

水産無脊椎動物・トロボミオシン(TM)のアレルゲン性

中村 厚 [埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
病態生理部門 / 博士研究員]
(前 北海道大学大学院水産科学研究院 / 博士後期課程)

背景・目的

1996年度に厚生省(現厚労省)がおこなった食物アレルギーに関する全国調査において、これまでに食物アレルギーを起こしたことのある日本人成人の半数以上が魚介類をアレルギー原因物質(アレルゲン)に挙げた。近年の魚介類アレルギーに関する研究により、水産無脊椎動物の主要アレルゲンがトロボミオシン(TM)という筋肉タンパク質であることが明らかとなった。しかし、[1]アレルゲンの同定には生鮮食品が用いられており、加工食品を摂取する機会が多い現代の食生活を考えると加工食品のアレルゲン性に視点を置いた研究もおこなう必要がある。また、[2]抗原交差性に関する調査結果は、アレルギー患者に対する摂食指導をおこなう際に有益な知見となり得る。

内容・方法

本研究では、以下の2点の解明を試みた。すなわち、[1]市販のホタテガイおよびスレメイカ乾製品(干し貝柱と干しスレメイカ)のアレルゲン性を、生鮮品のそれと比較した。また、[2]無脊椎動物の主要アレルゲンであるトロボミオシン(TM)の抗原交差性を議論するため、生鮮ホタテガイまたはスレメイカから精製した TM の IgE 結合エピトープの同定をおこなった。

[1]市販乾製品からアレルゲンである TM を単離精製し、そのタンパク質性状(有効性リジン含量や二次構造等)とアレルゲン性を測定し、生鮮筋肉 TM のそれと比較した。

[2]ホタテガイまたはスレメイカ TM の酵素分解物を逆相 HPLC に供し、複数のフラクションを回収した。そして、IgE 結合能を有するペプチドを単離し、そのアミノ酸配列をプロテイン・シーケンサーを用いて同定した。

結果・成果

[1]本研究により、水産無脊椎動物を用いた加工食品のアレルゲン性を初めて明らかにした。干し貝柱や干しスレメイカの製造過程には、メイラード反応に代表されるさまざまな食品成分間反応が起きている。しかし、これらの水産加工食品のアレルゲン性は製造過程を経てもなお、高いアレルゲン性を有しており、生鮮ホタテガイおよびスレメイカ TM と大差なかった。しかしながら、ホタテガイ乾製品と生鮮品では TM の含有量に大きな差異が見られた。干し貝柱の製造過程では煮熟工程が 2~3 回あるが、恐らくその際にアレルゲンである TM が溶出しているものと推察された。一方、干しスレメイカの製造では、内臓を除去した後、直ちに乾燥過程に入るため、

TM の著しい流出は確認できなかった。

TM のタンパク質性状については、ホタテガイ・スレメイカいずれの TM においても、メイラード反応の進行に伴う有効性リジン含量の減少が観察されたが、二次構造に大きな変化は認められなかった。

[2]本研究では TM を酵素分解し、得られた酵素分解物を用いてエピトープ部位の同定をおこなった。酵素分解時に、いくつかのエピトープ部位が切断されている可能性は否めないが、ホタテガイおよびスレメイカ TM のエピトープ部位は、それぞれ少なくとも 2ヶ所存在することを明らかにした。

ホタテガイ(1)N末端側から数えて 77-105 残基目
(2)169-189 残基目
スレメイカ(1)同 77-112 残基目
(2)同 269-284 残基目(C 末端領域)

こうして得られた結果から TM の抗原交差性を議論するため、ホタテガイとスレメイカ TM のアミノ酸配列を、それ以外の無脊椎動物(カキ、タコ、サザエ、エビ、ダニ、ゴキブリ) TM のアミノ酸配列と比較した。その結果、77-105 残基および 269-284 残基の領域は、軟体動物(ホタテガイ、スレメイカ、カキ、タコ、サザエ)のみならず節足動物(エビ、ダニ、ゴキブリ) TM のアミノ酸配列とも高い相同性を示していた。このことから、この領域は無脊椎動物間で広い抗原交差性を示す領域であると考えられる。

一方、169-189 残基の領域は、軟体動物間でのみ高いアミノ酸相同性を示し、軟体動物において抗原交差性を示す可能性が高い。

今後の展望

[1]陸棲の生物や植物とは異なる、低アレルゲン化食品を開発するために遺伝子組換え技術を使うことが適当ではない水棲生物では、加工食品の製造過程においてアレルゲン性を低減化させる技術が低アレルゲン化食品の開発には必須であろう。これまでの研究により、スレメイカ TM をリボースとメイラード反応させるとアレルギー患者血清との反応性が著しく減少することを明らかにしており、干しスレメイカの製造過程中に還元糖と反応させることにより、低アレルゲン化スレメイカ開発の可能性が示唆された。

[2]今後は、抗原抗体反応が検出されたペプチドのアミノ酸配列を基に合成ペプチドを作製し、より詳細なエピトープ部位同定の検討が必要である。その結果を基に、抗原交差性に関する議論を深くおこなうことができる。