

## 米アレルゲンの抗原分析とその低アレルゲン化

池澤義郎、宮川淳子、菅 千束、杉山朝美、  
小松 平、中嶋 弘

要約：米アレルギーが関与した難治性のアトピー性皮膚炎（AD）の治療には、米から主な抗原分子の除去が重要と考え、米の抗原解析から主要な抗原分画と推定されるグロブリン分画を蛋白分解酵素処理により除いた低アレルゲン化米を作成した。その臨床応用として、米除去試験と米負荷試験の成績から米アレルギーが確認された21例のAD患者にこの低アレルゲン化米の負荷試験を実施したところ、19例は再燃増悪を示さなかったため、除かれた蛋白質が主要な抗原分子であることが示唆された。

見出し語：アトピー性皮膚炎、重症化（難治化）因子、米アレルギー、米アレルゲンの抗原解析、低アレルゲン化米、低アレルゲン化食品の開発。

〈研究目的〉昨年度のアトピー性皮膚炎（AD）における重症度、血清IgE値、RAST陽性アレルゲン等の統計学的検討より、ADの重症化にはダニ等の環境物アレルゲンに対するアレルギーに加えて、食物のなかでも特に毎日食べる米や小麦等の穀物アレルゲンに対するアレルギー関与が示唆された<sup>1)</sup>。さらにその後実施した米除去の小麦食療法が臨床症状と米・小麦RAST値に及ぼす効果より、事実ADの重症化に米アレルギーの関与があると思われる症例が明らかに存在することが示された<sup>2)</sup>。食物アレルギーにおける食事療法の最大の問題点は、今日豊かな食糧事情にも関わらず、毎日食べる食物や食品が素材の面で牛乳・卵・大豆・

小麦・米等に限られているため、その実施が難しいことである。特に、米や小麦等の穀物が主な原因アレルゲンの場合、安心して食べられる代替食がないため、長期にわたりこれを除去し続けることは患者のみならず、その家庭に大変な困難を強いることになる。そのため、実際には多くの患者で対症療法だけしかできず、何等原因対策が取れないことも、これらの患者に重症例が多い原因の一つになっているかも知れない。そこで、本年度はまず米アレルゲンの抗原分析を行い、その主要な抗原決定基を含む抗原分画を除いた低アレルゲン化米を開発し、その臨床効果を検討したので、その結果を報告する。

横浜市立大学医学部皮膚科

(Department of Dermatology, Yokohama City University School of Medicine)

〈結果と考察〉まず第一に、米蛋白質の抗原分析のために脱脂した米粉末を水・1 M NaCl・70%アルコール・2%酢酸に対する溶解性に基づいて5つに分画し、これをペーパーディスクに結合させ10例の米RAST陽性血清を用いて検討すると、RAST値の平均値とその陽性率は、塩溶性のグロブリン分画が1.2(90%)と最も高く、次いで水溶性分画、塩不溶性の酢酸可溶性分画とアルコール可溶性分画、水溶性分画が、それぞれ0.8(60%)、0.7(60%)、0.5(40%)、0.4(30%)の順であった<sup>3) 4)</sup>。

第2に、この比較的抗原性が高いと思われる塩溶性分画から主な抗原分子を除去ないし削減するために用いる蛋白分解酵素を決定するためその水解度を検討した。その結果、アクチナーゼが94%と最も高く、パパイン86%、 $\alpha$ -キモトリプシン72%、トリプシン70%、ペプシン59%、パンクレアチン54%の順であったため、上位2つの酵素で米粒、米粉末、米塩溶性分画を処理したところ、アクチナーゼ処理による低アレルギー効果はパパイン処理の場合に比し非常に強く、RASTは陰性化ないし著しく低下した<sup>3) 4)</sup>。

第3に、そのため、5kg原料米をまず粉末にしてこれまでの水解条件と同様にアクチナーゼ処理し、遠沈後水で充分透析してから凍結乾燥末とすることにより低アレルギー化米を作製して、その臨床効果を検討した。除去効果と負荷試験から米アレルギーが明らかなAD患者4例にこれを団子やお好み焼等にして連続経口負荷試験を実施したところ、いずれに症例においてもADの明らかな再燃増悪は見られなかった<sup>3) 4)</sup>。

第4に、以上の成績に自信を得て、米粒のまま

アクチナーゼ処理することによる低アレルギー化米の作製に取り組んだ。これまでの処理条件では、RASTで見る限り通常その抗原性が著明に低下するものの陰性化できず、また最終製品の米粒は砕け易く、その炊飯物は臭いが残ると言う問題があった。これらの対策として、原料米に水分含量の多い新米(コシヒカリ)を用い、酵素処理前に塩酸処理や界面活性剤処理また脱気等を加え、充分水切りした後でパーボイルド加工した。その結果、この米粒を再度粉末にして抽出した蛋白質を結合させたディスクと米RAST陽性血清を用いたRASTでは、図1に見られるように、8検体中6検体で陰性となった。また砕け易いと言う問題も解消し、消費者パネル24名による食味試験では通常米に比較して有意差は見いだされなかった<sup>4)</sup>。

