテスト 2010年のまとめ. *J. Environ Dermatol Cutan Allergol.* 2013;7(2):78-86.
  18. 矢上 晶子, 松永 佳世子: 加水分解コムギ含有石鹼によるコムギアレルギーの疫学と社会的意義. *アレルギー・免疫.* 2013;20(2):224-232.
  19. Suzuki K, Yagami A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis caused by a skin-lightening agent, 5,5' - dipropylbiphenyl-2,2'-diol. *Contact Dermatitis.* 2012;66(1):51-2.
  20. Suzuki K, Hirokawa K, Yagami A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis from

carmine in cosmetic blush. *Dermatitis.*

*Dermatitis* 2012;22(6):348-9.

21. 鈴木 加余子, 松永 佳世子, 矢上 晶子, 足立厚子, 伊藤 正俊, 乾 重樹, 宇宿 一成, 海老原 全, 大磯 直毅, 岡 恵子, 河合 敬一, 鹿庭 正昭, 関東 裕美, 佐々木 和実, 杉浦 真理子, 杉山 真理子, 大迫 順子, 高山 かおる, 角田 孝彦, 尾藤 利憲, 中田 土起丈, 西岡 和恵, 堀川 達弥, 横関 博雄. ジャパニーズスタンダードアレルギー(1994)の2005年度~2007年度陽性率とジャパニーズスタンダードアレルギー(2008)の2009年度陽性率. *J. Environ Dermatol Cutan Allergol.* 2012;6(2):67-84.
  22. 西村 景子, 矢上 晶子, 松永 佳世子. 食物アレルギーupdate(case 05)カシューナッツアレルギーの1例. *Visual Dermatology.* 2012;11(3):302-303.
  23. 西村 景子, 佐野 晶代, 松永 佳世子. 多種類の野菜・果物に症状を呈した花粉・食物アレルギー症候群の1例. *Visual Dermatology* 2012;11(3):300-301.
  24. 中出 伸一, 安部 正通, 矢上 晶子, 山北 高志, 松永 佳世子. ラテックスアレルギー対策用素材の現状と今後の課題. *日本ラテックスアレルギー研究会会誌* 2012;15(1):99-105.
  25. 松永 佳世子: 化粧品は安全か? -加水分解コムギ末含有石鹼によるコムギアレルギーに学ぶ-. *Aesthetic Dermatology.* 2012; 22(3):163-168.
3. 矢上晶子, 鈴木加余子, 佐野晶代, 森田雄介, 小林東, 岩田洋平, 松永佳世子. 別々の美白化粧品によりアレルギー性接触皮膚炎と脱色素斑を含有した一例. 第269回日本皮膚科学会 東海地方会. 大正製薬(株)名古屋支店. 2014.9.21. 愛知.
  4. 渡邊総一郎, 矢上晶子, 沼田茂樹, 小林東, 佐野晶代, 田中紅, 山北高志, 岩田洋平, 星野臣平, 松永佳世子. ボラザG軟膏主成分トリベノシドによる肛門周囲のアレルギー性接触皮膚炎. 第269回日本皮膚科学会 東海地方会. 大正製薬(株)名古屋支店. 2014.9.21. 愛知.
  5. 伊藤紫, 村手和歌子, 佐々木良輔, 鈴木加余子, 松永佳世子. CPKの著明な高値を認めたマムシ咬症の1例. 第269回日本皮膚科学会 東海地方会. 大正製薬(株)名古屋支店. 2014.9.21. 愛知.
  6. 岩田洋平, 有馬豪, 田中紅, 渡邊総一郎, 三和拓人, 矢上晶子, 小出欣和, 勝野秀稔, 佐藤美信, 前田耕太郎, 松永佳世子. 肛門周囲の乳房外Paget病. 第29回日本皮膚科学会 総会・学術集会. 和歌山マリーナシティ ロイヤルパインズホテル. 2014.9.14. 和歌山.
  7. 松永佳世子. 矯正歯科に役立つ皮膚科最新情報. 第32回Bioproggressive Study Club学術大会 東京第一ホテル錦. 2014.11.16. 東京.
  8. 松永佳世子. 産官学連携「化粧品等皮膚安全性症例情報ネット」. 第44回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会 学術大会. 都市センターホテル. 2014.11.22. 東京.
  9. 松永佳世子. エクオールと皮膚. 第29回日本女性医学学会学術集会. 都市センターホテル. 2014.11.1. 東京.
  10. 松永佳世子. 「人を活かす」ことを使命に「置かれた環境で最大限自分を活かし」歩んできた道. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会(男女共同参画委員会企画 医師支援ランチセミナー「人が集まるリーダーシップとは?」). 国立京都国際会館. 2014.10 京都.

## 2. 学会発表

### <国内学会>

1. 松永佳世子. 女性医師支援を進める実践プログラム. 第64回日本泌尿器学会中部総会. アクティシティ浜松. 2014.10.17-10.19. 静岡.
2. 松永佳世子. 皮膚科医から見た化粧品安全性の現状と安全性確保のための提案. 日本化粧品学会. 第39回教育セミナー. ヤクルトホール. 2014.10.17. 東京.

