

生活環境中のアレルギー原因物質について - 食品を中心に

手島玲子

Hypersensitivity about Environmental Chemicals
-Mainly about Food Allergy-

Reiko Teshima*

The hypersensitivity of environmental chemicals and natural products has been reviewed. Among environmental chemicals, small molecular weight molecules work as hapten and cause immediate-type and delayed-type hypersensitivity. Among natural products, relatively lower molecular weight protein or glycoprotein (MW 10,000 - 70,000kDa) work as allergen and cause mainly immediate-type hypersensitivity. In recent years, amino acid sequence of important natural allergens have been determined, and three-dimensional structure and IgE epitopes of some of these allergens have also been determined. The characteristics of both inhalation and food allergens have been summarized. As for food allergens, the stability of these proteins in simulated gastric fluid(SGF) was one of most important characteristics. In the last parts, the approach to the assessment of allergenic potential of genetically modified foods has been summarized.

Keywords:hypersensitivity, food allergy, IgE, genetically-modified food, environmental chemicals.

1. はじめに

アレルギーは、免疫反応に基づく全身性、あるいは局所性の生体にとって有害に作用する反応である。世の中に存在する物質で、アレルギーの起因物質となりえるものは、おそらく莫大な数にのぼるものと思われる。生活環境中のアレルギー原因物質としては、化学薬品等の低分子物質と主に高分子よりなる天然由来のアレルゲンがある。本稿では、環境中の低分子物質並びに天然由来のアレルゲンについて概観した後、食物由来のアレルギー原因物質について紹介し、最近開発されてきた遺伝子組換え食品のアレルゲン性試験についても紹介を行う。

2. 化学薬品等の低分子物質とアレルギー反応

化学物質のアレルギー反応への関与は、表1に示すように、3つに分類して考えることができる¹⁾。第一に化学物質そのものが抗原性を持つ場合がある。これら低分子化合物は、単独では免疫原性を持たず、キャリアタンパク質との結合により免疫反応を惹起すると考えられている。その機序としては2つが想定されている。すなわち、①ハプテン-キャリアの形成、②新たな抗原決定基(new antigenic determinant=neo-antigen)の生成である²⁾。タンパク質との

結合能を有する低分子化合物でも、IgE抗体産生を伴う即時型アレルギーを惹起する場合と、感作リンパ球による遅延型アレルギーを主に惹起する場合がある。即時型を誘発するか、遅延型を誘発するかは、化合物とタンパク質の複合体が活性化するTリンパ球の種類に依存すると思われる。

即時型アレルギー反応を惹起する化合物としては、工業製品に使われており職業性喘息の原因とされているイソシアネート類および無水酸(acid anhydride)、ならびに医薬品であるペニシリンGなどがよく知られている。Toluene diisocyanate(TDI)³⁾はポリウレタンなどの原料として用いられており、TDIそのもの、これを用いたポリマーの製造に従事する人、あるいはポリウレタン製品を取り扱う人にアレルギー疾患を起こすことがよく知られている⁴⁾。TDI感作を受けた人の血液中の特異的IgE抗体を調べてみると、陽性率は十数%程度になるといわれている。エポキシ樹脂のactivatorであるtrimellitic anhydride(TMA)^{5,6)}なども強力なアレルゲンであることが知られている。この物質に対して感受性のヒトの血清中にはTMAに特異的IgE抗体が存在する例が報告されている⁵⁾。ペニシリンGによるアレルギー反応は、分解産物のD-benzylpenicillenic acid(BPE)とタンパク質との結合が報告されている⁷⁾。

次に、遅延型アレルギー反応を惹起する典型的な例について紹介する。遅延型アレルギー反応の典型的な症状は、接触皮膚炎であるが、皮膚炎を起こす物質としては、dinitrochlorobenzene(DNCB)、oxazolone、ゴム加硫促進剤として用いられているメルカプトベンゾチアゾール系化合物、さらに

*To whom correspondence should be addressed: Reiko Teshima; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel:03-3700-9437 FAX:03-3707-6950
E-mail address:rteshima@nihs.go.jp

表 1 化学物質によるアレルギー反応

(1)化学物質そのものが抗原性を持つ場合
(a)即時型アレルギー反応を惹起するもの(抗体の産生のみられるもの)
Trimellitic anhydride(TMA), Toluenediisocyanate(TDI), Penicillin G(PCG)他
(b)遅延型アレルギー反応を惹起するもの(感作リンパ球との間の免疫反応)
Dinitrochlorobenzene(DNCB), Oxazolone, 2-mercaptobenzothiazole, Cr, Ni 他
(2)偽アレルギー反応を惹起する場合
(初期反応が、即時型アレルギー反応に類似しているもの)
アスピリン、ポリミキシンB, ヨード造影剤, Vanadium compounds等
(3)アレルギー反応を促進する場合
Diesel engine particle (DEP), オゾン

老化防止剤として用いられるフェニレンジアミン系化合物(特に, N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylene diamine)による接触皮膚炎がよく知られている⁹⁾. 金属製品ではニッケル, コバルト, ときには金による接触皮膚炎が起こることが報告されている⁹⁾.

第二に初期反応が、即時型アレルギー反応に類似している、いわゆる偽アレルギー反応を起こす例について記述する. 表 1 にも示しているが、偽アレルギー反応で最もよく知られているのは、医薬品のアスピリンで、特異抗体の産生がないにもかかわらず、喘息症状を引き起こすが、これはアラキドン酸代謝系変調を引き起こすことによるものと考えられている¹⁰⁾. また、同じく医薬品のポリミキシンB, およびヨード造影剤では、アナフィラキシー様反応を誘導する例が知られているが¹¹⁾, これは、肥満細胞からのヒスタミン遊離を促すためと考えられている. 食品添加物の tartrazine も、感受性を示す人の血液中に特異抗体は証明されないこと、アラキドン酸カスケードに作用するという実験結果も報告されていることより、偽アレルギー反応によるものと考えられる^{12, 13)}.

表 1 の最後には第三の分類で、アレルギー反応を促進する例として、diesel exhaust particle (DEP), オゾンを示してあるが^{14, 15)}, 最近大気中の SPM (small particle materials (空气中浮遊物質), 直径 10μ 以下)の中で、特に PM_{2.5} (直径 2.5μ 以下, DEP 等の化学物質が主成分)と健康被害の関係を調べる調査が始まっており、アレルギー発症の低減を図るうえで重要な動きと考えられる. また、家屋内空気汚染物質のホルムアルデヒドが、即時型アレルギー反応を促進するとの報告もある¹⁶⁾.

3. 天然由来のアレルゲン

天然由来の植物や動物成分の中にはアレルゲンになるものがあり、環境中のアレルゲンの大部分を占めており、その大部分は即時型アレルギー反応を誘起する. アレルゲン性疾

患の原因となる花粉, ダニ, 真菌, 食物, 動物の表皮などはいずれも、極めて多様な成分から構成されている. これらの成分も含めて、われわれの周囲には無数といってよいほどの外来抗原が存在するが、その中でアレルゲンとなるものは限られたもののみである. このことから以前には、アレルゲンは普通の抗原とは異なった特殊な構造をもち、その構造によってアレルゲンとしての機能を発揮するという考えがあったが、数多くの精製アレルゲンの物理化学的、免疫化学的性質の解析からも、最近の cDNA クローニングの結果からも、他の抗原と明確に区別されるアレルゲンたるべき特殊な構造というものは見い出されていない. しかし、抗原性を有するすべての物質がアレルゲンとなりうるわけではない. 表 2 に、これまでに精製された食物由来を除く代表的なアレルゲンを示すが¹⁷⁾, これらのアレルゲンには共通した性質が見い出される. これらのアレルゲンはすべてタンパク質、もしくは糖タンパク質であり、分子量はおおよそ $5 \text{千} \sim 6 \text{万}$ の間に分布している. このことは、アレルゲンの侵入経路にあたる気道、消化管の粘膜の透過性と関係があると思われる. 上記分子量より高分子量のタンパク質は粘膜を透過することができず、免疫担当細胞に到達しえないためにアレルゲンはなりにくく、逆に、低分子物質は、そのままの形では十分な免疫原性をもたないため、アレルゲンはなりにくいと考えられる. アレルゲンの IgE 抗体の産生の程度は、投与経路、投与量、適当なアジュバンドの使用に左右されると考えられる. IgE 抗体はアレルゲン分子の高次構造 conformational structure を認識することが多い. アレルゲン分子の高次構造を加熱や酸, アルカリ, あるいは変成剤処理で破壊するか、タンパク質分解酵素で分解するとアレルゲン活性の低下が見られるが、種々の処理に対する抵抗性は個々のアレルゲン分子によって異なっている.

