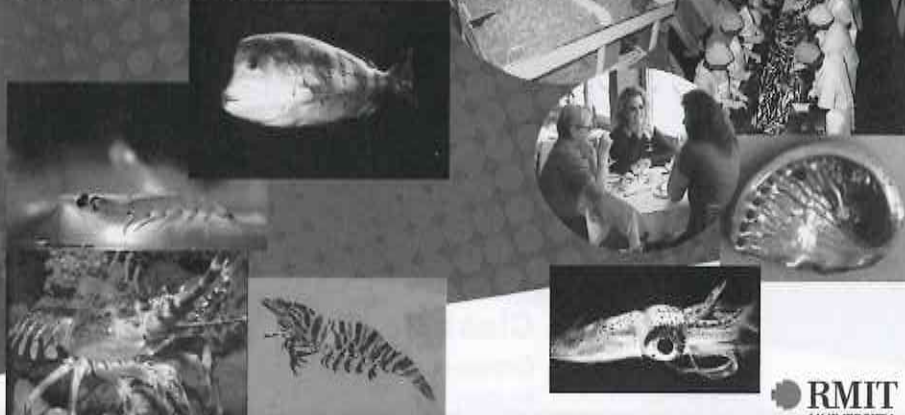


Adverse Reactions to Seafood - Diagnostic & Molecular Aspects

Andreas Lopata
RMIT
School of Applied Sciences
Allergy Research Group



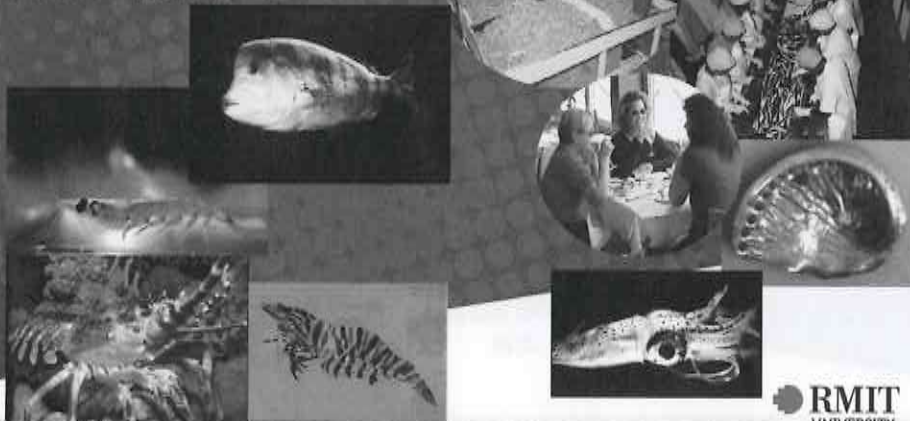
2008 RMIT University

School of Applied Sciences

RMIT
UNIVERSITY

海産物に対する有害反応 - 診断および分子的理解

アンドレアス・ロバタ
RMIT
応用科学部
アレルギー研究グループ

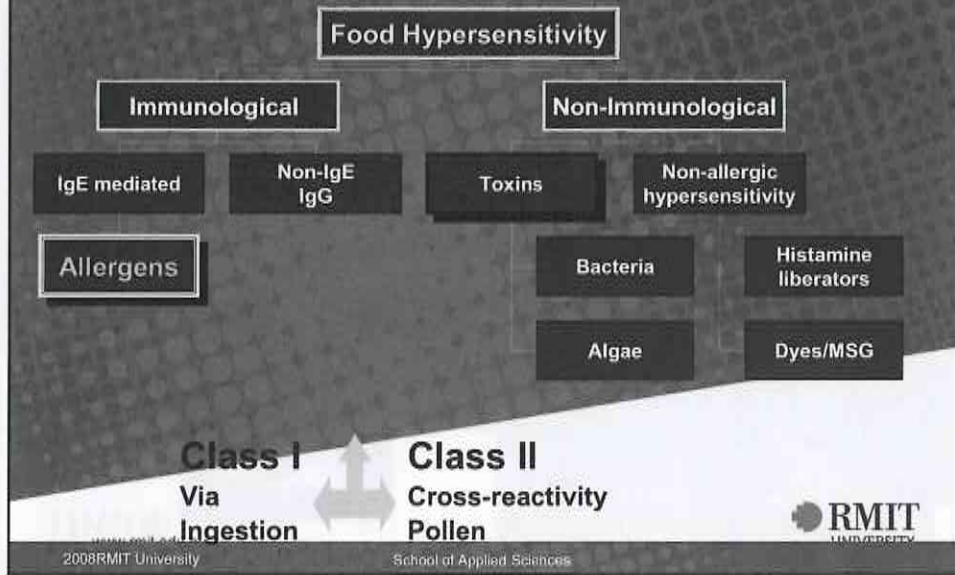


2008 RMIT University

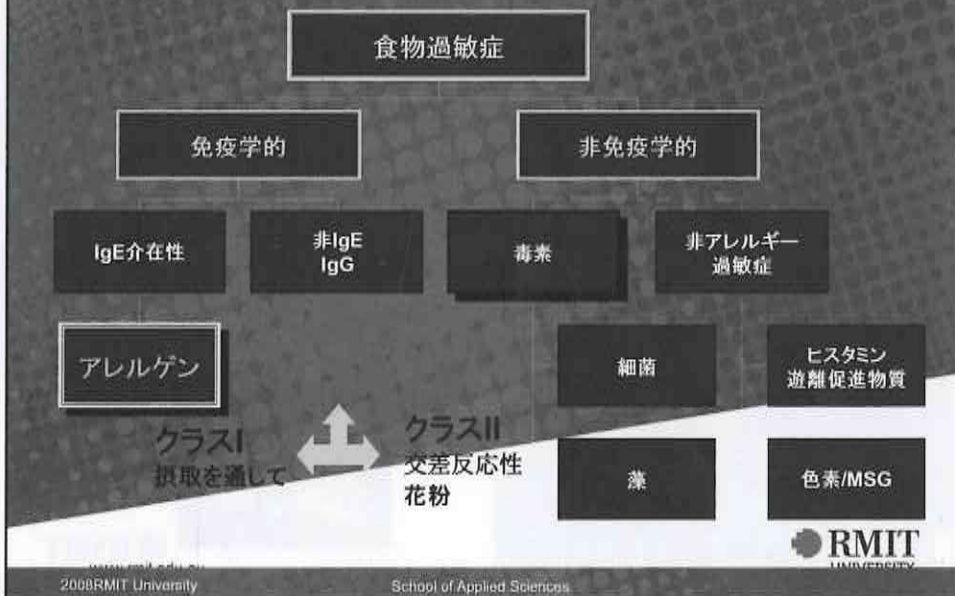
School of Applied Sciences

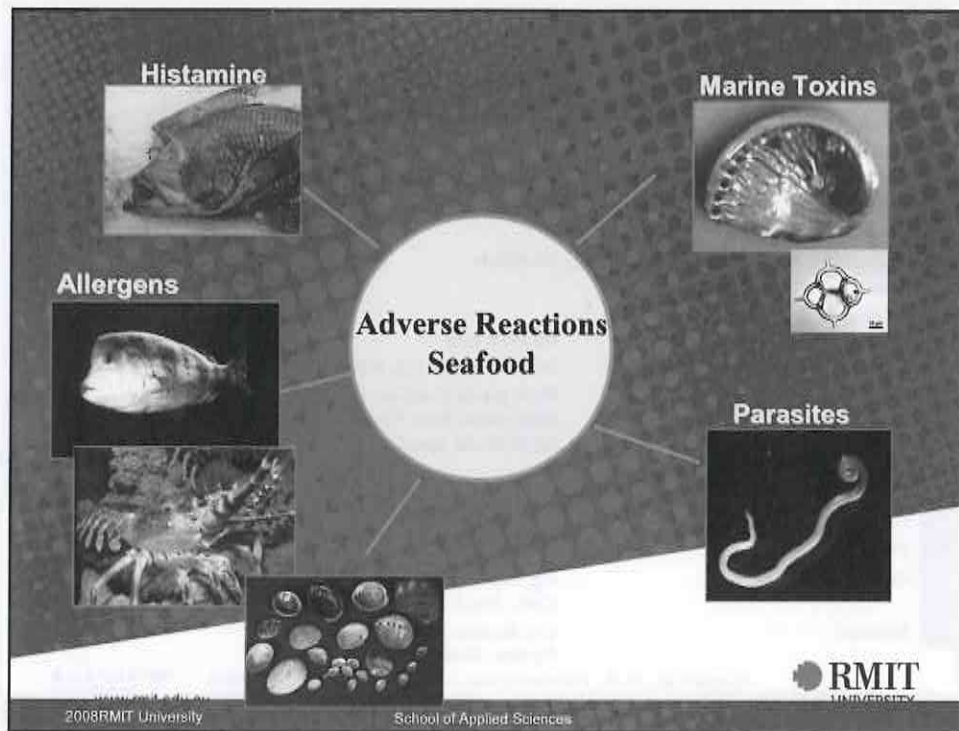
RMIT
UNIVERSITY

Adverse Reactions to Seafood



海産物に対する有害反応





Adverse reactions to Seafood

Etiology	Seafood implicated	Clinical symptoms	Time of onset
<u>Bacterial</u> Salmonella, Vibrio, Aeromonas, Listeria	Fish, Crustacean, Mollusc		
<u>Viral</u> Hepatitis A, Rota-, Astrovirus, Small round structured Viruses etc.	Shellfish	Dermatological	
<u>Parasites</u> Anisakis Diphyllobothrium	All Fish and cephalopods (e.g. squid)	Gastrointestinal	Minutes to
<u>Toxins</u> Scombrototoxin Ciguatera toxin Algae toxins	Fish, particularly with dark meat; Reef Fish All Mollusc species	Neurological	several
<u>Allergens</u> Fish Crustacean Mollusc	e.g. Codfish, Salmon, Hake, Yellowtail e.g. Shrimp, Lobster, Crab, Rock Lobster e.g. Mussel, Squid, Oyster, Abalone	Respiratory	hours

