

## 米アレルゲンタンパク質とその低減化

山田千佳子\*1 和泉秀彦\*1 加藤保子\*2

### 要 約

近年、アレルギー患者が増加しており食物アレルギーも例外ではない。古くからよく知られる卵、牛乳に加えて最近では、植物性食品である大豆、米、小麦などに対するアレルギー症が増加している。米は、それを主食とする人々にとって重要なエネルギー源であるばかりでなく、重要なタンパク質源でもある。通常、日常的に摂取される食物は、さまざまな防御機構によりアレルゲンの取り込みおよび好ましくない免疫応答が起こらないようになっている。しかし、このタンパク質が微量ではあるが体内に未分解のまま取り込まれ、アレルギーを引き起こしている。ここでは、米の主要アレルゲンの性質およびその低減化について解説した。

米アレルゲンについては、グロブリン画分に強いアレルゲン活性が認められ、米の1M食塩水抽出画分中のタンパク質と米アレルギー患者血清中に存在する特異IgE抗体との反応性が調べられている。その結果、14-16kDa、26kDa、33kDa、56kDa、92kDaのタンパク質と反応が見られ、特に33kDaと14-16kDaのタンパク質と強く反応することが見出されている。これらを米主要アレルゲンとし、現在までに14-16kDa、26kDa、33kDaのアレルゲンについて構造および機能解析が行われている。

また米アレルゲンの低減化については、米タンパク質は味やテクスチャーの点では重要でなく除去による品質の低下が少ないことや、米アレルゲンは塩可溶性でありプロテインポディに存在しないことなどの利点を活かして、酵素処理によるアレルゲンの分解、加圧による溶出、塩溶液での洗浄による除去などが行われている。このほかに、内因性酵素を利用した発芽玄米の低アレルゲン化や、アレルゲン遺伝子の発現を抑制した組み換え低アレルゲン米も開発されている。

### 緒 言

近年、アトピー性皮膚炎をはじめ鼻炎や喘息、さらにはアナフィラキシーといった重篤な症状を呈するアレルギー患者の増加が危惧される状況にあり、食物アレルギーの場合も例外ではない。食物アレルギーの原因食品(アレルゲン食品)としては、古くから卵や牛乳がよく知られていたが、最近では、これらに加えて植物性食品である大豆、米、小麦などに対するアレルギー症が増加している<sup>1)</sup>。しかも、これら植物性食品によるアレルギーの特色として興味深いことは、卵や牛乳のアレルギーが加齢とともに減少するのに対し、植物性食品の場合には加齢の影響をあまり受けないことである<sup>2-4)</sup>。卵や牛乳のアレルギー患者が低年齢層に多く見られる原因の一つに腸管機能の未発達があげられるが、植物性食品のアレルギーはこれとは別の原因があると考えら

る。このことは、穀類である米や小麦のように消費量の多い食品のアレルゲン活性を考える上で重要である。

米は、それを主食とする人々にとって重要なエネルギー源であるばかりでなく、重要なタンパク質源でもある。米タンパク質は他の穀類タンパク質に比べてリジンが比較的少ないものの、アミノ酸スコアは65と植物性タンパク質の中では高く、栄養的にもバランスのとれた良質なタンパク質である。しかし、このタンパク質のいくらかが微量ではあるが体内に未分解のまま取り込まれ、アレルギーを引き起こしている。

通常、日常的に摂取される食物は、タンパク質分解酵素によるアレルゲンの分解、消化管内腔に分泌されたIgA抗体によるアレルゲンの取り込み防止、さらには消化管上皮細胞によるバリア機能などにより、アレルゲンの取り込みおよび生体内において好

\*1 名古屋学芸大学 管理栄養学部 \*2 川崎医療福祉大学 臨床栄養学科  
(連絡先) 和泉秀彦 〒470-0196 愛知県日進市岩崎町竹の山57 名古屋学芸大学  
E-Mail: izumi@nuas.ac.jp

ましくない免疫応答が起こらないようになっている<sup>5)</sup>。それにも関わらず、免疫学的に活性が保持されたままのアレルゲンが体内に取り込まれて免疫系を刺激し、食物アレルギーを引き起こす。米アレルゲンの消化、吸収に関して、実験動物を用いたアレルゲンの消化・分解性と、体内への吸収を調べた結果、投与量の約1/100が小腸吸収部位に未分解のまま残存し、そのうちの1/1000-1/10000がアレルゲン性を保持した状態で体内へ移行することが明らかになっている<sup>6)</sup>。

食物アレルギーの対策としては、その第一に薬剤の投与による治療であることはいまでもなく、その病因や病態が十分に解明されることが必要である。しかし一方では、食品のアレルゲン性をいかに抑えるかということも重要なことである。摂取する段階でアレルゲン量が低減化されていれば、それにとまってアレルゲン性を保持したペプチドおよびタンパク質の吸収量も減少し、その結果アレルギーを惹起するような閾値を越えない可能性が考えられる。臨床の現場においては、食物アレルギー患者に対する食事療法にさまざまな工夫がなされており、一般には除去療法が主流である。しかし、栄養摂取上、特に成長期では、食品の中でも栄養素をバランスよく含む卵や牛乳、米などは不可欠であること、またこれらの食品は食品素材として様々な製品に幅広く添加されており、完全な除去は困難な場合が多いことなどの理由により、最近ではこれに代わる低(脱)アレルゲン食品の開発も活発に行われている。

