

総説

加工食品からのアレルゲンの検出
～食品表示における検査から～

渡邊裕子

The detection of allergens in processed
foods ~From the examination
of food labeling~

Hiroko WATANABE

Key Words：調理・加工，アレルゲン，食品表示，ELISA，
ウエスタンブロット，PCR

はじめに

加工食品の表示にアレルゲンを含む食品と遺伝子組換え食品の表示が加わり，表示制度の検査にELISAやPCRなどの生化学的な手法や分子生物学的な手法が採用された。特にアレルゲンを含む食品の表示の検査では，多様な加工食品中のタンパク質を定量するという難題に対して，ELISAによる定量というひとつのものさしを示したと言える。さらに行政監視に検査法を採用しているのは日本のみである。アレルゲンを含む食品の表示制度の立ち上げでは，2001年厚生労働省食品表示研究班において，アレルギー表示検討会と特定原材料検出法検討会が組織された¹⁾。特定原材料検出法検討会は産官学の支援研究機関の協力のもとに発足し，当所もこれに参画することにより検査法に関する調査研究の機会を得ることができた。そして，検査法の設定はアレルギー表示検討会において，特定原材料等が総タンパク質として数 $\mu\text{g/g}$ または数 $\mu\text{g/mL}$ 濃度レベル以上含有する食品には表示が必要であり，表示の必要性を判断するには同一レベルまで検出可能な検査法が不可欠との判断による¹⁾。現在，省令で定められた特定原材料は7品目，通知で定められた特定原材料は21品目となったが（図1），2002年当初の表示義務は5品目であり，卵，牛乳，小麦，そば，落花生の検査法は11月に示された。検査法に採用されたELISAは各タンパク質標準品の規格が設定され，産官学

義務 特定原材料 7品目
症例の多いもの 卵・牛乳・小麦+えび・かに（2008年6月）
重篤なもの そば・落花生
奨励 特定原材料に準ずるもの 21品目
あわび・いか／いくら・オレンジ・キウイフルーツ・牛肉・くるみ・さけ・さば・大豆・鶏肉・豚肉・まつたけ・もも・やまいも・りんご・ゼラチン+バナナ（2004年12月） +ごま、カシューナッツ（2013年9月） +アーモンド（2019年9月）

図1 表示が必要となった原材料

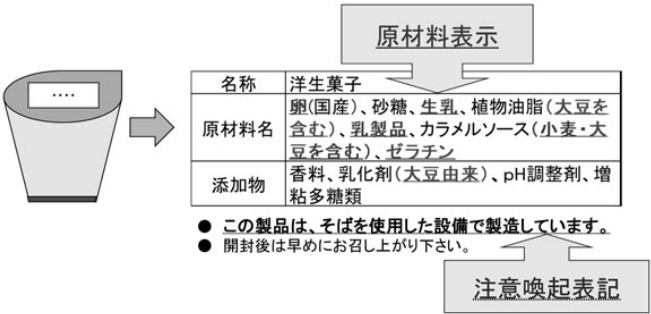


図2 特定原材料表示例

の協力研究機関によりバリデーションがなされた^{2)～6)}。尚，各々の検査法の特徴などの詳細は各報告を参照されたい^{7)～9)}。

アレルゲンを含む食品の表示では，原材料としての表示に加え，コンタミネーションがある場合の注意喚起表記が許されている（図2）^{10), 11)}。注意喚起表記は輸送や製造過程などでのコンタミネーションを表した表記例が決められている。これはこれらの過程でゼロ規制はできないための措置となる。

5品目の検査法は，スクリーニング法であるELISAで定量し，定性法は卵，牛乳はウエスタンブロット法，小麦，そば，落花生はPCR法で確認を行う。ELISAでは抗原認識の異なる抗体を用いた2種類の検出系を用い，何れかの方法で特定原材料のタンパク質量が10 $\mu\text{g/g}$ 以上となった場合に陽性と判断する。そして原材料表示の確認とスクリーニング検査結果により，定性検査及び製造記録の確認を行う12通りの判断樹が示されており，この判断樹に従い表示が適切かどうかを判断する¹¹⁾。

ここで，食物アレルギーとその原因物質であるアレルゲンについて簡単に触れたい。食物アレルギー患者は乳幼児に多く，その主要な原因食物は卵，牛乳，小麦が占める。成長に従い，果物類，甲殻類が主となり，これらの変化は主に皮膚や腸管の発達段階や花粉症との交差反応などの要因によると考えられている。最近では種類類

