

我が国の食物アレルギー表示のリスクアナリシスと国際的貢献への展望

穂山 浩[#], 安達玲子

Japanese Risk Analysis for Food Allergen Labeling Regulation and Prospects of the International Contribution

Hiroshi Akiyama[#], Reiko Adachi

The Japanese ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) decided to improve the allergen labeling system by amending the Food Sanitation Law in 2001. The Japanese labeling was divided into two stages, mandatory and recommended, according to the number of cases of actual illness and the degree of seriousness. The food labeling system for 7 specific allergenic foods (egg, milk, wheat, buckwheat, peanuts, shrimp/prawn and crab) in Japan has been mandated. The allergenic foods require mandatory labeling by the ministerial ordinance. In addition, the ministerial notification recommends that the 21 ingredients (Abalone, Almond, Squid, Salmon roe, Orange, Cashew nut, Kiwifruit, Beef, Walnut, Sesame seed, Salmon, Mackerel, Soybean, Chicken, Banana, Pork, Matsutake mushroom, Peach, Yam, Apple, and Gelatin) are labeled. To monitor the validity of the labeling system, the MHLW announced the Japanese official methods for the detection of the allergenic foods in a ministry notification in November 2002. The Japanese official methods consisted of ELISA methods kit for screening for the allergenic foods, the western blot methods for egg and milk and the PCR methods for wheat, buckwheat, peanut, shrimp/prawn and crab as the confirmation tests. The ministry also set the trace amounts (a few mg/kg) as the threshold of labeling from the analytical standpoint of the detection method. The MHLW has allowed them to monitor the labeling system. The notification includes the description that any foods containing allergenic food protein greater than 10 ppm (mg/kg), which is the upper limit of the definition of "trace amounts", should be labeled. The MHLW also described the validation protocol criteria in the 2006 official guidelines to standardize the Japanese official method for AF detection. Since the risk management of the food labeling policy was transferred to the Japanese Consumer Affairs Agency (CAA) in 2010. The CAA has established the Food Labeling Law, which went into effect in 2015. The Japanese Food Safety Committee (FAA) conducted the risk assessment of eggs as an allergenic food and concluded that the risk management of Japanese labeling system should be appropriate and valid. While, in the countries of US, EU, Canada, and Australia-New Zealand et al, absence of agreement on what risk tolerable has made it difficult to set quantitative limits to manage that risk and protect allergic consumers effectively. The lack of regulatory risk management in these nations induce why allergic consumers find precautionary allergen labeling confusing and cannot rely on it. We expect that Japanese experience and knowledge for allergen labeling system would contribute to harmonize the international labeling guideline to world-wide protect the allergic consumers.

Keywords : 食物アレルギー, 特定原材料, ELISA, 表示

[#] To whom correspondence should be addressed:

Hiroshi Akiyama; Division of Foods, National Institute of Health Sciences, 3-25-26, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, Kanagawa 210-9501, Japan, TEL: +81-44-270-6551; FAX: +81-44-270-6552; E-mail: akiyama@nihs.go.jp
present address; Department of Analytical Chemistry, Hoshi University, 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan, TEL: +81-3-5498-5062; FAX: +81-3-5498-5765; E-mail: h-akiyama@hoshi.ac.jp

1. 緒言

食物アレルギーに関しては、乳児及び小児の際に発症し、小児の間で寛解するのが一般的であったが、近年では成人においても寛解せず、継続して症状を有し、患者数が増加している傾向が明らかとなっている¹⁾。食物アレルギーの症状で重篤な場合には、舐める程度でも引き起こされることから、表示による情報提供の必要性が高まった。先進国を中心に食物アレルギーは社会問題化しており、1999年にCODEXでも食物アレルギーを起こす原材料に関する表示のガイドラインを示した²⁾。我が国もそれに伴い、2001年に食品衛生法改正に伴い、2002年よりアレルギー誘発物質を含む食品の表示が本格的に義務付けられている¹⁾。2021年6月現在では、2015年より食品表示に関する行政の所管が厚生労働省（食品衛生法）から消費者庁（食品表示法）に移り、我が国の発症数と発症の重篤度から判断して、内閣府令で定める7品目（卵、牛乳、小麦、そば、落花生、えび、かに）については特定原材料と呼び、アレルギー危害回避の目的で、すべての流通段階での表示を義務付け、通知で定める特定原材料に準ずる21品目（アーモンド、あわび、いか、いくら、オレンジ、カシューナッツ、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、ごま、さけ、さば、大豆、鶏肉、バナナ、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、りんご及びゼラチン）については表示を推奨した。本論では、著者が検討した特定原材料等の検知法の開発に関する研究を中心に、我が国の食物アレルギー表示のリスクアナリシスと国際社会への貢献について概説する。

2. 食物アレルギー表示制度

食物アレルギーは、「食物によって引き起こされる抗原特異的な免疫学的機序を介して生体にとって不利益な症状が惹起される現象」と定義されている。そのため、非免疫学的機序による食物不耐症（代謝性疾患、薬理的な反応、毒性食物による反応など）は含まれない。食物アレルギーの症状としては、紅斑、蕁麻疹、湿疹のような皮膚症状、結膜充血、鼻汁、鼻閉、口腔や咽頭等の違和感のような粘膜症状、喉頭違和感・痒痒感・絞扼感、咳嗽、喘鳴、呼吸困難のような呼吸器症状、悪心、嘔吐、腹痛のような消化器症状、頭痛、活気の低下、意識障害のような神経症状、血圧低下、頻脈、徐脈、不整脈のような循環器症状などを示す。乳児及び小児の際に発症し、小児の間で寛解するのが一般的であったが、成人においても寛解せず、継続して症状を有する患者数が増加している傾向が明らかとなっている³⁾。

表示制度開始時期では、食物アレルギーが発症すると、その食物アレルギーに対する有効な予防法はなく、アレルギーを誘発する原材料を含む食品を避けること

が、最も一般的な予防法となっていたが、現在の診療ガイドラインでは、食物アレルギーの発症予防のために妊娠中と授乳中の母親の食事制限を行うことを推奨されていない。医師の監視の下、積極的に摂取して緩解するような治療法も開始されている³⁾。

