

研究課題名	ω-5 グリアジン欠損食用小麦の開発：ω-5 グリアジン感作型小麦アレルギーの根絶に向けて		
フリガナ	モリタ エイシン		
代表者名	森田 栄伸		
所属機関（機関名） （役職名）	島根大学医学部皮膚科学講座 教授		
共同研究者	氏名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	遠藤 隆 （エンドウタカシ）	龍谷大学農学部教授	ω-5 グリアジン欠損小麦新品種 の開発
	松尾裕彰 （マツオヒロアキ）	広島大学薬学部教授	ω-5 グリアジン欠損小麦の動物 モデルによる評価
	松原隆敏 （マツバラタカトシ）	島根県中山間地域研究 センター研究員	ω-5 グリアジン欠損小麦の栽培 法の改良
	松本正人 （マツモトマサト）	株式会社メディカル工笑	ω-5 グリアジン欠損小麦の 実用化栽培および食品加工
本助成金による発表論文，学会発表	<ul style="list-style-type: none"> ・発表（資料1参照） 「小麦アレルギーの主要アレルゲンω-5 グリアジンを欠失した 1BS-18 系統の市場展開に向けて」アグリビジネス創出フェア 2018（2018年11月22日） ・特願 2019-004081「低アレルゲン化小麦」2019年1月15日、森田栄伸、河野邦江、遠藤隆、松尾裕彰、横大路智治 		

研究結果要約

小麦は世界各国で主食とされ、本邦においても市場に流通する多くの食品に含まれる。小麦アレルギー患者は、日常の食事において常に気を配る必要があり生活の質が低下する。新生児から乳幼児期に発症する小麦アレルギーの多くは学童期までに治癒するが、成人の小麦アレルギーは比較的治癒しにくい。成人期以降の小麦アレルギーは、特殊型食物依存性運動誘発アナフィラキシーとして発症することが多い。本症は、小麦食品の摂取に加えて運動や薬剤、アルコール、ストレス等の二次的要因との組み合わせにより、蕁麻疹等のアレルギー症状をきたし、重篤な場合はショックをきたす。成人患者の約95%はω-5 グリアジンを主要抗原として認識し、本ω-5 グリアジン感作型小麦アレルギーは、国内成人で約0.2%の有病率を有する¹⁻³⁾。本共同研究では、これまでに育成してきたω-5 グリアジン遺伝子が欠損した1BS-18系統小麦（1BS-18 ホクシン）⁴⁻⁶⁾を用いてヒトを対象とした臨床研究を計画し、ω-5 グリアジン感作型小麦アレルギーの治療法の確立を試みた(UMIN: UMIN000024951)。また、既報のアレルギー動物モデルにおける1BS-18 ホクシンの低感作性に関するエビデンスをより強固にするため、アレルギーモデルラットを用いた低感作性の評価系を確立することを試みた。さらには、ω-5 グリアジン欠損食用小麦の社会実装を視野に入れ、1BS-18 ホクシンと他の市場流通小麦の交配、島根県中山間地域に適した栽培条件の検討、6次産業化の検討等を行った。

研究目的

食物アレルギーの対策および課題は、大きく分けて感作予防と治療の2段階に分けられる。申請者らは2016年度までの研究成果として、小麦の1B染色体上のω-5 グリアジン遺伝子が座乗する部分が欠損した1BS-18系統では、経口摂取による小麦アレルギー感作が成立しにくいことをモルモットモデルにより証明した(文献1)。このことは、1BS-18由来の小麦を普及させることで小麦アレルギーの発症を予防できる可能性を示している。一方、1BS-18由来の小麦は、ω-5 グリアジンを含有しないことから、小麦アレルギー患者でも摂取できる可能性がある。小麦アレルギー患者が1BS-18由来小麦を少量ずつ継続摂取することで、減感作が成立する可能性があると考えられる。

