

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：34316

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12324

研究課題名(和文)食物アレルギー問題を救済する魔法はあるか？

研究課題名(英文)Is there a new methodology to solve the food allergy problem?

研究代表者

山崎 正幸 (Yamasaki, Masayuki)

龍谷大学・農学部・准教授

研究者番号：80397562

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、食物アレルギー問題に対する新たな方法論の提出を狙った。2.45GHz帯のマイクロ波照射、ファイナノバブル水への暴露は、卵白アレルギーの1つであるオボアルブミンのアレルギー性を最大で20%程度に低減した。またこれらの処理を落花生の種子について行くと、次世代の種子生産数に有意な差を観察した。またマイクロ波照射装置の改良を行い、今後は900MHz - 2.7GHzで広くその照射の効果が検討できる。一方で、ユズやグレープフルーツなどの食品香り成分は交感神経活動を亢進し、FNB水は副交感神経活動優位にした。これらは患者のアレルギー症状緩和へ向け利用する際の目安とできる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to submit a new methodology to the food allergy problem. Microwave irradiation in the 2.45 GHz band and exposure to fine-nano-bubble water reduced the allergenicity of ovalbumin, which is one of egg white allergens, to about 20% at maximum. When these treatments were carried out on peanuts seeds, significant differences in the number of seed production in the next generation were observed. We also improved microwave irradiation equipment, and from now on we can investigate the effect of irradiation widely at 900 MHz - 2.7 GHz. On the other hand, food aroma components from yuzu and grapefruit accelerated sympathetic nerve activity, and FNB water dominated parasympathetic nervous activity. These can be used as guidelines for use for alleviating allergic symptoms of patients.

研究分野：構造生物学

キーワード：食物アレルギー タンパク質構造 自律神経活動 マイクロ波照射 ファイナノバブル水

1. 研究開始当初の背景

「食」は、生命と健康を維持するためのエネルギーを我々にもたらすだけでなく、趣味嗜好などといった文化的な喜びを我々に与えてくれる。しかしながら食物アレルギーを持つ人にとって、アレルゲンの混入は明らかな恐怖である。しかもそのアレルゲンとして著名な卵、牛乳、小麦、ソバ、ピーナッツなどは、きわめて一般的な食品であり、世界中で人間の「食」と「生活」に深く根付いている。

食物アレルギー問題を解決するために用いられているアプローチとして、(a)アレルゲンフリー食品の利用(b)減感作療法などが挙げられる。(a)では小麦を除去したグルテンフリー食品が有名である。では、遺伝子操作を行わずに、食材からアレルギー性を低下させることは可能であろうか。(b)は患者に与えるアレルゲンを極めて低い量から徐々に増やすことで感受性の鈍化を狙う治療法である。では、患者の過敏な免疫反応を低減化する新たな方法論はないであろうか？

2. 研究の目的

本研究の目的は大きく分けて、(a)食材に含まれるアレルゲンの改質と(b)患者のアレルギー感受性低減の2つである。またそのアプローチは医学的なものというよりは、基礎学問的なものを目指している。そのために様々な専門性を持つ人員を配置した。

山崎正幸(代表)は、食物アレルギーの原因であるタンパク質構造に対し、分子・原子レベルでの視点を持つ。塩尻かおり(分担)は、植物の免疫反応や個体間コミュニケーションの専門家である。岡崎史子(協力)はアレルギー性評価に用いる抗体を安価に作製できる。山崎英恵(分担)は、アレルゲン改質食品をよりおいしく提供するための調理ができる。また自律神経活動の変動を指標とし、アロマセラピーによりアレルギー患者の感受性を低減する方法論を検討できる。三谷友彦(分担)は、食物のアレルギー性を低減

する可能性があるデバイスの一つであるマイクロ波照射、またはそのシステム構築に長けたエキスパートである。

3. 研究の方法

食物アレルギー問題の解決に向けて、各研究者が持つ専門性を生かした、以下に示す、様々な新しい研究手法の有用性を検討した。

アレルゲンをマイクロ波照射により改質する。マイクロ波照射による植物免疫を利用して次世代でアレルゲンタンパク質量の生産を改質する。そのためのデバイスとして、マイクロ照射システムをより利用しやすいものにする。ファインナノバブル水(FNB水)を利用して改質する。FNB水の状態変化を利用する。調理により改質する。食品のアレルギー性を評価するための系を構築する。患者の神経免疫を制御する為に、アロマセラピーと自律神経活動に関するデータを構築する。

