

## 様式 C-19

# 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18500616

研究課題名（和文） 食物アレルゲン低減化レシピの開発と「食育」への応用

研究課題名（英文） Development of making recipe to decrease of food allergens and the application to "Shokuiku"

研究代表者

高橋 享子 (TAKAHASHI KYOKO)

武庫川女子大学・生活環境学部・教授

研究者番号：50175428

### 研究成果の概要：

卵白アレルゲン・オボムコイドは、酵素や熱に対して強い耐性を示し、低アレルゲン化が困難と考えられている卵白主要アレルゲンである。本報告者は、オボムコイドを独自の手法で低減化することに成功したが、調理や製菓作製への応用性の低いものであった。しかし、本研究の結果、卵白の応用性として最も有効と考えられるメレンゲ作製に成功し、低アレルゲン化したメレンゲを用いた加工品の作製に成功した。さらに、低アレルゲン化メレンゲを用いて、スponジケーキを作製した結果、生卵白メレンゲを用いたスponジケーキの9割程度まで膨化したスponジケーキの作製に成功した。

### 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2006年度	1,300,000	0	1,300,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総 計	3,100,000	540,000	3,640,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：食生活

キーワード：卵アレルギー、アレルゲン低減化、高温・高圧処理、スponジケーキ、  
メレンゲ

### 1. 研究開始当初の背景

平成 11 年度に厚労省食物アレルギー研究部会が「食物アレルギーに関する調査」を行った後に食品原材料の表示義務化が発表された。さらに、学校給食へのきめ細かな指導など「食物アレルゲン」は社会的に注目され

る大きな問題となってきた。また、小児、児童の患者に対する治療の方向性も統一的に展開され、発症直後や重篤な患者以外は、免疫寛容を早く誘導する「減感作治療」が主流となってきている。さらに、小児・児童の患者が「安心して安全に食べることができる

低アレルゲン化食品」の開発は、強く望まれている。このような社会から望まれている低減化食品は、市場には極めて少ないので現状である。また、完全にアレルゲンを除去した食品ではなく、僅かにアレルゲンが残存しているアレルゲン食品は、発症の可能性も低く、また減感作治療として抵抗性を上げることができる食品として患者家族からも期待されている。本研究は、そのような社会の要望に応えることのできる低アレルゲン化食品を開発し、多くの患者 QOL の向上に貢献することが重要と考える。

## 2. 研究の目的

現在、社会的な問題になっている食物アレルゲンの低減化は、食物アレルギー患者にとって待望されるもので、安心安全に食物を食することは重要である。従って、本研究では、アレルゲン性の高い、魚、小麦、卵などの低減化とその方法のレシピを作成し、さらに低減化調理食品として応用する目的で下記の方法で検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 魚

サケ、マイワシ、サンマ、カレイ、マダラを試料として塩可溶性画分（I）、塩不溶性画分（II）からアルカリ可溶性画分（III）と酸可溶性画分（IV）に分離し、pH 調整、熱処理後のアレルゲン測定を行なった。

### (2) 小麦種子

22°C、照明 24~48 時間で 1 mm 発芽させ、発芽、未発芽種子から塩可溶性画分を分離し、発芽の有無によるアレルゲン量を測定した。

### (3) 小麦粉

発芽小麦粉(長野産)および未発芽小麦粉(長野産)についても、上記種子と同様の試料調製を行った。また、発芽・未発芽の小麦粉塩可溶性画分のアレルゲン性につい

ても先の方法に準じて測定した。

### (4) 卵白

平成 18 年度から卵白の高温高圧処理 (120°C、2 気圧、1 分) による低減化を、平成 19 年度には、低減化卵白の用途拡大を目的として「卵白メレンゲ」の高温・高圧処理による低減化を検討した。さらに、平成 20 年度は、低アレルゲン化メレンゲを用いたスポンジケーキの作製を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 魚