(Lopata AL et al., *Current Opinion Allergy Clin Immunology*, 2009)

2008RMIT University

School of Applied Sciences

RMIT UNIVERSITY

海産物に対する有害反応

病因	関係する海産物	臨床症状	症状発現時間
<u>細菌</u> サルモネラ菌、ビブリオ菌、アエロモナス菌、リステリア菌	魚類、甲殻類、軟体動物類		
<u>ウイルス</u> A型肝炎、ロタウイルス、アストロウイルス、小型球形ウイルスなど	甲殻類	皮膚	
<u>寄生虫</u> アニサキス 裂頭条虫属	すべての魚および頭足動物 (例:イカ)	胃腸	
<u>毒素</u> サバ毒素 シガテラ毒素 藻毒素	特に赤身の魚、サンゴ礁に棲む魚類 すべての軟体動物類	神経	数分~ 数時間
<u>アレルギー</u> 魚類 甲殻類 軟体動物類	例: タラ、鮭、メルルーサ、黄色の尾をもつ魚 例: 小エビ、ロブスター、カニ、イセエビ 例: イガイ、イカ、カキ、アワビ	呼吸	

出典

(Lopata AL et al., *Current Opinion Allergy Clin Immunology*, 2009)

2008RMIT University

School of Applied Sciences

RMIT UNIVERSITY

The Toxins



Figure 1. Best Tide image



Alexandrium catenella

- 1) Scombroid Toxins (Histamine) – Fish
- 2) Marine Biotoxins – Mussels
- Oysters

毒素



Figure 1. Best Tide image



Alexandrium catenella

- 1) サバ毒素 (ヒスタミン) – 魚
- 2) 海産毒 – イガイ
- カキ

The Parasite



FIG. 1. High-level parasitism by *Anisakis simplex* L3 in the flesh of a hake (*Merluccius merluccius*). Larvae persist in an arrested development stage (hypobiosis) prior to ingestion by the final host. Embedded larvae are dark in color due to a protective cuticle and different from the pinkish-white color typical of free and motile L3 (see Fig. 4).

ANISAKIS pegreffii



2008 RMIT University

School of Applied Sciences

寄生虫



図1. メルルーサ(学名:Merluccius merluccius)の肉におけるアニサキス・シンプレックL3の高度の寄生。幼虫は、終宿主に摂取される前に、季節的発育停滞現象(発育休止)が続く。付着した幼虫は、保護表皮のため色が黒く、自由に移動できるL3に特有のピンクがかった白とは異なる(図4を参照)。

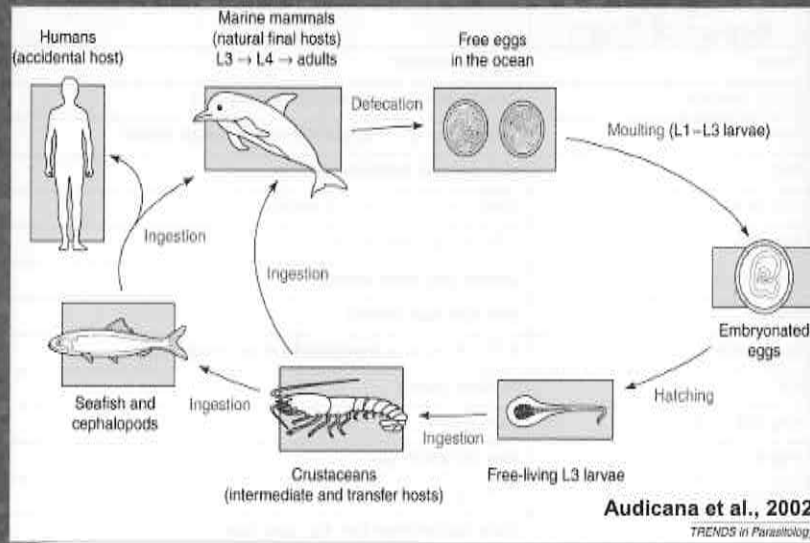
アニサキス科線虫類



2008 RMIT University

School of Applied Sciences

LIFE CYCLE OF Parasite *Anisakis simplex*

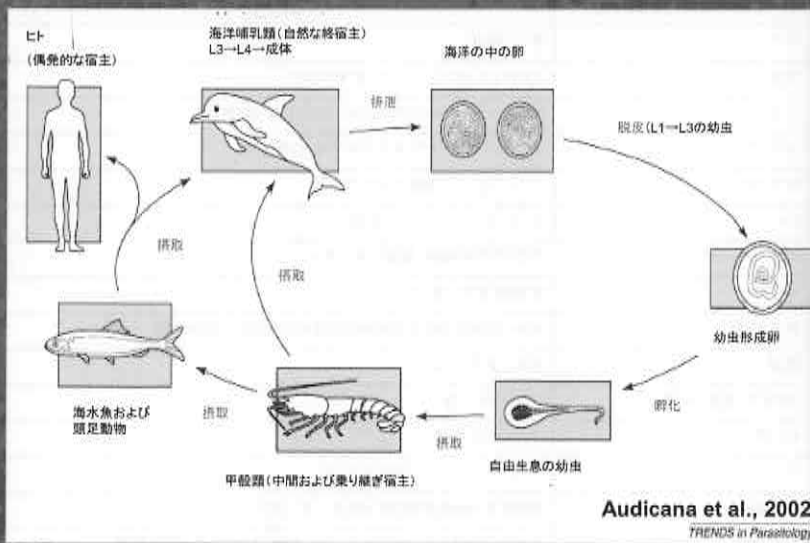


2008RMIT University

School of Applied Sciences



寄生虫アニサキス・ジブレックのライフサイクル



2008RMIT University

School of Applied Sciences



Dishes at risk of containing infectious anisakid larvae

Country or Region of Origin	Dish
Japan	Sushi or sashimi
South America	Ceviche (raw fish marinated in lemon juice)
Spain	boquerones en vinagre (anchovies in vinegar sauce)
Italy	alici marinate (pickled anchovies)
The Netherlands	Green herring (salted or smoked)
Germany	rollmops (pickled herring)
Scandinavia	gravlax (dry, cured salmon)
Hawaii	lomi-lomi (raw salmon)
South Africa	Smoked snoek or undercooked cater (snoek roe)
U.K.	Smoked salmon
Italy, U.K., U.S.A.	Seared tuna
Russia	Raw caviar/fish roe
Malaysia	Fish tripe (undercooked)
Worldwide	Undercooked fresh fish, e.g. hake, cod
Worldwide	Raw or undercooked squid, octopus, molluscs and crustaceans

2008RMIT University

School of Applied Sciences

感染性のアニサキス科幼線虫を含むリスクのある料理

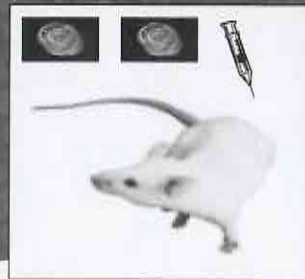
原産国、原産地	料理
日本	寿司、刺身
南米	セビチェ(レモンジュースに漬けた生魚)
スペイン	ボケロネス・エン・ピナグレ(かたくちいわしの酢漬)
イタリア	アリーチ・マリナーテ(かたくちいわしの塩漬)
オランダ	グリーンニシン (塩漬または薫製)
ドイツ	ロールモップス(ニシンの酢漬)
スカンジナビア	グラブルクス(乾燥、塩漬サーモン)
ハワイ	ロミロミ(生サーモン)
南アフリカ	スモークスニョックまたは加熱の不十分な仕出し(スニョック卵)
英国	スモークサーモン
イタリア、英国、米国	マグロのたたき
ロシア	生キャビア/魚卵
マレーシア	フィッシュトライプ (加熱が不十分)
世界全体	加熱が不十分な生魚(例:メルルーサ、タラ)
世界全体	生または加熱が不十分なイカ、タコ、軟体動物類、および甲殻類

2008RMIT University

School of Applied Sciences

RMIT
UNIVERSITY

Exposure to the fish parasite *Anisakis*
causes allergic airway hyperreactivity
and dermatitis



Nieuwenhuizen, Lopata et al., *J Allergy Clin Immunol* 2006

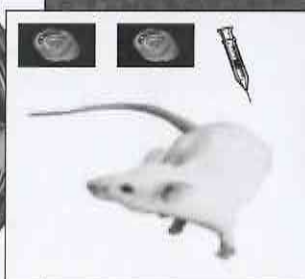
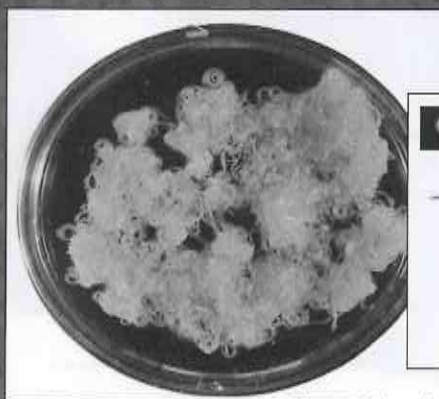
Anisakis pegreffii



