—原 著—

抗原の経口投与による皮膚受身アナフィラキシー反応の誘発

川角 浩 水谷 裕子 横室 公三 竹内 良夫

日本医科大学微生物学免疫学教室

Induction of passive cutaneous anaphylaxis by
oral administration of antigen

Kou Kawasumi, Yuko Mizutani, Kozo Yokomuro and Yoshio Takeuchi

Department of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School

Abstract

Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction was developed by Ovary et al. as an animal model of mainly human type I allergic inflammation reaction. This is the most sensitive reaction for the detection of cutaneously sensitizing antibodies and provides a very effective means by which to investigate immunological reactions concerning the mechanisms of development and inhibition of allergic reactions, levels and specificity of antibodies, and the structure of antigens. These cutaneous inflammations mimic atopic dermatitis. Food ingestion has been pointed out as one of the worsend factors of atopic dermatitis. However, the body is generally protected against the invasion of high molecular substances such as non-ingested food by several barriers including digestive enzymes that break down complex food molecules into simpler substances and gastrointestinal mucosae. Accordingly, oral ingestion of food antigen seems to be physiologically and immunologically in conflict with the occurrence of dermatitis.

With a view to determining whether allergic dermatitis occurs after oral ingestion of food, the present study was carried out on animals, utilizing the PCA reaction. C 57 BL/6 Ncr j mice were immunized with immunogen derived from commercially obtained eggs. Wistar rats were used as a model of PCA reaction. The results of the present investigation are summarized as follows.

1) Blue spots of 10 mm diameter were observed as a PCA reaction 50 min or more after oral administration of antigen, and the blue spots reached maximum size (20-21 mm, 1.8-1.7 μ g) after 90-120 min. The PCA reaction was induced 20 min or more after intravenous administration of antigen. When the maximum reaction was compared between the oral and the intravenous routes after 50 min (29.5 μ g) and 90 min (1.8 μ g) respectively, there was about a 16-fold difference in the capacity to induce inflammations.

2) The maximum PCA reaction values were 100 and 1,600 for the oral and intravenous routes, respectively, there being a 16-fold difference between the two routes.

3) The minimum antigen concentration required to induce the PCA reaction was 10 mg/ml for the oral route and 0.01 mg/ml for the intravenous, there being a 1,000-fold difference between the two routes.

4) Reactions with anti-egg mixture antibody and main egg constituents were specific. The PCA inhibition test results confirmed that the undigested structural portion of antigen was associated with the induction of PCA.

The present investigation demonstrated that there existed a mechanism by which type I allergy is induced via the gastro-intestinal tract. This fact indicates that part of the food ingested undergoes no change in its molecular structure when transferred to the blood, thus acting as a PCA inducing antigen. This phenomenon suggests that this animal model of

human type I allergic dermatitis is a useful system that strongly suggests the association of food antigen with the development of allergic dermatitis. (J Nippon Med Sch 1997; 64: 225-231)

Key words: passive cutaneous anaphylaxis (PCA), oral administration, rats, egg antigen

緒 言

Passive cutaneous anaphylaxis (皮膚受身アナフィラキシー, PCA) 反応は Ovary ら^{1,2}によって開発され、主として、ヒト I 型アレルギー炎症反応の動物実験モデルである。これは皮膚感作性を持つ抗体を検出するための最も鋭敏な反応で、アレルギー性反応の発生や抑制の機序など、抗体の量、特異性、抗原の構造の相違などについて免疫学的反応を検討するための、きわめて有効な方法である³。常法によれば、IgG または IgE 抗体を含む血清希釈液の一定量を皮内注射し、抗体の種類と動物種によって定められた時間 (IgG 抗体は 3 時間、IgE 抗体はラットで 48 時間、モルモットは 8 日) 後に抗原液と色素液を静脈注射する。抗体注射部位の肥満細胞に結合した抗体に静脈内注射された抗原が結合し、抗原抗体反応の刺激に由来する肥満細胞などから chemical mediators の遊離によるアレルギー性炎症が出現する⁴。この部位の毛細血管透過性が亢進しているので色素が炎症部位に浸潤し、皮膚に青色斑が観察される。本法は一見、I 型アレルギーに属するアトピー性皮膚炎の病態発生と類似した炎症反応像⁵であると考えられる。

