

そばの花・植物体に関する アレルギー反応について

「そば」アレルギーに関する調査・研究 I

近畿大学農学部
応用生命化学科准教授(農学博士)

森山 達哉

1 はじめに

そばは古くから日本の食文化に深く根ざした食品であり、その香りや喉ごしの良さなどから人気が高い麺類である。しかしながら、そばはアナフィラキシーショックなどの重篤なアレルギー反応を引き起こすアレルギー食品の一つである。厚生労働科学研究班による即時型食物アレルギー調査によると、原因食品の頻度としては第9位であるが、重篤な症例が多いことから、特定原材料表示の表示義務食品にも含まれている。そばのアレルゲンとしては主に2種類が主要アレルゲンとして知られており、24kDaのFag e 1と16kDaのFag e 2である¹⁾。

症状としては、他の一般的な食物アレルギーと概ね同様で、じん麻疹などの皮膚症状が多いが、重篤な呼吸器症状が多いことが特徴的である¹⁾。さらに、摂食後に運動を行うことによってアレルギーが発症するFDEIA（食物依存性運動誘発アナフィラキシー）の原因ともなる。そばによる食物アレルギーの特徴の一つは、通常の乳や卵などの小児に多い食物アレルギーの大部分は成長と共に寛解するのに対し、理由は不明であるがそばの場合は寛解がほとんど望めない。従って現状では、そばアレルギー患者は、そばの喫食やそば粉の吸引・接触などを避けることしか対処法がない¹⁾。しかし、植物体としてのそばの花や花粉、茎、葉などとの接触がそばアレルギーを惹起するかどうかという点は不明である。

また近年、花粉症に関連する食物アレルギーが知られるようになってきた²⁾。これは、花粉症になった患者が、ある種の植物性食品を摂取した際に発症する新しいタイプの食物アレルギーで、シラカバ・ハンノキ属花粉症とバラ科果実や豆類との関連が有名である。このアレルギーでは、花粉に含まれるアレルゲン（花粉アレルゲン）に対して産生されたIgE抗体が、植物性の食品に含まれ

る類似のアレルゲンタンパク質に対して反応して発症する。症状としては口腔内アレルギー症候群（OAS）が中心であるが、なかには顔面浮腫や気道狭窄などの重篤な例もある。このような新しい食物アレルギーのことを「クラス2食物アレルギー」と呼ぶこともある。このようなクラス2食物アレルギーがそばでも起こりうるかどうかという点は不明である。このように、花粉などに含まれる成分が食物アレルギーと関連する例があることから、花粉や花、葉、茎などの植物体におけるアレルゲン性を評価することは重要である。そこで本研究ではその予備的な検討のため、一般的なそばアレルギー患者血清を用いて、そばの花粉、花、葉、茎などにおけるIgE反応性を検討し、一般的なそばアレルギー患者が植物体としてのそばの花や花粉、茎、葉などとの接触や摂取によってアレルギーを惹起する可能性があるかどうか考察した。

2 実験方法

そばの植物体（花、花粉、葉、茎、若い実、完熟実）は全国麺類生活衛生同業組合連合会より分与頂いた（図1）。そばアレルギー患者血清は市販のもの2名分を用いた。そばの植物体サンプルは蒸留水を用いて破碎した（表1）。なお、サンプルの堅さや水分含量などがサンプル間で異なるため、破碎方法はそれぞれ適した方法を用いた。破碎後、

表1 サンプル調製法

1) 花・若い実：
サンプル：蒸留水＝1：4（v/v）の割合で乳鉢、乳棒を用いて抽出（若い実は殻ごと抽出）
2) 葉・茎：
サンプル：蒸留水＝1：2（v/v）の割合で、ミル（30sec）にかけて抽出
3) 花粉：
花粉を破碎し、タンパク質を抽出（細胞組織破碎レジソキッド（APRO社）使用）得られた抽出液（上清）を原液で流した。また、沈殿物（花粉残渣＋レジソ）も流した

SDS サンプルバッファーに懸濁し^{けんたく}100°Cで5分間加熱変性させ、SDS-PAGE電気泳動^{えいどう}に供した。200Vにて35分間泳動後、タンパク質の検出にはCBB（クーマシーブリリアントブルー）染色を、アレルゲンの検出には患者血清を用いたイムノブロットングを行った。この際、転写にはPVDF膜を用いたセミドライブロット法を用い、患者血清は20倍希釈、2次抗体としてはペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgE抗体を用いた。最終的な検出は化学発光試薬（ECL）を用い、X線フィルムに露光させることにより検出した³⁾。