食物アレルギーの症状は、重篤な場合には舐める程度でも引き起こされることから、表示による情報提供の必要性が高まり、2001年4月からアレルギー物質を含む食品の表示制度が定められた。現在では、我が国の発症数と発症の重篤度から判断して、特定原材料7品目（卵、牛乳、小麦、そば、落花生、えび、かに）は、すべての流通段階での表示を義務付け、特定原材料に準ずる21品目（アーモンド、あわび、いか、いくら、オレンジ、カシューナッツ、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、ごま、さけ、さば、大豆、鶏肉、バナナ、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、りんご及びゼラチン）については表示を推奨している（食品表示法（平成25年法律第70号）第4条に基づく食品表示基準（平成27年内閣府令第10号））。

表示制度の変遷としては、1998-1999年の全国調査をもと、2001年に制度化され、2002年より本格的開始され、特定原材料5品目（卵、牛乳、小麦、そば、落花生）を、すべての流通段階での表示を義務付け、特定原材料に準ずる17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、りんご及びゼラチン）を通知で推奨した。その後、2004-2005年の全国調査をもとに、2006年に特定原材料に準ずる通知リストにバナナが追加された。また、2008年に、当初から患者症例数が多く、症状が重篤ということから、えびとかが特定原材料として義務化された。また2011-2012年の全国調査をもとに、2012年にはカシューナッツとごまが追加された。2019年には、2017-2018年の全国調査を根拠に、特定原材料に準ずる通知リストにアーモンドが追加された。この2017-2018年の調査において、くるみのアレルギーの頻度が多くなっていることから、今後はくるみの特定原材料として表示義務化が検討されている。

3. 我が国の特定原材料等の表示制度の特徴

我が国では、原則食品表示基準で定める特定原材料等の名称で表示しなければならないが、代替表記も定めている。特定原材料等を複合化した表記方法は認められない。代替表記の例としては、卵、玉子、たまご、タマゴ、エッグ、鶏卵、あひる卵、うずら卵等である。小麦、大豆を「穀類」と表示するような例や、牛肉、豚肉、鶏肉を「肉類」あるいは「動物性〇〇」と表示とする例のように複合化した表記方法は認められない。ただし、①たんぱく加水分解物、②魚醬、③魚肉すり身、④魚油、⑤

魚介エキスの5原材料に限っては、網で無分別に捕獲した魚介類をそのまま原材料として使用しており、どの種類の魚介類が入っているか把握できないため、例外的に複合化した表示方法（「(魚介類を含む)」と表示）が認められている。

特定原材料に由来する添加物にあっては、「食品添加物」の文字及び当該添加物が特定原材料に由来する旨を表示することとなった。また特定原材料に由来する添加物を含む食品にあっては、当該添加物を含む旨及び「添加物名(〇〇由来)」等当該食品に含まれる添加物が特定原材料に由来する旨を表示することになっている。

また我が国の食物アレルギー表示の特徴として「はいっているかもしれない」という可能性表示は禁止されている。この可能性表示に関しては欧米諸国では認められており、我が国の表示制度と異なっている。しかし欄外に次のような注意喚起表記は可能になっている。例えば、同一製造ライン使用によるコンタミネーションの際に、「本品製造工場では〇〇(特定原材料等の名称)を含む製品を生産しています。」、「〇〇(特定原材料等の名称)を使用した設備で製造しています。」等を表記し、原材料の採取方法によるコンタミネーションの際には「本製品で使用しているしらすは、かに(特定原材料等の名称)が混ざる漁法で採取しています。」等の表記を推奨している。

4. 表示の必要とする含量

表示を必要とする含量としては、筆者が関わった厚生労働科学研究食品表示研究班アレルギー表示検討会の報告書(2001年)の中で、「アレルギー症状を誘発する抗原量に関して、総タンパク質量として一般的にはmg/mL濃度レベルでは確実に誘発しうるといえるが、 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベルではアレルギーの誘発には個人差があり、 ng/mL 濃度レベルではほぼ誘発しないであろうと判断された。これらのことから、特定原材料等の総タンパク質量として数 $\mu\text{g}/\text{g}$ 含有レベル又は数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベル

以上含有する食品には表示が必要であり、同様に数 $\mu\text{g}/\text{g}$ 含有レベル又は数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベルに満たない場合は、必ずしも表示は必要としない」とされた。以上の結果より、表示の必要性を判断する上で、数 $\mu\text{g}/\text{g}$ 含有レベル又は数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベル以下まで検出可能な検出法が不可欠とされた。これがいわゆる“微量の定義”である¹⁾。

この報告を受け、発足時の検知法を開発する特定原材料検出法検討会では、表示をする必要があるかを判断するためには、上記のレベルまで特定原材料タンパク質を十分に“定量”できる検出法を確立することが必要であると考えられた。しかし、生産者の管理側からの視点では、特定原材料検出法の検出感度が重要になってくる。特定原材料タンパク質や遺伝子を測定する手法としては、酵素免疫測定法(ELISA法)⁴⁻¹²⁾、PCR法¹³⁻¹⁵⁾、動物抗体を用いたイムノクロマト法(ラテラルフロー法、ウェスタンブロット法等)が主な手法となっている。最も迅速に測定する手段としては、ELISA法あるいはラテラルフロー法であると考えられた。検討の結果、Fig. 1に示すようにELISA法の検出限界が $100\text{ ng}/\text{g}\sim 500\text{ ng}/\text{g}$ であったが、この周辺の値で表示の閾値を定めるのは、分析機関間での判定結果のばらつきが大きく、閾値として設定するのは非常に困難を有する。そのため、検出限界の50倍~100倍の値であれば、各機関が再現性よく検出できると判断された。また他のウェスタンブロット法、PCR法、ラテラルフロー法の検出限界が、タンパク質レベルで約 $5\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ 食品重量と判断された。以上の特定原材料検出法検討会による科学的検証結果と、表示検討会で決めた“微量の定義”とを鑑みて、行政による表示監視のための、特定原材料検出法(ELISA法)による測定結果により判断される表示の閾値を $10\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ 又は $10\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。現在の表示制度はこの原則に従って運用されており、後述する検査法により特定原材料等由来のタンパク質を 10 ppm 以上含有することが示された場合は、上記の数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベルまたは数 $\mu\text{g}/\text{g}$ 含有

