

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「新たなバイオテクノロジーを用いて得られた食品の安全性確保と
リスクコミュニケーションのための研究」
分担研究報告書

高精度アレルギー性予測システムの構築に必要な情報の収集

研究分担者 為広 紀正（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨：

本研究では、バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理に関する研究の一環として、アレルギー性予測解析法の1つとして運用・公開しているアレルギーデータベース(ADFS; Allergen Database for Food Safety)に、過去一年間で新たに報告されたアレルギー及びエピトープ情報を追加し、データベースの更新作業を行った。その結果、アレルギー及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報40、及び、7種のアレルゲンについて総数21のエピトープ情報が追加された。本年度の更新作業により、アレルギー及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は2325となり、エピトープ既知のアレルゲン数は242であった。また、アレルギー予測評価システムにAIを搭載し予測精度を向上させることを目的として、使用する学習情報の追加収集、及び整理を行った。一方、ADFSサーバーのクロスサイトスクリプティング脆弱性について、昨年度に改善しきれなかった部分を改修するため、プログラミング言語をJavaからphpに変更し、システムの全面的な再構築を行った。

研究協力者 安達 玲子（国立医薬品食品衛生研究所）

A. 研究目的

現在、様々な遺伝子組換え食品が、生産性の向上や栄養付加を目的として開発されている。組換え食品の分野では、植物だけでなく、動物を宿主とした開発も進んでおり、また最近では、遺伝子組換え植物同士を交配して、付与された機能をスタックすることにより得られるスタック品種も開発されている。しかし、これらのようにバイオテクノロジーを利用して得られた品種について、どのような意図しない形質変化が出現するかを研究している例は少ない。したがって、新たに得られる遺伝子組換え生物について、非意図的な影響等を考慮し、安全性評価の方法等を検討する必要がある。

バイオテクノロジー技術を用いて開発された遺伝子組換え食品のリスクの1つの可能性として、アレルギー性増大が考えられる。本研究では、アレルギー性解析法の1つとして国立医薬品食品衛生研究所で管理・公開している、アレルギー性予測機能を装備したアレルギー・エピトープ情報データベース(ADFS; Allergen Database for Food Safety)に関して、その情報内容を更新し、

充実させることにより、遺伝子組換え食品のリスク管理の上で必須であるアレルギー性評価系に関する研究を行う。また、アレルギー予測システムにAIを搭載する事で、予測精度の飛躍的向上を試みる。

B. 研究方法

登録アレルギー（アミノ酸配列情報）のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルギーデータベース(AllergenOnline)における登録アレルギーのアップデート内容を、ADFSに反映させた。

エピトープ情報の追加

2018年6月から2019年5月までの1年間にNCBI PubMedに掲載された論文から、キーワード検索により、エピトープ配列決定に関するものを抽出した。キーワードとしては、IgE、epitope、linear、conformational、sequence、recognition等々のワードを使用し、これらを複数組み合わせで6通りの検索式を作成して検索を行った。この

検索により抽出されてきた論文についてピアレビューを行った。その結果エピトープ情報を報告していると判断された論文について、そのエピトープ情報を整理し、アレルゲンデータベース (ADFS) のデータに追加した。

C. 研究結果

登録アレルゲン (アミノ酸配列情報) のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルゲンデータベースである AllergenOnline は、登録アレルゲンの全てが国際的なアレルギーの専門家チームによるピアレビューを経ており、登録タンパク質がアレルゲンであるというエビデンスの信頼性が非常に高いデータベースである (但しエピトープ情報は含まない)。ADFS における登録アレルゲンは平成 20 年度に AllergenOnline の登録アレルゲンと統合し、その後も AllergenOnline のアップデートに伴って ADFS 登録アレルゲンのアップデートを行っている。令和元度においても引き続きこのアップデート作業を実施した。

エピトープ情報の追加

エピトープ配列に関しては、キーワード検索により抽出された論文は 20 報であった。要旨を確認し、その中からアレルゲン・エピトープ情報が記載されていると思われる 10 報を選択し、ピアレビューを行った。その結果、7 報の論文 (表 1) から 7 種のアレルゲンについて、総数 22 のエピトープ情報を新たに追加した (表 2)。

上記のアレルゲン及びエピトープ情報更新作業により、ADFS のアレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は 2325、エピトープ既知のアレルゲン数は 242、構造既知のアレルゲン数は 163、糖鎖付加アレルゲン数は 131 となった。