ここでは、米の主要アレルゲンの性質、およびその低減化について解説する。

#### 米アレルゲンタンパク質

米は通常精米され、胚芽およびアリューロン層が取り除かれた精白米が食される。したがって、米の摂取による食物アレルギーを考える場合、精白米中のタンパク質が問題になる。タンパク質は精白米全体の約8%(乾燥重量)を占め、そのほとんどがプロテインボディに蓄積されている。これらは発芽の際に分解され、窒素、硫黄、および炭素源として使われる。米タンパク質は溶解性により、水溶性のアルブミン、塩可溶性のグロブリン、アルコール可溶性のプロラミン、アルカリ可溶性のグルテリンの4つに分類される<sup>7)</sup>。米の品種、生育環境等によって異なるが、精白米中ではアルブミンとグロブリンが4-10%、プロラミンが5-10%、そしてグルテリンが残りの80-90%を占めている<sup>8)</sup>。米アレルゲンについては、グロブリン画分に強いアレルゲン活性があることが認められている<sup>9)</sup>。米の1M食塩水

抽出画分をゲルろ過により分離、精製し、これらのタンパク質と米アレルギー患者の血清中に存在する特異IgE抗体との反応性が調べられた。その結果、14-16kDa、26kDa、33kDa、56kDa、92kDaのタンパク質と反応が見られ、特に33kDaと14-16kDaのタンパク質と強く反応することが報告されている<sup>10)</sup>。そこで、これらのタンパク質を米主要アレルゲンとして構造および機能解析が行われ、現在までに14-16kDa、26kDa、33kDaのアレルゲンについて解析が進んでいる。

16kDaアレルゲンが米タンパク質中の塩可溶性画分から最初に精製され<sup>11)</sup>、cDNAがクローニングされた<sup>12)</sup>。図1に示したように、推定されるアミノ酸配列は、植物の $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターファミリーおよび脂質輸送タンパク質ファミリーに属するタンパク質と相同性を示す<sup>12)</sup>。興味深いことに、アミラーゼ/トリプシンインヒビターは他の植物においてもアレルゲンに同定されており、小麦と大麦のアミラーゼ/トリプシンインヒビターは、製粉・製パン業者によく見られるアレルギー喘息の主要アレルゲンである<sup>13,14)</sup>。実際には、米16kDaアレルゲンとアミラーゼ/トリプシンインヒビターファミリーとの相同性は20-40%であるが、分子内に存在する10個のシステイン残基はその数と位置がよく保存されている。生化学的な解析の結果、このシステイン残基はすべてS-S結合を形成しており、16kDaアレルゲンは図2に示したような球状タンパク質であることが示唆されている<sup>15)</sup>。このS-S結合の位置に関しても小麦 $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターと高い保存性が認められ<sup>16)</sup>、これより、アミラーゼ/トリプシンインヒビターのほとんどが米アレルゲンと同様の構造をとることが示唆されている。食物アレルゲンは一般に、熱や分解酵素に対して抵抗性を示す。米アレルゲンにおいても、135残基中に5つものS-S結合を有し、特異的で安定な構造をとることにより、熱安定性、分解酵素抵抗性、さらに変性に対する可逆性を示すものと考えられる。

このアレルゲンを特異抗体で検出すると、米の食塩抽出物中に存在する分子量が14-16kDaで、等電点が6-9である数種のタンパク質と交差性を示す<sup>17)</sup>。このことは米アレルゲンが僅かに構造を異にする一群のタンパク質からなることを示すものである。これら14-16kDaタンパク質をコードしている10個以上のcDNAおよび2個の遺伝子クローンが単離され、アミノ酸レベルでの相同性が調べられ、70-95%と極めて高い相同性を示すことが報告されている<sup>18,19)</sup>。これらの結果は、一群のアレルゲンが

