

# 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, Tokyo, Tokyo 113

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

### ABSTRACT

To study the allergenicity of major soybean proteins, we investigated the immunogenicities of purified 7S and 11S globulins as well as the soybean protein isolate "Fujipro R". Guinea pigs were immunized with each of these three samples to obtain respective sera. Double immunodiffusion tests showed that the 7S globulin had a greater immunogenicity than the others. A study was also conducted in order to lessen the immunogenicities of the three proteins by tryptic hydrolysis. Since any of them resisted the enzymatic reaction, they were heated at 60° or 70° for 90 min, prior to being treated with trypsin. This treatment, however, was found ineffective. When they were heated 80°C for 90 min or longer and then treated with trypsin, their immunogenicities were somewhat lessened. The tryptic hydrolysis following a heat treatment at 90° for 5 min gave the more effective result that the hydrolysates produced from the three proteins no longer cross-reacted with their antisera. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 12, 37-40, 1991.

大豆アレルギーの原因成分を検討するため丸大豆を脱脂し、大豆たん白質、11Sグロブリン、7Sグロブリンを分離精製した。また、前報<sup>1)</sup>の追試験を行なうため、モルモットを用いて、夫々の抗血清を得た。更に低アレルゲン化を目的とし、夫々酵素分解と加熱処理とを行ない、比較検討した。

### 実験方法

#### 大豆たん白質、7S、11Sグロブリンの精製

丸大豆（宮城県産つるのこ）を粉砕し、エーテルで脱脂した後、pH 8、20℃以下で24時間抽出した後、酸沈澱し、凍結乾燥して大豆たん白質を得た。

前述の脱脂大豆を用い、Iwabuchi, Yamauchiの方法<sup>2)</sup>により粗11Sグロブリンおよび粗7Sグロブリン画分を得、11S画分は更にKp bufferに溶解し、セファデックスG200で精製した。7S画分もKp bufferで

溶解し、セファデックスG200で精製した。7S画分もKp bufferで溶解し、DEAE セファデックスA-50で精製した (Fig. 1)。

#### 抗血清の作成<sup>3)</sup>

体重250～350 gの白色ハートレ系雄性モルモットを供試動物とし、1群3匹とし、抗原たん白質を3 mg/体重1 kgの比率になるよう生理食塩水で溶解した後、フロイントのアジュバントに乳化し背面に皮下注射した。1週毎に耳静脈採血し、免疫拡散法（アガー-0.8%，ペロナール緩衝液使用）により、沈降線の有無から免疫性を判定した。沈降線が生じてから1週間後全血採血し、56℃、30分間遠心分離して、抗大豆たん白質、抗11Sグロブリン、抗7Sグロブリン抗血清を得た (Fig. 2)。

#### 酵素分解による抗原性の変化

基質（前述の大豆たん白試料）は、夫々、3%にな

るよう0.01 M トリス塩酸緩衝液に溶解し、基質に対し1%のトリプシンを加え、37℃で反応させ経時的に試料を取り出し、大豆起源トリプシンインヒビターを酵素と同量加え反応を停止した。生じた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。また消