① 各画分試料のアレルゲン性は、パルプアルブミン抗体による IgG 反応と魚アレルギー患者血清による IgE 反応の陽性反応から判断した。その結果、マダラのアルカリ可溶性画分（III）のみに強い陽性反応が認められた。

② マダラ III 画分について、pH・熱処理を行い、アレルゲン低減化について検討した。pH2~pH10 の範囲において加熱（沸騰）0 分、10 分、60 分の処理を行った結果、pH2~pH6 の範囲において、加熱 60 分で 40~50% の低下が認められた。

### (2) 小麦種子

発芽処理により種子内の酵素が働き、新規の低分子陽性タンパク質が認められた。従って、発芽処理はアレルゲンの低減化には効果的でないことが明らかとなった。

### (3) 小麦粉

① 発芽小麦粉塩可溶性画分は未発芽小麦粉塩可溶性画分のアレルゲン性より高く、発芽処理による低減化は期待できなかった。

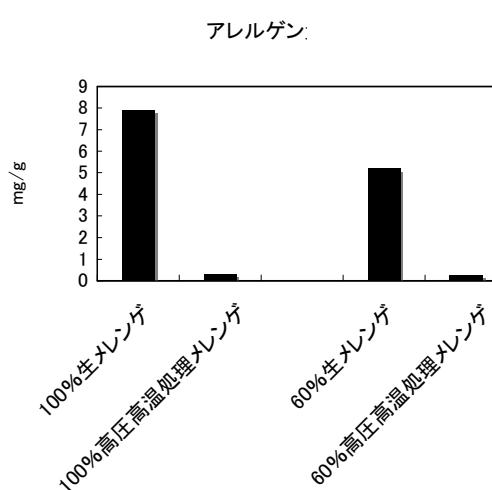
② 全粒小麦粉の低減化として高温加圧処理（家庭用圧力鍋）10 分処理によりアレルゲン性が 50% 低下した。このことより家庭用圧力鍋を用いた高温加圧処理はアレルゲン低減化に効果的であった。

### (4) 卵白

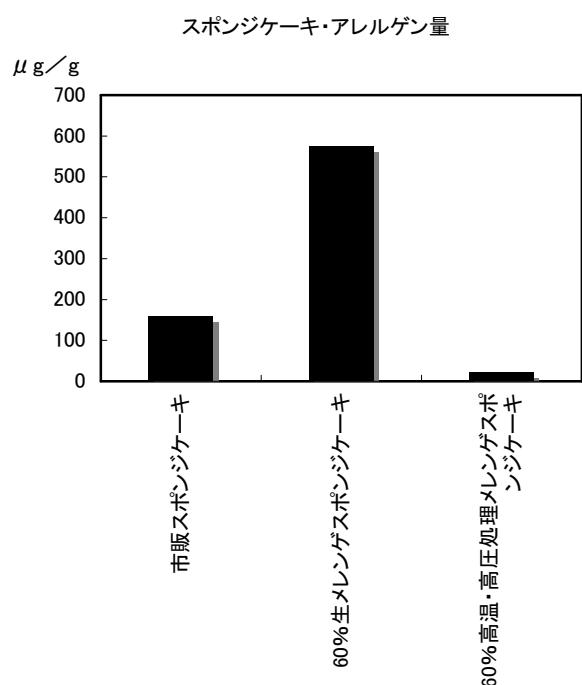
- ① 低減化法として 120°C、2 気圧、1 分条件が最も低減化の効果が高かった。
- ② メレンゲ卵白については、100%、80%、60% 卵白溶液各々でメレンゲ形成を行った後に 2 気圧、120°C、1 分処理を行い、半凝固卵白になったメレンゲに対して再度メレンゲ形成を行った。



