〔資　料〕

「そば」による食物アレルギー発症事例

石川県保健環境センター健康・食品安全科学部　小野陽介・塚林　裕

キーワード：特定原材料，食物アレルギー，そば

1 はじめに

近年，わが国ではアレルギー疾患の増加が社会問題となっている。特に食品を原因とするアレルギー（食物アレルギー）に関しては，小児のみではなく，成人においても増加の傾向があることが明らかとなってきた。そのため表示による情報提供の必要性から，平成13年４月の食品衛生法関連法令の改定に伴い，平成14年４月より容器包装された加工食品や添加物には特定原材料５品目（「卵，乳，小麦，そば，落花生」）を原材料として使用した場合に表示が義務付けられた。これら５品目の中でも，そばについてはアレルギー発症頻度１％以下と，卵や乳ほど高くはないが[1]，呼吸器症状を起こしやすく，アナフィラキシー症状等の重篤な症状も多い[2]。また，表示の義務は外食産業や店頭で直接販売されるものには無く，外食時にそばのアレルギーが問題となることもある。

こうした中，平成17年8月石川県内でそばアレルギーを持った観光客が冷麺を食べ，アナフィラキシー症状を起こす事例が発生し，食べた冷麺が検体として保健環境センター（以下当センター）に持ち込まれた。今回は一般依頼試験として，その検体について厚生労働省通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」[3]に従い一次試験であるELISA法，並びに確認試験であるPCR法を行ったので報告する。

2 発症から検査までの経緯

依頼者とそのお子さんは金沢駅の構内の店舗で冷麺を注文し喫食した。依頼者のお子さんは「そば」に対してアレルギーを持っていたため，依頼者が冷麺注文時に店員にそばが入っていないことを確認している。冷麺の麺を少量喫食後すぐに気分が悪くなり，その後意識不明になり病院に搬送された。入院時，心肺停止状態になったが一命を取り留めた。

冷麺に関しては，本場韓国の冷麺には一定の割合でそば粉が使用されている。そのため，日本の焼肉店などの冷麺にもそば粉を使用している店舗が多数あること，またそれによるアナフィラキシー等のアレルギー症状の発症例が報告されている[4]。今回のケースでは，依頼者が冷麺注文時に店員にそばが入っていないことを確認しており，依頼者はそば以外のものでアレルギーを発症したのかと不安になり，当センターに試験の依頼を行った。

3 材料と方法

3・1 試　料

試料は，実際に食べて症状を起こした冷麺ではなく，後日同店舗で作られたものの一部を密封式のプラスチック容器につめて搬入された（具と麺が混じった状態）。また，付け合せのキムチもプラスチックの袋に入れて搬入された。

3・2 試験方法

(1) ELISA法

複合抗原認識抗体を用いた日本ハム㈱製FASTKITエライザ（そば）（以下，日ハム社製キット）と精製抗原認識抗体を用いた㈱森永生科学研究所製特定原材料測定キット（そば）（以下，森永社製キット）の両キットを用いて検査を行った。検査はキット付属の抽出用試薬によってタンパク質を抽出しELISAに用いた。具体的な検査法に関しては通知[3]に従い行った。ただし，冷麺検体については具と麺を分けて検体採取を行った。

(2) PCR法

DNAの抽出精製法として通知[3]には，CTAB法，シ

A Case Study on a Food Allergy Caused by Buckweat. *by ONO Yousuke and TUKABAYASHI Hiro (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)*

Key words：Allergic Substance, Food Allergy, Buckwheat

リカゲル膜タイプキット（QIAGEN DNeasy Plant Mini），イオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN Genomic-Tip 20/G）を用いた方法が記載されている。今回はその中でイオン交換樹脂タイプキットを用いた。DNA 抽出後，吸光度測定により DNA 純度，収量を確認した。確認後の DNA を鋳型とし，そば DNA に特異的なプライマー対（増幅バンド長127bp）および植物 DNA に特異的なプライマー対（増幅バンド長124bp）を用い PCR を行った。具体的な検査法に関しては通知[3]に従い行った。ただし，冷麺検体については具と麺を分けて検体採取を行った。

