

# ヒトの鶏卵アレルギーに対する 新規アレルゲン蛋白質の検出

曾川 一幸 講師

麻布大学 生命・環境科学部 臨床検査技術学科 生化学研究室

Kazuyuki Sogawa Assistant Professor.

School of Life and Environmental Science, Department of Medical Technology

## <背景・目的>

- 食物アレルギー患者はこの40年で約10倍に増加しており、新規に発症する原因食物の頻度は年齢別に大きく異なる。0歳から6歳までは、鶏卵が一番多い食物アレルギー原因食品である。
- 鶏卵は栄養価が高く良質なタンパク質を持つため、動物性のタンパク質の供給源としては一般的な食材である。我が国のみならず世界的にみても、最も食物アレルギーの発症頻度が高い食品である。
- 鶏卵アレルゲンは、卵白でOvomucoid (Gal d 1)、Ovalbumin (Gal d 2)、Ovotransferrin (Gal d 3)、Lysozyme (Gal d 4)、卵黄でSerum albumin (Gal d 5)、Vitellogenin-1 (Gal d 6)が報告されている。臨床現場において、鶏卵特異的IgEの数値結果と臨床症状とが合わないことがしばしば遭遇する。
- 鶏卵アレルギー患者血清を用いて、新規アレルゲンタンパク質の探索・同定を目的とする。

## 年齢別原因食物

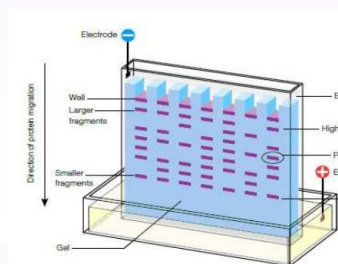
| 年齢群 | 0歳          | 1歳          | 2,3歳          | 4~6歳          | 7~19歳        | 20歳以上        | 合計          |
|-----|-------------|-------------|---------------|---------------|--------------|--------------|-------------|
| 症例数 | 1270        | 699         | 594           | 454           | 499          | 366          | 3882        |
| 第1位 | 鶏卵<br>62.1% | 鶏卵<br>44.6% | 鶏卵<br>30.1%   | 鶏卵<br>23.3%   | 甲殻類<br>16.0% | 甲殻類<br>18.0% | 鶏卵<br>38.3% |
| 第2位 | 牛乳<br>20.1% | 牛乳<br>15.9% | 牛乳<br>19.7%   | 牛乳<br>18.5%   | 鶏卵<br>15.2%  | 小麦<br>14.8%  | 牛乳<br>15.9% |
| 第3位 | 小麦<br>7.1%  | 小麦<br>7.0%  | 小麦<br>7.7%    | 甲殻類<br>9.0%   | そば<br>10.8%  | 果物類<br>12.8% | 小麦<br>8.0%  |
| 第4位 |             | 魚卵<br>6.7%  | ピーナッツ<br>5.2% | 果物類<br>8.8%   | 小麦<br>9.6%   | 魚類<br>11.2%  | 甲殻類<br>6.2% |
| 第5位 |             |             | 甲殻類<br>5.1%   | ピーナッツ<br>6.2% | 果物類<br>9.0%  | そば<br>7.1%   | 果物類<br>6.0% |
| 第6位 |             |             |               | そば<br>5.9%    | 牛乳<br>8.2%   | 鶏卵<br>6.6%   | そば<br>4.6%  |
| 第7位 |             |             |               | 小麦<br>5.3%    | 魚類<br>7.4%   |              | 魚類<br>4.4%  |

各年齢群において5%以上占めるものを記載している。

(食物アレルギーの診療の手引き2014より引用)

## <研究の流れ>

卵白・卵黄  
タンパク質抽出



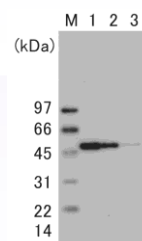
SDS-PAGE



LC-MS/MS



アレルゲンコンポーネント  
同定

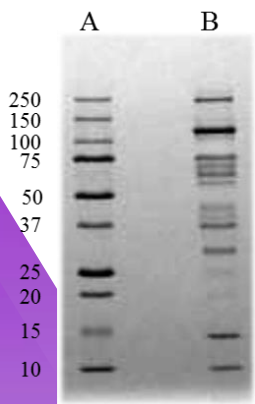


ウェスタンブロット法



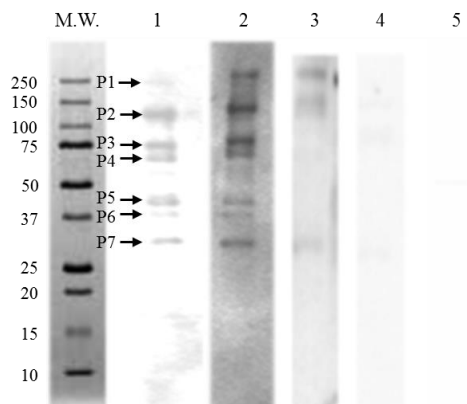
アレルゲンコンポーネント  
探索

鶏卵卵黄タンパク質抽出液のSDS-PAGE像



SDS-PAGE (4-20%) profile of the crude egg yolk extracts under reducing and denaturing conditions.  
Lane 1: Molecular weight marker in kDa.  
Lane 2: Crude egg yolk extract.  
The proteins were stained with CBB.