目的1. 感作予防

申請者らの島根県下の疫学調査によれば、成人のω-5 グリアジン感作型小麦アレルギーの有病率は0.2%であり、国内では数万人の小麦アレルギー患者が存在すると推定される。小麦アレルギーの主要抗原ω-5 グリアジンを欠損した小麦品種が市場に流通すれば、小麦アレルギーに感作される患者数が減少すると考えられる。H30年度は、ラットモデルを用いて低アレルギー性の評価系を確立するとともに1BS-18の実用化を視野に入れ、栽培や加工に適した実用品種に戻し交配することにより、多様なω-5 グリアジン欠損小麦品種を確立する。

目的2. 治療法の確立(医師主導の臨床研究)

ω-5 グリアジン特異的IgEを有する成人小麦アレルギー患者に対して、ω-5 グリアジン欠損小麦系統1BS-18ホクシンから作製したパン(1BS-18ホクシンパン)の摂取可能量を確認し、その結果に基づいて、1BS-18ホクシンパンを継続摂取することによる減感作療法の有効性を確認するための臨床試験を行う。

研究計画及び研究手法

研究計画および手法の概要

本共同研究は、島根大学医学部皮膚科学講座を中心にω-5 グリアジン感作型小麦アレルギーの感作予防および治療法の開発を目的として2007年に発足し、関係研究者らの協力によりエビデンスの構築が推進されて現在に至っている。今年度は、島根大学(医学)、龍谷大学(農学)、広島大学(薬学)、島根県中山間地域研究センター(社会実装のための農業研究)、メディカル工笑(農業、6次化産業推進)が参画してω-5 グリアジン欠損小麦の小麦アレルギーに対する感作予防および治療可能性の検討を行った。

島根大学

研究統括機関として研究会の開催、研究進捗の管理、共同研究機関および連携機関との連絡調整を行った。具体的には、2018年度は年3回の研究会の開催を予定し、関係機関の意思疎通および研究目的の共有を図るために情報交換および意見交換の場を提供して、共同研究が円滑に推進されるよう努めた。また、本研究の将来的なアウトカムを研究成果の社会実装(事業化)に定め、島根

県中山間地域の活性化に資する仕組みづくりに関する基礎的検討を考案した。さらに、ω-5 グリアジン感作型小麦アレルギー患者における ω-5 グリアジン欠損小麦の摂取可能量の判定、治療可能性を明らかにするために次に示す臨床研究を

開始した。なお、本研究では臨床研究に用いる小麦の確保が最優先課題の一つであり、製粉方法の検討、製パン性の検討、1BS-18 ホクシンパンを継続的に提供できる体制の準備についても併せて行った。

臨床研究の名称
「低アレルギー化小麦 1BS-18 ホクシンの臨床応用に関する多施設共同第 II 相臨床試験」
研究対象：ω-5 グリアジン感作型の成人小麦アレルギー患者 20 名
研究形態：多施設共同研究（研究代表機関：島根大学、共同研究機関：国立病院機構福岡病院、広島大学、神戸大学、大阪大学等）
島根大学医の倫理委員会承認番号：20160823-3
UMIN 登録番号：UMIN000024951
本研究で明らかにすること
<ol style="list-style-type: none"> 1. 1BS-18 ホクシンパンの摂取可能量 2. 1BS-18 ホクシンパンを継続摂取することにより減感作療法が成立するか否か 3. 治療前後の、通常のパン小麦および 1BS-18 ホクシン由来のグルテンに対する患者由来の末梢血好塩基球の反応性
研究方法
ω-5 グリアジン感作型小麦アレルギー患者に対して 1BS-18 ホクシンパンの摂取の安全性および継続摂取による減感作療法の有用性を確認する臨床研究を実施する。ステップ 1 では、摂取可能量を評価するために 1BS-18 ホクシンパンの段階的摂取（1BS-18 ホクシンパンの摂取を 10 グラムより開始し、段階的に 60 グラムまで摂取）を行い、アレルギー症状の有無にて評価する。ステップ 2 では、ステップ 1 の摂取可能量の評価に基づいて安全な摂取量を定め、3 カ月継続して摂取し、開始前後の好塩基球活性化試験により判定する。