IgE-ELISAに関しては、抽出したそば植物体サンプルをPBSにて希釈し、ELISAプレートに固相化した。その後、洗浄、ブロッキング、患者血清反応（50倍希釈）、洗浄、2次抗体反応（HRP標識抗ヒトIgE抗体）を行い、最終的にはTMB発色試薬を用いて発色させ、1Mリン酸にて反応を停止した。ELISAプレートはプレートリーダーを用いて490nmの吸光度を測定した。

図1 ソバ植物体の写真

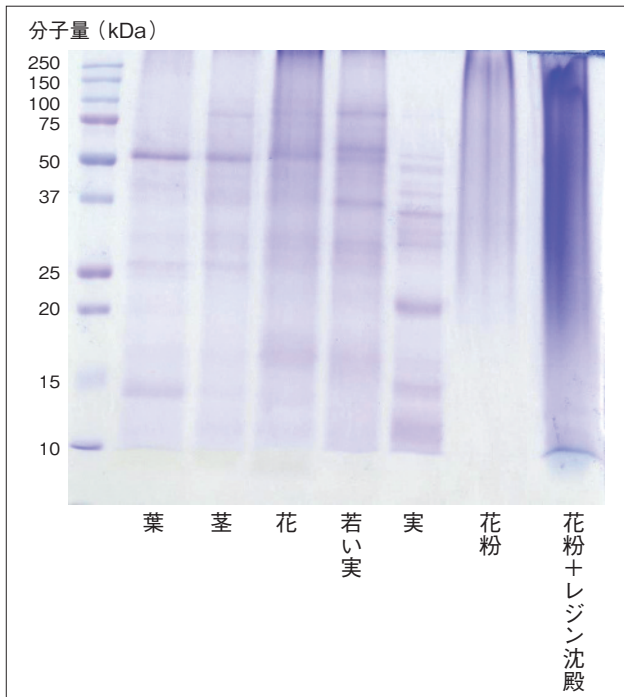


3 結果と考察

図2に示すように、タンパク質のパターンはそばの植物体の各部位によって異なる傾向を示した。特に完熟実に関しては他の部位と大きく異なり相対的に低分子のタンパク質が多いことが判明した。花粉に関しては抽出効率が悪いようで、明瞭なタンパク質バンドは検出されなかったが、タンパク質の泳動痕が見られることから、タンパク質の抽出自体は行われていると考えた。

次に、そばアレルギーの患者血清を用いたIgE結合タンパク質のパターンをイムノブロットングにて検出したところ、図3のような結果が得られた。両血清ともに、完熟実では主要アレルゲンであるFag e 1 (22–24kDa)、Fag e 2 (16kDa)が検出された。そのバンドと同じ位置に泳動されるIgE結合タンパク質は他の部位には検出されなかった。しかしながら、葉と茎において、37kDaや25kDaのIgE結合バンド（アレルゲン候補）が検出された。従って、そばアレルギー患者がそば

図2 抽出した各そば植物体のたんぱく質パターン



の葉や茎を摂取すると、これらのタンパク質がアレルギー症状を引き起こす可能性はあり得る。花粉に関しては、IgE結合タンパク質がまったく検出されなかったことから、一般的なそばアレルギー患者の場合はそば花粉と接触や吸引してもアレルギー反応が惹起される可能性は少ないと考えられた。

花や若い実に関しても、今回の実験結果では有意なIgE結合バンドは検出されず、それらとの接触や摂取によるアレルギーリスクは少ないと推測される。

ELISAの結果（図4）も同様に、花粉に対する反応は見られなかった。しかし、茎や葉に対するIgE結合性は有意に見られ、とくに患者1では実よりも茎に強い反応性が見られた。これは37kDaや25kDaの反応バンドが関与している可能性が高い。患者2では、完熟実が最も反応性が高かった。続いて若い実、花、葉、茎の順番であった。こ