鶏卵卵黄アレルゲンコンポーネントの探索



Western blotting conducted using patients' sera against crude egg yolk extracts.  
Lane 1-3: Western blotting of crude egg yolk extracts with sera of individual egg allergic patients 1-3.  
Lane 4-5: Western blotting of crude egg yolk extracts with sera of individual sesame allergic patients 1-2.  
M.W.: Molecular weight marker in kDa.

同定結果

| Protein band No. | Approximate M.W. on SDS-PAGE (kDa) | Database accession No. | Identity                                   | M.W    | Score | Sequence coverage (%) |
|------------------|------------------------------------|------------------------|--|--------|-------|-----------------------|
| P1               | 250                                | P02845                 | Vitellogenin II                            | 204808 | 950   | 18                    |
| P2               | 127                                | P02845                 | Vitellogenin II                            | 204808 | 1030  | 21                    |
| P3               | 75                                 | F1NV02                 | Apolipoprotein B                           | 523357 | 1611  | 20                    |
| P4               | 63                                 | P19121                 | Chicken serum albumin ( $\alpha$ -livetin) | 69918  | 1764  | 46                    |
| P5               | 44                                 | P87498                 | Vitellogenin I (YGP42)                     | 210498 | 2795  | 14                    |
| P6               | 37                                 | P02845                 | Vitellogenin I                             | 210498 | 4262  | 12                    |
| P7               | 30                                 | P02845                 | Vitellogenin II                            | 204808 | 13083 | 12                    |

鶏卵卵黄アレルギー患者におけるYGP40の反応性

| Patient No. | Age (years) | Sex    | YGP40 reaction | Patient No. | Age (years) | Sex    | YGP40 reaction |
|-------------|-------------|--------|----------------|-------------|-------------|--------|----------------|
| E1          | 6           | male   | +              | E28         | 4           | male   | -              |
| E2          | 2           | male   | +              | E29         | 1           | female | +              |
| E3          | 1           | male   | +              | E30         | 8           | female | -              |
| E4          | 6           | male   | -              | E31         | 10          | female | +              |
| E5          | 4           | male   | -              | E32         | 8           | male   | +              |
| E6          | 4           | male   | +              | E33         | 12          | male   | -              |
| E7          | 4           | male   | +              | E34         | 3           | male   | -              |
| E8          | 2           | female | -              | E35         | 7           | female | -              |
| E9          | 2           | male   | -              | E36         | 3           | male   | +              |
| E10         | 5           | male   | -              | E37         | 4           | male   | -              |
| E11         | 9           | female | +              | E38         | 7           | male   | -              |
| E12         | 5           | female | -              | E39         | 3           | female | +              |
| E13         | 11          | female | +              | E40         | 4           | male   | -              |
| E14         | 2           | female | -              | E41         | 4           | male   | -              |
| E15         | 11          | male   | -              | E42         | 5           | male   | +              |
| E16         | 6           | female | +              | E43         | 5           | male   | -              |
| E17         | 6           | male   | -              | E44         | 2           | female | -              |
| E18         | 2           | male   | +              | E45         | 3           | male   | +              |
| E19         | 11          | male   | +              | E46         | 12          | female | +              |
| E20         | 9           | male   | -              | E47         | 6           | male   | -              |
| E21         | 9           | male   | +              | E48         | 12          | male   | -              |
| E22         | 8           | male   | +              | E49         | 8           | male   | -              |
| E23         | 12          | male   | -              | E50         | 9           | female | +              |
| E24         | 6           | female | -              | E51         | 7           | female | -              |
| E25         | 12          | male   | +              | E52         | 8           | male   | -              |
| E26         | 4           | female | -              | E53         | 8           | female | -              |
| E27         | 3           | female | -              | S1          | 8           | male   | -              |
|             |             |        |                | S2          | 8           | female | -              |

E: Hen's egg yolk allergy.  
S: Sesame allergy

Vitellogenin II

| Signal peptide | 1 - 15      | 15   | Potential      |
|----------------|-------------|------|----------------|
| Chain          | 16 - 1850   | 1835 | Vitellogenin-2 |
| Chain          | 16 - 1111   | 1096 | Lipovitellin-1 |
| Chain          | 1112 - 1328 | 217  | Phosvitin      |
| Chain          | 1329 - 1566 | 238  | Lipovitellin-2 |
| Chain          | 1567 - 1850 | 284  | YGP40          |

UniProtKBより

<今後の予定>

- YGP40のエピトープ部位解析
- YGP40の機能解析
- ELISAを構築する

| Foods - Egg & fowl       |                     |      |      |                  |
|--------------------------|---------------------|------|------|------------------|
| Product                  |                     | Code | Size | Art. No. Barcode |
| Chicken                  | Gallus spp.         | 193  | 16   | 14-4185-01 428   |
| Egg                      |                     | 1245 | 10   | 14-4826-01 925   |
| Egg white                |                     | 71   | 16   | 14-4111-01 381   |
| Egg yolk                 |                     | 775  | 16   | 14-4184-01 427   |
| Turkey meat              | Meleagris gallopavo | 1284 | 10   | 14-4818-01 917   |
| Allergen components      |                     |      |      |                  |
| nGal d 1 Ovomucoid, Egg  |                     | 1233 | 10   | 14-4805-01 904   |
| nGal d 2 Ovalbumin, Egg  |                     | 1232 | 10   | 14-4804-01 903   |
| nGal d 3 Conalbumin, Egg |                     | 1323 | 10   | 14-5222-01 C18   |