また、IgE 抗体の結合部位が明らかとなり、アレルゲンとしての三次構造の判明している例を表 3 に示す¹⁸⁾. アレルギーの原因となる物質の中には1種類のアレルゲンのみでは

なく、複数のアレルゲンが含まれている場合が多い。これらの多種類のアレルゲンに対してアレルギー患者は一樣に感作されているわけではなく、大多数の患者が感作されている major allergen と、一部の患者が感作されている minor allergen に大別できる。同じものに含まれるアレルゲンでも、あるものは major allergen となり、あるものは minor

allergen となるのは、個々のアレルゲンの免疫原性の強さ、遺伝的に支配されたヒト免疫応答性⁵⁵⁾とともに、個々のアレルゲンの含量、すなわち感作量もその要因として考えられる。通常は最も量の多い成分が major allergen となる。

さて、表 2 に示しているような精製アレルゲンに関しては、1986年に IUIS(International Union of Immunologi-

表 2 代表的な精製アレルゲン

由来	統一名	従来名	分子量	文献
花粉				
ブタクサ	Amb a1	AgE	37,800	18
	Amb a2	AgK	38,000	19
	Amb a3	Ra3	12,100	20
	Amb a4	Ra4	28,000	
	Amb a5	Ra5	5,000	21
	Amb a6	Ra6	11,500	22
イネ科 (ホソムギ)	Lol p1	Group I	27,000	23
	Lol p2	Group II	11,000	24
	Lol p3	Group III	11,000	25
スギ	Cry j1	SBP	40,000	26
カンバ	Bet v1	Ag23	17,000	27
ダニ				
ヤケヒョウヒダニ	Der p1	P1, Dpt12, Dp42, DP1	25,000	28
	Der p2	DpX, DP2	15,000	29
コナヒョウヒダニ	Der f1	Ag11, Df6, DF1, Me2	25,000	30
	Der f2	Me1, DF2, Ag19/20	15,000	31
	Der f3		29,000	32
動物表皮				
ネコ	Fel d1	Cat-1	17,000	33
真菌				
アルテルナリア	Alt a1	Alt-1	31,000	34
アスペルギルス	Asp f1	-	18,000	35
クラドスポリウム	Cla h1	Ag32	13,000	36
昆虫				
ユスリカ	Chi t1	hemoglobin	16,000	37
ミツバチ	Api m1	phospholipase A2	15,800	38
スズメバチ	Ves g5	Ag5	25,000	39

表 3 三次元構造の判明しているアレルゲン

アレルゲン名	由来	生理的機能	折り畳み構造	IgE結合トポ	文献
Parvalbumin	コイの筋肉	カルシウム結合蛋白	α/β	不連続	41, 42
Albumin	ほ乳類	血清蛋白	α	連続及び不連続	43, 44
Bos d2	牛	lipocalin	α/β	不連続	45
Equ c1	馬	lipocalin	α/β	不連続	46
Amb t5	ブタクサ花粉		α/β		47
Bet v1	カバの木花粉	PR蛋白類似体	α/β	不連続	48
Bet v2(profilin)	カバの木花粉	actin-, PIP2結合	α/β	連続及び不連続	49
Arabidopsis profilin	Arabidopsis	actin-, PIP2結合	α/β	連続及び不連続	50
Phl p5	材アガリ草花粉	RNase?	α	連続及び不連続	51
Phl p2	材アガリ草花粉		β	連続及び不連続	52
Der p2	ダニ		β	不連続	53
Der f2	ダニ		β	不連続	54

α:α-helix, β:β-sheet

Immunol.Rev, 179, 119(2001)より抜粋

cal Societies)に設けられた Allergen Nomenclature Sub-Committeeによって統一的なアレルギー命名法が提唱され、現在ではこの命名法がほぼ定着している。この命名法によれば、アレルギーの名前をその由来の学名(属名3文字と種小名1文字、イタリック体で表す)と、精製された順のローマ数字で表す(ただし, major allergen は原則的にIとする)。例えば, スギ *Cryptomeria japonica* の major allergen, SBP は Cry jI となり, ブタクサ *Ambrosia artemisiifolia* の第5番めに精製されたアレルギー Ra5 は Amb aV となり, この命名法の導入により, 従来報告者ごとに異なった名前をつけたことによる混乱が回避されてきている。

4. 食物由来のアレルギー

今まで, 食物以外の主要アレルギーについて述べてきたが, 次に, 本論文の主要なテーマである食物アレルギーについて記述する。食物アレルギーの特徴を表4に⁵⁶⁾, 主なアレルギーを表5⁵⁷⁾に示す。表4に示す食物アレルギーの臨床症状について, 順次説明を加える。

(I) アナフィラキシー: 多くの食物は, 主に消化管(gastro-intestinal(GI) tract)を通して暴露されるため, 患者の多くが消化管の免疫機能の未熟な小児で, 症状も重篤であることが, 他のアレルギー疾患とは相違した特徴である。現在までに, その発生機序として, 消化吸收機能や経口免疫寛容誘導の未熟性や異常が指摘されてきたが, まだ解明されていない点が多い。食物によるアナフィラキシー反応としては, 抗原の再暴露により, 蕁麻疹, 血管浮腫, 気管支収縮, 血圧低

下, 吐き気, 下痢, 嘔吐, 腹部の痙攣等全身性の反応を呈する⁵⁸⁾。これら症状は, 再暴露からほぼ30分以内に引き起こされ, 症状は, 数時間で消える場合と, 8~32時間程度続く場合がある。これらの反応は, 口内粘膜, あるいは, 炎症を起こしている皮膚からの抗原の暴露でも引き起こされることがある。食物アレルギーの即時型反応を示すものとして, ピーナッツ, えび等の甲殻類, ナッツ, 牛乳, 卵があげられるが, 国内で, 厚生科学研究費により食物アレルギー対策検討委員会が, 平成11年度に行った食物アレルギーの即時型反応の実態調査結果では, 卵, 牛乳, 小麦が上位3を占め, ついでそば, えび, ピーナッツが続いており, 従来3大アレルギーの1つであった大豆は順位がさがったとの報告がある。

(II) 口腔アレルギー症候群(OAS): 通常は問題とはならない多種の果物や野菜の摂取で, 口腔に食物アレルギーを起こす症例である⁵⁹⁻⁶⁰⁾。この場合, 患者は, すでに木(樺)や, 雑草, ブタクサの花粉等に感作されていて, アレルギーの交差反応性に基づく症状の誘発現象ではないかと考えられている。多くの場合, ほとんどのアレルギー症状は口腔に限られ, 唇, 舌, 口腔のはれやかゆみを主な症状としている。これら症状は, 食物との接触から5分以内に起き, 30分以内にほぼ回復する。OASに関与する食物として, ブタクサアレルギー患者に対するメロンやバナナ⁶¹⁾, 樺の木の花粉に感受性の患者に対するりんご, なし, じゃがいも, ヘーゼルナッツ, にんじん, セロリ, キュウイフルーツ, ヤエムグラ感受性患者に対するセロリなどがある。ラテックスアレルギー患者で, バナナ, くり, アボガドやキュウイフルーツに