11. 佐野晶代, 矢上晶子, 山北高志, 小林東, 岩田洋平, 有馬豪, 鈴木加余子, 山田雅啓, 松永佳世子. 最近経験したラテックスアレルギーの3例. ラテックスアレルギー・OASフォーラム 2014, 第19回日本ラテックスアレルギー研究会. 一橋大学一橋講堂. 2014.7.27. 東京.
12. 松永佳世子, 鈴木加余子, 矢上晶子, 秋田浩孝, 佐野晶代, 田中紅. ロドデノール誘発性脱色素斑 111例と他の美白剤等による脱色素斑が疑われた21例の臨床像と治療経過. 第32回日本美容皮膚科学会学術大会. 東京ベイ舞浜ホテルクラブリゾート. 2014.7.12-7.13. 千葉.
13. 松永佳世子, 矢上晶子, 中村政志, 佐野晶代, 小林東. グルパール19S経皮感作による全身性コムギアレルギーの全国調査小児例35例の疫学調査と免疫学的検査結果のまとめ. 第38回日本小児皮膚科学会. セルリアンタワー東急ホテル. 2014.7.5-7.6. 東京.
14. 鈴木加余子, 伊藤紫, 西和歌子, 佐々木良輔, 佐野晶代, 矢上晶子, 松永佳世子. 当院ICUで入院治療を要したアナフィラキシー患者(小児例を除く)のまとめ. 第268回日本皮膚科学会 東海地方会. 大正製薬名古屋支店. 2014.6.8. 愛知.
15. 齋藤健太, 矢上晶子, 山北高志, 佐野晶代, 小林東, 沼田茂樹, 安藤亜紀, 松永佳世子. 経皮感作による魚アレルギーの1例. 第268回日本皮膚科学会東海地方会. 大正製薬名古屋支店. 2014.6.8. 愛知.
16. 松永佳世子. 化粧品における最近の健康被害例と課題. 第39回日本化粧品学会. 有楽町朝日ホール. 2014.6.5-6. 東京.
17. 松永佳世子. 加水分解コムギ含有石鹼とロドデノール含有化粧品に学ぶ職業アレルギーの新たな課題. 第87回日本産業衛生学会. 岡山コンベンションセンター. 2014.05.23. 岡山.
18. 矢上晶子, 松永佳世子. 経皮感作による食物アレルギーの病態と治療. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 国立京都国際会館. 2014.5.9-5.11. 京都.
19. 佐野晶代, 矢上晶子, 小林東, 中村政志, 有馬豪, 岩田洋平, 松永佳世子. 小麦依存性運動誘発アナフィラキシー37例の臨床経過と小麦関連IgEの経時的変化. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 国立京都国際会館. 2014.5.9-5.11. 京都.
20. 駒瀬裕子, 猪又直子, 高増哲也, 灰田美知子, 松永佳世子, 松原知世, 山下直美, 楡澤伸之. 日本アレルギー学会における男女共同参画の実態. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 国立京都国際会館. 2014.5.9-5.11. 京都.
21. 矢上晶子, 鈴木加余子, 中村政志, 佐野晶代, 岩田洋平, 小林東, 有馬豪, 松永佳世子. 経皮感作に基づく魚類(Parvalbumin)と豆類(Phaseolin)による食物アレルギー. 第266回日本皮膚科学会東海地方会. 2013.12.8. 愛知.
22. 松永佳世子. グルパール19Sによる経皮感作コムギアレルギー全国疫学調査結果からみえてきたこと. 第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
23. 合原みち, 矢上晶子, 森田雄介, 佐々木良輔, 鈴木加余子, 中村節子, 稲垣とよみ, 赤町眞木, 橋本隆, 松永佳世子. 連鎖販売による会員制化粧品シリーズによる接触皮膚炎の検討. 第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
24. 鈴木加余子, 高橋正幸, 森田雄介, 田中紅, 佐野晶代, 岩田洋平, 有馬豪, 矢上晶子, 松永佳世子. 化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを施行した症例2012年のまとめ. 第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
25. 中村政志, 矢上晶子, 相原道子, 森田栄伸, 秀道広, 手島玲子, 松永佳世子. ELISA法によるグルパール19S特異IgE抗体評価を施行した全症例のまとめ. 第43回日本皮膚アレ

- ルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
26. 佐々木和実, 西嶋桂子, 安宅花子, 中村政志, 矢上晶子, 佐野晶代, 松永佳世子. 加水分解コムギグルパール 19S の製造工程中試料の分子量分布変化と脱アミド化の確認. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
  27. 矢上晶子, 松永佳世子, 杉浦伸一. 化粧品中のタンパク質等の安全性に関する緊急疫学調査. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
  28. 松永佳世子. パッチテストで確定できたアレルギー性接触皮膚炎 2012 年度の疫学調査結果. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 2013.11.29-12.1. 石川.
  29. 松永佳世子. グルパール 19S による経皮感作コムギアレルギー全国疫学調査結果からみえてきたこと. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  30. 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. 加水分解コムギによる経皮感作マウスに及ぼす抗原経口負荷の影響. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  31. 中村政志, 矢上晶子, 相原道子, 森田栄伸, 秀道広, 手島玲子, 松永佳世子. ELISA 法によるグルパール 19S 特異 IgE 抗体評価の有用性評価. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  32. 佐野晶代, 矢上晶子, 小林東, 中村政志, 有馬豪, 岩田洋平, 松永佳世子. 加水分解コムギ含有石鹼によるコムギアレルギー 57 例の予後調査. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  33. 矢上晶子, 松永佳世子, 杉浦伸一. 化粧品中のタンパク質等の安全性に関する緊急疫学調査. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  34. 中村政志, 矢上晶子, 佐野晶代, 佐々木和実, 西嶋桂子, 安宅花子, 松永佳世子. 加水分解コムギ含有石鹼により生じた即時型コムギアレルギーの抗原解析. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2013.11.28-30. 東京.
  35. 中村亮介, 中村政志, 矢上晶子, 酒井信夫, 中村里香, 安達玲子, 斎藤嘉朗, 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. 2013.11.28-30. 東京.
  36. 矢上晶子, 松永佳世子. 食物アレルギーの最新情報. 第 64 回日本皮膚科学会中部支部学術大会. 2013.11.2-3. 愛知.
  37. 松永佳世子. アレルギー性疾患等. 第 37 回日本小児皮膚科学会. 2013.7.14. 東京.
  38. 松永佳世子. 美肌を目的とした食品成分の利用における安全性と効果の実際. 第 13 回日本抗加齢医学会総会. 2013.6.29. 神奈川.
  39. 合原みち, 矢上晶子, 森田雄介, 佐々木良輔, 鈴木加余子, 中村節子, 稲垣とよみ, 赤松眞木, 安藤亜紀, 矢上晶子, 佐野晶代, 高橋正幸, 沼田茂樹, 岩田洋平, 有馬豪, 松永佳世子. コチニール色素によるアナフィラキシーの 1 例. 第 264 回日本皮膚科学会東海地方会. 2013.6.23. 愛知.
  40. 橋本隆, 松永佳世子. 連鎖販売による会員制化粧品シリーズによる接触皮膚炎の検討. 第 112 回日本皮膚科学会総会. 2013.6.14-16. 神奈川.
  41. 杉山晃子, 岸川禮子, 西江温子, 下田照文, 岩永知秋, 西間三馨, 島田清隆, 古江増隆, 田辺創一, 千貫祐子, 森田栄伸, 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 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. 2012.11.29. 大阪.
  42. 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. 2012.11.29.大阪.
43. 矢上晶子, 松永佳世子. 意外と多いかぶれとアレルギー. 第 64 回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 2012.10.28. 広島.
44. 安部正通, 矢上晶子, 佐野晶代, 松永佳世子. ラテックスアレルギーの 2 例. 第 261 回日本皮膚科学会東海地方会. 2012.9.23. 愛知.
45. 矢上晶子, 中村政志, 太田理会, 佐野晶代, 小林東, 松永佳世子. 茶のしずく石鹼に含まれる加水分解コムギ末感作により生じた経口小麦アレルギーにおいて重要なアレルゲンはグルパール 19S である. 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. 2012.7.13. 長野.
46. 松永佳世子. パッチテスト試薬 2012 共同研究中間報告. 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. 2012.7.13. 長野.
47. 中村政志, 矢上晶子, 原和宏, 太田理会, 佐野晶代, 小林東, 福富友馬, 手島玲子, 松永佳世子. 加水分解コムギ末感作により生じた小麦アレルギーの解析. 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. 2012.7.13. 長野.
48. 小林東, 矢上晶子, 太田理会, 佐野晶代, 松永佳世子. グルパール 231 含有ハムにより症状が誘発された加水分解小麦末含有石鹼使用者の一例. 第 260 回日本皮膚科学会東海地方会. 2012.6.24. 愛知.
49. 佐野昌代, 矢上晶子, 太田理会, 小林東, 西村景子, 有馬豪, 松永佳世子. 加水分解小麦含有石鹼により感作された小麦アレルギー 103 例の経時的変化の検討. 第 260 回日本皮膚科学会東海地方会. 2012.6.24. 愛知.
50. 中村政志, 矢上晶子, 太田理会, 松永佳世子. 加水分解コムギ末による小麦アレルギーの原因解析. 第 37 回日本化粧品学会. 2012.6.7. 東京.
51. 松永佳世子. 男性皮膚科医必見! 日常診療に役立つスキンケアアイテムの正しい使い方. 第 28 回日本臨床皮膚科医師会総会・臨床学術大会. 2012.4.21. 福岡.
52. 松永佳世子. 思いもよらぬ接触皮膚炎の原因. 第 75 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2012.2.18. 東京.
- <国際学会>
1. Matsunaga K. What we can learn and share about contact allergens from this session. EADC 2014 3rd Eastern Asia Dermatology Congress, International convention center Jeju. 2014.9.24-26. Korea.
  2. Goncalo M, Matsunaga K. Focus session "Contact dermatitis, a global approach. Which is the status in different parts of the world". 12th Congress of the European Society of Contact Dermatitis (ESCD). PALAU DE CONGRESSOS DE CATALUNYA. Barcelona. 2014.6.25-6-28. Spain.
  3. Nakamura M, Yagami A, Matsunaga K. Antigen in Glupearl 19S were developed by acid-heat treatment. American Association of Asthma, Allergy and Immunology Annual Meeting 2015, Feb. 20-24, 2015.
  4. Yagami A, Suzuki K, Nakamura M, Sano A, Arima M, Iwata Y, Kobayashi T, Hara K, Matsunaga K. Clinical analysis of immediate hypersensitivity to hydrolyzed wheat proteins in soap. American Association of Asthma, Allergy and Immunology Annual Meeting 2015, Feb. 20-24, 2015.
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得  
記載事項なし。
  2. 実用新案登録  
記載事項なし。
  3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
「医薬部外品・化粧品に含有される成分の安全性確保に関する研究」  
分担研究報告書(総合研究報告書)