2008RMIT University

School of Applied Sciences

魚の寄生虫であるアニサキスへの暴露により
アレルギーによる気道過敏性
および皮膚炎を起こす



出典: Nieuwenhuizen, Lopata et al., *J Allergy Clin Immunol* 2006

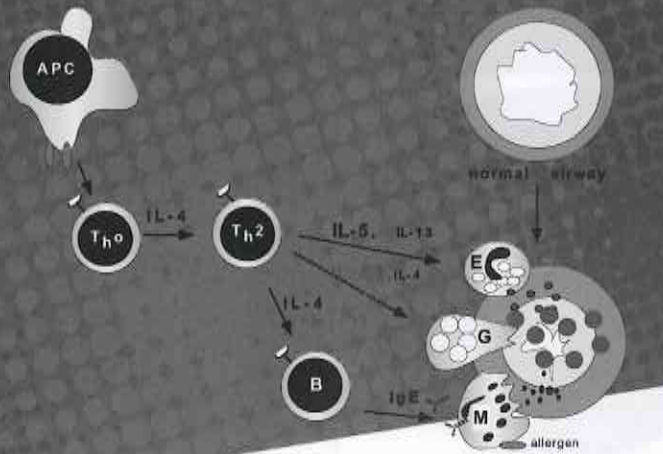
アニサキス科線虫類



2008RMIT University

School of Applied Sciences

Allergic Asthma Model



Airway obstruction

(Gruenig et al, 1998, *Science*, 282:2261)

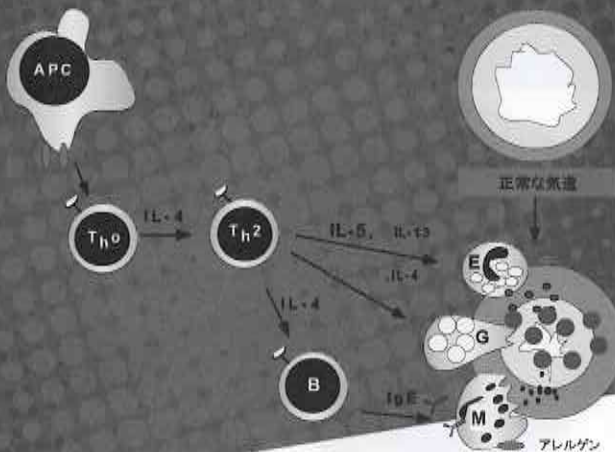
(Kopf et al, 1996, *Immunity*, 4:15; Coyle et al, 1998, *Europ. J. Immunol.* 28:2640)



2008RMIT University

School of Applied Sciences

アレルギー性ぜんそくのモデル



気道の閉鎖

(Gruenig et al, 1998, *Science*, 282:2261)

(Kopf et al, 1996, *Immunity*, 4:15; Coyle et al, 1998, *Europ. J. Immunol.* 28:2640)



2008RMIT University

School of Applied Sciences

Seafood

Allergy and Allergens

© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences



海産物

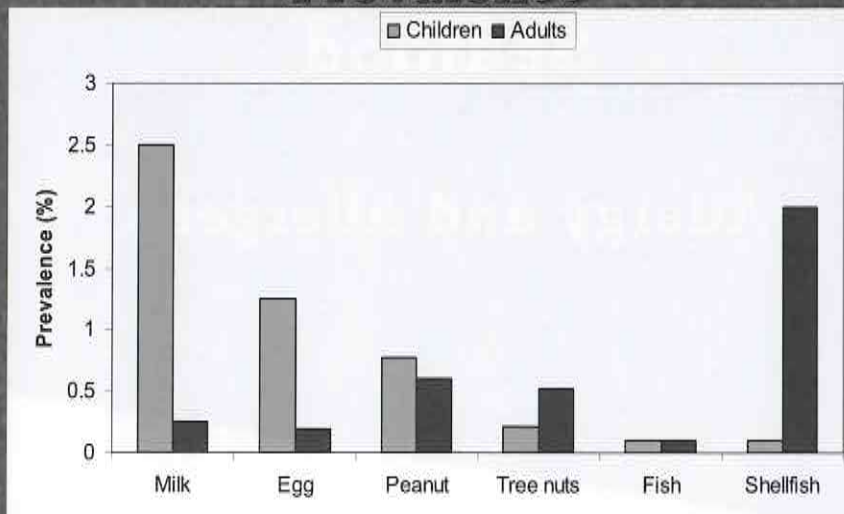
アレルギーとアレルゲン

© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences



Food Allergy Prevalence

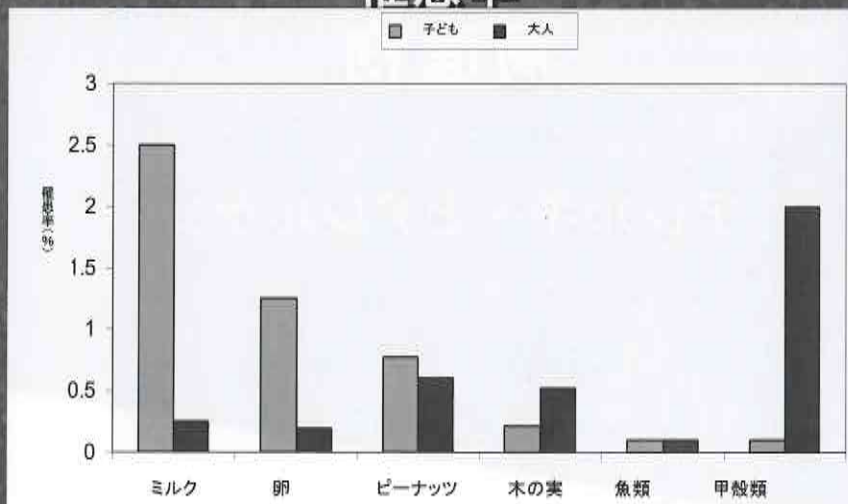


2008 RMIT University

School of Applied Sciences



食物アレルギー罹患率



2008 RMIT University

School of Applied Sciences



Seafood Allergy - Prevalence

Country	Number of individuals investigated	Prevalence (%)	
		Shellfish	Fish
Thailand	202	22	ND
Philippines	38	58	63
Singapore	334	15	ND
Singapore	227	39	ND
Taiwan	392	21	ND
Indonesia	600	24	18
Hong Kong	80	ND	17.5
Japan	97	ND	9.3
France	580	34	ND
Spain	355	6.8	17.8
South Africa	105	55	20
Australia*	620	ND	0.07
USA*	14,948	2	0.4

2008 RMIT University

School of Applied Sciences



海産物アレルギー - 罹患率

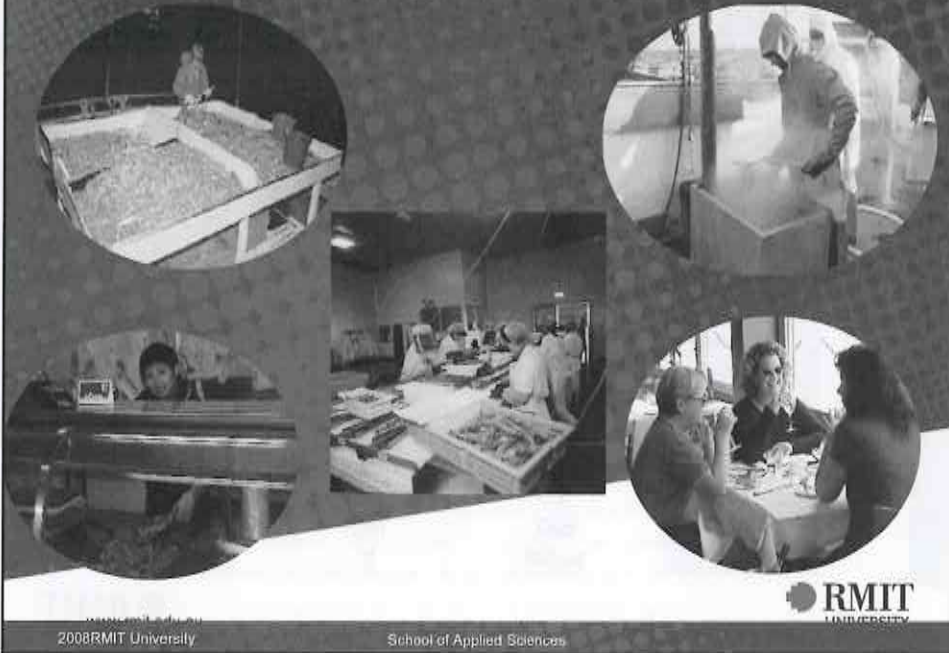
国名	調査対象数	罹患率 (%)	
		甲殻類	魚類
タイ	202	22	ND
フィリピン	38	58	63
シンガポール	334	15	ND
シンガポール	227	39	ND
台湾	392	21	ND
インドネシア	600	24	18
香港	80	ND	17.5
日本	97	ND	9.3
フランス	580	34	ND
スペイン	355	6.8	17.8
南アフリカ	105	55	20
オーストラリア*	620	ND	0.07
米国*	14,948	2	0.4

2008 RMIT University

School of Applied Sciences



Seafood - People at Risk?

