

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791114

研究課題名（和文）腸管上皮細胞のタイトジャンクションを介した小麦抗原吸収機序の解明

研究課題名（英文）Investigation of the mechanisms regulating wheat allergen absorption through tight junction in the intestinal epithelial cells

研究代表者

千貫 祐子（CHINUKI YUKO）

島根大学・医学部・助教

研究者番号：00294380

研究成果の概要（和文）：従来、食物アレルギーは食物を経口摂取することにより消化管で感作が成立してアレルギーを発症すると考えられていた。ところが近年、本邦において加水分解小麦を含有した石鹸を使用して小麦アレルギーを発症する患者が多発したことにより、食物アレルギー発症における経皮膚感作の重要性が注目されることとなった。今後の食品や化粧品の安全性を確保するために、加水分解小麦のアレルゲン性について検討する必要があると考え検証した結果、不完全な分解あるいは処理中の再重合による高分子量の蛋白質から成る加水分解小麦が高いアレルゲン性を示すと考えられた。

研究成果の概要（英文）：In the past, food allergy was considered to be caused by sensitization to food allergens through oral intake. Recently, a new subtype of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA) caused by hydrolyzed wheat protein (HWP) has been observed. The patients with this new subtype were likely to be sensitized to HWP primarily through percutaneous and/or rhino-conjunctival routes by using a facial soap containing the HWP. According to our analysis, HWPs composed of large polypeptide aggregates possibly have higher allergenicity than lower-molecular-weight HWPs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学，膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アレルギー学，食物アレルギー，抗原吸収

1. 研究開始当初の背景

食物依存性運動誘発アナフィラキシー（Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: FDEIA）は、特定の食物を摂取した上に二次的要因が加わることにより発症する重篤な食物アレルギーである。本邦では小麦による FDEIA の頻度が圧倒的に高く、全体の約 60% を占める。小麦が原因となる FDEIA の原因抗原は、本研究室において同定し、運動負荷やアスピリン負荷による症状の誘発時に血中の小麦抗原量が上昇していることを明らかにした。さらにプロスタグラン

ジン製剤の併用が血中小麦抗原濃度の上昇を抑制することを明らかにした。FDEIA の原因食物は多彩であるが、原因食物が異なっても、基本的な発症機序（特に抗原吸収機序）は共通であると考えられる。今後、研究の焦点は抗原吸収機序の解明に移ると推測される。

ところが近年、石鹸中の加水分解小麦（hydrolyzed wheat protein: HWP）で経皮または経粘膜感作されて、小麦による FDEIA を発症したと思われる患者が多発した。

2. 研究の目的

HWP は、主に小麦不溶性蛋白質のグルテンを酸や酵素で処理して部分的に分解したもので、処理方法によっては保湿性や粘弾性を持つために、化粧品や食品の添加剤として利用されている。今後の食品や化粧品の安全性を確保するために、なぜ、今回の石鹼含有 HWP (HWP-A) が特に高いアレルギー性を有したのか、について検討する必要があると考えた。本研究では、石鹼に含有されていた加水分解小麦を含む、本邦で入手可能であった計 6 種類の加水分解小麦 (HWP-B-F) 各々のアレルギー性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

【対象】加水分解小麦に経皮感作され WDEIA を発症した事を確認し得た 5 名の女性患者 (年齢; 44-54 歳) を対象とした。

《確認方法》

- ① 加水分解小麦 (HWP-A) を含有した同銘柄の石鹼の使用開始後に WDEIA を発症した (5/5)。
 - ② 小麦およびグルテン特異的 IgE (CAP-FEIA) を検出 (5/5)。
 - ③ 加水分解小麦溶液を用いたプリックテストで陽性反応を示した (5/5)。
 - ④ ウェスタンブロット法で加水分解小麦 (HWP-A) に反応する特異的 IgE を検出 (5/5)。
 - ⑤ 加水分解小麦 (HWP-A) による好塩基球活性化マーカー CD203c の発現増強を確認 (5/5)。
 - ⑥ 誘発試験で陽性を示した (3/3)。
- 以上①-⑥を満たした WDEIA 患者 5 名を対象とした。

【方法】①加水分解小麦の準備 (各製造会社、販売会社などからの取り寄せ)

HWP-A: 酸分解型加水分解小麦 (石鹼に含有されていたもの)

HWP-B: 酸分解型加水分解小麦

HWP-C: 詳細不明加水分解小麦

HWP-D: 酵素分解型加水分解小麦

HWP-E: 酵素分解型加水分解小麦

HWP-F: 酸・アルカリ分解、酵素処理加水分解小麦

②ウェスタンブロット: 5 名の患者血清を用いてウェスタンブロットを施行し、6 種類 (A-F) の加水分解小麦への反応性を検討した。

③好塩基球 CD203c 発現定量: 5 名の患者全血を用いて、6 種類 (A-F) の加水分解小麦による好塩基球活性化マーカー CD203c 発現の定量を行った。

④ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量分布測定: 6 種類 (A-F) の加水分解小麦について、ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量分布の測定を行った。

(倫理面への配慮)

