
組換え DNA 植物由来食品の安全性評価の実施に関するガイドライン案の
アレルギー誘発性評価に関する添付資料案

(規格作成手続きステップ 5 / 8 に進行)

セクション 1—はじめに

1. 組換え DNA 植物で新たに発現したタンパク質¹であって最終食品に含まれる可能性があるものはいずれも、アレルギー誘発性について評価すべきである。その際、新たに発現したタンパク質は特定個人が既に感受性を持つ可能性があるかどうか、食品供給において新しいタンパク質がある個人においてアレルギー反応を引き起こす可能性が高いかどうかを考慮すべきである。
2. 現在、新たに発現したタンパク質のヒトへのアレルギー反応の予測において信頼できる決定的試験はないため、下記に示すような総合的かつ段階的な個別の手法を用いて、新たに発現したタンパク質のアレルギー誘発性を評価する様勧告されている。単一の判断基準では十分な予測ができないため、この手法では数種類の情報・データに由来する根拠を考慮している。
3. 評価指標は、タンパク質の食品アレルゲンである可能性についての判定である。

セクション 2—評価方法

4. 新たに発現したタンパク質のアレルギー誘発性評価における第 1 段階は、導入タンパク質の供給源、当該タンパク質と既知のアレルゲンのアミノ酸配列における有意な類似性、構造的な特性を調査することである。これには酵素分解に対する感受性、熱安定性、酸・酵素処理などが含まれるが、これに限定されない。
5. 単一の試験だけでは経口曝露に対するヒト IgE 反応の可能性を予測できないため、新たに発現したタンパク質の特徴を明らかにするための第 1 段階は、新たに発現したタンパク質と既に確立されているアレルゲンにおけるアミノ酸配列及び特定の物理化学的性質について、根

¹ この評価方法は、新たに発現したタンパク質にグルテン感受性またはその他の腸疾患の誘発能があるかどうかを評価するために適用することはできない。腸疾患の問題は既に、「組換え DNA 植物由来食品の安全性評価の実施に関するガイドライン案」の paragraph 42 「アレルギー誘発性の評価 (タンパク質)」で扱っている。またこの方法は、低アレルギー誘発性を目的とし遺伝子産物が抑制されている場合は食品の評価に適用することはできない。

拠を重視して比較することである。このためには、新たに発現したタンパク質を組換え DNA 植物から分離しまたは別の供給源からその物質を合成・製造する必要がある。この際、対象とする物質が組換え DNA 植物で生成されるものと構造的・機能的・生化学的に同等であることを示すべきである。宿主が異なることにより起こりうる翻訳後修飾が発生し（真核系と原核系）タンパク質のアレルギー誘発性に影響を与える可能性があるため、発現宿主の選択には特に注意を払うべきである。

6. タンパク質の供給源に関してはアレルギー反応を誘発することが知られているかどうかを明らかにすることが重要である。既知のアレルギー誘発性物質に由来する遺伝子は、科学的根拠によりそうでない旨が実証されない限り、アレルゲンをコード化していると仮定すべきである。

セクション 3—最初の評価

セクション 3.1—タンパク質の供給源

7. 組換え DNA 植物由来食品の安全性を裏付けるデータの一部として、供与体に関するアレルギー誘発性に関する情報は全て示すべきである。これにより、遺伝子のアレルギー誘発性供給源は、IgE 媒介性経口または呼吸性・接触性アレルギーの合理的根拠が入手できる供与体として定義されるであろう。導入タンパク質の供給源についての情報が得られれば、アレルギー誘発性評価において考慮すべき手段や関連データが明らかになる。これには、スクリーニングを目的とする血清の利用可能性、アレルギー反応の種類・程度・頻度の記載、構造的特徴及びアミノ酸配列、その供給源に由来する既知のアレルギー誘発性タンパク質の物理化学的・免疫学的特性（適宜）が含まれる。

セクション 3.2—アミノ酸配列相同

8. 配列相同比較の目的は、新たに発現したタンパク質の構造がどの程度既知のアレルゲンと似ているかを評価することである。この情報は、恐らくこのタンパク質がアレルギー誘発性を有するかどうかを示唆することになる。配列相同の調査は、新たに発現した全てのタンパク質の構造を全ての既知のアレルゲンと比較して行う必要がある。FASTA または BLASTP など様々なアルゴリズム（段階的手法）を用いて検査を行い、包括的な構造的類似性を予測すべきである。直線エピトープを示す可能性のある配列を明らかにするために、段階的な連続する同一のアミノ酸部分の検査などの方法を実施する場合もある。連続アミノ酸検査の規模は、偽陰性または偽陽性結果が生じる可能性を最低限に抑えるために科学的正当性に基づくべきである²。生物学的に意味のある結果を得るため、検証済みの調査・評価手法を用いるべ

² 2001 年 FAO/WHO 会議は検査で使用する同一アミノ酸部分を 8 から 6 に減らすことを示唆したと受け止められている。段階的比較で用いるペプチド配列が少なければ少ないほど偽陽性となる可能性が高い。逆に、用いるペプチド配列が多ければ多いほど偽陰性の可能性が高くなり、比較の有効性が下がる。

