総説

魚介類アレルギーに関する最新の分子生物学的知見

塩見 一雄*

Current Knowledge on Molecular Features of Seafood Allergens

Kazuo SHIOMI

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine
Science and Technology: 4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan**Key words:** アレルゲン allergen; エピトープ epitope; 魚介類 seafood; コラーゲン collagen; 食物アレルギー food allergy; トロポミオシン tropomyosin; パルブアルブミン parvalbumin

1. はじめに

アレルギーは文明病といわれるように、先進国では各種アレルギー疾患の患者が増加傾向にあり大きな社会問題になっている。なかでも食物アレルギーは、健康の維持に必須である食物が原因となるだけでなくアナフィラキシーショックにより死亡する危険性もあるので、花粉症やダニアレルギーといった他のアレルギー疾患以上に問題は深刻である。食物アレルギーではほとんどあらゆる食品が発症につながるが、世界的には卵、牛乳、米、小麦といった農畜産物が主要なアレルギー原因食品とされている。わが国ではタンパク質源の約40%を魚介類に依存しているという事情があり、農畜産物だけでなく魚介類も重要なアレルギー原因食品となっている。厚生労働科学研究班（主任研究者：海老澤元宏）がまとめた『食物アレルギーの診療の手引き 2008』（非売品であるが、PDF版を<http://www.foodallergy.jp/> や http://www.jaanet.org/guideline/05_syoku/index.html からダウンロードできる）によれば、症例数の点で甲殻類（えび、かに）は鶏卵、乳製品、小麦に次いで第4位に、魚類も第7位にランクされている。魚介類アレルギーは特に高い年齢層で多いという特徴があり、成人のアレルギー原因食品に限ると甲殻類は第1位、魚類は第4位である。食物アレルギーによる健康被害の防止を目的としたアレルギー表示制度においても、表示が義務化されている特定原材料7品目のうち2品目（えび、かに）が、表示が奨励されている特定原材料に準ずる18品目のうち5品目（あわび、いか、いくら、さけ、さば）が魚介類である。

食物アレルギーを分子レベルで理解し、適切な診断・治療・予防の方法を確立するためには、アレルギー誘発タンパク質（アレルゲン）に関する情報が必須である。農畜産物のアレルゲンについては、単離同定、アレルゲンの感

作・発症に重要なエピトープの解析など詳細な研究が行われ、米やミルクなどではすでに低アレルゲン食品も開発されている。一方、わが国におけるアレルギー原因食品として重要な魚介類のアレルゲンに関する分子レベルの研究は、北欧産のタラ類での先駆的研究を除くとすべて1990年代以降に実施されたものである。研究の歴史はまだ浅いにもかかわらず、魚介類アレルゲンの構造特性や免疫学的性状といった分子生物学的知見が急速に蓄積されつつある。本稿では、食物アレルギーの基礎として発症機構とアレルゲンのエピトープを簡単に説明した後に、魚介類アレルギー問題の解決の一助として、魚介類アレルゲンに関する最新の分子生物学的知見を整理したい。

2. 食物アレルギーの基礎

2.1 発症機構

免疫機構が異常をきたし、非自己に対する拒絶反応が過敏になり、結果的に自己を攻撃してしまう反応がアレルギーである。アレルギーは発症機構によって4つの型（I～IV型）に分けられているが、食物アレルギーのほとんどは典型的なI型（即時型）アレルギーである。食物アレルギー（I型アレルギー）の発症機構をFig. 1に示すが、アレルゲンが腸管から吸収されるという点を除くと、体内に入った後のできごととは花粉症やダニアレルギーといった他のI型アレルギーと全く同じである。アレルゲンはまずマクロファージなどの抗原提示細胞に取り込まれてペプチドに分解され、MHCクラスII分子と複合体を形成して細胞表面に提示される。次に、複合体に対するレセプターを持つT細胞が複合体と結合し、T細胞は活性化されてヘルパーT細胞になる。ヘルパーT細胞にはTh1細胞とTh2細胞があるが、I型アレルギーの場合にはTh2細胞が優勢になり、Th2細胞はサイトカインとして主にインターロイキン4を放出する。ヘルパーT細胞が放出するサイトカインによってB細胞が活性化されると、B細胞はイムノグロブリン（IgA, IgD, IgE, IgG および IgM

* 連絡先

東京海洋大学食品生産科学科：〒108-8477 東京都港区港南
4-5-7

Fig. 1. Crisis mechanism of food allergy

の5種類がある）と呼ばれる抗体を産生するようになるが、インターロイキン4によって活性化されたB細胞はI型アレルギーの主役ともいえるIgE抗体を産生する。産生されたIgEは、皮膚や気道、消化管などの表面に存在しているマスト細胞（マストセルとか肥満細胞ともいう）に結合し、アレルギーの準備態勢が整う。ここにアレルギーが再度侵入し、マスト細胞上の2つのIgEと架橋するように結合すると、マスト細胞から化学伝達物質（ヒスタミン、ロイコトリエン、プロスタグランジンなど）が放出され、じんましん、気管支ぜんそく、鼻炎、下痢などのアレルギー症状が引き起こされる。

2.2 アレルゲンのエピトープ

アレルギーの感作・発症には、アレルゲン分子の全構造ではなく一部の構造がかかわっている。感作は、抗原提示細胞の表面に提示されたアレルゲンペプチドをT細胞が認識することで起こる。すなわち、感作に必要なのはT細胞によって認識されるアレルゲン分子中のペプチド領域で、この領域をT細胞エピトープという。一方、アレルゲンがマスト細胞表面のIgEと結合するとアレルギーが発症するので、発症に必要なのはアレルゲン分子中のIgEと結合する領域である。このIgE結合領域をIgEエピトープという（B細胞がインターロイキン4の指令を受けてIgEを産生する前に、アレルゲンはB細胞表面にもともと存在しているIgEと結合するので、IgEエピトープはB細胞エピトープともいう）。T細胞エピトープはアレルギーの感作に、IgEエピトープはアレルギーの発症に関与しているので、アレルギーを分子レベルで理解するためにはこれらエピトープを明らかにすることが必須である。また、減感作療法（アレルゲン分子またはアレルギー発症の危険性のない改変アレルゲンを少量ずつ患者に投与して免疫寛容を誘導する療法で、アレルギーの根本的治療法といわれている）で望まれているアレルギー発症の危険性のない改変アレルゲン（T細胞エピトープは含むがIgEエピトープは欠く）の創製にとってエピトープ情報は不可欠である。さらに食品分野では、発症の危険性のない低アレルゲン食品の開発が望まれているが、IgEエピトープの切断という戦略に基づいた低アレルゲン食品の場合には当然のことながらIgEエピトープ情報が基礎となる。なお、T細胞エピトープはアミノ酸配列に依存していることは明

らかであるが、IgEエピトープの場合にはアミノ酸配列に依存したエピトープ（一次構造エピトープ）と立体構造に依存したエピトープ（立体構造エピトープ）の両方がある。

3. 魚類のアレルゲン

魚類のアレルゲンの話に先立ち、魚を食べてアレルギー症状が出た場合、魚アレルギーのほかにアレルギー様食中毒またはアニサキスアレルギーの可能性もあることを指摘しておきたい。アレルギー様食中毒は、赤身魚（イワシ、サンマ、サバ、カツオ、マグロなど）の筋肉中に高濃度に含まれている遊離ヒスタミンから微生物の脱炭酸酵素作用により生成したヒスタミンが原因で起こる食中毒である。アレルギーの場合のヒスタミンは免疫系を介してアレルギー体質の人でのみマスト細胞から放出されるが、アレルギー様食中毒は赤身魚に蓄積したヒスタミンを経口摂取するので、アレルギー体質であるかどうかにかかわらず一定量以上のヒスタミンを摂取したすべての人に症状が現れる。一方、魚介類の代表的な寄生虫である線虫アニサキスは、ヒトの消化管（特に胃）に寄生して腹痛、下痢、嘔吐などの症状（アニサキス症）を引き起こすことはよく知られている。1990年代に入ると、2度目以降の感染ではアニサキス症の症状に加えてじんましん、血管性浮腫、アナフィラキシーといったアレルギー症状も伴うことが指摘され、IgEを介したI型アレルギーであることが証明されている。本稿ではアニサキスアレルギーは取り上げないので、興味のある方は総説¹⁾、2)および成書³⁾を参照されたい。

