原著

漢方薬アレルギーの診断法
に関する研究(I)

—小柴胡湯を用いた生薬抗原と抗原特異抗体の検出法の検討—

福田 一典¹⁾ 鈴木 理恵²⁾ 小松 靖弘³⁾Studies on Diagnostic Methods to Detect Drug Allergies to Kampo
Medicines (I): Preliminary Analysis of Antigens from Crude Drugs
and Antigen-Specific Antibodies using Shosaiko-to ExtractsKazunori FUKUDA¹⁾ Rie SUZUKI²⁾ Yasuhiro KOMATSU³⁾

1) M. D., 2) Pharmacist, 3) D. V. M.

1)~3) Kampo Pharmacology, Central Institute of Laboratories, Tsumura & Co., 3586 Yoshiwara
Amimachi, Inashiki-gun, Ibaraki 300-11, Japan

Abstract Recently, there has been an increase in reports of allergic reactions to Kampo medicines. In order to elucidate the mechanisms of these so-called Kampo allergies, suitable methods are necessary to detect allergens in crude drugs and allergenspecific antibodies in sensitized individuals. In this study, methodology and sensitivity were studied using enzyme-linked immunosorbent assay and Western blot analysis. The antigens used were haptenized baicalin and high-molecular-weight components of Ginseng Radix, both derived from Shosaiko-to extract.

Attempts were also made to further identify antigens from Shosaiko-to and detect antigen-specific antibodies in immunized rabbits.

Key words: Drug allergies, Kampo medicines, antigens, crude drugs, antigen-specific antibodies

Abbreviations: BSA (bovine serum albumin), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), MoAb (Monoclonal antibody)

Nihon Toyo Igaku Zasshi (Japanese Journal of Oriental Medicine), **46**, 417-426, 1995

(accepted July 12, 1995)

緒 言

漢方薬服用により発疹などの過敏症を呈することがあり、稀ではあるがアレルギー性の肝炎、間質性肺炎、膀胱炎なども報告されている^{1)~3)}。過敏性肺炎、職業性喘息、食物アレルギーなどの疾

患においては、アレルギーとして植物成分が同定される症例も多く知られており^{4) 5)}、生薬成分がアレルギーとなるいわゆる漢方薬アレルギーの存在も以前より認識されている⁶⁾。しかし、発症例が少ないことと、多くの成分を含有する漢方方剤からのアレルギーの同定が困難なことから、漢方

1) 医, 2) 薬, 3) 獣医, 1)~3) ㈱ツムラ中央研究所第一漢方薬理研究部, 茨城, 〒300-11 稲敷郡阿見町吉原3586

[1995年7月12日受理]

薬アレルギーの発症機序や診断・予防に対する積極的な検討はなされていない。

近年、漢方薬の使用の増加に伴い、生薬成分に対するアレルギー機序での副作用の報告も増加する傾向にあり、漢方薬アレルギーに対する診断と予防への対応も必要となっている。薬物アレルギーの診断にはリンパ球刺激試験や誘発試験が行われているが、両者の試験結果が一致しない症例も多く^{1)~3)}、また漢方薬からのアレルゲンの同定の目的にはこれらの検査法は適していない。誘発試験は最も直接的な薬剤アレルギーの証明法ではあるが、人道上の理由から実施に制限があり、種々の試験法での検討の必要性も指摘されている^{7)~8)}。漢方薬アレルギーの診断・予防に役立てる研究を推進するためには、多くの成分を含有する生薬成分からの原因アレルゲンの同定およびアレルゲン特異的抗体の検出が必要である。漢方薬アレルギーを呈する患者血清を用いた *in vitro* の検査法の確立を目的として、今回、Ⅱ、Ⅲ型アレルギー発症での関与が想定される生薬アレルゲン特異的 IgG 抗体および生薬アレルゲンの検出法としての ELISA 法と Western blot 法に関する基礎検討を、小柴胡湯エキスおよびその成分を用いて検討し若干の知見を得たので報告する。

