The Japanese Society of Allergology

アレルギー 48(1),
56 - 63, 1999(平11)

低アレルゲン米の有用性について—CAST法を用いての検討

[1]日本臨床アレルギー研究所, [2]東京大学小児科, [3]大島小児科,
[4]三菱化学BCL研究所, [5]越後製菓研究所, [6]東大分院小児科

十字文子[1] 狩野博嗣[2] 成田雅美[2]
澁谷紀子[2] 成高信一[3] 北浦次郎[2]
菅原由人[4] 笹川秋彦[5] 岩田 力[6]

アトピー性皮膚炎患者において，常食する米の除去は困難であるが，高圧処理により，米アルブミン グロブリンを95%除去した低アレルゲン米（Aカット米）の有用性を検討した．対象はAD患者7名（男3，女4），年齢11カ月～4歳8カ月（平均3歳2カ月），米RASTスコア1又はそれ以上の患者を用いた．低アレルゲン米を4週間摂取，前後に末梢血より得たbuffy coatを米アルブミン，グロブリン0.1～1000 pg/mlの10倍希釈濃度を用いて刺激し，sLT遊離の刺激指数（SI）をCAST法により求め，低下率を測定した．

米アルブミン刺激では，最高22.4～96.5%（平均70.9）の低下が認められた．米グロブリン刺激では最高33.3～97.0%（平均72.9）の低下が認められた．全例において，皮膚症状の改善を認めた．

Key words： atopic dermatitis —— cellular antigen stimulation test（CAST）—— hypoallergenic rice —— Stimulation Index（S. I.）

はじめに

日常摂取する食物による異常反応[1](adverse reaction to food)はよく知られているが，その中で，免疫学的な機序の明らかなものは，食物アレルギー（food allergy)と呼ばれている[2)3)]．小児における食品の内，卵・牛乳・大豆は三大アレルゲンとして，アレルギー疾患における関与，機序などが解明されており，その除去に関しては比較的容易であるが，主食である米や小麦に関しては除去が困難で明確な急激な症状を呈する場合を除き，その除去は余りされておらず，又臨床的な解析も少ない[4)5)]．今回我々は高圧処理により米アルブミン・グロブリンを95%除去した低アレルゲン米（A)[6)]を用いて，その有用性を検討した．

Received： May 15, 1998
Accepted： December 2, 1998

Abbreviations： **AD** atopic dermatitis； **ELISA** enzyme-linked immunosorbent assay； **RAST** radio-allergosobent test； **SDS-PAGE** sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis； **S.I.** Stimulation Index； **sLTs** sulfide leukotriens

対 象

小児のアトピー性皮膚炎患者7例（男4,女3,内3例は気管支喘息を合併)，年齢11カ月～4歳8カ月(平均3歳2カ月）を対象とした（Table 1)．末梢血IgE値は130～3300 U/ml（平均1540)，皮膚テスト及びRASTにて陽性（スコア≧2)のアレルゲンはHDとダニ3例，卵6例，牛乳3例，大豆5例，小麦5例，ソバ粉4例，猫毛1例，ホーレンソウ1例，ピーナッツ1例，魚1例，カンジダ2例，アスペルギルス1例であった．これらの患者は，卵・牛乳・大豆・小麦・ホーレンソウ・ソバ粉等の食品は除去又は制限をしており，又外用，消毒療法等にて，主要な症状は軽快しているが，時に原因が分らず，全身のかゆみ，部分的な悪化，粗雑な皮膚症状がみられている．7例中2例では酵素処理米を一時期試みたこともあったが，症状の改善には気付いていない．米によるRASTは，スコア3,1例，スコア2,5例，スコア1,1例である．コントロールには，健康成人7例(男3,女4，22～32歳，平均27歳8カ月）を用いた．

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

Table 1 Profile of the patient

Patient	Sex	Age	Diagnosis	IgE (U/ml)	RAST (≧2)	Rice (RAST)
a	f	11m	AD	1300	egg milk wheat soybean	2
b	m	4y8m	AD	3300	HD mite egg soybean milk wheat Candida cat	2
c	m	4y4m	A AD	3000	egg soybean wheat buckwheat	3
d	f	3y8m	A AD	130	HD mite Aspergillus Candida	2
e	m	3y1m	AD	1100	egg milk soybean wheat buckwheat spinach	2
f	f	1y11m	AD	140	egg buckwheat	1
g	m	3y9m	A AD	1800	HD mite egg soybean wheat buckwheat peanut fish	2