AI 学習用データセットの準備

昨年度に、米国環境保健科学研究所が組織する HESI が公開している包括的な既知あるいは推定アレルゲン蛋白質配列のレポジトリ “COMprehensive Protein Allergen REsource (COMPARE)” から、アレルゲンタンパク情報 (2038 種) を入手し、わが国で加工食品へのアレルギー表示が義務付けされている特定原材料 7 品目 (卵、

乳、落花生、そば、小麦、えび、かに) 並びに推奨されている原材料のうち 4 品目 (いくら、さけ、キウイフルーツ、大豆) の非アレルゲンタンパク配列情報について UniProt から 10577 種を入手した。これらのアレルゲン・非アレルゲンデータを学習させる際、より効率的な各パターンマイニングを実行するため、生物種によって分類できるよう目情報を追加し、情報を整理した。また、非アレルゲン学習データの種類を増やして解析ができるように、アレルゲンとして登録された全ての種について情報を取得し解析できるよう調整した。

ADFS 脆弱性の対応

ADFS は、「OpenBugBounty」のウェブサイト上において、不正なスクリプトを挿入することが出来る環境にあり、エンドユーザーは不正スクリプトを利用してサイバー攻撃 (クロスサイトスクリプティング) を受ける可能性があることが昨年公表された。そこで、当初より予定していた Java ソースのリコンパイルと Java フレームワークの改良、そして Mysql 等のミドルウェアのバージョンアップに加え、apache や tomcat に対して SSL 設定を実施し、インターネット上でデータ通信を暗号化し、クロスサイトスクリプティングに対応したウェブアプリケーションにすべく緊急対応したが、脆弱性を根本的に解決するにはプログラミングの再構築が必要である事が明らかとなった。そこで本年度は、ADFS のプログラミングを java から php に変更し、OS は最新の RedHat8 にバージョンアップした。また相同検索ツールのプログラム (Blast、FASTA、PfTools) も全て最新のバージョンに更新した。加えて、HTML5 準拠に変更し、来年度以降に行うデザインの改修 (図 1) についても対応できるよう準備した。

D. 考察

令和元年度においては、アレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報を 40 種追加、また、7 種のアレルゲンについて総数 22 個のエピトープ情報を ADFS に追加した。本研究により、遺伝子組換え食品のアレルゲン性に関する評価・予測系を充実させることができ、現在までに既に開発されている遺伝子組み換え食品、及び多様化するバイオテクノロジー技術により今後作製される新規遺伝子組換え食品のアレルゲン性を、より高

い精度で評価・予測することが可能となっている。また、本年度の改修により昨年末から危惧されていた脆弱性については対策を整え、ユーザーの ADFS 利用に際してのセキュリティを向上させることができた。