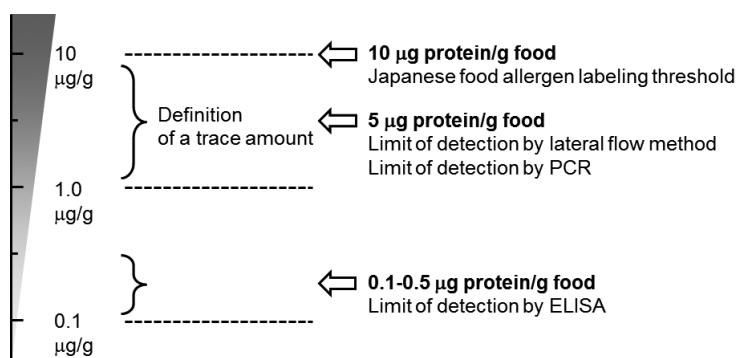


Fig. 1 Consideration of Japanese food allergen labeling threshold

レベルという「微量」を超える特定原材料が混入している可能性があるものと判断されることとなる。この食品中に特定原材料等由来のタンパク質を10 ppmが実質上の表示の閾値として国内外で知られている。当時としては、この判断は分析的な見地からのレギュラトリーサイエンス研究に基づく先駆的な行政判断のように考えられる。

5. 特定原材料等の検知法の開発

5.1 酵素免疫測定法 (ELISA法)

通知法に記載されている定量検知法は、特定原材料等のタンパク質を分析物質とし、その動物抗体を用いた酵素免疫測定法 (ELISA法) である。5品目 (卵、乳、小麦、そば、落花生) では、複合抗原を認識するポリクローナル抗体を利用したELISA法 (日本ハム (株) 製) と単一あるいは精製抗原を認識するポリクローナル抗体を利用したELISA法 ((株) 森永生科学研究所製)、モノクローナル抗体を利用したELISA法 (プリマハム (株) 製) の3種類の方法が一般に用いられている (Table 3)。すべてのキットとも原理はサンドイッチELISA法に基づいている。3種類のキットは各々抗体が異なるので、1種類のキットのみで表示を検証することは、加工食品によっては特定原材料タンパク質量を正しく評価できない可能性がある。そのため、複数のELISAを用いた検査法による定量検査が、表示を検証するために最も効率的であると考えられる。すべてのキットとも、5つのモデル加工食品を用いた複数機関による検証を行い評価され、真度及び精度ともに良好であった⁴⁾。2005年改正前には両検出法とも缶詰やレトルト食品等の加工度の高い食品では、抽出効率が悪く検出することが困難であったが、界面活性剤と還元剤を加え、抽出効率を高めた抽出液が開発された。その抽出液の開発を機に抽出操作の簡易化を行い、また両検出法を統一した⁵⁾。

えび・かにの検査法に関しては、えび・かにの主要アレルギーであるトロポミオシンを認識する定量検査法として柴原らが確立した方法 (日水製薬 (株) 製キット⁶⁾) と清木らが確立した方法 ((株) マルハニチロ食品製キット) の2種のELISAキットが開発され、市販されている⁷⁾ (Table 3)。えびとかにのトロポミオシンは相同性が非常に高く、抗体による区別が困難であるため、2種のELISA法は、えびとかにを区別せず甲殻類として検出するものである。両キットともえび類、かに類、やどかり類のトロポミオシンは、類似のタンパク質からの同様の反応性 (交差反応性) を示すが、いか類、たこ類、貝類のトロポミオシンとの反応性は低く、甲殻類に対する特異性は高い。日水キットでは、検出限界は甲殻類タンパク質として0.16 ppmであり、表示に求められる

数ppmレベルの測定に十分な感度である。またマルハニチロキットでも、検出限界は0.29 ppmと同じく十分な感度であり、モデル加工食品を用いた検討においても良好な希釈直線性が確認されている。両キットを5種類のモデル食品を用いて10機関によるバリデーション試験に供した結果、両キットとも、回収率50-150%、室間精度25%以下の基準を満たす良好な結果が得られた⁸⁾。このことから、両キットは甲殻類タンパク質を特異的かつ精度良く定量可能であり、加工食品中の甲殻類タンパク質の測定キットとして有用であることが示された⁸⁾。大豆は市販の海外のキットは既にあったが、森下らは主要アレルギー (p34) を含む大豆特異的タンパク質に対する抗体を用いたELISA法を開発し、市販されている^{9,10)}。この方法による大豆タンパク質標準溶液に対する検出下限は、食品重量中の大豆タンパク質量の換算濃度として1 µg/gを示し、交差反応性はささげ豆を除いて多様な食品原材料に対して認められなかった。5種類のモデル加工食品を測定した検討では、すべての食品において60-120%の回収率を示し、測定値の希釈直線性も良好であった。また数種のモデル加工食品を用いて海外品の大豆検出ELISAキットと比較した結果、本大豆ELISA法が他のキットと比べて高い回収率を示している¹⁰⁾。クルミに関しては、土井らが2S-アルブミンの含有量が多いこと、熱安定性が高いこと、消化耐性があることから考えて2S-アルブミンを抗原としてポリクローナル抗体を調製した。またその抗体を用いたサンドイッチELISA法を開発した^{11,12)}。ナッツ類の特異性の検討では、最も反応したピーカンナッツでもクルミに対して0.1%以下の反応性であり、その他のナッツ類でも、0.001%以下の反応性であった。またローストした場合でも生のものと同程度の反応性を示したことから、熱加工による影響が少ないことが示唆された。160種類の加工食品を測定した結果、反応性を示したピーカンナッツ以外では、すべて検出感度以下となり、クルミに高い特異性を持つことが示された。