A : asthma
AD : atopic dermatitis

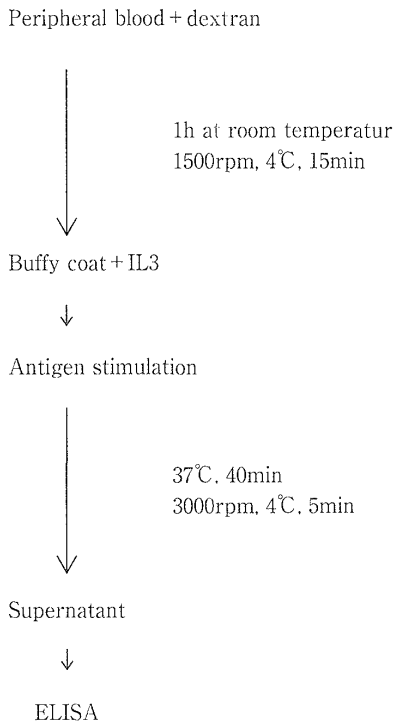


Fig. 1. Cellular antigen stimulation test (CAST).

方 法

アトピー性皮膚炎に対する治療法（主として外用，消毒療法）は従来通りに行い，又，低アレルゲン米（A）も，通常米と同じ量（50 g～400 g）を4週間摂取させ，前後，末梢血より白血球を分離し，CAST（cellular antigen stimulation test）法[8)9)]により米アルブミン，グロブリン刺激及びpositive controlとして，抗IgE刺激によるロイコトリエン遊離能を測定した．

CASTの方法はDe Weckらの方法により行った（Fig. 1）．すなわち，末梢血をデキストラン法により，採取したbuffy coatをIL-3にて刺激後，米アルブミン0.1～10^3，米グロブリン0.1～10^3pg/ml（10倍希釈），または抗IgEを加え，37℃，40分incubate後，上清中に遊離したsulfide leukotriene C_4,D_4,E_4（sLTs）をELISA法にて測定し，得られた値を，抗原を加えないブランクの値で除し，刺激指数（Stimulation Index, S.I.）を求めた．

結 果

米アルブミン0.1 pg/ml刺激では，患者群0.32～4.03（mean ± SEM, 1.66 ± 0.47），1 pg/mlにて0.47～5.12（2.74 ± 0.74），10 pg/mlにて1.16～27.90（6.89 ± 3.67），100 pg/mlにて1.00～50.0（14.4 ± 6.81），1000 pg/mlにては0.84～14.0（5.32 ± 1.91）のSIが得られた．

一方コントロール群は0.1 pg/mlにて0.39～5.98（mean ± SEM, 1.72 ± 0.57），1 pg/mlにて0.39～2.27（0.99 ± 0.18），10 pg/mlにて0.39～1.11（0.86 ± 0.09），100 pg/mlにて0.30～2.40（1.20 ± 0.19），1000 pg/mlにて0.39～1.48（0.99 ± 0.16）で，患者群とコントロール群をそれぞれの濃度で比較すると，1 pg/ml, 1000 pg/mlにては，患者群において有意の高値を示した（p <0.05）．米グロブリン0.1 pg/ml刺激では0.8～4.99（mean ± SEM, 2.00 ± 0.56），1 pg/mlにて0.96～3.26（1.82 ± 0.37），10 pg/mlにて1.08～4.73（2.38 ± 0.49），100 pg/mlにて1.00～14.2（5.09 ± 1.89），1000 pg/mlにて，0.67～13.30（5.12 ± 1.76）であった．一方コントロール群は0.1 pg/mlにて，0.3～1.32（mean ± SEM, 0.88 ± 0.13），1 pg/mlにて0.3～1.61（0.98 ± 0.14），10 pg/mlにて0.39～2.84（1.31 ± 0.24），100 pg/mlにて0.37～2.27（1.25 ± 0.22），1000 pg/mlにて1.08～4.07（2.15 ± 0.44）と患者群にて高値を示し，0.1～100 pg/mlにて有意の高値を示した（p<0.05）（Fig. 2）．抗IgE刺激にては，患者群1.59～64.00（mean ± SEM, 27.90 ±