表4 食物アレルギーの臨床症状

-
- I. アナフィラキシー
 - II. 口腔アレルギー症候群 (Oral Allergy Syndrome)
 - III. 食餌依存性運動誘発アナフィラキシー
(food-dependent exercise-induced anaphylaxis)
 - IV. アトピー性皮膚炎
 - V. 消化管反応
 - A. IgE 依存性の即時型反応
 - B. 食物蛋白依存性の消化管炎症
 - C. 好酸球依存性の腸炎
 - D. Celiac disease (小児脂肪便症、グルテン感受性消化管炎)
 - VI. 呼吸器反応
 - A. 鼻炎
 - B. 喘息
 - VII. 職業性食物アレルギー
 - A. 蕁麻疹/血管浮腫/アナフィラキシー
 - B. 喘息
 - C. 過敏性肺臓炎
-

表 5 代表的な精製食物アレルギー

由来	統一名	従来名	分子量	文献	
動物					
さけ(<i>Sarimo salar</i>)	<i>Sal s1</i>	parvalbumin	12,000		
たら(<i>Gadus callarias</i>)	<i>Gad c1</i>	M(parvalbumin)	12,000	77	
卵白(Chicken egg) (<i>Gallus domestics</i>)	<i>Gal d1</i>	ovomucoid	28,000	78,79	
	<i>Gal d2</i>	ovalbumin	46,000	78,79	
	<i>Gal d3</i>	conalbumin(ovotransferrin)	78,000	78,79	
	<i>Gal d4</i>	lysozyme	14,000	78,79	
	<i>Gal d5</i>	serum albumin	69,000		
ウシ(cattel) (<i>Bos domestics</i>)	<i>Bos d2</i>	lipocalin	20,000	45	
	<i>Bos d4</i>	alpha-lactalbumin	14,200		
	<i>Bos d5</i>	beta-lactalbumin	18,300		
	<i>Bos d6</i>	serum albumin	67,000		
えび(<i>Metapenaeus ensis</i>) (<i>Penaeus aztecus</i>) (<i>Peanaeus indicus</i>)	<i>Met e1</i>	tropomyosin	20,000-30,000	80	
	<i>Pen a1</i>	tropomyosin	32,000	81	
	<i>Pen i1</i>	tropomyosin	36,000	82	
植物			34,000	83	
	りんご(<i>Malus domestica</i>)	<i>Mal d1</i>	profilin, Bet v1 homologue	18,000	
	西洋なし(<i>Pyrus communis</i>)	<i>Pyr c1</i>	Bet v1 homologue	18,000	
	アボガド(<i>Persea americana</i>)	<i>Prs a1</i>	endochitinase	32,000	
	もも(<i>Prunus persica</i>)	<i>Pru p3</i>	lipid transfer protein	10,000	
	キュウイ(<i>Actinidia chinensis</i>)	<i>Act c1</i>	cysteine protease	30,000	
	大豆(soy bean) (<i>Glycine max</i>)	<i>Gly m1</i>	oil-body associated	7,500	84
		<i>Gly m2</i>	oil-body associated	8,000	
		<i>Gly m3</i>	profilin	14,000	
	ピーナッツ(<i>Arachis hypogaea</i>)		glycinins	54,000-64,000	
			β -conglycinin (α -subunit)	70,000	
			β -conglycinin (β -subunit)	51,000	
			Soy lectin	31,000	
			Soy Kunitz trypsin inhibitor	23,000	
		<i>Ara h1</i>	vicilin	63,500	85
		<i>Ara h2</i>	conglutin	17,000	
	<i>Ara h3</i>	glycinin	60,000		
<i>Ara h4</i>	glycinin	37,000			
<i>Ara h5</i>	profilin	15,000			
	agglutinin(lectin)		86		
	arachin		87		
大麦(<i>Hordeum vulgare</i>)	<i>Hor v1</i>	α -amylase/trypsin inhibitor	15,000	88	
ブラジルナッツ(<i>Bertholletia exceisa</i>)	<i>Ber e1</i>	2S albumin	16,000	89	
にんじん(<i>Daucus carota</i>)	<i>Dau c1</i>	Bet v1 homologue	16,000		
セロリ(<i>Apium graveolens</i>)	<i>Api g1</i>	Bet v1 homologue	16,000		
	<i>Api g4</i>	profilin	14,000		
からし(葉)(<i>Brassica juncea</i>)	<i>Bra j1</i>	2S albumin	15,000	90	
からし(白)(<i>Sinapis alba</i>)	<i>Sin a1</i>	amylase inhibitor	14,000		
とうもろこし(<i>Zea mays</i>)	<i>Zea m14</i>	lipid transfer protein	9,000		
米(<i>Oryza sativa</i>)	<i>Ory s1</i>		28,000		
		α -amylase/trypsin inhibitors	10,000-18000		
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)		profilin	14,000		
		gliadin (gluten component)			
		α -amylase/trypsin inhibitors			
		agglutinin(lectin)			
そば(buckwheat)		BW24KD	24,000	91	

アレルギーを示す例が報告されている。ラテックスアレルギーとブタクサ等の花粉との間の交差反応性を示すという報告もなされている⁶²⁻⁶³。

(Ⅲ)食餌依存性運動誘発アナフィラキシー(F-EIA):物理的刺激により誘発されるアレルギー反応の中で運動により血圧低下、意識障害、呼吸困難などの強い全身症状をおこすものを運動誘発性アナフィラキシーと呼んでいる⁶⁴⁻⁶⁶。この中で、特に、ある特定の食餌摂取後の運動でアナフィラキシー症状が誘発されることがあり、食餌依存性運動誘発アナフィラキシー(food-dependent exercise-induced anaphylaxis, F-EIA)と称されている。F-EIAに関与する食物として、セロリ、えび、かき、ニワトリ、ももや小麦などが知られている。

(Ⅳ)アトピー性皮膚炎(AD):Double-blind, placebo-controlled food challenge(DBPCFC)試験等により、ADの1/3以上の子供が、食物に関連した過敏症を持つと報告されている⁶⁷。この場合、ADに付随する浮腫の一部は、IgE依存性の食物アレルギー症状と考えられている。ADの子供は、少なくとも1つあるいは2,3の食物(例えば、卵、牛乳、ピーナッツ、小麦、大豆等)に感受性があると考えられている。

(Ⅴ)消化管(GI)反応:(A)IgE依存性の即時型反応:GI反応は、食物アレルギーの最も一般的な臨床症状である。これらは、かゆみ、浮腫、吐き気、下痢等を伴う⁶⁸。消化管反応の即時型反応は、IgE依存性であり、遅延型反応は、食物誘発性消化管炎症を伴うと考えられている。(B)食物蛋白依存性消化管炎症(Food-induced enterocolitis):Food-induced enterocolitisはprotein intoleranceまたはmilk-sensitive enteropathyともよばれ、小腸、大腸症状を伴う。小腸は、粘膜の細薄化、絨毛の萎縮、クリプトの過形成、リンパ球、プラズマ細胞、好酸球の浸潤がみられ、下痢を伴う⁶⁹。これら症状は、遅延型(数時間から数日後)に引き起こされる。牛乳による症状がよく知られているが、魚、大豆、米、鶏肉でも引き起こされることがある。(C)好酸球依存性腸炎:好酸球依存性腸炎は、小児でも大人でもみられるが、腸壁の好酸球の浸潤、血液中の好酸球の増加、並びに腸炎を特徴とする⁶⁹。腹部の痛み、吐き気、下痢等を伴う。小児では、牛乳が主なアレルギーとなっており、大人では、複合アレルギー症状を呈することが多い。この症状を持つ患者の血液中総IgE抗体の濃度は高く、喘息や鼻炎を伴う事も多い。(D)Celiac disease:Celiac diseaseは、グルテン感受性消化管炎または小児脂肪便症ともよばれ、小児や大人の小麦あるいはグルテン不耐症である⁷⁰。症状としては、絨毛の短縮または欠失、クリプトの過形成、粘膜固有層でのリンパ球やプラズマ細胞の浸潤がみられるが、グルテン不含の食事では、この症状は改善する。

