

高圧食品開発物語 (その3)

— 低アレルギーご飯および米パンの開発 —

Story of Development of High-Pressure Processed Foods, Part 3
— A method of development of low allergenic cooked rice and bread —

山崎 彬 笹川 秋彦
Yamazaki, Akira Sasagawa, Akihiko

The number of patients suffering from food allergies in Japan has recently shown an increase. In addition to egg, milk, and soybean allergies, an increase in cereal allergies from rice, which is the main staple in the Japanese diet, and from wheat is creating important social problems which do not affect just the patient and the patient's family. Accordingly, we would like to discuss the development of low allergenic cooked rice and low allergenic rice bread made from rice which has had the allergens removed by means of high pressure.

[high-pressure processed foods, allergen, allergy, food allergy, low allergenic rice, low allergenic rice bread]

1. はじめに

最近、アレルギーに関する話題が多くなっています。私たちの国でアレルギー疾患を持つ人は、4,000万人（国民の30%）と推定され[1]、その中で食物アレルギーの人は200万人（アレルギー疾患者の5%）、さらに米アレルギーの人は40万人（食物アレルギーの中の20%）程度といわれています。そして、全体として更に増加の傾向を示しています。最近では、米や小麦などのイネ科の抗原食物によるアレルギー患者の増加が目立ち、米は500臨床例中の抗原食物の34%を占めたとの報告もあります。さらにこのことから、今後イネ科の花粉による花粉症の増加も懸念されています[2]。

三大抗原食物である卵、牛乳、大豆はよく知られていますが、米、小麦はこれに次いで注意が必要です。穀物アレルギーのやっかいなことは多くの種類に共通抗原性が高いことです。また幼児だけ

でなく、成長した成人にとっても突然発症する可能性があり、患者の中には、米、アワ、ヒエ、キビなどの他に小麦、大麦、オーツ麦、ライ麦、ハト麦などやサツマイモ、ジャガイモなどの多抗原に対しても陽性の人がいるのです。

私たちは、生物体を食物としていますが、そのタンパク質や多糖類に含まれる抗原（アレルギー）を摂取すると、これに特異的に反応する抗体（免疫グロブリン）が体内で生産されます。これらの抗体の中で、特異 IgE抗体は組織固着性があり体組織中のマスト細胞の表面に固着します。そこに抗原が再び侵入してくると抗原抗体反応がマスト細胞の表面で起こり、マスト細胞に含まれているヒスタミン、SRS-A、ECFなどの化学伝達物質が細胞外に遊離します。そしてこれらの化学伝達物質の作用によって、血管の透過性の亢進、平滑筋の収縮、腺分泌の亢進、好酸球の遊走などが起こりアレルギー症状になると考えられています。

〒947-01 新潟県小千谷市高梨町 1003-1 越後製菓(株)総合研究所
Research Institute, Echigo Seika Co., Ltd., 1003-1, Takanashi-machi, Ojiya, Niigata 947-01

2. 「健康に貢献する」開発の楽しさ

アレルギーの発症を防ぐには、同じ穀類を続けて食べないことが大切なのですが、アジア地域では米を主食とする環境にあるだけに、米アレルギーの患者さんは(子供の場合は家族も含めて)実に深刻です。例えば、赤ちゃんが米アレルギーの場合には、お母さんがご飯を食べてお乳を飲ませることはできません。また、離乳後も赤ちゃんにお粥やご飯を食べさせることができません。幼児期に同じものが食べられないために、友達ができなかったり、さらには親子の関係がうまくいかず家族が壊れていくことを心配するなど、精神的な負担は測り知れないものがあるのです。

このような事情を知った時、低アレルゲンご飯を創る決意をし、本当の食品加工とは将にこのような加工、即ち「食品をその人の身体に適合するように加工し、人の健康に貢献すること」であると確信したのです。それ以来、美味しい食品を作ることだけの食品加工は、何となくウズベラに思えるのです。そして、感謝の手紙を受け取る度に担当者とともに「この仕事は生き極楽だ！」と語りあっています。