方 法

1. モノクローナル抗体 (MoAb) 作製

小柴胡湯成分のうち、ハプテン化抗原の例として黄芩の主成分である baicalin を、高分子量の生薬抗原として人参のエタノール沈殿画分（以下、人参高分子量成分）を用い、それらの抗原に対する MoAb を作製した。ハプテン化 baicalin は Storm-Mathisen らの方法⁹⁾ に従い、glutaraldehyde を使用して baicalin を牛アルブミン (BSA) にクロスリンクすることにより作製した。人参高分子量成分は、人参の熱水抽出エキス粉末を 10mg/ml の水溶液とし、4 倍量のエタノールの添加により沈殿する分画を使用した。マウスへの免疫および MoAb 産生ハイブリドーマの作製は既報に準じて行った¹⁰⁾。

2. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

抗原の固相化は、BSA 結合 baicalin (100 μ g/ml)、人参高分子量成分 (2 mg/ml)、小柴胡湯エキス (10mg/ml) を括弧内の濃度にて行った。BSA 結合 baicalin は 50mM 炭酸・重炭酸緩衝液 (pH9.6) に、他は PBS に溶解し 96 well plate (Nunc-Immuno Plate, Nunc, Denmark) に 100 μ l/well 添加し、4 $^{\circ}$ C にて16時間以上放置することにより抗原の固相化を行った。非結合部位のブロッキングには 1% スキムミルクを使用した。固相化抗原に結合した抗体の検出は、alkaline phosphatase (ALP) 結合二次抗体を使用した間接法、およびビオチン化二次抗体と peroxidase 標識 avidine-biotin complex (ABC) を用いた ABC 法の2つを検討した。ABC 法は VECTASTAIN Elite ABC kit (Vector Laboratories, CA, USA) を用いた。各抗体反応後の洗浄は Immuno Washer NK-300 (Nunc) を使用し、間接法では 0.05% Tween 20 添加 PBS、ABC 法では PBS にて行った。ALP の基質として *p*-nitrophenyl phosphate を、peroxidase の基質として *o*-phenylenediamine を用い、それぞれ 405nm, 492nm の測定波長および 690nm の参照波長にて測定した。サンプルは triplicate にて測定し、データは mean $\pm$ S. E. で示し、コントロールとの有意差検定は paired Student's *t* test を用い、 $P \leq 0.05$ を有意とした。検体中の IgG 濃度は精製マウス IgG (INTER-CELL TECHNOLOGIES, INC.) をスタンダードとして、一元免疫拡散法にて測定した。

3. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) と Western blot 法

SDS-PAGE および Western blot 法は 5~20% の gradient gel を使用し既報に準じて行った¹⁰⁾。SDS-PAGE により分離された抗原を Semi Dry Electrobloetter (Sartorius 社) を用いてイモビロン膜 (MILLIPORE) に転写し、5% スキムミルクでブロックしたのち、一次抗体、ALP-標識二次抗体との反応を行い、発色は nitro blue tetrazolium (300 μ g/ml) / 5-bromo-

図1 baicalin に対するモノクローナル抗体 BC-41 の抗原特異性の検討

BC-41 モノクローナル抗体は、ウシ血清アルブミン (BSA) に baicalin を glutaraldehyde でクロスリンクした BSA-baicalin を免疫して作成した。

(A) Western blot では、BC-41 抗体が glutaraldehyde 処理 BSA (lane 1) には結合せず、BSA-baicalin (lane 2) に結合することを示す。glutaraldehyde 処理により BSA は 68kDa の整数倍を呈する multimer となっているため複数の band が検出される。

(B) BSA-baicalin を固相化した ELISA にて BC-41 抗体とコントロール IgG の抗原結合性を alkaline phosphatase 標識二次抗体を用いた間接法にて検討した。BC-41 抗体の濃度に依存した吸光度の増加を示す (mean $\pm$ S. E., $n=3$)。