3.1 パルプアルブミン

北欧では魚類アレルギー、特にタラ類 *Gadus callarias* によるアレルギーが古くから有名であり、アレルギーの主役であるIgE抗体がIshizakaら⁴⁾によって発見された1966年直後から、AasとElsayedを中心とするノルウェーの研究者グループが *G. callarias* を対象として魚類アレルギー研究を開始した。彼らは精製した主要アレルゲンをアレルゲンMと名づけ、アミノ酸配列分析からパルプアルブミンであることを明らかにした⁵⁾、⁶⁾、アレルゲンM（今ではアレルゲンの命名法に従ってGad c 1と呼ばれている）は、食物アレルギーだけでなくすべてのアレルギーでアレルゲンの本体が明らかにされた最初の例である。Gad c 1に関する研究があまりにも先駆的であったため魚類アレルギーに関する分子レベルの研究はその後しばらく途絶えたが、1990年代以降、コイ⁷⁾、タイセイヨウサケ⁸⁾、ウナギ⁹⁾、マアジ¹⁰⁾、マサバ¹¹⁾、メバチ⁹⁾など、わが国でも広く食用にされている魚類も含めて各種魚類の主要アレルゲンは例外なくパルプアルブミンであることが次々に証明された。さらに最近では、東南アジアでも魚類アレルギーに関する研究が行われ、亜熱帯～熱帯海域に生息する魚類（フエダイ類やムロアジ類など）の主要アレルゲンもやはりパルプアルブミンであると報告されている^{12)～14)}。

り, 109 残基以上の α タイプと 108 残基以下の β タイプに分けられるが²³⁾, 魚類パルブアルブミンのほとんどは β タイプであり, β タイプのパルブアルブミンに特徴的とされている 6 残基 (Ala-13, Leu-15, Cys-18, Phe-66, Gln-68, Thr-78)²⁴⁾ もおおむね保存されている. Fig. 2 に示した魚類パルブアルブミンの中では Gad c 1 のみが 113 残基で α タイプになるが, β タイプに特徴的なアミノ酸 6 残基の

Fig. 3. Stereo structure of Pacific mackerel parvalbumin

各種魚類のバルブアルブミンのアミノ酸配列をFig. 2に、立体構造の典型例（マサババルブアルブミン）をFig. 3に示す。バルブアルブミンはペプチド鎖の長さによ

1 10 20 30 40 50 60

Japanese eel AFAGVLKADADITAAL EACKAADS FN YKAFKAVGLSNKSPDDIKKAFSIIDQDKSGFIEE

Sardine ---LV-E-----DH---H---M-GQ-A-EL---A-----

Carp 1 -YG-I-N----- -A-S-----A-T-----AV-----

Carp 2 -----N-----[H-T]-[T-S]-A-EV---A-----

Atlantic salmon 1 -C-HLCKE---KT---T-SF-T-HTI-FAS-A-V---KV---A-----V

Atlantic salmon 2 S---N---VA---A---T---H---AS-S-V---YV-----

Cod --K-I-SN--K-EA--FKEG--DEDG-Y--[DAF-A-EL]-L-K-[A-E--E-----

Horse mackerel --K--N--V--DG--S-F DH--KAC--AA-A-----A-----

Crimson sea bream --G-I-----A-----KH-E--S-----S-A-E-----V-----

Pacific mackerel ---S---EV---DG--G-DH-K-KAC--G-T-EV---A-----

Skipjack -V-- --EVA--D--D-G--DH-K--HSC--G--A-V---A-----

Flounder SL-SK-SE---[AE-Q--G--H-K-----A-A--A-AV-----D-----

61 70 80 90 100 110

Japanese eel DELKLFLQNFSKGARALTDKETKAFLQAGD TDGDKIGID EFAAVVKA

Sardine E-----C-K-----G--N-K-----N-NHL--H

Carp 1 -----A-----A---K--S-----V---LI--

Carp 2 -----KAD--[G--T--K--S--]-V---T-L--

Atlantic salmon 1 E-----CPK--E---A---K--A---M-----VL--Q

Atlantic salmon 2 -----AS---A---AD--K---M--V---G-MI-G

Cod ---[IA-AADL]---A---[K--A---]-V---G-L-DKWGAKG

Horse mackerel -----CA-----S-A---K--S-----V---G-M--H

Crimson sea bream -----KA-----E-SK-K--S-----A--GEM--V

Pacific mackerel E-----KA-----S-A---K--S-----MI-G

Skipjack -----KSS---S-A---K--S-----V---G-L--H

Flounder -----A-----A--E-K--S-----V---M--Q

** *****

Fig. 2. Amino acid sequences of fish parvalbumins

Accession numbers for parvalbumins (UniprotKB/Swiss-Prot database for cod parvalbumin and DDBJ/EMBL/GenBank databases for the other parvalbumins): Japanese eel *Anguilla japonica*, AB375263; sardine *Sardinops melanostictus*, AB375262; carp *Cyprinus carpio* 1, AJ292211; carp 2, AJ292212; Atlantic salmon *Salmo salar* 1, X97824; Atlantic salmon 2, X97825; cod *Gadus callarias*, P02622; horse mackerel *Trachurus japonicus*, AB211364; crimson sea bream *Evynnis japonica*, AB375264; Pacific mackerel *Scomber japonicus*, AB091470; skipjack *Katsuwonus pelamis*, AB375265; flounder *Paralichthys olivaceus*, AB375266. The residues identical with those of Japanese eel parvalbumin are shown as dashes (—). Conformational IgE epitope regions assumed for carp parvalbumin (isoform 2) and linear IgE epitope regions proposed for cod and Pacific mackerel parvalbumins are boxed. EF-hand motifs and Ca²⁺-binding sites are shown by underlines and asterisks, respectively, below the sequence of flounder parvalbumin.

うち4残基はGad c 1でも保存されており、Gad c 1は α タイプと β タイプの中間かもしれない。パルブアルブミンの構造的特徴としては、 α -ヘリックス-ループ- α -ヘリックスで構成されているEF-handモチーフを持つことが挙げられる。AB, CD, EFドメインと呼ばれている3領域がEF-handモチーフに相当し、CDドメインとEFドメインのループ部分(領域51~62および90~101)が Ca^{2+} 結合部位である(Fig. 2および3)²⁵⁾。

臨床現場では、魚類アレルギー患者の多くは特定の魚種だけでなく魚一般に対して反応するといわれている。このことは魚類の主要アレルゲンであるパルブアルブミンはお互いに抗原交差性を示す、すなわち共通のIgEエпитープを持つことで説明されている^{26), 27)}。Gad c 1の場合、加熱やpHの変化、タンパク質変性剤による処理はIgE反応性にほとんど影響を与えないし、 Ca^{2+} を除去しても(=立体構造が変化しても)IgE反応性の低下は約25%であるので²⁸⁾、一次構造エпитープが重要とされている。実際、酵素分解で得られたペプチドや各種合成ペプチドのIgE反応性の評価に基づき、4つの領域(33~44, 49~64, 65~74, 88~96)が主要なIgEエпитープとして提唱されている²⁹⁾(Fig. 2)。しかし、49~64と88~96の領域は各種魚類パルブアルブミンで保存性が高いものの、残りの2つのIgEエпитープ領域は変異が著しいので、Gad c 1のIgEエпитープは魚類パルブアルブミンに普遍的であるとはいえない。そこで筆者ら³⁰⁾は、マサバパルブアルブミンについて全長をカバーするオーバーラップペプチドを用いて一次構造IgEエпитープを解析した。その結果、Gad c 1の4つのIgEエпитープ領域を含むペプチドのいずれにもIgE反応性はほとんど認められず、主要なエпитープは領域21~40に含まれることが判明した(Fig. 2)。領域21~40についてはさらに1残基ずつAla置換した合成ペプチドのIgE反応性も調べ、IgEとの結合にはLys-27, Lys-28, Cys-33およびLys-38が必須であること、Ser-23, His-26およびLys-31も重要であることを明らかにした。興味深いことに、ウナギ、マイワシなどその他の7種魚類のパルブアルブミンの場合、これらIgE結合に必須あるいは重要な残基が変異しているためか領域21~40に相当するペプチドはIgE結合能をほとんど示さなかった。これらの結果は、魚類パルブアルブミンはそれぞれ固有の一次構造IgEエпитープを持つことを強く示唆しており、パルブアルブミンの魚種間の交差性は一次構造エпитープでは理解できない。

近年、魚類パルブアルブミンのIgEエпитープに関しては、一次構造より立体構造のほうが重要であることが分かってきた。コイパルブアルブミン⁷⁾およびマサバパルブアルブミン³¹⁾の場合、キレート剤(EGTA)により Ca^{2+} を除去すると(=立体構造が変化すると)、IgE反応性はそれぞれ30~90%、60~100%も低下することが報告されている。筆者らは、マサバ以外の7種魚類(マイワシ、マアジなど)のパルブアルブミンについても Ca^{2+} 除去に