(Ⅵ)呼吸器反応:A.鼻炎,B.喘息;食物アレルギーでは、上気道性の鼻炎や、下気道性の喘息症状は主要な症状ではないが、食物に対する全身性症状を呈している時に、枯草熱や喘息様の症状を呈することがある⁷¹。

(Ⅶ)職業性食物アレルギー:(A)蕁麻疹/血管浮腫/アナフィラキシー,(B)喘息,(C)過敏性肺臓炎;大人の食物アレルギーは、職業上の暴露によっても引き起こされる。職業上の暴露は、しばしば、吸入または、皮膚からの感作を通して暴露された個人に対して食物タンパクに対するIgE感作を引き越こす⁷²⁻⁷³。これらアレルギーの継続的な暴露は、鼻炎、喘息、結膜炎、蕁麻疹、また、ある場合には、全身性のアナフィラキシーを引き起こす。最も重要な職業上で獲得された食物アレルギーは、職業性の喘息である。大人の獲得性の喘息のおよそ2~15%が化学物質、毒素または、天然タンパク質の職業的暴露に依存している。例えば、職業性喘息の主なものに、植物性微細粉塵を扱うパン屋、こんにやく製造業、コーヒー製造業などがある⁷⁴⁻⁷⁵。職業性喘息は、刺激、並びにIgE(アレルギー)による機作が考えられる。IgE依存性の職業アレルギーの明確な例は、小麦の暴露によるパン製造業者の喘息や粉末状の卵蛋白に暴露されたパン屋従事者に見られる。過敏性肺臓炎は、食物に対する職業性の反応のもう一つの症例である。長期にわたるカビ、昆虫、または食物由来の多くのタンパク質に対する吸入的暴露が、過剰応答を引き起こし、大量のIgG抗体の産生を導き⁷⁶、さらに継続的再暴露により、肺への単球の浸潤が引き起こされると考えられている。

次に、食物アレルギーの化学構造の側面からの話で、表5の説明に移りたい。表5には、食物アレルギーのうち、精製された主なアレルギーについて示しているが、これらの特徴として次の6点があげられる。すなわち、(1)食物アレルギーも、表2で示した他の精製アレルギーと同様、大部分が分子量1万~7万の比較的低分子のタンパク質、または糖タンパク質である。(2)卵のオボムコイド、牛乳のカゼインなど、含有量の多い成分が、major allergenとなっている。(3)食物アレルギーの中には、さけのparvalbumin(Ca²⁺-binding protein)(Sal s 1)、ウシのlipocalin(Bos d2)、エビのtropomyosin(Met e1)などの機能的タンパクも多く含まれる⁹²。(4)植物由来の食物アレルギーの中には、樺の木由来の抗原Bet v1と類似の構造を持つprofilinが、りんご、なし、にんじん、セロリ等の多くの食物で同定される。(5)植物由来の食物アレルギーの中には、ブラジルナッツに含まれる2Sアルブミンのように、分子の中に18.8%のメチオニン含有を有し、高栄養価の種子特異的蛋白質も存在する⁸⁹。(6)後述するが、食物アレルギーの大部分は、熱処理や、消化酵素である蛋白分解酵素に対して抵抗性を有する⁹³。

5. 遺伝子組換え食品のアレルギー性試験

近年、食糧需要増加に伴い、世界的に遺伝子組換え技術を利用して開発された農作物の実用化が進んでいるが、導入された組換えタンパク質が、アレルギー誘起性を持つか否かの検討を行うことは、安全性評価のうえでの重要な判断基準となる。最初アレルギー性試験の国際的動向をFAOとWHOの

合同専門者会議での報告⁹⁴⁾を中心に概説し、次いで、我が国のアレルギー性試験について概説する。

(A) FAO/WHO 合同専門者会議の動向

国際的動向としては、2000年よりFAOとWHOの合同専門者会議でアレルギー性試験が議論されているが、まず、2000年6月にスイスジュネーブで行われたFAOとWHOの合同専門者会議での、アレルギー性試験の概要を以下に記す。その基本として、国内の「安全性評価指針」と同様、既知のアレルギーとの一次配列の相同性の比較並びに新規タンパク質の消化性⁹³⁾並びに物理化学的処理に対する安定性の検討をあげている。また、(1)新規タンパク質の植物中での発現の程度並びに発現部位の特定を行うこと、(2)新規タンパク質が特定の機能を有する場合、その機能に対する考察を加えること、たとえば、ブラジルナッツ等に含まれる2Sの高メチオニンアルブミン様の活性⁹⁵⁾や、生体防御蛋白質としての機能を有するか否かの検討⁹⁶⁾、(3)遺伝子改変を小麦等の穀物に対して行う場合、グルテンタンパクに影響を及ぼすか否かの検討、(4)動物モデルの利用の推奨、などが述べられている。食物アレルギータンパク質は、4章でも述べたが、一般に熱や酸でも分解を受けにくく、消化性が悪い性質を持っている。文献93より抜粋した、人工胃液(SGF; Simulated gastric fluid⁹⁷⁾)で分解の受けにくい食物アレルギー(卵、牛乳、大豆、からし、ピーナッツ)の例を表6に示す。安定性に関して、(i)安定性が高く、60分でも安定で、タンパク質断片も観察されないもの(例: β -conglycininの β 鎖, SKTI, Ara h2, Bra j IE, Sin aI) (ii)中程度の安定性があり(30秒以上

60分未満)、さらに安定なタンパク質断片を伴うもの(例: β -conglycininの α 鎖) (iii)タンパク質の安定性はないが、少なくとも8分以上安定なタンパク質断片を伴うもの(例: Gly m1)の3つのパターンがあることを読みとることが出来る。なお、対照として示されている食物共通抗原 Glycolate reductase等は、非常に分解が早く、これらは、アレルギーとしては知られていない。

次に、2001年1月にイタリアローマで行われたFAOとWHOの合同専門者会議⁹⁴⁾では、さらに、遺伝子組み換え食品のアレルギー性を評価する際のフローチャートに関してより詳しい議論がなされた。ここで提案されたアレルギー性の試験法に関するフローチャートを、図1に示す。このフローチャートは、Metcalf D.D.らが、1996年にIFBC/ILSI(the International Food Biotechnology Council and the Allergy and Immunology Institute of the International Life Science Institute)に報告している方法に準拠し⁹⁸⁾、2000年のFAO/WHO専門者会議で提案されたものを改変したものである。導入した遺伝子がアレルギー性を有するとして知られている動植物から得られたもの(Source of Gene (Allergenic))であるかどうかが第一の判断基準となり、次いで、新規産生蛋白質が、既知の食物アレルギーとの類似配列を持つか(Sequence Similarity)が調べられる。上記の2つのどちらかがyesの場合、また、Source of GeneがAllergenicでなくてもSequence Similarityがあると判断された場合は、無条件にアレルギー性がある(likely allergenic) (a)と判断される。Source of GeneがAllergenicであり、Sequence SimilarityがNoの場合、導入遺伝子が由来する動植物にアレルギーを持つ患者血清を用いた固相免疫測定法が実施されることになる(Specific Serum Screen)。これがyesであれば、アレルギー性があるとされ、Noであれば(b)、導入遺伝子が由来する動植物と分類学上の広い意味で相同性を有する動植物に対して高いIgE抗体価を有する患者血清を用いて固相免疫測定法が実施される(Targeted serum screen)。これが陽性の場合アレルギー性があるとされ、Noの場合、人工胃液(ペプシン)に対する安定性及び動物モデルを用いたアレルギー性試験が実施される(C)。両者がNoの場合、アレルギーの可能性はなく、両方がyesの場合、アレルギーとしての可能性が高く、片方がyesの場合、アレルギーとしての可能性は、中程度と判断される。なお、患者を用いた皮膚試験等のin vivo試験については、IRB(Institutional Review Boards)の倫理委員会での許可を要するため、2001年のフローチャートには取り入れられていない。