(C) BSA-baicalin を固相化した ELISA 法において、1 μ g/ml の BC-41 抗体と種々の濃度のフリーの baicalin を添加した場合の BC-41 抗体の抗原結合性を検討した。BC-41 抗体による固相化 BSA-baicalin への結合を遊離の baicalin が濃度依存性に阻止することを示しており、これは BC-41 が baicalin に特異性を有することを示す (mean $\pm$ S. E., $n=3$)。

4-chloro-3-indolyl phosphate (150 μ g/ml) / 10mM Tris-HCl, pH9.5/100mM NaCl/5 mM $MgCl_2$ により行った。

4. 小柴胡湯エキスによるウサギの免疫

小柴胡湯エキス粉末 (lot no. 240009020) は (株) ツムラより入手し、蒸留水にて 100mg/ml に溶解してウサギ背部皮下に2週毎に 1 ml を注射して免疫した。1 回目は Freund's complete adjuvant と混合し、2 回目は incomplete adjuvant と混合して注射し、さらに2回の追加免疫の後、最終免疫の2週後に採血し、血清を分離して抗血清とした。

結 果

1. ハプテン化 baicalin および人参高分子量成分に対する MoAb 作製

常法に従い細胞融合およびスクリーニングを行い、baicalin および人参高分子量成分に結合する MoAb を産生する多数の hybridoma クローンを得た。このうち、特異性を基準に選別し、baicalin に対する MoAb 産生クローンとして BC-41 を、人参高分子量成分中のあるエピトープを認識する MoAb 産生クローンとして GPS-19 を選択し、その抗原特異性を検討した (図1・2)。glutaraldehyde 処理により分子間のクロスリンクが起こり、BSA は multimer となり、

図2 人參高分子量成分に対するモノクローナル抗体 GPS-19 の抗原特異性の検討
GPS-19 モノクローナル抗体は、人參高分子量成分を免疫して作成した。

(A) 人參高分子量成分を固相化した ELISA 法で GPS-19 抗体とコントロール IgG の抗原結合性を alkaline phosphatase 標識二次抗体を用いた間接法にて検討した。GPS-19 抗体の濃度に依存した吸光度の増加を示す (mean $\pm$ S. E., n=3)。

(B) Western blot は、小柴胡湯と人參の高分子量成分に対する GPS-19 の抗原認識パターンを示し、認識するエピトープが proteinase K 処理により消失することを示す。

baicalin を添加することにより、baicalin 結合 BSA multimer (BSA-baicalin) を作成できる。図 1 A の Western blot に示す如く、BC-41 抗体は glutaraldehyde 処理で生ずる BSA multimer には結合せず、BSA-baicalin にのみ結合した。BSA-baicalin を固相化した ELISA において、BC-41 は用量依存性に BSA-baicalin と結合し (図 1 B), この結合反応は、反応液中に free の baicalin を添加することにより阻害され (図 1 C), BC-41 が baicalin を認識する MoAb であることが証明された。一方、GPS-19 は人參高分子量成分を固相化した ELISA にて用量依存性に結合し (図 2 A), その認識する抗原は、分子

量が 30kDa 付近に main のバンドを示す heterogeneous な抗原であり、そのエピトープは蛋白分解酵素処理 (100μg/ml proteinase K, 50℃, 3 時間) で消失した (図 2 B)。人參水可溶エキスの 80% エタノール沈殿画分は多糖や蛋白などの多種類の高分子量成分を含有しているが、GPS-19 が人參中のある種の蛋白成分を認識する MoAb であることが示された。生薬成分を用いた ELISA 法の条件検討を、これらの MoAb を用いたアッセイモデルを使用して以下に検討した。