伴うIgE反応性の著しい低下を認めているので(未発表)、一次構造IgEエпитープが重要とされているGad c 1は例外的で、多くの魚類パルブアルブミンのIgE反応性には Ca^{2+} の結合によって保持されている立体構造が深く関与しているといえる。コイパルブアルブミンについてはファージディスプレイ法に基づくミモトープ解析により、3つの領域(23~37, 77~79, 87~94; Fig. 2)が立体構造IgEエпитープ候補として報告されているが³²⁾、あくまでも推測の域を出ない。魚類パルブアルブミンのアレルゲン性および抗原交差性を理解するためには、各種変異体を作製してIgE反応性を評価するなどにより立体構造IgEエпитープを解明することが望まれる。

上述のように、魚類パルブアルブミンのIgE反応性は Ca^{2+} 結合により保持された立体構造に大きく依存しているので、 Ca^{2+} 結合に必須の残基を置換した改変パルブアルブミンのIgE反応性は低いことが予想される。実際、コイパルブアルブミンでは、 Ca^{2+} 結合に必須とされているCDドメインのAsp-51とAsp-53, EFドメインのAsp-90とAsp-92をすべてAlaに置換するとIgE反応性は著しく低下することが報告されている³³⁾。筆者ら³¹⁾もマサバパルブアルブミンで同様の検討を行い、CDドメインのAsp-51とEFドメインのAsp-90をそれぞれAla置換した改変パルブアルブミン(D51/90A)のIgE反応性は著しく低いことを示した(Fig. 4)。さらに筆者らは、マサバパルブアルブミンで免疫する前にBALB/cマウスにD51/90Aを数回投与すると、マウスにおけるIgE産生が顕著に抑制されることも確認している(未発表)。D51/90AはIgE反応性をほとんど失っているが、わずか2残基の置換であるのでT細胞エпитープは保持していると予想され、魚類アレルギーの減感作療法において発症の危険性が低い抗原として有望であることが強く示唆される。

3.2 コラーゲン

パルブアルブミンに次ぐ魚類アレルゲンとして、2000年代に入ってコラーゲンが同定された。筆者らは、ウナギおよびメバチに含まれるアレルゲンを検討している過程でパルブアルブミンとは異なる高分子アレルゲンを検出し⁹⁾、コラーゲンであることを証明した³⁴⁾。筆者らの研究遂行中にSakaguchiらも、ウシゼラチンに反応する10人の子どものうち1人は魚類ゼラチンにも反応すること(魚類ゼラチンに反応する子どもが魚類アレルギーかどうかは不明である)を報告し³⁵⁾、さらに魚類アレルギー患者での検討によりコラーゲン(ゼラチン)が魚類アレルゲンとなることを見いだしている³⁶⁾。コラーゲンはマイナーアレルゲンではあるが、わが国の魚類アレルギー患者の約1/3に認識される³⁷⁾ので軽視できない。コラーゲンを認識する患者の多くはパルブアルブミンも同時に認識するが、コラーゲンのみに反応する患者もいる。

コラーゲンは動物に普遍的に含まれているタンパク質で、110~120 kDaの α 鎖3本がコイル状に絡まって1分子を形成している³⁸⁾。Gly-X-Yの繰返し配列を有する

Fig. 4. Analysis of IgE reactivity of three Pacific mackerel parvalbumin (Sco j 1) mutants (D51A, D90A and D51/90A) by fluorescence ELISA

D51A, replacement of Asp-51 by Ala; D90A, replacement of Asp-90 by Ala; D51/90A, replacement of both Asp-51 and Asp-90 by Ala. Data are shown as % IgE reactivity, taking the IgE reactivity of Sco j 1 as 100%.

こと、ヒドロキシル化されたプロリンおよびリシンが多いことが特徴である。哺乳類のコラーゲンは同じ α 鎖2本と異なる α 鎖1本よりなる $(\alpha 1)_2\alpha 2$ の形であるが、魚類のコラーゲンは魚種や組織によって $(\alpha 1)_2\alpha 2$ または α 鎖3本がすべて異なる $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$ の形をとっている（例えばマサバコラーゲンは筋肉も皮も $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$ であるが³⁹⁾、ニジマスコラーゲンの場合は筋肉では $(\alpha 1)_2\alpha 2$ 、皮では $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$ である⁴⁰⁾）。コラーゲンは未変性状態では水（または緩衝液）に不溶であるので抽出されないし、加熱すると変性して各 α 鎖ははぐれ水に可溶になるが、魚肉から加熱抽出した場合には筋肉のプロテアーゼ作用を受けて断片化（ゼラチン化）しやすい。コラーゲンの特異な性質のため、コラーゲンは魚肉の抽出液中に存在しない、またはたとえ存在しても分解していることが多いので、これまでの魚類アレルギー研究では見落とされてきたと思われる。なお、魚類コラーゲンはゼラチン化してもIgE反応性はほとんど減少しないと考えられている³⁴⁾。

各種魚類のコラーゲンはお互いに抗原交差性を示すことが明らかにされている^{34), 36)}。哺乳類由来のコラーゲン（ゼラチン）は食物アレルギーを誘発するだけでなく、ワクチンに安定化剤として添加された場合にもアレルギーの発症原因になるが^{41), 42)}、魚類コラーゲンと哺乳類コラーゲンの間では交差性は見られない^{34)~36)}。ウシコラーゲンの場合、2種類の α 鎖のうち $\alpha 2$ 鎖のみがIgE反応性を示し⁴³⁾、 $\alpha 2$ 鎖をカバーするオーバーラップタンパク質（リコンビナント体）や合成ペプチドのIgE反応性評価から主要なIgEエпитープとして485~494の領域（IPGEF-GKPGP）が提唱されている⁴⁴⁾。一方、魚類コラーゲンの場合、IgE反応性は特定の α 鎖に限定されておらず、また各 α 鎖の間では交差性が見られる^{34), 37)}。筆者らは、魚類コラーゲンのアレルギー性を分子レベルで理解するためにニジマスコラーゲンの $\alpha 2$ 鎖をモデルとしてIgEエピトープを解析し、主要なエピトープは941~960の領域に含ま

	941	950	960
Rainbow trout	M K G L R G H G G L Q G M P G P N G P S		
Chum salmon	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Bastard halibut	- - - - -	P - - - - -	- - - - - S - - -
Zebrafish	- - - - -	P - - - - -	- - - - -
Human	L P - - K - - N - - - -	L - - I A - H H	
Bovine	L P - - K - - N - - - -	L - - L A - H H	
Rabbit	L P - I K - - N - - - -	L - - L A - Q H	
Mouse	L P - - K - Y S - - - -	L - - L A - L H	

Fig. 5. Amino acid sequence alignment of the 941-960 region of collagen $\alpha 2$ chains from fish and mammals

DDBJ / EMBL / GenBank accession numbers: rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, AB052837; chum salmon *Oncorhynchus keta*, AB075699; bastard halibut *Paralichthys olivaceus*, AB196514; zebrafish *Danio rerio*, BC071278; human, BC042586; bovine, AB008683; rabbit, D49399; mouse, AK132496.

れることを明らかにした⁴⁵⁾。本領域に相当する魚類および哺乳類のコラーゲン $\alpha 2$ 鎖の配列をFig. 5に示すが、哺乳類はニジマスと著しい変異があるのに対し、シロザケは完全一致、ヒラメとゼブラフィッシュはわずか1または2残基の変異しか見られない。ヒラメとゼブラフィッシュについてはこの領域のペプチドを合成してIgE反応性を確認しているので、魚類コラーゲン $\alpha 2$ 鎖の共通のIgEエピトープであると考えている。なお、本領域と同じ配列はニジマスコラーゲンの $\alpha 1$ 鎖および $\alpha 3$ 鎖には見られない。本領域が α 鎖間の交差性に関与しているかどうかを判断するためには、本領域の中でIgE反応性に必須の残基を特定することが望まれる。また、コラーゲン分子中のプロリンおよびリシンの多くは翻訳後の修飾によりヒドロキシル化されているが、魚類コラーゲンだけでなく哺乳類コラーゲンについても、ヒドロキシル化とIgE反応性との関係を明らかにすることは今後の興味深い課題である。

3.3 その他のアレルゲン

パルブアルブミンとコラーゲンのほかには、タラにアルデヒドリン酸デヒドロゲナーゼ (41 kDa) が⁴⁶⁾、マグロにカジキとの交差性に関与するトランスフェリン (94 kDa)⁴⁷⁾ がアレルゲンとして同定されている。また、未同定であるが、カジキ類に 25 kDa のアレルゲン⁴⁸⁾、タラのすり身に 61 kDa のアレルゲン⁴⁹⁾ も検出されている。これらアレルゲンはいずれも特定の魚種に限られているとか、ごく一部の患者のみが認識するという点でやや特殊である。