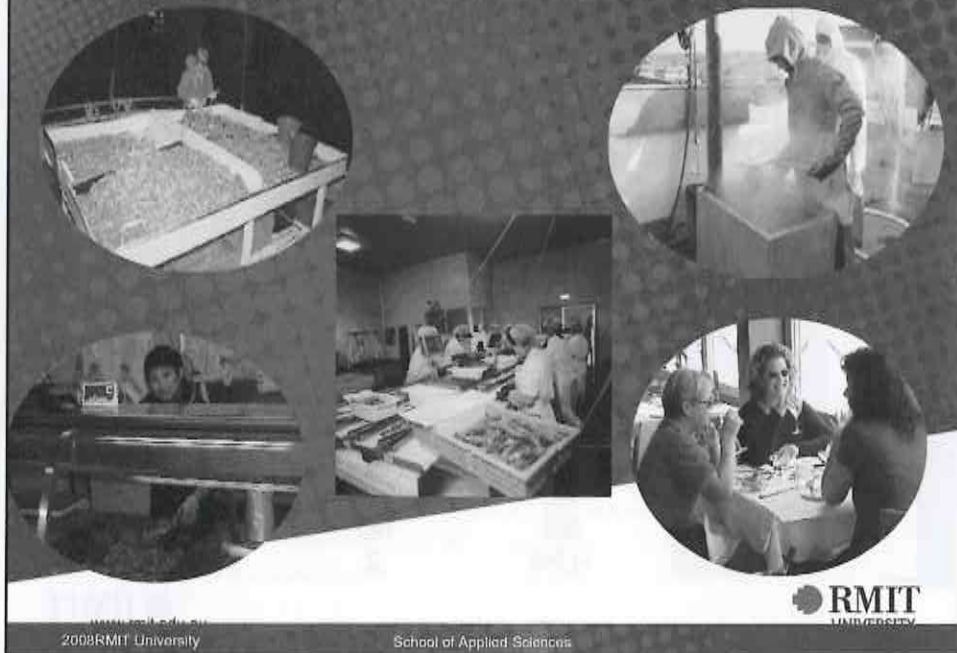


2008 RMIT University

School of Applied Sciences



海産物 - リスクにさらされている人々？

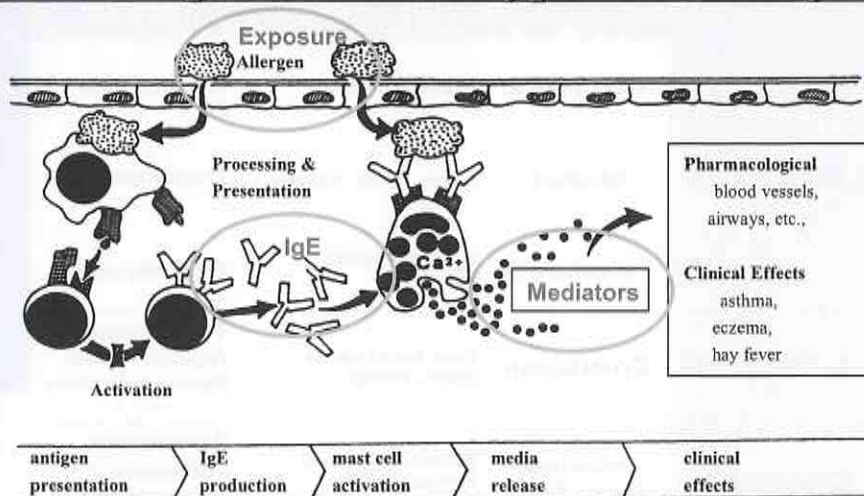


2008 RMIT University

School of Applied Sciences



Induction and effector mechanisms in IgE-mediated hypersensitivity

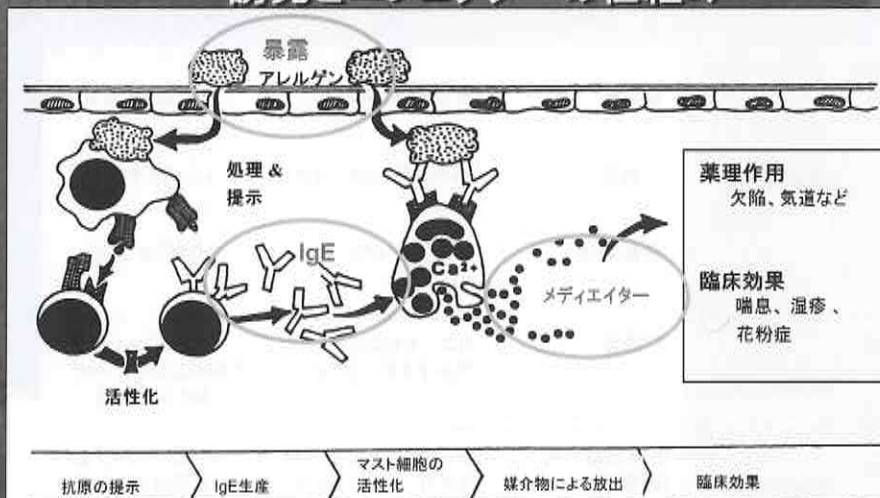


2008RMIT University

School of Applied Sciences



IgE-介在性過敏症における誘発とエフェクターの仕組み



2008RMIT University

School of Applied Sciences



Seafood - Allergens

Phylum	Class	Common Name	Allergens
Molluscs	Gastropods	Abalone, snail	• Tropomyosin • ?
	Bivalves	Clams, oyster, mussel	• Tropomyosin • ?
	Cephalopods	Squid (cuttlefish), octopus	• Tropomyosin • ?
Arthropods	Crustacean	Crab, Rock Lobster, prawn, shrimp	• Tropomyosin • Arginine kinase • Myosin light chain
Chordates	Osteichthyes (bony fish)	Salmon, hake, tuna, herring, sardine, mackerel, carp	• Parvalbumin • Vitellogenin ? • Skin collagen ?

Lopata AL & Lehrer S, Current Opinion Allergy and Clinical Immunology, 2009



2008RMIT University

School of Applied Sciences

海産物 - アレルゲン

門	綱	一般名	アレルゲン
軟体動物	腹足類	アワビ、カタツムリ	• トロポミオシン • ?
	二枚貝	ハマグリ、カキ、イガイ	• トロポミオシン • ?
	頭足動物	イカ(コウイカ)、タコ	• トロポミオシン • ?
節足動物	甲殻類	カニ、イセエビ、クルマエビ、小エビ	• トロポミオシン • アルギニンキナーゼ • ミオシン軽鎖
脊索動物	硬骨魚綱の魚 (硬骨魚)	サーモン、メルルーサ、マグロ、ニシン、イワシ、サバ、鯉	• パルバアルブミン • ビテロゲニン? • 皮膚コラーゲン?

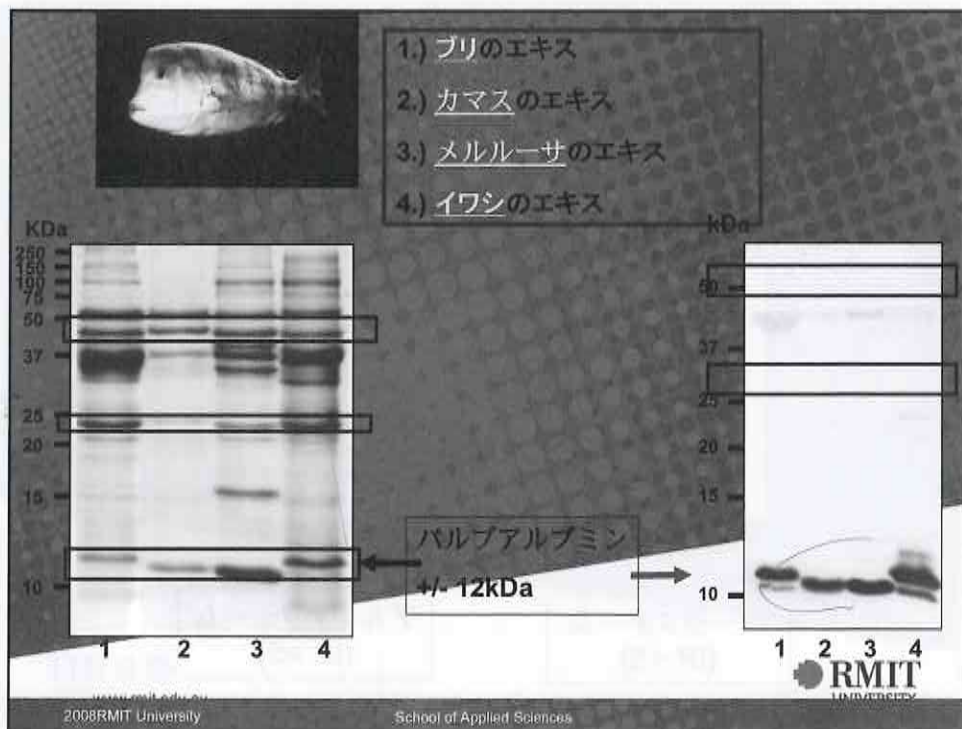
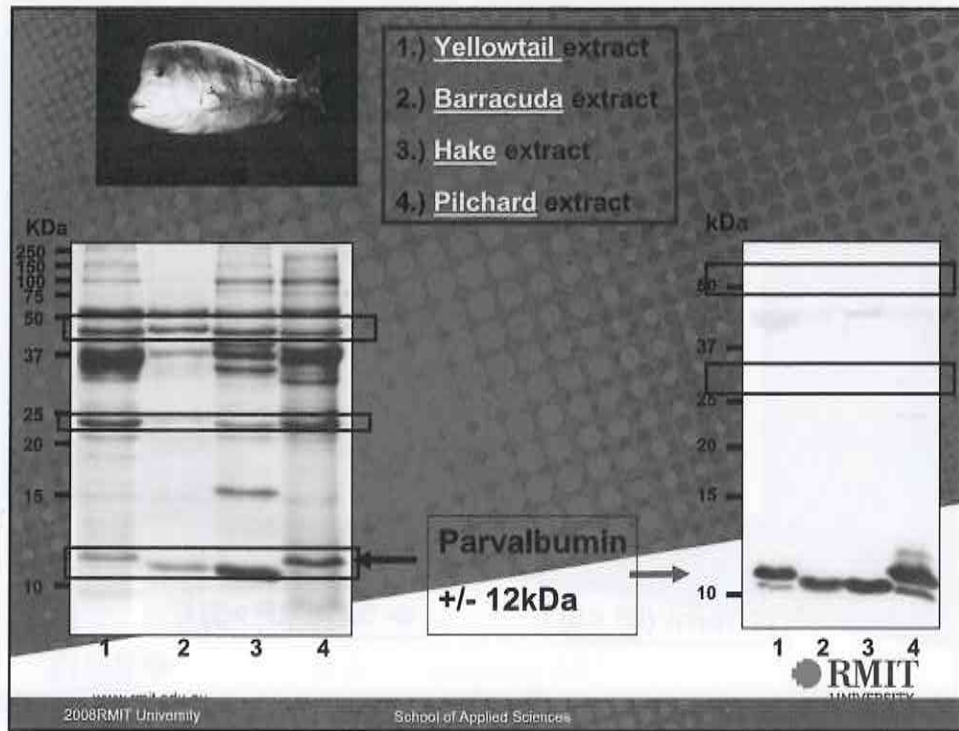
出典:

