

# 大豆に起因するアレルギーに関する基礎研究

## BASIC STUDIES ON SOYBEAN-ASSOCIATED ALLERGY

荒井 綜一 (東京大学農学部)

木村 廣子 (女子栄養大学)

Soichi ARAI<sup>1</sup> and Hiroko KIMURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, 113

<sup>2</sup>Kagawa Nutrition College, Tokyo 170

### ABSTRACT

An acid-precipitated protein constituted mainly with 7S and 11S fractions was prepared from raw soybeans after defatting with ethyl ether. A similar protein was prepared from soy protein isolate (SPI). Each of the proteins was investigated for immunogenicity by using guinea pigs. It was found that the protein from raw soybeans showed an appreciable degree of immunogenicity, which was caused primarily by its 7S fraction. This acid-precipitated protein containing the 7S fraction was treated at 65°C for 180 min or at 80°C for 90 min, but its immunogenicity did not decrease. However, when the protein treated at 80°C for 90 min was hydrolyzed with trypsin, the resulting product showed no immunogenicity. These results suggest that in raw soybeans a certain heat-stable component exists, which may possibly induce allergy and also that enzymatic hydrolysis following heat treatment could be effective in producing a hypoallergenic soybean protein hydrolysate. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.*, **11**, 60-62, 1990.

近年、食物に由来するアレルギーの発症が多発することから、多種の食品についてその発症のメカニズムと、発症予防の研究が盛んになりつつある。荒井らは既に、アレルギーを低減した米を開発し<sup>1)</sup>、臨床的に応用されている。今回大豆につき、アレルギー起因物質の再検討をおこない、更に抗原物質を酵素的に分解し、抗原となる性質を失なわしめたペプチドの生産を目的として実験を行った。

### 実験方法

#### 11S, 7S グロブリン精製

大豆アレルギーの起因物質を検討するため、丸大豆を粉碎し、エーテルで脱脂した後、Iwabuchi and Yamauchi の方法<sup>2)</sup>により、Fig. 1 および Fig. 2 に示すように 11S および 7S グロブリン画分を単離精製し

た。

一方、前記脱脂大豆を pH 8、20°C 以下で24時間抽出した後、pH 6.4とし、凍結乾燥して大豆たん白質を得、SPI との比較検討に供した。

#### 抗血清の調製

モルモットを用いて、抗 11S、抗 7S、抗大豆たん白質、抗 SPI 抗血清を調製した<sup>3)</sup>。

体重約250 g の雄性モルモットを1群3匹とし、前記 11S、7S、大豆たん白質、SPI を3 mg/体重1000 g の比率になるよう、生理食塩水で溶解した後、Freund のアジュバントを加え、背面に皮下注射した。1週毎に耳静脈採血し、免疫拡散法<sup>4)</sup>により、沈降線の有無から免疫性を判定した(アガー0.8%, ペロナール緩衝液使用)。沈降線が生じてから1週間後採血し、56°C、30分間放置後遠心分離して抗血清を得た。

Defatted soybean meal

- Extract with 0.03 M Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM 2-ME at 20°C
- Meal : Buffer = 1 : 20
- Centrifuge at 20°C

Supernatant

- Adjust to pH 6.4
- Centrifuge at 4°C

Precipitation

- Dissolve in KP buffer pH 7.6, at 4°C
- Centrifuge at 4°C

Supernatant

- Add  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  to 51% saturation
- Centrifuge at 4°C

Supernatant

- Add  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  to 66% saturation
- Centrifuge at 4°C

Precipitation

- Dissolve in KP buffer, pH 7.6
- Purified by Sephadex G200

11S protein fraction

Fig. 1. Process for preparing an 11S protein fraction

Defatted soybean meal

- Extract with 0.03 M Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM 2-ME at 20°C
- Meal : Buffer = 1 : 20
- Centrifuge at 20°C

Supernatant

- Adjust to pH 6.4
- Centrifuge at 4°C

Supernatant

- Adjust to pH 4.8
- Centrifuge at 4°C

Precipitation

- Dissolve in 0.03 M Tris-HCl, pH 8.0, at 4°C
- Adjust to pH 6.2
- Centrifuge at 4°C