4. 甲殻類のアレルゲン

4.1 トロポミオシン

甲殻類のアレルゲンに関する本格的な研究は 1990 年代に始まり、1993 年にインドエビから精製された主要アレルゲンは部分アミノ酸配列解析によりトロポミオシンであることが証明された⁵⁰⁾。その後、広く食用にされている新軟綱亜綱十脚目の仲間 (エビ類^{51)~53)}、ザリガニ類⁵⁴⁾、イセエビ類⁵⁴⁾、カニ類^{53), 55)} だけでなく、一部で珍味として食べられている蔓脚亜綱のカメノテやミネフジツボ⁵⁶⁾、エビの代替品になっている新軟綱亜綱オキアミ目のナンキョクオキアミやツノナシオキアミ^{57), 58)}、寿司ネタとして利用されているトゲエビ亜綱のシャコ⁵⁸⁾ も含めて、主要アレルゲンはすべてトロポミオシンであることが明らかにされている。トロポミオシンは動物に普遍的に分布している筋原繊維タンパク質で、脊椎動物のトロポミオシンはアレルゲン性を示さないが、陸上節足動物 (ゴキブリ、ダニなど) および後述する軟体動物では主要アレルゲンであることが示されており、無脊椎動物の pan-allergen (汎アレルゲン) であるといわれている⁵⁹⁾。

トロポミオシンはアクチン、トロポニンとともに細い筋原繊維を構成しているタンパク質で (Fig. 6)、筋収縮に関与している⁶⁰⁾。約 35 kDa のサブユニット 2 本からなる 2 量体で、全長にわたって α -ヘリックス構造をとっているサブユニットがお互いに巻き付いた構造 (coiled-coil 構造) をしている。各サブユニットはアミノ酸 7 残基 (abcdefg) の繰り返し構造をとり、a と d は疎水性残基、e は酸性残基、g は塩基性残基で、coiled-coil 構造は疎水性残基同士の疎水結合、酸性残基と塩基性残基のイオン結合によって保たれている (Fig. 7)。残り 3 残基 (b, c, f) はアクチン、トロポニンとの相互作用に関与している。

Fig. 8 に示すように、各種甲殻類のトロポミオシンのアミノ酸配列はお互いに類似している。まず十脚目のトロポミオシンに注目すると、配列の特徴から fast タイプ、slow-twitch タイプおよび slow-tonic タイプの 3 つに分けることができる⁵³⁾。fast タイプと slow タイプの間では 39~79 の領域に著しい変異が見られ、さらに slow-tonic タイプは他の 2 つのタイプと比べて C 末端領域 (269~284) にも変異を示すが、各タイプ間の配列相同性はおおむね 90% 以上と非常に高い。興味深いことに、エビ類ト

Fig. 6. Schematic structure of thin myofibril

Fig. 7. Schematic view of the coiled-coil structure showing the position of residues in the heptad repeat (abcdefg) of tropomyosin

ロポミオシンは例外なく fast タイプ、カニ類トロポミオシンはおおむね slow タイプ (例外はタラバガニ king crab 胴肉の fast タイプ) である。エビアレルギー患者はカニアレルギー患者でもあることが多いが、エビに対してのみまたはカニに対してのみアレルギーの患者もいる。エビに対してのみアレルギーの患者は fast タイプのトロポミオシンに特徴的な配列を、カニに対してのみアレルギーの患者は slow タイプのトロポミオシンに特徴的な配列を強く認識している可能性がある。

十脚目以外の甲殻類のうちシャコ mantis shrimp は、十脚目 (新軟綱亜綱) とは異なる亜綱 (トゲエビ亜綱) に分類されているにもかかわらずそのトロポミオシンは十脚目の fast タイプに属する (fast タイプのトロポミオシンとの配列相同性は 95% 以上)。十脚目と同じ新軟綱亜綱に属するオキアミ目のナンキョクオキアミ Antarctic krill およびツノナシオキアミ Pacific krill の場合、トロポミオシンのアミノ酸配列は 13~42 の領域で特徴的な変異があり、十脚目トロポミオシンとの配列相同性は 82~90% とやや低い。それを反映し、ナンキョクオキアミのトロポミオシンは fast タイプと slow タイプの分化より先に分化したことが分子進化系統樹から読み取れる (Fig. 9)。一方、ミネフジツボ acorn barnacle のトロポミオシンは特殊で、他の甲殻類トロポミオシンとの配列相同性は 60% 程度と低い。フジツボ類は 19 世紀前半まで軟体動物に分類されていたが、そのことに対応するかのようにマルオスダレガイ科の二枚貝 (アサリなど) のトロポミオシンとは 95% 以上の配列相同性を示す。分子進化系統樹からも、ミネフジツボトロポミオシンは他の甲殻類トロポミオシンとは独立して進化したことが分かる (Fig. 9)。

阻害イムノブロットングなどにより各種甲殻類のトロポミオシンはお互いに抗原交差性を示すことが明らかにされている^{53), 59), 61), 62)}。先述したように、魚類の主要アレル

	10	20	30	40	50	60	70	80
Acorn barnacle	---	E	L	K	E	Q	---	---
Antarctic krill	---	M	---	S	---	S	A	---
Pacific krill	---	M	---	S	---	A	---	---
Brown shrimp (fast)	M	D	A	I	K	K	M	Q
Black tiger shrimp (fast)	M	D	A	I	K	K	M	Q
Pink shrimp (fast)	M	D	A	I	K	K	M	Q
American lobster (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Snow crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Mantis shrimp	---	---	---	---	---	---	---	---
American cockroach	---	---	---	---	---	---	---	---
European house dust mite	---	---	---	---	---	---	---	---

	90	100	110	120	130	140	150	160
Acorn barnacle	---	D	I	K	G	Y	T	---
Antarctic krill	---	---	---	---	---	---	---	---
Pacific krill	---	---	---	---	---	---	---	---
Brown shrimp (fast)	A	E	G	E	V	A	L	N
Black tiger shrimp (fast)	A	E	G	E	V	A	L	N
Pink shrimp (fast)	A	E	G	E	V	A	L	N
American lobster (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Snow crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Mantis shrimp	---	---	---	---	---	---	---	---
American cockroach	---	---	---	---	---	---	---	---
European house dust mite	---	---	---	---	---	---	---	---

	170	180	190	200	210	220	230	240
Acorn barnacle	---	---	---	---	---	---	---	---
Antarctic krill	---	---	---	---	---	---	---	---
Pacific krill	---	---	---	---	---	---	---	---
Brown shrimp (fast)	K	Y	D	E	V	A	R	K
Black tiger shrimp (fast)	K	Y	D	E	V	A	R	K
Pink shrimp (fast)	K	Y	D	E	V	A	R	K
American lobster (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
American lobster (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (fast)	---	---	---	---	---	---	---	---
King crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Snow crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-twitch)	---	---	---	---	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-tonic)	---	---	---	---	---	---	---	---
Mantis shrimp	---	---	---	---	---	---	---	---
American cockroach	---	---	---	---	---	---	---	---
European house dust mite	---	---	---	---	---	---	---	---

	250	260	270	280
Acorn barnacle	E	---	V	---
Antarctic krill	---	---	---	---
Pacific krill	---	---	---	---
Brown shrimp (fast)	F	A	E	R
Black tiger shrimp (fast)	F	A	E	R
Pink shrimp (fast)	F	A	E	R
American lobster (fast)	---	---	---	---
American lobster (slow-twitch)	---	---	---	---
American lobster (slow-tonic)	---	---	---	---
King crab (fast)	---	---	---	---
King crab (slow-tonic)	---	---	---	---
Snow crab (slow-tonic)	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-twitch)	---	---	---	---
Horsehair crab (slow-tonic)	---	---	---	---
Mantis shrimp	---	---	---	---
American cockroach	---	---	---	---
European house dust mite	---	---	---	---

Fig. 8. Amino acid sequences of tropomyosins from crustaceans and terrestrial arthropods

In the case of decapod crustaceans, the tropomyosin type (fast, slow-twitch or slow-tonic) is indicated in parenthesis after the name. DDBJ/EMBL/GenBank accession numbers: acorn barnacle *Balanus rostratus*, AB 269786; Antarctic krill *Euphausia superba*, AB308319; Pacific krill *Euphausia pacifica*, AB289604; brown shrimp *Penaeus aztecus*, DQ151457; black tiger shrimp *Penaeus monodon*, AB270629; pink shrimp *Pandalus eous*, AB 270631; American lobster *Homarus americanus* fast tropomyosin, AF034954; American lobster slow-twitch tropomyosin, AF034953; American lobster slow-tonic tropomyosin, AY521627; king crab *Paralithodes camtschaticus* fast tropomyosin, AB270632; king crab slow-tonic tropomyosin, AB270633; snow crab *Chionoecetes opilio*, AB270634; horsehair crab *Erimacrus isenbekii* slow-twitch tropomyosin, AB270635; horsehair crab slow-tonic tropomyosin, AB270636; mantis shrimp *Oratosquilla oratoria*, AB308320; American cockroach *Periplaneta americana*, AF106961; European house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, AF016278. The residues identical with those of brown shrimp tropomyosin are shown as dashes (—). The IgE-binding epitopes proposed for brown shrimp tropomyosin are boxed.