表 1 特定原材料の主要アレルゲン

特定原材料	主要アレルゲン
卵	オボアルブミン, オボムコイド, オボトランスフェリン, リゾチーム
牛乳	カゼイン, β -ラクトグロブリン, α -ラクトアルブミン
小麦	グルテン, ω -5グリアジン, α -アミラーゼインヒビター
そば	legumin, Fag e 2, Fag e 5
落花生	Ara h2
えび	トロポミオシン
かに	トロポミオシン
大豆	β -コングリシニン, グリシニン, Gly m Bd 30K, Gly m 8, Gly m 4
くるみ	Jug r 1

の増加が顕著となっており、原因食物の変化は食習慣の変化を表しており、表示制度では3年ごとに品目の見直しが行われている（図1）。次に食物アレルギーの診断では、原因食物の特定に食物中のアレルゲンとなるタンパク質に対する血中IgE抗体価を測定し、最近ではそのうちのタンパク質によるのかまで特定することができるようになってきた¹²⁾。義務化7品目と義務化が検討されているくるみの主要なアレルゲンを表1に示した。このようにアレルゲンタンパク質が特定されると、たとえば、卵アレルギー患者のうちオボアルブミン（OVA）が主要なアレルゲンである場合は加熱卵が摂取可能な場合があり、オボムコイド（OM）が主要なアレルゲンである場合はアレルギー症状が誘発される臨床症状について^{13, 14)}、OVAは熱変性しやすいが、一方OMは熱変性しにくいという科学的根拠から患者が利用可能な加工食品を知ることができ、QOL（生活の質）が向上することとなる。

我々はこのような食物アレルギーの実態から、加工食品によるアレルギー発症の予防のみならず、その利用を目的とした表示制度発足の背景を踏まえ、様々な加工における食品中のタンパク質の変性について解析し、そのアレルギー症状の誘発について、さらにはアレルギー治療に繋がる知見を得ることを目的にいくつかのアプローチで検討を進めてきた。これらの研究について紹介したい。

食肉加工品、冷凍食品の加工条件による影響

神奈川県では行政検査導入前の先行調査として、2003年に県内製造業者の協力のもと、製造記録の明らかな食肉加工品、冷凍食品の加工条件における卵・牛乳の検査結果への影響や製造工程におけるコンタミネーションの状況について調査を行った¹⁵⁾。

牛乳は日本ハム㈱製FASTKITTM牛乳エライザキット（以下乳キット）、㈱森永生科学研究所製モリナガ牛乳測定 β -ラクトグロブリンキット（以下 β -LAGキット）並びにモリナガ牛乳測定カゼインキット（以下CNキット）

の3種のELISAを用いて定量し、牛乳の主要アレルゲンであるカゼインと β -ラクトグロブリン（表1）をウエスタンブロット法で確認した。0.1%の乳を含むしゅうまい以外は検査法に採用された乳キットとCNキットの組み合わせで良好な判定結果となり、乳原材料表示のない食品へのコンタミネーションはなかった。乳原材料の種類によるCNキットと β -LAGキットの検出を比較すると、カゼインナトリウム、脱脂粉乳、乳ではCNキットの値が高く、乳タンパク質では β -LAGキットが高い傾向が見られた。

卵は日本ハム㈱製FASTKITTM卵エライザキット（以下卵キット）、㈱森永生科学研究所製モリナガ卵白アルブミンキット（以下OVAキット）並びにモリナガオボムコイドキット（以下OMキット）の3種のELISAを用いて定量し、卵の主要アレルゲンであるOVAとOMをウエスタンブロット法で確認した。

OMキットは卵原材料表示のある食品のうち、レトルト加工食品以外は陽性となった一方、検査法に採用された卵キットとOVAキットの組み合わせでは卵使用の6食品が陰性となり、レトルト加工食品では定量限界以下となった。

そこで、偽陰性（原材料が使用されているが陰性と判定されること）食品が多かった卵について、抽出液に変性剤を添加しタンパク質を可溶化し測定した結果を表2に示した。偽陰性を示した6食品のうち4食品で陽性となり、尿素と2-MEを添加した抽出液では卵不使用のコンタミネーションによる陽性判定となった食品があった。一方、2食品は定量限界以下となり偽陰性のままであったことから、表示制度における判断には特定原材料の配合割合と使用方法、加工工程などの製造記録の確認が必須であることが示された。