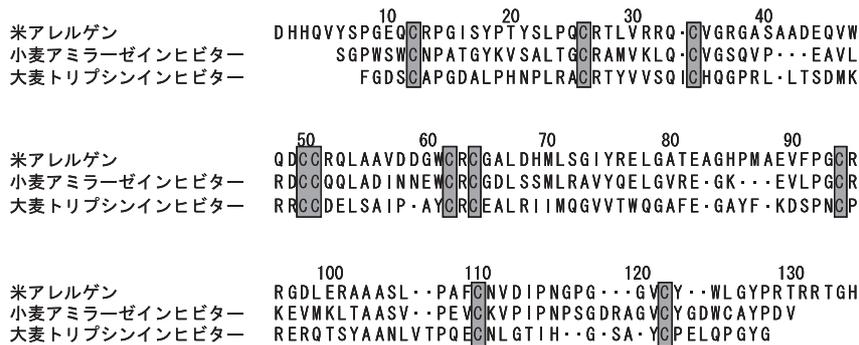


図1 米アレルゲンと穀物 α-アミラーゼ/トリブシンインヒターの一次構造  
 ■の部分にはシステイン残基を表す

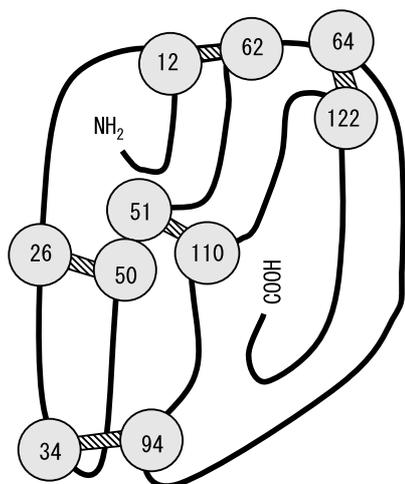


図2 推定される米アレルゲンタンパク質の構造  
 ○はシステイン残基を表し、数字はその位置を示す。また、■は S-S 結合を示す。

生合成された後に分解を受けたものではなく、米に本来存在する多重遺伝子族の産物であることを示すものである。推定されるアミノ酸配列のうちいくつかには C 末端付近に N 型糖鎖付加部位が存在する。一方、米の食塩抽出物についてイオン交換クロマトグラフィーによる分画が試みられ、少なくとも 5 つの成分に分画することができ、これらは cDNA がコードするタンパク質と同じものであることも確かめられている<sup>20)</sup>。さらに、14-16kDa タンパク質のアレルゲン性について、米アレルギー患者血清中の IgE との反応性が調べられた結果、すべてが強く反応し、同様にアレルゲン活性を示すことが確認されている<sup>20)</sup>。

26kDa タンパク質はグロブリン画分の主要タンパク質であり、α-グロブリンと呼ばれる。このタンパク質は SDS-PAGE による分析時には 26kDa のバンドとして検出される<sup>21,22)</sup> が、cDNA から推定されるアミノ酸配列により算出される分子量は 19kDa である<sup>23)</sup>。この SDS-PAGE により泳動が遅れる原因としては、SDS との反応によりこのタンパク質が特徴

的な構造をとることが考えられる。このタンパク質は一遺伝子にコードされているタンパク質にもかかわらず、他のグロブリンに比べて高レベルに発現し、米粒中の塩可溶性タンパク質の大部分を占める<sup>24)</sup>。この 26kDa アレルゲンおよびそのプロモーター領域をコードしている遺伝子が単離され<sup>25)</sup>、解析が行われた結果、プロモーター領域に結合する b-ZIP タンパク質 (REB: Rice Endosperm b-ZIP) の cDNA が得られた<sup>26)</sup>。この REB は登熟期の種子中において、26kDa アレルゲンの強力な遺伝子発現調節因子であることが明らかとなり<sup>27)</sup>、REB が 26kDa アレルゲンのプロモーター領域に結合することにより、26kDa アレルゲンの発現が高レベルに維持されているものと考えられる。

33kDa アレルゲンは 60% 以上の米アレルギー患者血清と強く反応するばかりでなく、その反応性は米の全タンパク質抽出物に対する反応性と高い相関が認められている。このことは、33kDa タンパク質が米アレルギー患者の主要なアレルゲンであることを明確にするものである。単離された 33kDa アレルゲンの cDNA は 291 個のアミノ酸をコードし、それは 120 アミノ酸残基による繰り返し配列を含むことが示されている<sup>28)</sup>。このアミノ酸配列はヒト、植物、酵母、およびバクテリア等、様々な生物に存在するグリオキサラーゼ I との相同性が確認されている。グリオキサラーゼ I はメチルグリオキサールと還元型グルタチオンの S-D-ラクトイル・グルタチオンへの変換を触媒する解毒酵素である。米粒中より精製した 33kDa アレルゲンと大腸菌により発現させた組み換え 33kDa アレルゲンの酵素活性は、同程度と報告されている。また、精製 33kDa アレルゲンおよび組み換え 33kDa アレルゲンとともに、米アレルギー患者血清中の IgE と反応し、SDS-PAGE においてアミノ酸配列から推定される分子量と同じ 33kDa のバンドとして検出される。これらの結果より、33kDa アレルゲンは糖タンパク質ではなく、他の植物や昆

虫のグリオキサラーゼ I に見られるようなアレルギー性を保持した N 型糖鎖が存在しないことが明らかにされている。また、33kDa アレルゲン特異抗体は小麦、トウモロコシ、および大麦など他の穀物のタンパク質との交差性を示すことが報告されており、それらの植物においても 33kDa アレルゲンに相当するタンパク質の存在が示唆されている。