Fig. 9. Molecular phylogenetic tree for crustacean tropomyosins

The tree was constructed by the Neighbor-Joining method. Bootstrap values >70% are reported on nodes of the tree. The length of branches indicates the genetic distance between the tropomyosins. DDBJ/EMBL/GenBank accession numbers are shown in parentheses after scientific names.

ゲンであるパルブアルブミンでは立体構造が IgE との結合に重要であるが、甲殻類トロポミオシンの IgE エピトープは一次構造に依存していると考えられている。ブラウンシュリンプのトロポミオシン (Pen a 1) については、全長をカバーするオーバーラップペプチドを用いた実験結果から 8 つの領域 (43~55, 88~101, 137~141, 144~151, 187~197, 249~259, 266~273, 273~281) が IgE エピトープとして提唱されている^{63), 64)} (Fig. 8)。さらに、エピトープ領域および近傍のアミノ酸を変異させた類縁ペプチドの IgE 反応性評価から IgE 結合に重要な残基を絞り込み、特に重要と考えられた 12 残基 (Leu-46, Leu-53, Leu-95, Ser-136, Glu-145, Val-191, Val-199, Arg-255, Leu-260, Ser-269, Thr-277, Phe-278) を変異させた改変 Pen a 1 のアレルゲン性はほとんどないことも実証されている⁶⁵⁾。

甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列はミネフジツボを例外とするとお互いに非常によく似ているので、Pen a 1 の IgE エピトープの保存性も高い。8 つのうち 5 つの IgE エピトープ領域 (88~101, 137~141, 144~151, 187~197, 249~259) は十脚目とシャコのトロポミオシンでは完全に、オキアミ類のトロポミオシンでもほぼ完全に保存されており、お互いの抗原交差性を分子レベルで裏づけている。保存性が低い残り 3 つの IgE エピトープ領域のうち、43~55 は fast タイプと slow タイプの間で、266~273 と 273~281 は slow-tonic だけで変異が著しい領域

に相当する。トロポミオシンの抗原交差性は甲殻類間だけでなく、甲殻類と陸上節足動物 (ゴキブリ、ダニなど) の間でも^{59), 63), 66)}、また甲殻類と軟体動物の間でも認められている^{59), 61)}。陸上節足動物のトロポミオシンは甲殻類トロポミオシンと高い配列相同性 (約 80%) を示し、甲殻類トロポミオシンで保存性が高い 5 つの IgE エピトープ領域 (88~101, 137~141, 144~151, 187~197, 249~259) もほぼ完全に保存されているので (Fig. 8)、お互いの交差性は容易に理解できる。甲殻類と軟体動物のトロポミオシンの交差性については後述する。

4.2 アルギニンキナーゼ

アルギニンキナーゼは家庭内で普通に見られるガの一種ノシメマダラメイガのアレルゲンとして最初に報告され、甲殻類のアルギニンキナーゼとの抗原交差性も示唆されていた⁶⁷⁾。その後 Yu ら⁶⁸⁾は、ブラックタイガーにトロポミオシンのほかに 40 kDa のマイナーアレルゲンを検出し、アルギニンキナーゼであることを証明した。最近ではバナメイ (シロアシエビ) のアレルゲンとしても報告されている⁶⁹⁾。アルギニンキナーゼは、アルギニンリン酸の生成あるいはアルギニンリン酸の脱リン酸化を触媒する酵素である。アルギニンリン酸は無脊椎動物における重要なホスファージン (エネルギーに必要な ATP の貯蔵物質) であるので (ちなみに脊椎動物のホスファージンはクレアチンリン酸である)、当然のことながらアルギニンキナーゼは無脊椎動物に広く分布している。しかし、各種無脊椎動物

由来のア르기ニンキナーゼのアレルゲン性や抗原交差性に関するデータは乏しい。

4.3 Ca^{2+} 結合性筋形質タンパク質 (SCP)

筆者らは甲殻類アレルギーの標品を得るためにブラックタイガーからア르기ニンキナーゼの精製を試みたが、その過程でア르기ニンキナーゼとは異なる 20 kDa のアレルゲンを確認した。そこで本アレルゲンを精製し、酵素分解ペプチドのアミノ酸配列解析により Ca^{2+} 結合性筋形質タンパク質 (sarcoplasmic calcium-binding protein; SCP) であることを明らかにした⁷⁰⁾。その後 Ayuso ら⁷¹⁾も、SCP はバナメイのアレルゲンの一つであることを報告している。SCP は無脊椎動物特有の Ca^{2+} 結合性筋形質タンパク質で、脊椎動物のみに含まれている Ca^{2+} 結合性筋形質タンパク質であるパルブアルブミンに相当すると考えられている。予備的ではあるが、パルブアルブミン同様に、SCP の IgE 反応性には Ca^{2+} 結合によって保持された立体構造が重要であることを示唆するデータが得られている。

ブラックタイガーから精製した SCP, トロポミオシンおよびア르기ニンキナーゼの IgE 反応性を蛍光 ELISA で調べた結果を⁷⁰⁾ Fig. 10 に示す。主要アレルゲンであるトロポミオシンに対しては甲殻類アレルギー患者 16 名中 13 名が反応した。SCP は 8 名の患者に認識されたので主要アレルゲンの可能性もある。ア르기ニンキナーゼは 10 名の患者で IgE 反応陽性と判断されたが、蛍光強度は著しく弱かったので、甲殻類アレルギーにおけるア르기ニンキナーゼの寄与はほとんどないと筆者らは考えている。なお、各種甲殻類の抽出液を用いてイムノブロッティングを行ったところ、ブラックタイガーの SCP と反応する患者血清はエビ類 (特にクルマエビ類) の SCP と反応するがカニ類の SCP とは反応しなかった⁷⁰⁾。SCP はエビ類特有のアレルゲンであると予想される。エビに対してのみアレルギーを示す患者は、fast タイプのトロポミオシンに特徴的な配列を強く認識している可能性があることを先に述べたが、SCP を強く認識していることも考えられる。実際、トロポミオシンおよびア르기ニンキナーゼに対して陰性で SCP のみに陽性の患者 (Fig. 10 の患者 2) も認められる。エビアレルギーおよびカニアレルギーをより理解するためには、臨床的にエビとカニの両方に対してアレルギー、エビに対してのみアレルギー、カニに対してのみアレルギーと診断された患者について、それぞれが認識するアレルゲンを解析する必要がある。

4.4 ミオシン軽鎖

Ayuso ら⁷²⁾はバナメイエビに 20 kDa (pI 4.2) のアレルゲンを検出し、2 次元電気泳動で分離後、ゲル内消化で得られたペプチド断片のアミノ酸配列解析によりミオシン軽鎖であることを明らかにした。さらにリコンビナント体を作製し、天然品よりやや弱い IgE 反応性を確認している。ミオシン軽鎖は筋肉の収縮に関与しているミオシン (約 220 kDa の重鎖 2 本 + 約 20 kDa の軽鎖 4 本) を構成しているタンパク質で、動物に普遍的に分布している。現

Fig. 10. Analysis of IgE reactivity of SCP (A), tropomyosin (B) and arginine kinase (C) purified from black tiger shrimp by fluorescence ELISA using sera from 16 patients

Control data obtained with 14 healthy subjects were averaged and denoted by C. Values above the control mean + 2SD (indicated by a dotted line in each panel) were judged to be positive.