ELISA測定における精度管理の検討

次に2003年より導入した行政検査に伴い、神奈川県内で当該検査を実施していた川崎市健康安全研究所、横浜市衛生研究所とともにELISA測定におけるデータの信

表2 尿素及びSDS添加抽出液による加工食品中の卵タンパク質量の比較

	加工食品	卵白含有量 (%)	卵原材料	尿素緩衝液抽出の 卵タンパク量 ($\mu\text{g/g}$)	SDS緩衝液抽出の 卵タンパク量 ($\mu\text{g/g}$)	キット緩衝液抽出 の卵タンパク量 ($\mu\text{g/g}$)
食肉製品	1 ローストハム	1.6	卵白	>20	19.7	>20
	2 ベーコン	0.5	卵白	6.7	>20	>20
	3 ハムベーコン巻	0.7	卵白	3.9	12.6	>20
	4 ハンバーグステーキ	1.0	卵白, 全卵粉	<2	<2	0.8
	5 ソーセージ①	0.8	卵白	15.9	>20	2.4
	6 ソーセージ②	1.0	卵白	19.3	13.3	>20
	7 ソーセージ③	1.2	卵白	18.7	18.5	16.2
	8 ソーセージ④	0.0		<2	<2	<0.5
	9 ボークシチュー (レトルト処理)	0.9	卵白	15.2	>20	<0.5
	10 ボークシチュー (レトルト処理前)	1.0	卵白	<2	<2	0.5
冷凍食品	11 イカしゅうまい①	0.4	卵白	>20	>20	>20
	12 イカしゅうまい②	0.4	卵白	>20	>20	>20
	13 エビしゅうまい	1.0	卵白	>20	>20	2.7
	14 カニしゅうまい	0.4	卵白	>20	14.5	1.4
	15 しゅうまい①	1.3	卵白	7.6	>20	>20
	16 しゅうまい②	0.0		<2	<2	<0.5
	17 魚ボール①	2.2	卵白	<2	<2	>20
	18 魚ボール1②	0.0		16.8	4.1	0.9
	19 野菜豆腐	2.8	卵白	17.2	16.1	>20
	20 春巻き	0.0		<2	<2	<0.5

データは3ウェルの平均値
本表は文献15から引用し、一部改変した。

頼性確保を目的に精度管理についての検討を試みた¹⁶⁾。

精度管理に用いる特定原材料タンパク質標準品等は提供されていなかったため、添加回収率を評価する真度試験を行うことはできないが、実サンプルに近い自家調製した加工食品を用いて、室内精度管理、室間精度管理を行うことを目的とした。先の先行調査での加工条件とその検出値への影響を参考に、簡易で均一な加熱条件となること、また10 $\mu\text{g/g}$ の基準値付近の定量値となるような卵の配合量を検討した。そして、原材料を卵黄とし、調理条件を蒸しとして、卵黄蒸ケーキを作製した。また、蒸し条件を11分、13分、15分として検討した卵キットとOVAキットの測定結果から、卵黄13分蒸ケーキの卵

キットの値が10 $\mu\text{g/g}$ 付近を示したため、これを採用した。

そこで、卵黄13分蒸ケーキを用い、3機関の測定値を比較した。その結果、2回サンプリングした3機関の平均値は1回目は20 $\mu\text{g/g}$ 以上と検量線の範囲外となったが、2回目は15 $\mu\text{g/g}$ 程度となった。次に、1回目、2回目ともに定量値の機関順位が同じ順位であったことから、3機関において抽出法で使用機器が異なったボルテックスミキサーとホモジナイザーの違いや抽出液のpH、ELISAでのスパイクテストを比較したところ、これらはほぼ同等であることが確認された。ゆえに本検討では3機関のELISAの手法や技量は同等であり、これら

の室間・室内精度は確保されていることを確認することができた。一方、実試料での室間における定量値に影響を与えたと考えられる抽出効率を一定とする試料作製の難しさを痛感した。本検査の精度管理は、現在食品衛生外部精度管理調査として実施され、またタンパク質標準品の規格も示されている。精度管理の試みから様々な影響要因を考えると、ELISAキットの安定的な提供や外部精度管理調査の実施に関わる産業界の研究所並びに関係機関の方々に敬意を表したい。

抽出法の変更におけるバリデーション

これまで検査法は2回改正され、品目の追加が1回行われている。2005年の1回目の改正では、抽出液にSDSと2-MEを添加した方法に変更された。先の我々の調査結果においても、加工によるタンパク質変性の影響を受け、使用原材料が偽陰性となる場合があったことから、変性剤を用いた抽出液への変更は表示を監視する検査法として信頼性の向上に繋がると考えられた。

この際の特定期間材料キット開発者によるバリデーションに県内共同研究機関2機関とともに参加した¹⁷⁾。㈱森永生科学研究所製の落花生、そば並びに日本ハム㈱製の5品目さらに卵、牛乳のウエスタンブロット法を実施した。2005年の改正ではさらに「アレルギー物質を含む食品の検査法を評価するガイドライン」が参考として示され、定量法では試験室間バリデーションは8機関以上、試料数5以上、定性法では6機関以上、試料数5以上となっている。白がゆ、おしるこ、肉団子、かまぼこ、オレンジジュース、コーヒーゼリー、みそ汁など各測定品目にあったモデルサンプルが用意された。バリデーションに参加した10～13機関において1～2機関のデータが棄却されたが、データの採用基準である室間精度25%、変動係数20%をクリアした。そして、県内3機関の室間精度、変動係数はいずれも良好であり、定性法も全て良好であった。さらに県内3機関内のデータを確認し、県内の精度が同等に確保されていることを確認した。一方、各品目におけるモデル試料のデータのばらつきを見ると、精度管理に用いる試料の選定や調製の難しさの一端が感じられた。

