

# 津山産小麦を用いた低アレルギー加工食品の提案

## Method for making wheat flour low allergenic, low allergenic wheat flour obtained by the method and wheat flour processed food from Tsuyama

桑守正範\*

Masanori KUWAMORI

### 1. まえがき

現代の日本における三大食物アレルギーは、以前は、鶏卵・乳製品・大豆といわれてきたが、近年は大豆に替わって、鶏卵・乳製品・小麦が三大食物アレルギーといわれるようになっており、実際これらは6歳までの乳幼児におけるアレルギーの6割を占めている。また、複数の食品を原因とする人においては原因食品の除去により食事の豊かさや、健康を損なう可能性がある。そして、原因食品を除いた除去食や代替食の栄養素の不十分さから、成長障害を起こす可能性も報告されている。

小麦において、アレルギー性を示すグルテンは特有の粘弾性を有すが、それは小麦食品の調理・加工に必要な成分として重要な役割を担っているため、グルテンの完全な除去は現段階では難しいとされている。そこで、低アレルギー食品への応用につなげるべく、小麦グルテンの低アレルギー化の検討を行った。

### 2. 本論

#### 2-1. 目的

多数存在する原因食品のなかでも小麦は、諸外国において Baker's Asthma やセアリック病などのアレルギー疾患の要因として知られており、我

が国においても食事依存性運動誘発アナフィラキシー (Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: FDEIA) の主要原因食品として「小麦」が最も頻度が高い食品であるとしている (FDEIA はアレルギー摂取のみでは症状を引き起こさず、アレルギー摂取後に運動を伴うことで発症し、吐き気、蕁麻疹、血管性浮腫、鼻炎、呼吸困難、喘息、意識障害などのアナフィラキシーショック症状が起るとされている<sup>1)</sup>)。本疾患を引き起こす小麦中の主要なアレルギー成分はグルテンであるが、グルテンは特有の粘弾性を有しており、うどんのコシやパンの膨らみなどはグルテンの性質によって与えられることが一般に知られている。グルテンは特有の粘弾性を有しており、うどんのコシやパンの膨らみなどはグルテンの性質によって与えられることが一般に知られている。即ち、グルテンは小麦食品の調理・加工に必要な成分として重要な役割を担っている。また、その特有の性質から、グルテンは米粉パンなど小麦粉を主原料としない加工食品にも添加物として応用されているため、グルテンをいかに対処するかが重要となる。

新居らは、小麦を高温高压で処理することによって抗原量が著しく低下することを報告している<sup>2)</sup>。

---

\*美作大学短期大学部栄養学科 教授

Mimasaka Junior College., Dept. Nutrition, Professor

また、渡辺<sup>3)</sup>、Tanabe<sup>4)5)</sup>らはプロメラインをはじめとする food processing 酵素などによる処理によって、グルテンの低アレルギー化が可能であることを報告している。渡辺や Tanabe らの用いた酵素以外にも、多数の food processing 酵素が存在するが、それらのうち、どの酵素が低アレルギー化に有効であるかの検証は未だ十分ではない。本実験では各種食品に food processing 酵素源を求めて検討を行ったが、その中でいくつか有用であると考えられる食品を認めたので本論文で紹介する。

## 2-2. 方法

### 2-2-1. 食品を用いた food processing (含有酵素によるタンパク質の部分分解) 法

小麦グルテン (グリコ社製: A-グル K) をグルテン標準とし、以下の食材を用いた処理を行った。各処理群では 50 ml 容ふたつき試験管にグルテン 1 g、試料を 10 g ずつ加え、3日間恒温槽 (35~40℃) に入れて放置した。Food processing 酵素源として本実験で検討した食品はタンパク質分解酵素を含む果実群として「パイナップル」、「パパイヤ」、「キウイ」、自己消化酵素を含む菌類として「エノキダケ」「コウジカビ」を用いた。

