

A-4 リンゴ PFAS アレルゲンコンポーネント Mal d 1 に関する研究

沖嶋直子 (松本大学人間健康学部健康栄養学科)

小林克彦 (小林耳鼻咽喉科医院)

小池由美 (長野県立こども病院アレルギー科)

キーワード：花粉-食物アレルギー症候群、PFAS、Mal d 1、経口負荷試験

要旨：長野県産リンゴ 28 品種を試料として、アレルゲンコンポーネント Mal d 1 の mRNA およびタンパク質を定量した。その結果から低アレルゲン性リンゴ 9 品種を用いた経口負荷試験を行った。mRNA 発現量はシナノドルチェ他複数品種でサンふじよりも有意に低く、こうとくは有意に高かった。タンパク質量は王林他 12 品種でサンふじよりも有意に低値であった。経口負荷試験では、シナノホッペとサンふじで全員陰性で他品種は陽性者がいた。サンふじが全員陰性だった理由は、実施した 2019 年の台風直撃により、果実を早く収穫したことが考えられた。

A. 目的

近年、花粉-食物アレルギー症候群 (PFAS) により、リンゴを生食できない患者が増加している。日本や中欧、北欧におけるリンゴ PFAS のアレルゲンコンポーネントは Mal d 1 で、欧州では、Mal d 1 の定量値や経口負荷試験結果から PFAS を起こしにくい品種が見いだされているが、日本における同様のデータは皆無だった。そこで、本研究の目的を、日本栽培種における Mal d 1 量を明らかにするとともに、PFAS 患者が無症状で喫食できる品種を明らかにすることとした。

B. 方法

長野県産リンゴ 28 品種を試料とした。Mal d 1 mRNA のうち、発現量が多い Mal d 1.01 および 1.02 をリアルタイム PCR 法にて定量した¹⁾。タンパク質量はウェスタンブロット (WB) 法を用いて求めた。文献 2 の方法にて Mal d 1 を抽出して SDS-PAGE を行い PVDF 膜へ転写後、抗 Mal d 1 ウサギポリクローナル抗体、抗ウサギ IgG-HRP と反応させた後に ImageQuant LAS4000 にて ECL prime による化学発光の検出と解析を行った。サンプルの抗 Mal d 1 抗体特異的バンドの発光強度を、同時に電気泳動した rMal d 1 (0.1 μ g / レーン) の発光強度で除して補正した。

Mal d 1 mRNA が低発現であった 9 品種 (シナノピッコロ、サンつがる、シナノドルチェ、千秋、秋映、シナノホッペ、王林、あいかの香り) およびサンふじを用いた経口負荷試験は、二重

盲検法にて実施した。文献 3 を参考に考案したリンゴのスムージー (表 1) を被験食とし、プラセボには加熱滅菌にて Mal d 1 が失活していることを WB にて確認した市販のリンゴジュースを用いた。試験食当たりの果実投与量は、一般的なリンゴ 6~8 等分の 1 切れに相当する 25g とした。試験食は 30 分間隔で投与し、次の投与直前に医師による診察と VAS による主観的評価を行った。

表 1 試験食のレシピ

	プラセボ	試験食
キャベツ	55	50
リンゴ果実	0	25
加熱滅菌済みリンゴジュース	55	35
レモン果汁	2.5	2.5

C. 結果

mRNA 発現量は、シナノドルチェ他複数品種と比較対照としたサンふじよりも有意に低く、こうとくが有意に高かった (図 1)。タンパク質量は、王林他 12 品種でサンふじよりも有意に低値で、有意に高値な品種はなかった。

経口負荷試験では、シナノホッペおよびサンふじで 6 名中全員が無症状だったが、サンつがる他 7 品種は 1 名以上の被験者で症状を示した。

D. 考察

mRNA およびタンパク質解析結果から、複数の低アレルゲン性リンゴ品種の候補が見いだされた。多くの品種で mRNA 発現量とタンパク質

量は同じ傾向を示したが、mRNA 発現量とタンパク質量が相関しない品種も複数存在した。したがって、より正確にアレルギー性を把握するためには、タンパク質を定量すべきであることが明らかとなった。

