

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 7 月 28 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460764

研究課題名(和文) コチニール色素によるアナフィラキシー その検査法の確立と症例解析

研究課題名(英文) Anaphylaxis due to cochineal dye: the confirmation of the diagnostic method and the review of Japanese cases

研究代表者

竹尾 直子(岡田直子)(Takeo, Naoko)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：30423693

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本邦のコチニール色素アレルギー症例は、近年増加傾向にある。過去に22例の報告があり、今回、新たに6例が加わった。全例成人女性で、85%がアナフィラキシーを発症した。原因食品はイチゴジュース、魚肉ソーセージ、フランス由来のマカロンによる発症が多い。検査法は、色素抽出液のブリックテスト、特異的IgE抗体の測定は有用で、特異的IgE抗体は除去食の継続により低下することが確認され、病勢を知るのにも有用である。今回、コチニール色素抽出液でのブリックテスト陽性の症例において、精製カルミン酸でのブリックテストが陽性を示し、カルミン酸自体が本アレルギーの発症に關与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The numbers of patients with allergy against the cochineal dye are increasing in Japan. Twenty two cases were reported previously and six cases were newly enrolled. All cases were adult female and 85% of them were accompanied by anaphylaxis. Strawberry juice, fish meat sausage, which were made in Japan, and macaroon, which were made in France, were recent major sources of allergen. Skin prick test(SPT) and the serum level of specific IgE were the useful methods for the diagnosis of cochineal dye allergy and the serum level of specific IgE might be a good marker of the activity of allergy. There is a possibility that carminic acid contributes to the onset of this allergy, because the SPT using purified carminic acid showed the positive reaction.

研究分野：皮膚科

キーワード：コチニール色素アレルギー

1. 研究開始当初の背景

コチニール色素は主にペルーで生産されるサボテン科のベニコイチジクなどに寄生するエンジムシの雌の乾燥体より抽出された赤色色素であり、世界中で食品や化粧品の赤色系の着色に広く利用されている。本色素は赤色素本体である分子量 492 のカルミン酸とエンジムシ虫体由来の蛋白質の混合物である。一方、カルミンはカルミン酸にアルミニウムやカルシウムを加えて不溶化(レーキ化)したアルミニウムレーキ化合物もしくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分とするものと定義される。これまで本色素によるアレルギーにはカルミン酸やカルミンではなく、虫体由来の 38kDa 蛋白質抗原(CC38K)に対する特異的 IgE 抗体が発症に関与すると考えられてきた。

近年、各国でコチニール色素の即時型アレルギーの症例の報告があり、本邦でも同様の報告がされており、そのほとんどに重篤なアナフィラキシーを生じることから、2012年5月、消費者庁からコチニール色素の注意喚起が出され、テレビや新聞にもとりあげられた。しかし、臨床の現場では検査体制すら確立されていないのが現状である。

本アレルギーの最大の特徴は、ほぼ全ての症例が成人女性であることで、症例の多くは食品でアレルギーを生じる以前に、赤色系の化粧品で皮膚炎を生じた既往があり、最初に化粧品に含まれた色素で感作された可能性が高いと推測されている。しかし、詳細な解析はなされていない。

2. 研究の目的

本研究では、この即時型アレルギーの簡便な検査法を確立し、国内の症例の集積とその解析を目的とし、ひいてはこのアレルギー発生の減少、撲滅を図る。

3. 研究の方法

(1) コチニール色素即時型アレルギーの本邦症例を集積及びデータベースの確立

藤田保健衛生大学皮膚科において施行された【化粧品中のタンパク質等の安全性に関する緊急疫学調査】にて、コチニール色素アレルギーが疑われる症例登録のあった施設に研究協力を依頼した。また、登録 Web site を作成し(名古屋大学)患者データの入力(大分大学)を行った。

研究期間:平成25年1月21日~平成25年3月31日

調査対象:日本アレルギー学会「化粧品中のタンパク加水分解物の安全性に関する特別委員会」の症例登録サイト登録医療施設(約350施設)、日本皮膚アレルギー・接皮皮膚炎学会会員(約1500名)