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

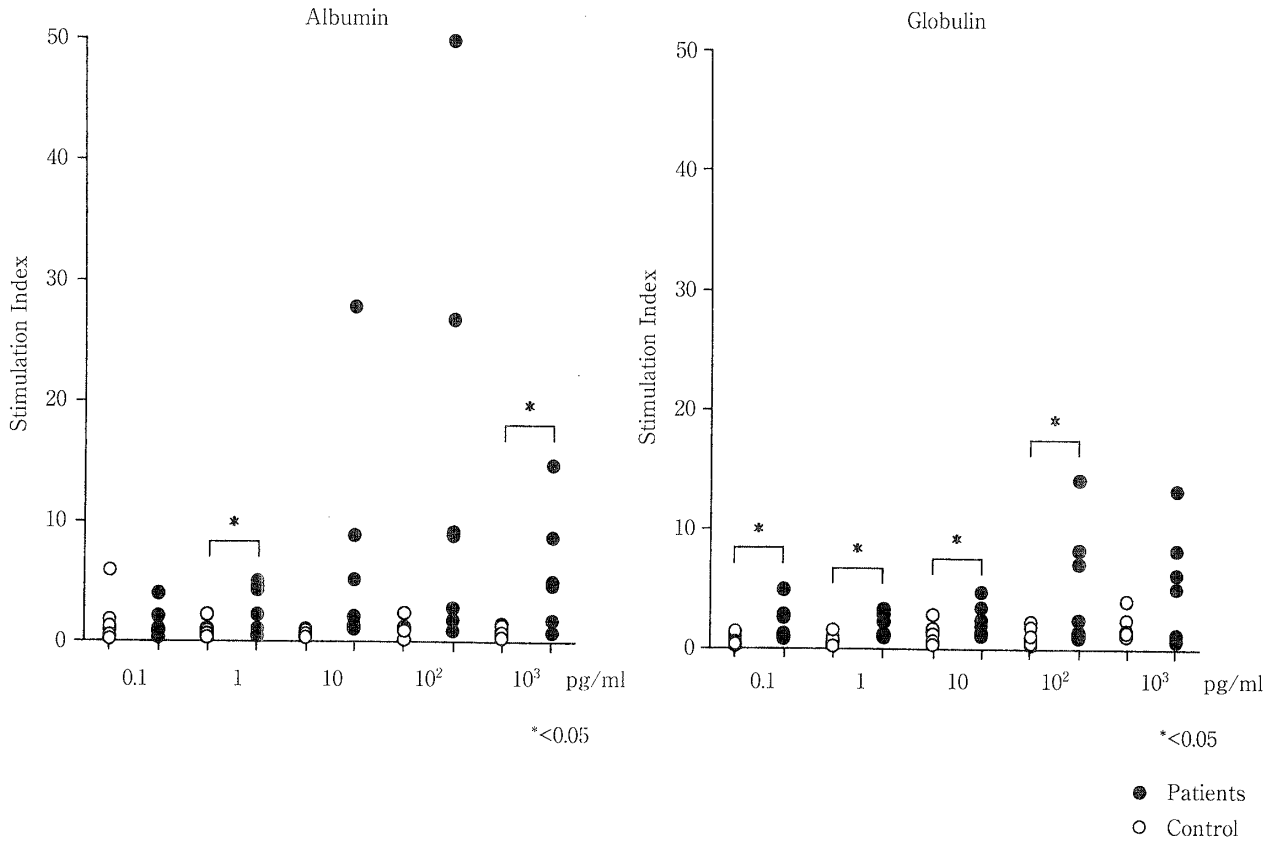


Fig. 2. CAST by rice albumin and globulin.
By albumin patient group (●) showed higher stimulation index than control (○). By 1 pg/ml and 1000 pg/ml there were a significant differences ($p<0.05$). By globulin the patient group showed higher stimulation index and there were significant differences ($p<0.05$) by globulin 0.1～100 pg/ml.

9.22)，コントロール群 0.97～5.98 (3.20±0.9) にて患者群が有意の高値を示した ($p<0.05$) (Fig. 3).

低アレルゲン米食後のCASTによる刺激指数は米アルブミン 0.1 pg/ml にて 0.78～1.14 (mean±SEM, 0.93±0.04)，1 pg/ml にて 0.64～2.36 (1.34±0.23)，10 pg/ml にて 0.90～1.97 (1.26±0.13)，100 pg/ml にて 0.94～10.5 (3.06±1.30)，1000 pg/ml にて 0.34～6.98 (1.77±0.86) であった．米グロブリンのCAST刺激指数は 0.1 pg/ml にて 0.71～1.33 (mean±SEM, 1.04±0.08)，1 pg/ml にて 0.64～1.26 (1.00±0.08)，10 pg/ml にて 0.64～2.06 (1.29±0.21)，100 pg/ml にて 0.9～2.44 (1.24±0.20)，1000 pg/ml にて 0.23～2.79 (1.38±0.35) であった．即ち，低アレルゲン米食を4週間続けた後のCASTの低下率は米アルブミンにては最高 22.4～96.7%，米グロブリンにては1例を除く6例に最高 57.4～96.98% の低下率が認められた (Fig. 4).