Lopata AL & Lehrer S, Current Opinion Allergy and Clinical Immunology, 2009

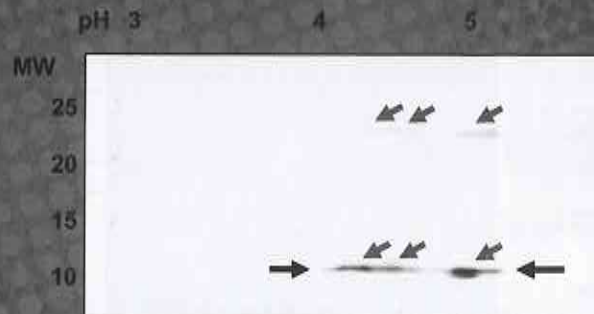


2008RMIT University

School of Applied Sciences



Characterisation of isoforms of parvalbumin by 2D-Electrophoresis

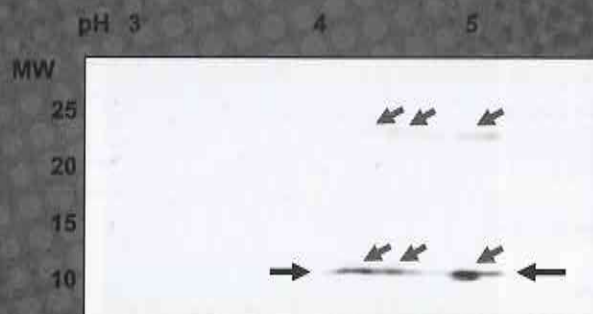


β - form (IP <5)

α - form (IP >5)



二次元電気泳動によるパルブアルブミンのアイソフォームの特徴付け



**ベータフォーム
(IP <5)**

**アルファフォーム
(IP >5)**



Abalone



www.mit.edu.au

RMIT
UNIVERSITY

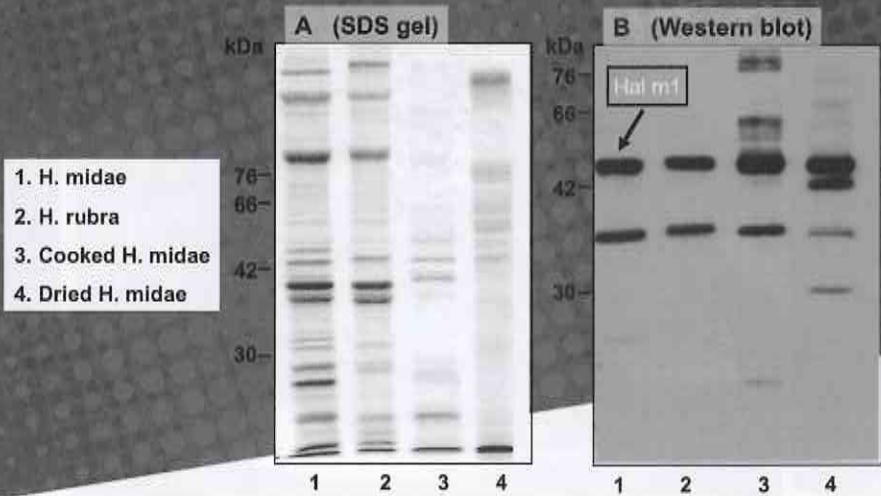
アワビ



www.mit.edu.au

RMIT
UNIVERSITY

Western blot to raw and cooked *Haliotis midae* (Abalone)



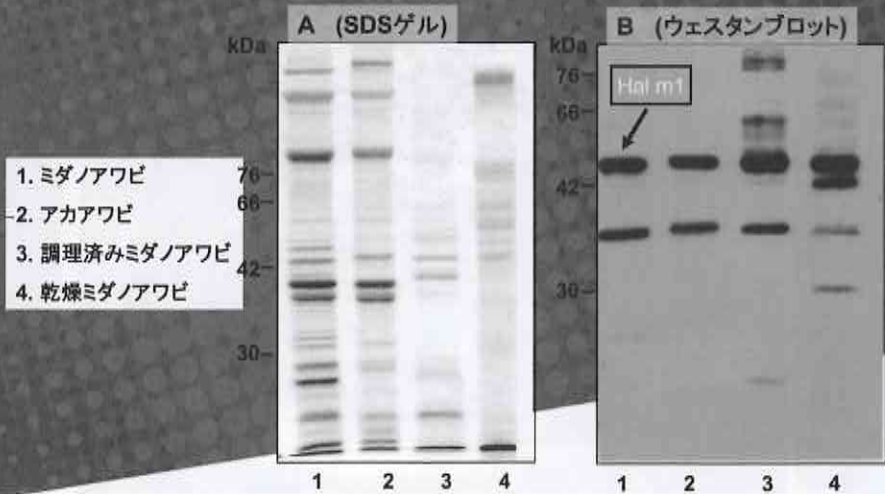
(Lopata AL et al., *J Allergy Clin Immunol* 1997)



2008RMIT University

School of Applied Sciences

生及び調理したミダノアワビ (アワビ) のウェスタンブロット



出典:

(Lopata AL et al., *J Allergy Clin Immunol* 1997)



2008RMIT University

School of Applied Sciences

Species-specific crustacean allergens



West Coast Rock Lobster (*Jasus lalandii*)



South Coast Rock Lobster (*Palinurus glaberrimus*)



East Coast Rock Lobster (*Panulirus homarus*)

© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences



甲殻類に特異的なアレルギー



アフリカ南イセエビ (*Jasus lalandii*)



アフリカイセエビ (*Palinurus glaberrimus*)



ケブカイセエビ (*Panulirus homarus*)

© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences



Heat stability of different Crustacean Proteins



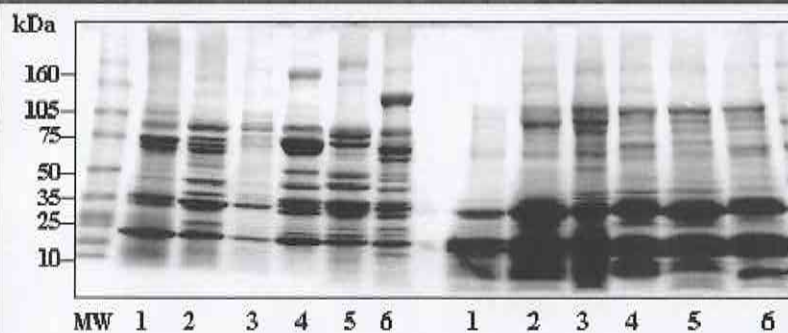
- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1. Shrimp | 5. Rock Lobster South Coast |
| 2. Prawn | 6. Rock Lobster East Coast |
| 3. Langoustine | |
| 4. Rock Lobster West Coast | |



2008RMIT University

School of Applied Sciences

異なる甲殻類のタンパク質の熱安定性



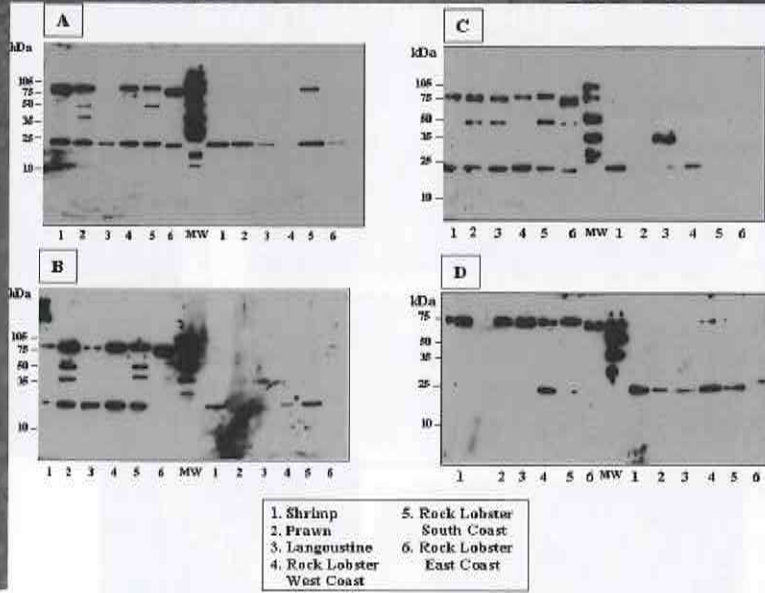
- | | |
|--------------|-------------|
| 1. 小エビ | 5. アフリカイセエビ |
| 2. クルマエビ | 6. ケブカイセエビ |
| 3. ウミザリガニ | |
| 4. アフリカ南イセエビ | |