龍谷大学

1BS-18 ホクシンに日本の春まき小麦 4 品種（ミナミノカオリ、ハルユタカ、はるきらり、春よ恋）を交配して得た F₁ 雑種を制御植物培養室で世代促進栽培した。4 系統の F₁ 雑種にそれぞれの品種を戻し交配し（B₁）、さらに自家受精した後、1BS-18 がホモ接合になった個体を選抜した（B₁F₁）。この 4 品種由来の 1BS-18 ホモ接合個体を温室で栽培し、その自家受精子孫（B₁F₂）を野外のポットで栽培して優良な個体を選抜した。この優良個体の自家受精子孫（B₁F₃）を圃場での形質調査を目的に栽培した。これらの個体の収穫と形質調査は 2019 年の夏に行う予定である（図

1 参照）。

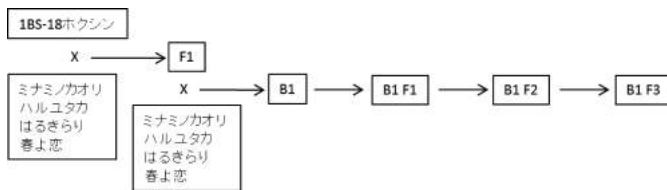


図1 春まき小麦での1BS-18系統の育成過程. (龍谷大学)

広島大学

小麦アレルギーの発症における感作と誘発に対する 1BS-18 の有用性をラットモデルで評価した。感作に対する予防効果は、4 週齢の Brown Norway ラットに通常小麦あるいは 1BS-18 から抽出したグルテンを複数回腹腔内投与し、ω-5 グリアジンを静脈内負荷した際のアレルギー症状誘発の有無とその強度を、直腸温の低下を指標として評価した。また、症状誘発に対する予防効果は、ω-5 グリアジンを複数回腹腔内投与することで感作した小麦アレルギーモデルラットに、通常

小麦あるいは 1BS-18 から抽出したグルテンを静脈内負荷した際の直腸温を測定することで評価した。さらに、1BS-18 の ω-5 グリアジンに対する感作予防効果を経口免疫寛容の点から明らかにすることを目的に、予備的検討として、卵白アルブミンを用いた経口免疫寛容モデルラットを作製した。経口免疫寛容モデルは、あらかじめ溶媒または卵白アルブミンを 5 日間経口摂取させた 4 週齢の Brown Norway ラットに、卵白アルブミンを単回皮下感作することで作製した。経口免疫寛容の誘導は、血清中の卵白アルブミン特異 IgE 抗体価と卵白アルブミンを静脈内投与した際の直腸温の低下を指標として評価した。

中山間地域研究センター

2017 年度産小麦の試験栽培までの検討では、播種時期を大きくずらすことにより収穫時期をずらし、赤かび病および穂発芽のリスクの高い梅雨時期の収穫の回避を試みた（早区：9 月下旬、対照区：10 月下旬、遅区：3 月播種）。しかし、いずれの播種時期でも収穫時期が梅雨時期と重なり、2018 年度産の試験栽培では、人体に影響を及ぼす「赤かび病」を回避する栽培方法を検討するため、耕種的防除で赤かび病の発病を抑制して防除体系を確立するため、防除回数（無防除、防除 1 回、防除 2 回）と赤かび病の発生に関する検討を行った。併せて、臨床研究に供する良質な 1BS-18 ホクシンの確保のためハウス栽培を行った。

メディカル工笑

2017年10月下旬にホクシン1BS-18を播種し、

2018年6月に収穫を行う予定とした。この栽培検討を行うことにより、島根県西部における小麦栽培の実施可能性を検証する。2018年に収穫する小麦を用いて6次化のためのアイテムづくりを検討することとした（全粒粉クッキー、全粒粉うどん等）。2018年10月下旬に、ホクシン1BS-18を播種し、引き続き島根県西部での小麦栽培の実施可能性の検討を行うこととした。