一方，抗IgE刺激によるCAST刺激指数は，低アレルギー米食前 1.59～64.0 (mean±SEM, 27.9±9.2) から 1.10～20.0 (7.66±2.81) と有意の低下がみとめられた (70.32±11.02%, $p<0.05$)．皮膚症状は3例ではステロイドの外用を要せず，4例にてステロイド外用量が減少し，全例において，発赤，苔癬化が改善し，しかも皮膚の粗雑さが改善した．以下に代表的な症例を呈示する．

症例1. 三○理○子　女3歳8カ月 (case D)

乳児期より軽度の湿疹があったが外用療法にて治まっていた．1歳頃より風邪の時に咳発作，喘鳴が起こる様になり，頻繁に呼吸困難を主訴として，救急処置を受けるようになった．3歳，当科受診，検査にてIgE 130 U/ml, RASTにてはハウスダスト，ダニ，米，カンジダ，アスペルギルスに陽性であった．初診時，皮膚症状および中等度の発作頻発により食物除去 (卵，牛乳，大豆)，インタール水溶液＋Venetlin 定時吸入療法1日3回を開始 (平成8年6月) し，小康状態を保っていたが，皮膚症状は原因不明に増悪することが度々起

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

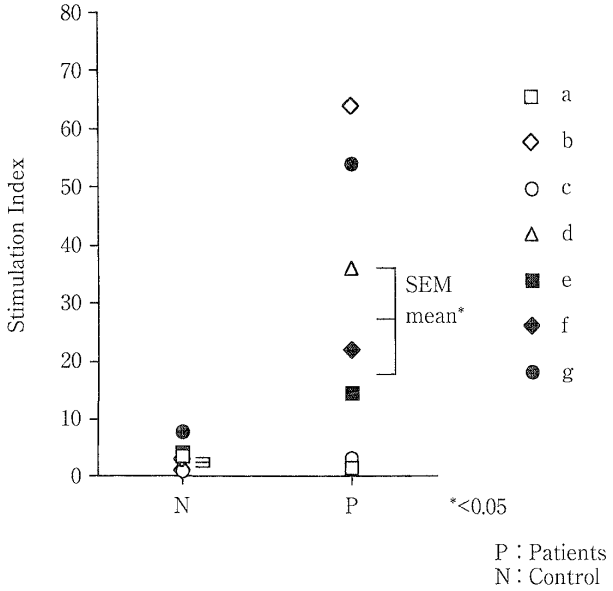


Fig. 3. CAST by anti-IgE.
Patient group showed significant higher stimulation index than control ($p<0.05$).

こった．平成8年8月(3歳7カ月)，実家に行き，おもち(150 g)を摂取後，数時間後に頭頸部，腕肩背中，腹部，そけい部から腿に発疹，そう痒，掻破を起こし浸潤傾向を示し，近医を受診した．米との関連を指摘され，米を1日3食→1食に減らした．以後，皮膚症状は頸部，前腕，膝窩部に限極してきたが夜中に痒みでかきむしることがあった．平成8年9月より低アレルギー米を開始（1日1回，200 g)，前と4週間後にCASTを施行し，刺激指数を求めた．米アルブミンのCASTによる刺激指数(S.I.)は最高8.94→0.94と89.5%，米グロブリンでは7.16→0.94と86.9%の低下が認められた．抗IgEのCASTも，36.0から3.10と91.4%の低下をしめした．なお，皮膚の発赤，かゆみは軽度にて，日常の支障はなく(夜のかゆみも起こらず)又，喘息症状も小康状態を保っている．

症例2. 丹○一○　男3歳9カ月（case G)

新生児期，顔面～頭部の湿疹があり，外用薬を使用し，一時的な改善をみるが中止すると再発し，3カ月では全身に広がってきた．近医にて除去食療法（卵，牛乳，大豆製品)，外用療法を受けていた．1歳6カ月時に当科を受診した．