新、旧検査法による検出率の比較

次に2005年に改正された検査法である新法と旧法による検出率の違いについて解析を行った¹⁸⁾。神奈川県では原材料表示のない食品による、表示の欠落やコンタミネーションを原因とした誤食を防ぐことを目的に監視を行っている。すなわち表示のない原材料の混入について検査を行っているため、卵、乳表示のない加工食品の

2003～2005年までの旧検査法による卵・牛乳の検出率と2005～2007年までの検出率を比較した。但し、1 $\mu\text{g/g}$ 以上で定性法により確認されたものを検出とした。卵では2003年、2004年の旧検査法の検出率は19%、21%であった。改正のあった2005年は旧から新検査法へ移行する形で実施しており、旧法では10%であったが新法になると29%となった。その後2006年は13%、2007年は21%となった。一方、牛乳は旧検査法の2003年、2004年は27%、36%であったが、新検査法の2005～2007年では17%、14%、8%となった。これらの結果から、2005年の卵では新法への改正による検出率の上昇は抽出効率が向上したことが要因と考えられたが、牛乳では新法改正後に大きく低下した。

さらに卵、乳表示のある加工食品と表示のない加工食品を用いて、新旧の検査法による検出率を比較した。卵では旧法での検出率が8%であったものが、新法では42%となった。一方、牛乳では旧法で37%の検出率であったものが、新法では11%となり、新法では検出されない場合があることが示された。さらに旧検査法抽出液を使用した定性法において、新法の5 $\mu\text{g/g}$ 以下の検出ではOMとCNの分子量バンドの判定が困難となったため、阻害試験を行ったが多数のバンドが残存し判定不能となった。牛乳は加工条件等を検討した先行調査の結果、旧乳キットとCNキットの組み合わせで使用原材料を良好に検出していたものの、新法では検出率が大きく低下したことから、この要因として加熱変性した乳タンパク質の変性剤による高次構造の変化が示唆された。

えび・かにの追加

2008年6月にえび・かにが奨励から表示義務に追加され、検査法は2009年6月に設定された(図1)。えび・かには他の特定原材料とは異なり、漁獲法や食物連鎖による魚介類への混入が考えられ、これを非意図的混入とした。このような非意図的混入をコントロールすることはできないことから、魚介類原材料から加工食品へのえび・かにの混入がどの程度あるのかを把握する必要がある。そこで我々は表示制度の猶予期間である2010年6月製造までの魚介類加工食品について種類別に混入状況を調査した後、本格施行後の2010年7月製造から2012年までの魚介類加工食品におけるえび・かにの混入並びに注意喚起表記について調査を行った¹⁹⁾。尚、えび・かにの検査は甲殻類タンパク質(トロポミオシン)をELISAで定量し、PCRによりえび・かに遺伝子の確認を行う。

2010年6月製造までの20食品のうち原材料として小魚あるいは魚肉が含まれる13食品のうち11食品で甲殻

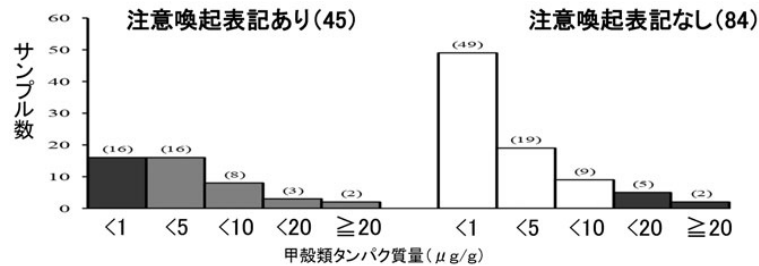


図3 魚介類加工品からの甲殻類タンパク質の検出と注意喚起表記
() 内サンプル数
本図は文献19から引用し、一部改変した。

類タンパク質が検出されたが、貝類や魚エキスおよび魚粉が含まれる7食品からは検出されなかった。そこで、施行後の調査では、魚肉生すり身30食品および魚介類を原材料とする加工食品129食品について測定した。その結果、魚肉生すり身はタラ類やホッケ、ホキなどの大型魚では甲殻類タンパク質は定量限界以下となったが、シログチやイトヨリダイ、ヒメジからはいずれも検出された。そして魚肉すり身を原材料とした魚練り製品の甲殻類タンパク質の混入率は43 %、煮干や佃煮などの小魚を含む加工食品の混入率は63 %と高い混入率を示した。一方、アサリ、イカなどの魚以外を原材料とする加工食品からは検出されなかった。