アトピー性皮膚炎の症状の発現には種々の原因が考えられているが、そのうち食物摂取 (食物アレルギー) も重要な要因として指摘されている^{6,7}。食物抗原の関与に関して、アトピー性皮膚炎患者に危険性のない食物を探す目的で、その家族による、いわゆる経口 PK (Prausnitz-Küstner) 反応が試行されている^{8,9}。これは健常なヒトの皮膚に食物アレルギー患者血清希釈液を皮内注射し、推定食物を食し、吸収された食物抗原物質が皮膚に移行し、抗原抗体反応によって抗体注射部位の炎症が生じると理解されている。本来、PK 反応は健常人に抗体を皮内注射し、その部位に抗原を注入するのが原法である¹⁰。一般に食物は消化酵素などにより低分子に分解され、抗原性を消失するものと免疫学的には考えられている。さらに消化管粘膜は幾重もの防御機構によって未消化食物などの高分子物質の侵入を防止している¹¹。したがって、食物抗原を経口摂取して皮膚炎症の反応の出現には生理学的、免疫学的矛盾があると推測される。

そこで本論文は皮膚のアレルギー性炎症が食物の経

口摂取によって生じるか否かを検討する目的で PCA 反応を応用し、食物投与による皮膚の炎症発現を実験動物を用いて検討した。

材料および方法

(1) 動物

C 57 BL/6 Ncrj マウス、7 週齢、雄 (日本生物材料センター) を免疫用に、Wistar 系ラット 10 週齢、雌 (日本生物材料センター) を抗体測定用に使用した。

(2) 抗原の作製および免疫方法

抗原に使用した鶏卵は無作為に選んだ食品量販店市販卵の卵白 (egg-white; EW) と卵黄 (egg yolk; EY) と全卵 (whole egg, egg mixture; EM) に分け、それぞれをミキサーで十分に混和したあとに凍結乾燥した。全卵抗原を免疫および反応誘発用に使用した。他は反応用抗原とした。

1 匹当たり全卵抗原 10 μ g/Al(OH)₃ gel 5 mg/マウスの抗原濃度で初回免疫し、2 週間目に追加免疫、その 1 週間後に全採血し、抗血清を -80°C にストックした¹²。抗原当たり 50 匹に免疫した。pool された抗血清について抗体価の測定をラット 48 時間 PCA 反応で行った。

(3) PCA 反応¹²⁻¹⁴

常法にしたがってラットの背部を剃毛し、抗血清の段階希釈液を 0.1 ml を皮内注射した。48 時間後に抗原 2 mg/ml を 1% Evans blue (EB) 色素液 0.5 ml とともに静脈内投与した。20~30 分後に出現した 5 mm 以上の青色斑を PCA 陽性とした^{13,14}。抗体価は抗体希釈液の逆数をもって示し、1 実験あたり 5 匹のラットを用いて試験し、その平均値を Table 2, 4, 5 に示した。抗原を経口投与する場合は 18 時間絶食 (飲水は可) されたラットについて予備的な実験において PCA 反応が確実に観察された 50 mg/ml, 1 ml または Table 3 に示された所定濃度の抗原, 1 ml をエーテル麻酔下で経口ゾンデを用いて投与した。1%EB, 0.5 ml はその直後に静脈注射した。

(4) 定量 PCA 反応

PCA 反応で抗原誘発後に出現した青色斑中の EB 量は Katayama ら¹⁵の方法にしたがって測定した。測定材料は原則的には直径約 20 mm の青色斑を示す部

