

解 説

低アレルギー化小麦粉食品の開発

田辺創一*・渡辺道子**

Production of Hypoallergenic Wheat Products

Soichi TANABE* and Michiko WATANABE**

* Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University

** Department of food and Life-science, Takasaki University of Health and Welfare

食物アレルギー患者は年々増加の一途をたどっている。患者は食事の際、アレルギーの原因となる物質（アレルギー）を除去しなければならず、それを含む食品を摂取できない。この問題を解決する一つの途は、低アレルギー化食品を開発することである。これまで著者らは、特に治りにくいとされる小麦アレルギーについて研究をすすめてきた。本稿では、小麦粉中のアレルギー原因物質を分解して作製した低アレルギー化小麦粉およびその加工品について解説する。

食物アレルギーとは

今日、アレルギーは日本の国民病とも言われている。人口の45%が何らかのアレルギーをもち、特にスギ花粉に対しては15%もの人がアレルギー症状を起こすと言われている。

人間には、花粉、ダニ、食物などの異物の侵入に対して自らを守る『免疫』システムが備わっている。アレルギーとは、この免疫反応が過剰に働くことによると考えられている。より詳細に述べると、体内に侵入したアレルギーが患者肥満細胞上のIgE抗体に結合すると、細胞内の顆粒からヒスタミンなどの化学伝達物質が放出され、症状を引き起こすとされている。

アレルギーへの対策は、花粉、ダニなどのアレルギーを遠ざけることである。食物アレルギーの場合は、原因となる食品を除去した食事メニューを組み立てなければならない。即ち、小麦アレルギー患者には小麦を除去し

たメニューが必要となる。小麦アレルギー患者はパンを常食とする民族であってもそれを摂取できないことになる。卵、牛乳による食物アレルギーでは、多くの場合、乳幼児期に発症し、成長とともに寛解（治癒）するが、小麦アレルギーの場合、成人患者が多く、難治性であることも、問題をさらに深刻化している。この問題を解決する一つの途は、低アレルギー化小麦粉を開発することである。そうすれば、小麦を主体とする食事メニューを、小麦アレルギー患者といえども、日常の食生活に採り入れることができ、長年に亘って親しんできた食習慣を変える必要はなくなるのである。低アレルギー化食品を開発することの意義は正にここにある。

小麦アレルギー

食物アレルギーの原因のうち代表的なものは、卵、牛乳、小麦であり、その割合は、卵が28%、牛乳が19%、小麦が11%である。食物アレルギーは多くの場合、タンパク質である。しかも、いくつかの共通した性質を有する。例えば、1. 分子量が1万から10万までの範囲であること（サイズが小さいものはアレルギーにならず、逆に大きすぎるものは腸管を通過しにくく体内に侵入しにくく考えられる）、2. 加熱処理や消化酵素に対する安定性（抵抗性）が高いこと、3. 一次構造上に繰り返し配列が存在するものがあることなどが挙げられる。

小麦タンパク質は塩溶性のもの（アルブミン、グロブリン）、および、塩不溶性のもの（グルテニンとグリアジン

* 広島大学生物生産学部（〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4 e-mail: stanabe@hiroshima-u.ac.jp）

** 高崎健康福祉大学健康栄養学科（〒370-0033 高崎市中大類町37-1 e-mail: michiko@takasaki-u.ac.jp）

ン)に大別される。従来、小麦アレルギーとして、同じイネ科植物である米のアレルゲンと同様に、 α -アミラーゼインヒビターをはじめとするグロブリン画分が主要な小麦アレルギーであると考えられていた。しかし、著者らが塩溶性画分と塩不溶性のグルテンとに分けて、多数の患者血清を用いてIgE-ELISAにより抗原性を測定した結果、6割以上の患者が当時アレルギーとして研究されていなかったグルテンを抗原として認識していることが明らかとなった¹⁾。ここでIgE-ELISAとは、患者IgE抗体と食品成分との結合性を*in vitro*で評価する方法である。