(2) コチニール色素即時型アレルギーの検査法の確立

ブリックテスト

ブリックテスト試薬:色価0.1、0.01、0.001を作成し(国立医薬品食品衛生研究所及び大分大学)依頼施設に配布した。

a) 試薬作成方法

乾燥メスエンジムシの虫体を粉碎し、10倍量の超純水で抽出、遠心後に上清を採取し、色価を0.1、0.01、0.001に調整し、ろ過滅菌を行った。食品に使用されるコチニール色素の色価は0.2を超えることはないことから、試薬の色価が決定された。

b) ブリックテストの方法

色価0.001からブリックテストを行い、問題がなければ、濃度を上げて確認していく。陽性コントロールとして、ヒスタミンを使用する。検査開始15分後に判定し、膨疹が3mm以上を陽性と判断した。

コチニール色素特異的 IgE 抗体の測定

患者血清を収集し、サーモフィッシュアダイアグノスティクス株式会社のイムノキャップ特異 IgE キットのアレルギー f340 コチニールを用いて特異的 IgE 抗体を測定した。測定範囲は0.1から100 Unit Antigen(UA)/mlであり、0.35未満(class 0)は陰性、0.7未

満が疑陽性(class 1)、0.7 以上(class 2 以上)が陽性と判断した。

(3) 抗原検索

精製カルミン酸と CC38K 豊富分画でのブリックテストの施行を行った。

精製カルミン酸

国立医薬品食品衛生研究所より純度 96.7% のカルミン酸を提供された。

CC38K 豊富分画

a) 粉碎乾燥メスエンジウムシを 20mM Tris-HCl 溶液で抽出し、10%硫酸沈殿にて 38kDa 豊富溶液を採取。SDS-PAGE 後の転写膜から 38kDa サイズのバンドを切り出し、N-末端アミノ酸シーケンスを行い、CC38K であることを確認し、さらにカルミン酸を除去して試薬を作成し、コチニール色素抽出液のブリックテスト試薬の蛋白質濃度と同程度に調整を行なった。

4. 研究成果

すべての症例は登録 Web site に登録、解析された。Web site は解析終了後に閉鎖されている。

(1)本邦における経気道感作を除くコチニール色素による即時型アレルギー症例をまとめた。

症例数

本邦では 1999 年～2014 年に 22 症例の報告があり、今回の研究で、新たに 6 例の症例が加わった。下記図に示すように本邦での報告数は海外と比較し増加傾向にあった。

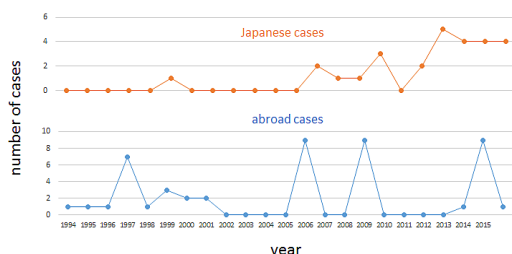


図 コチニール色素アレルギーの本邦および海外の症例報告数の推移
性別
全例が成人女性であった。

発症年齢

23 歳～65 歳、平均 37 歳であった。30～39 歳代での発症が最も多くみられた (39%)。

アレルギー性疾患 (アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、気管支喘息) の既往

記載のない症例も多いが、35% (10 症例) にみられ、そのうち、アトピー性皮膚炎の既往は 5 症例でみられた。

原因食品

本邦では 2011 年頃まではカンパリによる報告が多くみられた。カンパリとはイタリアで製造されるオレンジ色のリキュールで着色料としてカルミンを含有するが、2007 年にカルミンの使用が中止された。本邦ではイチゴジュース、魚肉ソーセージでの報告が多いが、近年の本邦報告例で特徴的なのは、海外からの土産物、特に欧州製食品による発症が目立ち、フランス由来のマカロンは 6 症例で原因食品となっていた。