5.2 ウェスタンブロッティング法

ウェスタンブロット法は、特定原材料タンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動法で分離し、PVDF膜に転写した後、膜上で抗原抗体反応を行い、タンパク質を検出する方法である¹⁾。上記のELISA法に関しては、定量法であり測定結果が数値として算出されるが、交差反応性がある場合、数値からは特異的な反応により算出したものかを確認することができない。また卵及び乳に関しては、鶏卵と鶏肉の遺伝子及び牛乳と牛肉の遺伝子は、同一であり、それらが混在している加工食品には後述する特異的なDNA領域を検出する方法 (PCR法) は

確認方法とはなりえない。ウェスタンブロット法は分子量に関する情報が得られるので、ELISA法よりも特異的な検出が可能である。ただし、卵の場合、卵白アルブミン及びオボムコイドは、卵白の特異的タンパク質であり、卵黄がかなり精製された状態で含まれる加工食品には適用できないので注意する必要がある。通知法では、卵及び乳についての確認試験法となっている。森永生科学研究所製ウェスタンブロットキットが市販されている (Table 4)。

5.3 Polymerase Chain Reaction (PCR) 法

PCR法は、試料中のDNAを精製し、特異的DNA領域をPolymerase Chain Reaction (PCR) 反応により増幅し、アガロースゲル電気泳動により分離し、DNA増幅バンドを検出する定性試験法である¹⁾。通知法では、小麦¹³⁾、そば¹⁴⁾、落花生¹⁵⁾、えび、かにの場合の確認試験法となっている (Table 4)。ELISA法やウェスタンブロット法はタンパク質を測定する方法であり、植物性食品では近縁種原材料との交差反応性は免れない¹⁶⁻¹⁹⁾。しかし、PCR法は、DNAを検出するため特異性が高く、小麦検知のためのPCR法では、ライ麦、オオツ麦及び大麦では検出されず¹³⁾、そば検知のためのPCR法では、小麦、ライ麦では検出されない¹⁴⁾。落花生検知のためのPCR法では、他のナッツ類や大豆では検出されない¹⁵⁾。

えびとかにを分別して表示するえび・かにの分別検知法としては、えびとかにをそれぞれ特異的に検出するPCR法が、田口らにより開発された。このPCR法では、えび、かにをそれぞれ10種類以上用いた検討により、えび、かにを特異的に分別検出できることが示された²⁰⁾。また、タンパク質10 ppm相当のえび抽出物、あるいは、かに抽出物を含むモデル加工食品を用いた場合も、それぞれ特異的にPCR産物を検出することが可能であった。ただし、えびPCR検出法の際にはシャンハイガニが、かにPCR検出法の際にはシャコが、それぞれ擬陽性となることが示されている。大豆に関しては、山川らは大豆PCR法を開発している²¹⁾。PCR法における標的DNA配列として、Glycine max repetitive sequenceを選択し、その領域上で大豆検知用プライマー対としてGym81/82のプライマー対が設計された。PCR法のプライマー対はナタネ及び大豆以外の豆類10種、種実類8種とは交差反応性を示さない一方、大豆からのみ特異的に、予想サイズの増幅産物を生じた。また、検知感度は、大豆粉体の含有率として10 mg/kg (ppm) (大豆タンパク質量換算3.5 ppm) であった。くるみに関しては、矢野らがくるみPCR法を開発している²²⁾。くるみmatK遺伝子をターゲットとしてプライマー対を設計している。特異性では果実類など植物性食物との交差性は

確認されなかったが、同じくるみ科に属するピーカンナッツとの交差性があったが、制限酵素を用いたピーカンナッツとくるみの分別法も確立した。また検出感度は10 ppm以下と検知法として十分な感度を示すことが確認されている。キウイに関しては、田口らがキウイPCR法を開発している²³⁾。マタタビ属検知用プライマー対では、キウイ、サルナシ、掛け合わせ品種、マタタビから、キウイ・サルナシ検知用プライマー対では、キウイ、サルナシ、掛け合わせ品種からのみ、標的サイズの増幅産物が得られている。他の果物では、幾つかの非特異的産物が得られたものもあったが、標的サイズとは異なるため、二組のプライマーセットの特異性は高いと考えられた。検知限界は、キウイDNA量50-500 fgとなり、DNAレベルで1-10 ppmであった。肉類に関しては、田辺らが豚肉・牛肉・鶏肉・羊肉・馬肉を迅速に検出することが可能なりアルタイムPCR法を確立した²⁴⁾。各肉種のチトクロームbがコードされた遺伝子上でプライマー対及びTaqMan[®]プローブを設計し、特異性の高い検知法となっている。小麦DNAをマトリックスとして、各肉DNAを段階的に混入した試料を用いた試験 (擬似混入試験) の結果では、0.0001%までの微量検出が可能である。さらに、それぞれの混入濃度でのCt (threshold cycle) 値をプロットした結果、相関性の高い良好な検量線を示した。バナナに関しては特異的リアルタイムPCR法を開発した²⁵⁾。

5.4 イムノクロマト法

動物抗体を用いたイムノクロマト法 (ラテラルフロー法) も開発され市販されている。卵、乳、小麦、そば、落花生、甲殻類の6品目を対象にキットが市販されている。この方法は食品から抽出した溶液をテストストリップ上に滴下し、ELISA法やウェスタンブロット法と同様の抗原抗体反応により、10-20分後に陽性ならば目的のバンドが検出される方法で、充実した検査設備が必要なく、簡易で迅速に検査可能である²⁶⁻²⁸⁾。しかし、感度不足や夾雑物質による影響や標的タンパク質が過剰に存在する際のプロゾーン現象による偽陰性を生じる可能性があるため留意が必要である。

5.5 LC-MS/MS法

国際的にはLC-MS/MSを用いた食品中のアレルゲンの分析法の開発も多く報告されている。我が国でも、永井らはそばのアレルゲンをLC-MS/MS用いて分析する方法を開発した²⁹⁾。また、関らは小麦、ライ麦、大麦、燕麦を含めた麦類のグルテニンとそばの13Sグルテニンからトリプシン消化由来ペプチドのLC-MS/MSを用いた分析法を開発した³⁰⁾。LC-MS/MS法は、複数のアレ

Table 1 Raw materials and initial extraction methods

Allergenic food	Raw material (Ingredients)	Extraction method (preparation)*
Egg	Fresh eggs of white leghorn hen, homogenized and freeze-dried	0.2 g in 20 mL extraction solution** shaken overnight.
Milk	Fresh milk of cows, freeze-dried after defatting by churning	0.2 g in 20 mL extraction solution shaken overnight.
Wheat	Mixture of 14 species of wheat, pulverized	1.0 g in 20 mL extraction solution shaken overnight.
Buckwheat	Mixture of buckwheat produced in Ibaraki Prefecture and China, pulverized	1.0 g in 20 mL extraction solution shaken overnight.
Peanut	Virginia species produced in Chiba Prefecture, ground in a mortar	0.4 g in 20 mL extraction solution defatted by acetone and shaken overnight.
Shrimp/Prawn (Crustacean)	Fresh muscle of black tiger, homogenized and freeze-dried	0.1 g in 20 mL extraction solution shaken overnight.

