

P-11 牛乳アレルギー患者における山羊乳との交差反応の解析

◎鈴木理恵¹⁾、曾川一幸¹⁾、佐藤 守²⁾、三田明弘¹⁾、下条直樹³⁾、野村文夫²⁾

1) 麻布大学生命・環境科学部生化学研究室、2) 千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学、
3) 千葉大学大学院医学研究院小児病態学

【背景・目的】

食物アレルギー患者の割合は近年増加しており、厚生労働省の2008年の調査では、全年齢を通して1~2%と推定されている。牛乳アレルギーは食物アレルギー全体の約16%を占め、2番目に多いアレルギーである。主なアレルゲンは、牛乳に含まれるタンパク質のアルファS1-カゼインである。牛乳の代替品として山羊乳を用いる場合があるが、交差反応性の問題が指摘されている。今回我々は、アレルギー患者血清を用いて山羊乳との交差反応を示すタンパク質の探索及び低減化を試みた。

【方法】

千葉大学医学部附属病院小児科に受診した牛乳アレルギー患者12名及びアレルギーを持たない健常者1名の血清検体を用いた。すべての患者から同意を得た上で行った。山羊乳に交差反応を示すタンパク質を検出するためにウエスタンブロット法で行った。山羊乳0.2μLをSDS-PAGE、PVDF膜に転写後、ブロッキングをした。

一次抗体にブロッキングバッファーで20倍希釈した牛乳アレルギー患者血清、二次抗体にMouse anti-human IgE抗体(1000倍; Fitzgerald社)、三次抗体にRabbit anti-mouse immunoglobulins/HRP(1000倍; Dako社)を用い、検出はPierce Western Blotting substrate(Thermo Scientific社)を用いた。Light-Capture II(アトー株式会社)で、バンドを検出した。ウエスタンブロット法で検出したタンパク質はSDS-PAGE後、CBB染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MSにより同定した。

【成績】

ウエスタンブロット法にて牛乳アレルギー患者血清における山羊乳との交差反応は1バンド検出され、すべての症例で検出された。現在同定を進めている。山羊乳で交差反応が見られたバンドはキウイ、パイナップル及びメロン果汁で分解され、マンゴー果汁では分解されなかった。