#### 低アレルゲン米の作成

低アレルゲン食品は代替治療、感作予防、食物アレルギーの診断に使用するために研究開発され、工業生産されてきた。多くの場合、アレルゲンを含む食品中のタンパク質は酵素処理による分解後、洗浄により除去されることでアレルゲン性が低下する。米に関してはこのような酵素処理によるアレルゲンの除去を行う上で、いくつかの利点がある。それは、a) 米は通常粒の状態で調理したものが食され、粉末では使用しない。また、味やテクスチャーの点で重要なのは米の場合タンパク質ではなくデンプンであり、タンパク質の除去による品質の低下が少ない。これが小麦の場合、主に小麦粉として使用され、パン、パスタ、麺などの加工製品の製造にはタンパク質（グルテン）が不可欠である。b) 先に述べたように、米アレルゲンは大部分が塩可溶性であるという点である。この物理化学的性質によりアレルゲンの酵素処理による分解、および抽出や洗浄による除去が可能となる。さらに c) 米の主な貯蔵タンパク質であるグルテリン、プロラミンは米タンパク質全体の約 90% 以上を占め、これらはアレルゲン性が無く、プロテインボディに蓄積されている<sup>29)</sup>。そのため、酵素による分解を受けにくく、低アレルゲン化処理を施した後にも未分解のまま残るため、米の栄養価は保持される。米はそれを主食とする人々にとっては重要なタンパク質源でもあるので、このことは重要である。これら米アレルゲンの特長を活かして開発された低アレルゲン米の代表例を以下に示す。

荒井らのグループは 1990 年に最初に低アレルゲン米を開発している<sup>30)</sup>。精白米を米粒のまま界面活性剤存在下、炭酸緩衝液中でプロテアーゼ処理を行い、水で洗浄することにより、低分子化したタンパク質断片および界面活性剤を除去するというものである。最後に、米粒は乾燥され、患者に提供される。この酵素処理と洗浄により、米粒中の 95% 以上のアルブミン/グロブリンタンパク質（アレルゲンを含む）は除去される。この低アレルゲン米はファインライスの名で製品化されており、特定保健用食品第 1 号として認可された。多くの病院で患者に供給さ

れ、米によるアトピー性皮膚炎が改善された有効例が報告されている<sup>31)</sup>。

また、米粒中のアレルゲンの低減化に他の食品中の酵素を利用したユニークな方法がある。それは、精白米を 10% 生味噌溶液に浸漬することで、生味噌中に存在する麹菌由来のプロテアーゼによりアレルゲンを 15–60% 低減化するというものである<sup>32)</sup>。味噌の製造には麹菌を使用する。麹菌は発酵の過程で、原料である大豆のタンパク質を分解するために種々のプロテアーゼを産生する<sup>33)</sup> が、このプロテアーゼが米タンパク質にも働き、米アレルゲンが分解されると考えられる。このように、米のアレルゲンは外部から添加された酵素により、低減化されることが明らかになっている。

その他には、高圧処理が食品加工にしばしば利用されており、この技術が米粒中のアレルゲンの溶出に応用されている。精白米を水または塩溶液に浸漬し、100–400Mpa の圧力を 5–120 分かけると、加圧しない場合の 3–5 倍もの可溶性タンパク質が溶出される<sup>34)</sup>。その中には 33kDa、26kDa、14–16kDa アレルゲンが主に含まれ、この高圧処理と酵素処理を組み合わせることで、米粒中から効果的にアレルゲンが除去できると考えられる。

この高圧処理を利用した炊飯タイプの低アレルゲン米が開発されている。米を塩溶液に漬けて加圧することで細胞膜を破壊し、アレルゲンだけを選択的に塩溶液に溶出させ、除去する方法である。この A カット米では、アルブミン・グロブリン画分が 95% 除去されているが、アレルゲン除去は完全ではないために、重症の患者には用いにくい。

また、アレルゲンが塩可溶性タンパク質であることを利用して、我々は家庭における調理の段階でも低アレルゲン化が可能であることを確認している。一般に、米は炊飯する前に浸漬させることから、米を一定条件下で浸漬することにより可溶性タンパク質が溶出することに期待し、これを利用した浸漬による米アレルゲンの低減化を試みた。精白米を 0、0.1、0.5M の NaCl 溶液に浸漬し、4、30、50

で 24 時間置いた後の米粒中から溶出したタンパク質について、またこのとき米粒中に残存したタンパク質を 0.5M の NaCl 溶液で抽出した可溶性タンパク質、および 1% SDS 溶液で抽出した総タンパク質について、それぞれの溶液に含まれるタンパク質量および組成を解析し、アレルゲン残存量を調べた。その結果、浸漬塩濃度、温度依存的にタンパク質の溶出量は増加した。これにともない、米粒残存可溶性タンパク質は浸漬塩濃度、温度依存的に減少しており、50、0.5M の NaCl 溶液に浸漬した場合に

14-16kDa および26kDa アレルゲンが顕著に減少していた(図3-A)。このときの14-16kDa アレルゲンをELISA法で定量した結果、浸漬前と比較して約45%に減少していた(図3-B)。粒残存総タンパク質についても解析を行った結果、米主要貯蔵タンパク質であるグルテリンの減少は見られず、栄養価は保持されていることが確認された。以上の結果より、炊飯前の浸漬時に塩濃度と温度を工夫することで、タンパク質源としての栄養価はある程度保持したまま、容易に主要アレルゲンの低減化が可能であることが示唆された。また、炊飯前の浸漬は通常水で行うが、今回使用した塩溶液は最も高濃度のもので0.5MのNaCl溶液であり、このような塩溶液に浸漬した場合でも、洗浄すればある程度の塩は除去でき、普通に炊飯しても食することが可能であると推察される。さらに、50℃の溶液に浸漬させた場合でも糊化しておらず、米粒の形状はその他の温度に浸漬させたものと違いはなかった。つまり、家庭でも精白米の浸漬時に塩濃度と温度を工夫することで、容易に低アレルゲン化が可能になると考えられる。また、塩溶液に浸漬させた後にプロテアーゼ処理を施すことで、さらに低アレルゲン化される可能性があり、この手法の利用は低アレルゲン米の調理・加