Table 1 Elicit antigenicity of orally administered antigen IgE mediated PCA reaction on the rats

time after min.	antigen					
	EM ¹⁾				BGG ²⁾	
	i.v.		oral		i.v.	oral
	diameter (mm)	EB value (μ g)	diameter (mm)	EB value (μ g)		
10	5	ND	—	ND	—	—
20	26 $\pm$ 2	14.1 $\pm$ 3.6	—	ND	—	—
30	29 $\pm$ 2	15.5 $\pm$ 3.1	—	ND	—	—
40	30 $\pm$ 3	26.0 $\pm$ 6.2	5 $\pm$ 2	ND	—	—
50	31 $\pm$ 3	29.5 $\pm$ 7.7	10 $\pm$ 3	0.44 $\pm$ 0.1	—	—
60	31 $\pm$ 3	27.0 $\pm$ 7.0	10 $\pm$ 3	0.46 $\pm$ 0.2	—	—
90	30 $\pm$ 4	25.0 $\pm$ 5.7	20 $\pm$ 4	1.8 $\pm$ 0.4	—	—
120	30 $\pm$ 10	24.8 $\pm$ 6.8	21 $\pm$ 2	1.7 $\pm$ 0.6	—	—
180	27 $\pm$ 15	13.0 $\pm$ 8.1	21 $\pm$ 3	0.9 $\pm$ 0.4	—	—

Antigens (50 mg/ml, 1 ml) were orally administered using the catheter or intravenously injected. Anti-EM antiserum (PCA titer : 100) was intracutaneously injected into several sites on the back of the rats. Diameter indicated were blued spots appearing. Evans blue dye values were extracted in the blue spots. ¹⁾EM : egg mixture. ²⁾BGG : bovine gamma globulin.

位を選び EB 量を測定した。これは直径 20 mm から抽出される EB 量は O.D. 測定の適当な範囲に入り数値的に信頼度が高い。えられた O.D. 値を EB 標準曲線に当てはめ抗体希釈倍率を乗すると、原抗血清当たりの EB 量が算出され、それを比較した。結果は 1 群 5 匹のラットについて平均値 $\pm$ 標準偏差として示した。

(5) 試薬類

卵の主要成分¹⁶⁾として conalbumin, chicken egg trypsin inhibitor, lysozyme, egg albumin は Sigma 社製を使用した。Bovine gamma globulin (BGG) は和光純薬社製を使用した。

結 果

最初に PCA 値 100 倍抗血清希釈液を皮内に注射し、48 時間後に静脈内投与(誘発抗原 2 mg/ml, 1 ml)または経口投与(誘発抗原 50 mg/ml, 1 ml)をして誘発状況を観察した (Table 1)。表には青色斑の直径の平均値 $\pm$ 標準偏差として示した。

PCA 反応の非特異的発現の有無を知るために BGG (bovine gamma globulin) を対照誘発原に用いた。その結果、常法通り抗原が静脈内に投与されると 20 分以降に明らかな青色斑 (26 mm $\pm$ 2) が観察され、それは 50~60 分後 (31 mm $\pm$ 3) が最大であった。これは時間を経る毎に拡散傾向がみられ、境界部分が不明瞭となった。また、青色斑部分の EB 量も同様の減少傾向を示した。一方、経口投与では 50 分以降に 10 mm の青

Table 2 Elicite capacity of orally administered antigen on the IgE mediated PCA reaction

i.d. ¹⁾ injection	i.v. injection			oral injection		
	1 hr	2 hr	3 hr	1 hr	2 hr	3 hr
anti-EM ²⁾	1,600 (61.5) ⁴⁾	ND	1,600 (42.0)	100 (0.8)	200 (3.1)	100 (1.6)
NRS ³⁾	—	—	—	—	—	—
saline	—	—	—	—	—	—

PCA titers were expressed the means of antiserum isolated from 50 mice. Serial diluted antiserum were injected into the back of the rats. ¹⁾i.d.; intradermal, ²⁾EM: egg mixture, ³⁾NRS; normal rat serum, ⁴⁾() ; μ g of evans blue value extracted from PCA site.