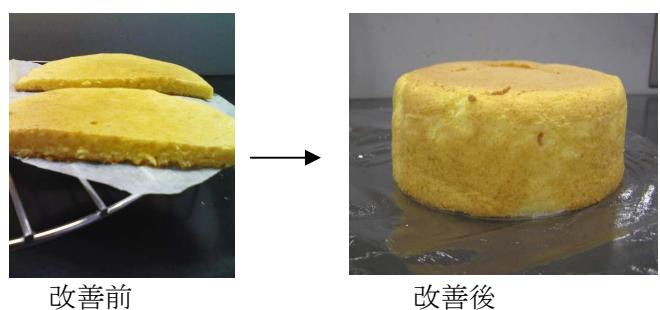
その結果、再メレンゲ形成は 60% 卵白が最も効果的であった。アレルゲン量については、100% メレンゲ及び 60% メレンゲのいずれも高温・高圧処理後のメレンゲは、アレルゲン量の低下が顕著に認められた。



③ メレンゲ処理としては、60% メレンゲの方が、応用性は高いと考えられたので、60% 卵白再メレンゲを用いて、スポンジケーキ作成の検討を行った。その結果、生卵白メレンゲとほぼ同様の膨化が認められた。また、アレルゲン・オボムコイド量は、生卵白メレンゲを用いたスポンジケーキに比較して 27 分の 1 の低下を示した。



#### ④ スポンジケーキ作製



卵黄、低減化メレンゲ、水、薄力粉、砂糖、ベーキングパウダーの分量を一般レシピの分量で行った場合には、図の左のように膨化しないものが作製された。種々の

レシピを工夫した結果、右のように膨化したスポンジケーキが完成した。次に、非低減化メレンゲと低減化メレンゲを用いた場合のスポンジケーキを作製した。その結果、次の写真のように、非低減化メレンゲでは、7.2cmの膨化が、低減化メレンゲでは、5.2cmの膨化であった。膨化度が2cm低下したが、外観、生地の細かさ、弾力性などもほぼ同じ、またはそれ以上の質の向上が認められた。従って、高温高圧処理メレンゲを用いたスポンジケーキに、生メレンゲと同様の膨化が認められた。



60%生メレンゲ・スポンジケーキ



低減化メレンゲ・スポンジケーキ

##### ⑤ 低減化スポンジケーキの卵アレルゲンに対する IgE 結合性

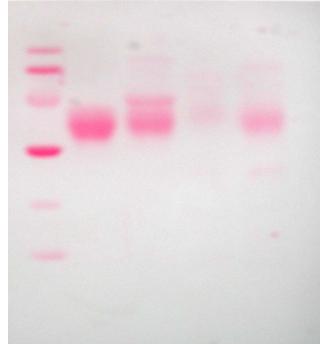
③に示した結果では、アレルゲン量をELISA法で測定し、低減化を明らかにした。しかし、実際、アレルゲン・オボムコイドとIgG, IgE抗体との結合性が低下したか明らかではない。そこで、下記のように①～⑤試料を膜転写後に再度、患者血清によるIgE免疫反応を行った。

- ① マーカー
- ② オボムコイド
- ③ 60%生メレンゲスポンジ

④ 市販スポンジ

⑤ 低減化スポンジ

① ② ③ ④ ⑤



Western Blotting

##### 卵アレルギー患者 A

② ③ ④ ⑤



##### 卵アレルギー患者 B

② ③ ④ ⑤



上記の結果から、患者 A, B いずれも⑤の低減化スポンジとの IgE 結合能が低下していた。このことより、低減化メレンゲを用いたスポンジケーキの低アレルゲン化が確認された。

## 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 5 件)

- ① Yamamoto S, Motomura A, Akahoshi A, Takahashi K, Minami H. Immunoglobulin secretions in the mesenteric lymph node in stressed rats. J Nutr. Sci. Vitaminol 2009 Apr;55(2):191-4. 査読有
- ② Kunimoto A, Sisino T, Sasaki K,