化中の分子量の変化は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により調べた。

#### 加熱による抗原性の変化

同試料を80℃で0～180分、90℃、0～30分加熱し、トリプシン消化試験も併せて行ない、前項同様抗原性

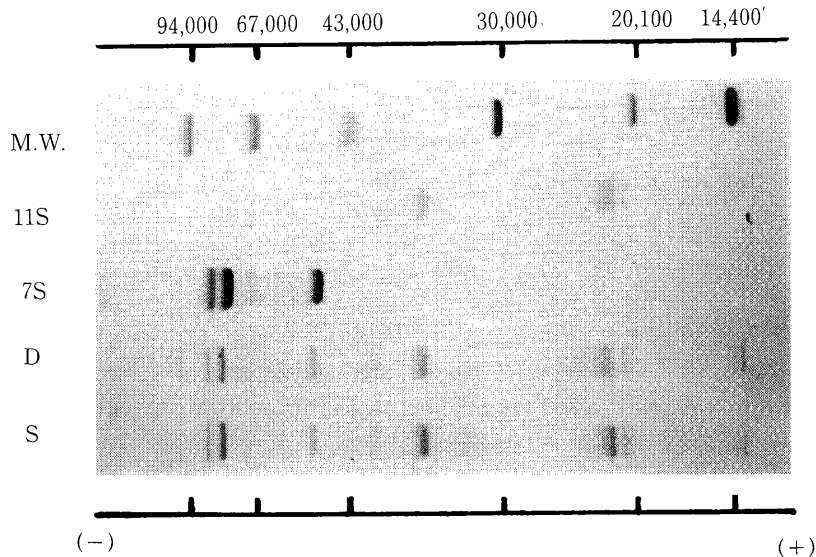


Fig.1. The SDS-gel electrophoretic pattern. 11S: 11S-globulin, 7S: 7S-globulin, D: Defatted soybean meal, S: Soy protein isolate.

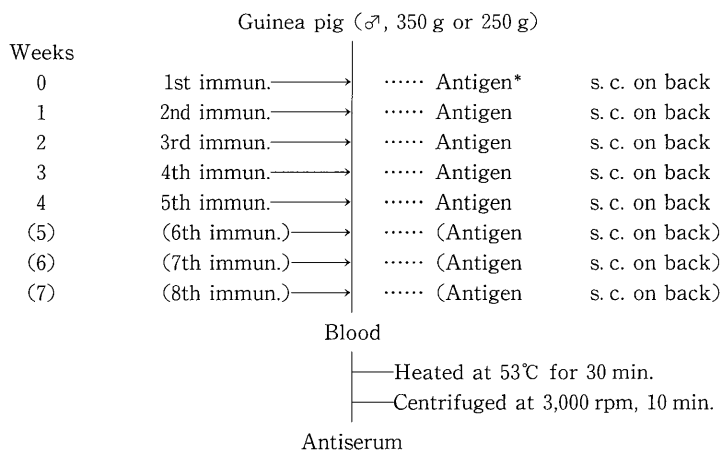


Fig.2. Preparation of antisera. \*Antigen: Defatted soybean meal, whole soybean protein, soy protein isolate, 7S-globulin or 11S-globulin (3 mg/1,000 g body weight)+Adjuvant.

の試験を行った。

## 結果と考察

各種大豆たん白質で免疫したモルモットによる抗体の生成は Table 1 に示す通りである。7Sは11Sに比べ免疫原性が強く、また SPI は免疫原性を消失していて抗血清は得られなかった。

トリプシンによる消化試験は、11S、7Sにおいては、速やかに高分子区分は消失してはいるが、すべて免疫原性の消失には至らなかった (Fig. 3)。また、本

実験に用いたトリプシンインヒビター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。

加熱時間による抗原性の変化は80℃では90分までは変化が認めにくい、それ以上では幾分か変化がみられた。90℃では消化の有無にかかわらず (高分子画分が存在しても)、5分以上加熱すると抗原性は消失している (Fig. 4)。

以上、免疫原性の有無からみれば、大豆たん白質は消化酵素による低分子化より、むしろ加熱温度条件がより免疫原性の消失につながるのではないかと、一方、

Table 1. Results by Ouchterlony double immunodiffusion method

Weeks	Defatted soybean meal	Whole soybean protein	7S-globulin	11S-globulin	Soy protein isolate
1	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
3	—	+	+	—	—
4	+	+	+	+	—
5	+	+	+	+	—
6					—
7					—
8					—

