

氏名	中村政志
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙第518号
学位授与の日付	平成27年10月6日
学位論文題名	加水分解コムギ含有石鹼による新規な即時型コムギアレルギーの原因抗原の解析
指導教授	松永佳世子
論文審査委員	主査 教授 橋本敬一郎 副査 教授 内藤健晴 教授 堀口高彦

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

加水分解コムギ(HWP)は、小麦グルテンを酸やアルカリ、酵素などにより加水分解して作られる。多様なHWPが化粧品等に汎用されているが、近年、洗顔石鹼に含まれたHWP、グルパール®(GP)19Sによる即時型コムギアレルギー(GP19S-IWA)が多発し、社会問題となった。この化粧品による経皮感作食物アレルギーの発症機序を解明することは、化粧品・医薬部外品等の安全性において緊急かつ重要な課題である。

### 【目的】

本研究では、1)GP19Sの原因抗原の解明、2)GP19Sの他のHWPとの交叉抗原性の解明を目的とした。

### 研究1：GP19Sの原因抗原の解明

#### 【方法】

GP19Sは小麦グルテンを出発原料とし、塩酸の添加、加熱、pH4での等電点沈殿、中和、凍結乾燥の工程からなる。GP19S製造工程別の中間体試料を対象に、ゲル電気泳動、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、高速液体クロマトグラフ質量分析(LC/MS/MS)によって、タンパク質組成を解析した。各製造工程試料の抗原性をGP19S-IWA患者の血清中IgE抗体を指標としたWestern Blottingにより解析した。

#### 【結果】

GP19S製造工程別の中間体試料のWestern Blottingの結果、塩酸添加後に95℃に加熱した工程以降でGP19S-IWA患者IgE抗体の反応は顕著であった。IgE抗体が強く反応するようになった工程から、タンパク質は低分子量から高分子量に広く分布した状態になり、酸性で不溶性、中性で可溶性を示す物性へと変化した。IgE抗体との反応が強くなるほど、脱アミド化率は20%から45%~50%へと増加し、LC/MS/MSで低分子量(LMW)グルテンの検出される回数が増加した。

### 【考察】

グルテンを酸性条件下で高温処理した際に起きた脱アミド化反応が、大きな物性変化の要因であるとともに、抗原性を示す新たなアミノ酸配列を生じさせたと考えられた。LMWグルテニンが多く検出されたため、LMWグルテニンの脱アミド化物が主たる原因抗原になっている可能性があると考えられた。

### 研究2：他のHWPとの交叉抗原性の解明

#### 【方法】

分解方法や平均分子量の異なるGP19Sを含む10種のHWPを用い、GP19S-IWA 10例でELISA法とWestern BlottingによるIgE抗体との反応評価、GP19S-IWA 8例にプリックテストを施行した。各HWPのタンパク質組成を、ゲル電気泳動、SEC、LC/MS/MSによって解析した。

#### 【結果】

GP19S-IWA患者のIgE抗体は、GP19S以外にも4種のHWPと強く反応した。また、プリックテストでも同じ4種のHWPに強い反応を示した。交叉抗原性が低いHWPの脱アミド化率が10%~20%であったのに対し、交叉抗原性の高い4種のHWPでは、3種が40%~50%、1種が約90%であった。ただし、交叉抗原性のあまり高くない1種でも約75%の高い脱アミド化率を示すものがあつた。

### 【考察】

脱アミド化率の高いHWPに交叉抗原性が高い傾向が見られた。一方で、脱アミド化率が高いにも関わらず交叉抗原性の低いHWPが1種確認された。このHWPは平均分子量が数100Daと小さいため、IgE抗体との結合性が低くなっていると推察された。

### 【結論】

- 1)GP19Sの抗原は、グルテンを酸性条件下で高温処理した際に生じ、脱アミド化反応が抗原性に関与しており、脱アミド化したLMWグルテニンが主抗原である可能性を見出した。
- 2)脱アミド化率の高いHWPは、交叉抗原性を持つ可能性が高いことを明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

加水分解コムギを含有する石鹼による即時型アレルギーは、規模の大きさ及び重篤な副作用により、大きな社会問題となった。本研究では、この石鹼の原料である加水分解コムギの1種、グルパール(GP)19Sについて詳細な解析を行い、原因抗原の解明を目指した。また、他の加水分解コムギの交叉抗原性について研究を行った。

GP19Sに含まれる抗原は、小麦グルテンを酸性条件下で高温処理したことにより生成したと考えられるが、この処理によりGP19S原材料の脱アミド化率の上昇、その他の大きな物性変化、質量分析解析により実際にLMWグルテニン等が多く検出されるようになること等を明らかにした。また、世界で製造されている他の加水分解コムギに対して交叉抗原性を調べたところ、脱アミド化率が高い製品の多くで交叉抗原性の存在を明らかにした。本疾患の原因抗原の解明を目指して石鹼原料の物性、構成成分、免疫反応性について明らかにすることができ、今後の即時型コムギアレルギーの詳細な解明と対処へ向けて、基盤となる研究成果を得た。交叉抗原性の研究で明らかにした他の加水分解コムギ製品の反応性は、社会的にも重要な知見であると考えられる。

以上より、アレルギー研究分野において重要な研究結果を得ており、学位論文として十分な内容であると評価された。