*The protein content of the initial extract was determined using the 2-D Quant kit (GE Healthcare Bio-Sciences Co.). The initial extract was diluted 20 times to make up the calibration standard solution.

**Extraction solution: buffer containing 0.6% SDS and 0.1M sodium sulfite.

Table 2 Japanese guideline criteria for validation protocol of quantitative detection methods for food allergenic ingredients*

Number of laboratories:	≥8
Number of incurred samples:	≥5
Number of dose levels:	≥1 including 10 µg/g**
Recovery:	50-150%
RSD _R :	≤25%

*Based on Notification No.139 of March 3, 2015, from the Food Labeling Standards of Consumer Affairs Agency.

**The corresponding allergenic ingredient soluble protein weight/food weight.

ルゲンを特異的に同時に検出することが可能となり、確認手段としてはリアルタイムPCRと同様に有効な手段である。

6. 特定原材料等の表示のリスク管理

科学的検証面から特定原材料の表示制度を支えているのが、アレルギー物質を含む食品の検査法である。各地方自治体では加工食品の収去検査を行い、アレルギー物質を含む食品の表示が適切になされているかを製造記録の確認も併せて監視している。もし適切な表示がなされていないと判断された場合は、必要に応じて当該食品メーカーに行政指導あるいは行政措置することになる。以下に検査法について概説する¹⁾。

2001年度の厚生労働科学研究班では、当時の特定原材料5品目の表示を監視する目的で検査法の開発が行われた。その結果をもとに、2002年11月、厚生労働省の通知として「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」（以下通知検査法）が公表され³¹⁾、その中で、検査

の手順や実際の検査方法（定量検査法、確認検査法）が定められた。その後、タンパク質抽出法の改良や標準品の規格化等に伴い、数回の改正が行われた。2008年に特定原材料に追加されたえび・かにについては、2005-2007年度の厚生労働科学研究班において検査法が開発され、2009年1月、改正通知検査法に収載された。また2010年9月10日には、定量検査法のキットが1種追加されたことを受け、消費者庁の内閣府通知として新たに検査法が示された³²⁾。

この通知検査法「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」では、各特定原材料の検査方法の詳細が示されている（別添）。まず検査特性の異なる2種のELISA法による定量検査を実施し、食品1gあたり特定原材料由来のタンパク質を10µg以上含有する場合は、微量を超える特定原材料が混入している可能性があるものと判断する。ELISA法で得られた結果と製造記録の確認により、表示が適正であるかが判断される。判断が不可能な場合は、特異性の高い定性検査法であるウェス

Table 3 Japanese guideline criteria for validation protocol of qualitative detection methods for food allergenic ingredients*

Number of laboratories:	≥6
Number of incurred samples:	≥5
Number of dose levels:	≥2 including negative control (blank) and positive control (10 µg/g**)
Precision:	≥90%

*Based on Notification No.139 of March 3, 2015, from the Food Labeling Standards of Consumer Affairs Agency.

**The corresponding allergenic ingredient soluble protein weight/food weight.

タンブロット法（卵，乳）またはPCR法（小麦，そば，落花生，えび，かに）により確認検査を行う（通知別添1，2）。通知別添3では，上記の検査法に用いる標準品規格に関して示されており，検査法の標準溶液の統一の規格化がされている（Table 1）。

また定量検査法及び確認検査法（定性検査法）を開発する際には，試験室間バリデーションにより，その性能が通知に記載されている基準を満たすこと示し，結果を公表することとなっている³¹⁾（通知別添4）（Table 2，Table 3）。また検査法の性能が基準を満たしていることを既に確認している従来法の改良に関しては，アレルギー物質を含む食品の検査方法の改良法の評価に関するガイドラインに従って，従来法と改良法の同等性を評価する（通知別添5）³¹⁾。

別添1，別添2には，検査の判断樹（Fig. 2）及びその解説である「判断樹について」が示されている。*1は従来の5品目に対応する部分である。えび・かにでは，ELISA法でえびとかにを区別できないため，表示

がありスクリーニング検査で陽性となった場合であっても，製造記録の確認が必要となり，*2に従って判断することとなる。

7. 世界の表示制度の動向

1999年のCODEX規格ガイドラインでは，アレルギー誘発食品の表示の対象として，グルテンを含む穀類（麦類），甲殻類，魚類，ピーナッツ，大豆，乳，木の実の8種が定められている²⁾。食物アレルギー表示を実施している諸外国では，このCODEX規格ガイドラインを基に各国の制度を定めている。米国では，グルテンを含む穀類，卵，甲殻類（カニ，エビ，ロブスター等），ピーナッツ，大豆，木の实（アーモンド，マカダミア，くるみ，ヘーゼルナッツ，ピスタチオ等），乳，魚，亜硫酸塩，ごまが表示対象になっている³³⁾。EUでの表示対象は，グルテンを含む穀類，卵，甲殻類（カニ，エビ，ロブスター等），ピーナッツ，大豆，ごま，マスタード，木の实（アーモンド，マカダミア，くるみ，ヘーゼルナッツ，