在のところ、バナメイエビ以外の甲殻類やその他の動物由来のミオシン軽鎖のアレルゲン性については不明である。

5. 軟体動物のアレルゲン

5.1 トロポミオシン

甲殻類同様に、軟体動物の主要アレルゲンもトロポミオシンであることが各種頭足類 (イカ, タコ類)^{73)~75)}、巻貝 (アワビ, サザエなど)^{76)~78)}、二枚貝 (ミドリイガイ, マガキ, アサリなど)^{76), 78)~81)} で証明されている。各種軟体動物のトロポミオシンはお互いに IgE 交差性を示すだけでなく、甲殻類トロポミオシンとも交差性を示すことが認められている^{59), 61)}。しかし、Fig. 11 に示すように、軟体動物トロポミオシンと甲殻類トロポミオシンとのアミノ酸配列の相同性はあまり高くない (相同性は約 60%)。さらに興味深いことに、分類上同じ仲間の軟体動物間ではトロポミオシンの配列相同性はおおむね 90% 以上と高いが、

Table 1. Amino acid sequence identities (%) among molluscan tropomyosins

	Cephalopods	Gastropods		Bivalves				
		Order: Vetigastropoda	Order: Neogastropoda	Order: Arcoida	Order: Mytiloida	Order: Ostreoida Family: Pectinidae	Family: Ostreidae	Order: Veneroida
Cephalopods	91.2–99.6	77.8–82.7	73.2–74.3	71.8–73.2	69.4–71.5	69.7–74.6	75.0–76.0	70.1–73.6
Gastropods								
Order: Vetigastropoda		94.0–99.6	75.4–77.8	77.5–80.3	71.5–75.4	68.3–81.0	76.0–78.5	70.8–76.8
Order: Neogastropoda			100	72.2	69.0–70.1	68.7–71.1	77.1	67.6–70.8
Bivalves								
Order: Arcoida				100	75.4–75.7	70.4–73.2	79.2	70.1–73.9
Order: Mytiloida					94.0–99.6	67.6–70.1	78.9–79.2	64.8–67.3
Order: Ostreoida								
Family: Pectinidae						84.4–91.0	72.2–73.9	65.1–71.5
Family: Ostreidae							100	69.7–74.3
Order: Veneroida								83.8–94.4

Cephalopods: golden cuttlefish *Sepia esculenta* (AB218913), fin reef squid *Sepioteuthis lessoniana* (AB218914), Japanese flying squid *Todarodes pacificus* (AB218915), neon flying squid *Ommastrephes bartrami* (AB218916) and common octopus *Octopus vulgaris* (AB218917). Gastropods: tropical abalone *Haliotis asinina* (AY320360), Japanese abalone *Haliotis diversicolor* (AF216518), California red abalone *Haliotis rufescens* (X75218), disk abalone *Haliotis discus discus* (AB444939) and turban shell *Turbo cornutus* (AB444940) of the order Vetigastropoda; whelk *Neptunea polycostata* (AB444941) of the order Neogastropoda. Bivalves: bloody cockle *Scapharca broughtonii* (AB444942) of the order Arcoida; blue mussel *Mytilus edulis* (U40035), Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (AB000907) and green mussel *Perna viridis* (AF216519) of the order Mytilida; akazara scallop *Chlamys nipponensis* (AB021681), noble scallop *Chlamys nobilis* (AF216520) and Yesso scallop *Patinopecten yessoensis* (AB004636) of the family Pectinidae; Japanese oyster *Crassostrea gigas* (AB444943) of the family Ostreidae; Japanese cockle *Fulvia mutica* (AB444944), surf clam *Pseudocardium sachalinensis* (AB444945), horse clam *Tresus keenae* (AB444946), constricted tagelus *Sinonovacula constricta* (EU082209), razor clam *Solen strictus* (AB444947) and short-neck clam *Ruditapes philippinarum* (AB444948) of the order Veneroida. DDBJ/EMBL/GenBank accession numbers are indicated in parentheses.

6. 魚卵のアレルゲン

魚介類は成人のアレルギー原因食品として重要であるが、魚卵（大半がイクラ）によるアレルギーは例外で、どちらかという低年齢層で多い。『食物アレルギーの診療の手引き 2008』によれば、魚卵は全年齢における原因食品としては第9位であるが、1歳児では第4位、2,3歳児では第5位というようになりかなり上位にランクされている。魚卵アレルギーはわが国では無視できないが、魚卵は日本を含む極東アジア以外ではあまり食用にされていないため魚卵アレルギーに関する研究は遅れていた。ごく最近、Shimizu ら⁸²⁾は、シロサケなど数種サケ科魚類の卵のアレルゲンを検討し、 β' -コンポーネントが交差反応性を示す主要アレルゲンであることを明らかにした。 β' -コンポーネントは肝臓で合成されたピテロジェニンが卵母細胞で分解されて生じるタンパク質の一種である。ちなみにピテロジェニンからの分解産物としては、 β' -コンポーネントのほかにリポピテリンとホスピチンがある。

7. おわりに

魚介類アレルギーに関する研究はここ十数年の間に急速な進展が見られた。特に魚類の主要アレルゲンであるパルブアルブミン、甲殻類および軟体動物の共通の主要アレルゲンであるトロポミオシンに関しては、一次構造解析、エピトープ解析、組換えアレルゲンや改変アレルゲンの作製など精力的に研究が行われてきた。これらの成果に基づい

て魚介類アレルギーを分子レベルでかなり理解できるようになってきたが、魚介類アレルギー問題の解決に向けてはまだ数多くの課題が残されている。例えば、パルブアルブミンのIgE反応性には立体構造が重要であることが分かってきたが、立体構造IgE エピトープは解明されていない。軟体動物トロポミオシンの場合、アミノ酸配列は分類上のグループごとに大きく異なり、お互いの抗原交差性は十分には理解できていない。また、主要アレルゲンの他にいくつかのアレルゲン（魚類のコラーゲン、甲殻類のSCPなど）が同定されているが、これらアレルゲンに関する分子生物学的知見は乏しいし、その他に未同定のアレルゲンもまだまだ存在する。さらに、魚介類は種類が非常に多様であるので、これまでに得られた知見が普遍的であるかどうかは個々の種類について地道に検証していくことも求められる。魚介類アレルギーの適切な診断と治療、さらに予防に向けて、これら今後に残された課題が1つずつ解決されていくことを期待して本稿を終わりにしたい。

文 献

- 1) Audicana, M. T., Kennedy, M. W. *Anisakis simplex*: From obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. Clin. Microbiol. Rev., **21**, 360–379 (2008).
- 2) Daschner, A., Pascual, C. Y. *Anisakis simplex*: Sensitization and clinical allergy. Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., **5**, 281–285 (2005).