ここでは、高圧を利用して米から抗原を抽出除去し、さらに抗原抗体反応や臨床試験などを通して低アレルゲンご飯(A-カットごはん)や低アレルゲン米パン(A-カットパン)などの医療食の開発を行なった実際例を紹介します。

3. 高圧を利用して米から抗原を抽出する

アレルギーの発症は、一般にタンパク質に含まれるいくつかの抗原基(エピトープ)が原因です。したがって、まずこれを除去することに挑戦しました。以前、私たちは食品の成分を効率よく分離、抽出する手段として高圧処理を用いたことがあります[3,4]。細胞の内部にまで溶媒を浸透させて外部へ抽出する道筋を形成するのに圧力が有効だからです。また、固体の内部には空気を含有しているものが多く、これが溶媒との接触を妨げています。100 MPaの比較的低い圧力処理でも固体に含まれている気体の体積は1/1,000となり、しかも圧力により気体の溶解度が上昇して液体に溶け込み、急激な減圧によって外部に排出されます。そして、固体の内部には微小孔の通路が形成され

るために、その後の抽出工程では物質移動効率が上がるのです。

種々の溶媒で実験を行ないましたが、ここではD-イソアスコルビン酸(以下DIAと略記)水溶液での抽出例を示しました。米は、新潟産コシヒカリを90%に精白したものを使用し、乾物重量で2倍量の抽出液に浸漬し、20℃、100-700 MPa、10 minの高圧処理を行なったものです。

Fig.1にタンパク質の抽出に対する圧力処理の効果を示しました。タンパク質の定量は、米粒についてはケルダール法によって行ない、抽出液についてはPIERCE社製のBCA-kitを用いました。また、抽出工程での物質収率も確認しています。

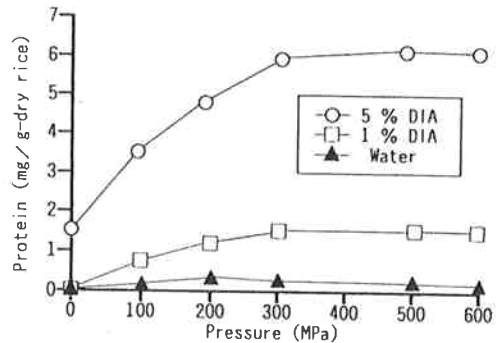


Fig.1. Effects of high pressure treatments on the total extractable protein from rice with D-isoascorbic acid.

Fig.1では、抽出液が水および1%のDIAの場合、殆どタンパク質が抽出されていません。しかし、5%のDIAでは圧力の増加に従って抽出率が増加しました。300 MPa以上になると抽出率に差が無くなるのは、タンパク質が圧力変性を受けて抽出液に溶解しなくなったものと考えられます。

4. 電気泳動法によりタンパク質を確認する

米中のアレルゲンを含むタンパク質は、1M食塩水抽出物画分に存在していることが知られています[5]。そして、アルブミンとグロブリン画分の分子量の14-16 kDaに存在することが報告されています[6,7]。これを電気泳動法で調べるために、米粒を35 mesh以下に粉碎し、1M食塩水抽出物画分のタンパク質を抽出して硫酸ドデシルナトリウム(以下SDSと略記)複合体を作成しました。これを和光純薬工業の銀染色キットで染色し、常法によって電気泳動を行ないました。

Fig.2にこの写真を掲載しましたが、各バンド

で処理米のタンパク質が未処理米に比較して激減していることが判ります。

Table 1 に米粒に含有される各種タンパク質の画分と存在比率を示しました[8]。また、Matsudaらの方法[9]に従ってタンパク質を画分、定量した結果を併記しました。

未処理米の1M食塩水抽出物画分(アルブミン、グロブリン)は、12.1 mg/g で全タンパク質量の17.7%を占めていましたが、高圧処理を利用して抽出した結果 0.6 mg/g に減少しました。したがって、この画分の95%が除去できたこととなります。また、使用した米と文献値との違いは、米の品種、産地などによるものだと思います。米のタンパク質は人の身体に有効なので、アレルゲンを含むもの以外はできるだけ残したかったのですが結果として58%を残すことに成功しました。