色斑が観察され、90~120 分で最高 (20 mm~21 mm, 1.8 μ g~1.7 μ g) に達した。表には示さなかったが 360 分では両方とも境界不明瞭な青色斑となった。両投与法で最大値を示した静脈内投与 (50 分, 29.5 μ g) と経口 (90 分, 1.8 μ g) を比較すると約 16 倍の起炎症能力の相違が認められた。非特異的反応の指標物質とした BGG の投与ではいずれも反応しなかった。この結果から抗原の経口投与によって PCA が誘発されることが確認された。この現象を再確認する目的で誘発される最大 PCA 値を測定した。原抗血清の段階希釈液を皮内注射し、両投与法による相違を観察した (Table 2)。その結果、抗原 2 mg/ml, 1 ml の静脈内投与では最高 1,600 倍を示したが、経口投与 (50 mg/ml, 1 ml) で

Table 3 Comparative studies of minimum eliciting capacity of orally administered antigen and i.v. injected antigen

i.d. inj.	anti EM ¹⁾		NRS ²⁾		saline	
Ag conc.	route					
	oral	i.v.	oral	i.v.	oral	i.v.
100 mg/ml	+ (5/5)	ND	— (0/5)	— (0/5)	— (0/5)	— (0/5)
50	+ (5/5)	ND	— (0/5)	— (0/5)		
10	+ (3/5)	ND	ND			
1	— (0/5)	+ (5/5)				
0.1	— (0/5)	+ (4/5)				
0.01		+ (3/5)				
0.001		— (0/5)				

Anti EM antiserum (PCA titers : 100) were intradermally injected into four sites on the back of the rats.

+ ; were indicated over 7 mm diameter of blued spots at the test sites. i.d. inj. ; intradermal injection. ¹⁾EM ; egg mixture, ²⁾NRS ; normal rat serum.

Table 4 Antigenic cross reactivity among 7 antigens on IgE mediated PCA reaction in the rats

Ag	route	
	oral	i.v.
E. mix.	100	1,600
E. white	100	1,600
E. yolk	10	400
conalbumin	20	200
tryp.	40	100
lysozyme	20	200
E.A.	20	100

PCA titers were expressed with reciprocal the means of the maximum diluted times of positive reaction over 5 mm diameter in 5 experiments.

E.A. ; egg albumin trp. ; trypsin inhibitor.

	oral	i.v.
E. mix	50 mg/ml	2 mg/ml
E. white	50 mg/ml	2 mg/ml
conalbumin	50 mg/ml	2 mg/ml
trypsin inhibitor	50 mg/ml	2 mg/ml
lysozyme	50 mg/ml	2 mg/ml
E.A.	50 mg/ml	2 mg/ml

は 1 時間後は 100 倍, 2 時間後には最高 200 倍であり, 静脈投与に比べ 1/16~1/8 倍程度の誘発能であった。EB 量は前者は 61.5 μ g (1 時間), 後者は 3.1 μ g (2 時間) であり, 約 20 倍の相違が認められた。NRS (normal rat serum), saline の注射部位では非特異的な反応は観察されなかった。さらに, PCA が誘発される最小抗原濃度について検討した (Table 3)。抗原濃度 100 mg/ml から 1 μ g/ml について観察した。実験は背部皮内に PCA 値 100 倍の抗血清 0.1 ml を 1 匹当たり 4 カ所に注射し, 抗原投与後青色斑が常法にお

Table 5 PCA inhibition test on anti-EM antibody with EM and its components

inhibitor		PCA titers
EM	10 mg/ml	≤ 10
	5	10
	1	80
	0.5	200
	0.1	200
EW	10 mg/ml	10
EY	10 mg/ml	40
lyso.	10 mg/ml	40
tryp.	10 mg/ml	40
none		200

Inhibitors were incubated with antiserum for 10 min. at room temp. And absorbed antiserum were injected intradermally.

