

O-3-3

培養ヒトマスト細胞を用いた各種サプリメント成分の 抗アレルギー作用効果検定法の確立

Assay system of anti-allergic activity for various supplement and nutritional compounds
by using cultured human mast cells.

○小幡 徹¹⁾, 野村 真弓¹⁾, 永倉 俊和²⁾

1) 東京慈恵会医科大学DNA医学研究所分子細胞生物学研究部, 2) 用賀アレルギークリニック

Using cultured human mast cells, the assay system of active ingredient in various food components was investigated. Cultured human mast cells play as allergic reaction in vitro, which were stimulated by human myeloma IgE (1 μ g/ml) and challenged by following treatment of anti-human IgE antibody (10 μ g/ml). Mast cells at first react histamine-release and prostaglandin D₂-production, and finally IL-8-induction. To observe the effect of these food ingredients on mast cell allergic reaction, the component was added during stimulation by IgE, and during challenge by anti-IgE antibody to see where the effective process in mast cell event.

【目的】 マスト細胞は全身のあらゆる組織に分布し、抗原刺激によって産生された IgE の刺激によって、様々な活性物質を放出・産生し、抗原刺激に対する体の防護作用として炎症を誘導し、アレルギー作用を起こす中心となる細胞である。ヒト臍帯血幹細胞を、幹細胞因子(Stem Cell Factor; SCF)で培養することで、大量の、均一なヒトのマスト細胞に誘導することが可能となった。この培養ヒト・マスト細胞を、試験管内で IgE による感作とそれに続く抗 IgE 抗体による刺激を行うことで、生体内と同じくヒスタミン放出・プロスタグランジン(PG)D₂ 産生・サイトカイン (IL-8)誘導等の一連のアレルギー反応を InVitro で見ることができる。この系に様々な抗アレルギー作用のあるといわれる食物成分を加え、ヒト・マスト細胞のアレルギー反応に対する作用を見ることで、直接的な成分の作用を検定する実験系について検討した。

【方法】 SCF で誘導したヒト臍帯血幹細胞を、ヒト IgE(1 μ g/10~20 万細胞/ml)で 60 分間感作し、次に抗ヒト IgE 抗体(10 μ g/ml)で 30 分培養し、氷冷生理食塩水 4-ml(含 10 μ M インドメタシン)を加えて反応を停止。遠心(800xg,5min)後、上清と沈殿した細胞部分に分けた。

上清及び沈殿中のヒスタミンは、HPLC にて分離、蛍光標識法にて定量。同じく上清中の PGD₂ は同位体希釈法による GC/MS/SIM 法で、IL-8 は ELISA 法で定量した。

実験に用いた食物成分(日本茶・紅茶・ほうじ茶・バラ花卉等の抽出物(BHN(株)提供))は、生理的食塩水で溶解・希釈し、10%容量(最終濃度 1~0.01%)を実験系に加えた。加える時期を、IgE 刺激開始 50 分後に加えるもの(感作期)と、抗 IgE 添加培地で刺激時に加えるもの(刺激期)に分けてその影響を見た。結果は、無添加(生理食塩水添加)を 100%として成分濃度を比較し、抑制の活性を検討した。

【結語】 培養ヒト・マスト細胞を用いた試験管内アレルギー反応系を用いて、食品成分中の抗アレルギー作用を持つ成分の活性を検定するための系を確立した。