2. ELISA 法を用いた生薬抗原特異 IgG の検出感度の検討

生薬成分としてハプテン化 baicalin と人參高

図3 avidin-biotin-complex 法を用いた ELISA 法の検出感度の検討

固相化抗原にして、BSA-baicalin (A)および人参高分子量成分(B)を用い、BC-41 抗体(A)あるいは GPS-19 抗体(B)の検出感度を、正常マウス IgG をコントロールとして検討した。コントロール IgG に対して有意に吸光度が高くなる最終抗体濃度を検出感度にした (mean $\pm$ S. E., n=3)。

図4 小柴胡湯水エキスを固相化抗原とした ELISA での BC-41 抗体と GPS-19 抗体の検出感度の検討 (mean $\pm$ S. E., n=3)。

分子量成分を用い、これらの抗原を固相化した well での ELISA の感度および IgG の非特異的結合を検討した。正常マウス IgG をコントロー

ルとして MoAb と濃度を同じにして ELISA を行い、コントロール IgG に対して有意に吸光度が高くなる最小濃度を測定感度とし、ALP 結合

図5 小柴胡湯水エキスを免疫したウサギの血清を用いた ELISA 法の検討

小柴胡湯水エキス中の成分に対する抗体の検出を、固相化抗原として小柴胡湯水エキス(A), 人参高分子量成分(B), BSA-baicalin (C)を用いた ELISA について検討した。

小柴胡湯水エキスの免疫は2匹のウサギを使用し (SST-1, 2), 隔週計4回皮下注にて免疫し, 最終免疫1週後に採血した。コントロールは小柴胡湯水エキスの代わりに生理食塩水を用いた (CTRL) (mean $\pm$ S. E., $n=3$)。

二次抗体を使用した間接法と Peroxidase 標識 ABC 法の2通りを比較した。ハプテン化 baicalin を固相化した ELISA では, BC-41 抗体の間接法での感度は 100pg/ml (図1 B), ABC 法では 100pg/ml と同程度であった (図3 A)。人参高分子量成分を固相化した ELISA では, GPS-19 抗体の間接法での感度が 1ng/ml (図2 A) であるのに対し, ABC 法では 100pg/ml であった (図3 B)。これら2種類の ELISA 系では, 正常 IgG の非特異的結合は $10\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で有意に上昇した。

次に小柴胡湯エキスを固相化抗原として使用した場合には, 概ね $1\mu\text{g/ml}$ 以上で非特異的結合が上昇した。ABC 法にて抗 baicalin 抗体 BC-41 と抗人参高分子量成分 GPS-19 の検出感度を検討したが, BC-41 抗体は検出できず, GPS-19 抗体はコントロール IgG より有意に吸光度は上昇する濃度は $\mu\text{g/ml}$ のオーダーであった (図4)。

3. 小柴胡湯エキスに対するポリクローナル抗体を用いた検討

黄芩と人参を含む漢方方剤である小柴胡湯エキスをを用い, ウサギに adjuvand を使用して免疫し

た抗血清, および小柴胡湯の代わりに生理食塩水を同様に投与したコントロールウサギの血清を用いて, 小柴胡湯エキスに対する IgG 抗体の ELISA 法による検出を検討した。固相化抗原として小柴胡湯エキス, BSA-baicalin, 人参高分子量成分を用いた ELISA の結果を図5に示す。コントロール IgG に対して有意に吸光度が高くなる最小濃度を測定感度とした場合, 人参高分子量成分を固相化した場合が最も検出感度が良く (図5 B), BSA-baicalin に結合する抗体は検出できなかった (図5 C)。小柴胡湯エキスを固相化抗原とした ELISA では, 感度は人参高分子量成分に次ぐが IgG の非特異的結合は強い傾向にあった (図5 A)。