医薬部外品の物性を考慮した成分規格の検討

研究分担者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長

研究要旨：

加水分解コムギ末を原料として配合した洗顔石けんの使用者に発症したアナフィラキシーショックは、原料の製造方法を変更したことから強いアレルギー性物質ができたためとわかった。この事例は、これまで想定されていなかったタンパク質の経皮曝露による感作として問題となった。本研究は、医薬部外品成分等の安全性確保のため、医薬部外品等に用いられるタンパク質由来成分の規格に関して調査を行い、特に加水分解コムギ末の成分規格並びに試験法策定に向け検討した。小麦またはコムギの名がつく成分を抽出した。加水分解コムギ末、加水分解コムギたん白液等はタンパク質もしくはペプチド及びアミノ酸を本質とし、窒素定量法が規定されていた。確認試験としてニンヒドリン反応を用いるアミノ酸の検出があるが、タンパク質としての定量法は規定されていなかった。小麦粉酵素分解粉末に対してのみ、純度試験としてプロテアーゼの非混入の確認が求められていた。よってこれら原料による健康被害の再発及び未然防止には、新規規格試験法の設定が必要と考えられた。分担研究者による研究結果、グルテンを短時間加水分解したものは一時的に分子量が増加し強い感作性を示すこと、加水分解時間を長くすると分子量が減少し約 10000 以下になったものでは感作性が認められなかったことから、加水分解コムギ末に分子量分布のような物性に関する規格が有用と考えられた。試験法としてはサイズ排除クロマトグラフィーを用い、分子量 10000 以下のものが一定量以上含まれることを確認することとした。本試験が一般的な HPLC システムで実施可能かどうか、多くの機関で実施可能かどうか検討し、おおむね妥当と評価された。当初案で指摘された試料溶液の溶媒による影響についても改定案で解決した。種々の加水分解コムギ末及び加水分解コムギタンパク液を試験した結果、動物試験でアレルギー性が疑われた原料以外はいずれも当初設定した分子量分布の規格値を上回ったが、欧米では平均分子量や最大分子量を制限する意見が出されており、安全側に立った規格値に変更した改定案を策定した。本規格の導入は、加水分解コムギ末の安全性確保のため有用と考えられる。

協力研究者

秋山卓美 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

A. 研究目的

化粧品あるいは医薬部外品は人体に対する作用が緩和なものとされている。化粧品は企業の自己責任のもと自由に種々の成分を配合できるが、緩和な効能を謳うことができる医薬部外品や薬

用化粧品は、製造販売前に承認、許可を受けることになっている。例えば保湿効果を謳う成分として、小麦、米、コラーゲン、果物エキス、アロエ、イチョウなどの植物由来成分が医薬部外品原料規格に記載されている。

近年、洗顔石けんの使用者にアナフィラキシーショックという重大な健康被害が発生し、ある特定の加水分解コムギ末が原因物質であることが明らかになった。化粧品や医薬部外品成分として

種々の植物由来タンパク質が使用されているが、本例は小麦のような食品成分が経皮、経粘膜的に感作するということが大きな問題となった。しかし加水分解コムギ末すべてに問題があるわけではなく、今回は製造法の変更によって強いアレルギー性物質が生成したことが理由とわかった。製造会社によると本原料は、現状の医薬部外品原料規格に適合したとされており、同様の感作の再発及び未然防止には新規規格の設定が必要である。

本研究は、医薬部外品等に用いられるタンパク質由来成分の規格に関して調査を行い、研究班で明らかになった加水分解物の物性や感作性試験の研究結果をもとにして、加水分解コムギ末の医薬部外品原料規格案を策定することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 医薬部外品原料規格 2006 及び追補の調査

加水分解及び酵素分解成分でタンパク質を本質とするもの及びタンパク質の残存混入が疑われる成分を抽出した。このうち小麦由来成分について規格設定の現状を調べた。

### 2. 試験法案の策定

分担研究者によるグルテン加水分解物の物性変化と感作性に関する研究報告から、安全性確保に求められる情報を取りまとめた。

医薬部外品原料規格 2006 及び第 16 改正日本薬局法から、タンパク質や分子量規定に関する成分を抽出し、その記載方法を参考にした。試薬試液、器具等については、研究に用いたもの、及び同等の市販製品について情報収集し、一般的かつ必要条件が満たされる収載文案を策定した。

規格案は、分担研究者に回覧して確認をとるとともに、各種加水分解コムギ末及び加水分解コムギタンパク液に対して適用し、妥当性を評価した。検討の結果、指摘された問題点等に関しては改定策を示した。

