

P-9 牛乳アレルギーにおけるアレルゲンタンパク質の解析

◎加藤由理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。牛乳は、卵に次いで2番目にアレルギー症状の原因となる頻度の高い食品である。牛乳のアレルゲンタンパク質は11種類(Bos d 2~12)報告されている。主要アレルゲンは、 β -ラクトグロブリン・ α カゼインである。診断は血清総IgEおよび牛乳特異的IgEを行っているが、数値結果と臨床症状と合わないことがしばしば遭遇する。今回我々は、患者血清を用いて主要アレルゲンタンパク質の頻度、牛乳アレルゲン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9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。

牛乳アレルギーのアレルゲン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。牛乳2 μ L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Human IgE antibody (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アレルギー患者で2バンド検出された。1つのバンドは9症例(100%)で検出され、もう一方は4症例(44.4%)で検出された。健常者1症例からは、アレルギー患者で検出された2バンドは全例で検出されなかった。現在同定を進めている。また、キウイ・パイナップル・メロンそれぞれの果汁を牛乳と等量で混合させる事により主要アレルゲンのひとつであるカゼインの分解が認められたが、マンゴーの果汁では認められなかった。