E. 業績

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

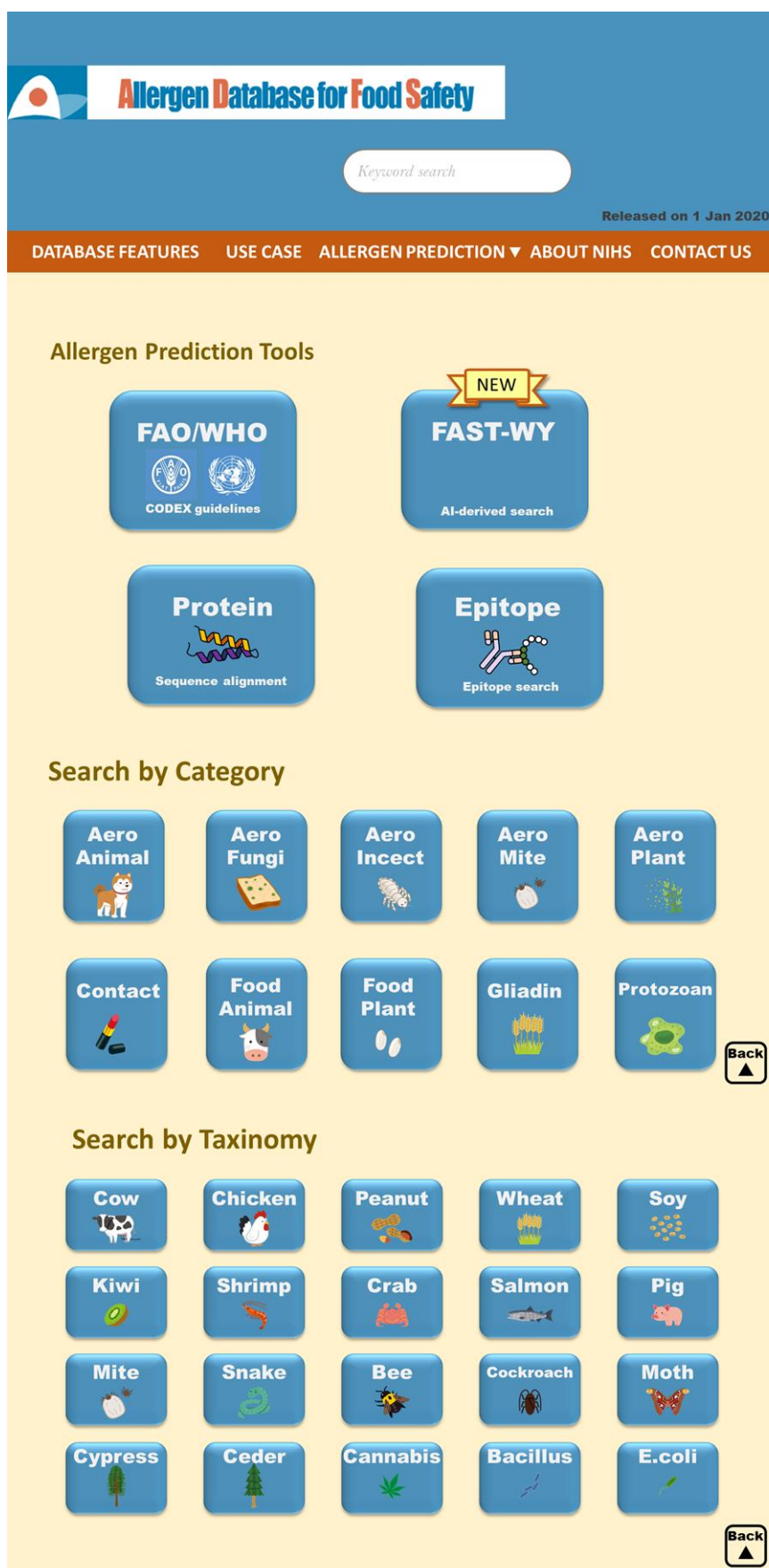
表 1 令和元年度ピアレビューによりエピソード情報を収集した論文

1.	Liu GY, Mei XJ, Hu MJ, Yang Y, Liu M, Li MS, Zhang ML, Cao MJ, Liu GM. Analysis of the Allergenic Epitopes of Tropomyosin from Mud Crab Using Phage Display and Site-Directed Mutagenesis. <i>J Agric Food Chem.</i> 2018 Aug 29;66(34):9127-9137. PMID:30107732
2.	He S, Zhao J, Elfalleh W, Jemaà M, Sun H, Sun X, Tang M, He Q, Wu Z, Lang F. In Silico Identification and in Vitro Analysis of B and T-Cell Epitopes of the Black Turtle Bean (<i>Phaseolus Vulgaris L.</i>) Lectin. <i>Cell Physiol Biochem.</i> 2018;49(4):1600-1614. PMID:30223257
3.	Kern K, Havenith H, Delaroque N, Rautenberger P, Lehmann J, Fischer M, Spiegel H, Schillberg S, Ehrentreich-Foerster E, Aurich S, Treudler R, Szardenings M. The immunome of soy bean allergy: Comprehensive identification and characterization of epitopes. <i>Clin Exp Allergy.</i> 2019 Feb;49(2):239-251. PMID:30267550
4.	Lahiani S, Dumez ME, Bouaziz A, Djenouhat K, Khemili S, Bitam I, Gilis D, Galleni M. Immunodominant IgE Epitopes of Der p 5 Allergen. <i>Protein Pept Lett.</i> 2018;25(11):1024-1034. PMID:30430936
5.	Cai ZL, Chen JJ, Zhang Z, Hou YB, He YS, Sun JL, Ji K . Identification of immunodominant IgE binding epitopes of Der p 24, a major allergen of <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> . <i>Clin Transl Allergy.</i> 2019 May 23;9:28. PMID:31139345
6.	Yamamoto K, Ishibashi O, Sugiura K, Ubatani M, Sakaguchi M, Nakatsuji M, Shimamoto S, Noda M, Uchiyama S, Fukutomi Y, Nishimura S, Inui T. Crystal structure of the dog allergen Can f 6 and structure-based implications of its cross-reactivity with the cat allergen Fel d 4. <i>Sci Rep.</i> 2019 Feb 6;9(1):1503. PMID:30728436
7.	Fang L, Li G, Zhang J, Gu R, Cai M, Lu J . Identification and mutational analysis of continuous, immunodominant epitopes of the major oyster allergen Crag 1. <i>Clin Immunol.</i> 2019 Apr;201:20-29 PMID: 29319884