PCA titers were expressed with reciprocal the means of the maximum diluted times of positive reaction over 5 mm diameter in 5 experiments.

Antigen (EM) were orally administered.

EM ; egg mixture, EW ; egg white, EY ; egg yolk, lyso. ; lysozyme, tryp. ; trypsin inhibitor.

ける 5 mm 以上では, 不確定な場合があるので, 7 mm 以上を陽性, 5 匹中 3 匹が陽性である場合を+として Table 3 に示した。経口投与では 10 mg/ml, 1 ml で 3/5 例が陽性, また静脈内投与では, 10 μ g/ml, 1 ml で 3/5 例が陽性であった。したがって, 最小誘発濃度には約 1,000 倍の相違のあることが観察された。NRS, saline の注射部位には何ら変化は認められなかった。

次に, 卵の主要成分で分子構造の明らかな物質を用いて抗全卵 IgE 抗体に対する反応について観察した (Table 4)。静脈内投与では 1,600 倍の抗体値に対し

て、EW (卵白) は 1,600 倍と高く、主要抗原物質であることを示した。EY (卵黄) は 400 倍であった。また、その他の構成成分は 100~200 倍の誘発を示した。一方、経口投与では EM は 100 倍、EW は 100 倍、EY は 10 倍であった。その他の成分は 20~40 倍程度であった。これらの現象について経口投与による構造の修飾の可能性を推測する目的で PCA inhibition test を行った。常法通り PCA を行う際に抗血清 1 ml を **Table 5** に示す濃度の抗原と反応せしめ、その段階希釈液を皮内に注射した。48 時間後に EM 50 mg/ml を経口投与した (**Table 5**)。その結果、抗 EM 抗体は EM で濃度依存性に抑制された。他の抗原の吸収によっても PCA 値が 10 倍~40 倍に減少した。

考 察

今回検討したマウス IgE で mediate されたラット 48 時間 PCA 反応において蛋白抗原を経口投与することにより、PCA 反応が誘発されることが立証された。この現象に関する報告は現在のところ殆ど知られていない。実験で、経口投与後の PCA 誘発は、多分、高分子物質のまま、腸管粘膜上皮細胞を通過して血中から皮膚に移行したものと推測された。実験に使用した C 57 BL マウスは、IgE 抗体産生に関して、中程度の産生能を有すると報告され¹⁶、特殊なマウスではないので、前記実験結果は、一般的現象としてとらえることが出来る。

本現象は皮膚肥満細胞に固着した IgE 抗体に消化管通過後も抗原性を保持したままの食物抗原が結合した結果、脱顆粒反応を起こし、ヒスタミンなどの血管作働性アミンやロイコトリエン、プロスタグランディン、血小板活性化因子などのアラキドン酸代謝産物によって、典型的な炎症反応が構築されたと解釈できる。この現象は、臨床的には、アトピー性皮膚炎に偶発する蕁麻疹に類似したものと考えられる。この反応の出現には、理論的には抗原の多価抗原の必要¹⁷があるので、高分子の食物抗原が結合されているはずである。一般に消化管粘膜は食物抗原などの侵入に対して唾液、酸性の胃液、蛋白分解酵素による消化と低分子化を生じる。これらの消化物を消化管の蠕動運動などで運搬し、吸収あるいは排除するという非免疫学的方法で高分子の管腔の通過を防御している¹⁸。さらに分泌型 IgA や Gut associated lymphoid tissue (GALT) を介する免疫学的方法によっても高分子物質の侵入が防御されていると言われている¹⁹。一方、高分子の食物抗原がこれらのバリアーをくぐり抜け、管腔を通過す