2008RMIT University

School of Applied Sciences

Heat stability of Crustacean Allergen IgE binding

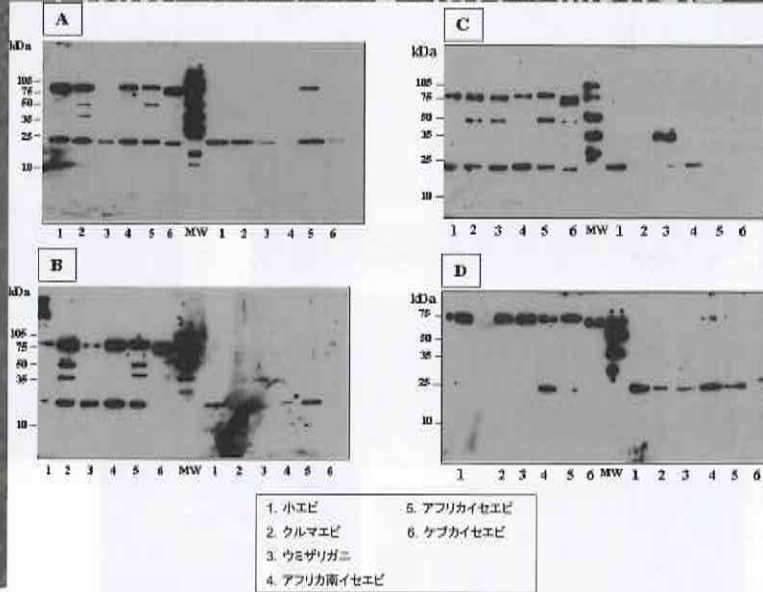


2008RMIT University

School of Applied Sciences



甲殻類アレルギーIgE結合の熱安定性

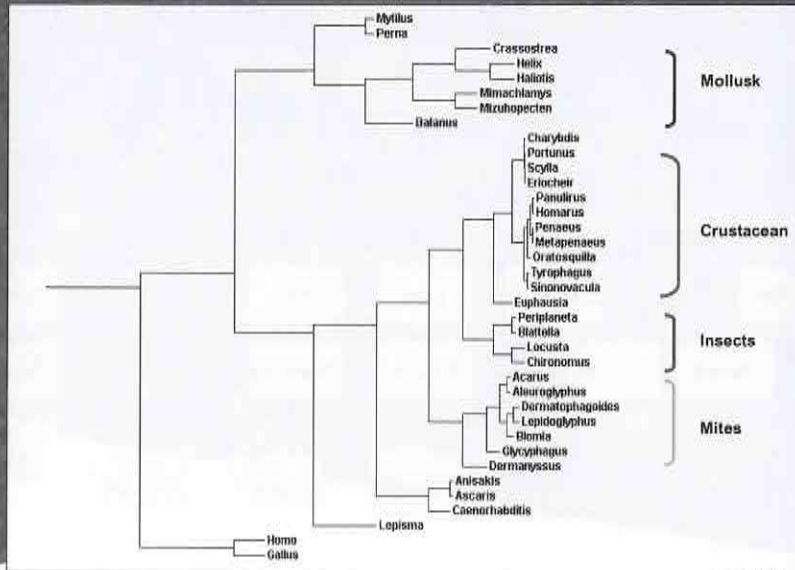


2008RMIT University

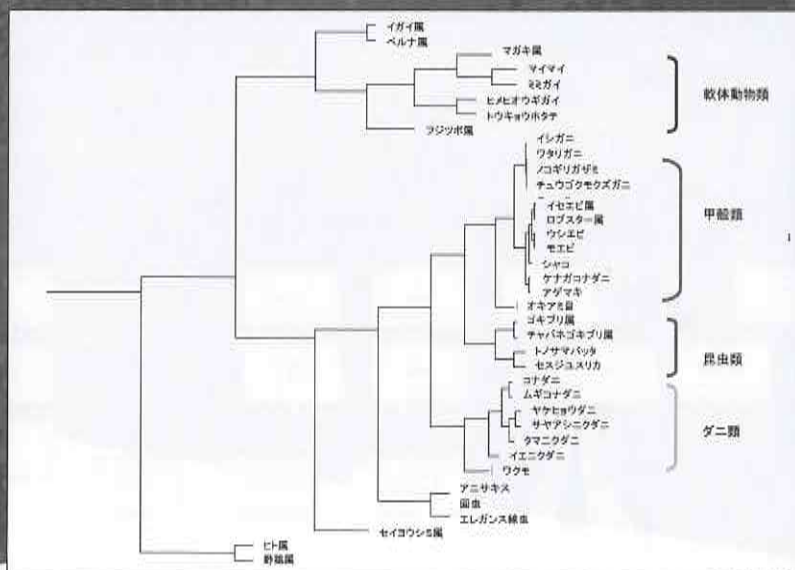
School of Applied Sciences



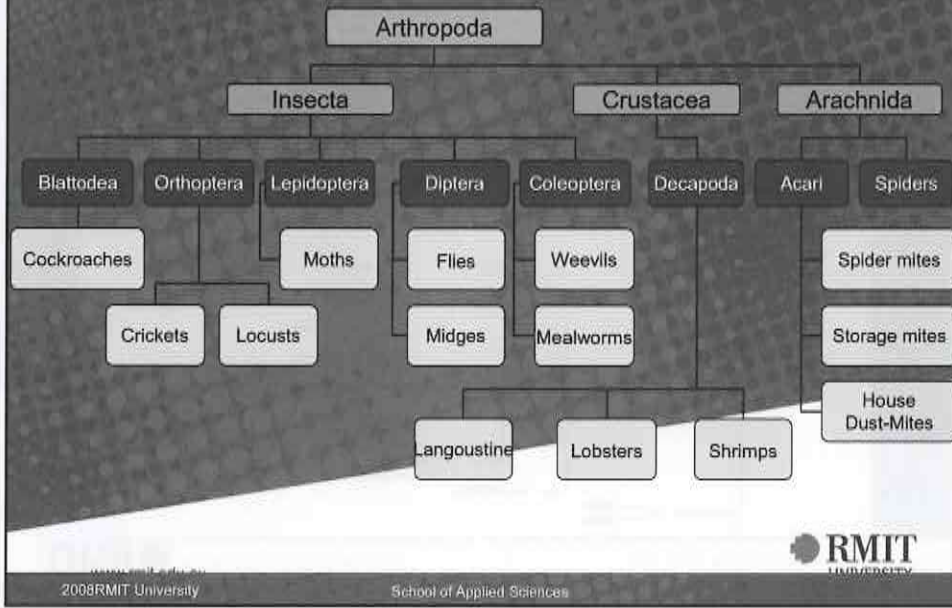
Molecular phylogenetic tree for tropomyosin



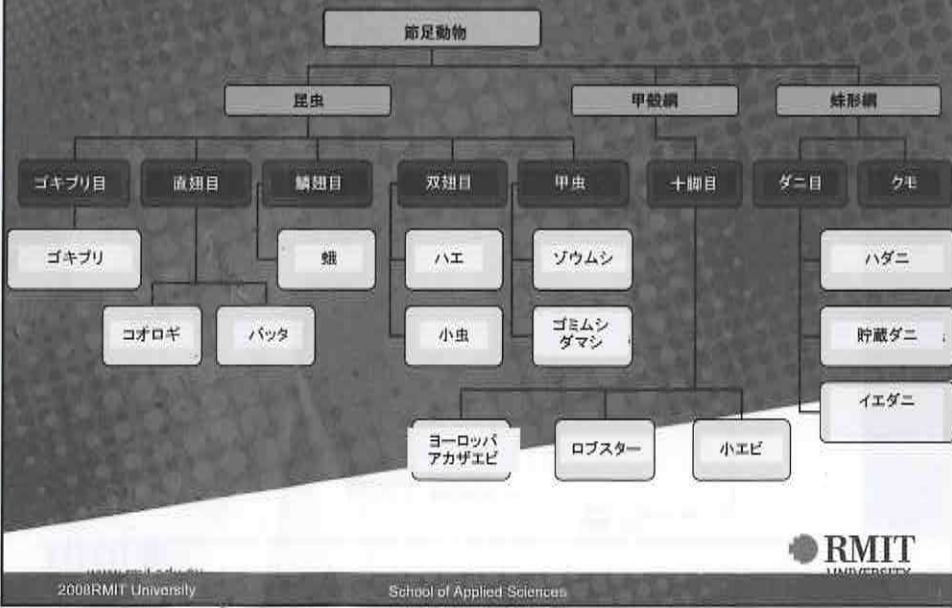
トロポミオシンの分子レベルの系統樹



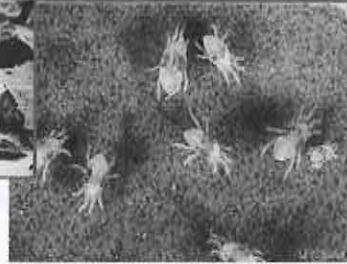
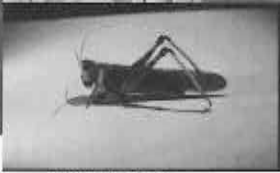
Allergenic Arthropods



アレルギーとなる節足動物



Food Allergy ?