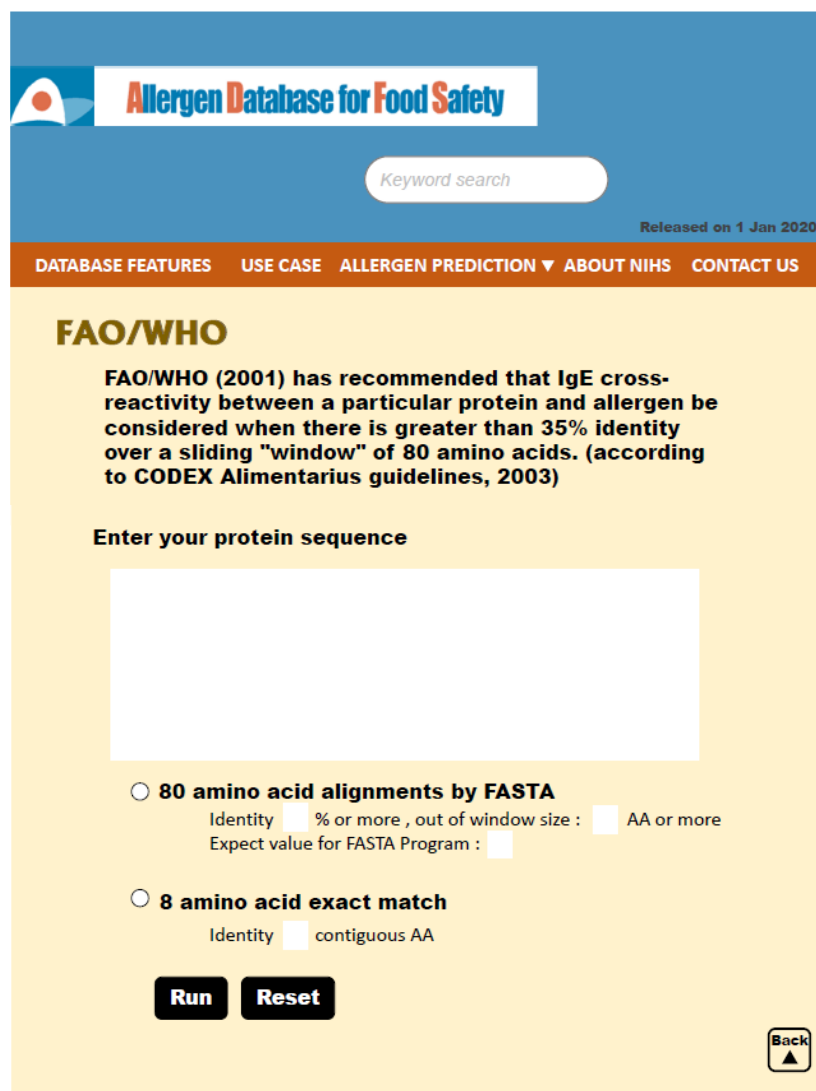
表 2 令和元年度新たに ADFS に追加したエピトープ情報

	Name	start	end	Sequence	Method	CTYPE	Reference	UniProt acc.No
001	Scy s 1	44	55	ATQKKMQQVEN	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1	105	112	RLNTATTK	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1	133	140	RSLSDEER	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1	143	152	ALENQLKEAR	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1	199	206	VVGNNLKS	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1	253	264	VDRLEDELVNEK	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	L	PMID 30107732	A7L5V2
	Scy s 1			R90 ,E164, Y267	Phage display/ Dot blotting/ ELISA	G	PMID 30107732	A7L5V2
002	Pha v ?	55	66	NVNDNGEPTLSS	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
	Pha v ?	116	125	VGSEPKDKGG	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
	Pha v ?	133	141	NNYKYDSNAHT	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
	Pha v ?	149	160	LYNVHWDPKPRH	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
	Pha v ?	95	103	FNIDVPNNS	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
	Pha v ?	39	47	LQRDATVSS	ELISA/ lymphocyte proliferation/ cytokine profile analyses	L	PMID 30223257	V5QN77
003	Gly m 2	21	27	QVVVQTE	Peptide phage display/peptide microarray	L	PMID 30267550	Q07502
004	Der p 5	90	108	DRLMQRKDLDFEQYNLEM	peptide microarray/ alanine scanning mutagenesis	L	PMID 30430936	P14004
005	Der p 24	1	32	MVHLTKTLRFINNPGRKFYYGLQGYNKYGLY	peptide microarray	L	PMID 31139345	A0A0K2GUJ4
006	Can f 6	28	59	DISKISGDWYSILLASDIK EKIEENGSMRVFV	ELISA/ alanine scanning mutagenesis	L	PMID 30728436	H2B3G5
007	Cra g 1	44	49	TSLQKK	ELISA/ amino acid substitution	L	PMID 30807831	B7XC66
	Cra g 1	69	85	TKLEEAETASEAEQEI	ELISA/ amino acid substitution	L	PMID 30807831	B7XC66
	Cra g 1	99	108	MERSEERLQT	ELISA/ amino acid substitution	L	PMID 30807831	B7XC66
	Cra g 1	134	144	NNASEERTDVL	ELISA/ amino acid substitution	L	PMID 30807831	B7XC66
	Cra g 1	209	224	VQNDQASQREDSYEET	ELISA/ amino acid substitution	L	PMID 30807831	B7XC66

図 1. ADFS サイトデザイン案



(続) 図1. ADFS サイトデザイン案



(続) 図1. ADFS サイトデザイン案



(続) 図1. ADFS サイトデザイン案



Allergen Database for Food Safety

Released on 1 Jan 2020

DATABASE FEATURES
USE CASE