経口負荷試験の結果から、Mal d 1 量がサンふじより少ない品種で1名以上の陽性者が出たにも関わらず、サンふじは全ての被験者で陰性だった。Mal d 1 量は果実の成熟とともに増加することが報告されている⁴⁾。今回全員がサンふじで陰性だった理由として、本試験を実施した2019年は長野県に被害をもたらした台風19号が10月に通過し、その被害を免れるために例年よりも早く収穫したことが原因だと考えられた。

E. まとめ

経口負荷試験は、実施した年度の気候変動による収穫時期に左右された。今後も気候変動に留意しつつ継続して実施し、リンゴPFAS患者が無症状で喫食できるリンゴ品種を見出したい。

F. 利益相反

利益相反なし。

G. 文献

- 1) A.Botton, P.Lezzer, A.Dorigoni et al.: Genetic and environmental factors affecting allergen-

related gene expression in apple fruit (*Malus domestica* L. Bork) *J.Agric.Food Chem.* 56:6707-16, 2008.

- 2) L.S.Hsieh, M.Moos and Y.Lin.: Characterization of apple 18 and 31 kd allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. *J.Allergy Clin.Immunol.* 96:960-70, 1995.
- 3) K.Skamtrup-Hansen, H.Vestergaad, P.Stahl-Sknov et al.: Double-blind, placebo-controlled food challenge with apple. *Allergy* 56:109-17, 2001.
- 4) Y,Shi, L.Jiang, L.Zhang et al.: Synamic changes in protein during apple (*Malus x domestica*) fruit ripening and storage. *Hort. Res.* 1:6:doi:10.1038, 2014.

(謝辞)

本研究を実施するにあたり、以下の皆さんの協力を得たので深謝する。

川上 真里奈、田村 瑞木、庭野 愛永、鈴木千友美、福田 拓己、中山 史帆、新田 雅己 (松本大学人間健康学部人間健康学科 卒業生)

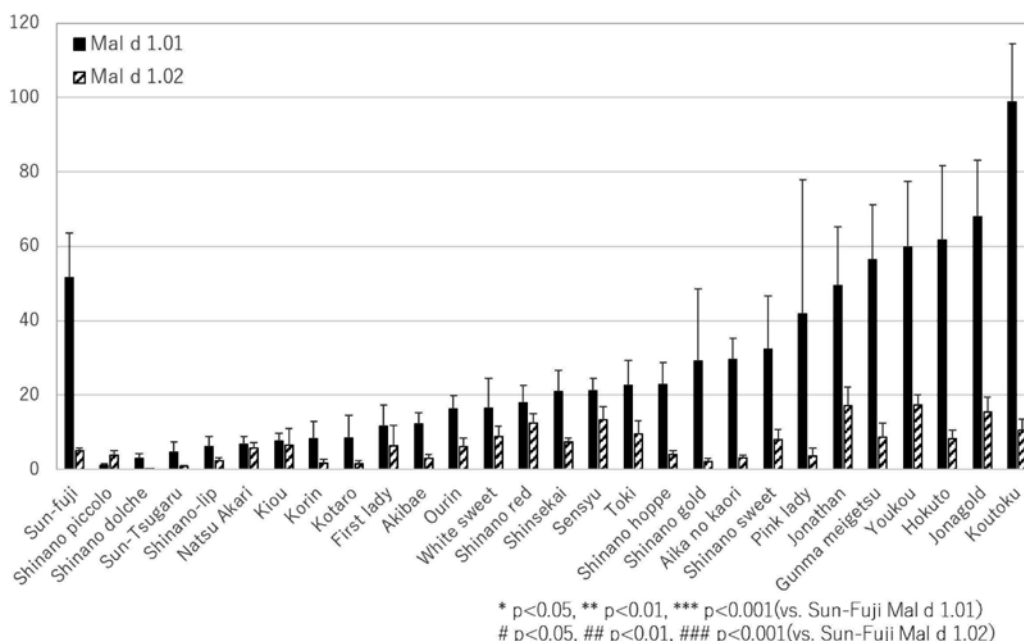


図1 Mal d 1 mRNA発現量