(B) 我が国の遺伝子組み換え食品のアレルギー性試験

組換えDNA技術などを用いたバイオ食品などの安全性を確保するために、厚生省では平成3年12月に「バイオテクノロジー応用食品・食品添加物の安全性確保のための基本方針」、「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造指針」及び「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指

表6 アレルギーと人工胃液(SGF)中での安定性

Protein	Stability (min)	
	Whole Protein	Fragments
Egg allergens		
Ovalbumin	60	—
Phosvitin	60	—
Ovomucoid	8	—
Conalbumin	0	15
Milk allergens		
β -lactoglobulin	60	—
Casein	2	15
BSA	0.5	15
Soybean allergens		
β -conglycinin (β -subunit)	60	—
SKTI	60	—
Soy lectin	15	—
β -conglycinin (α -subunit)	2	60
Gly m 1	0.5	8
Mustard allergens		
Sin a 1	60	—
Bra j IE	60	—
Peanut allergens		
Ara h2	60	—
Peanut lectin	8	—
Common plant proteins		
Glycolate reductase (spinach leaf)	0.25 (15 sec)	—
Rubisco LSU (spinach leaf)	0 (<15 sec)	—
Rubisco SSU (spinach leaf)	0 (<15 sec)	—
Lipoxygenase (soybean seed)	0 (<15 sec)	—
PEP carboxylase (corn kernel)	0 (<15 sec)	—
Sucrose synthetase (wheat kernel)	0 (<15 sec)	—
β -amylase (barley kernel)	0 (<15 sec)	—
Acid phosphatase (potato tuber)	0 (<15 sec)	—
Phosphofructokinase (potato tuber)	0 (<15 sec)	—

針」を策定した。

基本指針では、バイオテクノロジーの技術そのものが危険であることを示す科学的根拠はないが、バイオテクノロジーが高度先端技術であることから有害不純物の混入防止などの観点から、この技術により製造される食品・食品添加物の安全性の一層の確保を図ることにしている。製造指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造段階において遵守しなければならない項目を定めている。また安全性評価指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価に必要な項目を定めている。両指針の対象は、組換えDNA技術を応用して製造された食品のうち、組換え体そのものを摂取することのない食品・食品添加物で生産物が既知のものと同ーまたは同一とみなし得るものに限っており、平成4年4月よりガイドラインとして適用されている。実際に平成6年には、組換え微生物により生産された酵素キモシン(チーズの凝乳酵素)の安全性が食品衛生調査会で確認され、輸入・販売が開始された。

しかし、この指針は組換え体を食する場合には適用できないことから、組換え体を食する場合の安全性指針として、平成8年2月に生活衛生局長通知により、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針が改正された。この指針では、組換えDNAにより付加された目的とする性質のみではなく、組換えDNA技術により発生する可能性のあるその他の影響についても評価することになっている。本改正指針は、既存のものと同等とみなし得る生産物を、食品・食品添加物として利用する場合に適用し、組換え体そのものを食する生産物では、組換え体が種子植物の場合に適用する⁹⁹⁾。

本指針の中で、挿入遺伝子がアレルギーを誘発する可能性を評価するためには、次に示す6項目の資料が要求されている。具体的には(1)供与体の生物の食経験に関する資料 (2) 遺伝子産物(通常はタンパク質)がアレルゲン(アレルギーを引き起こす原因物質)として知られているかに関する資料 (3)アレルゲンタンパク質は熱や酸でも変性を受けにくく、消化性が悪いといった性質を持っていることに基づく、遺伝子産物の物理化学的処理(人工胃液、人工腸液、及び加熱処理)に対する感受性に関する資料 (4)遺伝子産物の摂取量を有意に変えるかに関する資料 (5)遺伝子産物と既知の食物アレルゲン(これまでに約220種類ある)との構造相同性に関する資料 (6)遺伝子産物が一日タンパク摂取量の有意な量を占めるかに関する資料の6項目であるが、(1)~(6)の項目により安全性が確認されない場合は、患者IgE抗体との結合能に関する資料が新たに要求される。なお、遺伝子組換え食品・食品添加物の安全性確認は、これまで厚生省は安全性評価指針に基づく安全性確認の申請を義務化に準じた扱いとしてきたが、平成13年4月からは、安全性審査が法的に義務化された。平成12年5月1日に、「食品添加物等の規格基準」の改正(厚生省告示)がなされ、従来の「安全性評価指針」の内容を基本的に変えない形の「組換えDNA技

術応用食品及び添加物の安全性基準」が設定され¹⁰⁰⁾、平成13年4月から施行されたが、この「安全性審査基準」においても、アレルギー誘発性に関する安全性評価に必要な資料の(1)~(6)の項目については、従来の「安全性評価指針」の時と変わらないが、試験法に関してより詳しい説明がなされている。また、(1)~(6)の項目により安全性が確認されない場合に用いる食物アレルギー患者血清は、従来の卵、牛乳、大豆、米、小麦、そばに対するものに加え、たら、えび、ピーナッツに対するアレルギー患者血清が新たに加わっている。

厚生省がこれまでに安全性審査をすませた食品は35種、食品添加物は7種であるが、遺伝子組換え農作物の作出に用いられた遺伝子は、これまでのところ比較的种类が限られている。

除草剤耐性農作物はこれまでに28品種の安全性審査が終了しているが、用いられている除草剤としては今のところグルホシネート、グルホサート及びプロモキシニルの3農薬のみである。これらの組換え体の作出に用いられている遺伝子としては植物体内でグルタミン合成酵素阻害剤であるグルホシネートをアセチル化して失活させるアセチルトランスフェラーゼ(PAT)遺伝子(bar)、シキミ酸経路に属する芳香族アミノ酸合成に関与し、グリホサートの標的酵素であるEPSPS機能を持つが、グリホサート耐性であるためグリホサートの阻害を受けないCP4-EPSPS及びmEPSPS及びプロモキシニルを分解するBXN遺伝子である(表7)。

害虫抵抗性農作物は9品種の安全性が確認されているが、これらの組換え体の作出に用いられている遺伝子は、微生物農薬として用いられている*Bacillus thuringiensis*菌の産生するトキシシン遺伝子(Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3A)である。Cry1の遺伝子産物は鱗翅目の昆虫に、Cry3A遺伝子産物は鞘翅目の昆虫に有効で、幼虫の消化管内の特異的受容体に結合し、陽イオン選択的小孔を形成することにより消化機能が阻害され、幼虫が死に至るとされている。

そのほかF1の優れた性質を利用するためF1植物の作出に用いるため優性不捨遺伝子(barnaseと呼ばれるRNase)及び捨性回復遺伝子(barstar:barnase inhibitorをコードする遺伝子)も用いられている。また、アンチセンスDNAやウイルス遺伝子の発現を抑制するためのウイルスのコートタンパクの遺伝子も用いられている。

一方、遺伝子導入された細胞の選択のために、選択マーカー遺伝子として、抗生物質耐性遺伝子(npt II)や上記の除草剤耐性遺伝子(bar等)も用いられている。現在までに用いられている遺伝子の種類はそれほど多くなく、同じ遺伝子がいろいろの農作物の形質転換に用いられているのが現状である。これら新規導入蛋白質は、いずれも、人工胃液(SGF)による分解性の早いことが報告されている^{98, 101-102)}。

