

■研究・実践の課題（テーマ）

加熱による鶏卵アレルギーの水溶性変化に関する検討

■主任研究者 和泉秀彦

■共同研究者 田中賀治代

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

一般的にアレルギーは、加熱変性によって立体構造が崩れ、症状を誘発しにくくなると考えられてきた。しかし、あいち小児保健医療総合センターでは、十分加熱変性したと考えられる米粉クッキー(卵+米粉)、卵ボーロ(卵+片栗粉)を経口負荷試験に用いたところ、クッキーでは症状が誘発されにくい、ボーロでは誘発されるケースがあった。この原因を解析したところ、鶏卵加工食品による鶏卵アレルギー患者の症状軽減にはタンパク質の不溶化(凝固)が関係していることが示唆された(先行研究)。そこで、我々は、低アレルギー化は変性ではなく、不溶性(凝固)が関与していると考え、鶏卵タンパク質の変性と抗体結合能の関係性を明らかにすることを目的とした。

市販の鶏卵から OVA を精製し、PBS に 1mg/mL の濃度で溶解した。その後、80℃で 6 時間加熱し、経時的にサンプリングした。この条件では OVA は凝固せず、解析が容易である。加熱時間による OVA の状態変化を SDS-PAGE で、変性の有無をトリプシンによる消化試験で解析した。また、フリーの SH 基を測定することで変性の程度を解析した。変性の程度が異なるサンプルを選択し、アレルギー患者血清と阻害 ELISA を行い、抗体結合能を解析した。

非還元条件下では、凝集により SDS-PAGE のゲルに入らない高分子化したタンパク質が確認された。還元条件では、先述の凝集物のほとんどが OVA を示す 45kDa に確認された。以上より、OVA は加熱により凝集するが、その凝集物はコロイド状態で水溶性画分に存在していることが示唆された。

トリプシン消化試験を行うと、加熱 3 分以降で分解断片が見られ、3 分以上の加熱により変性することが明らかとなった。さらに変性の程度を解析すると、フリーの SH 基濃度は 3 分から上昇しはじめ、20 分で最大値を示し、6 時間では最大値の約 50%まで減少した。OVA は加熱時間により変性の程度や状態が異なることが改めて示された。

阻害 ELISA の結果、変性したが凝集していない加熱 3 分は、未加熱の OVA と同程度の抗体結合能を示した。一方、加熱時間が長くなるにつれ、抗体結合能は低下する傾向が確認された。以上より、OVA は変性しても弱い加熱条件下では抗体結合能が残っている可能性が示唆された。