4. 研究成果

(1) 山崎正幸(代表)は、オボムコイドとともに卵白アレルギーの主要因として知られるオボアルブミン溶液に、電子レンジで使用される2.4GHz帯のマイクロ波を1000分の1程度の強度で照射すると、タンパク質を変性するなどの無理な熱ストレスを与えることなく、そのアレルギー性を最大で40%程度まで低減できることを見出した(Fig.1)。

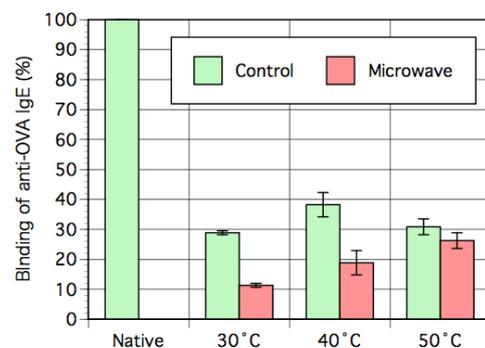


Fig. 1 マイクロ波照射によるOVAのアレルギー性変化：マイクロ波の照射は熱を誘導するため、それぞれ、ただの温水で処理したもの(Control)と比較すると、30°Cにおいて、その相対的なアレルギー性が40%程度に低減している。Nativeは何も処理をしないOVAである。

また、FNB を含ませた PBS 緩衝液 (FNB-PBS) でオボアルブミン溶液を調整すると、そのアレルギー性が低減するが、その効果は先に熱処理した FNB-PBS (hFNB-PBS) を用いると大きく増強された。その効果は、マイクロ波の照射以上に、大きいものであった (20%程度に低減) (Fig.2)。

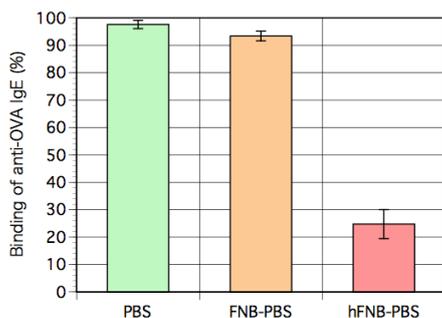


Fig. 2 FNB 水処理による OVA のアレルギー性変化: FNB を含む PBS (FNB-PBS) では PBS に比べて若干の低減効果が、加えて事前に熱処理を行った hFNB-PBS では大きな低減効果が見られた。

これらの現象について、オボアルブミンにどのような構造変化が起こったかを検討するため、各種酵素に対する感受性を調べたが、有意な差は観察されなかった。しかしながら、FNB 水で調製したオボアルブミンを結晶化すると、その成長度合いに若干の違いが見られた。これは同じく、FNB 水で調製したリゾチウムの結晶性が明らかに良くなったことと関連する。つまり、FNB 水への暴露が、タンパク質構造が本来持つ微細な構造の多様性を軽減し、アレルギー性の少ない、全体としてエネルギー的により安定で均一な構造に誘導する可能性を示唆すると考えている。その他、オボアルブミンを低温アルカリ処理する、熱凝集させることでも、そのアレルギー性の低減を観察した。これらの現象に影響を与えていると予想されるオボアルブミンの微細な構造変化を現在精査している。

(2) 卵と並んで著名な食物アレルギーであるソバについては、そのアレルゲンの量を同定する際に用いる抗体が単体では入手が難

しく、非常に高価なキットしか存在しない。そこで山崎正幸 (代表) は、ソバ種子から主要タンパク質の粗精製を行い、岡崎史子 (研究協力) と共に、そのポリクローナル抗体を作成した。また Western Blotting 解析によりそれが有用であることを確認した。

(3) 塩尻かおり (分担) は、ソバと落花生の種子へマイクロ波照射をする、または FNB 水で処理をすることにより、(a) その後の植物の生育への影響と (b) 次世代 (つまり収穫産物) への影響について検討した。

ソバ (キタワセ、とよむすめ) と落花生 (千葉半立ち) それぞれの種に、2.45 GHz のマイクロ波を 5 分間照射し、その後の生育を調べた。比較対象として、マイクロ波を照射の際に 40 度の湯に 5 分間照射していることから、40 度の湯に 5 分間浸水させたもの、ファインナノバブル水に 5 分間浸水させたもの、無処理の計 4 つの処理を行った。落花生の野外定植試験においては、2015 年にマイクロ波照射株において生育が著しく悪い傾向が見られたが、2016 年では処理における生育の違いはみられなかった。また、ソバにおいても生育に関しては、違いは見られなかった。