る可能性も示唆されている。それは、1) 粘膜上皮の絨毛細胞の微絨毛間からの非選択的高分子吸収機構で、phagolysosome の消化能をこえた過剰な高分子が exocytosis により細胞間隙へ分泌される¹⁹。2) 上皮細胞間隙を通過し、そのまま生体内に侵入する。3) パイエル板に存在する M 細胞は、微絨毛が少なく、細胞質、lysosome に乏しい細胞で、抗原は分解されずに、そのまま通過し生体内に侵入する²⁰⁻²²。したがって食物抗原の一部は抗原性を保ったまま生体内に侵入するものと思われる。事実、経口投与で PCA 反応が誘発されたことは上記の機作のいずれかに拠り、抗原性を失うことなく食物抗原が生体内に侵入した結果と考えられる。また、**Table 4** に示したように、卵の構成成分は、経口投与によって、PCA 反応を誘発したことから、albumin (M.W. 45,000)、conalbumin (M.W. 70,000, 78,000)、trypsin inhibitor (M.W. 28,000) および lysozyme (M.W. 14,300) のある程度の量が腸管粘膜を通過しえるものと推測された。

Table 1 に示したように、抗原の皮膚への移行は、静脈内投与では 20 分を要し、経口投与では 50 分を要した。Cornell ら^{23,24}によれば、M.W. 40,000 の Horse-radish peroxidase (HRP) を腸管内に投与したところ、絨毛上皮から取り込まれた HRP では、5 分以内に細胞質内の導管から細胞間隙に移行し、さらに腸管膜リンパ節および門脈に 15 分で到達したとしている。一方、腸管の蛋白は、上皮細胞内に取り込まれるまでに 20~30 分を要するという報告もある²⁵。また、ラット小腸粘膜からのコレラ毒素 (M.W. 830,000~940,000) が吸収される際、1 時間後でも上皮細胞の細胞質にしっかり固着しており、受容体を介する場合には細胞を通過しない²⁶という報告もあって、上皮細胞から粘膜固有層への移行に要する時間は、報告者により異なるようである。Ramage²⁷は、ovalbumin (M.W. 45,000) を用いて腸管から循環血液中への移行を検討し、ラットでは結紮された空腸内から 1 時間後血流に移行し、その後少なくとも 4 時間は循環血液中に検出されると報告している。この点は、本論文の反応誘発時間の経緯と類似していた。しかしながら、腸管を経て血中、皮膚へ移行する抗原量は決して多いものではない。**Table 2** に示したように、経口投与抗原の誘発能は、静脈内に比べ 1/16~1/8 程度であった。この詳細を検討するために、誘発に必要な抗原量の検討を行った。**Table 3** に示すように、今回の実験では、静脈内投与で 10 μ g/ml、経口投与は 10 mg/ml が最少必要抗原濃度であった。この結果から反応を誘発するための必要抗原量を概算すると、約 1,000 倍の相違が認めら

れた。これは高分子のまま腸管を通過する量を反映しているものと考えられた。Hemings ら²⁸は、摂取された蛋白の5%が血液中に移行すると報告している。また、ヒトやラットで経口的に摂取された物質の1/100から1/10,000量が循環血液に到達するという報告もある²⁹。一方、ミルクアレルギーである β -ラクトグロブリンの場合には、経口投与された1/100,000が血中に移行する³⁰と報告されている。著者らの実験では投与量の約1/1,000が反応誘発に関与したと推測されるが、その際に漏出したEB量から推測すると、実際に皮膚部分にはもっと少ない量しか移行していないのかも知れない (Table 2)。