グルテン中の抗原性を有する構造を解析するにあたり、グルテンを α -キモトリプシンで部分的に加水分解させて可溶化し、Sephadex G-50ゲル濾過に供した。ついで、活性画分を逆相HPLCにより精製し、一次構造を決定した。抗原性ペプチドはグルタミンとプロリンを多く含み、SQQQ(Q)PPFの繰返し配列を4回有しているという特徴があった²⁾。アミノ酸配列の相同性を検索した結果、抗原性ペプチドは低分子量グルテニン前駆体と70~90%の相同性を有していることから、低分子量グルテニン由来であると考えられた。アレルギーになる物質の共通した性質を3つ前述したが、低分子量グルテニンはこれらの性質を全て有している。抗原性ペプチドの部分構造を固相ペプチド合成法により合成し、抗原性発現に必須なアミノ酸残基(エピトープ構造)をQQQPP配列中N末端側のグルタミンおよび2つのプロリンと決定した³⁾。抗原性ペプチドは*Saccharomyces cerevisiae*タンパク質とも50%以上の相同性を有していた。このことは、低アレルギー化小麦粉を原料として小麦アレルギー患者用に製パンを行う際には、パン酵母が使えないことを意味している(後述)。

低アレルギー化に適したプロテアーゼを検索する過程で、パイナップル由来のプロメラインが小麦塩溶性画分に感受性を示す患者に交叉認識されることを見出した⁴⁾。おそらく、植物に広く存在するオリゴマンノース型糖鎖が交叉認識されているものと考えられる。例えば、徳島大学(現 京都大学)の小川ら⁵⁾により報告された大豆の代表的なアレルギーである*Gly m Bd 30K*も糖鎖をもつアレルギーの一例である。小麦粉中にも α -アミラーゼインヒビターをはじめとして種々の抗原性糖鎖タンパク質が存在している⁶⁾。

前述のタンパク性アレルギーを酵素的にほぼ完全に分解し、また、糖鎖アレルギー構造についても十分低分子化して低アレルギー化小麦粉を試作し、臨床試験に供し

た。その結果、大部分の患者で有効であったが、一部で反応性を示す例が認められた。このことは、非タンパク性のアレルゲンが存在する可能性を示唆している。そこで、非タンパク性アレルギーをも単離することとした。

小麦粉の水抽出物からConA-アフィニティークロマトおよびゲルろ過HPLCにより分子量約5万のIgE結合性成分を単離した⁷⁾。単離した多糖の主構成糖はグルコースとマンノース(組成比4.4:1)であった。一方、キシロース、ガラクトース、フコース、*N*-アセチルグルコサミンおよび*N*-アセチルガラクトサミンは検出されなかった。GNAレクチンを用いた解析から、多糖はグルカンとマンナンの混合物ではなく、ヘテログリカン(マンノグルカン)であることが明らかとなった。これまでに小麦粉中にアラビノキシランあるいはアラビノガラクトサンの存在は報告されていたが、マンノグルカンの存在を明確に証明したのはこれが初めてであった。NMR解析より、グルコースのアノマー炭素の大部分は β 型であることが示唆された。このことは、多糖をセルラーゼ処理すると低分子化したことから支持された。

以上をまとめると、著者らが明らかにした小麦アレルギーは3種、即ち、低分子量グルテニン、オリゴマンノース型糖鎖およびマンノグルカンということになる。

低アレルギー化小麦粉の作製

次に、アレルギーを食品加工用酵素によって低減化し、実際に低アレルギー化小麦粉を作製することを試みた。

用いる酵素の条件として、酵素自体に抗原性がないことと、アレルギー低減化能が高いことがあげられる。前述のプロメラインは、プロリン近傍のペプチド結合を切断するコラゲナーゼ活性が高くエピトープ構造(QQQPP)の分解には好適と考えられたが、小麦塩溶性画分に感受性を示す患者のIgE抗体と結合することから使用できない。また、アミラーゼ活性が低いことも望まれる。それは、アミラーゼによって小麦デンプンが分解されると、小麦粉の体積が減り、甘味が付与され、加工特性が著しく損なわれるためである。加えて、患者は α -アミラーゼインヒビターをも抗原とするため、 α -アミラーゼインヒビターの添加が不可能であるからでもある。

これらを考慮して、アレルギー構造に基づき、まずマンノグルカンの分解を試みた。条件を満たすものとして*Trichoderma viride*由来のセルラーゼTDF(天野製薬)が選ばれた。同じ天野製薬の酵素でも、セロビアーゼや