結果と考察

島根大学

2018年度は、2018年4月20日（島根県益田市@やすらぎの里、小麦栽培予定地付近）、2018年8月18日（島根県出雲市@島根大学）、2019年2月23日（島根県出雲市、島根大学）3回の研究会を開催した。また、低アレルギー化小麦の事業化を念頭にアグリビジネス創出フェア2018（2018年11月20-22日）に出展した。臨床研究は、全体で成人患者20例の登録を予定した中で、11例が臨床研究に登録して試験を継続しており、所期の計画通り実施出来ている。課題として、本臨床研究の評価は、20症例全員の試験が終了した後に、1BS-18ホクシンパンの摂取可能量、臨床的なアレルギー症状、好塩基球活性化試験の結果を総合的に解釈して行う予定である。

本研究に使用する1BS-18ホクシンは、小麦アレルギーの主要抗原であるω-5グリアジンを遺伝的に欠失するという特徴を持つ。由来は、1BS-18（ナショナルバイオリソースプロジェクトKOMUGIが保有する約12,000種類の小麦系統より選抜した研究用小麦品種チャイニーズスプリ

ングの染色体部分欠失系統⁶⁾とホクシン（一般流通小麦品種）の交配によるものである。1BS-18ホクシンは、ω-5グリアジンを欠失したことでアレルギー症状発症に強く寄与する主要抗原が除去されたが、その類似タンパク質が残存するため抗原性は保持しており、減感作療法に有用な小麦系統であると考えている（2019年10月17日、第68回農村医学会にて発表予定）。

龍谷大学（新規1BS-18品種の開発）

1BS-18ホクシンと春まき小麦4品種（ミナミノカオリ、ハルユタカ、はるきらり、春よ恋）との交配および戻し交配は制御植物培養室と温室を使って順調に行われた。当初は2回戻し交配をする予定であったが、なるべく早く新しい1BS-18系統を実用栽培することを優先し、1回の戻し交配子孫の自家受精子孫から1BS-18ホモ接合個体を顕微鏡観察により選抜した。その結果、ミナミノカオリ、ハルユタカ、はるきらり、春よ恋由来の1BS-18ホモ接合個体をそれぞれ、4、3、12、9個体を得ることができた。これらの個体から出穂日が戻し交配親に最も近い（早い）個体を2個体ずつ選び、各個体の自家受精子孫10個体をポットで栽培して出穂日、稔性、草丈の調査を行った。この調査の結果から1BS-18ホモ接合個体から最も有望な12個体を選抜し、子孫でω-5グリアジンが欠損していることをウェスタンブロット法で確認して、これら12個体の子孫を新規の1BS-18ホモ接合系統とした。そして、これら12系統と戻し交配親の4品種、各12個体ずつを圃場での形質調査に供した。現在、圃場では192個体（{12系統 x 12個体} + {4品種 x 12個体}）



写真1 1BS-18ホモ接合系統の栽培状況。スズメの被害を防ぐため防鳥ネットを掛けてある、撮影日2019.2.22。(龍谷大学)

が生育中である(写真 1)。これらの系統の中から将来の 1BS-18 品種が育成されることを期待している。

広島大学 (ω-5グリアジン感作型小麦アレルギーの感作と症状惹起予防に対する 1BS-18 の有用性の検討)

小麦アレルギーの発症における感作と誘発に対する 1BS-18 の有用性をラットモデルで評価した。通常小麦グルテンで感作したラットに ω-5 グリアジンを負荷した結果、有意な体温の低下がみられた。一方、1BS-18 グルテンで感作したラットに ω-5 グリアジンを負荷した際にも、体温の低下傾向が認められたが、通常小麦グルテンで感作したラットと比較して、その低下は緩やかであった (図 2)。