工に大いに貢献できると考えられる。

以上に示した低アレルゲン米の調製では、アレルゲンが塩可溶性であること、および塩可溶性タンパク質と主要貯蔵タンパク質の米粒中での存在状態の違いなどの特性を生かして、酵素処理、抽出、加圧など外的因子の付加により低アレルゲン化を行っている。

このような外的要因によるアレルゲン分解の他に、我々は内因性酵素を利用した低アレルゲン化について報告している<sup>35)</sup>。現在市販されている発芽玄米中の、タンパク質含量および組成、特にアレルゲンについて解析し、精白米および玄米に比べて、発芽玄米中では可溶性画分の主要アレルゲンが顕著に減少していることを明らかにした(図4)。このアレルゲンの減少が製造工程のどの段階で起きているのか調べるために、各段階の米粒(玄米、発芽後、加熱後、乾燥製品)から可溶性タンパク質をPBSで抽出し、タンパク質含量、特にアレルゲンについて解析を行った。その結果、発芽およびその後に行われる加熱の段階でアレルゲンの減少が顕著に見られた。発芽玄米では、玄米を発芽させる過程で様々な酵素が活性化されることが知られており、この活性化された内因性酵素によるアレルゲンの分解が示唆された。そこで、各段階での酵素活性をカゼイン消

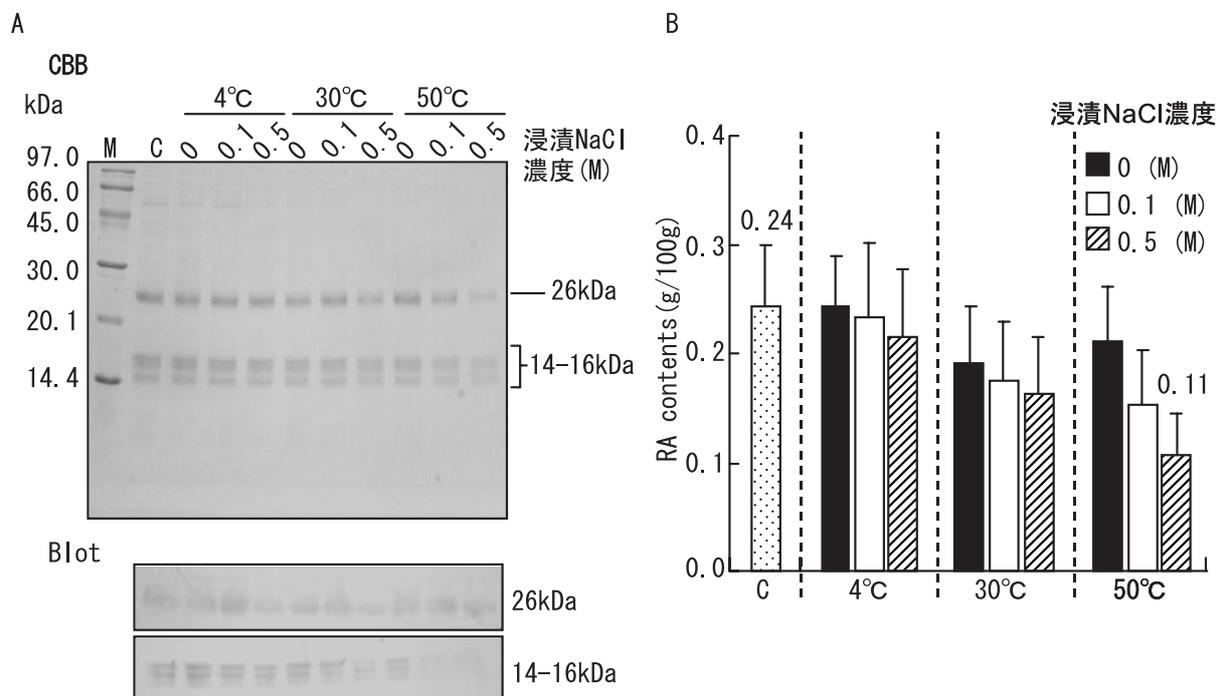


図3 精白米のNaCl溶液浸漬による低アレルゲン化  
A: 浸漬後の米粒残存可溶性タンパク質  
B: 浸漬後の米粒残存アレルゲン量  
値は平均値±標準偏差(n=5)