ヘミセルラーゼは、セルラーゼ TDF よりも 15 倍以上アミラーゼ活性が高く不適と判定された⁸⁾。対小麦粉 0.5 wt% のセルラーゼ TDF を 50°C で 1 時間小麦粉に作用させることにより、マンノグルカンの抗原性は検出限界以下までに低減化された。同時に、この過程で小麦粉に存在する細菌の制御が可能であった。次に、対小麦粉 0.5 wt% のアクチナーゼ (科研製薬) を限定条件下で小麦粉に作用させることにより、ある程度の加工特性を温存させたまま、十分に低アレルギー化されたと判定できるバター状の製品を得ることができた。小麦粉製品への加工に有利となるように、2 段階の酵素反応に用いる水の量は小麦粉重量の 0.6 倍とした。なお、現在、低アレルギー化小麦粉はオーム乳業 (株) (福岡県大牟田市) により工業化され、患者に提供されている (図 1)。

低アレルギー化小麦粉の臨床評価は、関西医科大学小児科と共同で進行中である。低アレルギー化小麦粉を原料としたカップケーキ (後述) を 3 ヶ月間患者に摂取してもらい、その推移を観察した。その結果、小麦アレルギー患者 17 例のうち 15 例で症状の誘発が認められず、有効と判定されている (1999 年までの途中経過)。

低アレルギー化小麦粉の加工

通常、小麦粉は対粉約 0.6 倍量の水とこねるとグルテンネットワークが形成され、いわゆるドウの状態になる。しかし、低アレルギー化小麦粉は、バター状、即ち、擬塑性の流体であり、もんじゃ焼きの材料のように「トロトロ」あるいは「シャバシャバ」の状態であった。これは、低アレルギー化プロセスによりグルテンが分解され、ドウ形成能を失った結果である。このままでは加工性に乏しく、従来の工程の感覚では製品の加工は難しい。実際、「グルテンのないものからはパンやウエファなどを作れない」と一般に考えられていた。しかし、著者らは、バターの気体保持能および低アレルギー化小麦粉中のデンプンの糊化特性を利用して実際の食品に加工する条件を詳細に検討した⁹⁾。

1) パスタおよび膨化菓子

ゆでたスパゲティは高い凝集性を有する。ゆでたスパゲティの凝集性をテクスチュロメータで測定したところ 0.83 付近であった。0.83 の凝集性を得るためには、低アレルギー化小麦粉バターを蒸煮してから食塩を加え、高温で攪拌押し出しすることが必要であった。作製されたパスタ様麺は、レトルト加工、冷凍保存、乾燥ができ、賞味期間を長くすることが可能であった。

乾燥パスタ様麺をグリッツ状にしてからパフさせるこ

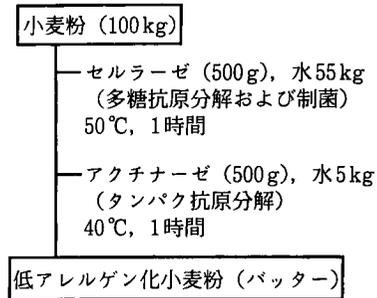


図 1 低アレルギー化小麦粉作製工程
得られたバター状の製品は冷凍で流通されている。

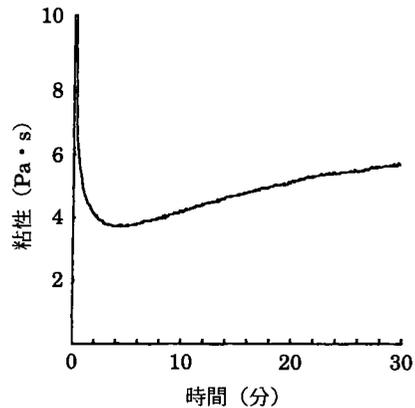


図 2 加熱によるバターの粘性の変化

とにより、スナック菓子様のものが作製された。製品の比容積は 8.7 であった。

2) パン、カップケーキ、ピザおよびクッキー

低アレルギー化バターからこれらを作製することにも成功した。まず、バターを 65°C で 30 分間加熱することで、含まれるデンプンを部分糊化させた。これによりバターの粘度が上昇し (図 2)、加工の際の扱いが容易となった。糊化デンプンの割合を調べたところ、パスタ製造で用いた蒸煮バターの場合では 87% であったが、65°C で 30 分間加熱したバター (部分糊化バター) ではわずか 3.2% であった。

小麦アレルギー患者はパン酵母を抗原とすることから、パン酵母を用いず、ベーキングパウダーを二酸化炭素発生源とする製パン工程を採用した。パン内層のきめの良さを得るために界面活性剤を、好ましい色と香りを発現させるためにグルコースを添加した。実際には、部分糊化バターにグルコース、ソルビタンモノステア