## C. 研究結果

### 1. 医薬部外品原料規格に記載されている加水分

### 解成分の規格

タンパク質の加水分解で得られるペプチドには、コラーゲンペプチド、加水分解エラスチン、小麦ペプチド、大豆ペプチド、シルクペプチド等、保湿、肌荒れ改善、感触改良成分として用いられている。医薬部外品原料規格から「加水分解」及び「酵素分解」という言葉がつく成分を抽出した。植物由来としてコムギ、トウモロコシ、バレイショ（ジャガイモ）、大豆、プルーンの名称がある成分があった。

加水分解コムギたん白液、加水分解コムギ末、小麦粉酵素分解粉末、小麦粉、コムギデンプン及びコムギ胚芽エキスの医薬部外品原料規格の各条を調べた。加水分解コムギたん白液、加水分解コムギ末、小麦粉酵素分解粉末は本質がタンパク質もしくはペプチド、アミノ酸であり、窒素定量法による濃度が規定されていた。確認試験としてニンヒドリン反応を用いるアミノ酸の検出があるが、タンパク質としての定量法は規定されていなかった。純度試験はほとんどの成分で重金属とヒ素に対してであった。小麦粉酵素分解粉末にのみ、プロテアーゼの非混入の確認が求められていた。

### 2. 加水分解コムギ末の感作性に関する研究班の検討結果のまとめ

研究班は、グルパール 19S の製造方法にならひ、小麦グルテンを種々の時間加水分解処理し、マウスを用いた経皮感作性試験を行うとともに、分子量分布の変化、化学変化体を調べた。短時間加水分解したものは一時的に分子量が増加し強い感作性を示すこと、加水分解時間を長くするとグルタミンの脱アミド化反応が進行、分子量が減少し 10000 以下になったものでは感作性が認められなかった。以上のことから、加水分解コムギ末の感作能の上昇要因は、酸加水分解による脱アミド化、部分加水分解によって生成した高分子量タンパク質の混在によるものと報告した。

### 3. 規格案の策定

上記結果より、分子量 10000 以下の分子の割合が一定以上とする規格とし、チトクロム c (平均

分子量約 12000) を基準にサイズ解除クロマトグラフィー (SEC) で確認する試験法を策定した。

SEC はタンパク質専用でなくとも一般 HPLC システムで試験可能であった。カラムは GE 社の Superdex 200 が最も良く、担体粒径の差による影響はなかった。分子量 669000 のサイログロブリンから 6500 のアプロチンの間に分子量とピーク保持時間との間に直線関係が成立したが、分子量 1046 のアンジオテンシン II はこの直線から外れた。加水分解コムギ末はグルタミンを主とするタンパク質であり一般的にタンパク質の検出に用いる 280 nm では吸収率が低いことから 210 nm とした。

当初加水分解コムギ末は 1 mol/L トリス緩衝液に溶解しリン酸塩緩衝塩化ナトリウム試液を加えて希釈した混合液を試験溶液とすることにしてきた。しかし本調製液では溶媒由来ピークが出現し、クロマトグラム形状と分子量分布比率に影響することがわかった。そこでトリス試液で溶解し等量の塩酸酸性のトリス・塩化ナトリウム試液で希釈することで、移動相と同じ組成と pH になるようにした。当初案と同様の溶解性で妨害ピークのない試料溶液の調製案ができた。なおグルパール 19S は他とは異なって不溶物が多く、0.22  $\mu\text{m}$  フィルターでのろ過が必要であった。

ピーク面積の測定範囲は、カラムベッド容量及びピークの出現の様子から 0~40 分間とした。感作性の認められたグルテン原料の 0.5 時間酸加水分解物のクロマトグラムにおいて、0 分から 24 分 (チトクロム c の保持時間) までの範囲の全ピーク面積と 24 分~40 分の範囲のピーク面積の比は 89 : 11、24 時間処理試料では 19 : 81 であった。感作性の弱かった 9 時間処理試料では 51 : 49 であった。このチトクロム c の保持時間以降の分子を分子量 10000 以下とすると、グルパール 19S について本分子量以下の割合は 6.3%、動物試験で感作性が認められなかった Prom 及び AGP はそれぞれ 97.9%、77.5% であった。加水分解コムギタンパク液についてはいずれも 95% 以上の値を示した。

#### D. 考察

加水分解コムギ末配合製品による全身アレルギーは、これまで想定していなかったタンパク質の経皮曝露によって感作が誘導されることを示した。問題となった加水分解コムギ末成分は現状の医薬部外品原料規格に適合しており、安全性確保のためには新規規格の設定が必要とされた。これまで化粧品や医薬部外品による違反事例は、ステロイドのような意図的に禁止成分を配合する例、あるいは不純物が非意図的に混入した例が一般的であった。加水分解コムギ末の場合、意図して製造した主成分が被害をもたらしたという点で、これまでの事例と明らかに異なっている。タンパク質に関連した健康被害症例としては、医師や看護師の間で多いゴム手袋に対するじんましんがある。ゴム手袋のタンパク質含量の低減化によって新たなアレルギー患者の発生と増加を抑制できたが、加水分解コムギ末は本質のタンパク質あるいはペプチド自体が機能を発揮するのに重要であり、限量として規定することは困難である。研究班は、加水分解コムギ末の感作能の上昇要因は、酸加水分解による脱アミド化、部分加水分解によって生成した高分子量タンパク質の混在によるものと報告した。アレルギーの発生防止という点から、現状規格に分子量という物性に関わる規格と試験法の追加が必要と考えられた。

原料規格は、高分子量の成分とならないよう、一定分子量以下の分子の最低存在率を定めることにした。SEC でチトクロム c よりも遅く出てくるものを質量分子量 10000 以下とし、各種原料の存在比率に関する分析結果と感作性の有無から規格値を決定した。SEC の試験条件については複数機関でチェックし、妥当性が確認できた。バリデーションで出された意見を参考に、試験溶液の調製法を見直し改良し、分子量分布の正確な値を出すことが可能になった。なお改定案については再度バリデーションによる評価が必要である。

2014 年 6 月、米国 Cosmetic Ingredient Review (CIR) Expert Panel は、分子量 10000 以上の高分

子量ポリペプチドは感作を誘導するが 3000 Da 以下では感作された患者に惹起を起こさないことから、化粧品に用いる加水分解コムギ末は質量平均分子量 3500 Da 以下であるなら安全と結論した。欧州 Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) も、加水分解コムギ末の感作性についてペプチドの最大分子量が 3.5 kDa であるとき安全との意見を示した。なお報告書にはこれらの分子量分布や平均分子量を求めるための試験法は示されていない。