4. Western blot 法による小柴胡湯抗原の検出

ELISA 法にて小柴胡湯成分に対して高力価の抗体産生を認めた抗血清を用いて, 小柴胡湯および7種の構成生薬のエキスから Western blot 法により抗原の検出を試みた。図6に示すように, 小柴胡湯および各生薬の水エキス中に多くの抗原性を有する成分が確認できた。

図6 小柴胡湯水エキスを免疫したウサギの抗血清を用いた Western blot での抗原解析
小柴胡湯水エキスおよび7種の構成生薬を SDS-PAGE で分離し、小柴胡湯水エキス免疫ウサギ抗血清にて抗原の検出を行った。コントロールウサギ血清と小柴胡湯水エキス免疫ウサギの血清は1000倍希釈にて Western blot に用いた。

考 察

漢方薬は歴史的に長い使用経験の蓄積により確立されたため、副作用の極めて少ない安全性の高い薬剤として一般に認められている。しかし、漢方薬成分に対するアレルギー反応は古典的経験則では予測できない副作用であり、他の薬剤アレルギーと同様の対応が必要である。薬剤アレルギーの発症機序として、Coombs & Gell は4つのタイプに分類しており、それぞれの型において多くの診断法が提唱されている⁸⁾。このうち、IgE が関与するⅠ型アレルギー、IgG、IgM が関与するⅡ、Ⅲ型アレルギーにおいては、アレルゲン特異的抗体の検出が可能なことも多く、患者血清を用いたアレルゲンの同定も可能である¹¹⁾。漢方薬が薬剤アレルギーの原因薬剤として推定された場

合、現時点では誘発試験とリンパ球刺激試験での検討が主として行われているが、両者の試験結果が一致しないことも多い¹²⁻¹³⁾。漢方薬の様に mitogenic 活性を有する成分や細胞増殖抑制作用の強い成分などが混在する薬剤の場合には、リンパ球刺激試験の結果の信頼性に影響する要因が多く存在するものと推察される。誘発試験は原因薬剤の最も直接的な証明法であるが、薬剤性の間質性肺炎や肝炎など重篤な症状を来す症例では誘発試験の施行は人道上困難であり^{7) 8)}、したがって漢方薬アレルギーの診断に適した種々の検査法の確立が必要である。漢方薬アレルギーの実態を明らかにし、診断や予防に役立てるためには、漢方薬アレルギーを呈した患者血清からのアレルゲン特異抗体の検出法やそれを用いた生薬アレルゲンの同定法に関する検討が今後必要と思われる。

定量性と感度の優れた *in vitro* の検査法として今回、特異抗体を検出するための ELISA 法、および患者血清を用いた生薬アレルゲンの同定を想定した Western blot 法の検討を行った。今回特に IgG 抗体の検出を想定した検討を行った理由としては、(1)漢方薬の副作用のうちアレルギー機序が指摘されている間質性肺炎や肝炎などの発症においては、IgG 抗体によるⅡ、Ⅲ型アレルギー機序の関与も示唆されていること、(2)IgE 抗体検出と異なり、血中濃度の高い IgG の場合には、ELISA 法や Western blot 法の応用において、IgG の非特異的結合による background の上昇が問題であり、患者血清を用いた検出法として確立するためには条件設定の予備検討が必要であること¹²⁾、(3)低分子量の成分と蛋白や多糖類などの高分子量の成分など heterogenous な成分を含有する漢方方剤を用いた ELISA や Western blot 法の応用可能性に関する研究がなされていなかったこと、などが挙げられる。