6. おわりに

以上、生活環境中のアレルギー原因物質の中で、吸入並び

表 7 遺伝子組換え技術により作物に導入されている主な蛋白質

導入蛋白質*	遺伝子組換え作物	商品名
<i>B. t. t.</i> 害虫毒素 (Cry3A)	ジャガイモ	ニューリーフジャガイモ
<i>B. t. k.</i> HD-1 害虫毒素 (Cry1Ab)	トウモロコシ	Bt11, Event176, Mon810, DBT418
<i>B. t. k.</i> HD-73 害虫毒素 (Cry1Ac)	ワタ	インガードワタ
CP4-EPSPS (除草剤グリホサート耐性)	ダイズ, ワタ, トウモロコシ, ナタネ	ラウンドアップレディダイズ, ワタ, トウモロコシ, カノーラ
PAT (除草剤グルコシネート耐性)	トウモロコシ, ナタネ, テンサイ	トウモロコシ (T-25など), ナタネ (HCN92など), テンサイ (T120-7)
ニトラゼ (BXN) (除草剤プロモキシル耐性)	ワタ	BXN cotton

**B. t. t.* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *terebrionis*), *B. t. k.* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*), CP4-EPSPS (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4)

に経口摂取での感作の主体となるタンパク性のアレルギーンについて、その化学構造も含めて主に説明を行った。ここ10年の間に分子生物学の発展に伴って、タンパク性のアレルギーンの精製が進み、IgE抗体との結合部位(抗原決定基)の解析も進みつつあり、アレルギーンデータベースは、アミノ酸配列を記述した一次配列のみならず、抗原決定基(エピトープ)も記述した、いわゆる3次元構造に立脚したデータベースも蓄積されてゆくものと思われる。このような研究は、アレルギーンの改変等による食物アレルギーの治療につながる重要な研究であると同時に、新規タンパク質のアレルギー性を予測すること、また、既知アレルギーンとの交差反応性を考える上でも重要な研究であると思われる。

次に、本稿では、食物アレルギーの臨床症状の特徴についても述べたが、食物アレルギー発症にいたるには、環境要因、暴露の方法、遺伝的要因並びに免疫状況の4要素が、複雑に関連しあっているものと考えられ¹⁰³⁾、これらのすべての要因を加味してアレルギー発症を考慮していく必要があると思われる(図2)。

さらに、本稿では、最近開発されてきた遺伝子組換え食品のアレルギー性試験についても紹介を行ったが、遺伝子組換え食品のアレルギー性試験は、今後ともコーデクス(CODEX)委員会バイオテクノロジー応用食品特別部会でも議論が続けられる予定で、新規産生蛋白質のin vitroでの分解性の検討に加え、動物実験の導入、ヒト血清を用いた研究の進め方についても今後さらに検討が加えられてゆくと思われる。特に、動物実験に関しては、5章でも述べたように、2001年のFAO/WHOの専門者会議のアレルギーン試験のフローチャートの中にも組み入れられてきていることから考えて、動物実験によるアレルギー性の予測を行う研究は、ヒトにおける

図 1 FAO/WHO 2001 Decision Tree

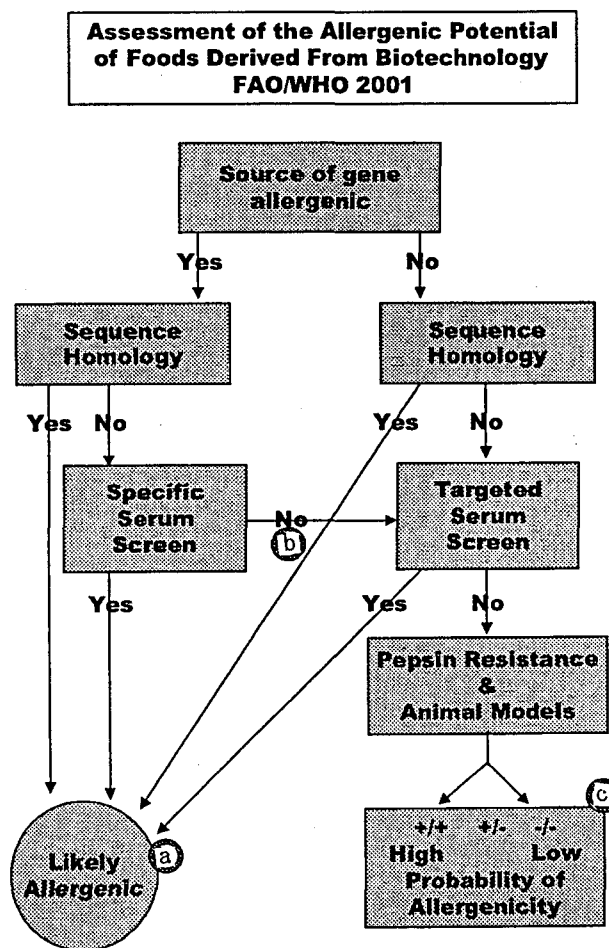
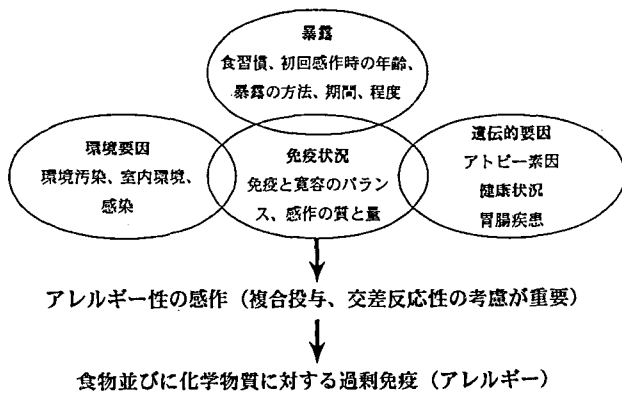


図2 アレルギー発症に至る要因



Toxicol. Lett. 120, 165 (2001). より抜粋

IgE依存性の食物アレルギーのすべての局面を反映することはできないが、重要な研究課題になると思われる。食物アレルギーの研究のための動物モデルとしては、経口感作に伴う免疫を成立させるため、寛容の少ない動物を用いる必要があるが、私共の研究グループも含め、ラットではBNラットを用いた研究が¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾、マウスでは、BALB/cマウス¹⁰⁷⁾やW/Wマウス¹⁰⁸⁾を用いた研究が最近押し進められてきている。投与量、感作方法の検討、感度のよいバイオマーカーの探索などが、これからも諸外国も含め進められてゆくものと思われ、今後ともこれらの研究の進展が望まれる。

7. 謝辞

ここで紹介した内容のうち、食物アレルゲンに関する動物実験、また、遺伝子組み換え食品に関する動物実験は、国立医薬品食品衛生研究所機能生化学部並びに食品部で行っているものであり、澤田純一郎長、豊田正武部長をはじめ、多くの共同研究者の方々に深謝致します。