1BS-18 グルテンで感作したラットにおいても ω-5 グリアジンの負荷で体温低下が認められた要因として、1BS-18 グルテン中のタンパク質が ω-5 グリアジンと交差反応を示した可能性が考えられる。これらの結果から、1BS-18 は通常小麦よりも、ω-5 グリアジンに対する感作能が低

論文投稿中のため非公表

図2 各小麦グルテン感作ラットに ω-5 グリアジンを静脈内負荷した際の体温変化

いことを明らかにした。また、ω-5 グリアジン感作ラットに通常小麦グルテンを負荷した場合、ω-5 グリアジンを負荷したときと同程度の有意な体温の低下が認められた (図 3)。

一方、1BS-18 グルテンを負荷した場合には、溶媒投与群と同様に体温の変化が認められなかった。これらの結果から、ω-5 グリアジン感作ラットにおいて、1BS-18 は通常小麦よりも、アレルギー症状の惹起能が低いことを明らかにした。以

論文投稿中のため非公表

図3 ω-5 グリアジン感作ラットにω-5 グリアジン (A) または各小麦グルテン (B) を静脈内負荷した際の体温変化

上の結果は、1BS-18がω-5 グリアジン感受型小麦アレルギーの感作と症状惹起の予防に有用であることを示唆するものである（論文投稿中）。

中山間地域研究センター（赤かび病の防除体系の検討）

2017年10月下旬にホクシン 1BS-18の播種を行い生育状況（表 1,2）および農薬による防除の回数（無防除区、防除1回区：開花始め、防除2回区：開花始めとその10日後）による赤かび病抑制効果を検討した。2018年6月の収穫各区サンプルを分析した結果、デオキシニバレノールがすべての区で検出されたものの、平成14年に厚生労働省によって決定された暫定基準値（1.1 mg/kg）未滿となった。防除回数が多い方が、デオキシニバレノールの検出量が少なくなる傾向にあった（図 4）。今年度の結果から、赤カビ病のしやすい当地域では、3回以上の防除が必要である。もしくは、ハウス栽培に統一し、医学臨床試験用の希少小麦として栽培していく方が望ましいと考えられた。

表1 平成30年1BS-18ホクシンの生育ステージ（中山間地域研究センター）

	出穂期	開花期	成熟期	収穫期	収穫日
旧赤名ハウス	5月8日 (4月25日)	5月16日	6月16日 (6月27日)	6月19日	6月27日 (6月28日)
赤名露地	5月18日 (5月13日)	5月26日	7月3日 (7月9日)	7月5日	7月13日 (7月14日)

※()は前年度のデータ

表2 平成30年1BS-18ホクシンの成熟期調査の結果（中山間地域研究センター）

	稈長(cm)	穂長(cm)	穂数(本/m ²)	収量(kg/10a)
旧赤名ハウス	83.5 (99.7)	9.1 (9.5)	553 (570)	624 (623)
赤名露地	59.6 (75.8)	6.5 (7.3)	302 (300)	142 (205)