規格案は、当初質量分子量 10000 以下の割合が 60%とする案を示した。医薬部外品に使われている種々の原料を試験したところ、感作性が認められたグルパール 19S での 10000 以下の比率は 6.3%、動物試験で感作性が認められなかった Prom 及び AGP はそれぞれ 97.9%、77.5%、加水分解コムギタンパク液についてはいずれも 95%以上であった。このように、問題を起こした原料以外は分子量 10000 以下の比率は当初規格案よりも高比率であった。今回はより安全側に立ち、CIR や SCCS の意見と同等性を保つよう、分子量 10000 以下の割合が 80%とする改定案を示す。AGP は不適合となるが、クロマトグラムから見ると CIR や SCCS の意見に合うかどうか不明であり、この規格値で良いと判断した。提案した SEC 条件は 3000~3500 の分子量のものを中心に分析するものではないが、Prom 等のクロマトグラムでピークトップはチトクロム c より後ろにあり、平均分子量は数千に相当すると思われる。したがって分子量 10000 以下の分子量の比率を 80%とする規格案は CIR や SCCS の求める意見と大きく差はないと考えられる。

以上の結果を基に、加水分解コムギ末規格を以下のように策定した。現状と異なる部分と追加するものを示した。

## 加水分解コムギ末 (案 201501)

### 基原

本品は、コムギ *Triticum aestivum* Linné (Gramineae)の種子を加水分解して得られる水溶

性成分の乾燥粉末で、80%以上が質量分子量 10000 以下である。本品は、定量するとき、窒素 (N:14.01) 8.0~18.0%を含む。

**分子量分布** 本品は次の方法により測定するとき、全分子の 80%以上が分子量 10000 以下である。

本品 0.1 g をとり、加水分解コムギ末用 0.02 mol/L トリス試液 5 mL を加えて振り混ぜた後、16 時間静置する。これに加水分解コムギ末用酸性 0.02 mol/L トリス・塩化ナトリウム試液 5 mL を加えて振り混ぜた後、メンブランフィルター (0.22  $\mu$ m) でろ過したものを試料溶液とする。別に、チトクロム c 1 mg を移動相 1 mL に溶かし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20  $\mu$ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行うとき、試料溶液において、チトクロム c の保持時間以降に認められるピーク面積は、試料条件の面積測定範囲に認められるピークの合計面積の 80%以上である。

### 試験条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：210 nm)

カラム：内径 10 mm、長さ 30 cm のガラス管に 8~13  $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用高度架橋アガロースーデキストランゲルを充填する。

カラム温度：25°C 付近の一定温度

移動相：トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g 及び塩化ナトリウム 11.7 g に水 1000 mL を加えて溶かし、塩酸 1.5 mL を加える。

流量：毎分 0.75mL 面積測定範囲：試料注入後から 40 分の範囲

### システム適合性

システムの性能：アプロチニン、チトクロム c 及びミオキナーゼそれぞれ 0.2 mg を移動相 1 mL に溶かし、システム性能用試料溶液とする。システム性能用試料溶液 20  $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、ミオキナーゼ、チトクロム c 及びアプロチニンの順に溶出し、それぞれの分離度は 1.5 以上である。

システムの再現性：標準溶液 20  $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、チトクロム

c のピーク面積の相対標準偏差は 2.0%以下である。

#### 新たに設定する試薬、試薬液等

- ・チトクロム c

分子量マーカーとして用いられるもの。ウマまたはウシ由来タンパク質。分子量約 12000.

- ・ミオキナーゼ，酵母由来

分子量約 32000.

- ・アプロチニン，ウシ肺由来

分子量約 6500.

- ・高度架橋アガロースーデキストランゲル，液体クロマトグラフィー用

液体クロマトグラフィー用に製造したもの。分子量 10000～600000 のタンパク質が分離できるもの。

- ・0.02 mol/L トリス試液，加水分解コムギ末用  
トリスヒドロキシメチルアミノメタン 1.21 g に水を加えて溶かし，500 mL とする。

- ・酸性 0.02 mol/L トリス・塩化ナトリウム試液，加水分解コムギ末用  
トリスヒドロキシメチルアミノメタン 1.21 g 及び塩化ナトリウム 11.7 g に水 500 mL を加えて溶かし，塩酸 1.5 mL を加える。

#### E. 結論

医薬部外品原料規格から加水分解成分を抽出し、コムギ由来成分の規格を調べた。窒素定量法が採用されているがタンパク質に関する規格や試験法はなかった。加水分解コムギ末は、製造工程中の原材料の加水分解処理により一時的に分子量が増加し強い感作性を示すこと、加水分解時間を長くすると分子量が減少し約 10000 以下になったものでは感作性が認められなかったことから、分子量分布に関する物性の規格が有用と考えられた。試験法は、サイズ排除クロマトグラフィーにより分子量約 12000 のチトクロム c 以下の分子量のものが一定量以上含まれることを確認する案を策定した。本試験は一般的な HPLC システムで多くの機関で実施可能であったことから、おおむね妥当と

評価された。種々の加水分解コムギ末及び加水分解コムギタンパク液を試験した。動物試験でアレルギー性が疑われた原料以外はいずれも当初の規格値以上の値を示したが、欧米では平均分子量や最大分子量を制限する意見が出されており、より安全側に立った規格値の改定案を策定した。本規格の導入は、加水分解コムギ末の安全性確保のため有用と考えられる。

#### 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

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮崎誠生, 伊東祐二, 萩原義久	ラクダ科動物由来天然起源シングルドメイン抗体(VHH抗体)の開発	監修: 熊谷泉	次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線	シーエムシー出版	東京	2012	124-128
畠中孝彰, 杉村和久, 伊東祐二	ファージライブラリによるヒト抗体特異的アフィニティペプチドの探索と抗体検出、精製技術への応用	監修: 木曾義明・向井秀仁	ペプチド医薬の最前線	シーエムシー出版	東京	2012	78-84
若井純子, 伊東祐二	非抗体スカフォールドプロテインバインダー	監修: 浜窪隆雄、編集委員長: 津本浩平	新機能抗体開発ハンドブック～次世代抗体創製から産業への展開まで～	シーエムシー出版	東京	2012	184-189
畠中孝彰, 伊東祐二	ペプチド抗体	監修: 浜窪隆雄、編集委員長: 津本浩平	新機能抗体開発ハンドブック～次世代抗体創製から産業への展開まで～	シーエムシー出版	東京	2012	59-64
伊東祐二, 宮崎誠生, 榎元友里恵	ファージディスプレイ法	生物化学的測定研究会・編	免疫測定法～基礎から先端まで～	講談社	東京	2014	137-146