研究施行に際しては、対象者に、本研究の

目的を説明して同意を得た上で行った。同意は対象患者の意思によりいつでも撤回することができることとした。検査データは他の研究に供することはなく、得られたデータの医学誌への掲載並びに学会での発表に際して個人名は公表しないこと、得られたデータは研究目的の他には使用しないこと、個人情報厳守することを説明し、かつ遵守した。

本研究は島根大学医学部医の倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 469, 703)。

4. 研究成果

1. 患者血清中 IgE は加水分解小麦の高分子量の蛋白質に強く反応する傾向があった (図 1)。

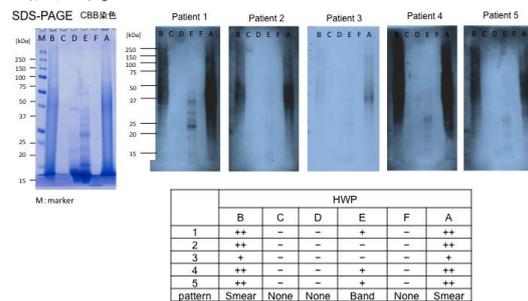


図1: 6種類のHWPに対する患者血清中IgEの結合

2. 6 種類の加水分解小麦をゲル濾過クロマトグラフィーで解析した結果、HWP-A, B 以外の加水分解小麦には高分子量の蛋白質がほとんど含まれていなかった (図 2)。

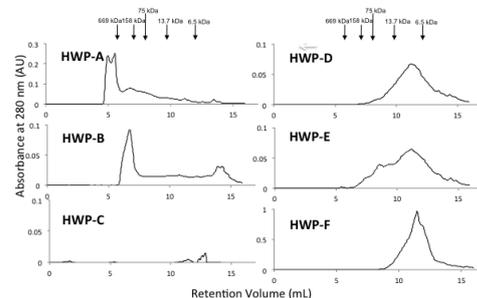


図2: ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量分布測定

2. 患者好塩基球活性化マーカー CD203c は高分子量の蛋白質を含む加水分解小麦 (HWP-A と HWP-B) によって有意に発現増強した (図 3)。

HWP-A と HWP-B は、本来の小麦構成蛋白質よりも大きい分子量の蛋白質を含んでいた。両者とも酸分解された製品であるが、不完全な分解によるものと考えられた。

このことより、不完全な分解あるいは処理中の再重合による高分子量の蛋白質から成る加水分解小麦が高いアレルギー性を示すことが考えられた。

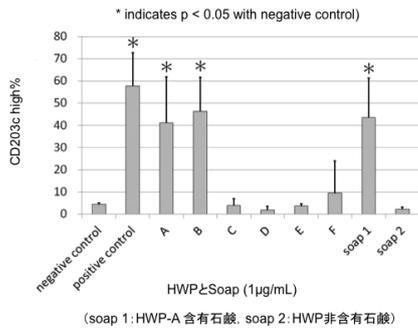


図3:好塩基球CD203c発現定量

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 17 件)

1. Chinuki Y, Takahashi H, Dekio I, et al: Higher allergenicity of large molecular weight hydrolysed wheat protein in cosmetics for percutaneous sensitization. *Contact Dermatitis*. 68: 86-93, 2013.
2. 千貫祐子, 森田栄伸: 加水分解小麦成分入り化粧品による眼瞼浮腫. *Visual Dermatology*. 12: 140-141, 2013.
3. 千貫祐子, 森田栄伸: CD203c 測定の実際と蕁麻疹診療における位置づけ. *アレルギー・免疫*. 20: 234-235, 2013.
4. Chinuki Y, Kaneko S, Dekio S, et al: CD203c expression-based basophil activation test for diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 129: 1404-1406, 2012.
5. Chinuki Y, Morita E: Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolyzed wheat protein in soap. *Allergol Int*. 529-537, 2012.
6. 角田孝彦, 吉澤秀華, 千貫祐子: 小麦アレルギー9例の小麦特異的IgEと皮内テストの検討. *皮膚科の臨床*. 54: 841-844, 2012.
7. 相澤貴之, 角田孝彦, 日高高徳, 千貫祐子: お茶石鹼により感作された小麦アレルギーの13例. *山形済生館医誌*. 37: 64-67, 2012.
8. 山本祐理子, 服部淳子, 峠岡理沙, 益田浩司, 千貫祐子, 他: 茶のしずく石鹼以外の加水分解小麦含有石鹼を使用した患者にみられた小麦アレルギーの1例. *臨床皮膚科*. 66: 940-943, 2012.
9. 土井直考, 稲葉 豊, 金澤伸雄, 古川福実, 千貫祐子, 他: 石鹼含有加水分解小麦と ω -5グリアジン双方に血中IgEの結合を認めた小麦依存性運動誘発性アナフ

イラキシ一の1例. *J Environ Dermatol o Cutan Allergol*. 6: 427-432, 2012.