現症：発育やや不良．全身性に湿疹局面があり，殊に顔面，前腕，下肢に発赤，湿潤が著明であった．

アレルギー検査の結果，IgE 1800 U/ml, RASTにてハウスダスト，ダニ，食物アレルゲン（卵白・卵黄，米，大豆，小麦，そば，ピーナッツ)，魚類に陽性であった．

治療：①除去食療法は従来のまま持続させ　②環境の整備，③入浴を頻繁にする，④石鹸，洗剤，シャンプー類の改善，⑤消毒療法，⑥外用療法，⑦インタール経口，にて皮膚症状は改善してきた．

2歳11カ月頃，風邪の時に咳発作，喘鳴が起こるようになり，近医にて抗アレルギー薬内服治療を開始したが，その秋(95年10～11月)には中等度の気管支喘息発作が週に1～2回起きていた．

96年9月（3歳9カ月）低アレルギー米を開始した(1日2パック，400 g)．アルブミンによる刺激指数は最高50.0→10.54と78.9%，グロブリンによる刺激指数は最高8.28→0.9と89.13%と低下した．抗IgEのCASTによる刺激指数も54.0から16.0と70.4%の低下を示した．1カ月後の皮膚症状は全体が改善し，それまで，原因不明に膝窩，肘部内側をかきむしること(掻破）があったがそれもなくなった．また，全体的に粗雑な皮膚も平滑に改善してきた．更に1年前の秋季と異なり軽度の喘息発作が1回起きただけで，以後喘息症状は起こっていない．

考　案

小児のアレルギー疾患においては，食物アレルゲンの関与する事が多い．殊に食物アレルゲンは，消化，吸収の課程を経て消化管のみではなく全身性の症状を示す場合があることが特徴である．また，単に即時型の反応のみでなく，食後数時間して起きる遅発型反応，更には液性免疫の反応のみでなく，細胞性免疫の関与も指摘されつつあり[10]，その診断は困難なことが多い．特に，ADと食物には，不明な機序が多く異論が多いのが現状である[5)11)]．従来食物アレルギー診断の *in vitro* 法にてはRAST法が小児にも侵襲のない方法として，多用されており，皮膚テストと共にアレルギーの診断法として確立されているが，食物アレルギーに関しては時に臨床症状との解離が認められている．食物アレルギーの確定診断としてはdouble blind placebo controlled food challenge（DBPCFC）がいわゆる“gold standard”として確立されているが，日常の診療には限界がある．更に食物アレルギーの患者は，単一のアレルゲンに陽性を示すよりむしろ，多種のアレルゲンに陽性を示す例が多い．今回の対象例においても