※()は前年度のデータ

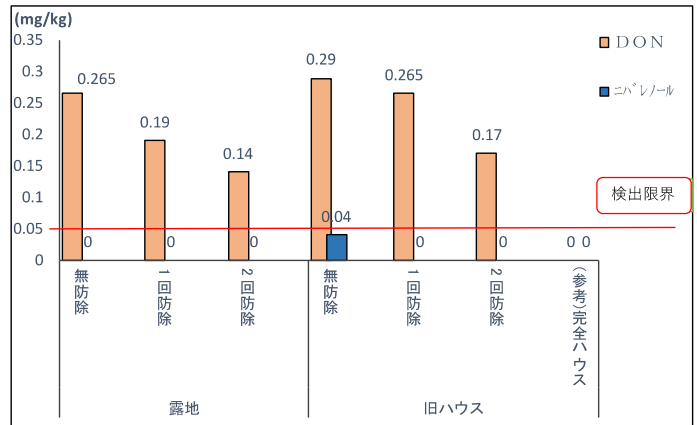


図4 防除回数の違いによる赤カビ病の発病程度（中山間地域研究センター）

注1) 分析は日本穀物検定協会東京分析センターによる

注2) 平成14年に厚生労働省によって決定された暫定基準値:1.1 mg/kg

メディカル工笑（島根県西部におけるホクシン 1BS-18 の栽培適性の検討と6次化アイテムの開発）

島根県西部における小麦栽培の実施可能性を検討した結果、2017年10月に播種した10aの畑におけるホクシン 1BS-18を2018年6月に収穫し、その収量は約120kgであった（写真 2）。



写真2 ω-5グリアジン欠損小麦の栽培風景（メディカル工笑）

出穂後に穂が実るまでの時期においては、野鳥被害対策のため、畑をネットで覆う作業が生じ、ネットの連結のさいに生じるすき間をいかに最小限に抑えるかが課題となった。また、有機栽培を試みたところ、収穫物に雑草が混じるため選別機が必要となった。

小麦の6次化の試みにおいては、カステラやクッキー、地元の西条柿を活用した西条柿サンドクッキー、全粒粉ピザおよび全粒粉うどんなどの試作に取り組んだ。ピザの試作は、地元の益田ドライビングスクールにおいて取り組みを行った。また、試作した全粒粉クッキーは、アグリビジネス創出フェア 2018 出展の際に試食に供して好評を得た。

今後の研究活動について

申請者らの研究グループは 2007 年に共同研究体制を確立して、低アレルゲン化小麦の研究事業を推進してきた。2017 年度、研究の節目を迎え、本研究の将来的なアウトカムを研究成果の社会実装(事業化)に定めた。2018 年度はこれに加え、島根県中山間地域の活性化に資する仕組みづくりに関する基礎的検討を開始した。今後は、「低アレルゲン化小麦 1BS-18 ホクシンの臨床応用に関する多施設共同第 II 相臨床試験」を完遂し、小麦アレルギー患者の低アレルゲン化小麦 1BS-18 の摂取量の確立および継続摂取による減感作療法の確立の可能性を評価する予定である。さらにその成果に基づいて大規模臨床試験も必要と考えている。また、低アレルゲン化小麦 1BS-18 の普及により新たな小麦アレルギー患者の発症が抑制される可能性が高いことから、低アレルゲン化小麦 1BS-18 製品販売の市場の確保のため、製粉、保管施設の設定が必要と考え、準備を進めて

いる。

参考文献

- 1) 森田栄伸. 【急増中!大人の食物アレルギー】、食物アレルギー特殊型 食物依存性運動誘発アナフィラキシー(FDEIA)(解説/特集)、診断と治療. 2017 Dec;105(5):639-642.
- 2) 千貫祐子、森田栄伸. 【成人食物アレルギー Update】、ω-5 グリアジン感作型小麦依存性運動誘発アナフィラキシーの病因・病態 Update(解説/特集)、アレルギーの臨床. 2017 Aug 37(9);827-831.
- 3) 森田栄伸. 【最新アレルギー予防・治療戦略-これからのアレルギーを考える-】、アナフィラキシー・薬物アレルギー 食物依存性運動誘発アナフィラキシー(解説/特集)、小児科臨床. 2017 May 70(12):1925-1930.
- 4) Kohno K, Takahashi H, Endo TR, Matsuo H, Shiwaku K, Morita E. Characterization of a hypoallergenic wheat line lacking ω-5 gliadin. *Allergol Int.* 2016 Oct;65(4):400-405.
- 5) 河野 邦江、遠藤 隆、森田 栄伸. 【免疫療法の現状と将来】 低アレルゲン化小麦の樹立(解説/特集)、アレルギー・免疫. 2016 Jul;23(8):1120-1127
- 6) Endo T, Gill B. The Deletion Stocks of Common Wheat. *Journal of Heredity.* 1996 Jul;87(4):295-307.