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Suzuki K, Hirokawa K, Yagami A, Matsunaga K	Allergic contact dermatitis from carmine in cosmetic blush.	Dermatitis.	22(6)	348-9	2011
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	67	1392-1399	2012
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.	160(3)	259-264	2012
Takaaki Hatanaka, Shinji Ohzono, Mirae Park, Shogo Tsukamoto, Ryohei Sugita, Kotaro Sakamoto, Hiroyuki Ishitobi, Toshiyuki Mori, Osamu Ito, Koichi Sorajo, Kazuhisa Sugimura, Sihyun Ham, Yuji Ito	Human IgA-binding peptides selected from random peptide libraries: affinity maturation and application in IgA purification	The Journal of biological chemistry	287	43126-43136	2012
Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K	Clinical Utility of IgE Antibodies to $\omega$ -5 Gliadin in the Diagnosis of Wheat Allergy: A Pediatric Multicenter Challenge Study	Int Arch Allergy Immunol	158(1)	71-6	2012
Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, Fiocchi A, Chiang W, Beyer K, Wood R, Hourihane J, Jones SM, Lack G, Sampson HA	ICON: Food allergy	The Journal of Allergy and Clinical Immunology	129(4)	906-20	2012
Ebisawa M, Moverare R, Sato S, Maruyama N, Borres MP, Komata T	Measurement of Ara h 1-, 2-, and 3-specific IgE antibodies is useful in diagnosis of peanut allergy in Japanese children	Pediatric Allergy and Immunology	23(6)	573-81	2012
Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, Dimov V, Ebisawa M, El-Gamal YM, Ledford DK, Lockey RF, Ring J, Sanchez-Borges M, Senna GE, Sheikh A, Thong BY, Worm M	2012 Update: World Allergy Organization Guidelines for the assessment and management of anaphylaxis	Current opinion in allergy and clinical immunology	12(4)	389-99	2012
Nakano T, Shimojo N, Okamoto Y, Ebisawa M, Kurihara K, Hoshioka A, Yamaguchi K, Ito K, Fujisawa T, Kameda M, Suehiro Y, Ogura H, Shibata R, Suzuki S, Takahashi Y, Ikeda M, Kohno Y	The Use of Complementary and Alternative Medicine by Pediatric Food-Allergic Patients in Japan	International archives of allergy and immunology	159(4)	410-5	2012
Ebisawa M, Sato S, Utsunomiya T, Hayashi N, Imai T, Yanagida T	Rush oral immunotherapy for the treatment of hen's egg- and cow's milk-induced anaphylaxis	Translational Science: from Basic to Clinical Immunology and Allergy		359-64	2012
Ito Y, Moritsugu N, Matsue T, Mitsukoshi K, Ayame H, Okochi N, Hattori H, Tashiro H, Sato S, Ebisawa M	An automated multiplex specific IgE assay system using a photoimmobilized microarray	Journal of biotechnology	161(4)	414-21	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Suzuki K, Yagami A, Matsunaga K.	Allergic contact dermatitis caused by a skin-lightening agent, 5,5' - di-propylbiphenyl-2,2'-diol.	Contact Dermatitis	66(1)	51-2	2012
Ryosuke Nakamura, Ayano Ishiwatari, Masakazu Higuchi, Yoshimi Uchida, Rika Nakamura, Hiroshi Kawakami, Atsuo Urisu and Reiko Teshima	Evaluation of the Luciferase Assay-Based In Vitro Elicitation Test for Serum IgE	Allergology International	61	431-437	2012
手島玲子	経口感作の成立と消化管粘膜免疫機構	アレルギー・免疫	19(1)	40-44	2012
手島玲子	加水分解小麦によるアレルギーについて	ファルマシア	49(2)	116-120	2013
中村亮介, 手島玲子	アレルゲン特異IgE抗体の新しい測定方法 4. EXiLE法	アレルギー・免疫	20(1)	63-73	2013
小俣貴嗣, 海老澤元宏	抗原特異的IgE抗体測定による食物アレルギーの診断の進歩 (プロバビリティーカーブ、アレルギーコンポーネントの活用)	アレルギー	61(5)	599-606	2012
海老澤元宏, 杉崎千鶴子, 林典子, 佐藤さくら, 今井孝成	わが国における経口免疫 (減感作) 療法の実態	日本小児アレルギー学会誌	26(1)	158-66	2012
福富友馬	食物関連化粧品添加成分により発症する経口小麦アレルギー	臨床免疫・アレルギー科	58(1)	57-62	2012
鈴木 加余子, 松永 佳世子, 矢上 晶子, 足立 厚子, 伊藤正俊, 乾 重樹, 宇宿 一成, 海老原 全, 大磯 直毅, 岡 恵子, 河合 敬一, 鹿庭 正昭, 関東 裕美, 佐々木 和実, 杉浦 真理子, 杉山 真理子, 大迫 順子, 高山 かおる, 角田 孝彦, 尾藤 利憲, 中田 土起丈, 西岡 和恵, 堀川 達弥, 横関 博雄	ジャパニーズスタンダードアレルゲン(1994)の2005年度~2007年度陽性率とジャパニーズスタンダードアレルゲン(2008)の2009年度陽性率	Journal of Environmental Dermatology and Cutaneous Allergology	6(2)	67-84	2012
西村 景子, 矢上 晶子, 松永 佳世子	食物アレルギーupdate (case 05)カシューナッツアレルギーの1例	Visual Dermatology	11(3)	302-303	2012
西村 景子, 佐野 晶代, 松永 佳世子	多種類の野菜・果物に症状を呈した花粉・食物アレルギー症候群の1例	Visual Dermatology	11(3)	300-301	2012
中出 伸一, 安部 正通, 矢上 晶子, 山北 高志, 松永 佳世子	ラテックスアレルギー対策用素材の現状と今後の課題	日本ラテックスアレルギー研究会会誌	15(1)	99-105	2012
松永 佳世子	化粧品は安全か? -加水分解コムギ末含有石鹼によるコムギアレルギーに学ぶ-	Aesthetic Dermatology	22(3)	163-168	2012
矢上 晶子, 松永 佳世子	加水分解コムギ含有石鹼によるコムギアレルギーの疫学と社会的意義	アレルギー・免疫	20(2)	224-232	2013
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	132	1436-1438	2013
Adachi R, Nakamura R, Sakai S, Teshima R.	Sen-sitization to Acid-Hydrolyzed Wheat Protein by Transdermal Administration.	Clinical Immunology & Allergology	59	598-602	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Muraoka, J., Kamiya, N. and Ito, Y.	Preparation and evaluation of cellulose-dissolving magnetic ionic liquid	Journal of Molecular Liquids	182	76-78	2013
Fukunaga, K., Hatanaka, T., Ito, Y. and Taki, M.	Gp10 based-thioetherification (1ONASEd-T) on a displaying library peptide of bacteriophage T7	Molecular BioSystems	9	2988-2991	2013
Inuo, C., Kondo, Y., Itagaki, Y., Kurihara, K., Tsuge, I., Yoshikawa, T., Urisu, A.	Anaphylactic reaction to dietary oats: The first case report.	Annals of Allergy, Asthma and Immunology.	110	305-306	2013
Nakagawara, R., Itagaki, Y., Kohno, M., Matsukura, S., Miyazawa, M., Kumasaka, K., Kojima, T., Ikezawa, Z., Aihara, M.	Analysis of Novel Soybean Allergens That Cause Food-Induced Anaphylaxis.	Food Sci. Technol. Res.	19	617-621	2013
Ebisawa M, Brostedt P, Sjölander S, Sato S, Borres MP, Ito K.	Gly m 2S albumin is a major allergen with a high diagnostic value in soy-bean-allergic children.	J Allergy Clin Immunol.	132(4)	976-978	2013
Simons FE, Arduzzo LR, Dimov V, Ebisawa M, El-Gamal YM, Lockey RF, Sanchez-Borges M, Senna GE, Sheikh A, Thong BY, Worm M.	World allergy organization anaphylaxis guidelines: 2013 update of the evidence base.	Int Arch Allergy Immunol.	162(3)	193-204	2013
M Ebisawa, S Nishima, H Ohnishi, N Kondo.	Pediatric allergy and immunology in Japan.	Pediatric Allergy and Immunology	24(7)	704-14	2013
Ohta K, Jean Bousquet P, Akiyama K, Adachi M, Ichinose M, Ebisawa M, Tamura G, Nagai A, Ni-shima S, Fukuda T, Morikawa A, Okamoto Y, Kohno Y, Saito H, Takenaka H, Grouse L, Bousquet J.	Visual analog scale as a predictor of GINA-defined asthma control. The SACRA study in Japan.	J Asthma.	50(5)	514-21	2013
G W Canonica, I J Ansotegui, R Pawankar, P Schmid-Grendelmeier, M van Hage, C E Bae-na-Cagnani, G Melioli, C Nunes, G Passalacqua, L Rosenwasser, H Sampson, J Sastre, J Bousquet, T Zuberbier and WAO-ARIA-GA2LEN Task Force: K Allen, R Asero, B Bohle, L Cox, F de Blay, M Ebisawa, et al.	A WAO - ARIA - GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics.	World Allergy Organization Journal 2013		[Epub ahead of print]	2013