★ 何故、最近アレルギーの人が増えているのでしょうか？

同じものを食べても大丈夫な人とアレルギーの人があります。原因は遺伝的な体質とも云われていますが、では何故近年に増加しているのでしょうか。世界で文明国といわれている、物質的に豊かな国ほど問題になっています。原因は、NO_x、SO_x、アスファルトの粉塵、ディーゼル排気粒子、印刷インキ、有機溶剤、農薬、食品添加物、アスベスト、化学繊維、ダイオキシン、逆に、清潔すぎる環境、腸内寄生虫の駆除、そして、仕事のストレスまでが疑われていますが本当の誘因はまだ不明です。しかし、本来サルやオランウータンと同じ種類のヒトが、動物からかけ離れた高度な物質文明を持ったことに関係しているように思います。物質文化の落し子だとしても、今更後戻りができないところが大きな問題だと思うのです。

Table 1. Rice proteins classified by solubility.

Classified soluble fraction	1M NaCl soluble fraction		Prolamin	Glutelin	Total Protein
	Albumin	Globulin			
General ratio* (%)	5	9	3	83	100
Non-treated rice, control (mg/g)**	3.60	8.50		56.2	68.3
Purified-rice, A-cut rice (mg/g)**	0.23	0.37		39.1	39.7

* Data are from reference [8]; ** mg/g-dry rice

5. CAP RAST-inhibition による評価

患者さんによって、アレルギー反応の過敏性は大きく異なります。したがって抗原やタンパク質が1/2になっても抑制率が1/2になることは期待できません。それどころか普通の人の1/1,000の量を摂取しても発症する人が多いのです。また米のタンパク質の多くはプロテインボデイに存在するといわれていますが、ここにはアレルゲンが含まれないと報告されています[5]。私たちの方法ではこのプロテインボデイが残留していると考えられます。そこで、米アレルギーの患者さんの血清を用いて Pharmacia社のCAP RAST(Radiol-lergosorbent test)試験を行ないました。まず、RAST 50%での抑制率(Inhibition)を比較し、未処理米を1とした時の処理米の相対的な希釈率(Dilution factor)を求めました。Fig.3-6 および Table 2 にこの結果を示しました。また、RAST classとは、患者さんの特異IgE抗体量による分類で、一般に0.35(U_A/ml)以上を陽性として、0.7未満をclass 1、0.7以上 3.5未満をclass 2、3.5以上 17.5未満をclass 3、17.5以上 50未満をclass 4、50以上 100未満をclass 5、100以上をclass 6として陽性度の強さを示しています。

ここで、50% RAST-inhibitionでの比較について説明しましょう。●印は、未処理米から抽出したアレルゲン含有液の濃度を1、2、4、8、16、32、64、128倍まで希釈した時のInhibitionの減少状況を示しています。○印は処理米からの抽出液を同様に1、2、4倍と希釈したものです。○印が無希釈でもInhibition値が50%以下の場合(Fig. 3, 5, 6)は、●印のInhibition値が50%まで減少する希釈倍率を判断値とします。しかし、○印の無希釈値が50%以上の場合(Fig. 4)には、50%まで減少する希釈倍率(Fig. 4では2)で●印のInhibition値(Fig. 4では128)を除いて判断値(128/2=64)とします。この方法は、Inhibition値の50%を基準として、未処理米を何倍に希釈したら処理米と同じになるかを判断したものです。この結果、全ての反応で「A-カットごはん」は有意であり、実際に臨床試験を行なう価値があると判断されました。

Fig. 7とFig. 10の RAST-inhibitionテストでは、未処理米(●印)を希釈して、処理米の無希釈のものとのInhibition値で等価となる希釈倍率を求めたものです。即ち、処理米ではこの希釈倍率分の1(逆数)に抗原が減少していることになります。

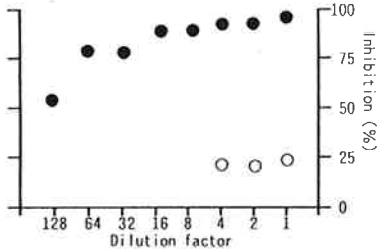


Fig. 3. Results of RAST-inhibition assays. (Patient Mr. A), IgE RAST class 3. ●, Non-treated rice (control); ○, Purified-rice (A-cut rice).