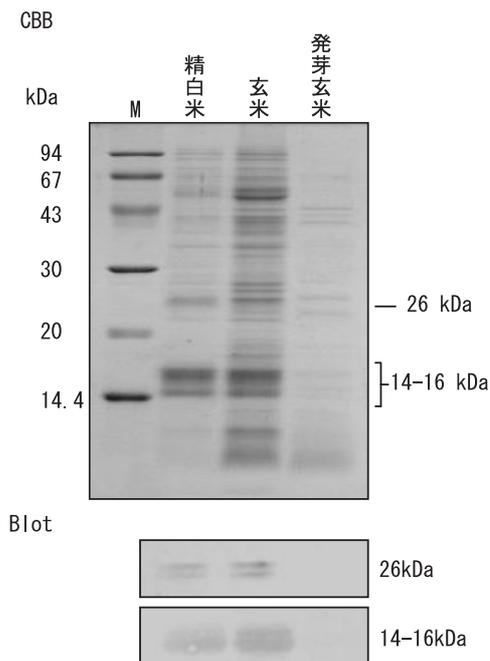


図4 精白米，玄米，発芽玄米中の可溶性タンパク質組成

化法により測定したところ，発芽により酵素活性が玄米の約1.5倍に上昇し，加熱時も50℃までは活性が維持されていた．また，この酵素の性質を明らかにするために，発芽により酵素を活性化させた玄米を様々なpHでインキュベートし，さらに，種々のプロテアーゼインヒビターを添加することでアレルギー分解に対する変化を調べた．その結果，アレルギー分解に関与する酵素は至適pHを5-6に持つシステインプロテアーゼである可能性が示唆された．

さらに，分子育種的手法として，アンチセンス

RNAや二本鎖RNAなど遺伝子的手法により特定の遺伝子発現を抑える遺伝子抑制の技術が開発されている．そこでこれを利用して，アンチセンスアレルギー遺伝子を導入することにより，14-16kDaアレルギー遺伝子の発現が抑制された組み換え低アレルギー米の作成が行われた<sup>36,37)</sup>．クローニングされた14-16kDaアレルギーのcDNAを用いて，作成したアンチセンス遺伝子を導入した遺伝子組み換え低アレルギー米では，完全に抑制することは出来なかったが，野生型と比較してアレルギー量が約5分の1に減少したと報告されている．完全に抑制できなかった原因として，14-16kDaアレルギーは多重遺伝子族であるため，一群のアレルギーすべてには抑制がかからなかったと考えられる．

これまでに，アレルギーの解明と併行していくつかの低アレルギー食品が開発された．これらは臨床試験において効果や安全性が確認され，患者の食生活に不可欠なものとなっている．患者の安全性確保の見地から考えると，アレルギー性を出来るだけゼロに近づける努力が必要である．しかし，どの程度の低アレルギー化度なのかを明示するシステムが整えば，完全にゼロではなくても一定の評価をして消費者に供給できるようになるかもしれない．重症患者への適用は不可能であるが，例えば，アレルギー量が一般製品の数分の1程度のもので，妊娠・授乳期の母親層や離乳初期の乳児などにおいて，アレルギー予防の観点から利用される可能性は十分考えられる．ここで紹介した低アレルギー食品が今後さらに改良され，より多くの消費者に利用されることを期待したい．

## 文 献

- 1) 山田一恵，岸本真知子，稲垣義彰，稲本真，駒田英勝，山田攻功，鳥居新平：アトピー性皮膚炎における食餌性アレルギーの検討 —とくに穀物アレルギーについて—．小児科臨床，**38**，2545-2552，1985．
- 2) Miyakawa K ,Hirai Y ,Miyakawa J ,Sugiyama T ,Komatsu T ,Suga S ,Ikezawa Y and Nakajima H :Statistical analyses of the diagnostic criteria ,clinical severity ,IgE-RAST score ,and serum IgE value in patients with atopic dermatitis ( AD )-probable involvement of food antigens ,especially rice ,in severe cases . *Jap . J . Allergol .* , **37** , 1101-1110 , 1988 .
- 3) Lezaun A ,Igea JM ,Quirce S ,Cuevas M ,Parra F ,Alonso MD ,Martin JA and Cano MS :Asthma and contact urticaria caused by rice in a house wife . *Allergy* , **49** , 92-95 , 1994 .
- 4) Ikezawa Z ,Miyakawa K ,Komatsu H ,Suga C ,Miyakawa A ,Sugiyama A ,Sasaki T ,Nakajima H ,Hirai Y and Suzui Y :A Probable involvement of rice allergy in severe type of atopic dermatitis in Japan . *Acta Derm . Venereol . Suppl .* , **176** , 103-107 , 1992 .
- 5) Brandtzaeg P :Mechanisms of gastrointestinal reaction to food . *Environ . Toxicol . Pharmacol .* , **4** , 9-24 , 1997 .
- 6) Yamada C ,Yamashita Y ,Seki R ,Izumi H ,Matsuda T and Kato Y :Digestion and gastrointestinal absorption of the rice 14-16-kDa allergens . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , in press .