M Thokin, N Kaniwa, Y Saito, E Sugiyama, K Kurose, J Nishikawa, R Hasegawa, M Aihara, K Matsunaga, M Abe, H Furuya, Y Takahashi, H Ikeda, M Muramatsu, M Ueta, C Sotozono, S Kinoshita, Z Ikezawa.	A whole-genome association study of major determinants for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients.	The Pharmacogenomics journal	2013(13)	60-69	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Masayuki Takahashi, Hirohiko Akamatsu, Akiko Yagami, Seiji Hasegawa, Shiroh Ohgo, Masamichi Abe, Yohei Iwata, Masaru Arima, Hiroshi Mizutani, Satoru Nakata, Kayoko Matsunaga.	Epithelial-mesenchymal transition of the eccrine glands is involved in skin fibrosis in morphea.	Journal of Dermatology	40	720-725	2013
Morita Y, Suzuki K, Yagami A, Isami M, Sano A, Yokoyama Y, Matsunaga K.	Allergic contact dermatitis caused by N,N-diethyl-p-phenylenediamine used in water quality analysis.	Contact Dermatitis	69(2)	118-119	2013
今井孝成, 海老澤元宏.	全国経口食物負荷試験実施状況 -平成23年即時型食物アレルギー全国モニタリング調査から-	アレルギー	62(6)	681-8	2013
手島玲子	食物アレルギーの話	日本小児アレルギー学会誌	27(1)	15-19	2013
海老澤元宏, 伊藤浩明.	ピーナッツアレルギー診断におけるAra h 2特異的IgE抗体測定の意義.	日本小児アレルギー学会誌	27(4)	621-8	2013
今井孝成, 杉崎千鶴子, 海老澤元宏.	アナフィラキシー症状におけるアドレナリン投与のタイミングに関する意識調査.	アレルギー	62(11)	1515-21	2013
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)	1-11	2013
松永佳世子, 矢上晶子, 中村政志, 佐野晶代, 小林東	(旧) 茶のしずくによる石鹼アレルギー	公衆衛生	77巻 10号	801-806	2013
矢上晶子, 松永佳世子.	加水分解コムギ含有石鹼によるコムギアレルギーの疫学と社会的意義	アレルギー・免疫	20(2)	224-232	2013
古田加奈子, 伊佐見真実子, 矢上晶子, 鶴田京子, 田中紅, 美浦麻衣子, 廣川景子, 亀山梨奈, 稲葉弥寿子, 鈴木加余子, 松永佳世子	化粧品パッチテスト2009年のまとめ	日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌	Vol. 7 No. 1	34-43	2013
西村 景子, 矢上 晶子, 佐野晶代, 古田 加奈子, 伊佐見真実子, 松永 佳世子.	化粧品パッチテスト2010年のまとめ	Journal of Environmental Dermatology and Cutaneous Allergology	7巻 2号	78-86	2013
Teshima R	Food Allergen in Cosmetics	Yakugaku Zasshi	134(1)	33-38	2014
Muraoka, J., Ozawa, T., Enomoto, Y., Kiyose, N. Imamura, A., Arima, K. Nakayama, H. and Ito, Y.	Selection and characterization of human serum albumin-specific porcine scFv antibodies using a phage display library	Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy	33	42-48	2014
Tokunaga, Y., Azetsu, Y., Fukunaga, Y., Hatanaka T., Ito, Y. and Taki, M.	Pharmacophore Generation from a Drug-like Core Molecule Surrounded by a Library Peptide via the 10BASEd-T on Bacteriophage T7	Molecules	19	2481-2496	2014
Numata S, Akamatsu H, Akaza N, Yagami A, Nakata S, Matsunaga K.	Analysis of Facial Skin-Resident Microbiota in Japanese Acne Patients.	Dermatology	228	86-92	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Yokoyama Y, Akita H, Hasegawa S, Negishi K, Akamatsu H, Matsunaga K.	Histologic Study of Collagen and Stem Cells After Radiofrequency Treatment for Aging Skin.	the American Society of Dermatologic Surgery		[Epub ahead of print]	2014
Sakai S, Nakamura R, Nakamura R, Adachi R, Teshima R.	Allergy of Hydrolyzed Wheat Protein via Cutaneous Sensitization.	Kagaku To Seibutsu	52	431-437	2014
Sakai S, Adachi R, Nakamura R, Kikuchi H, Watanabe T, Sasaki K, Nishijima K, Ataku H, Nishi-maki-Mogami T, Teshima R	Molecular Profile Analysis of Allergenic Hydrolyzed Wheat Protein.	Clinical Immunology & Allergology,	62	492-495	2014
Nakamura M., Yagami A., Hara K., Sano A., Koba-yashi T. Aihara M., Hide M., Chinuki Y., Morita E., Teshima R., Matsunaga K.	A new reliable method for detecting specific IgE antibodies in the patients with immediate type wheat allergy due to hydrolyzed wheat protein: Correlation of its titer and clinical severity.	Allergol. Int.	63	243-249	2014
手島玲子	環境物質と免疫毒性	国立医薬品食品衛生研究所報告	132	47-56	2014
手島玲子	経皮感作のメカニズムと食物惹起のクロストーク	日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌	8(4)	249-254	2014
Fukunaga, K., Hatanaka, T., Ito, Y., Minami, M., and Taki M.	Construction of a crown ether-like supramolecular library by conjugation of genetically-encoded peptide linkers displayed on bacteriophage T7	Chemical Communications	30	3887-4012	2014
Mizukami M., Tokunaga H., Onishi H., Ueno Y., Hanagata H., Miyazaki N., Kiyose N., Ito Y., Ishibashi M., Hagihara Y., Arakawa T., Miyau-chi A., Tokunaga M.	Highly efficient production of VHH antibody fragments in Brevibacillus choshinensis expression system	Protein Expression and Purification	105	23-32	2014
Minami T, Fukutomi Y, Saito A, Sekiya K, Tsuburai T, Taniguchi M, Akiyama K.	Frequent episodes of adult soybean allergy during and following the pollen season.	J Allergy Clin Immunol Pract		in press	2014
Fukutomi Y, Taniguchi M, Nakamura H, Aki-yama K.	Epidemiological link between wheat allergy and exposure to hydrolyzed wheat protein in facial soap	Allergy.	69(10)	1405-11	2014
福富友馬	成人の食物アレルギー.	日本医師会雑誌	143(3)	558-559	2014
福富友馬	II. 食物アレルギーの発症メカニズム 1. 経皮感作	アレルギー・免疫	21(6)	18-25	2014
福富友馬	加水分解コムギアレルギー:最新の知見	日本小児アレルギー学会雑誌	28巻(1)	18-24	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Takanori Imai, Noriyuki Yanagida, Mika Ogata, Takatsugu Komata, Morimitsu Tomikawa, Motohiro Ebisawa	The Skin Prick Test is Not Useful in the Diagnosis of the Immediate Type Food Allergy Tolerance Acquisition	Allergology International	63(2)	205-10	2014
Shimizu Y, Kishimura H, Kanno G, Nakamura A, Adachi R, Akiyama H, Watanabe K, Hara A, Ebisawa M, Saeki H.	Molecular and immunological characterization of $\beta'$ -component (Onc k 5), a major IgE-binding protein in chum salmon roe	Int Immunol	26(3)	139-47	2014
Ebisawa M, Movérare R, Sato S, Magnus P. Borres, Komei Ito	The predictive relationship of peanut- and Ara h 2-specific serum IgE concentrations to peanut allergy	JACI In Practice		in press	2014
Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Kiyotake Ogura, Tomoyuki Asaumi, Yu Okada, Yumi Koike, Katsuhito Iikura, Akinori Syukuya, Motohiro Ebisawa	Immunotherapy in food allergy: towards new strategies	Asian Pac J Allergy Immunol	32	195-202	2014
松永佳世子.	化粧品による皮膚障害	現代医学	62(1)	101-105	2014
Horita K, Tanoue C, Yasoshima M, Ohtani T, Matsunaga K	Study of the usefulness of patch testing and use test to predict the safety of commercial topical drugs	J Dermatol.	41(6)	505-13	2014
Yagami A, Suzuki K, Morita Y, Iwata Y, Sano A, Matsunaga K	Allergic contact dermatitis caused by 3-o-ethyl-L-ascorbic acid (vitamin C ethyl)	Contact Dermatitis.	70(6)	376-7	2014
矢上 晶子, 松永 佳世子	皮膚のアレルギーのトピックス	皮膚と美容	46(2)		2014