プレートおよび食塩を溶かし、この混合物にベーキングパウダーを加えて攪拌し、すばやく油脂を塗った容器に移して、オーブンで焼成した。得られたパンの官能スコアとテクスチャー特性値から、製品はイングリッシュ・マフィンに類似していると判定された。製品の比容積は3.5であった。プロテアーゼ処理の結果生成したペプチドのアミノ基とグルコース間のストレッカー反応生成物とメイラード反応生成物のために、色と香りの非常に好ましいものが得られた。

同様の方法でカップケーキを作製した。製品を病院での臨床評価に提供するために、冷凍保存時のデンプンの老化を防ぐ目的で、部分糊化バターの約1/4量の水飴を添加した。これを焼成あるいは蒸煮することによりカップケーキが作製された。製品の比容積は3.8であった。

ピザ製造の場合には、部分糊化バターに約1/5量の水を添加し、さらに約1/3量のタピオカデンプンを加えることにより、ピザ特有の食感を出すことに成功した。製品の比容積は2.2であった。

カップケーキおよびピザ製造の場合にも、少量の界面活性剤の添加が食感の向上に有効であった。

クッキー製造の場合には、小麦デンプン（バターの約2/3量）、パーム油（同じく約1/2量）および砂糖（同じく約1/3量）を部分糊化バターに混合し、この混合物にベーキングパウダーを加えて攪拌し、型抜きして焼成した。製品の比容積は4.1であった。

これらの製品を製造することで培ったノウハウを生かして作製されたのがショートケーキであり、実際に市場に第1号商品として登場した（図3）。

3) ウエファ

ピザ製造の場合と同様に、部分糊化バターに水を添加することで、良好な製品を作製することが可能となった。ウエファの場合には、部分糊化バターに約1/2量の水を加え、さらに炭酸アンモニウム、炭酸水素ナトリウムおよび界面活性剤を添加し、混合物を130~140℃のウエファ製造プレートに流し込み焼成した。製品の比容積は6.4であった。

おわりに

本稿で紹介した低アレルギー化小麦粉は、ごく最近の研究により、単に「アレルギーを起こさない」食品ではなく、「アレルギーを治療・予防する」機能を有する可能性が明らかになりつつある⁹⁾。実際、臨床試験において、低アレルギー化小麦粉の長期摂取によりアレルギーが寛

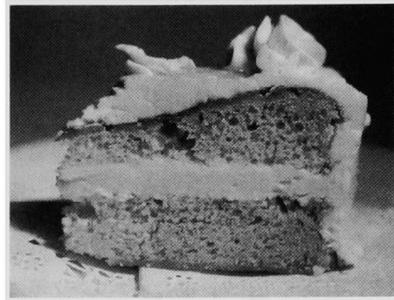


図3 低アレルギー化小麦粉から製造したショートケーキの外観

解し、普通的小麦粉が食べられるようになる患者が存在する。これは自然寛解によるものではなく、低アレルギー化小麦粉中の機能成分（おそらくT細胞エピトープペプチド）によるものと考えられる。小麦アレルギーは、食物アレルギーの中でも特に治りにくいとされていることから、アレルギー治療・予防効果を秘めた本製品は、その対策としての役割が期待される。

文 献

- 1) TANABE S. and WATANABE M.: *Recent Res. Devel. Agr. Biol. Chem.*, **1**, 83 (1997).
- 2) WATANABE M., TANABE S., SUZUKI T., IKEZAWA Z. and ARAI S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1596 (1995).
- 3) TANABE S., ARAI S., YANAGIHARA Y., MITA H., TAKAHASHI K. and WATANABE M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **219**, 290 (1996).
- 4) 田辺創一・手崎彰子・渡辺道子・柳原行義：アレルギー，**46**，1170 (1997).
- 5) BANDO N., TSUJI H., YAMANISHI R., NIO N. and OGAWA T.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 347 (1996).
- 6) WATANABE J., TANABE S., SONOYAMA K., KURODA M. and WATANABE M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **65**, 2102 (2001).
- 7) TANABE S., WATANABE J., OYAMA K., FUKUSHI E., KAWABATA J., ARAI S., NAKAJIMA T. and WATANABE M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **64**, 1675 (2000).
- 8) WATANABE M., WATANABE J., SONOYAMA K. and TANABE S.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2663 (2000).
- 9) WATANABE J., TANABE S., WATANABE M., KASAI T. and SONOYAMA K.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **65**, 1729 (2001).

(平成13年8月31日受理)