- 3) 小林征洋. “5章 アニサキスアレルギーの本体と性状”, 魚介類アレルギーの科学. 塩見一雄, 佐伯宏樹編. 東京, 恒星社厚生閣, 2010, p. 62-71. (ISBN978-4-7699-1214-9)
- 4) Ishizaka, K., Ishizaka, T., Hornbrook, M. M. Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with gamma-E-globulin antibody. *J. Immunol.*, **97**, 840-853 (1966).
- 5) Elsayed, S., Aas, K. Isolation of purified allergens (cod) by isoelectric focusing. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **40**, 428-438 (1971).
- 6) Elsayed, S., Bennich, H. The primary structure of allergen M from cod. *Scand. J. Immunol.*, **4**, 203-208 (1975).
- 7) Swoboda, I., Bugajska-Schretter, A., Verdino, P., Keller, W., Sperr, W. R., Valent, P., Valenta, R., Spitzauer, S. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: A tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J. Immunol.*, **168**, 4576-4584 (2002).
- 8) Lindström, C. D.-V., van Dô, T., Hordvik, I., Endresen, C., Elsayed, S. Cloning of two distinct cDNAs encoding parvalbumin, the major allergen of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Scand. J. Immunol.*, **44**, 335-344 (1996).
- 9) Shiomi, K., Hamada, Y., Sekiguchi, K., Shimakura, K., Nagashima, Y. Two classes of allergens, parvalbumins and higher molecular weight substances, in Japanese eel and bigeye tuna. *Fish. Sci.*, **65**, 943-948 (1999).
- 10) Shiomi, K., Hayashi, S., Ishikawa, M., Shimakura, K., Nagashima, Y. Identification of parvalbumin as an allergen in horse mackerel muscle. *Fish. Sci.*, **64**, 300-304 (1998).
- 11) Hamada, Y., Tanaka, H., Ishizaki, S., Ishida, M., Nagashima, Y., Shiomi, K. Purification, reactivity with IgE and cDNA cloning of parvalbumin as the major allergen of mackerels. *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 1149-1156 (2003).
- 12) Rosmilah, M., Shahnaz, M., Masita, A., Noormalin, A., Jamaludin, M. Identification of major allergens of two species of local snappers: *Lutjanus argentimaculatus* (merah/red snapper) and *Lutjanus johnii* (jenahak/golden snapper). *Trop. Biomed.*, **22**, 171-177 (2005).
- 13) Lim, D. L., Neo, K. H., Yi, F. C., Chua, K. Y., Goh, D. L., Shek, L. P., Giam, Y. C., Van Bever, H. P., Lee, B. W. Parvalbumin—the major tropical fish allergen. *Pediatr. Allergy Immunol.*, **19**, 399-407 (2008).
- 14) Misnan, R., Murad, S., Jones, M., Taylor, G., Rahman, D., Arip, M., Abdullah, N., Mohamed, J. Identification of the major allergens of Indian scad (*Decapterus russelli*). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, **26**, 191-198 (2008).
- 15) Gillis, J., Thomason, D., Lefevre, J., Kretsinger, R. H. Parvalbumins and muscle relaxation: A computer simulation study. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **3**, 377-398 (1982).
- 16) Kretsinger, R. H., Nockolds, C. E. Carp muscle calcium-binding protein. II. Structure determination and general description. *J. Biol. Chem.*, **248**, 3313-3326 (1973).
- 17) Lim, D. L., Neo, K. H., Goh, D. L., Shek, L. P., Lee, B. W. Missing parvalbumin: Implications in diagnostic testing for tuna allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **115**, 874-875 (2005).
- 18) Kobayashi, A., Tanaka, H., Hamada, Y., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Shiomi, K. Comparison of allergenicity and allergens between fish white and dark muscles. *Allergy*, **61**, 357-363 (2006).
- 19) Romano, C., Ferrara, A. M., Cislighi, C., Falagiani, P. Food allergy to frog. *Allergy*, **55**, 584-585 (2000).
- 20) Hilger, C., Grigioni, F., Thill, L., Mertens, L., Hentges, F. Severe IgE-mediated anaphylaxis following consumption of fried frog legs: definition of α -parvalbumin as the allergen in cause. *Allergy*, **57**, 1053-1058 (2002).
- 21) Hamada, Y., Nagashima, Y., Shiomi, K. Reactivity of IgE in fish-allergic patients to α - and β -parvalbumins purified from the bullfrog *Rana catesbeiana*. *Fish. Sci.*, **70**, 1137-1143 (2004).
- 22) Hilger, C., Thill, L., Grigioni, F., Lehnert, C., Falagiani, P., Ferrara, A., Romano, C., Stevens, W., Hentges, F. IgE antibodies of fish allergic patients cross-react with frog parvalbumin. *Allergy*, **59**, 653-660 (2004).
- 23) Moncrief, N. D., Goodman, M., Kretsinger, R. H. Evolution of EF- and calcium-modulated proteins. I. Relationships based on amino acid sequences. *J. Mol. Evol.*, **30**, 522-562 (1990).
- 24) Goodman, M., Pecheré, J. F. The evolution of muscular parvalbumins investigated by the maximum parsimony method. *J. Mol. Evol.*, **9**, 131-158 (1977).
- 25) Kretsinger, R. H., Nockolds, C. E. Carp muscle calcium-binding protein. II. Structure determination and general description. *J. Biol. Chem.*, **248**, 3313-3326 (1973).
- 26) Wild, L. G., Lehrer, S. B. Fish and shellfish allergy. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, **5**, 74-79 (2005).
- 27) Van Dô, T., Elsayed, S., Florvaag, E., Hordvik, I., Endresen, C. Allergy to fish parvalbumins: Studies on the cross-reactivity of allergens from 9 commonly consumed fish. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **116**, 1314-1320 (2005).
- 28) Elsayed, S., Aas, K. Characterization of a major allergen (cod): Observation on effect of denaturation on the allergenic activity. *J. Allergy*, **47**, 283-291 (1971).
- 29) Elsayed, S., Apold, J. Immunochemical analysis of cod fish allergen M: Locations of the immunoglobulin binding sites as demonstrated by the native and synthetic peptides. *Allergy*, **38**, 449-459 (1983).
- 30) Yoshida, S., Ichimura, A., Shiomi, K. Elucidation of a major IgE epitope of Pacific mackerel parvalbumin. *Food Chem.*, **111**, 857-861 (2008).
- 31) Tomura, S., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Shiomi, K. Reduction in the IgE reactivity of Pacific mackerel parvalbumin by mutations at Ca^{2+} -binding sites. *Fish. Sci.*, **74**, 411-417 (2008).
- 32) Untersmayr, E., Szalai, K., Riemer, A. B., Hemmer, W., Swoboda, I., Hantusch, B., Schöll, I., Spitzauer, S., Scheiner, O., Jarisch, R., Boltz-Nitulescu, G., Jensen-Jarolim, E. Mimotopes identify conformational epitopes on parvalbumin, the major fish allergen. *Mol. Immunol.*

- 43**, 1454–1461 (2006).
- 33) Swoboda, I., Bugajska-Schretter, A., Linhart, B., Verdino, P., Keller, W., Schulmeister, U., Sperr, W. R., Valent, P., Peltre, G., Quirce, S., Douladiris, N., Papadopoulos, N. G., Valenta, R., Spitzauer, S. A recombinant hypoallergenic parvalbumin mutant for immunotherapy of IgE-mediated fish allergy. *J. Immunol.*, **178**, 6290–6296 (2007).
- 34) Hamada, Y., Nagashima, Y., Shiomi, K. Identification of collagen as a new fish allergen. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 285–291 (2001).
- 35) Sakaguchi, M., Hori, H., Ebihara, T., Irie, S., Yanagida, M., Inouye, S. Reactivity of the immunoglobulin E in bovine gelatin-sensitive children to gelatins from various animals. *Immunol.*, **96**, 286–290 (1999).
- 36) Sakaguchi, M., Toda, M., Ebihara, T., Irie, S., Hori, H., Imai, A., Yanagida, M., Miyazawa, H., Ohsuna, H., Ikezawa, Z., Inouye, S. IgE antibody to fish gelatin (type I collagen) in patients with fish allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **106**, 579–584 (2000).
- 37) Hamada, Y., Nagashima, Y., Shiomi, K., Shimojo, N., Kohno, Y., Shibata, R., Nishima, S., Ohsuna, H., Ikezawa, Z. Reactivity of IgE in fish-allergic patients to fish muscle collagen. *Allergol. Int.*, **52**, 139–147 (2003).
- 38) Vuorio, E., de Crombrughe, B. The family of collagen genes. *Annu. Rev. Biochem.*, **59**, 837–872 (1990).
- 39) Kimura, S., Zhu, X.-P., Matsui, R., Shijoh, M., Takamiyawa, S. Characterization of fish muscle type I collagen. *J. Food Sci.*, **53**, 1315–1318 (1988).
- 40) Saito, M., Takenouchi, Y., Kunisaki, N., Kimura, S. Complete primary structure of rainbow trout type I collagen consisting of $\alpha 1(I)$ $\alpha 2(I)$ $\alpha 3(I)$ heterotrimers. *Eur. J. Biochem.*, **268**, 2817–2827 (2001).
- 41) Sakaguchi, M., Nakayama, T., Inouye, S. Food allergy to gelatin in children with systemic immediate-type reactions, including anaphylaxis, to vaccines. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**, 1058–1061 (1996).
- 42) Sakaguchi, M., Hori, H., Ebihara, T., Irie, S., Yanagida, M., Inouye, S. Reactivity of the immunoglobulin E in bovine gelatin-sensitive children to gelatins from various animals. *Immunology*, **96**, 286–290 (1999).
- 43) Sakaguchi, M., Hori, H., Hattori, S., Irie, S., Imai, A., Yanagida, M., Miyazawa, H., Toda, M., Inouye, S. IgE reactivity to $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains of bovine type 1 collagen in children with bovine gelatin allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **104**, 695–699 (1999).
- 44) Hori, H., Hattori, S., Inouye, S., Kimura, A., Irie, S., Miyazawa, H., Sakaguchi, M. Analysis of the major epitope of the $\alpha 2$ chain of bovine type I collagen in children with bovine gelatin allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **110**, 652–657 (2002).
- 45) Yoshida, S., Sawaguchi, T., Ishizaki, S., Shiomi, K. A major IgE epitope of rainbow trout collagen $\alpha 2$ chain. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **51**, 153–159 (2010).
- 46) Das Does, S., Chopin, C., Romano, A., Galland-Irmouli, A. V., Quarantino, D., Pascual, C., Fleurence, J., Guéant, J. L. IgE-binding and cross-reactivity of a new 41 kDa allergen of codfish. *Allergy*, **57** (Suppl. **72**), 84–87 (2002).
- 47) Kondo, Y., Komatsubara, R., Nakajima, Y., Yasuda, T., Kakami, M., Tsuge, I., Urisu, A. Parvalbumin is not responsible for cross-reactivity between tuna and marlin: A case report. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **118**, 1382–1383 (2006).
- 48) Kelso, J. M., Jones, R. T., Yunginger, J. W. Monospecific allergy to swordfish. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **77**, 227–228 (1996).
- 49) Mata, E., Favier, C., Moneret-Vautrin, D. A., Nicolas, J. P., Han Ching, L., Guéant, J. L. Surimi and native codfish contain a common allergen identified as a 63-kDa protein. *Allergy*, **49**, 442–447 (1994).
- 50) Shanti, K. N., Martin, B. M., Nagpal, S., Metcalfe, D. D., Subba Rao, P. V. Identification of tropomyosin as the major shrimp allergen and characterization of its IgE-binding epitopes. *J. Immunol.*, **151**, 5354–5363 (1993).
- 51) Daul, C. B., Slattey, M., Reese, G., Lehrer, S. B. Identification of the major brown shrimp (*Penaeus aztecus*) allergen as the muscle protein tropomyosin. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **105**, 49–55 (1994).
- 52) Leung, P. S. C., Chu, K. H., Chow, W. K., Ansari, A., Bandea, C. I., Kwan, H. S., Nagy, S. M., Gershwin, M. E. Cloning, expression, and primary structure of *Metapenaeus ensis* tropomyosin, the major heat-stable shrimp allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **94**, 882–890 (1994).
- 53) Motoyama, K., Suma, Y., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Shiomi, K. Molecular cloning of tropomyosins identified as allergens in six species of crustaceans. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 985–991 (2007).
- 54) Leung, P. S. C., Chen, Y. S., Mykles, D. L., Chow, W. K., Li, C. P., Chu, K. H. Molecular identification of the lobster muscle protein tropomyosin as a seafood allergen. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **7**, 12–20 (1998).
- 55) Leung, P. S. C., Chen, Y. S., Gershwin, M. E., Wong, S. H., Kwan, H. S., Chu, K. H. Identification and molecular characterization of *Charybdis feriatus* tropomyosin, the major crab allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **102**, 847–852 (1998).
- 56) Suma, Y., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Lu, Y., Ushio, H., Shiomi, K. Comparative analysis of barnacle tropomyosin: divergence from decapod tropomyosins and role as a potential allergen. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.*, **147**, 230–236 (2007).
- 57) Nakano, S., Yoshimura, T., Yamada, T. Reactivity of shrimp allergy-related IgE antibodies to krill tropomyosin. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **145**, 175–181 (2008).
- 58) Motoyama, K., Suma, Y., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Lu, Y., Ushio, H., Shiomi, K. Identification of tropomyosins as major allergens in Antarctic krill and mantis shrimp and their amino acid sequence characteristics. *Mar. Biotechnol.*, **10**, 709–718 (2008).
- 59) Reese, G., Ayuso, R., Lehrer, S. B. Tropomyosin: An invertebrate pan-allergen. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **119**, 247–258 (1999).