ALLERGEN PREDICTION ▼
ABOUT NIHS
CONTACT US

Search by Country

USA



News




FDA takes major step toward approving first peanut allergy treatment
© Sep 14, 2019

The US Food and Drug Administration's Allergenic Products Advisory Committee on Friday voted in favor of approving a treatment for peanut allergies in children. The drug Palforza is designed to minimize the incidence and severity of allergic reactions in people from ages 4 to 17 with moderate to severe peanut allergies.



Teenager died after eating burger despite telling staff about his allergy, coroner rules
© Sep 14, 2019


A teenager who died after eating a birthday meal at British burger chain Byron had told staff about his allergy to dairy, but was misled into thinking his order was safe to eat, a coroner has found. Owen Colby, who was celebrating his 16th birthday at the restaurant in 2017, had allergies that caused the allergic reaction, coroner's a 17-year-old boy, coroner's report.



Illinois just became the first state to require insurance companies to cover EpiPen injectors for kids
© Aug 14, 2019

Illinois Gov. JB Pritzker has signed a law that would require insurance companies to cover costs for kids needing EpiPen injectors for cases of severe allergic reactions. House Bill 3422 will take effect January 1, and will require companies offering health insurance.

Back ▲



Allergen Database for Food Safety

Released on 1 Jan 2020

DATABASE FEATURES
USE CASE
ALLERGEN PREDICTION ▼
ABOUT NIHS
CONTACT US

Search by Taxinomy : Wheat

Name	UniProt Acc	Taxonomic Name	Common Name	Category	Epitope	Structure	Sugar	Description
Bel.a.1	P16159	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	
Der.m.1	P16115	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	Glutenin, low molecular weight subunit PTDUCD1 (Flags: Precursor)
Der.g.1	P08563	Triticum aestivum	Wheat		L	-	-	Gamma-gliadin (Flags: Precursor)
Der.g.2	P81496	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	Allergen C-C (Flags: Fragment)
Phi.a.1	Q41531	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	Alpha-gliadin
Tri.a.12.0101	P49397	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	Profilin-1
Tri.a.12.0102	P49333	Triticum aestivum	Wheat		-	-	-	Profilin-2