# Evaluation of Allergenicity of Acid-Hydrolyzed Wheat Protein Using an *in vitro* Elicitation Test

Rika Nakamura<sup>a</sup> Ryosuke Nakamura<sup>a</sup> Reiko Adachi<sup>a</sup> Yasuharu Itagaki<sup>b</sup>  
Yuma Fukutomi<sup>c,d</sup> Reiko Teshima<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Division of Novel Foods and Immunochemistry, National Institute of Health Sciences (NIHS), Tokyo, <sup>b</sup>Department of Health and Nutrition, Faculty of Human Sciences, Hokkaido Bunkyo University, Eniwa, <sup>c</sup>Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, Sagamihara National Hospital, Sagamihara, and <sup>d</sup>Department of Environmental and Preventive Medicine, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa, Japan

## Key Words

Food allergy · Wheat gluten · Acid hydrolysis · FcεRI · Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis · Mast cell · IgE

## Abstract

**Background:** We performed an *in vitro* elicitation test to determine the ability of different types of wheat-allergic patients' IgE to induce humanized mast cell activation after the addition of various time-treated acid-hydrolyzed wheat proteins (HWP). **Methods:** The reactivity of heat- and various time-treated acid-hydrolyzed gluteins (acid-HGs) and commercial acid-HWP (HWP1), using serum IgE from wheat allergy accompanied by skin and rhinoconjunctival sensitization to HWP1 in the facial soap, pediatric subjects with food allergy to native wheat, adult wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis subjects, and nonatopic healthy subjects, was elucidated by dot blot and a luciferase assay-based *in vitro* elicitation test (EXILE test). **Results:** Serum from subjects sensitized with HWP1 reacted only to acid-HGs (acid-HGs treated for 0.5–3 or 6 h), but not native gluten, in the results of the dot blot. In contrast, sera from pediatric subjects sensitized with native wheat reacted to native gluten

more strongly and showed only slight reactions to 0.5- to 1-hour-treated acid-HGs. The results of the *in vitro* elicitation test showed that acid hydrolyzation of the gluten attenuated antigen-induced luciferase expression in a time-dependent manner for sera from native-wheat-sensitized pediatric subjects. On the other hand, in the sera from HWP1-sensitized subjects, acid hydrolyzation of the gluten for 0.5 h dramatically increased luciferase expression. **Conclusions:** Even after prolonged hydrolyzation, acid-HGs still retained the ability to activate mast cells in the case of HWP1-sensitized subjects.

Copyright © 2012 S. Karger AG, Basel

## Introduction

An increasing number of studies have shown that hydrolyzed wheat protein (HWP) can induce immediate hypersensitivity through skin contact and/or food ingestion [1–8]. HWP is a common food and nonfood ingredient. For example, it can be used in cosmetics, shampoos, or hair conditioners. Lauriere et al. [1] showed that immediate contact urticaria can be triggered by HWP present in cosmetics. Moreover, some patients with such al-

## KARGER

Fax +41 61 306 12 34  
E-Mail karger@karger.ch  
www.karger.com

© 2012 S. Karger AG, Basel  
1018–2438/13/1603–0259\$38.00/0

Accessible online at:  
www.karger.com/iaa

Correspondence to: Dr. Reiko Teshima  
Division of Novel Foods and Immunochemistry  
National Institute of Health Sciences (NIHS)  
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 (Japan)  
Tel. +81 3 3700 1349, E-Mail rteshima@nihs.go.jp