さらにPCRによる確認検査では、えび類に含まれるあきあみが検査法であるえびプライマーでは確認できないことから、えび・かにを原材料とする加工食品へのあきあみの混入率をPCRにより調査した。その結果、あきあみの混入率は73%となり、えびの混入率55%を大きく上回ったことから、あきあみプライマーによる確認を追加する必要があると考えられた。

次に注意喚起表記をみると(図3)、表記があり検出されたものと表記がなく検出されなかったもの、すなわち表示が妥当であったものは58 %であった。注意喚起表記では2010年に事業者に対しコンタミネーション防止の徹底が推奨されたが、一方えび・かにでは「原材料中の意図しないえび、かにの混入頻度と混入量が低いものについては、患者の食品選択の幅を過度に狭める結果になることから注意喚起表記は必要ない」という判断が消費者庁より示されている¹¹⁾。

えび・かににアレルギー患者がえび、かにの加熱品や加工食品の摂取によりアレルギーを発症した経験のある割合は、それぞれ69 %、49 %と比較的高いことが報告されている²⁰⁾。本結果では魚介類を原材料とする加工食品のうち10 μg/g以上検出された加工食品は9.3 %に上ったが、これまでえび・かにの魚介類加工品による誤食事例がみられないことから、非意図的混入に対するえび・

かにの表示は現在適切に行われていると考えられた。

調理・加工によるタンパク質の変性

アレルギーを含む食品の検査は含まれる原材料が適切に表示されているかを監視するための科学的な根拠であり、アレルギー発症を引き起こすかどうかを示すものではない。これは表示制度についてお話しする際に、行政検査並びに検査法の解釈として必ず解説している。

他方これらの検査を通して、食品の加工によりタンパク質が変性し定量値が顕著に低下する場合があること、そしてアレルギー患者によっては加工食品であれば摂取可能である場合があり^{13, 14)}、タンパク質の変性による抗体との結合能の変化がアレルギー症状誘発の可能性を評価できることが考えられる。これらの実態を踏まえて、次に調理・加工によるタンパク質変性について検討した結果を紹介したい。

3大アレルギーのうち卵アレルギーは乳幼児に患者数が多いものの成長するうちに摂取可能となる場合が多い。その要因のひとつに卵の主要なアレルギーであるOVAが加熱により変性しやすいことが示唆されている。そこで、卵調理によるタンパク質の変性について検討した²¹⁾。

卵を全卵、卵白、卵黄に分け、モデル食品としてケーキ、肉団子、パスタ、プリンを作製し、さらにこれらに相当する市販食品についてもELISAにより卵タンパク質を定量し、ウエスタンブロット法によりOVA、OMを確認した。検査法の旧ELISAキット、すなわち抽出液に変性剤を用いないOVA、OVM、卵キットを用いた。調理により食品中の卵タンパク質量は顕著に低下し、特にOVAキットの低下が顕著であった。また、小麦粉を用いた調理の場合は、小麦中のグルテンとOMとの反応により、不溶化が起こることが知られており²²⁾、OMキットではケーキの定量値が顕著に低下した。また、3キットの比較では、熱耐性のあるOVMを対象としたOVMキットが表示制度における検出に最も適していると考えられた。次に卵黄を使用した調理食品並びに市販食品中の卵