2008RMIT University

School of Applied Sciences



食物アレルギー？

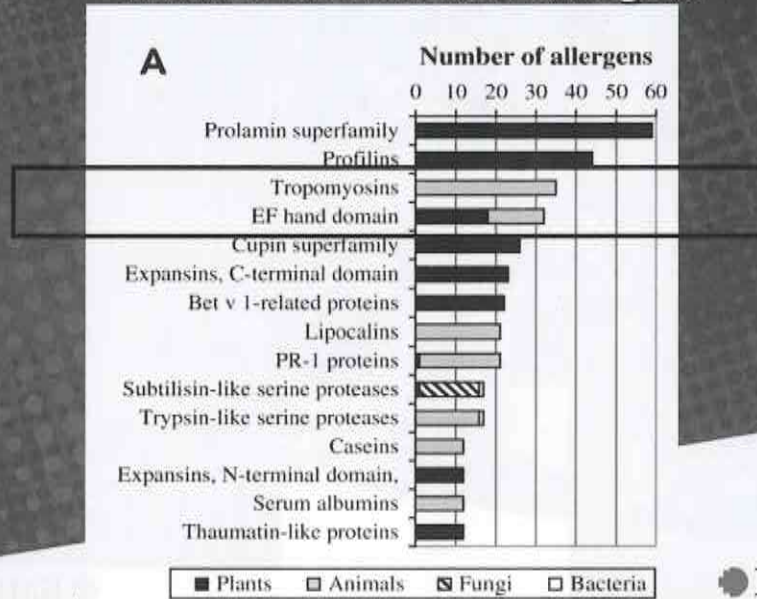


2008RMIT University

School of Applied Sciences



15 Protein families with the highest number of identified allergens

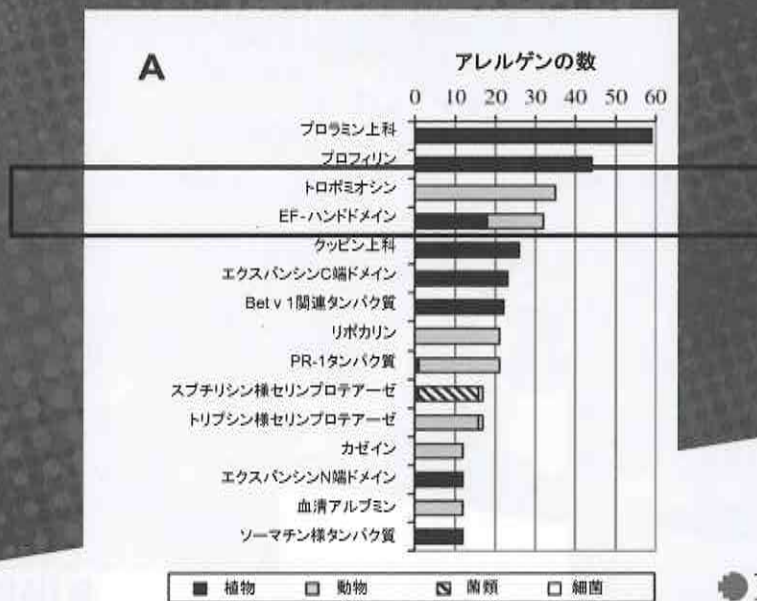


2008RMIT University

School of Applied Sciences



特定されたアレルゲンが最も多い15のタンパク質ファミリー

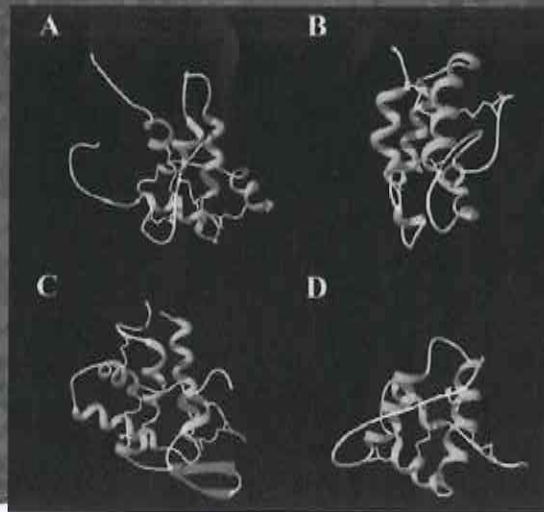


2008RMIT University

School of Applied Sciences



Secondary Structure of some Food Allergens



- A) Rapeseed
- B) Barley
- C) Wheat
- D) Soybean

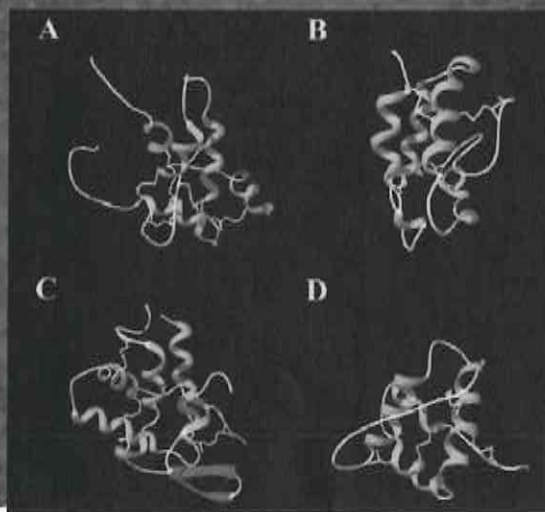
Breiteneder and Radauer (2004), J Allergy Clin Immunol



© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences

食物アレルゲンの二次構造の例



- A) 菜種
- B) 大麦
- C) 小麦
- D) 大豆

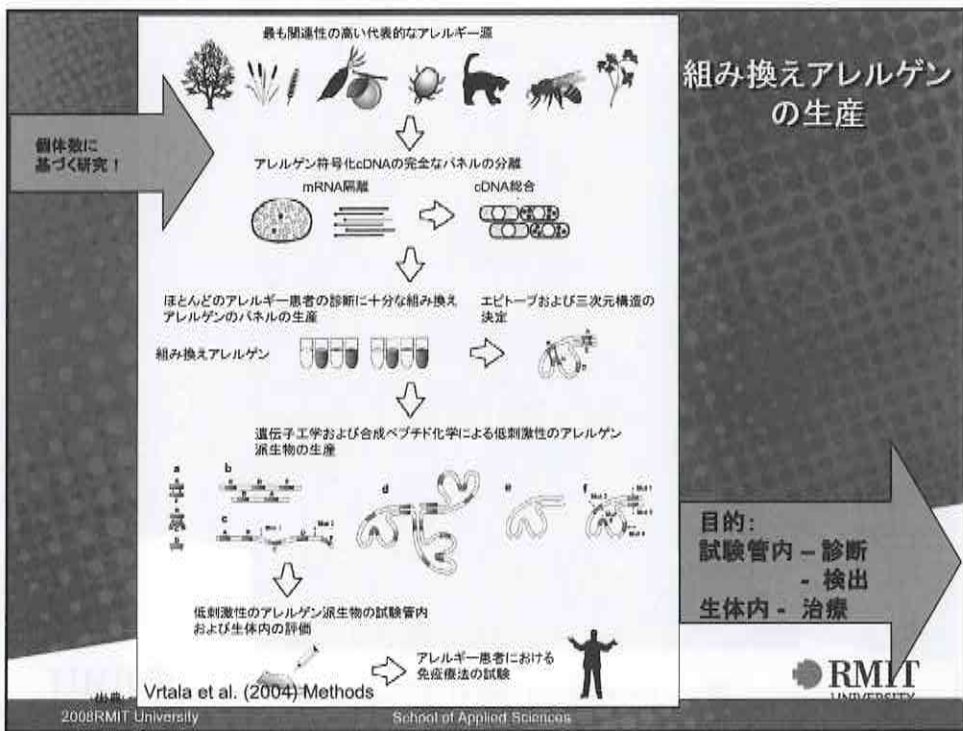
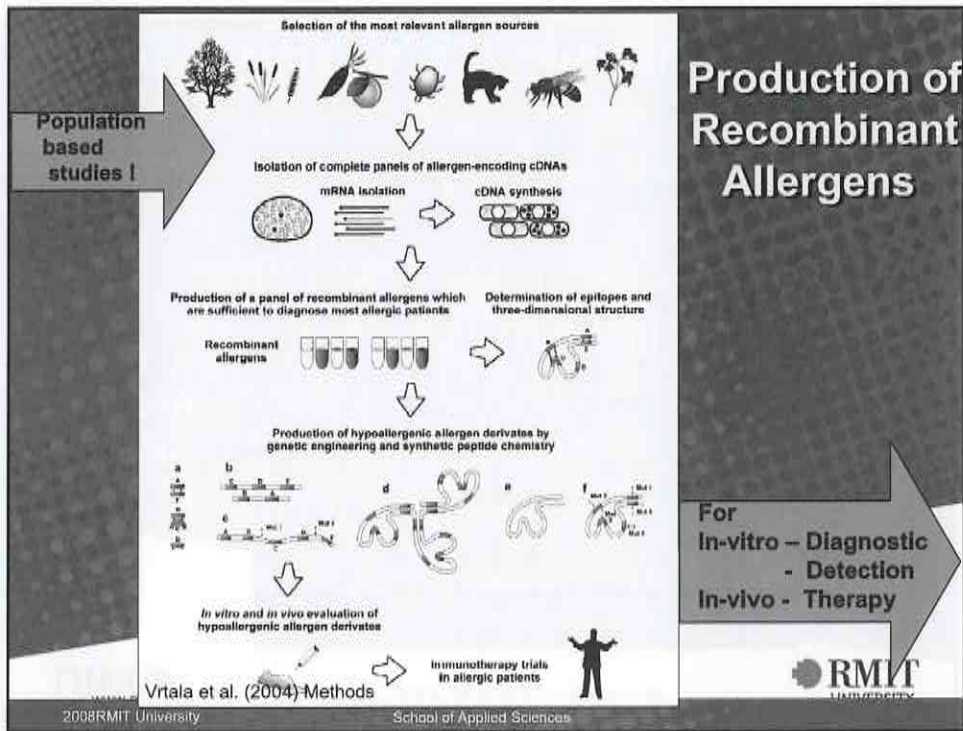
出典