まず、ELISA 法に関しては、間接法と ABC 法を感度の観点から比較したが、従来の多くの報告と同様、ABC 法のほうが検出感度が高く有用であった。漢方薬エキスのように heterogenous な成分を含有するサンプルを固相化抗原とする ELISA では特に感度の高い方法が必要である。一方、高感度の ELISA 法を高濃度の IgG を含むサンプルに応用した場合には、抗体の非特異的結合による background 値の上昇が問題となる¹²⁾。今回、人参高分子量成分、ハプテン化 baicalin、小柴胡湯エキス成分の3種の抗原を固相化した ELISA 系で検討したが、概ね IgG 濃度 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で非特異的結合が上昇する傾向にあった。通常ヒト血清中には $10\text{mg}/\text{ml}$ 前後の IgG が含まれているため、IgG ELISA では血清サンプルを1000倍以上に希釈して検査する必要性を今回の結果は示している。IgG 濃度が $10\mu\text{g}/\text{ml}$ の希釈血清サンプルを測定しても、検出感度が $100\text{pg}/\text{ml}$ であるため、理論的には血清 IgG 中に特異抗体が 0.001 %以上を占めておれば特異抗体を検出できることになる。したがって、IgG ELISA での抗原特異抗体の検出には、同濃度の正常血清をコ

ントロールとして希釈サンプルにて比較検討すれば、検査法として十分応用可能と思われる。

薬剤アレルギーのみならず食物アレルギーや花粉症など多くのⅠ型アレルギーにおけるアレルゲン特異的 IgE の検出や、患者血清を用いたアレルゲンの同定に関しては多くの報告がある⁵⁾。Ⅰ型アレルギーでの漢方薬過敏症の診断においては、今回検討した検出法において、二次抗体に抗ヒト IgE 抗体を用いれば応用可能であり、今後は漢方薬過敏症を呈した患者の血清を用いた検討を積み重ねることにより検査法の有用性を検証すると同時に原因アレルゲンを同定する努力が必要である。

漢方薬中の蛋白質や多糖類など高分子量成分がアレルゲンとなっている場合は、今回示した ELISA 法と Western blot 法によって抗体の検出とアレルゲンの同定が可能であることが示された。しかし、人参高分子量成分に対する MoAb を用いて、固相化抗原として小柴胡湯エキスと人参高分子量成分を比較した場合、前者より後者のほうが1000倍以上の抗体検出感度を示したことは、漢方薬中の多彩な生薬成分のうち量的に少ない成分が唯一のアレルゲンとなっている場合には漢方方剤エキスそのものを用いた ELISA や Western blot 法では検出感度がかなり低下することを意味している。同様の結果は小柴胡湯エキスを免疫したウサギ血清からの特異抗体検出の検討でも示された。すなわち、固相化抗原として小柴胡湯エキスそのものを用いるより、人参高分子量成分を固相化したほうが特異抗体の検出感度や非特異的 IgG 結合の少なさにおいて勝っており、成分別の ELISA 系の有用性が示唆された。今後各粗アレルゲンから原因アレルゲンを同定できれば、その成分を分離・精製し、十分な量を固相化することにより臨床的に有用な IgG ELISA が確立できると思われる。また、baicalin と人参成分を用いて ELISA の条件検討を今回行ったが、図6の Western blot の結果に示す如く、柴胡・半夏・甘草には強い抗原性を有する物質が明らかとなり、今後はこれら抗原性の高い成分を用いた検討も必要と思われる。一方、低分子量成分の多

くは plastic plate に吸着されないことが知られており、ELISA の固相化抗原とするためには蛋白質にハプテン化する必要がある。図4の実験において、約2%の baicalin を含む小柴胡湯水エキスを固相化抗原とした場合に、baicalin に対する BC-41 抗体が検出できなかった理由として、free の baicalin は plastic plate に固相化されないことと、小柴胡湯水エキス中には高分子量成分にハプテン化した baicalin が十分量存在しないことが挙げられる。また、代謝産物がハプテン化として抗原性を獲得する場合には、今回のように単にエキス成分を固相化するだけでは、原因アレルゲンの検出法として限界があることも示唆され、多くの成分を含む漢方薬のアレルギーの診断において、ハプテン化抗原に対する検出法の改良が今後の課題として残された。

