

## 卵白アレルギーモデルマウスの IgE およびヒスタミン測定

○仁科正実<sup>1)</sup>, 鈴木正彦<sup>2)</sup>, 白根信彦<sup>3)</sup>

1)埼玉医科大学医学部医学研究センター

2)埼玉医科大学保健医療学部健康保健科学科

3)有限会社山陰ネッカリッチ

**【目的】**我が国における食物アレルギー有病率は、乳児が約 10%、3 歳児が約 5%、学童以降が 1.3 ~ 2.6% を占めており、全年齢を通してでは 1 ~ 2% を占めると推測されている。特に鶏卵、牛乳、小麦は 3 大食物アレルギーであり、これら食物の含有食品のスクリーニングとアレルギー食物の低アレルギー化への加工は、アレルギー患者にとって、重要な要素を占めている。

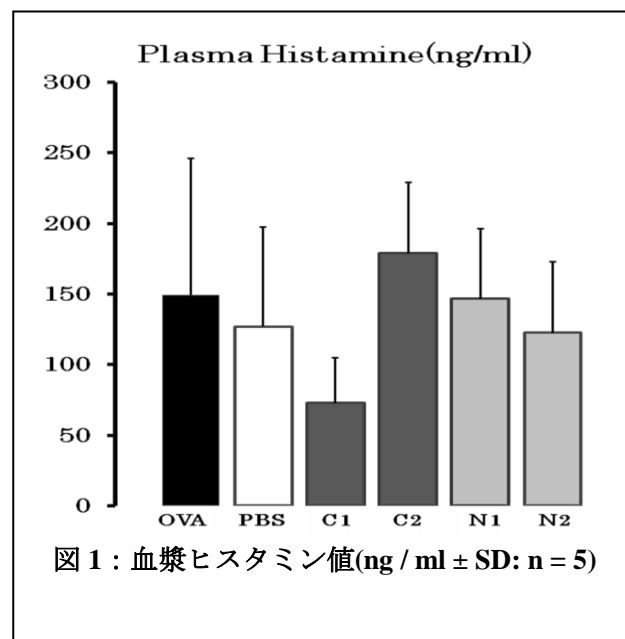
木酢酸粉末 (ネッカリッチ) 配合飼料で飼育された鶏からの鶏卵(N)は、鶏卵アレルギーを示すヒトが摂取しても、アレルギー症状が出ない、または非常に軽度であることが経験的に指摘されている。N の低アレルギー性のメカニズムを解析するため、一般飼料で飼育された鶏の鶏(C)と N との免疫応答の違いについて鶏卵アレルギーのアレルゲンの一つであるオボアルブミン (OVA) について検討をしてきた。

鶏卵アレルギーである I 型アレルギーの免疫応答として IgE 生産がありまた、症状誘発の指標としてヒスタミン、ロイコトリエン放出などがある。これまでの実験結果から免疫応答における血漿 IgE 生産では、OVA 特異的 IgE / 総 IgE 比において、N を摂取した群では C を摂取した群に対して有意に低い値を示したことを報告した<sup>1)</sup>。さらにアレルギー症状誘発に関しての比較のため、N および C を摂取後の血漿中、と小腸組織中のヒスタミンを測定した。

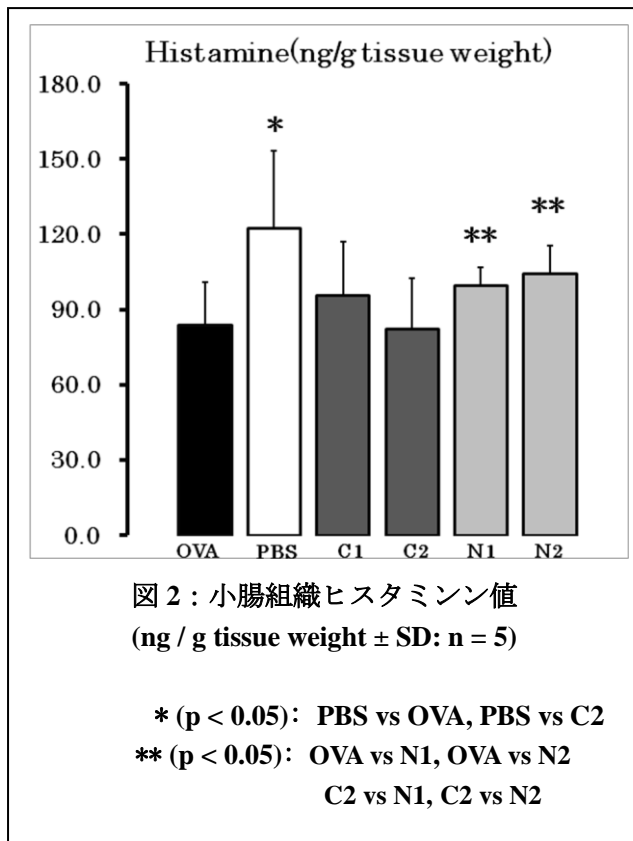
**【方法】**実験には 8 週令雌マウス (BALB/cAJcl : 日本クレア株式会社) を供し、実験期間中のマウス飼育環境は、24℃下で明暗 12 時間サイクル、餌は自由摂取にて行った。実験に供した鶏卵は、一般飼料による飼育鶏からの、市販 2 社の鶏卵(C1, C2)、一般飼料にネッカリッチ配合した飼料による飼育鶏からの 2 社の鶏卵(N1, N2) を用いた。感作用抗原としてオボアルブミン (OVA: Albumin, chicken Egg, 5x crystalline CALBIOCHEM Inc.) を使用した。アジュバンドは、水酸化アルミニウム (ALUM : 和光純薬株式会社) を用いた。他の使用した試薬は、分析用基準の試薬を用いた。