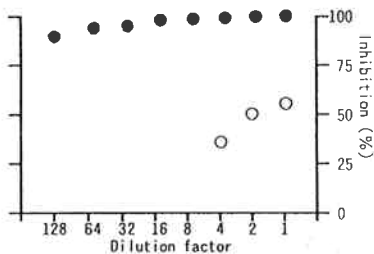


Fig. 4. Results of RAST-inhibition assays. (Patient Mr. B), IgE RAST class 2. ●, Non-treated rice (control); ○, Purified-rice (A-cut rice).

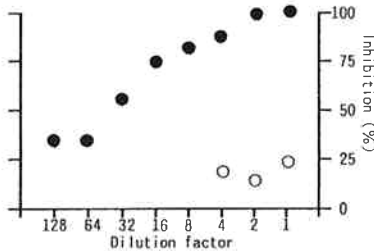


Fig. 5. Results of RAST-inhibition assays. (Patient Mr. C), IgE RAST class 2. ●, Non-treated rice (control); ○, Purified-rice (A-cut rice).

★ 鍵は人との出会いに・・・

多くの開発は人との出会いに始まり、困難もまた、人との出会いで解決されることが多いようです。最近の開発は学際的な部分に亘ることが多く物理学、化学、生物学、医学などの高度な知識を統合しなければ完成できません。今回は評価系を自社で行なうための血清の手配でたくさんの方々のご好意をいただきました。また、多くの医師や患者さんの協力がなければ最終的な臨床結果を得ることができませんでした。何事も自分で発信することから始まります。

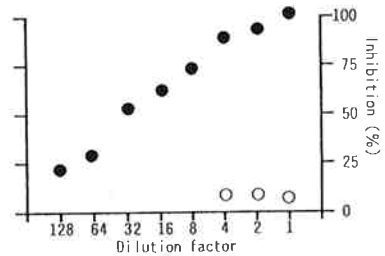


Fig. 6. Results of RAST-inhibition assays. (Patient Mr. D), IgE RAST class 2. ●, Non-treated rice (control); ○, Purified-rice (A-cut rice).

Table 2. Results of 50% RAST-inhibition assays.

Patient	RAST class	Judgment*
Mr. A	3	below 1/128
Mr. B	2	below 1/64
Mr. C	2	below 1/32
Mr. D	2	below 1/32

* Non-treated rice (control) is referred to as 1.0

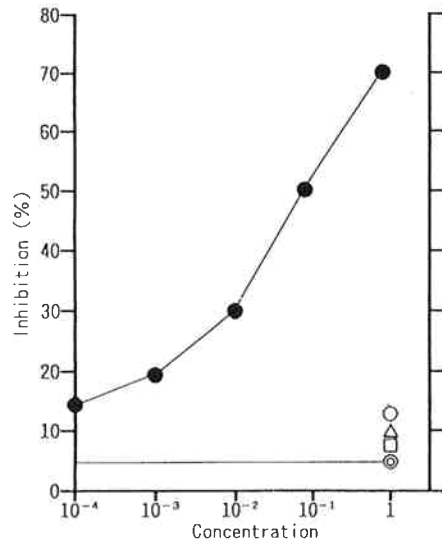


Fig. 7. RAST-inhibition of the cooked rice. ●, Non-treated rice (control); ○, A-cut rice (the date of manufacture, Oct. 3. 1995); □, A-cut rice (Jan. 29. 1996); △, A-cut rice (Feb. 13. 1996); ⊙, A-cut rice (Mar. 1. 1996).

★ 1%のひらめきと、99%の努力!