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

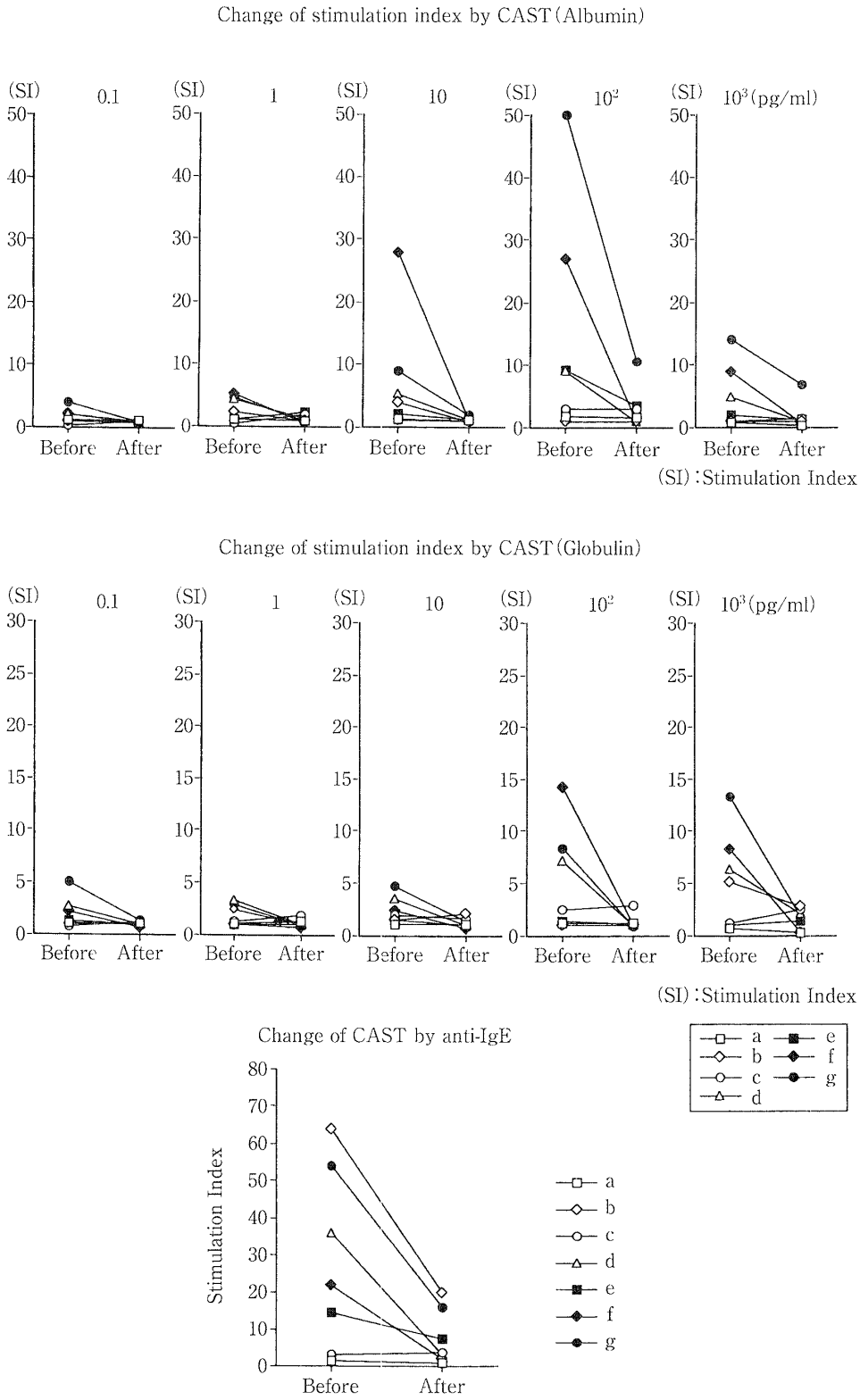
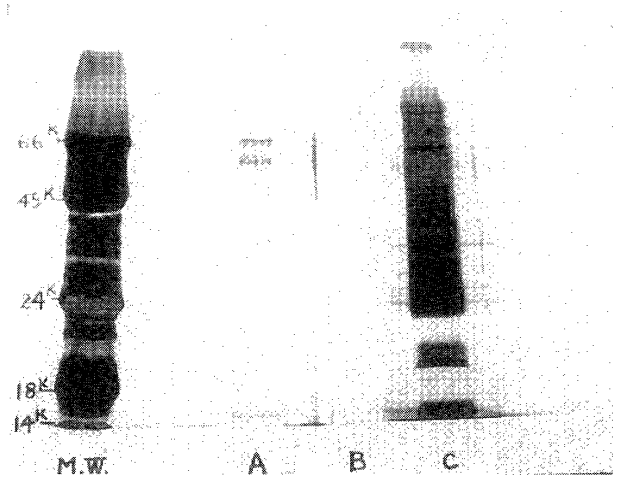


Fig. 4. Changes of stimulation index before and after.
Upper : There were maximum 22.4～96.7% decreases of SI by albumin.
Middle : By globulin, there were maximum 33.3～97.0% decreases of SI.
Lower : By anti-IgE, SI was decreased from mean 27.9 to 9.44 (70.3%).

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology



A：市販品
B：処理米（Aカット米）
C：未処理米
Mw：分子量マーカー

Fig. 5. Comparison of hypoallergic rice (F) and (A) with normal rice by SDS-PAGE.
There showed slight bars around 66, 6.5 KDa and almost all salt soluble proteins were eliminated. 16 Da proteins were less than hypoallergenic rise (F).

1例を除き，6例はいわゆる三大食物アレルゲンの卵・牛乳・大豆類に陽性反応を示すことにより，それらを除去し，通常の治療を行い，ある程度の症状の改善をみている．三大食品の除去は比較的容易である（例えば，卵除去食品，牛乳—豆乳，ペプチドミルク等，大豆—ノンダイズミソ，ショウユ等）．一方米は日本人の主食であり，食物全体の中で占める比率は最大であり，これを除去することは困難である．従来は低アレルギー米として，塩可溶性成分を除去したものが開発導入され，臨床的な有用性が示されており[12)13)]，我々の症例（a, c）の2例はその低アレルギー米を試みたが，味覚の点で問題があり，離乳の初期は別として味覚の発達した年齢になると摂取したがらず，又コストの面でも継続は不可能であった．また，米アレルギーには，雑穀が勧められることがあるが，雑穀でも米との共通抗原が多く（cross-reactivity），真の除去になっていないことがある[14)]．Table 2にいわゆる低アレルギー米として市販されている製品を挙げる．宮川らによると，成人の難治性ADの70%に米アレルギーが認められ，低アレルギー米導入により，ADの改善をみている．今回の低アレルゲン米（A）は，有機栽培米を高圧処理し，米アルブミン，グロブリンの95%を除去したものである[15)]．SDS PAGEによると，塩可溶性蛋白は