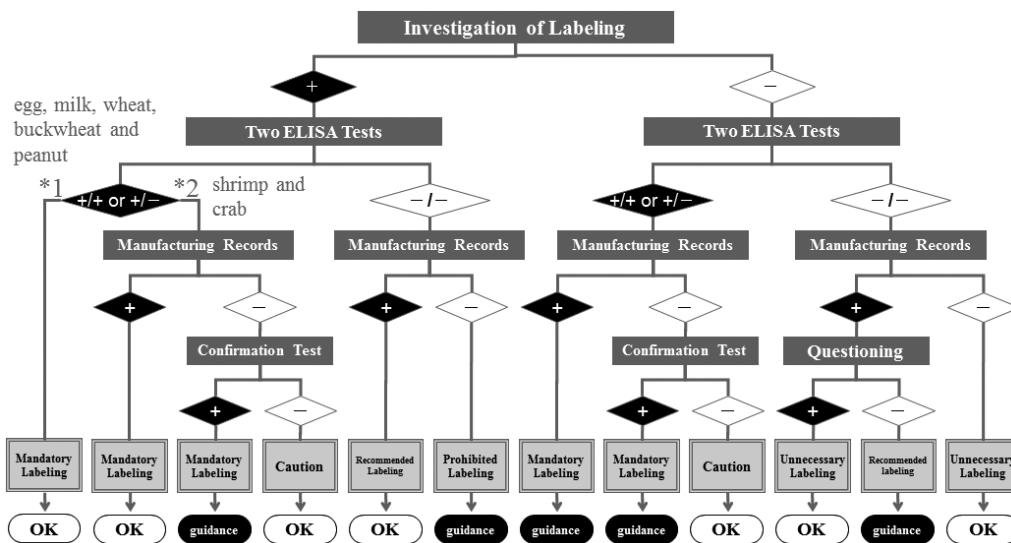


Fig. 2 Decision tree for the practical test used to monitor the allergy labeling system

ピスタチオ等), 二酸化硫黄 (亜硫酸塩), ルピナス, 乳, 魚, セロリ, 軟体動物 (カキ, イカ, ホタテ等) である。カナダでは, 木の実, ピーナッツ, ごま, グルテンを含む穀類, 卵, 牛, 大豆, 甲殻類, 貝類, 魚類, カラシナの種が表示対象になっている³⁴⁾。オーストラリア・ニュージーランドでは, 卵, 乳, グルテンを含む穀類, 甲殻類, ピーナッツ, 魚, 大豆, ナッツ類, ごま, ルピソ豆 (ハウチワマメ) が表示対象になっている³⁵⁾。また欧米諸国では, 小麦を含む穀類に対して消化器症状を呈するセリアック病対策のために「グルテンフリー」と表示できる制度を設定しており, その表示できる閾値として「20 ppm (mg/kg)」が設定されている。我が国はセリアック病患者が少ないことから, 行政上の対策はとられていないが, 食のグローバル化のため自主規制としてノングルテン表示として「1 ppm (mg/kg)」以下を表示可能としている。

8. 我が国の食物アレルギー表示の課題

我が国では, 食物アレルギー表示制度が浸透したことから, 表示を確認することにより, 特定原材料を徹底的に回避することが可能となっている。しかし, 近年, 乳幼児の食物アレルギーは, 発症頻度の高い食品を食べない期間が長びくほど発症リスクが高くなることが実証されている。既に食物アレルギーを発症した患者は当然摂取を回避することがリスク回避になるが, 発症前の乳幼児は摂取回避をすることが発症リスクを高め, 特に皮膚病変 (湿疹・アトピー性皮膚炎) を有する乳幼児の発症リスクは高く, 食品固有のリスク評価で高リスクとした食品を予防のために摂取回避を続けると, 発症リスクを高めることになる。それ故, 近年では, 食物アレルギーの食事療法は必要最小限の除去食指導に変更になっている³⁶⁾。

耐性獲得に至っていなくても, 少量の特定原材料等タンパク質量が食べられる患者に, 必要最小限の除去食を継続することは, 加工食品中の特定原材料等のタンパク質量が知ることができないので判断がつかない。そのため, 加工食品中の特定原材料等のタンパク質含有量がわかれば加工食品を利用でき, 食生活QOL向上が期待できる。

近藤らは, どこでも入手できる卵, 牛乳, 小麦の加工食品を選択し, 各食品中の各特定原材料タンパク質含有量を上記の検査法ELISA法の一部で測定し9段階の濃度に分類した加工食品のアレルゲン含有量早見表を作成している³⁷⁻³⁸⁾。同一商品における各アレルゲン含有量を検証したところ製造年が異なってもばらつきはほとんどなかった。一方, 同種食品間 (例, 食パン) の検討では, 食品メーカーが異なると (例, 乳) アレルゲン含

有量に最大100倍の開きがみられた。経口負荷試験の結果から求めた安全に食べられるアレルゲン含有食品量から早見表に移行する際の係数についても検討されている。経口負荷試験安全積算量と加工食品試食試験で, 経口負荷試験結果から求めた安全積算量に対し1/10量を含有する加工食品を試食した場合10~40%でアレルギー誘発を認めた。1/100以下にするとアレルギー誘発率は5%以下となった。そのため, 家庭で摂取することを想定し, 安全性を優先させて考えると安全係数は1/100が望ましいと考えた。利用する際の注意点として, 商品名が同じでも食品メーカーが異なると含有量が異なる場合があることから, 購入する際はメーカー名や規格まで確認させるよう指導する必要がある。義務または推奨表示が規定されている対象は加工食品に限定されており, ファーストフード, レストラン, ホテルなどの社会生活に深く浸透している外食産業が提供する食品に対して表示制度の対象外となっている。ファーストフードやレストランでは自主的な取り組みとしてアレルギー物質に関する情報提供が行われているが, 必ずしも遵守されていないことが多く, アレルギー事故が発生する報告がある³⁹⁾。

9. アレルギー表示の定量的なリスク評価の動向

欧米の国々では, 集団の閾値を推定するために最小発症量モデルの考え方を2002年から導入を開始している⁴⁰⁾。すべてのアレルギー患者におけるゼロリスクを達成するために開始されたが, 推定された最小閾値量のレベルが非常に低い値であったことから, 実際上の適用は困難を極めた。そのため, 意図しないアレルギー誘発原材料の存在の可能性を自主的に表記するprecautionary allergen labeling (PAL) を多くなるような影響になった。