始めは 1/32程度と高かった抗原濃度 (Concentration)も、固液の接触方法を工夫し、液側の境界膜抵抗を減らすと共に、抽出液、温度、水洗い条件などを改良し、半年後には 1/10,000以下にすることに成功しました (Fig. 7と10の⊙)。この時、毎日徹夜した努力を、スタッフ全員は「うれしくて眠れなかった生き極楽」と表現しています。

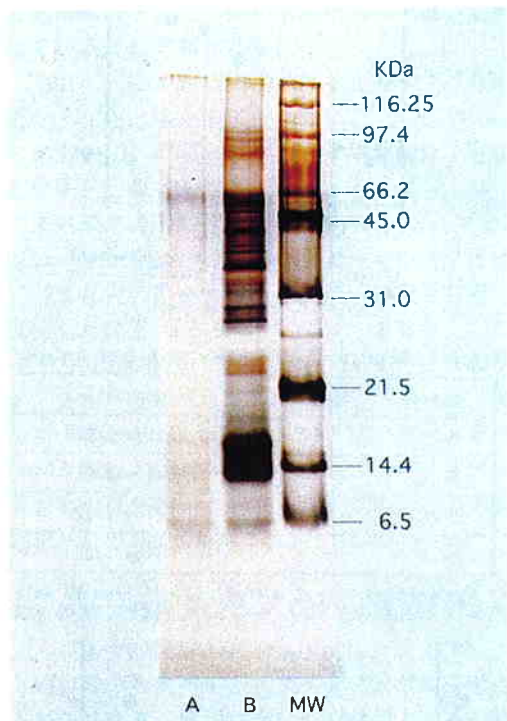


Fig.2. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of 1M NaCl soluble protein fraction from rice. A, Purified-rice (A-cut rice); B, Non-treated rice; MW, Molecular weight distribution of the standard protein.

6. 「A-カットごはん」の完成

アレルギーを抽出した米は、水に浸されたので濡れています。しかも pH は中性で、微生物には好適な培地ですから、そのまま放置すると、すぐに変敗してしまいます。また、乾燥すれば亀裂が入って割れてしまいます。割れないように表面を糊化すると、次に炊飯した時に美味しくありません。そこで炊飯して無菌の包装米飯にすることにしました。一般に一つの製品の完成は多くの側面技術で支えられています。アレルギーの抽出技術に加えて、無菌操作技術、美味しい釜炊きの技術、炊かれたご飯の小分け技術などが必要です。特に、タンパク質が低減化しているご飯は、粘りがあって美味しいのですが無菌操作で小分けするのが大変でした。

多くの試行錯誤の末、遂に、粘りがあり、モチ米のような食感でコシヒカリの新米だと喜ばれるほどの「A-カットごはん」が完成したのです。Fig.8 に無菌包装の製品写真を掲載しました。



Fig.8. Photograph of "A-cut rice"



Fig.9. Photograph of "A-cut bread"

7. 「A-カットごはん」の臨床報告

1997年5月1-3日に開かれた「第9回日本アレルギー学会春季臨床大会」に関東のチーム（東大病院、日本臨床アレルギー研究所などの6名）と関西のチーム（国立神戸病院、関西医大など8名）の両チームによって「A-カットごはん」の臨床効果が発表され、大きな反響を呼びました。

関東のチームの結果は、「米アルブミン刺激では、7例中4例に最高 75-96.5% (平均 84.7) の低下が認められた。米グロブリン刺激では7例中5例に最高 45.6-97.0% (平均 79.9) の低下が認められた。全例に於いて、皮膚症状の改善を認めた。」と報告されました[10]。一方、関西のチームの結果では、「症状の50%以上改善は37例(61%)で80%以上改善(著効)が20例(33%)あり「A-カット米」は米アレルギーをもつAD(アトピー性皮膚炎)患者に有用である。」と判断されました[11]。この臨床に同意をいただいた患者さんと両チームの方々に深く感謝しています。

8. A-カットパンの完成

食物アレルギーで困っている方々の会合に参加した時、限られた食材でバラエティに富んだメニューにしたいとの意見があり、特に携帯に便利なパンの要望がありました。

早速、A-カット米を原料としたパンの開発に取り組んだのですが問題が続出しました。パンの発酵に必要な酵母はアレルゲンを含んでいて使用できないのです。また、組成が密でビスケットやクッキーのようになつたり、米が原料なのでセンベイのように食べるとパリパリと音がしたり・・・です。そこで、粉の粒度や生地の手ね方、焼き上げ温度の調整、CAP RAST試験による副材料の選択、などの基礎的研究を始めました。