Breiteneder and Radauer (2004), J Allergy Clin Immunol

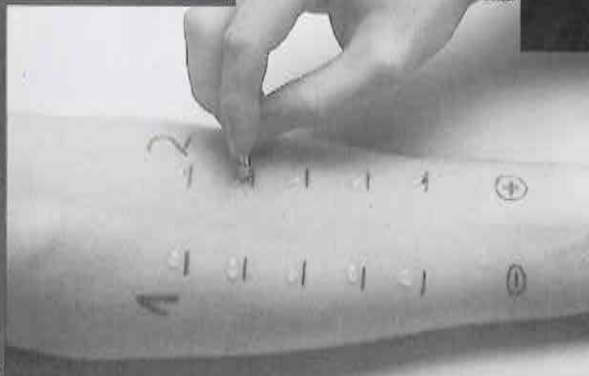


© 2008 RMIT University

School of Applied Sciences



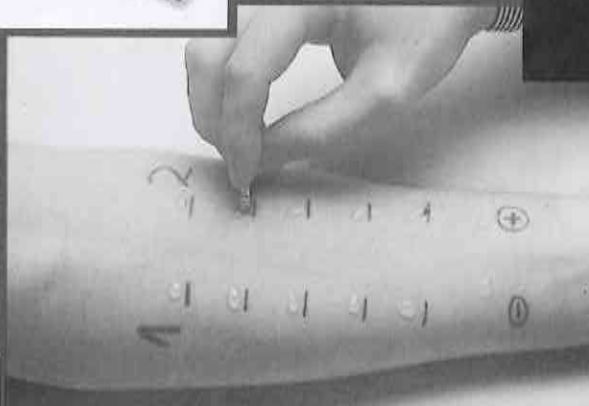
Allergen Skin-Prick testing



2008RMIT University

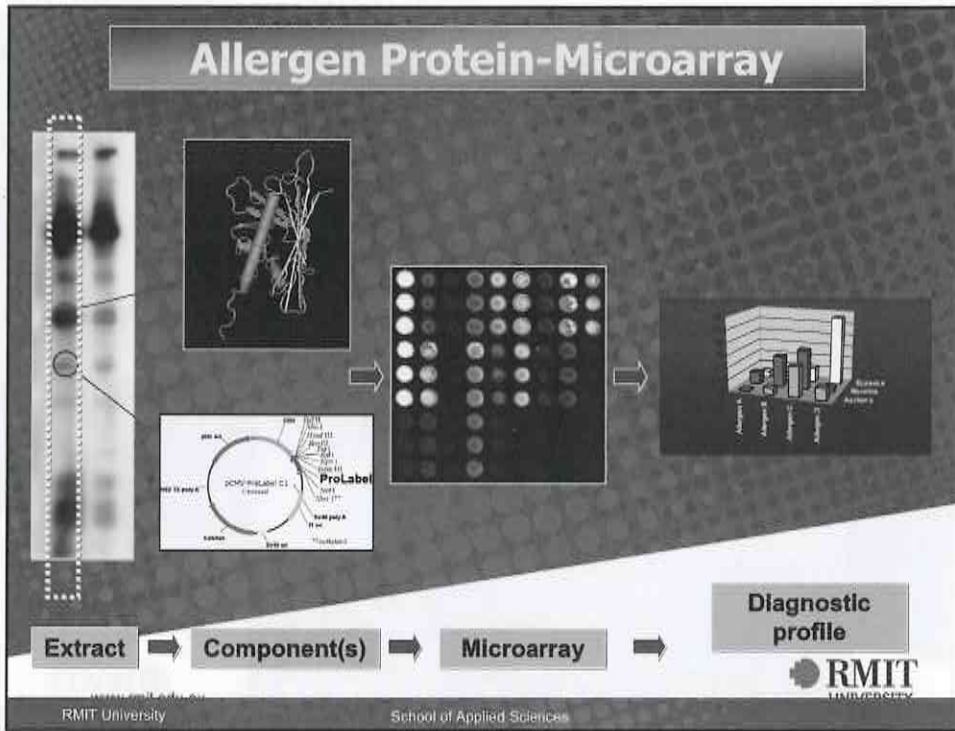
School of Applied Sciences

アレルギー皮膚プリックテスト

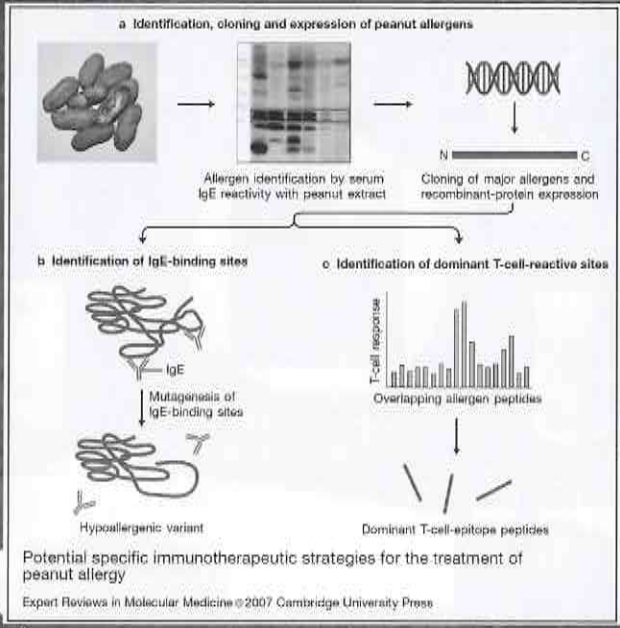


2008RMIT University

School of Applied Sciences



Allergen Immunotherapy development

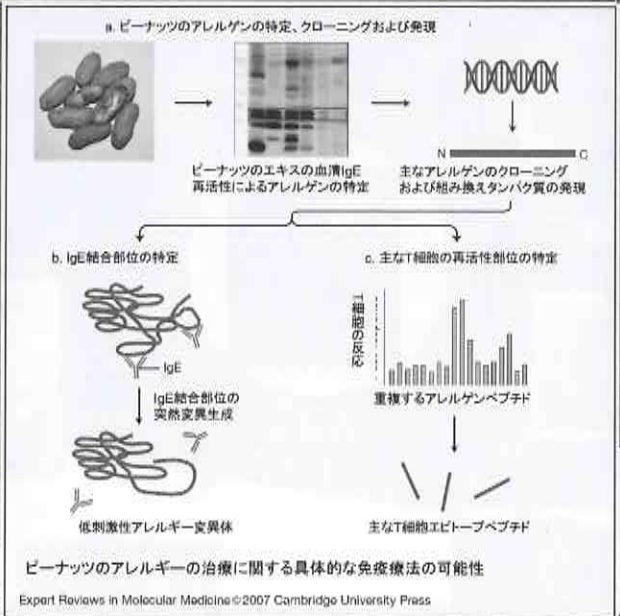


2008RMIT University

School of Applied Sciences



アレルギー免疫療法の開発

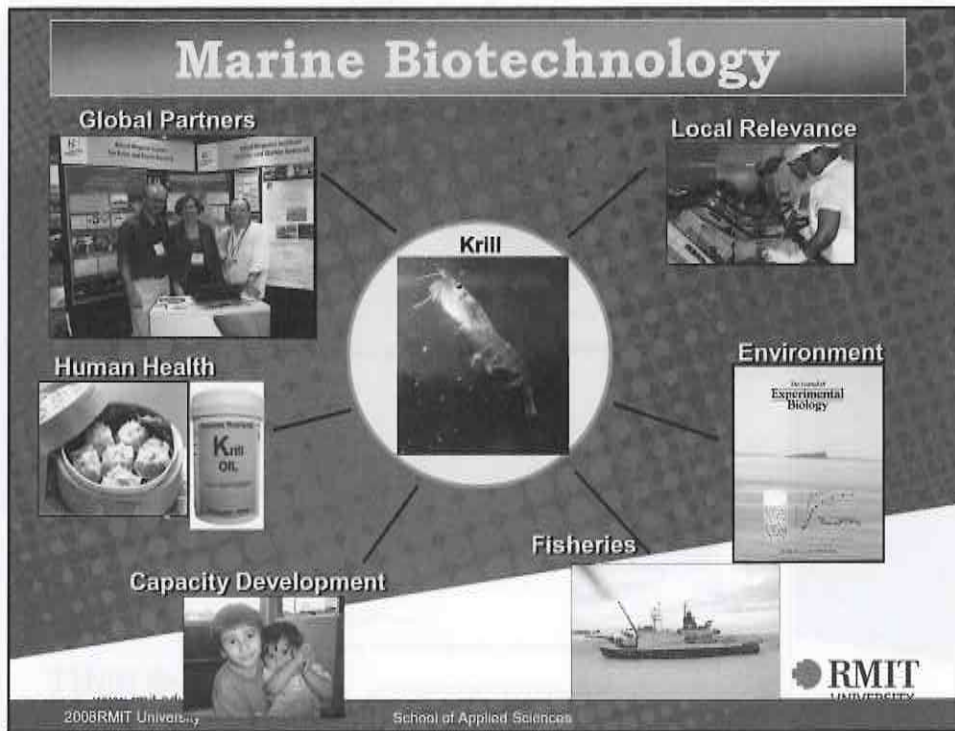


出典:

2008RMIT University

School of Applied Sciences





The Way Forward

- Allergens of fish and crustacean are exceptionally heat stable
- Novel tropomyosin and parvalbumin allergens characterized in Fish and Crustacean
- Handling of seafood and inhalation of the allergens important routes of sensitization
- Cross-reactivity of ingested Seafood and inhaled insect allergens observed
- Production of recombinant allergens essential for
 - Diagnosis
 - Detection
 - Immunotherapy

2008RMIT University

School of Applied Sciences

T
E

今後の方向性

- 魚類および甲殻類のアレルゲンは例外的に熱安定性がある
- 魚類および甲殻類に特徴のある新規トロポミオシンおよびパルブアルブミンアレルゲン
- 海産物の取り扱いおよびアレルゲンの吸入は、感作の重要なルート
- 海産物の摂取と昆虫の吸入によって交差反応性を示すアレルゲンが観察された
- 組み換えアレルゲンの生産は下記の目的で不可欠
 - 診断
 - 検出
 - 免疫療法

2008RMIT University

School of Applied Sciences

T
E