Table 2 Hypoallergenic rice

1. Protease-treated hypoallergenic rice (F)
   Eilminated salt and water soluble albumin and globulin by actinase.
   Effectiveness was shown in rice allergic atopic dermatitis.
2. Alkaline treated rice
   Alkaline treatment was done to salt soluble particle and protein was decreased to 65%.
3. Hypoallergenic rice treated by hyperpressure (A)
   By hyperpressure rice albumin and globulin were eliminated (12mg/g to 1mg/g).
   Taste and flavor are close to natural.
4. Rice treated by lactose
   Decreased protein by lactose. Used for renal insufficiency.

ほとんど検出せず，66, 6.5 KDaの蛋白は多少残っているものの，16 KDaのアレルゲン蛋白は，従来の低アレルゲン米よりも少なくほとんど検出されないことが示されている（Fig. 5）[16)]．その特徴は農薬の検出は認められず，栄養学的にも普通の米とほぼ同等であり，更に，調理の手間がかからず，風味が通常の米とかわらない（子供達がいやがらない）という利点がある．更に今回の如く，皮膚症状が通常の治療法にて改善はあるものの，原因不明に増悪が認められるケースにおいて，1例（症例D）を除き，それまで明らかに米が関与しているか否かの断定ができなかった症例において，RASTスコアーが1又はそれ以上を示す症例に，4週間という短期の投与においても，米アレルゲンCASTの低下が全例において認められ，更に臨床症状も著明に改善している事は，この低アレルギー米（A）がアレルギー疾患，殊に難病ともいえるアトピー性皮膚炎の患者に有用な食品として評価されるべきであると考えられる．

更に，これらの症例において，通常のRAST法のみでなくCAST法により米に対する陽性反応が示されており，中でも5例において刺激指数（S.I.）が8以上，最高50の強陽性を示しており，CAST法によるアレルゲン診断法もアレルゲン解析において有用な方法であると考えられる．

CAST法は1991年De Weckらにより開発されたアレルギーの診断法である．すなわち，末梢血のbuffy coatをIL-3にて刺激し，抗原を反応させることにより主として好塩基球より，アレルギー反応を惹起する$sLTC_4$が遊離され，一部はLTD_4, E_4に変化する．これらsulfide leukotrieneをELISA法により特異的に測

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

定する有意な系として，IgE依存性のアレルギー反応のみでなくpseudo-allergyとされている非IgE依存性の反応をも検出する方法としてアスピリン喘息，薬物アレルギーにも応用されつつある．

細胞を用いる実験系においては，常に細胞のviability，抗原の至適濃度，実験系の再現性が問題となるが，CAST法においては既にDe Weckらにより基礎的な検討がくり返され現在，有用な検査法として，実証されている．今回データを示していないが，我々も抗IgE刺激を用いた系にても，再現性が認められている．

食物アレルギーの場合の除去食の有用性，除去の期間に関しては，臨床症状が重要な客観因子であるが，今回4週間という短期の除去にてもCAST値の有意な低下及び症状の改善が認められたことは通常の除去期間（時に漠然と数カ月～数年という長期に行われてしまう傾向がある）に関しても，指針ともなるべき所見を提示していると考える．