Crevel et alは発症量 (ED) と呼ばれるアレルギー誘発原材料の総タンパク質量を定量する概念として, ベンチマークドーズ法を用いた参照用量の食物アレルギー患者の1%あるいは5%で惹起される確率の考え方を提唱した。その後, オランダの応用科学研究機関のTNOと米国ネブラスカ大学内研究機関のFood Allergy Research and Resource Program (FARRP) による共同作業により11の主要アレルギー誘発原材料に対して参照用量が掲載された^{41,42)}。この参照用量に基づくオーストラリア・ニュージーランドの業界団体であるthe Australia-New Zealand allergen BureauがVITAL (Voluntary Incidental Trace Allergen Labelling) と呼ばれるリスク評価方法を採用している。欧米の多くの食品企業と所管官庁はこの考え方をリスク管理手法に容認している。しかし, このアプローチ方法以外の合意でき

た方法は欧米間では依然としてない。その後、さらなる参照用量の使用を開発するための追加データや手法が確立するようになった。シングルドーズ負荷試験をもちいたEDモデルのバリデーション研究も行われている⁴³⁾。

さらにTNOとFARRPは食物負荷試験データを収集し、モデル平均化アプローチを開発した。モデル平均化アプローチは、ベンチマーク値の偏差には適したアプローチであると考えられている。14のアレルギー誘発原材料の新しいED値を示した。その結果を、VITAL programの参照用量のVITAL 3.0 valuesとして公開した⁴⁴⁾。欧米諸国はリスクベースでの表示のアプローチをしているが、低い設定の閾値のため社会的には受入れ難い状況になっている。そのため、可能性表示の“may contain”であるprecautional allergen labeling (PAL) の表示が乱用されている。そのためアレルギー患者の食品の選択の幅を狭めて、PAL警告の価値を下げてしまっている。そのことからアレルギー患者は欧米の表示制度を信頼されていない状況になっている⁴⁵⁾。

我が国も2001年より表示によるリスク管理が先行したが、2016年より内閣府食品安全委員会において卵のリスク評価を行い、2021年に評価書案をまとめた⁴⁶⁾。その評価書では、我が国も欧米諸国と同様にEDモデルによる定量的な評価を試み議論した。定量的な評価の結論はできていないが、我が国の表示によるリスク管理手法は適正に機能しており、我が国のアレルギー表示はおおむね妥当性があると結論されている。欧米諸国の一部の研究者は日本のアレルギー表示によるリスク管理手法を評価し期待は大きい。しかしながら、我が国のアレルギー表示の科学的根拠が希薄であることは否定できない。国際的なリスク評価手法の考え方を受け入れて、今後は我が国のアレルギー表示の科学的根拠による妥当性を国際的に示していくことが重要と考えられる。

引用文献

- 1) Akiyama H, Imai T, Ebisawa M: *Adv. Food Nutr. Res.* 2011; 62: 139-71. doi:10.1016/B978-0-12-385989-1.00004-1
- 2) <http://www.foodallergens.info/Legal/CODEX.html> (令和3年6月1日現在)
- 3) 食物アレルギー診断の手引き2020: <https://www.foodallergy.jp/wp-content/themes/foodallergy/pdf/manual2020.pdf> (令和3年6月1日現在)
- 4) Matsuda R, Yoshioka Y, Akiyama H, Aburatani K, Watanabe Y, Matsumoto T, Morishita N, Sato H, Mishima T, Gamo R, Kihira Y and Maitani T: *J. AOAC Int.* 2006; 89: 1600-08. doi:10.1093/jaoac/89.6.1600
- 5) Ito K, Yamamoto T, Oyama Y, Tsuruma R, Saito E, Saito Y, Ozu T, Honjoh T, Adachi R, Sakai S, Akiyama H, Shoji M: *Anal. Bioanal. Chem.* 2016; 408: 5973-84. doi:10.1007/s00216-016-9438-7
- 6) 柴原裕亮, 岡道弘, 富永桂, 猪井俊敬, 梅田衛, 畝尾規子, 阿部晃久, 大橋英治, 潮秀樹, 塩見一雄: *日本食品科学工学会誌* 2007; 54: 280. doi:10.3136/nskkk.54.280
- 7) Seiki K, Oda H, Yoshioka H, Sakai S, Urisu A, Akiyama H, Ohno Y: *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 9345-50. doi:10.1021/jf0715471
- 8) Sakai S, Matsuda R, Adachi R, Akiyama H, Maitani T, Ohno Y, Oka M, Abe A, Seiki K, Oda H, Shiomi K, Urisu A: *J. AOAC Int.* 2008; 91: 123. doi:10.1093/jaoac/91.1.123
- 9) Morishita N, Kamiya K, Matsumoto T, Sakai S, Teshima R, Urisu A, Moriyama T, Ogawa T, Akiyama H, Morimatsu F: *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56: 6818-24. doi:10.1021/jf8007629
- 10) Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R, Morishita N, Matsumoto T, Urisu A: *J. AOAC Int.* 2010; 93: 243-8. doi:10.1093/jaoac/93.1.243
- 11) Doi H, Shibata H, Shoji M, Sakai S, Akiyama H: *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56: 7625-30. doi:10.1021/jf801550h
- 12) Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R, Doi H, Shibata H: *J. AOAC Int.* 2010; 93: 1255-61. doi:10.1093/jaoac/93.4.1255
- 13) Yamakawa H, Akiyama H, Endo Y, Miyatake K, Sakata K, Sakai S, Toyoda M, Urisu A: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007; 71: 2561-64. doi:10.1271/bbb.70251
- 14) Yamakawa H, Akiyama H, Endo Y, Miyatake K, Sakata K, Sakai S, Toyoda M, Urisu A, Teshima R: *Biosci. Biotech. Biochem.* 2008; 72: 2228-31. doi:10.1271/bbb.80237
- 15) Watanabe T, Akiyama H, Maleki S, Yamakawa H, Iijima K, Yamazaki F, Matsumoto T, Futo S, Arakara F, Watai M, Maitani T: *J. Food Biochem.* 2006; 30: 215-33. doi:10.1111/j.1745-4514.2006.00056.x
- 16) 穂山浩, 松田りえ子, 米谷民雄: *小児科診療* 2004; 7: 1075-81.
- 17) 穂山浩, 酒井信夫, 佐伯宏樹, 渡辺一彦, 赤澤晃, 宇理須厚雄: *小児内科* 2007; 39: 558-63.
- 18) 穂山浩, 佐伯宏樹, 渡辺一彦, 宇理須厚雄: *臨床免疫・アレルギー科* 2006; 46: 588-95.
- 19) 穂山浩, 安達玲子, 手島玲子: *臨床免疫・アレルギー*