- 7) Cagampang GB ,Cruz LJ ,Espiritu SG ,Santiago RG and Juliano BO : Studies on the extraction and composition of rice proteins . *Cereal chem .* , **43** , 145-155 , 1966 .
- 8) 高岩文雄 : イネグルテリン . 蛋白質 核酸 酵素 ( 別冊 ) , **30** , 247-260 , 1987 .
- 9) Shibasaki M , Suzuki S , Nemoto H and Kuroume T : Allergenicity and lymphocyte-stimulating property of rice protein . *J . Allergy Clin . Immunol .* , **64** ( 4 ) , 259-265 , 1979 .
- 10) Urisu A , Yamada K , Masuda S , Komada H , Wada E , Kondo Y , Horiba F , Yazaki T , Yamada M , Torii S and Nakamura R : 16-Kilodalton rice protein is one of the major allergens in rice grains extract and responsible for cross-allergenicity between cereal grains in the Poaceae family . *Int . Arch . Allergy Appl . Immunol .* , **96** , 244-252 , 1991 .
- 11) Matsuda T , Sugiyama M , Nakamura R and Torii S : Purification and properties of an allergenic protein in rice grain . *Agric . Biol . Chem .* , **52** ( 6 ) , 1465-1470 , 1988 .
- 12) Izumi H , Adachi T , Fujii N , Matsuda T , Nakamura R , Tanaka K , Urisu A and Kurosawa Y : Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding a major allergenic protein in rice seeds . Homology of the deduced amino acid sequence with members of alpha-amylase/trypsin inhibitor family . *FEBS Lett .* , **302** , 213-216 , 1992 .
- 13) Barber D , Sanchez-Monge R , Gomez L , Carpizo J , Armentia A , Lopez-Otin C , Juan F and Salcedo GA : Barley flour inhibitor of insect alpha-amylase is a major allergen associated with baker's asthma disease . *FEBS Lett .* , **248** , 119-122 , 1989 .
- 14) James JM , Sixbey JP , Helm RM , Bannon GA and Burks AW : Wheat alpha-amylase inhibitor : a second route of allergic sensitization . *J . Allergy Clin . Immunol .* , **99** ( 2 ) , 239-244 , 1997 .
- 15) Izumi H , Sugiyama M , Matsuda T and Nakamura R : Structural characterization of the 16-kDa allergen , RA17 , in rice seeds . Prediction of the secondary structure and identification of intramolecular disulfide bridges . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , **63** , 2059-2063 , 1999 .
- 16) Poerio E , Caporale C , Carrano L , Pucci P and Buonocore V : Assignment of the five disulfide bridges in an alpha-amylase inhibitor from wheat kernel by fast-atom-bombardment mass spectrometry and Edman degradation . *Eur . J . Biochem .* , **199** ( 3 ) , 595-600 , 1991 .
- 17) Matsuda T , Nomura R , Sugiyama M and Nakamura R : Immunochemical studies on rice allergenic proteins . *Agric . Biol . Chem .* , **55** , 509-513 , 1991 .
- 18) Adachi T , Izumi H , Yamada T , Tanaka K , Takeuchi S , Nakamura R and Matsuda T : Gene structure and expression of rice seed allergenic proteins belonging to the a-amylase/trypsin inhibitor family . *Plant Mol . Biol .* , **21** , 239-248 , 1993 .
- 19) Alvarez AM , Adachi T , Nakase M , Aoki N , Nakamura R and Matsuda T : Classification of rice allergenic protein cDNAs belonging to the alpha-amylase/trypsin inhibitor gene family . *Biochim . Biophys . Acta .* , **1251** ( 2 ) , 201-204 , 1995 .
- 20) Nakase M , Adachi T , Urisu A , Miyashita T , Alvarez AM , Nagasaka S , Aoki N , Nakamura R and Matsuda T : Rice ( *Oryza sativa L .* ) $\alpha$ -amylase inhibitors of 14-16-kDa are potential allergens and products of a multigene family . *J . Agric . Food Chem .* , **44** , 2624-2628 , 1996 .
- 21) Komatsu S and Hirano H : Rice seed globulin : a protein similar to wheat seed glutenin . *Phytochemistry* , **31** ( 10 ) , 3455-3459 , 1992 .
- 22) Nakase M , Alvarez AM , Adachi T , Aoki N , Nakamura R and Matsuda T : Immunochemical and biochemical identification of the rice seed protein encoded by cDNA clone A3-12 . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , **60** ( 6 ) , 1031-1032 , 1996 .
- 23) Krishnan HB and Pueppke SG : Nucleotide sequence of an abundant rice seed globulin : homology with the high molecular weight glutelins of wheat , rye and triticale . *Biochem . Biophys . Res . Commun .* , **193** ( 1 ) , 460-466 , 1993 .
- 24) Shorosh BS , Wen L , Zen KC , Huang JK , Pan JS , Hermodson MA , Tanaka K , Muthukrishnan S and Reeck GR : A novel cereal storage protein : molecular genetics of the 19 kDa globulin of rice . *Plant Mol Biol .* , **18** ( 1 ) , 151-154 , 1992 .
- 25) Nakase M , Hotta H , Adachi T , Aoki N , Nakamura R , Masumura T , Tanaka K and Matsuda T : Cloning