消化管から吸収された鶏卵抗原がどのような状態で誘発抗原性を維持しているのかは興味のあるところである。ラットではM.W. 約5,700のインスリン分子が抗原構造を保持したまま腸管壁を通過することが報告されており³¹、またM.W. 13,000のribonucleaseは、少量であるが、何の修飾を受けないまま門脈に到達することも知られている³²。一方、モルモットのPCA反応でM.W. 70,000以上のグリンピースアルブミンと反応する抗血清の活性が、このアルブミン分画から抽出されたM.W. 2,000の物質で吸収されるという報告もある³³。この分子自身にはPCA誘発能はなかった。したがって、消化管粘膜細胞を、抗原性を保持した高分子物質が通過する可能性が考えられる。本実験において、免疫抗原として用いた鶏卵は、腹腔内に投与され、消化液による修飾をうけていないので、nativeなエピトープを保持したまま抗体産生を刺激したはずである。一方、静脈内投与に比べ、経口投与の場合、消化酵素の影響はさけ難い。しかしながら、nativeなエピトープに特異的な抗体が反応することから、抗原のエピトープもnativeな状態で保存されていることが想像される。このことを証明するため、抗EM抗体と構成成分の交差試験の比較を静脈内投与と経口投与の間で行った。Table 4に示すように、各成分の抗血清に対する反応の程度は、両者の間で強い相関を示した。さらに抗体吸収実験 (Table 5) において、各抗原で吸収された抗体と経口投与したEMにより惹起されるPCA反応は、吸収に用いた各抗原により、その抑制の程度が異なることから、各成分が腸管で修飾された同一抗原を異なる程度に保有すると考えるより、それぞれの成分のもつnativeな抗原の差によると考えた方が妥当なように思われる。

以上の結果から、食物の一部分は、分子構造を保持したまま血中に移行し、反応誘発抗原として作用し、I型アレルギーを惹起するものと思われる。したがっ

て、この実験モデルは、卵が関与するアレルギー性皮膚炎の発症の機序解明に有用なデータを提供することが期待される。

結 語

ラットPCA反応を用いて、食物アレルギーにより惹起される皮膚炎症反応の実験モデルを確立した。この方法を用いて、経口的に投与された抗原は、抗原性を保持したまま皮膚局所に到達し、炎症を惹起することを確認するとともに、経口投与で局所に到達する抗原量、反応誘発までの時間などを明らかにした。

稿を終えるのに際し、研究の機会を与えて頂いた日本医学技術専門学校校長皆川 彰先生ならびに教務主任小長谷勝利先生に深謝いたします。また、実験にご協力を頂いた日本医科大学微生物学免疫学教室教室員の先生方に感謝いたします。

文 献

1. Levine BB, Vaz NM: Effect of combination of inbred strain, antigen and antigen dose on immune responsiveness and reagin production. *Int Arch Allergy* 1970; 39: 156—163.
2. Watanabe N, Ovary Z: Antigen and antibody detection by in vivo methods: A reevaluation of passive cutaneous anaphylactic reaction. *J Immunol Methods* 1977; 14: 381—391.
3. 多田富雄, 谷口 克: PCA反応—homocytotropic antibodyを中心として。免疫実験操作法, 免疫生物IIIの1。1976; pp533—537, 日本免疫学会。
4. 奥平博一, 宮本照正: IgE抗体における生体反応惹起の機序。臨床免疫 1984; 16: 708—714.
5. Atherton DJ: Atopic disease and food allergy. *Clin Exp Allergy* 1991; 21: 649—650.
6. 馬場 実: 食物アレルギーとその臨床。栄養誌 1990; 48: 53—62.
7. 豊田裕治, 高橋 清, 木村郁郎: 吸入性抗原に起因するアレルギー性胃腸炎。アレルギーの臨 1989; 109: 35—38.
8. 松村龍雄: 食物アレルギー。栄養誌 1987; 45: 245—253.
9. Paganelli R, Levingsky RJ, Brostoff J, Wraith DG: Immune complexes containing food proteins in normal and atopic subjects after oral challenge and effects of sodium chromoglycate on the antigen absorption. *Lancet* 1979; 16: 1270—1271.
10. 織田敏次, 狩野恭一, 多田富雄, 木村一郎 (編): 免疫学用語事典 1989; p337, 最新医学社。
11. 中村孝司: 蛋白の消化, 吸収, 消化管機能 (中村孝司編) 1988; pp284—316, 中外医学社。