- 科 2009; 51: 363-70.
- 20) Taguchi H, Watanabe S, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Watanabe T, Matsuda R, Urisu A, and Maitani T: *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 1649-55. doi:10.1021/jf0624446
- 21) Yamakawa H, Akiyama H, Endo Y, Miyatake K, Sakata K, Sakai S, Moriyama T, Urisu A, Maitani T: *Biosci. Biotech. Biochem.* 2007; 71: 269-72. doi:10.1271/bbb.60485
- 22) Yano T, Sakai Y, Uchida K, Nakao Y, Ishihata K, Nakano S, Yamada T, Sakai S, Urisu A, Akiyama H, Maitani T: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007; 71: 1793-96. doi:10.1271/bbb.70118
- 23) Taguchi H, Watanabe S, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Watanabe T, Matsuda R, Urisu A, and Maitani T: *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 1649-1655. doi:10.1021/jf0624446
- 24) Tanabe S, Hase M, Yano T, Sato M, Fujimura T, Akiyama H: *Biosci. Biotech. Biochem.* 2007; 71: 3131-35. doi:10.1271/bbb.70683
- 25) Sakai Y, Ishihata K, Nakano S, Yamada T, Yano T, Uchida K, Nakao Y, Urisu A, Adachi R, Teshima R, Akiyama H: *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58: 8145-51. doi:10.1021/jf100675c
- 26) 鈴木剛, 松浦健治, 前田守, 長崎俊夫, 瀬上幸子, 渡邊路子, 渡辺久美子, 白利江子, 西田佳奈子, 豊田正武: *日本食品科学工学会誌* 2004; 51: 691-7. doi:10.3136/nskkk.51.691
- 27) Koizumi D, Shirota K, Akita R, Oda H, Akiyama H: *Food Chem.* 2014; 150: 348-52. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.130
- 28) Koizumi D, Shirota K, ODA H, Adachi R, Sakai S, Akiyama H, Nishimaki-Mogami T, Teshima R: *J. AOAC Int.* 2018; 101: 798-804. doi:10.5740/jaoacint.17-0324
- 29) Nagai H: *J. AOAC Int.* 2017; 100: 1051-57. doi:10.5740/jaoacint.11-0214.
- 30) Seki Y, Nakamura K, Arimoto C, Kikuchi H, Yamakawa H, Nagai H, Ito T, Akiyama H: *J. Chromatogr. A* 2021; 1639: 461877. doi:10.1016/j.chroma.2021.461877
- 31) アレルギー物質を含む食品の検査方法について: https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_labeling_act/pdf/food_labeling_cms101_200720_01.pdf
- 32) Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R: *J. Agric. Food Chem.* 2013; 61: 5675-80. doi:10.1021/jf3033396
- 33) USA: <https://www.fda.gov/food/food-allergens-gluten-free-guidance-documents-regulatory-information/food-allergen-labeling-and-consumer-protection-act-2004-falcpa>
- 34) EU: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/codex_ccfl_cl-2018-24_ann-02.pdf
- 35) FSANZ: <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/labelling/Pages/allergen-labeling.aspx>
- 36) 松原優里, 阿江竜介, 大矢幸弘, 穂山浩, 今井孝成, 松本健治, 福家辰樹, 青山泰子, 牧野伸子, 中村好一, 斎藤博久: *アレルギー* 2018; 67: 767-73. doi:10.15036/arerugi.67.767
- 37) 高松伸枝, 村松毅, 近藤康人: *看護科学研究* 2014; 12: 38-43. doi:10.20705/jjnhs.12.1_38
- 38) 近藤康人: *食物アレルギー研究会会誌* 2014; 14: 94-9.
- 39) 穂山浩: *小児科臨床* 2017; 70: 1869-74.
- 40) Bindslev-Jensen C, Briggs M, Osterballe D: *Allergy* 2002; 57: 741-6. doi:10.1034/j.1398-9995.2002.23797.x
- 41) Allen KJ, Remington BC, Baumert JL, Crevel RWR, Houben GF, Brooke-Taylor S, Kruizinga AG, Taylor SL: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 133: 156-64. doi:10.1016/j.jaci.2013.06.042
- 42) Taylor SL, Baumert JL, Kruizinga AG, Remington BC, Crevel RW, Brooke-Taylor S, Allen KJ: Allergen Bureau of Australia & New Zealand, Houben G: *Food Chem. Toxicol.* 2014; 63: 9-17. doi:10.1016/j.fct.2013.10.032
- 43) Hourihane JO, Allen KJ, Shreffler WG, Dunngalvin G, Nordlee JA, Zurzolo GA, Dunngalvin A, Gurrin LC, Baumert JL, Taylor SL: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 139: 1583-90. doi:10.1016/j.jaci.2017.01.030
- 44) VITAL 3.0: <http://allergenbureau.net/vital/vital-science/>.
- 45) Madsen CB, van den Dungen MW, Cochrane S, Houben GF, Knibb RC, Knulst AC, Ronsmans S, Yarham RAR, Schnadt S, Turner PJ, Baumert J, Cavandoli E, Chan CH, Warner A, Crevel RWR: *Regul. Toxicol. Pharm.* 2020; 117: 104751. doi:10.1016/j.yrtph.2020.104751
- 46) アレルゲンを含む食品(卵)のリスク評価書案: <https://www.fsc.go.jp/fscis/meetingMaterial/show/kai20210420fsc>