- of the rice seed alpha-globulin-encoding gene : sequence similarity of the 5'-flanking region to those of the genes encoding wheat high-molecular-weight glutenin and barley D hordein . *Gene* , **170** ( 2 ) , 223-226 , 1996 .
- 26 ) Nakase M , Aoki N , Matsuda T and Adachi T : Characterization of a novel rice bZIP protein which binds to the alpha-globulin promoter . *Plant Mol . Biol .* , **33** ( 3 ) , 513-522 , 1997 .
- 27 ) Yang D , Wu L , Hwang YS , Chen L and Huang N : Expression of the REB transcriptional activator in rice grains improves the yield of recombinant proteins whose genes are controlled by a Reb-responsive promoter . *Proc . Natl . Acad . Sci . USA .* , **98** ( 20 ) , 11438-11443 , 2001 .
- 28 ) Usui Y , Nakase M , Hotta H , Urisu A , Aoki N , Kitajima K and Matsuda T : A 33-kDa allergen from rice ( *Oryza sativa L . Japonica* ) . cDNA cloning , expression , and identification as a novel glyoxalase I . *J . Biol . Chem .* , **276** , 11376-11381 , 2001 .
- 29 ) Tanaka K , Sugimoto T , Ogawa M and Kasai Z : Isolation and characterization of two types of protein bodies in the rice endosperm . *Agric . Biol . Chem .* , **44** , 1633-1639 , 1980 .
- 30 ) Watanabe M , Miyakawa J , Ikezawa Z , Suzuki Y , Hirano T , Yoshizawa T and Arai S : Production of hypoallergenic rice by enzymatic decomposition of constituent proteins . *J . Food Sci .* , **55** , 781-783 , 1990 .
- 31 ) Ikezawa Z , Miyakawa K , Komatsu H , Suga C , Miyakawa J , Sugiyama A , Sasaki T , Nakajima H , Hirai Y and Suzuki Y : A probable involvement of rice allergy in severe type of atopic dermatitis in Japan . *Acta . Derm . Venereol . Suppl . ( Stockh ) .* , **176** , 103-107 , 1992 .
- 32 ) Izumi H , Kondo S , Kashio H , Matsuda T and Nakamura R : Decrease in rice allergenic proteins of polished rice grains by incubating with a miso solution . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , **64** ( 10 ) , 2250-2253 , 2000 .
- 33 ) Tsuji H , Okada N , Yamanishi R , Bando N , Ebine H and Ogawa T : Fate of major soybean allergen , Gly m Bd 30K , in rice- , barley- , and soybean-koji miso ( fermented soybean paste) during fermentation . *Food Sci . Technol . Int . ( Tokyo )* , **3** , 145-149 , 1997 .
- 34 ) Kato T , Katayama E , Matsubara S , Omi Y and Matsuda T : Release of Allergenic Proteins from Rice Grains Induced by High Hydrostatic Pressure . *J . Agric . Food Chem .* , **48** , 3124-3129 , 2000 .
- 35 ) Yamada C , Izumi H , Hirano J , Mizukuchi A , Kise M , Matsuda T and Kato Y : Degradation of soluble proteins including some allergens in brown rice grains by endogenous proteolytic activity during germination and heat-processing . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , **69** ( 10 ) , 1877-1883 , 2005 .
- 36 ) Tada Y , Nakase M , Adachi T , Nakamura R , Shimada H , Takahashi M , Fujimura T and Matsuda T : Reduction of 14-16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene . *FEBS Lett .* , **391** ( 3 ) , 341-345 , 1996 .
- 37 ) Nakamura R and Matsuda T : Rice allergenic protein and molecular-genetic approach for hypoallergenic rice . *Biosci . Biotechnol . Biochem .* , **60** ( 8 ) , 1215-1221 , 1996 .

(平成18年5月20日受理)

**Allergenic Proteins in Rice and Hypoallergenic Rice Products**

Chikako YAMADA, Hidehiko IZUMI and Yasuko KATO

(Accepted May 20, 2006)

Key words : rice, allergenic proteins, hypoallergenic rice

**Abstract**

Food allergies have increased in developed countries and milk, egg, soybean, wheat and rice are well-known as major foods with allergens. Several clinical studies have suggested that rice is responsible for severe atopic dermatitis. Dietary proteins are digested primarily in the gastrointestinal tract by proteases. However, some studies suggest that some allergens escape enzymatic breakdown, pass through the epithelial cell layer of the intestines, and sensitize via the gastrointestinal tract. This paper describes properties of the major rice allergenic proteins and production of a hypoallergenic rice product.

Salt-soluble proteins in rice grains were extracted, fractionated and subjected to IgE-binding analysis in patients' sera. This analysis indicated several showing positive IgE-binding, especially the 14-16kDa, 26kDa, 33kDa, 56kDa and 92kDa proteins. The 14-16kDa, 26kDa and 33kDa potential rice allergens were identified and characterized previously.

The rice components playing major roles in taste and texture are not proteins but starches. Furthermore, the allergenic proteins in rice are salt-soluble and not accumulated in protein bodies. Taking advantage of these properties, a hypoallergenic rice product was produced using proteolytic degradation, pressurization and washing processes. Another hypoallergenic rice product has also been developed, utilizing endogenous protease and gene-engineering with antisense RNA.

Correspondence to : Hidehiko IZUMI

School of Nutritional Sciences,

Nagoya University of Arts and Sciences

Nissin, 470-0196, Japan

E-Mail: [izumi@nuas.ac.jp](mailto:izumi@nuas.ac.jp)

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.16, No.1, 2006 21-29)