きである。

9. 80 以上のアミノ酸部分で 35%以上の同一性 (2001 年 FAO/WHO) が認められるか、またはその他の科学的に正当な基準がある場合は、新たに発現したタンパク質と既知のアレルゲンの間の IgE 交差反応の可能性を考慮すべきである。個別の科学的評価を可能にするため、新たに発現したタンパク質と既知のアレルゲンの間の配列相同比較から得られた情報はすべて報告すべきである。
10. 配列相同研究にはある種の限界がある。特に、比較においては一般に利用できるデータベースと科学文献に掲げる既知のアレルゲンの配列に限定される。IgE 抗体と特異的に結合可能な非連続エピトープの検出においてもその比較能力に限界がある。
11. 配列相同検査でマイナスの結果が出ると、新たに発現したタンパク質は既知のアレルゲンではなく、既知のアレルゲンに対する交差反応性が低いことがわかる。有意な配列相同がないことを示す結果が得られた場合は、新たに発現したタンパク質のアレルギー誘発性評価においてこの方法でまとめたその他のデータと合わせて考慮すべきである。必要に応じ、更なる研究を実施すべきである (セクション 4・5 参照)。配列相同検査でプラスの結果がでた場合、新たに発現したタンパク質はアレルギー誘発性である可能性が高いことを示す。この製品をさらに検討する必要がある場合は、同定されたアレルギー誘発性供給源に対して感作された個人の血清を用いて評価すべきである。

セクション 3.3—ペプシン耐性

12. いくつかの食品アレルゲンにおいて、ペプシン消化に対する耐性が認められており、ペプシン耐性とアレルギー誘発性には相関関係がある³。従って、適切な条件下でペプシンが存在する場合に分解に対するタンパク質の耐性が認められれば、新たに発現したタンパク質がアレルギー誘発性である可能性を調べるためにさらに分析を行うべきである。整合性があり十分に検証されたペプシン分解プロトコールが確立されれば、この方法の有効性が高まる可能性がある。しかし、ペプシン耐性がない場合も新たに発現したタンパク質が関連アレルゲンである可能性を排除することにはならないことを考慮すべきである。
13. ペプシン耐性プロトコールは強く推奨されるが、他の酵素感受性プロトコールがあることも認識されている。正当性が示されれば、別のプロトコールを用いてもよい⁴。

³ 相関関係の確立において米薬局方 (1995 年) に概説する方法を用いた (Astwood 他、1996 年)。

⁴ バイオテクノロジー応用食品のアレルギー誘発性に関する FAO/WHO 合同専門家会議報告書 (2001 年) : セクション 6.4 「ペプシン耐性」。

セクション 4—特定血清スクリーニング

14. アレルギー誘発性である、または既知のアレルゲンとの配列相同が明らかな供給源に由来するタンパク質については、血清が利用できる場合は免疫学的検査における試験を実施すべきである。当該のタンパク質の供給源に対するアレルギーが臨床的に検証された個人の血清を用いて、インビトロアッセイにおいてタンパク質の IgE クラス抗体との特異的結合を調べることができる。この試験において重要な問題は、十分な数の個人からヒト血清が得られるかどうかである⁵。さらに、血清の質とアッセイ手順を標準化して有効な試験結果を出す必要がある。供給源のアレルギー誘発性が不明で、既知のアレルゲンに対する配列相同を示さないタンパク質については、パラグラフ 17 に示したように標的血清スクリーニングが利用できる場合は、これを考慮することができる。
15. 既知のアレルギー誘発性供給源に由来する新たに発現したタンパク質の場合、インビトロの免疫学的検査における陰性結果だけでは十分ではないと考えられる場合があり、皮膚テストやエクスピボプロトコールなど補足的試験を促すべきである⁶。こうした試験における陽性結果はアレルゲンの可能性を示す。

セクション 5—その他の検討事項

16. 新たに発現したタンパク質に対する絶対的曝露と、関連する食品加工の影響は、ヒトの健康に対するリスクの可能性に関する総合的な結論に影響を与える。このため、適用される加工の種類や最終食品中のタンパク質の存在に対する影響を判断する上で、対象食品の本質を考慮すべきである。
17. 科学的知識と技術の進歩に伴い、評価方法の一環としての新たに発現したタンパク質のアレルギー誘発性評価においてその他の方法や手段も考慮することができる。こうした方法は科学的な信頼が得られるものであるべきである。これには、標的血清スクリーニング（広範な関連領域の食品に対するアレルギー反応が臨床的に認証されている患者の血清における IgE 結合の評価）、国際血清バンクの開発、動物モデルの使用、新たに発現したタンパク質の T 細胞エピトープやアレルゲンに関わる構造的モチーフの研究などが含まれる。

⁵ バイオテクノロジー応用食品のアレルギー誘発性に関する FAO/WHO 合同会議（2001 年 1 月 22-25 日、イタリア・ローマ）の合同報告書によれば、主要アレルゲンの場合、新たなタンパク質がアレルゲンではないことを 99% 確実にするためには最低 8 つの関連血清が必要である。同様に、非主要アレルゲンについて同じ確実性を期すためには最低 24 の関連血清が必要である。これだけの量の血清は試験のためには利用できないことが認識されている。

⁶ エクスピボ過程とは、アレルギー患者の細胞・組織培養を用いたアレルギー誘発性試験とされている（バイオテクノロジー応用食品のアレルギー誘発性に関する FAO/WHO 合同専門家会議の報告書）。