PCR 反応及び結果の判定についても通知[3]に従い行った。

4　結果及び考察

4・1　ELISA 法によるスクリーニング結果

日ハム製キットでの結果を図1に，森永社製キットでの結果を図2に示した。日ハム製キットによる定量結果は，検体中のそばの混入量としてキムチにおいては0.2 μg/g，麺においては＞20 μg/g，具においては＞20 μg/g となった。一方，森永社製キットによる定量結果は，検体中のそばの混入量としてキムチにおいては 0.4 μg/g，麺においては＞20 μg/g，具においては13 μg/g となった。即ち，両キットともに，麺及び具についてはそばが含まれているという結果になり，スクリーニング検査として冷麺中にそばを含有することが確認された。そのため，確認試験である PCR を実施した。

4・2　PCR 法による確認試験結果

そばの確認試験方法は PCR 法によるそば DNA の検出である。目的とされる DNA の食品中含量は食品の種類によって大きく異なる。通知[3]には，イオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN Genomic-Tip 20/G）を用いる場合，検体は 2 g から DNA を抽出することとなっている。しかし，水分の多い食品に関しては DNA 含有率が低いため，凍結乾燥を行い，凍結乾燥品から 2 g 採取するなどの対応を行うこととなっている。また，

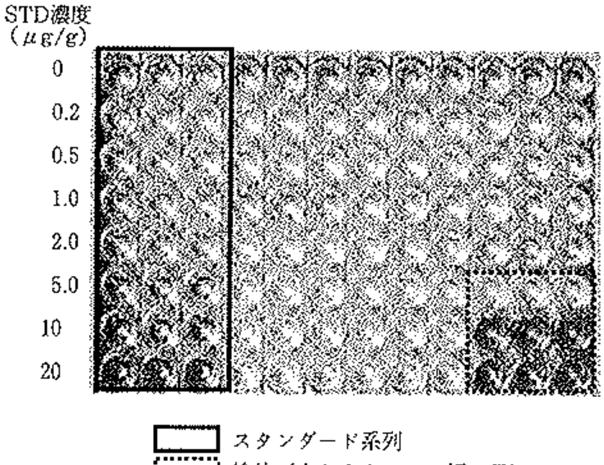

図1　日本ハム社製キットを用いた ELISA 試験結果

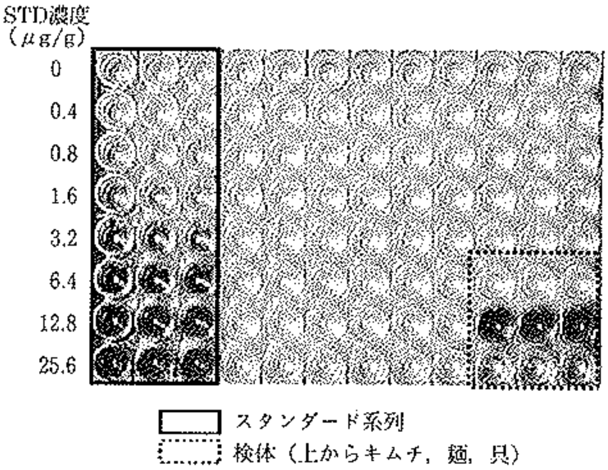

図2　森永社製キットを用いた ELISA 試験結果

DNA が抽出されなかった場合は，抽出法を変え検討することとなっている。今回は食品中の DNA 含有量がどの程度か予測できなかったため，検体のそれぞれ 2 g と 0.5g からイオン交換樹脂タイプキットを用いて DNA

表 1　検体からの DNA の抽出結果

（20ng/μL）

No.	OD320	OD280	OD260	OD230	OD260-320	$OD_{260-320}/OD_{280-320}$	$OD_{260-320}/OD_{230-320}$	conc.	D.W.添加量（μL）
麺 2 g	0.01	0.595	0.991	0.53	0.981	1.7	1.9	392.4	176.2
麺0.5g	0.008	0.168	0.299	0.13	0.291	1.8	2.4	116.4	38.2
具 2 g	−0.021	0.829	1.259	0.959	1.28	1.5	1.3	512.0	236
具0.5g	−0.013	0.294	0.549	0.226	0.562	1.8	2.4	224.8	92.4

吸光度測定時は検液を 8 倍に希釈

抽出を行った。DNA の抽出量および純度については表1に示した。この結果を見ると，検体採取量が0.5g でも試験を行うのに必要な DNA 量が得られることが分かる。さらには，検体を2g 採取したときに比べ純度の高い DNA が得られた。これは，検体採取量が多くなり過ぎると，DNA 抽出キットにおけるイオン交換樹脂カラム（精製操作に使用）へのオーバーロードになるためと考えられる。即ち，検査に必要な DNA 量が得られる必要最低限の検体を採取することで，より質の高い DNA が得られることが分かった。