一年後、この成果が実を結び、焼き工程で水蒸気の膨化力を利用しながら、発酵と同様な組成のパンを作ることに成功しました。試作に使った米は1トン以上、幸い農水省の実用化試験米を使用しましたが、完成を待っている子供たちの笑顔を思い浮かべながらの挑戦でした。

早速、試食品を送ったところ、お母さんから、『貴社のA-カットパンのお陰で子供が「パン」の名を覚えました・・・。』とのお礼の手紙をいただきました。わずか五日後のことでした。

Fig. 9 に「A-カットパン」の写真を、Fig. 10 には CAP-RAST試験の結果を示しました。

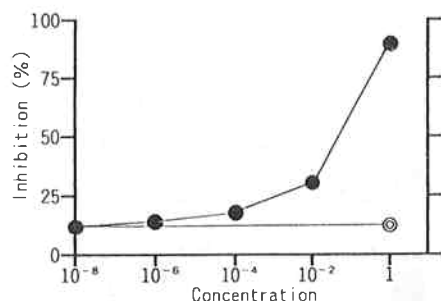


Fig. 10. RAST-inhibition of the rice bread. ●, Normal bread (control); ○, A-cut rice-bread (rice-bread made from purified-rice).

9. 開発のコンセプトを明確に！

メーカーの製品開発は、とかく利益優先になり易いのですが、社会の要望がこれに合致していることは稀でしょう。低アレルギーの食品は、購買者の年齢層が若く、また子供に手がかかるため、

共働きができずに経済的な負担が大きい家庭もあるのです。企業として開発を決定する時には、最初から覚悟つきで始めなければなりません。メセナの活動と同じように、社会を維持するためには応分の負担を引き受けることが大切だと考えています。長い目で見て、「生まれてきてよかった」と言える社会を創りたいものです。

数百通の感謝の手紙を糧として、今後も開発を続けたいと思っています。

参考文献

- [1] 厚生省アレルギー疾患疫学研究班全国調査, 班長, 三河春樹関西電力病院院長, 1995年
- [2] 松延正之: 治療, 79(6), 1489-1491(1997), “食物アレルギー 最近の話題”
- [3] 杵淵美倭子, 山崎 彬, 山元皓二: 応用糖質科学, 42(3), 237-242(1995), “高圧処理を利用した酵母からのトレハロースの抽出”
- [4] S. Yamaguchi, T. Suzuki, T. Nakano, T. Sekizawa A. Yamazaki, and M. Sugawara: 1995 International Association of Ecotechnology Research, *Advances in Ecotechnology*, 1, 147-152 (1995), “Effects of Hydrostatic Pressure Treatment on Rice Bran”
- [5] 中村 良: 日本食品工業学会誌, 39, 287 (1992).
- [6] T. Matsuda, R. Nomura, M. Sugiyama, and R. Nakamura: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 509(1991).
- [7] T. Adachi, A. M. Alvarez, N. Aoki, R. Nakamura, V. V. Garcia, and T. Matsuda: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59(7), 1377-1378(1995), “Screening of Rice Strains Deficient in 16-kDa Allergenic Protein”
- [8] 村元 学, 川村幸雄: 食品工業, 34, 18(1991).
- [9] T. Matsuda, M. Sugiyama, R. Nakamura, and S. Torii: *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1465(1988).
- [10] 十字文子, 北浦次郎, 成高信一, 岩田 力, 菅原由人, 笹川秋彦: アレルギー, 46, 2・3(1997), “低アレルギー米のCASTによる有用性の検討”
- [11] 田原義和, 木村彰宏, 黒坂文武, 小島崇嗣, 左守友仁, 服部和裕, 笹井みさ, 山本明美: アレルギー, 46, 2・3(1997), “アトピー性皮膚炎に対する低アレルギー米 Aカット米の臨床効果”

[1997年10月6日受理]