文 献

- 1) Teshima, R.: *The lung perspectives*, 6, 369-373 (1998)
- 2) Coleman, J.W., and Blanca, M.: *Immunol. Today*, 19, 196-198 (1998)
- 3) Berenstein, I.L.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 60, 24-31 (1982)
- 4) Karol, M.H., Ioset, H.H., Riley, E.J. and Alarie, Y.C.: *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 39, 546-556 (1978)
- 5) Zeiss, C.R., Wolkonsky, P., Pruzansky, J.J. and Patterson, R.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 70, 15-18 (1982)
- 6) Botham, P.A., Rattray, N.J., Woodcock, D.R., Walsh, S.T. and Hext, P.M.: *Toxicol. Lett.*, 47, 25-39 (1989)
- 7) Ueno, H., Nishikawa, M., Suzuki, S. and Muranaka, M.: *Mol. Immunol.*, 21, 37-42 (1984)
- 8) Momma, J., Kitajima, S. and Inoue, T.: *Toxicology*, 126, 75-82 (1998)
- 9) Kanerva, L., Rantanen, T., Aalto-Korte, K., Estlander, T., Hannuksela, M., Harvima, R.J., Hasan, T., Horsman-heimo, M., Jolanki, R., Kalimo, K., Lahti, A., Lammin-tausta, K., Lauerma, A., Niinimäki, A., Turjanmaa, K. and Vuorela, A.M.: *Am. J. Contact Dermat.*, 12, 83-87 (2001)
- 10) Weltman, J.K., Szaro, R.P. and Settignano, G.A.: *Allergy*, 34, 273-281 (1978)
- 11) Lagnoff, D. and Martin, T.W.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 331-351 (1983)
- 12) Terao T.: *Toxicology forum*, 9, 590-600 (1986)
- 13) Brington, W.D. and Weitman, J.K.: *Allergy*, 34, 273-281 (1978)
- 14) Kobayashi, T.: *Allergology*, 1, 238-246 (1996)
- 15) Diaz-Sanchez D., Penichet-Garcia, M. and Saxon, A.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106, 1140-1146 (2000)
- 16) Tarkowski, M. and Gorski, P.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 106, 422-424 (1995)
- 17) Lowenstein, H.: *Allergy (suppl 3)*, 40, 10-12 (1985)
- 18) Griffith, I.J., Pollock, J., Klapper, D.G., Rogers, B.L. and Nault, A.K.: *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 96, 296-304 (1991)
- 19) Roges, B.L., Morgenstern, J.P., Griffith, I.J., Yu, X.B., Counsel, C.M., Brauer, A.W., King, T.P., Garman, R.D. and Kuo, M.G.: *J. Immunol.*, 147, 2547-2552 (1991)
- 20) Klapper, D.G., Goodfriend, L. and Capra, J.D.: *Biochemistry*, 19, 5729-5734 (1980)
- 21) Ghosh, B., Perry, M.P., Rafnar, T. and Marsh, D.G.: *J. Immunol.*, 150, 5391-5399 (1993)
- 22) Lubahn, B. and Klapper, D.G.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 91, 338 (1993)
- 23) Perez, M., Ishioka, G.Y., Walker, L.E. and Chesnut, R.W.: *J. Biol. Chem.*, 265, 16210-16215 (1990)
- 24) Ansari, A.A., Shenbagamurthi, P. and Marsh, D.G.:

- J.Biol.Chem.*, **264**, 11181-11185 (1989)
- 25) Ansari, A.A., Shenbagamurthi, P. and Marsh, D.G.: *Biochemistry*, **28**, 8665-8670 (1989)
- 26) Taniai, M., Ando, S., Usui, M., Kurimoto, M., Sakaguchi, M., Inoue, S. and Matuhasi, T.: *FEBS Lett.*, **239**, 329-332 (1988)
- 27) Breiteneder, H., Pettenburger-T., Bito, A., Valenta, R., Kraft, D., Rumpold, H., Scheiner, O., Breitenbach, M.: *EMBO J.*, **8**, 1935-1938 (1989)
- 28) Chua, K.Y., Stewart, G.A. and Thomas, W.R.: *J.Exp.Med.*, **167**, 175-182 (1988)
- 29) Chua, K.Y., Doyle, C.R., Simpson, R.J., Turner, K.J., Stewart, G.A. and Thomas, W.R.: *Int.Arch. Allergy Appl.Immunol.*, **91**, 118-123 (1990)
- 30) Dilworth, R.J., Chua, K.Y. and Thomas, W.R.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**, 25-32 (1991)
- 31) Nishiyama, C., Yunki, T., Takai, T., Okumura, Y. and Okudaira, H.: *Int.Arch. Allergy Immunol.*, **101**, 159-166 (1993)
- 32) Smith, W.A. and Thomas, W.R.: *Int.Arch.Allergy Immunol.*, **109**, 133-140 (1996)
- 33) Morgenstern, J.P., Griffith, I.J., Brauer, A.W., Rogers, B.L., Bond, J.F., Chapman, M.D. and Kuo, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9690-9694 (1991)
- 34) Barnes, C.S., Pacheco, F., Landuyt, J., Rosenthal, D., Hu, F. and Portnoy, J.: *Adv.Exp.Med.Biol.*, **409**, 197-203 (1996)
- 35) Arruda, L.K., Plattts-Mills, T.A.E., Fox, J.W. and Chapman, M.D.: *J.Exp.Med.*, **172**, 1521-1532 (1990)
- 36) Aukrust, L. and Borch, S.M.: *Int.Arch.Allergy Appl. Immunol.*, **60**, 68-79 (1979)
- 37) Mazur, G., Baur, X. and Liebers, V.: *Monog.Allergy*, **28**, 121-137 (1990)
- 38) Kuchler, K., Gmachl, M., Sippel, J. and Kreil, G.: *Eur. J. Biochem.*, **184**, 249-254 (1989)
- 39) Hoffman, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **92**, 707-716 (1993)
- 40) Valenta, R. and Kraft, D.: *Immunol.Reviews*, **179**, 119-127 (2001)
- 41) Kumar, V.D., Lee, L., and Edwards, B.F.: *Biochemistry*, **29**, 1404-1412 (1990)
- 42) Bugajska-Schretter A., Grote, M., Vangelista, L., Valent, P., Sperr, W.R., Rumpold, H., Pastore, A., Reichelt, R., Valenta, R. and Spitzauer, S.: *Gut*, **46**, 661-669 (2000)
- 43) Pandjaitan, B., Swoboda, I., Brandejsky-Pichler F., Rumpold, H., Valenta, R. and Spitzauer, S.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **105**, 279-285 (2000)
- 44) Curry, S., Mandelknew, H., Brick, P. and Franks, N.: *Nat. Struct.Biol.*, **5**, 827-835 (1998)
- 45) Rouvinen, J., Rautiainen, J., Virtanen, T., Zeiler, T., Kauppinen, J., Taivainen, A. and Mantjarvi, R.: *J.Biol.Chem.*, **274**, 2337-2343 (1999)
- 46) Lascombe, M.B., Gregoire, C., Poncet, P., Tavares, G.A., Rosinski-Chupin, I., Rabillon, J., Goubran-Botros, H., Mazie, J.C., David, B. and Alzari, P.M.: *J.Biol.Chem.*, **275**, 21572-21577 (2000)
- 47) Metzler, W.J., Valentine, K., Roebber, M., Friedrichs, M.S., Marsh, D.G. and Mueller, L.: *Biochemistry*, **31**, 5117-5127 (1992)
- 48) Gajhede, M., Osmark, P., Poulsen, F.M., Ipsen, H., Larsen, J.N., Joost-van-Neerven, R.J., Schou, C., Lowenstein, H. and Spangfort, M.D.: *Nat.Struct.Biol.*, **3**, 1040-1045 (1996)
- 49) Fedorov, A.A., Ball, T., Mahoney, N.M., Valenta, R., and Almo, S.C.: *Structure*, **5**, 33-45 (1997)
- 50) Thorn, K.S., Christensen, H.E., Shigeta, R., Huddler, D., Shalaby, L., Lindberg, U., Chua, N.H. and Schutt, C.E.: *Structure*, **5**, 19-32 (1997)
- 51) Bufe, A., Betzel, C., Schramm, G., Petersen, A., Becker, W.M., Schlaak, M., Perbandt, M., Dauter, Z. and Weber, W.: *J.Biol.Chem.*, **271**, 27193-27196 (1996)
- 52) De Marino S., Morelli, M.A., Fraternali, F., Tamborini, E., Musco, G., Vrtala, S., Dolecek, C., Arosio, P., Valenta, R. and Pastore, A.: *Structure Fold Des.*, **7**, 943-952 (1999)
- 53) Mueller, G.A., Benjamij, D.C. and Rule, G.S.: *Biochemistry*, **37**, 12707-12714 (1998)
- 54) Ichikawa, S., Hatanaka, H., Yuuki, T., Iwamoto, N., Kojima, S., Nishiyama, C., Ogura, K., Okumura, Y. and Inagaki, F.: *J.Biol.Chem.*, **273**, 356-360 (1998)
- 55) Sone, T.: *Mol.Med.*, **34**, 1522-1530 (1997)
- 56) Anderson, J.A.: *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, **36(S)**: S19-S38 (1996)
- 57) Gedel, S.M.: *Adv.Food Nutr.Res.*, **42**, 63-92 (1998)
- 58) Yunginger, J.W., Sweeney, K., Sturner, W.Q., Giannandrea, L.A., Teigland, J.D., Bray, M., Benson, P.A., York, J.A., Biedrzycki, L., Squillace, D.L. et al.: *JAMA*, **260**, 1450-1452 (1988)
- 59) Enberg, R.N.: *Immunol.Allergy Clin.N.Am.*, **11**, 767-776 (1991)
- 60) Gall, H., Kalveram, K.-J., Forck, G. and Sterry, W.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **94**, 70-76 (1994)
- 61) Enberg, R.N., Leickly, F., McCullough, J., Bailey, J. and Ownby, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **79**, 867-875 (1987)
- 62) Ross, B.D., McCullough, J. and Ownby, D.R.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **90**, 409-410 (1992)
- 63) Moneret-Vartris, D.A., Beaudouin, E., Widmer, S., Mouton, C., Kanny, G., Prestat, F., Kohler, C. and Feldmann, L.: *J.Allergy Clin.Immunol.*, **92**, 668-677 (1993)
- 64) Tokunaga, H., Kokubu, F., Okamoto, M., Miyamoto, M., Hanyuuda, M. and Adachi, M.: *Jap.J.Allergology*, **44**, 1297-