抽出した DNA を鋳型にして PCR 反応を行った後の電気泳動の結果を図3に示す。検体は左から麺2g，麺0.5g，具2g，具0.5g から DNA を抽出し，DNA 濃度が20μg/mL となるように調整した溶液を鋳型にした結果である。陽性コントロールプラスミドをもちいて PCR をおこなったものをポジティブコントロール，テンプレートのかわりに超純水を用いたものをネガティブコントロール，試薬のコンタミの有無を確認するために陽性コントロールにプライマーをいれずに PCR を行ったものがプライマー無しと標記してある。図3から，すべての検体で植物 DNA が確認され DNA が抽出されていることが確認され，さらにすべての検体からそば DNA が検出されていることから，検体にそばが含まれていたことが証明された。

なお，冷麺の具には卵，トマト，ワカメ，きゅうり等そばが含まれるものがなく，検体を麺と具に分けるときに具に麺が多少入り，具からもそば DNA が検出された結果になったと考えられる。

以上の結果から，最終的には表2のような検査結果を依頼者に報告した。

5 まとめ

(1) 依頼試験検体として持ち込まれた冷麺に関して「そば」の混入を確認するためのスクリーニング試験として ELISA を行ったところ「そば」の混入が疑われた。

(2) 「そば」混入の確認試験法としての PCR 法を用いたところ，冷麺より「そば」由来 DNA が検出された。また PCR 法に供する DNA の抽出法について通知[3]を見直すことで，DNA 抽出の最適化が図られた。

(3) 本依頼試験を通じて，外食産業従事者の食物アレルギーに対する認識の甘さが見られたことから，健康被害の未然防止のためにもよりいっそうの食品営業者の消費者に対する適切な情報提供が求められる。

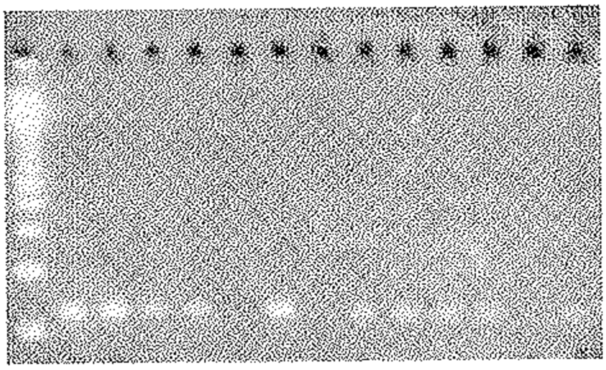

図3　確認試験結果

最後に，本事例についての報告に承諾してくださった依頼者である匿名氏に，記して謝意を表します。

表2　検査結果のまとめ

検査品目	総重量 (g)	試験検査項目	検査結果 (μg/g)	検査結果
冷麺（麺）	33.3	特定原材料（そば）	>20 >20	食品衛生法上表示が必要
冷麺（具）	34.0	特定原材料（そば）	>20 13	食品衛生法上表示が必要
キムチ	21.0	特定原材料（そば）	— —	特定原材料（そば）は検出されなかった（検出下限1μg/g）

検査結果の上段は日本ハム㈱製 FASTKIT エライザキット，下段は㈱森永生科学研究所製特定原材料測定キットによる。

検査結果についての補足：対面販売や店頭での量り売り，飲食店等で提供される食品には，アレルギー物質を含む旨の表示の義務は食品衛生法に規定されていない。

文　　献

1) 飯倉洋治，今井孝成：平成13年度厚生科学研究費補助金　免疫・アレルギー等研究事業研究報告書「重篤な食物アレルギーの全国調査に関する研究」報告書，(2001)

2) 飯倉洋治：平成11年度厚生科学研究費補助金　免疫・アレルギー等研究事業研究報告書「食物アレルギー対策検討委員会報告」報告書，(1999)

3) 厚生労働省通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について（一部改正）」平成17年10月11日，食安発第1011002号（2005)

4) 国民生活センター：そばを含有する可能性のある食品のテストと調査報告書，p11（2003)