化粧品による皮膚炎の既往

46% (13 症例) でみられた。アイシャドウを含むアイメイクが原因となることが多い (6 症例)。

症状

89% (25 症例) にアナフィラキシーを生じた。

(2) 検査法

過去の 5 症例と今回新たに登録された 6 症例について検討した。

ブリックテスト

11 症例のうち 9 症例で施行され、8 症例で陽性を認め、コチニール色素抽出液によるブリックテストは陽性率が高い。

コチニール色素特異的 IgE 抗体

11 症例中 9 症例が 0.7 UA/ml 以上で陽性であった。2 症例は 0.257 UA/ml、0.143 UA/ml で陰性(class 0)であった。1 症例で除去食の継続により、8 年の経過で特異的 IgE 抗体が 2.84 UA/ml から 0.101 UA/ml に低下した。

(3)抗原検索

コチニール色素抽出液によるプリックテスト陽性の2症例において、精製カルミン酸、CC38K プリックテストを行ったところ、2症例ともにコチニール色素抽出液と精製カルミン酸が陽性を示したがCC38K 豊富分画は陰性を示した。

【考察】

コチニール色素アレルギー症例において、過去の化粧品による皮膚症状の既往については46%の症例にとどまり、アトピー素因のみられない(記載のない)症例も半数以上にみられた。経皮感作事例としてよく知られる加水分解小麦アレルギーでも、石鹸使用時、皮膚の局所症状の既往のない症例は約半数にみられ、アトピー素因のある症例も40%程度で、数字の上からは関連性は明白ではないが、経皮感作が示唆されている。また、コチニール色素アレルギーは加水分解小麦アレルギーと比較し、アナフィラキシー症例が非常に多いことは特徴であるが、症例数が圧倒的に少ないことから、軽症例が見逃されている可能性も残る。

Volto lini らは特異的 IgE 抗体 (ImmunoCAP f340) が 0.19KU/L の症例について、0.35KU/L のカットオフ値により陰性 (class 0) とせず、少なくともコチニールに反応する抗体が存在することから、陽性症例と判断している。本邦でも安藤らはカルミンによるプリックテスト陽性を示す魚肉ソーセージ、イチゴ牛乳による蕁麻疹・アナフィラキシー症例を報告しているが、特異的 IgE 抗体は 0.257 UA/ml で陰性 (class 0) であった。これらの症例から、コチニール色素の特異的 IgE 抗体は、カットオフ値により陰性と判断しない方がよいのではないかと思われた。

検査法については、色素抽出液のプリックテスト、特異的 IgE 抗体の測定は有用と思われる。また、除去食の継続により、特異的 IgE 抗体は低下することが確認されており、病勢

を知るのにも有用である。

これまでコチニール色素アレルギーの主要抗原は虫体由来の夾雑物である CC38K と考えられていたが、今回の研究では、症例数が少ないもののコチニール色素抽出液でのプリックテスト陽性の2症例において、プリックテストが精製カルミン酸陽性、CC38K 豊富分画陰性であり、カルミン酸自体が本アレルギーの発症に関与する可能性が示唆された。

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)

〔学会発表〕(計2件)

(1) 竹尾直子, 藤原作平, 中村政志, 矢上晶子, 松永佳世子, 蘆山浩, 中山哲: コチニール色素アレルギー診断時のプリックテストと特異的 IgE 抗体測定の有用性. 第275回日本皮膚科学会東海地方会(松永佳世子教授退任記念), 3月20日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市), 2016

(2) 竹尾直子, 波多野豊, 岡本修, 藤原作平, 矢上晶子, 松永佳世子, 杉浦伸一, 大月典子, 蘆山浩, 中山哲: コチニール色素アレルギー本邦報告例の集積結果. 第44回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 11月21-23日, 仙台国際センター(宮城県・仙台市), 2014

〔図書〕(計1件)

竹尾直子, 波多野豊: コチニール色素アレルギーと経皮感作. 全日本病院出版会 Monthly Book Derma 245: 35-39, 2016

6. 研究組織

(1)研究代表者

竹尾 直子 (Naoko Takeo)
大分大学・医学部・講師
研究者番号: 30423693

(2)研究分担者

杉浦 伸一 (Shinichi Sugiura)
同志社女子大学・薬学部・教授
研究者番号: 30359749

(3)連携研究者

松永 佳世子 (Kayoko Matsunaga)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号: 80131192

蘆山 浩 (Hiroshi Akiyama)
国立医薬品食品衛生研究所・食品部・

部長

研究者番号：10260259