### 2-2-2. 人工消化試験によるタンパク質分解状況の調査法

上記の食材を小麦グルテンに作用させた後のサンプルを対象に人工消化試験を行い、残存タンパク質量の低下を持って低アレルギー化の指標とした。

各処理を行ったグルテンと未処理グルテン、試料のみを 50 ml 容ふたつき試験管に各 100mg とり、15mg のペプシン (キシダ化学株式会社、1:10,000) を含む 15ml の 1N 塩酸溶液に懸濁した。その後、37℃で 3 時間振とう後、NaOH を用いて中

和した。さらに 50mg のパンクレアチン (ナカライテスク株式会社) を含むリン酸ナトリウム緩衝液 (pH8.0) 7.5ml を加えたのち、37℃で 20 時間振とうした。放置後、等量の 10% トリクロロ酢酸を加え、遠心分離を行い、たんぱく質を沈殿させ、未消化タンパク画分を得た。また、消化機能が未熟な乳幼児の消化器官での条件を再現するため、上記実験のペプシン及びパンクレアチン濃度を 1 とし、1/2 および 1/10 の濃度でも同様の試験を行った。未消化タンパク質量は Lowry 法<sup>6)</sup>を用いて測定した。

### 2-2-3. 小麦アレルギー由来ペプチド感作を行ったマウス由来モノクローナル抗体を用いたアレルギー性評価法

武庫川女子大学から提供された小麦 GLIADIN 感作マウス由来モノクローナル IgG を用い、各種処理グルテンを対象に、各処理群の低アレルギー性評価を行った。

#### 2-2-3-1. 小麦アレルギーペプチド感作マウスの作成法

小麦アレルギーペプチドである SQQQPPF (3Q) および SQQQPPF (4Q) を用いた活性化エステル法により、カコガイヘモシアンと結合させ、ハプテン化抗原を作成した。6-8 週齢 BALB/c マウスの腹腔内にハプテン化 3Q、および 4Q を完全フロイントアジュバントとのエマルジョン形態で投与し、2 週間後にハプテン化 3Q、および 4Q を不完全フロイントアジュバントとのエマルジョン形態で投与した。さらに 2 週間後、ハプテン化 3Q、および 4Q を含む PBS を投与した。最後の投与から 3 日後に屠殺し、脾臓を摘出し、組織を金網メッシュ上でほぐした後、培地に懸濁、遠心分離を行った。

### 2-2-3-2. 小麦アレルゲンペプチド感作マウス由来モノクローナル抗体作成法

モノクローナル IgG を含む脾臓細胞培養上清 (90 ml) を Hi-Trap Protein A により精製し、ゲルろ過クロマトグラフィーにより最終精製を行ったものを小麦アレルゲンペプチド感作マウス由来モノクローナル抗体とした。

### 2-2-4. ELISA による各種処理グルテンのアレルゲン性検討

96 穴マイクロプレートウェルに抗原 (各首処理を行ったグルテン) を入れ、インキュベーション後に未吸着の抗原を界面活性剤でウェルから洗い流し、除去した。一次抗体 (小麦アレルゲン由来ペプチド感作を行ったマウス由来モノクローナル抗体) をウェルに加え、インキュベーションして一次抗体を抗原に結合させた。酵素標識二次抗体 (西洋わさびペルオキシダーゼ) をウェルに加え、インキュベーションして二次抗体を一次抗体に結合させた。酵素基質 (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine) をウェルに加え、インキュベーションして発色させた後、492nm の吸光度をマイクロプレートリーダーを用いて測定した。

## 2-3. 結果

### 2-3-1. 人工消化試験によるタンパク質分解状況の調査結果

「パイナップル」、「パパイヤ」、「キウイ」、「エノキダケ」、「コウジカビ」の 5 種類の食品を試料として用い、低アレルゲン化の検討を行った結果、「パパイヤ」、「エノキダケ」、「コウジカビ」の 3 食品において比較的顕著な変化が見られたため、人工消化試験、ならびに ELISA の結果は本三品目に関して示す。ただしパパイヤ・キウイについても植物性酵素濃度季節変動も視野に入れねばならぬ為、本サンプルが低アレルゲン能に欠くとは結