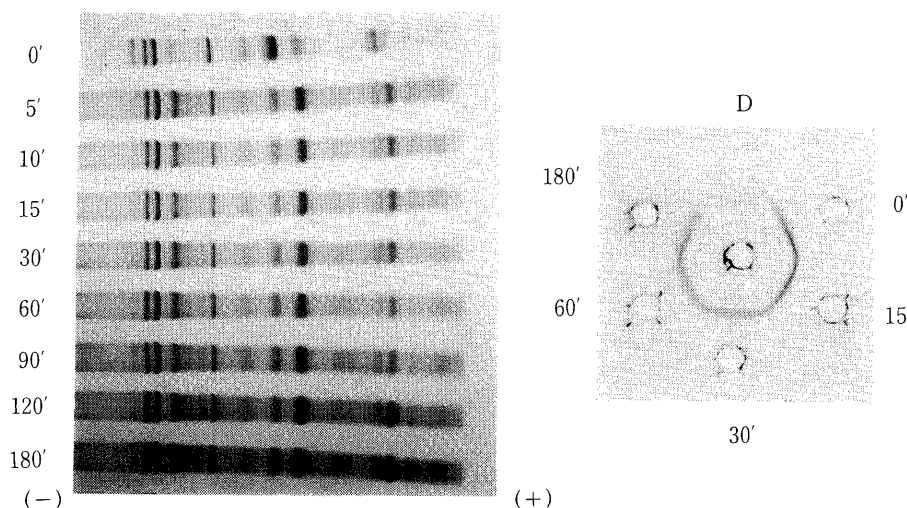


Fig. 3. The effect of trypsin digestion on the SDS-gel electrophoretic pattern and immunogenicity of defatted soybean meal. As: Anti-defatted soybean meal serum, D: Defatted soybean meal.

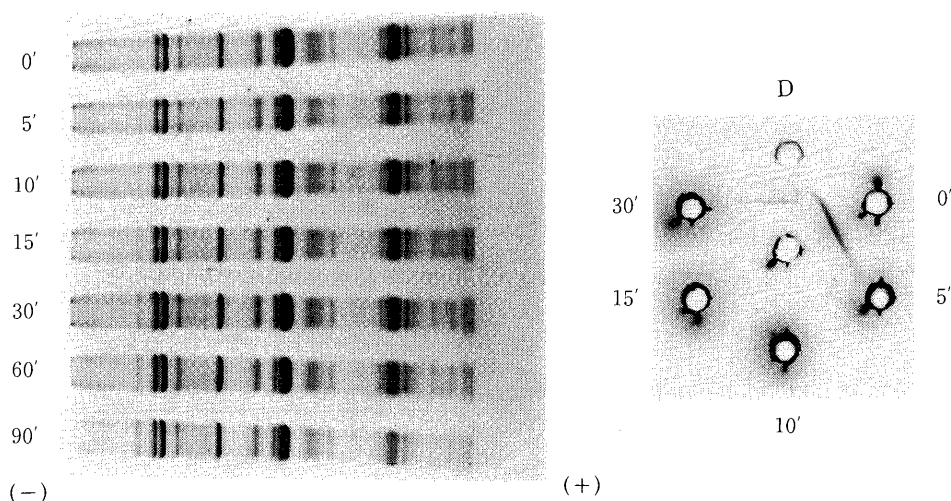


Fig. 4. The effect of heat treatment at 90°C on the SDS-gel electrophoretic pattern and immunogenicity of defatted soybean meal. As : Anti-defatted soybean meal serum, D : Defatted soybean meal.

近年大豆アレルギー誘起物質について、たん白質単独ではなく、大豆油酸化物との反応生成物であるとの報告<sup>5)</sup>もなされているし、臨床例もあるので、アレルギーの低減したペプチドの生産は再考を要すると結論した。

## 文 献

- 1) 荒井総一, 木村廣子 (1990) : 大豆に起因するアレルギーに関する基礎的研究. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 60-62.
- 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 (1986) : 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) 中村 良 (1990) : 食品機能化学, 三共出版, pp. 160-162.