表 3 卵黄使用調理食品と市販加工食品からの卵タンパク質の検出

No.	食品	卵原材料	ELISA($\mu\text{g/g}$)				ウエスタンブロット		
			OVA キット (旧キット)	卵キット (旧キット)	FASPEK OVA キット (新キット)	Ver.II 卵キット (新キット)	ウサギ IgG キット (OVA/OVM) (旧キット)	ヒト IgE (OVA/OVM)	ウサギ IgG FASPEK キット (OVA/OVM) (新キット)
1	ケーキ(焼)	卵黄	13.7	8.2	>20.0	>20.0	+/+	-/+	nt
2	ケーキ(揚)	卵黄	9.5	7.4	>20.0	>20.0	+/+	-/+	nt
3	ケーキ(蒸)	卵黄	10.1	>20.0	>20.0	>20.0	+/+	-/+	nt
4	肉団子(焼)	卵黄	4.6	>20.0	>20.0	>20.0	+/+	-/+	nt
5	肉団子(揚)	卵黄	<0.4	>20.0	>20.0	>20.0	±/+	-/+	nt
6	肉団子(蒸)	卵黄	10.3	>20.0	>20.0	>20.0	+/+	-/+	nt
7	肉団子 (レトルト処理)	卵黄	<0.4	6.1	9.2	>20.0	-/-	-/-	-/+
8	パスタ(茹)	卵黄	0.6	1.6	>20.0	>20.0	+/+	-/-	+/+
9	チョコレートラスク	卵黄	<0.4	<0.5	1.4	<1.0	-/-	-/-	-/+
10	卵ボーロ	卵黄, 卵殻カルシウム	>25.6	>20.0	>20.0	>20.0	nt	nt	nt
11	クラッカー	卵黄	<0.4	1.4	<1.0	1.1	-/+	-/-	-/-
12	ケーキ	卵黄	>25.6	>20.0	>20.0	>20.0	nt	nt	nt
13	マヨネーズ	卵黄	>25.6	>20.0	>20.0	>20.0	nt	nt	nt
14	しゅうまい	卵黄	<0.4	<0.5	12.1	14.1	-/+	-/-	+/+
15	クリームソース (レトルト処理)	卵黄	<0.4	1.8	3.3	7.4	-/+	-/-	±/±
16	カルボナーラソース (レトルト処理)	卵黄	<0.4	>20.0	>20.0	>20.0	nt	nt	nt
17	カルボナーラソース (缶)	卵黄	<0.4	>20.0	>20.0	>20.0	nt	nt	nt

データは2回の平均値(3ウェル測定)

OVA: オボアルブミン, OVM: オボムコイド, +: 検出, -: 不検出, ±: 痕跡程度, nt: 未測定

本表は文献21から引用し、一部改変した。

タンパク質をSDSと2-MEを添加した抽出液を用いた新キットで測定した結果(表3), レトルト処理を除き20 $\mu\text{g/g}$ 以上となったことから, これらの値の低下は加熱変性したタンパク質のPBS(リン酸緩衝液)への不溶化であることを確認した。また, ウエスタンブロット法による確認では, ヒトIgE抗体はいずれの食品中のOVAも検出できなかった。本間ら²³⁾はヒトIgE抗体がOVAの高次構造を認識していると示唆しており, 調理・加工によるOVA高次構造の変化がI型アレルギー症状の誘発に大きく関与していると考えられた。

次に日本の伝統食品である大豆加工品について, 大豆の主要アレルゲンである β -コングリシニンとGly m Bd 30Kをターゲットとした2種のELISAキットを用いて測定を行った²⁴⁾。大豆から炒り豆, 煮豆, 豆乳, ゆば, 豆腐, 揚げ豆腐, おからの7種類の大豆調理品を作製し, さらに大豆発酵食品や健康食品についても測定した。ELISAは検査法の2回目の改正において抽出液にSDSと2-MEを添加したものと3回目の改正において2-MEを亜硫酸ナトリウムに変更したもの(現行のELISA)を用いて測定し, 総タンパク質量をPBSとSDS, 2-MEを添加したPBSを用いて測定した。SDSポリアクリルアミド電気泳動の解析結果と合わせ, 調理による大豆タンパク質

の変性を解析し, 大豆では加工時並びに加工による水分量的変化がタンパク質変性の重要な因子であることを明らかにした。また, 大豆タンパク質のほとんどがアミノ酸やペプチドに分解されていると考えられる味噌と納豆の測定結果はターゲットアレルゲンの異なる2種のキットで大きく異なり, 興味深い結果となった。さらに本検討により日本の伝統的な大豆加工食品の製法がいかに大豆タンパク質を効率よく抽出し, 多様な食品を生み出しているのかに感心させられ, また大豆加工に関する専門的な論文を目にする良い機会となった。

加熱変性卵白によるアレルギー症状の誘発

最後にタンパク質の加熱変性による変化がアレルギー症状誘発にどのような影響を及ぼすのかを検討した研究を紹介したい。我々はこれまで紹介した加工食品の加熱処理をヒントに, また既報²⁵⁾のOVAの加熱条件による変性状態の変化を参考とし, 卵白処理を80 $^{\circ}\text{C}$ 15分, 100 $^{\circ}\text{C}$ 5分, 121 $^{\circ}\text{C}$ 40分(レトルト処理)とした卵白食と未変性卵白食を食物アレルギーモデルマウスに摂取させ, その腸管におけるアレルギー症状等を解析した²⁶⁾。

