

# 30pmL-102

抗原の加熱・消化・固相化が IgE 架橋活性に及ぼす影響について

○中村 亮介<sup>1</sup>, 相馬 愛実<sup>2,3</sup>, 中村 里香<sup>2</sup>, 斎藤 嘉朗<sup>1</sup>, 最上 知子<sup>2</sup>, 川上 浩<sup>3</sup>, 手島 玲子<sup>4</sup>(<sup>1</sup>国立衛研・医安, <sup>2</sup>国立衛研・代謝, <sup>3</sup>共立女大・食物, <sup>4</sup>国立衛研・食品)

【目的】我々は、ラット由来ヒト化マスト細胞株 RS-ATL8 細胞のルシフェラーゼ発現を指標とする新しいアレルギー試験法、「IgE Crosslinking-induced Luciferase Expression (EXiLE) 法」および固相化抗原を用いたその変法である「固相 EXiLE 法」を開発し、その有用性を昨年の本学会等で発表してきた。そこで今回は、抗原の固相化に加え、加熱や酵素消化が抗原性に及ぼす影響について解析することを目的とした。

【方法】卵白アルブミン(OVA)抗原を PBS に溶解し、70℃および 90℃で 3 分から 15 分加熱した。これらを Pepsin により 5 分から 60 分消化し、中和により反応を停止した。IgE 抗体は Chondrex 社の抗 OVA マウスモノクローナル IgE 抗体のうち、マスト細胞の脱顆粒を誘導できるとされる「E-C1」と、誘導できない「E-G5」を使用し、10ng/ml で一晚感作を行なった。これらの抗原を、EXiLE 法では培地中にそのまま添加し、固相 EXiLE 法ではマイクロウェルプレートに 4℃で一晩コートした上で感作済みの細胞を添加した。37℃で 3 時間刺激した際のルシフェラーゼ活性を測定し、刺激前との相対比として評価した。

【結果】E-C1 抗体は、EXiLE 法および固相 EXiLE 法ともに加熱により応答性が顕著に増加した。一方、E-G5 は EXiLE 法ではすべて陰性を示したが、固相化により全試料とも陽性に転じた。加熱の影響はむしろやや抑制的であった。Pepsin による消化はこれらの応答を減弱させたが、加熱 OVA は消化処理により抵抗性を示した。

【考察】通常の EXiLE 法で陰性となる E-G5 抗体の応答が抗原の固相化により誘導されることは、本抗体の OVA との結合性が低親和性であることを示唆している。加熱により E-C1 抗体の応答性が増すことは、抗原の凝集が起こっていると考えれば説明がつく。加熱後の OVA が酵素消化に抵抗性を示すことも矛盾しない。IgE の架橋によるマスト細胞の活性化を考えるには、抗原の凝集状態を考慮した測定法が重要であると思われる。