図3 各そば植物体に対する患者IgE反応性

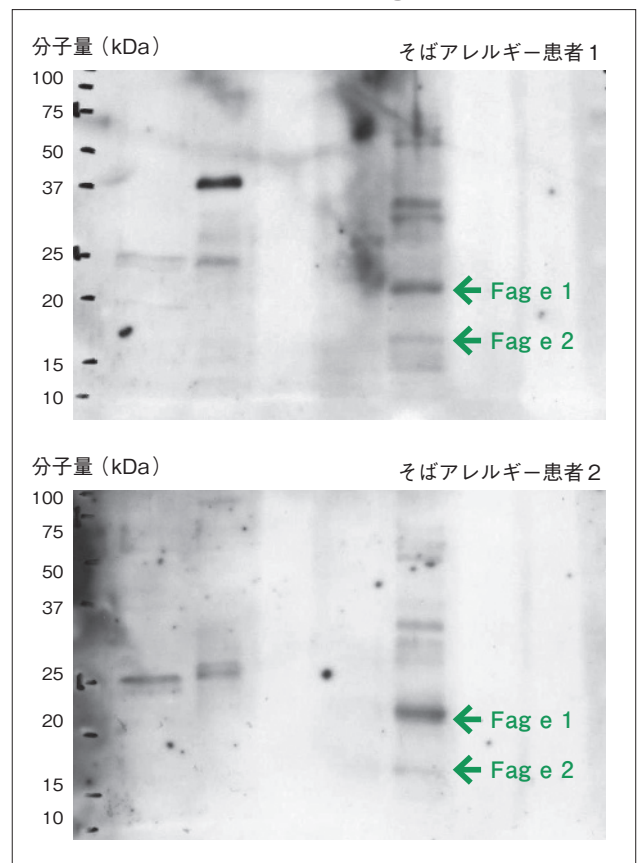
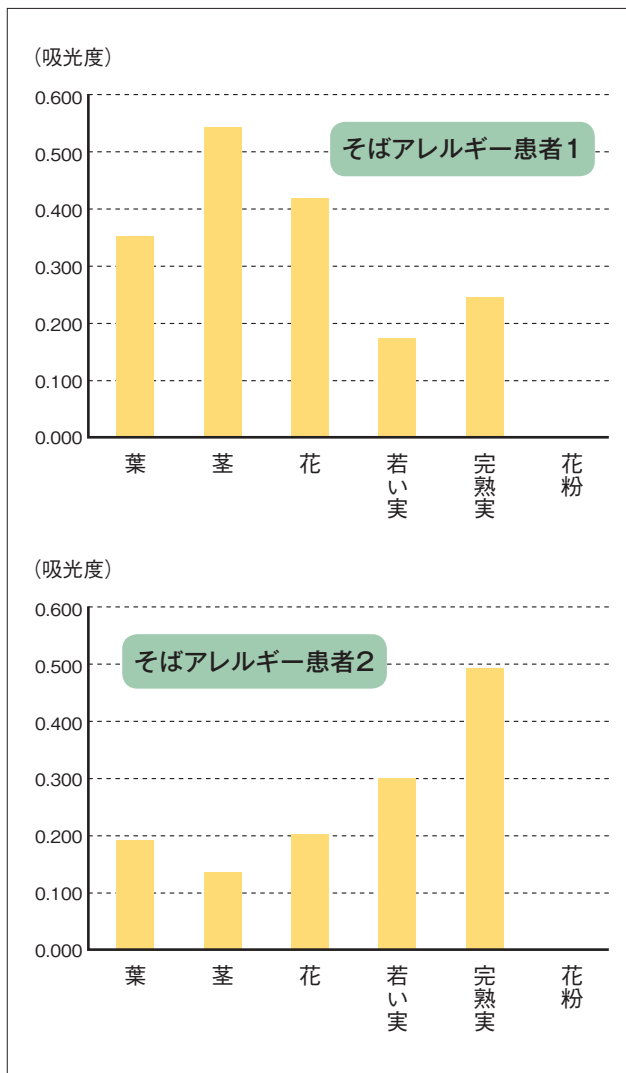


図4 各そば植物体部位に対するIgE-ELISA



のように患者によっても各部位に対する反応性が異なることが判明した。これらの結果から、葉や茎には、一部の患者において反応する可能性がある、実とは異なるアレルゲン候補分子が存在し、その摂取によりアレルギー症状が惹起される可能性は否定できないことが判明した。しかし、花粉ではそのようなリスクは少ないと考えられた。

今後は、これらの葉や茎に存在するアレルゲン候補分子の同定やリスク評価を行う必要がある。また今回、患者間での反応性の差異が確認されたことから、さらに多くの患者血清を用いた評価の必要もあるといえる。

参考文献

- 1) 小野厚・黒坂文武 (2013) 「ソバアレルギー」 (小林陽之助・金子一成監修『食物アレルギー 外来診療のポイント63』診断と治療社).
- 2) 近藤康人 (2005) 「食物アレルギーのメカニズムと食物アレルゲン」『臨床栄養』106(4), pp. 444-450.
- 3) 森山達哉 (2008) 「即時型アレルギーの抗原解析 (in vitro) -イムノブロットング法を中心に-」, *Visual Dermatology*, 7 (3), pp.320-327.