未変性卵白食に比べ80 $^{\circ}\text{C}$ 15分処理では長期摂取で

アレルギー症状が悪化することが示された。また、100℃ 5 分では軽度の腸管のアレルギー症状が観察されたものの、その症状は回復した。そして121℃ 40 分ではアレルギー発症はなく、血中のOVA上昇もみられなかったことから、OVAとして吸収されなかったと考えられた。本結果から、アレルゲンの加熱変性によりアレルギー症状の誘発をコントロールすることができることを明らかとした一方、一旦アレルゲンとして感作されると誤食などによる患者の食生活へのダメージが大きいことを再認識させられた。現在、この結果を基に症状の軽減化や脱感作についての研究を進めており、随時報告していきたいと考えている。

おわりに

食品表示制度におけるアレルゲンを含む食品の検査を始めとして、調理・加工によるタンパク質の変性とそのアレルギー症状の誘発について進めてきた共同研究を通じて、食生活について昨今考えることを結語としたい。物流が様々に発達し、食の国境はないと言っていいほど日本には多くの食材が集まっている。ITによる情報により急激に流行する食材や食品が出回るなど、食生活がこれまでとは大きく変化し、アレルゲンの種類も変化している。世界で共通認識されているアレルゲン以外はその国特有の食文化や食習慣を表しているという説明は、もはや時代遅れになってしまったようだ。しかし、日本人男性で乳糖を消化できない人の割合が多いことやアルコール分解能の違い、日本の伝統食品の食材である大豆や米、海藻などの消化効率が日本人ではよいこと、また多様な発酵食品を生み出していることなどの日本の食習慣から獲得してきた体質や特性があり、食文化として培ってきたことを忘れてはならない。アレルギー予防という観点からも、故きを温ねて、子どもの成長や自分の体質を理解し体調を把握し、体に合った食品をバランスよく摂取することが自身の健康をサステナブル（持続可能）にする方法ではないかと感じている。

謝辞

食品免疫学をご指導頂きました東京大学名誉教授 上野川修一先生、前東京大学助教授 飴谷章夫先生、並びに実験等で多大なるご協力を頂きました東京大学大学院農学生命科学研究科 旧食品生化学研究室の皆様謹んで深謝いたします。また現在食物アレルギーモデルマウスを用いた共同研究にご尽力頂いております東京大学大学院 農学生命科学研究科 食の安全研究センター 免疫制御研究室 准教授 八村敏志先生、同特任助教 足立はるよ先生、東北大学大学院 農学研究科 教授 戸田雅子

先生に謹んで深謝いたします。

食品表示制度の特定原材料検出法検討会に参画させて頂き、多くのご助言を頂きました星薬科大学 薬学部 教授 穂山浩先生、国立医薬品食品衛生研究所 渡邊敬浩博士に深謝いたします。

食品表示制度の検査や食品中のタンパク質変性に関する共同研究に参画頂きました千葉大附属病院 アレルギーセンター客員教授 下条直樹先生、前国立成育医療センター研究所 田中和子先生、川崎市健康安全研究所 赤星千絵氏、川崎市 大澤伸彦氏、横浜市衛生研究所 清田清隆氏、相模原市衛生研究所 伊関直美氏、同井村香織氏、同 植田壽美子氏に深謝いたします。

文献

- 1) 穂山浩, 豊田正武, 食物アレルギー表示に伴う特定原材料検出法の概要, 食品衛生研究, 52, 6, 65-73(2002).
- 2) 穂山浩, 五十鈴川和人, 張替直輝, 渡邊裕子他, 特定原材料 (卵) 測定の厚生労働省通知ELISA法の複数機関による評価研究, 食衛誌, 44, 5, 213-219(2003).
- 3) 穂山浩, 五十鈴川和人, 張替直輝, 渡邊裕子他, 特定原材料 (牛乳) 測定の厚生労働省通知ELISA法の複数機関による評価研究, 食衛誌, 45, 3, 120-127 (2004).
- 4) 穂山浩, 五十鈴川和人, 張替直輝, 渡邊裕子他, 特定原材料 (小麦) 測定の厚生労働省通知ELISA法の複数機関による評価研究, 食衛誌, 45, 3, 128-134 (2004).
- 5) 穂山浩, 五十鈴川和人, 張替直輝, 渡邊裕子他, 特定原材料 (そば) 測定の厚生労働省通知ELISA法の複数機関による評価研究, 食衛誌, 45, 6, 313-318 (2004).
- 6) 穂山浩, 五十鈴川和人, 張替直輝, 渡邊裕子他, 特定原材料 (落花生) 測定の厚生労働省通知ELISA法の複数機関による評価研究, 食衛誌, 45, 6, 325-331 (2004).
- 7) 高畑能久, ELISAによる特定原材料の検出について (1), 食衛誌, 43, J-275-277(2002).
- 8) 豆越慎一, ELISAによる特定原材料の検出について (2), 食衛誌, 43, J-277-279(2002).
- 9) 布藤聡, PCRによる特定原材料の検出について(2), 食衛誌, 43, J-280-282(2002).
- 10) 平成27年3月30日消食表第139号 食品表示基準 別添 アレルゲンを含む食品に関する表示.

