簡便な分泌型 IgA 測定法の開発に関する研究

Establishment of easy measurement method of SIgA

1K04A0020-5

一宮 真樹

指導教員

主査 赤間高雄先生

副査 樋口満先生

《緒言》

高強度トレーニングをするアスリートは一般人と比較して、免疫機能が低下している。その為、競技会前にコンディションを崩し、結果として試合で実力を発揮できないことが多いと考えられている。例えば、アスリートは上気道感染症の罹患率が高いという報告があることから、スポーツ現場において短時間で簡単に免疫機能を測定できる方法が求められている。スポーツ現場で免疫状態を知ることができれば、選手の体調管理を促しコンディションを整えることが可能となる。

分泌型 IgA は、免疫機能を評価する指標として用いられることが多い。分泌型 IgA 濃度の測定方法として、現在 ELISA 法が多く使われているが、測定に二日間を要し、操作が複雑で、さらに機器の持ち運びも難しくスポーツ現場で用いることは困難である。一方、ELISA 法に対して免疫比濁法は、通常血清中の物質濃度測定に用いられる。また、測定感度の低さや、共存物質の影響が大きいとされているが、非常に簡単に短時間で測定でき、機器の持ち運びも簡単である。

よって本研究は、簡便に採取できる唾液を試料とし、免疫比濁法を用い、スポーツ現場で簡便に利用できる唾液中の分泌型 IgA 濃度測定方法について検討を行った。

《第1章 測定条件の検討》

本章では、免疫比濁法により以下の項目について検討を行った。

- ◆ 血清中 IgA に反応する抗体液の唾液への反応条件
- ◆ サンプルを唾液および血清を用いた場合の IgA 濃度測定の比較
- ◆ 使用するキュベットおよび唾液、IgA 緩衝液、IgA 抗体液の使用量
- ◆ 抗原抗体反応時間

《第2章 免疫比濁法の精度の検討》

第1章で検討し得られた条件による免疫比濁法によって測定、算出された IgA 濃度と ELISA 法の測定結果との比較を行い、免疫比濁法の信頼性、測定精

度の検討を行った。

《結果》

第1章の免疫比濁法の検討結果から、以下の測定条件が考えられた。

唾液採取後、3000rpm、5 分間遠心分離し、キュベットに唾液 450 μ l、IgA 抗体液 160 μ l を入れ、常温で 10 分もしくは 20 分静置後の吸光度を測定し、精製分泌型 IgA を使用して、事前に作成しておいた吸光度と IgA 濃度検量線から濃度を算出。

第2章では、同じサンプルを用いて免疫比濁法と ELISA 法の結果を比較した。その結果、IgA 抗体液を加えて、10 分後、20 分後の吸光度から導き出された唾液中分泌型 IgA 濃度と ELISA 法で測定した濃度の相関係数は、10 分後が『0.48』、20 分後が『0.49』となった。

《総括》

免疫比濁法を用いた簡便な唾液の IgA 測定条件は考えられたが、その結果と ELISA 法との濃度の相関を見ると、免疫比濁法は新しい測定方法としては、相関性が低すぎると考えられる。このような結果となった理由として各測定法で使用したスタンダードが違う、測定を行った日が違うなどが挙げられる。

また濃度を比較してみると、ELISA 法よりも免疫比濁法の方が高い測定結果となった。本研究では、唾液中 IgA はすべて分泌型 IgA として検討を行ったが、実際使用した抗体液は IgA に反応するもので測定検討を行った。一方、ELISA 法では分泌型 IgA に反応する抗体液を使用した。その為、唾液中に分泌型ではない IgA が存在していたことが原因となり、免疫比濁法の測定では濃度が大きかったと考えられる。例えば、唾液の中に血液が混ざってしまった場合では、血液中には分泌型ではない IgA が含まれているので、唾液中に IgA が出現してしまうのである。上記の結果から、さらなる検討の必要性が高いと考えられる。

そのほか、低濃度領域での測定感度の低さ、検体の遠心分離に時間・手間がかかる、抗原抗体反応時間など、スポーツ現場で簡便に利用できる IgA 濃度測定法の確立には、今後さらなる研究が必要であると考えられる。