種子生産量 (次世代) においては、落花生で、マイクロ波照射種子株がもっとも種子生産量が多かったのに対し、ファインナノバブル水処理では少なかった (Fig. 3)。ソバにおいては違いがみられなかった。

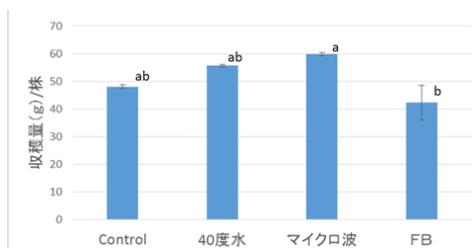


Fig. 3 落花生における次世代生産量の変化: アルファベットの異なる文字は $p < 0.05$ の有意差を示す (Tukey-Kramer の HSD 検定)

落花生の結果から、種子への処理が次世代生産に影響を与えていることが明らかにな

った。次世代種子生産に影響があるという観点から、次世代種子内の成分の変化、アレルゲン蛋白量の変化の可能性も考えられる。落花生だけでなくソバにおいても、次世代種子を得ているので、今後、分析し検討する。

(4) 山崎英恵 (分担) は、食品香気成分として、サンショウ、ユズ、グレープフルーツなどに着目し、気分シートによる主観的な気分状態評価と、心拍パワースペクトル解析による客観的な自律神経活動測定を組み合わせた評価を行った。その結果、ユズやグレープフルーツは交感神経活動を亢進させること (Fig. 4)、サンショウ香気は副交感神経活動優位に導くことが明らかとなった。

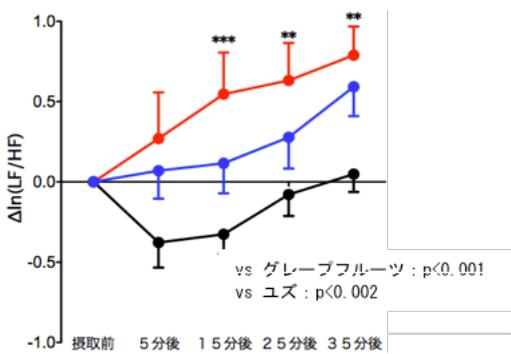


Fig. 4 香気成分の摂取による自律神経活動の変化

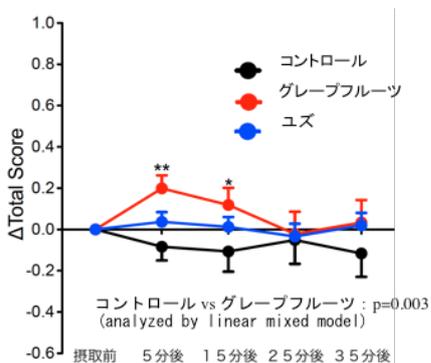


Fig. 5 香気成分の摂取による気分状態の変化

このことより、食品の香気成分だけでもアロマセラピーのような生理的リラックス効果としてアレルギー症状緩和に利用できる可能性が示されたと考える。ただし、いずれの香気も人の主観的な気分状態をポジティブな方向に誘導する (Fig. 5) が、自律神経活

動に対する効果は異なり、主観的な嗜好や気分状態と自律神経活動の相関性については、今後更なる検討を要すると思われる。アレルギー緩和効果を狙った利用を考える際には、自律神経活動バランスを交感神経・副交感神経のどちらの方向へ誘導するかといったデータ収集を慎重に重ねていく必要があると思われる。

(5) また山崎英恵 (分担) は、山崎正幸 (代表) らが行なった実験に関連して、FNB 水摂取による気分状態と自律神経活動への効果を (1) と同様の方法で測定した。実験の結果、FNB 水は主観的な気分状態には影響を及ぼさなかった (Fig. 6)、交感神経活動が有意に抑制されること、またその結果として自律神経バランスは副交感神経活動優位になることが確認された (Fig. 7)。