- 11) 平成27年3月30日消食表第140号 食品表示基準Q & Aについて 別添 アレルゲンを含む食品に関する表示.
- 12) 伊藤浩明, アレルゲン検索法の実際, アレルギー, 57, 11, 1109-1116, 2008.
- 13) 八木映子, 宇理須厚雄ら, 加熱卵白経口負荷試験の意義について, 日本アレルギー学会誌, 10, 1, 24-31, 1996.
- 14) 琴寄剛, 高橋由利子ら, 食物アレルギーが疑われる小児例におけるオボアルブミン, オボムコイド, 加熱牛乳に対する特異的IgE抗体測定の有用性の検討, 日本小児アレルギー学会誌, 15, 2, 201-207, 2001.
- 15) 渡邊裕子, 甲斐茂美, 三谷智雄, 横山洋司, 岸美智子, 食肉加工品および冷凍食品からのアレルギー物質(卵・乳)の検出に関する検討, 食衛誌, 46, 139-147(2005).
- 16) 渡邊裕子, 児玉千絵, 関戸晴子, 済田清隆, 宮沢啓貴, 渡部健二郎, 田中幸生, 山田利治, 食品中のアレルギー物質検査における精度管理の検討-I 酵素免疫測定法(ELISA)による定量, 神奈川衛研報告, 37, 53-55(2007).
- 17) 渡邊裕子, 赤星千絵, 済田清隆, 橋口成喜, 関戸晴子, 渡部健二郎, 田中幸生, 食品中のアレルギー物質検査における精度管理の検討-II 可溶化剤を用いた抽出法による定量・定性, 神奈川衛研報告, 40, 24-28(2010).
- 18) 渡邊裕子, 赤星千絵, 済田清隆, 関戸晴子, 橋口成喜, 渡部健二郎, 田中幸生, 特定原材料検査(卵・乳)における新・旧検査方法の比較, 食衛誌, 52, 71-77(2011).
- 19) 渡邊裕子, 済田清隆, 赤星千絵, 大澤伸彦, 橋口成喜, 宮澤眞紀, 魚介類加工食品に含まれるアレルギー物質(えび・かに)の検出, 食衛誌, 55, 41-54(2014).
- 20) 富川盛光ら, 日本における小児から成人のエビアレルギーの臨床像に関する検討, アレルギー, 55, 1536-1542(2006).
- 21) 渡邊裕子, 赤星千絵, 関戸晴子, 田中幸生, 田中和子, 下条直樹, 調理による卵アレルゲンの変性, 食衛誌, 53, 98-104(2012).
- 22) Honma, K., et al. Antigenic determinants on ovalbumin and ovomucoid; Comparison of the specificity of IgG and IgE antibodies. *Arerugi*, 40, 1167-1175(1991).
- 23) Kato, Y., Oozawa, E., Matsuda, T. Decrease in antigenic and allergenic potentials of ovomucoid by heating in the presence of wheat flour; Dependence on wheat variety and inter-molecular disulfide bridges. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3661-3665(2001).
- 24) 渡邊裕子, 秋山晴代, 大澤伸彦, 井村香織, 伊関直美, 植田壽美子, 政岡智佳, 赤星千絵, 大豆タンパク質の定量に及ぼす調理・加工の影響, 食衛誌, 62, 6, 193-202(2021).
- 25) Rumbo, M., Chirido, F. G., Fossati C. A., Anon M. C., Analysis of structural properties and immunochemical reactivity of heated-treated ovalbumin. *J Agric Food Chem* . 44, 3793-3798(1996).
- 26) Watanabe H, Toda M, Sekido H, Wellner A, Fujii T, Henle T, Hachimura S, Nakajima-Adachi H, Heat treatment of egg white controls allergic symptoms and induces oral tolerance to ovalbumin in a murine model of food allergy, *Mol, Nutr, Food Res*, 58, 394-404(2014).

The detection of allergens in processed foods ~From the examination of food labeling~

Hiroko WATANABE

Key Words : cooking and processed, allergen, food labeling system, ELISA, western blotting, polymerase chain reaction

20 years have passed since the food allergy labeling system was brought into effect in 2002, as well as our participation in the launch of the inspection method that same year. This paper will introduce the results of our research on denatured protein in foods, including the actual state of allergen detection from processed foods which began with the examination of testing methods, the examination of validation and precision control of testing methods, the examination of protein denaturation due to cooking and processing, as well as the examination of allergic symptoms induced by heat-denatured egg whites.