

魚卵アレルギー原因物質の免疫交差性

久保 友和 [北海道大学大学院水産科学研究科海洋生物資源化学実習工場/技術官]

背景・目的

我が国では食物アレルギー患者の増加が社会問題となっている。食物アレルギー対策検討委員会の平成9年度報告書では、北海道の重要な水産加工品であるイクラを原因とする食物アレルギー患者の存在が多数報告され、魚卵のアレルゲン性が認識されるようになった。さらにアレルギー物質を含む食品に関する表示が義務化され、イクラはアレルギー物質として表示推奨特定原材料に指定された。しかしながら、食物アレルギー患者の食事療法に必要な魚卵のアレルギー原因物質および免疫交差性に関する情報は非常に少ない。そこで本研究は、魚卵中に含まれる主要アレルゲンの特定と魚卵アレルゲンの魚種間での免疫交差性を検討した。

内容・方法

1. シロサケ卵に含まれる主要アレルゲンの特定

シロサケ卵に0.5 M NaCl-20 mM Tris-HCl緩衝液を加えて卵黄を抽出した。この抽出液から水沈殿法によって魚卵塩溶性画分と魚卵水溶性画分を調製した。また、卵黄を抽出する際の沈殿から魚卵不溶性画分を調製した。アレルゲンの検出は、魚卵アレルギー患者血清中のIgEを用いたウエスタンブロッティングおよび酵素標識抗体法(ELISA)によっておこなった。魚卵アレルギー患者血清として札幌市の渡辺一彦小児科医院から供与された3名(平均年齢3歳)の血清を用いた。

2. 魚卵アレルゲンの免疫交差性

魚卵はシロサケ、ニジマス、イトウ、スケトウダラ、アサバガレイ、ホッケ、ニシン、カラフトシシャモおよびトビウオの9種類を用いた。魚卵に0.5 M NaCl-20 mM Tris-HCl緩衝液を加えて魚卵抽出液をそれぞれ調製した。免疫交差性の確認は、阻害剤としてシロサケ卵の主要アレルゲンを用いた阻害ウエスタンブロッティングによっておこなった。

結果・成果

1. シロサケ卵に含まれる主要アレルゲンの特定

3名の魚卵アレルギー患者血清(P1,P2,P3)を用いたウエスタンブロッティングによってシロサケ卵の塩溶性画分、水溶性画分および不溶性画分に含まれるアレルゲンの検出をおこなった。3名すべての魚卵アレルギー患者血清は、魚類の主要卵黄タンパク質の一つであるである β' -コンポーネント(β')に強い反応が認められた。この反応は、魚

卵アレルギー患者血清とシロサケ β' をブレインキュベーションすることによって消失した。これらの結果は、3名すべての魚卵アレルギー患者血清中にシロサケ卵の β' と特異的に反応するIgEが存在していることを示唆している。さらにELISAでも、3名すべての魚卵アレルギー患者血清は β' に強い反応が認められた。以上の結果は、 β' がシロサケ卵に含まれる主要アレルゲンであることを示している。

2. シロサケ β' の免疫交差性

魚卵アレルギー患者血清を用いて9種類の魚卵抽出液に含まれるアレルゲン成分の検出をウエスタンブロッティングによっておこなった。血清P1とP2では、シロサケ、ニジマス、イトウ、スケトウダラ、カラフトシシャモおよびトビウオにそれぞれ反応が認められた。また血清P3では、シロサケ、ニジマスおよびイトウにそれぞれ反応が認められた。一方、魚卵アレルギー患者血清のCAP-RASTの結果は、血清P1とP2はイクラおよびタラコ陽性、血清P3はイクラ陽性、タラコ陰性であった。つまりCAP-RAST陽性の血清は、ウエスタンブロッティングでも反応が認められ、両者の結果は一致した。さらに魚卵アレルギー患者血清で認められたバンドは、抗シロサケ β' ウサギ血清を用いたウエスタンブロッティングでも反応が認められたことから β' であることが示唆された。さらに、これら魚卵アレルギー患者血清と反応の認められたバンドとシロサケ β' との交差反応を確認するために阻害ウエスタンブロッティングをおこなった。すべての魚卵アレルギー患者血清は阻害剤として用いたシロサケ β' とのブレインキュベーションによってシロサケ、ニジマスおよびイトウのバンドが消失した。しかしながら、血清P1およびP2はシロサケ β' とのブレインキュベーションによってスケトウダラ、カラフトシシャモおよびトビウオのバンドに変化が認められなかった。これらの結果はサケ科間の β' では交差反応が存在するが、サケ科の β' とサケ科以外の β' との間に交差反応が存在しないことを示唆している。

今後の展望

本研究によって硬骨魚類に特有の卵黄タンパク質である β' がシロサケ卵の主要アレルゲンであることが示された。さらに、シロサケ β' と同じサケ科のニジマスおよびイトウの β' との交差性が示唆された。今後、魚卵抽出液から β' を精製し、ELISAで交差性を検討する必要がある。また魚卵アレルギー患者の食事療法では、他の食品との交差性に関する情報が重要となる。そこで魚卵以外の食品、たとえば鶏卵などに含まれるアレルゲンとの交差性を調査する必要がある。