Supernatant

- Adjust to pH 7.6
- Add  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  to 51% saturation
- Centrifuge at 4°C

Supernatant

- Add  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  to 100% saturation
- Centrifuge at 4°C

Precipitation

- Dissolve in KP buffer, pH 7.6
- Purified by DEAE Sephadex A-50

7S protein fraction

Fig. 2. Process for preparing a 7S protein fraction

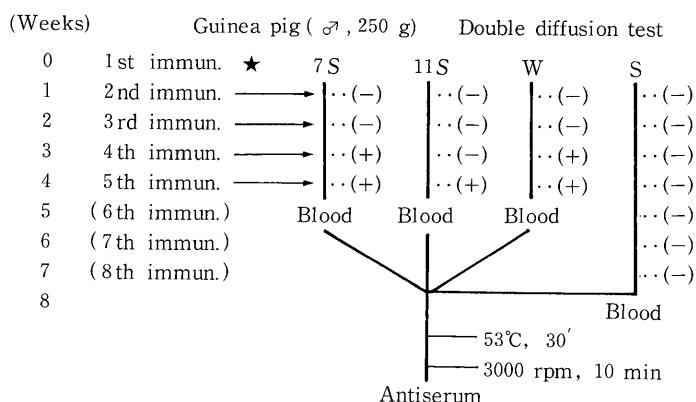


Fig. 3. Preparation of antisera.

★ Antigen: whole soybean protein (3mg/1000 g body weight)

+ Adjuvant, W: whole soybean protein, S: SPI.

## 結 果

結果は Fig. 3 に示す通りである。

大豆たん白質から得た 11S と 7S を比較すると、7S が免疫原性が強かった。SPI は免疫原性を消失していた。

### 大豆たん白質の加熱による抗原性の変化

大豆たん白質の熱変性による抗原性の変化を、前項モルモット抗血清を用い、免疫拡散法により調べた。65°C では180分間加熱しても変化はみなかった。80°C からは加熱時間により抗原となる能力に変化が生じるという報告<sup>5)</sup>もあるが、本実験では80°C では90分間加熱しても変化をみなかった。しかし、90°C、30分間加熱では抗原性が低減した。

前記加熱変性たん白質—65°C、180分、80°C、90分、90°C、30分—についてトリプシン消化実験を行ない、その消化物についても、免疫拡散法による免疫原性の試験を行った。この試験結果も、90°C 加熱たん白質のみ、免疫原性は消失した。

大豆起源の精製トリプシンインヒビター（シグマ社）について同様試験を行った結果、免疫原性は見出されなかった。

## 考 察

丸大豆から得たたん白質と SPI のポリアクリルア

ミド電気泳動図は極めて近似しているが、免疫拡散法による免疫原性が全く異っている。これは高速液クロで分離を要するような微妙な部分が異っていることも考えられる。

また 7S グロブリン画分が免疫原性が高いことを更に確め、この画分のアレルギー誘起力のテストを行い（ヒトの血清を用い）、アレルギー性の確認が出来れば、7S 画分のみを低分子化（酵素により）し、アレルギーを低減化したペプチドを生産することも考えられる。

## 文 献

- 1) 荒井 綜一, 池澤 善郎, 渡辺 道子, 宮川 淳子 (1990): コメアレルギーとアレルギー除去米. 小児内科, **22**, No. 3, 415-420.
- 2) Iwabuchi, S. and Yamauchi, F (1987): Determination of glycinin and  $\beta$ -Conglycinin in soybean proteins by immunological methods. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 200-205.
- 3) 福岡良男ら (1982): 血清学, 医歯薬出版, pp. 211-213.
- 4) 中村 弘, 杉浦 勉 (1986): 免疫生化学研究法, 続生化学実験講座 5, 日本生化学会編, 東京化学同人, pp. 40-43.
- 5) Catsimpoalas, N: ダイズタンパク質の免疫学的特性 (食品の免疫学) 建帛社, pp. 39-60.