アレルギーモデルマウスは、van Halteren A.G, et al.(1979)<sup>2)</sup> の方法に従い作成した。初感作は OVA と ALUM 腹腔投与し、その後 14 日目に OVA のみ腹腔投与にて再感作した。誘発に鶏卵卵白を凍結乾燥したものを使用し、初感作後 18 日目に経口投与した。誘発の陰性対照として、PBS および陽性対照 OVA を凍結乾燥卵白と同様に、マウスに経口投与した。22 日目に心臓採血にて血液 (ヘパリンを抗凝固剤として使用) を採取、遠心分離 (1,500 rpm, 20 min) により血漿を分離した。また、同時にマウスの小腸基始部から約 5 cm の小腸 (十二指腸、空腸を含む) を採取し、内腔洗浄後、PBS にてホモジナイズし、遠心分離 (10,000 rpm, 30 min) により上清を分離し小腸組織抽出液を得た。血漿、小腸抽出試料はヒスタミン測定まで凍結 (-20 °C) 保存した。ヒスタミン測定には、ELISA 法の Histamine EIA キット (Oxford Biomedical Research, UK.) を使用した。

**【結果】**各群のヒスタミン値(平均値±標準偏差 (SD) :n=5)は図 1(血漿)、図 2(小腸組織)に示した。



血漿 (ng/ml) では OVA, PBS, C1, C2, N1, N2 それぞれ、 $149 \pm 96.7$ ,  $126.6 \pm 70.7$ ,  $74.2 \pm 32.2$ ,  $178.6 \pm 88.7$ ,  $146.2 \pm 41.1$ ,  $122 \pm 66.1$  であった。



同様に小腸組織(ng/g tissue weight)では、84.0 ± 16.85, 122.4 ± 30.86, 95.7 ± 21.39, 82.3 ± 20.32, 99.5 ± 7.16, 104.2 ± 11.41 であった。血漿ヒスタミン値においては各群とも変動が大きく、群間において有意な差はなかった。

小腸組織のヒスタミン値は、陽性対照の OVA 群の値より陰性対照の PBS 群は、P < 0.05 において有意に低い値を示した。また、一般の鶏卵群 (C1, C2) の値はネッカリッチ鶏卵群 (N1, N2) に比べ低い値をしめし、C2 に対して N1, N2 は P < 0.05 において有意に低い値であった。

**【考察】** 食物アレルギー症状は、IgE 生産とそれによる肥満細胞、好塩基球より放出されるロイコトリエンやヒスタミンなどのケミカルメディエーターに起因する。鶏卵アレルギーの主要アレルゲンは、卵白性分の OVA、オボムコイドがあり、本実験は OVA を感作抗原としてアレルギー症状の指標となるヒスタミンを測定し、C 卵および経験的に低アレルゲン性であるといわれている N 卵について比較をした。図 1 に示した、血漿ヒスタミン値はばらつきが大きくヒスタミンにおける有意な差がえられなかった。血漿ヒスタミンは、IgE により誘導された消化管粘膜組織の肥満細胞から放出されたヒスタミンが血液中に移行した結果のであり、軽減されたアレルギー症状では、

より低い値が推測される。血漿ヒスタミン値の結果では、有意な差は得られなかったが、OVA 群の mouse より PBS 群の mouse は低い値を示した。N 群の mouse においては C 群の mouse より低い結果を推測したが C2 群に比べ低い値であり、C1 群に比べては高い結果であった。この結果において、血漿中に放出されるヒスタミンでは、N および C 卵によるアレルギー症状の差を推測することはできなかった。

図 2 に示した小腸組織中のヒスタミンに関しては、組織内の肥満細胞に由来するヒスタミンを反映する。経口摂取された鶏卵アレルゲンの OVA は消化管粘膜からの侵入し、それにより誘導された OVA 特異的 IgE に結合した肥満細胞と、その IgE 受容体に結合した OVA との結合によりケミカルメディエーターの一つであるヒスタミンが放出される。したがって、アレルゲンの作用によりヒスタミンが放出されれば、小腸組織内のヒスタミン量は低下する。本実験結果の小腸ヒスタミン量は C 群に比べ N 群において高い値を示し、したがって N の摂取は C の摂取より、アレルギー症状において軽減されていることが推測される。

先行の実験において、血漿 IgE 生産では、OVA 特異的 IgE / 総 IgE 比において、N を摂取した群では C を摂取した群に対して有意に低い値を示したことを報告した<sup>1)</sup>。本実験結果および先行実験結果より、肥満細胞は非特異的 IgE と OVA 特異的 IgE との競合反応において、N 群の mouse では OVA 特異的 IgE と肥満細胞との結合の割合が、C 群の mouse より少なくなり、それゆえヒスタミン放出が C 鶏卵摂取より抑制されたとことが示唆される。また、N 鶏卵のアレルゲンとしての IgE 産生において、C 鶏卵のそれとは異なった作用が、アレルギーを持つ人に対して、発症の無いまたは軽減となっていると推測された。

#### 【参考文献】

- 1) 仁科正実, 鈴木正彦, 銅山雄太, 永山絵里, 鱒淵奈津樹, 白根信彦: 卵白アレルギーマウス作成と血漿 IgE 測定 市販鶏卵を用いた比較, 体力・栄養・免疫学会誌, 2009; 19:119-120 [抄録]
- 2) von Halteren AGS, von der Cammen MJF, Biewenga J, Savelkoul HFJ, Kraal G. IgE and mast cell responses on intestinal allergen exposure: A murine model to study the onset of food allergy. J Allergy Clin Immunol, 1997; 99: 94-99.