論できない。

「パパイヤ」、「エノキダケ」、「コウジカビ」の各処理群における人工消化試験結果を表 1 に示す。未処理グルテンに比してどの群においても優位に残留タンパク質量は優位に低下し、特にエノキダケにおいて減少が著しかった。本結果からパパイヤとエノキダケの植物性酵素、および麹菌がグルテンを部分消化したものと考えられる。成人の消化液の濃度よりも低い消化液濃度である 1/2、1/10 のそれぞれの濃度における人工消化試験結果を表 2 に示す。未処理グルテンと比較して、やはり先の結果同様すべての群で同様の結果が得られたため、消化が不十分な乳幼児に対しても先の三食品による酵素処理はアレルゲン性の発現抑制に対して有効な手段ではないかと考えられる。

### 2-3-2. ELISA による抗原性の変化調査結果

本項においても人工消化試験結果同様、「パパイヤ」、「エノキダケ」、「コウジカビ」の 3 食品に関して ELISA 結果を表 3 に示す。未処理グルテンに比してどの群においても優位に抗原量は優位に低下し、やはりエノキダケにおいて減少が著しかった。本結果からパパイヤとエノキダケの植物性酵素、および麹菌がグルテンを部分消化したものと考える人工消化試験結果を裏付けるものとする。

## 3. 結語

本実験結果より、食品中酵素に小麦グルテンを一定時間暴露した場合、食品中酵素の働きによりグルテンが一部分解されることが明らかとなった。また部分分解の結果、抗原性も明らかに減少していることが証明された。また、低アレルゲン化の強度はエノキダケ、コウジカビ、パパイヤの順に強いことが示唆された。

#### 4. 謝辞

本実験を進行するに当たり、抗体を提供していただくなど格別のご協力をいただいた武庫川女子大学の高橋享子教授にこの誌面にて謝意を表す。

#### 5. 参考文献

- 1) 香西はな, 矢野博己, 加藤保子, 小麦タンパク質とアレルギー—小麦依存性運動誘発アナフィラキシーに注目して—. 川崎医療福祉学会誌, 16(1), 11-19, 2006.
- 2) 新居佳孝, 岡久修己, 大村芳正, 小麦アレルギーの検出法とその低減化に関する研究. 徳島工技センター業務報告平成16年度, 52, 2006.

3) 渡辺道子, 渡辺純, 園山慶, 田辺創一, 酵素分解による小麦粉の低アレルギー化. 日本農芸化学会誌, 76, 1090-1091, 2002.

4) TANABE Soichi, WATANABE Michiko, Production of Hypoallergenic Wheat Flour. Food science and technology research, 5, 317-322, 1999.

5) 田辺創一, 手崎彰子, 渡辺道子, 池澤善郎, 荒井綜一, ブロメライン処理による低アレルギー化小麦粉の作製およびその製パンへの応用: 食品. 日本農藝化学会誌, 70, 19, 1996.

6) Lowry et al., J. Biol. Chem. 193: 265-275, 1951.

#### 6. 表

表1. 各種処理グルテン人工消化試験後の未消化タンパク質量(mg/g)

群名	未処理群	パパイヤ処理群	エノキタケ処理群	麹菌処理群
	480±0.24	128±0.13*	62±0.04*	131±0.18*

値は平均値±標準誤差で表した

\*: 未処理群に比して P<0.05 で有意差を認める。

表2. 消化酵素濃度を減じた各種処理グルテン人工消化試験後の未消化タンパク質量(mg/g)

群名	未処理群	パパイヤ処理群	エノキタケ処理群	麹菌処理群
1/2 濃度	486±0.26	168±0.13	68±0.05	134±0.20
1/10 濃度	490±0.31	198±0.15*	73±0.06*	141±0.22*

値は平均値±標準誤差で表した

\*: 未処理群に比して P<0.05 で有意差を認める。

表3. ELISAによる未処理群に比した各種処理群における抗原性の減少の検討

(未処理群を1としたときの各群の割合)

群名	未処理群	パパイヤ処理群	エノキタケ処理群	麹菌処理群
	1	0.39±0.01*	0.20±0.01*	0.24±0.01*

値は平均値±標準誤差で表した

\*: 未処理群に比して P<0.05 で有意差を認める。