- 1304 (1995)
- 65) Horan, R.F. and Sheffer, A.L.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 757-767 (1991)
- 66) Kushimoto, H. and Aoki, T.: *Arch. Dermatol.*, **121**, 355-360 (1985)
- 67) Sampson, H.A.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **84**, 1062-1067 (1989)
- 68) Gryboski, J.D.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 773-777 (1991)
- 69) Mim, K.U. and Metcalfe, D.D.: *Immunol. Allergy Clin. N. Am.*, **11**, 799-805 (1991)
- 70) O'Malory, S. and Ferguson, A.: "Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp186-207 (1991)
- 71) Bousquet, J. and Michel, F.B.: *Ann. Allergy*, **61**, 70-74 (1988)
- 72) Anderson, J.A.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**(Suppl.), 304-315 (1991)
- 73) Cartier, A., Mabod, J., Ghezzi, H., McCants, M. and Lehrer, S.B.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **78**, 344-348 (1986)
- 74) Herxheimer, H.: *Lancet*, **1**, 83-84 (1967)
- 75) Jones, R.N., Hughes, J.M., Lehrer, S.B., Butcher, B.T., Glindmeyer, H.W., Diem, J.E., Hammad, Y.Y., Salvaggio, J. and Weill, H.: *Am. Rev. Respir. Dis.*, **125**, 199-202 (1982)
- 76) O'Neil, C.E. and Lehrer, S.B.: "Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp207-227 (1991)
- 77) Elsayed, S. and Bennich, H.: *Scand. J. Immunol.*, **3**, 683-686 (1974)
- 78) Hoffman, D.R.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **71**, 481-486 (1983)
- 79) Langeland, T.: *Allergy*, **38**, 493-500 (1983)
- 80) Gjesing, B. and Lowenstein, H.: *Ann. Allergy*, **53**, 602-608 (1984)
- 81) King, T.P., Hoffmann, D., Lowenstein, H., Marsh, D.G., Platts-Mills, T.A. and Thomas, W.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **105**, 224-233 (1994)
- 82) Daul, C.B., Slattery, M., Morgan, J.E. and Lehrer, S.B.: "Molecular Biology and Immunology of allergen" eds by D. Kraft and A. Schon, CRC press, Boca Raton, pp291-293 (1993)
- 83) Shanti, K.N., Martin, B.M., Nagpal, S., Metcalfe, D.D. and Subba Rao P.V.: *J. Immunol.*, **151**, 5354-5363 (1993)
- 84) Gonzalez, R., Varela, J., Carreira, J. and Polo, F.: *Lancet*, **346**, 48-49 (1995)
- 85) Barnett, D., Baldo, B.A. and Howden, M.E.H.: *Allergy Clin. Immunol.*, **72**, 61-68 (1983)
- 86) Burks-A.W., Shin, D., Cockrell, G., Stanley, J.S., Helm, R.M. and Bannon, G.A.: *Eur. J. Biochem.*, **245**, 334-339 (1997)
- 87) Rabjohn, P., Helm, E.M., Stanley, J.S., West, C.M., Sampson, H.A., Burks A.W. and Bannon, G.A.: *J. Clin. Invest.*, **103**, 535-542 (1999)
- 88) Mena, M., Sanchez-Monge, R., Gomez, L., Salcedo, G. and Carbonero, P.: *Plant Molec. Biol.*, **20**, 451-458 (1992)
- 89) Arshad, S.H., Malmberg, E., Krapf, K. and Hide, D.W.: *Clin. Exp. Allergy*, **21**, 373-376 (1991)
- 90) Monsalve, R.I., Gonzalez de la Pena, M.A., Menendez-Arias, L., Lopez-Otin, M., Villalba, M. and Rodrigues, R.: *Biochem. J.*, **293**, 625-632 (1993)
- 91) Kondo, Y., Urisu, A., Wada, E., Tsuruta, M., Yasaki, T., Yamada, K., Masuda, S. and Morita, Y.: *Jap. J. Allergology*, **42**, 142-148 (1993)
- 92) Bufe, A.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **117**, 215-219 (1998)
- 93) Astwood J.D., Leach, J.N. and Fuchs, R.L.: *Nature Biotechnol.*, **14**, 1269-1273, (1996)
- 94) WHO: "Evaluation of allergenicity of genetically modified foods" Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology: 22-25 January (2001) URL <http://www.who.int/GMfood/Consultation.Jan2001/report.pdf>
- 95) Nordlee J.A., Taylor, S.L., Townsend, J.A., Thomas, L.A. and Bush, R.K.: *N. Eng. J. Med.*, **334**, 688-692, (1996)
- 96) Bowles D.J.: *Annu. Rev. Biochem.*, **59**, 873-907, (1990)
- 97) Board of Trustees (ed.): "Simulated Gastric Fluid, TS and Simulated Intestinal Fluid, TS" in The United State Pharmacopodia 23, The National Formulary 18. United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, MD. pp2053 (1995)
- 98) Metcalfe D.D., Astwood J.D., Townsend R., Sampson, H.A., Tayler, S.L. and Fuchs, R.L.: *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, **36**, S165-S186 (1996)
- 99) Toyoda M.: *Food Hyg. Soc., Japan*, **37**:247-259 (1996)
- 100) <http://www.mhlw.go.jp/topics/idenishi/enzen/tuuchi2.html>, <http://www.mhlw.go.jp/topics/idenishi>
- 101) Harrison, L.A., Bailey, M.R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E., Mitsky, T.A., Taylor, M.L., Fuchs, R.L. and Padgett, S.R.: *J. Nutr.*, **126**, 728-741 (1996)
- 102) Astwood, J.D., Fuchs, R.L. and Lavrik P.B.: "Food allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives" eds by Metcalfe, D.D., Sampson, H.A. and Simon, R.A., Blackwell Scientific, Boston, MA, pp65-92 (1997)
- 103) Kimber, I. and Dearmann, R.J.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 165-170 (2001)
- 104) Penninks, A.H. and Knippels, L.M.J.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 171-180 (2001)

- 105) Akiyama, H. Teshima, R., Sakushima, J., Okunuki, H., Goda, Y., Sawada, J. and Toyoda, M.: *Immunol. Lett.*, **78**, 1-5 (2001)
- 106) Teshima, R., Akiyama, H., Okunuki, H., Sakushima, J., Goda, Y., Onodera, H., Sawada, J. and Toyoda, M.: *Food Hyg. Soc., Japan*, **41**, 188-193 (2000)
- 107) Dearman, R.J., and Kimber, I.: *Toxicol. Lett.*, **120**, 181-186 (2001)
- 108) Okunuki, H., Teshima, R., Sakushima, J., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M and Sawada, J.: *Immuno. Lett.*, **74**, 233-237 (2000)