- Matsumoto T, Takahashi K, Yamashita H, Hiemori M, Tsuji H, Kimoto M. Molecular cloning and allergenicity of Pen j 1,a major allergen prawn, penaeus japonicus, Biosci Biotechnol Biochem 73 (4) 840-848 (2009)  
査読有
- ③ Kimoto M, Suzuki M, Komiyama N, Kunitomo A, Yamashita H, Hiemori M, Takahashi K, Tsuji H. Isolation and molecular cloning of a major wheat allergen, Tri a Bd 27K. Biosci Biotechnol Biochem 73(1) 85-92 (2009) 査読有
- ④ Hiemori M, Eguchi Y, Kimoto M, Yamasita H, Takahashi K, Tsuji H. Characterization of new 18-kDa IgE-binding proteins in beer. Biosci Biotechnol Biochem 72(4):1095-8 2008  
査読有
- ⑤ 儀保清香, 一橋沙織, 高橋享子; 魚類アレルゲンの分離とその性質、*Bull.Mukogawa Women's Univ.Nat.Sci.*, 54, 25-30 2007 査読無
- [学会発表] (計 9 件)
- ① Saori Yamamoto, Yoko Kamada, Mayumi Tamamaki, Hiroshi Mori, Kazuyo Ohmuro and Kyoko Takahashi Hypo-sensitization in children with egg allergy using egg bolo containing low levels of egg allergen. 15th International Congress of Dietetics 2008 年 9 月 10 日 パシフィコ横浜
- ② 一橋沙織、中地伸恵、頬田美佳、阪口圭代、渡辺敏郎、高橋享子、アレルギーモデルラットにおけるヨモギカフェ酸投与がアレルギーに及ぼす影響、日本栄養・食糧学会第 62 回 2008 年 5 月 4 日 女子栄養大学
- ③ 高橋享子、鎌田陽子、一橋沙織、櫻井怜奈、宍戸あゆみ、森寛、大室和代、低減化卵白を用いたスポンジケーキの開発、日本栄養・食糧学会第 62 回大会 2008 年 5 月 4 日 女子栄養大学
- ④ 頬田美佳、一橋沙織、中地伸恵、比石真由美、高橋享子、ストレスがアレルギーモデルラットの抗体価およびサイトカイン産生に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会第 62 回大会、2008 年 5 月 4 日、女子栄養大学
- ⑤ 一橋沙織、中地伸恵、高橋享子、アレルギーモデルラットを用いた卵白アレルゲン投与による免疫寛容の誘導、日本栄養食糧学会第 61 回大会 2007 年 5 月 19 日 京都国際会議場
- ⑥ 一橋沙織、頬田美佳、比石真由美、中地伸恵、高橋享子、ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) による抗アレルギー物質の検索、日本栄養食糧学会第 61 回大会 2007 年 5 月 19 日 京都国際会議場
- ⑦ 中地伸恵、一橋沙織、儀保清香、鎌田陽子、高橋享子、ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) による抗アレルギー物質の検索、日本栄養食糧学会近畿支部会 2006 年 10 月 14 日 武庫川女子大学
- ⑧ 儀保清香、鎌田陽子、中地伸恵、一橋沙織、高橋享子、魚介類アレルゲンの検索とその性質、日本栄養食糧学会近畿支部大会 2006 年 10 月 14 日 武庫川女子大学
- ⑨ 高橋享子、鎌田陽子、池田安世、江川真代、藤原麻美、卵白投与による特異 IgE 抗体産生能とサイトカインとの関連性、日本栄養食糧学会 (第 60 回大会) 2006 年 5 月 20 日 静岡県立大学
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 1 件)
- ①  
名称 アレルゲン低減化方法、低アレルゲン化卵白の製造方法、低アレルゲン化卵白組成物の製造方法および低アレルゲン化食品  
発明者 高橋享子  
権利者 学校法人 武庫川学院  
種類 特許  
番号 11/519783  
出願年月日 平成 18 年 9 月 13 日  
国内外の別 国外 (米国)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
高橋 享子 (TAKAHASHI KYOKO)  
武庫川女子大学・生活環境学部・教授  
研究者番号: 50175428
- (2) 研究分担者  
木本 真順美 (KIMOTO MASUMI)  
岡山県立大学・保健福祉学部・教授  
研究者番号: 40108866
- (3) 連携研究者