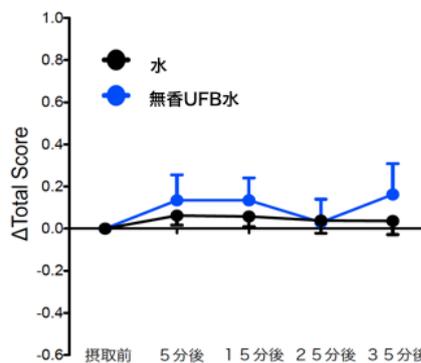


Fig. 6 FNB 水の摂取による気分状態の変化

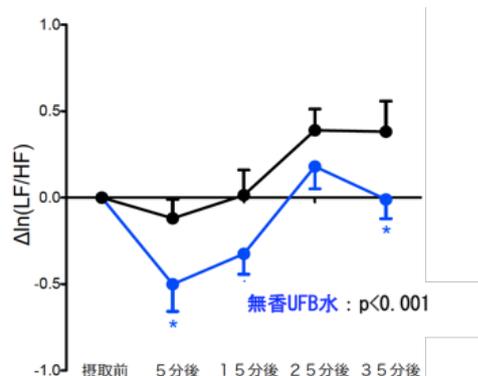


Fig. 7 FNB 水の摂取による自律神経活動の変化

FNB 水そのものが自律神経活動に影響を及ぼす可能性が示されたことは興味深い。また、食品香気成分は疎水性物質が多く、そのため水への添加には乳化剤を使用する必要があ

るが、FNB 発生装置により乳化剤の添加なしに香気導入できる利点がある。アレルギー性低減を狙った FNB 水の食品への物理化学的な効果に加え、自律神経活動への生理的効果は、アレルギー症状緩和という観点からも有効活用できる可能性があると思われる。

(6) 三谷友彦(分担)は、方形空洞共振器型のマイクロ波加熱装置を開発し、他の研究者らがマイクロ波照射実験を行うための研究環境を構築した (Fig. 8)。

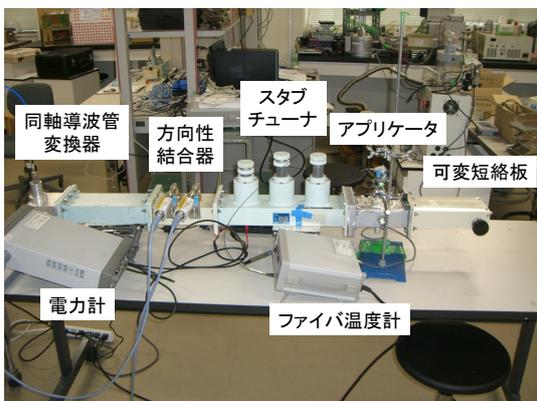


Fig. 8 本研究で用いたマイクロ波照射装置

マイクロ波加熱装置は、半導体信号発振器、半導体増幅器、同軸導波管変換器、方形空洞共振器から成り、方形空洞共振器の中心に穴を空けて被加熱サンプルを挿入する。投入するマイクロ波電力は、入射マイクロ波電力と共振器からの反射マイクロ波電力をモニターすることで測定される。共振器構造を採用することにより、被加熱サンプルには強力な電界を与えることができ、高速加熱が実現できる。上述のマイクロ波加熱装置に加えて、電磁界シミュレータを利用して、900 MHz から 2.7GHz までの広い周波数範囲で使用できる化学反应用広帯域電磁波照射容器を設計した。共振器構造は特定の共振周波数でしか実験できないため、照射するマイクロ波の周波数依存性を調べることはできない。広帯域電磁波照射容器の実現により、様々な周波数帯でのマイクロ波照射実験が可能となり、今後

のマイクロ波照射実験における重要なツールとなり得る。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① Mitani, T., and Shinohara, N. “Expectations for High-Power Semiconductors in Microwave-Assisted Chemistry”, Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-state Science (招待講演) (国際学会), Honolulu, USA, Oct. 2-7, 2016.
- ② 山崎 正幸、三谷 友彦、岡崎 史子、塩尻 かおり、「食物アレルギー問題の解決に電磁波照射は利用できるか？」第 62 回日本生化学会近畿支部例会、2015 年 5 月 16 日、立命館大学びわこ・草津キャンパス

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 正幸 (YAMASAKI, Masayuki)
龍谷大学・農学部・准教授
研究者番号：80397562

(2) 研究分担者

塩尻 かおり (SHIOJIRI, Kaori)
龍谷大学・農学部・講師
研究者番号：10591208

三谷 友彦 (MITANI, Tomohiko)
京都大学・生存圏研究所・准教授
研究者番号：60362422

山崎 英恵 (YAMAZAKI, Hanae)
龍谷大学・農学部・准教授
研究者番号：70447895

(3) 研究協力者

岡崎 史子 (OKAZAKI, Fumiko)