10. 角田孝彦, 千貫祐子, 伊藤義彦, 他: お茶石鹼中の加水分解小麦に感作がみられた小麦アレルギーの6例. *アレルギーの臨床*. 32: 162-165, 2012.
11. 千貫祐子, 松尾裕彰, 高橋 仁, 他: 小麦アレルギーの主要アレルゲンの同定. *臨床免疫・アレルギー科*. 58: 63-71, 2012.
12. 森田栄伸, 千貫祐子, 高橋 仁: 「茶のしずく石鹼」によるWDEIA. *Visual Dermatology*. 11: 280-283, 2012.
13. 千貫祐子, 森田栄伸: 旧「茶のしずく石鹼」中の加水分解小麦により感作されたFDEIA. *臨床皮膚科*. 66: 8-11, 2012.
14. 千貫祐子: 加水分解小麦によるFDEIA. *皮膚アレルギーフロンティア* 10: 52-54, 2012.
15. 千貫祐子: 茶のしずく石鹼による小麦アレルギー. *皮膚と美容*. 144: 63-66, 2012.
16. 千貫祐子: 食物依存性運動誘発アナフィラキシー診断と生活指導. *MB Derma*. 194: 35-42, 2012. 森田栄伸,
17. 千貫祐子, 森田栄伸: 食物アレルギーと経皮膚感作—加水分解小麦含有石鹼を含めて—. *小児内科*. 44: 2015-2018, 2012.

[学会発表] (計 10 件)

1. 杉山晃子, 岸川禮子, 西江温子, 下田照文, 岩永知秋, 西間三馨, 嶋田清隆, 古江増隆, 田辺創一, 千貫祐子, 他: 加水分解コムギにより生じたWDEIAにおける負荷検査の結果と有用性, 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪国際会議場(大阪市), 2012年11月29日~12月1日
2. 徳田玲子, 長尾みづほ, 杉本真弓, 細木興亜, 千貫祐子, 他: 加水分解小麦末含有石鹼使用者に生じた小麦アレルギーにおける好塩基球活性化マーカーCD203c検査の意義, 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪国際会議場(大阪市), 2012年11月29日~12月1日
3. Chinuki Y, Kaneko S, Dekio I, et al: CD203c expression-based basophil activation test is useful in the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. 42nd Annual ESDR Meeting. Venice, ITALY, 2012年9月19日~9月22日
4. 千貫祐子: 食物アレルギーの診断における好塩基球活性化マーカーCD203cの有用性. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 シンポジウム 3,

- 軽井沢プリンスホテルウエスト（北佐久郡），2012年7月13日～7月15日
5. 千貫祐子，松尾裕彰，新原邦江，他：リコンビナント小麦蛋白特異的 IgE 測定の有用性. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 ミニシンポジウム，軽井沢プリンスホテルウエスト（北佐久郡），2012年7月13日～7月15日
 6. 千貫祐子，金子 栄，出来尾 格，他：石鹼中の加水分解小麦で感作され小麦依存性運動誘発アナフィラキシーを発症した12例の解析. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会2011年度JEDCA最優秀論文賞 受賞講演，軽井沢プリンスホテルウエスト（北佐久郡），2012年7月13日～7月15日
 7. 足立厚子，西岡美南，福田佳奈子，一角直行，佐々木祥人，千貫祐子，他：加水分解小麦含有石鹼に起因する小麦アレルギーと通常的小麦アレルギー，第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会，軽井沢プリンスホテルウエスト（北佐久郡），2012年7月13日～7月15日
 8. 田中 文，糸井沙織，寺尾美香，松井佐起，谷 守，花房崇明，井川 健，片山一郎，千貫祐子，他：茶のしずく使用後に発症した WDEIA と OAS を合併した1例：石鹼の Inflammasome 刺激作用の検討，第111回日本皮膚科学会総会，国立京都国際会館（京都市），2012年6月1日～6月3日
 9. 足立厚子，西岡美南，福田佳奈子，一角直行，佐々木祥人，下浦真人，井口佳代，上田正登，千貫祐子，他：加水分解小麦入り石鹼による感作が推測される， ω -5 グリアジン特異 IgE 陽性的小麦依存性 FDEIA3 例，第111回日本皮膚科学会総会，国立京都国際会館（京都市），2012年6月1日～6月3日
 10. 千貫祐子，金子 栄，高橋 仁，他：加水分解小麦型 WDEIA の予後，第111回日本皮膚科学会総会，国立京都国際会館（京都市），2012年6月1日～6月3日

[図書] (計3件)

1. 千貫祐子：加水分解小麦による FDEIA. WH AT'S NEW in 皮膚科学 2012-2013. 宮地良樹 編. メディカルレビュー社. Pp50-51, 2012.
2. 千貫祐子：加水分解小麦による FDEIA の意外な女性の感作ルートとは？女性の皮膚トラブル FAQ. 宮地良樹 編. 診断と治療社. pp271-275, 2012.
3. Morita E, Matsuo H, Chinuki Y, Takahashi H: Food-Dependent Exercise-Induced

Anaphylaxis. In Asian Skin and Skin Diseases. Hee Chul Eun, Soo-Chan Kim, Won-Soo Lee Editors. MEDRANG Inc. pp85-89, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千貫 祐子 (CHINUKI YUKO)
島根大学・医学部・助教
研究者番号：00294380

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：