図1 原料に用いた新米と低アレルギー米(Hyporice)のRAST値

No. of serum from AD patients	IgE-RAST(PRU/ml)	
	Original rice	Hyporice
1	5.1	<0.34
2	7.1	<0.34
3	3.1	<0.34
4	1.0	<0.34
5	0.7	<0.34
6	0.4	<0.34
7	0.4	0.5
8	6.2	9.9

(Watanabe, M. et al, 1989)<sup>4)</sup>

第5に、こうして製造された低アレルギー化米の臨床応用の手始めとして、米RAST陽性、米を含む除去食療法の臨床改善効果、米負荷試験場性等から、米アレルギーが確認された21例のAD

患者に、このお米を用いて連続経口負荷試験を実施したところ2例を除く19例ではADの明らかな再燃増悪は認められなかった<sup>5)</sup>。

第6に、さらなる臨床応用として、米RAST陽性と臨床症状等から米アレルギーの関与が疑われる13例の重症AD患者に、通常の米と小麦の除去を条件にこの低アレルギー化米による食事療法を約1か月以上実施し、その臨床効果をADASI (AD Area and Severity Index) にて評価した。その結果は、図2に見られるように、その経過中に感冒や不用意な食物摂取による一過性の再燃増悪が見られた症例もあるが、全例で改善効果が見られた。但し改善効果の程度は症例により著効から軽度までかなりの違いが見られた。

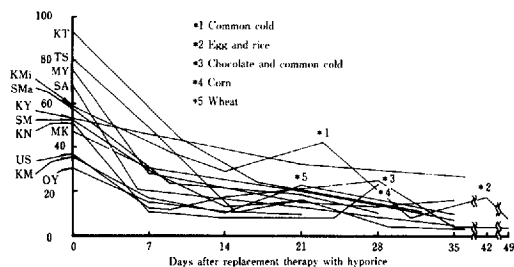


図2 低アレルギー化米を用いた食事療法による経時的な臨床改善度

第7に、米蛋白質のSDS-PAGE (ポリアクリルアミドゲル電気泳動) 並びにAD患者血清を用いたIgG-イムノブロットにより、元の原料米と比較してこの低アレルギー化米を抗原分析すると、16、25、36、40、50、60、80KDの抗原バンドはほとんど消失していた。このうち16KDと25KDはその消失がSDS-PAGEだけでも容易に確認できた。多数の患者血清を用いた検討によりて陽性抗原バンドの出現率を見ると、16KDと

50KDが比較的高い値を示した。この低アレルギー化米は、既に述べたように、米アレルギーがある多くの患者に有効であることから、これらの抗原分子は米アレルギーのmajor determinantsではないかと思われる<sup>5)</sup>。

第8に、低アレルギー化米の摂取により明らかに再燃増悪した2例の患者血清を用いて第7と同じ様な検討したところ、健常人血清とも反応する14、22、33KDのほかに、この2例の血清と強く反応する約52KDの抗原蛋白質が低アレルギー化米に残存していることが明らかにされた。従って、この約52KDの抗原分子、まだ例数が少ないが、ADの再燃・増悪を誘導できる可能性が高いため、おそらく米アレルギーのminor determinantの1つではないかと推察している<sup>5)</sup>。

以上今回私達が開発したこの低アレルギー化米は、米アレルギーに悩む患者の食事療法を助けると共に、その基礎研究の発展を促進することが期待される。尚ここに紹介した低アレルギー化米は、当教室のADグループと東京大学農学部荒井綜一氏・渡辺道子氏との共同研究によるものである。  
〈文献〉

- 1) 宮川加奈太他：アレルギー、37：1101, 1988.
- 2) 小松 平他：アレルギー、39：402, 1990.
- 3) 宮川淳子：アレルギー、37：645, 1988.
- 4) Watanabe M et al: Food Sci, 55: 781, 1990.
- 5) Ikezawa Z et al: Invest Dermatol, 92: 449, 1989.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:米アレルギーが関与した難治性のアトピー性皮膚炎(AD)の治療には、米から主な抗原分子の除去が重要と考え、米の抗原解析から主要な抗原分画と推定されるグロブリン分画を蛋白分解酵素処理により除いた低アレルギー化米を作成した。その臨床応用として、米除去試験と米負荷試験の成績から米アレルギーが確認された21例のAD患者にこの低アレルギー化米の負荷試験を実施したところ、19例は再燃増悪を示さなかったため、除かれた蛋白質が主要な抗原分子であることが示唆された。