

# 唾液中における多反応性分泌型免疫グロブリン A の測定方法の検討

## Development of Measuring Method of Polyreactive Secretory Immunoglobulin A in Saliva

スポーツ医科学研究領域  
5018A044-7 孫子曰

研究指導教員 赤間 高雄 教授

### 【緒言】

上気道感染症（Upper respiratory tract infection: URTI）は非常に罹患しやすい疾患である。唾液中の分泌型免疫グロブリン A（Secretory Immunoglobulin A: SIgA）は URTI に対する初期防御機構として作用していると考えられており、唾液 SIgA 分泌の低下により URTI 発症率が高くなることが知られている。唾液は非侵襲的に採取でき、唾液 SIgA 濃度や分泌速度は URTI 罹患リスクと関連することから、アスリートのコンディション指標や高齢者の免疫機能を評価する指標として検討されてきた。

先行研究において、ヒトの唾液と初乳に SIgA の自己反応性抗体が存在することが報告された。これらの抗体は多反応性であり、多数の細菌エпитープを認識し、自己反応性も有する傾向があり、壊死した細胞の断片や有害な分子の除去を促進することが示された。抗原特異的抗体は特定の抗原にしか結合できないが、非特異的な多反応性抗体は数多くの病原体あるいは自己抗原に結合することが可能であると考えられる。URT I 罹患リスクの指標は唾液 SIgA 総量よりも抗原非特異的な多反応性唾液 SIgA の量が適切であろうと考えられる。しかし、多反応性唾液 SIgA の簡便な定量方法は報告されていない。そのため、本研究では、抗原非特異的な多反応性唾液 SIgA の定量方法

を新たに確立することを目的とする。

### 【方法】

試料中に含まれる抗体あるいは抗原の濃度を検出・定量する際には、酵素結合免疫吸着法（ELISA）が用いられる。

二つ以上の抗原と結合する抗体を検出・定量する方法として、競合 ELISA が考えられる。

本研究では、抗 LPS 抗体を検出する間接 ELISA と DNA を競合させてから抗 LPS 抗体を検出する競合 ELISA の両方を行い、多反応性唾液 SIgA の定量方法を検討した。間接 ELISA と競合 ELISA による SIgA の濃度の差が多反応性 SIgA であると考えられる。多反応性唾液 SIgA の抗原標的として、子牛胸腺由来 DNA、リポ多糖（LPS）を選定した。

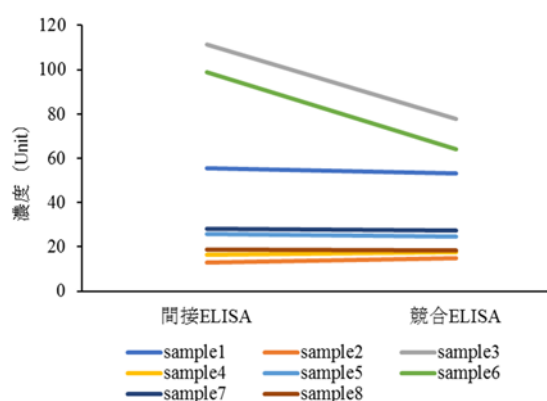
健常者の唾液サンプル 8 個を使い、間接 ELISA と競合 ELISA とともに、プレートは LPS に一晚 coating した。間接 ELISA では唾液サンプル 2 倍希釈液をウェルに加え、競合 ELISA 法では DNA と唾液 2 倍希釈液を室温で 1 時間インキュベートした後にウェルに加えた。

抗 LPS 抗体を検出する間接 ELISA と DNA を競合させてから抗 LPS 抗体を検出する競合 ELISA の両方を行い、多反応性唾液 SIgA の定量方法を確立する。間接 ELISA と競合 ELISA による SIgA の濃度の

差が多反応性 SIgA であると考えられる。

#### 【結果】

各サンプルにおける、間接 ELISA と競合 ELISA によるそれぞれの SIgA の濃度の変化を図に示す。各サンプルの SIgA 濃度の減少量について、サンプル 2、4 は低値を示さなかった。競合 ELISA 法から得られた SIgA 濃度について、サンプル 1 では 2.43 Unit、サンプル 3 では 33.83 Unit、サンプル 5 では 1.17 Unit、サンプル 6 では 34.99 Unit、サンプル 7 では 0.63 Unit、サンプル 8 では 0.49 Unit 低値を示した。この濃度差が DNA に競合し LPS にも反応した多反応性 SIgA の濃度であると考えられる。



#### 【考察】

本研究では、間接 ELISA 法と競合 ELISA 法を用いて、多反応性 SIgA の定量方法の確立を試みた。先行研究において報告されていた DNA と LPS を多反応性 SIgA の標的抗原として選定し、これら両方に反応できる多反応性 SIgA の存在と定量方法が実証された。一方で、Bunker JJ らの研究により、SIgA が複数の抗原に結合できることが示され、その標的抗原はフラジリンと LPS であると報告している。標的抗原の選定によっては結果も異なることが想定されるため、

今後は DNA および LPS 以外の反応性が高い標的抗原を探索し、多反応性 SIgA の存在を検討することも必要であると考えられる。

多反応性 SIgA 抗体の検出方法として開発した抗 LPS 抗体の DNA による競合 ELISA と抗 LPS 抗体の間接 ELISA との SIgA の濃度差については、各唾液サンプルで大きく異なっていた。先行研究では、動物の消化管 B 細胞からモノクローナル抗体を作成し、数多くの標的抗原を反応させ、その抗体が多反応性ということを実証した。本研究では、異なる 8 個の唾液サンプルを用いて、多反応性 SIgA 抗体量には個人差があることを明らかにした。

抗 LPS 抗体の間接 ELISA と DNA を競合させた ELISA の差分として検出した多反応性 SIgA は、今回の研究では 34.99 Unit から 0.63 Unit であったが、ELISA には誤差があるため、何 Unit が検出限界であるかは、今後の課題である。