この研究に関して，御助言くださった，奥田　稔先生，宮本昭正先生，森田　寛先生，データー整理に携わった浅田康子嬢に感謝を捧げます．

文　献

1) Keltelhut, B.V. and Metcalfe, D.D.：Adverse reactions to food. In "Allergy Principle and Practice" (ed by E. Middleton, C.E. Reed, E.F. Ellis, N.F. Adkinson and J.W. Yunginger), Mosby, St. Louis, pp. 1481–1502, 1988.
2) Metcalf, D.D.：Food hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol*. **73**, 749–762, 1984.
3) Michael, P. and Atherton, D.J.：Atopic eczema, In "Food Allergy and Intolerance." (ed by J. Brostoff and S.J. Challancomb), Balliere Tindall, London, pp. 583–601, 1987.
4) Galart S.P.：Common food allergens. In "Allergic Diseases of Infancy, Childhood, and Adolescence." (ed by C.W. Bierman, D.S. Pearlman), WB Saunders, Philadelphia, pp. 211–218, 1980.
5) Chandra, R.K,. Gill, B. and Kumari. S.：Food Allergy and atopic disease. *Clin. Rev. All. Immunol*. **13**, 293–314, 1995.
6) 笹川秋彦，伊藤満敏，山崎　彬，高中総一郎：低アレルゲン無菌化包装米飯について．新潟アレルギー研究会誌 **11**, 11–14, 1994.
7) 田原義和，木村彰宏，黒坂文武：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．アレルギー **46**, 302, 1997.
8) De Weck, A. L, Stadler, B.M.and Urwyler, A.：Cellular allergen stimulation test (CAST) –A new dimension in allergy diagnostics. *Allergy Clin. Immunol. News* **5**, 9–14, 1993.
9) Wedi, B., Elner, J., Kapp, A.：In vitro diagnosis of pseudo—allergic reactions—New aspects. *ACI International* **8/4**, 113–115, 1996.
10) Kondo, N., Agata, H., Fukutomi, O., Motoyoshi, F. and Orii, T.：Lymphocyte response to food antigens in patients with atopic dermatitis who are sensitive to foods. *J. Allergy Clin. Immunol*. **86**, 253–262, 1990.
11) 十字文子：食物抗原誘発テストの診断意義．アレルギーの領域 **5**(**7**), 34–41, 1998.
12) 宮川加奈太，平井義雄，宮川淳子，杉山朝美，小松平，他：アトピー性皮膚炎患者における診断基準項目，年令分布，重症度，IgE RAST，血清IgE値の統計的解析—重症アトピー性皮膚炎患者における米アレルギーの果たす役割．アレルギー **37**, 1101–1110, 1988.
13) 池澤善郎，池部敏市，小倉英郎，小田嶋博，黒坂文武，他：アトピー性皮膚炎に対する低アレルゲン米の臨床効果．アレルギー **40**, 633–642, 1991.
14) Broadbent, J.B.：Allergenic cross-reactivity of foods and characterization of food allergens and extracts. *Ann. All Asthma Immunol*. **75**, 295–303, 1995.
15) Urisu, A., Yamada, K. and Masuda, S.：16-kilodalton rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsible for cross-allergenicity between cereal grain in the Poaceae family. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol*. **96**, 244–252, 1991.
16) Matsuda, T., Nomura, R., Sugiyama, M. and Nakamura, R.：Immunochemical studies on rice allergenic proteins. *Agric. Biol. Chem*. **55**(**2**), 509–513, 1991.

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Allergology

EFFECTIVENESS OF HYPOALLERGENIC RICE-BY CAST ANALYSIS

Fumiko Juji [1], Hirotsugu Kano[2], Masami Narita[2], Noriko Shibuya[2]
Shinichi Naritaka[3], Jiro Kitaura[2], Yoshito Sugawara[4]
Akihiko Sasagawa[5] and Tsutomu Iwata[6]
[1] *Japan Clinical Allergy Institute,* [2] *Dept of Pediatrics, Faculty of Medicine, Univ. of Tokyo,* [3] *Ojima Clinic*
[4] *Institute of Mitsubishi Chemical BCL.,* [5] *Research Institute, Echigo Seika Co.*
[6] *Dept of Pediatrics, Mejirodai Campus, Faculty of Medicine, Univ. of Tokyo*

Rice is the main food taken every day in Japan. We introduced hypoallergenic rice (95% of albumin and globulin were taken off by hyperpressure method) for 4 weeks to 7 atopic dermatitis patients (m 3, f 4), 11 mo–4 y 8 m (mean 3 y 2 m) who showed the RAST score of rice 1 or more. Stimulation Index by CAST (cellular antigen stimulation test) were compared before and after taking the rice (50～400 g). By albumin (0.1～100 μg/ml), maximum decreases of S.I. were 22.4～96.5% (mean 70.9) and by globulin maximum decreases of S.I. were (0.1～100 μg/ml) 33.3～97.0% (mean 72.9). In all the patients the skin conditions were improved.

NII-Electronic Library Service