- 60) Smillie, L. B. Structure and functions of tropomyosins from muscle and non-muscle sources. *Trends Biochem. Sci.*, **4**, 151–155 (1979).
- 61) Leung, P. S. C., Chow, W. K., Duffey, S., Kwan, H. S., Gershwin, M. E., Chu, K. H. IgE reactivity against a cross-reactive allergen in Crustacea and Mollusca: Evidence for tropomyosin as the common allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**, 954–961 (1996).
- 62) Jeong, K. Y., Hong, C. S., Yong, T. S. Allergenic tropomyosins and their cross-reactivities. *Protein Pept. Lett.*, **13**, 835–845 (2006).
- 63) Ayuso, R., Reese, G., Leong-Kee, S., Plante, M., Lehrer, S. B. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **129**, 38–48 (2002).
- 64) Ayuso, R., Lehrer, S. B., Reese, G. Identification of continuous, allergenic regions of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin). *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **127**, 27–37 (2002).
- 65) Reese, G., Viebranz, J., Leong-Kee, S. M., Plante, M., Lauer, I., Randow, S., Moncin, M. S., Ayuso, R., Lehrer, S. B., Vieths, S. Reduced allergenic potency of VR9-1, a mutant of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin). *J. Immunol.*, **175**, 8354–8364 (2005).
- 66) Arlian, L. G., Morgan, M. S., Vyszynski-Moher, D. L., Sharra, D. Cross-reactivity between storage and dust mites and between mites and shrimp. *Exp. Appl. Acarol.*, **47**, 159–172 (2009).
- 67) Binder, M., Mahler, V., Hayek, B., Sperr, W. R., Scholler, M., Prozell, S., Wiedermann, G., Valent, P., Valenta, R., Duchene, M. Molecular and immunological characterization of arginine kinase from the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, a novel cross-reactive invertebrate pan-allergen. *J. Immunol.*, **167**, 5470–5477 (2001).
- 68) Yu, C. J., Lin, Y. F., Chiang, B. L., Chow, L. P. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2. *J. Immunol.*, **170**, 445–453 (2003).
- 69) García-Orozco, K. D., Aispuro-Hernández, E., Yepiz-Plascencia, G., Calderón-de-la-Barca, A. M., Sotelo-Mundo, R. R. Molecular characterization of arginine kinase, an allergen from the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **144**, 23–28 (2007).
- 70) Shiomi, K., Sato, Y., Hamamoto, S., Mita, H., Shimakura, K. Sarcoplasmic calcium-binding protein: identification as a new allergen of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **146**, 91–98 (2008).
- 71) Ayuso, R., Grishina, G., Ibáñez, M. D., Blanco, C., Carrillo, T., Bencharitiwong, R., Sánchez, S., Nowak-Węgrzyn, A., Sampson, H. A. Sarcoplasmic calcium-binding protein is an EF-hand-type protein identified as a new shrimp allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **124**, 114–120 (2009).
- 72) Ayuso, R., Grishina, G., Bardina, L., Carrillo, T., Blanco, C., Ibáñez, M. D., Sampson, H. A., Beyer, K. Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **122**, 795–802 (2008).
- 73) Miyazawa, H., Fukamachi, H., Inagaki, Y., Reese, G., Daul, C. B., Lehrer, S. B., Inouye, S., Sakaguchi, M. Identification of the first major allergen of a squid (*Todarodes pacificus*). *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**, 948–953 (1996).
- 74) Ishikawa, M., Suzuki, F., Ishida, M., Nagashima, Y., Shiomi, K. Identification of tropomyosin as a major allergen in the octopus *Octopus vulgaris* and elucidation of its IgE-binding epitopes. *Fish. Sci.*, **67**, 934–942 (2001).
- 75) Motoyama, K., Ishizaki, S., Nagashima, Y., Shiomi, K. Cephalopod tropomyosins: Identification as major allergens and molecular cloning. *Food Chem. Toxicol.*, **44**, 1997–2002 (2006).
- 76) Chuo, K. H., Wong, S. H., Leung, P. S. C. Tropomyosin is the major mollusk allergen: Reverse transcriptase polymerase chain reaction, expression and IgE reactivity. *Mar. Biotechnol.*, **2**, 499–509 (2000).
- 77) Ishikawa, M., Ishida, M., Shimakura, K., Nagashima, Y., Shiomi, K. Purification and IgE-binding epitopes of a major allergen in the gastropod *Turbo cornutus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1337–1343 (1998).
- 78) Emoto, A., Ishizaki, S., Shiomi, K. Tropomyosins in gastropods and bivalves: Identification as major allergens and amino acid sequence features. *Food Chem.*, **114**, 634–641 (2009).
- 79) Ishikawa, M., Shimakura, K., Nagashima, Y., Shiomi, K. Isolation and properties of allergenic proteins in the oyster *Crassostrea gigas*. *Fish. Sci.*, **63**, 610–614 (1997).
- 80) Ishikawa, M., Ishida, M., Shimakura, K., Nagashima, Y., Shiomi, K. Tropomyosin, the major oyster *Crassostrea gigas* allergen and its IgE-binding epitopes. *J. Food Sci.*, **63**, 44–47 (1998).
- 81) Song, J., Li, L., Li, Q., Ran, P. Sequence analysis and expression of a cDNA clone encoding tropomyosin in *Sinonovacula constricta*. *Mol. Biol. Rep.*, **36**, 315–321 (2009).
- 82) Shimizu, Y., Nakamura, A., Kishimura, H., Hara, A., Watanabe, K., Saeki, H. Major allergen and its IgE cross-reactivity among salmonid fish roe allergy. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 2314–2319 (2009).