12. Mota I, Wong D: Homologous and heterogous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sciences* 1969 ; 8 : 813—823.
13. Orange RP, Stechschulte DJ, Austen F: Immunological and biological properties of the rat IgE. II. Capacity to mediate the immunologic release of histamine and slow-reacting substance of anaphylaxis. *J Immunology* 1970 ; 105 : 1087—1093.
14. Ovary Z, Caiazza SS, Kojima S: PCA reaction with mouse antibody in mice and rat. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1975 ; 48 : 16—21.
15. Katayama S, Shionoya H, Ohtake S: A new method for extraction of extravasated dye the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs. *Microbiol Immunol* 1979 ; 22 : 89—101.
16. Holen E, Elsayed S: Characterization of four major allergen of hen egg white by IFF/SDS PAGE combined with electrophoretic transfer and IgE immunoautoradiography. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990 ; 91 : 136—141.
17. Ovary Z: In vitro and in vivo interaction of anti-hapten antibodies with monovalent and bivalent haptens. *Conceptual Advances in immunology and Oncology*. 1963 ; pp206—219, Harvert Medical Division, Harper and Row, New York.
18. 斎藤公幸, 河野陽一: 腸管での抗原吸収. *アレルギー領域* 1996 ; 13 : 1289—1294.
19. 豊田 繁: 腸管上皮の微細構造. *アレルギー領域* 1996 ; 13 : 1283—1288.
20. 中村孝司: 蛋白の消化, 吸収, 消化管機能. 中村孝司編, 1996 ; pp283—316. 中外医学社.
21. Walker WA, Isselbacher KJ: Intestinal antibody. *New Engl J Med* 1977 ; 297 : 767—769.
22. Walker WA, Isselbacher KJ: Uptake and transport of macromolecules by the intestine: Possible role in clinical disorders. *Gastroenterology* 1974 ; 67 : 531—550.
23. Conell R, Walker WA, Isselbacher KJ: Small intestinal absorption of horseradish peroxidase. *Lab Invest* 1971 ; 25 : 42—48.
24. Owen RL: Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of peyer's patches in the normal unobstructed mouse intestine. *Gastroenterology* 1977 ; 72 : 440—451.
25. Kao VCY, Burrows SW: Experimental cholera: Immunohistochemical observation on the localization of toxin in the intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1970 ; 58 : 965—972.
26. Keljo DJ, Hamilton JR: Quantitative determination of macromolecular transport rate across intestinal payer's patches. *Am J Physiol* 1983 ; 244 : 637—644.
27. Rammage LK, Stanis A, Scicchitano R, Hunt R: Effects of immunologic reaction on rat intestinal epithelium. Correlation of increased permeability to Chromium 51-labeled ethylenediaminetetra acetic acid and ovalbumin during acute inflammation and anaphylaxis. *Gastroenterology* 1988 ; 94 : 1357—1368.
28. Hemings WA, Williams EW: Antigen absorption by the Gut. *Lancet* (ii) 1978 ; 79 : 715—717.
29. Peng HJ, Turner MW, Strobel S: The generation of a toleragen after the ingestion of ovalbumin is time-dependent and unrelated to serum levels of immunoreactive antigen. *Clin Exp Immunol* 1990 ; 81 : 510—515.
30. 上野川修一: 食物アレルギーの成立機序. *治療学* 1991 ; 25 : 1154—1158.
31. Danforth E, Moore RO: Intestinal absorption of insulin in the rats. *Lancet* 1959 ; 26 : 118—123.
32. Alpers DH, Isselbacher KJ: Protein synthesis by intestinal mucosa: The role of ribonuclease. *J Bio Chem* 1969 ; 242 : 5617—5622.
33. Malley A, Baecher L, Mackler B, Perlman F: The isolation of allergens from the green pea. *J Allergy Clin Immunol* 1975 ; 56 : 282—290.

(受付: 1996年11月19日)

(受理: 1996年12月27日)