漢方薬成分に対する免疫応答に関する検討では、蛋白質などの高分子量成分が非経口的に投与された場合には、当然のことながら感作が成立し抗体が産生されることが示された。baicalin のような低分子量成分は単独では抗原性を有しないが、ハプテン化すれば抗原性を示すことが確認された。しかし、経口投与や経気道投与では感作の成立する可能性が低いことも同時に確認している(未発表データ)。他の多くのアレルギー疾患と同様に漢方薬アレルギーに関しても、患者側の要因の解析や具体的な発症機序は不明な点が多く残されている。漢方薬アレルギーを起こした臨床例での生薬成分に対する特異抗体の検出における ELISA 法の応用可能性の検証と、Western blot 法などを用いたアレルゲンの検出が今後の課題であり、今回の検討結果を参考として臨床材料を用いた研究を推進する必要がある。

結 語

漢方薬アレルギーの基礎研究の一環として、生薬成分を用いた ELISA 法および Western blot 法の検討を行い以下の知見を得た。

(1) ABC 法を用いた ELISA 法の IgG 抗体検出感度は 100pg/ml のレベルであった。

(2) IgG 濃度 10μg/ml 以上の ELISA 法で

は非特異的結合が上昇するため、血清サンプルは1000倍以上に希釈して、同濃度のコントロール血清を対照として比較検討する必要がある。

(3) 低分子量成分のハプテン化抗原や、低濃度成分の抗原の検出を想定して、ハプテン化抗原の作成法や成分別の ELISA 法や Western blot 法の確立が今後の課題と思われた。

(4) 今後、漢方薬アレルギーを呈する患者血清を用いて、これらの検査法の有用性を検証する必要がある。

文 献

- 1) 富岡洋海：漢方薬による肺病変，最新医学，**41**，1342-1348，1992
- 2) 門田洋一，他：小柴胡湯による薬剤性肝障害の一例，肝臓，**34**，36-41，1993
- 3) 厚生省薬務局：医薬品副作用情報，No.107(1991)，No.111 (1991)，No.117 (1992)，No.118 (1993)，No.123 (1993)
- 4) 大塚恭男，丁宗鉄，訳著：臨床医学と薬用植物，世界の薬草と漢方，pp.445-470，エンタプライズ，1985
- 5) 井村裕夫，他，編集：最新内科学体系62(気管支喘息・アレルギー性肺疾患)，中山書店，1994
- 6) 寺澤捷年，他：座談会・漢方薬の副作用軽減と対策(1)副作用をめぐる，漢方医学，**15**，253-267，1991
- 7) 高藤 繁，森田 寛：薬物アレルギー，医薬ジャーナル，**30**，1841-1846，1994
- 8) 田所憲治：薬剤アレルギー，最新医学，**49**(臨時増刊号・アレルギー性疾患の病態・診断・治療)，659-669，1994
- 9) Storm-Mathisen, J., et al.: First visualization of glutamate and GABA in neurones by immunocytochemistry. *Nature*, **301**, 517-520, 1983
- 10) Fukuda, K., et al.: Association of fibronectin-like antigens in chromatin preparations from rat hepatoma cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, **283**, 401-408, 1990
- 11) 友永淑美：ELISA 法による Rifampicin 代謝物に対する特異抗体の検出；Rifampicin による副作用発症メカニズムの検討，アレルギー，**42**，854-863，1993
- 12) 安枝 浩，他：抗原特異的 IgG 抗体の測定；抗原結合_Glass Rod を用いる¹²⁵ 1-Protein A

Solid Phase Radioimmunoassay の基礎的検討,

アレルギー, 31, 18-28, 1982

要旨 近年、漢方薬の使用の増加に伴い、生薬成分に対するアレルギー機序での副作用の報告も多くなり、漢方薬アレルギーに対する診断と予防への対応が必要となっている。漢方薬アレルギーの発症機序や診断・予防に対する研究を進める目的にて、多くの成分を含有する漢方方剤からのアレルゲンの同定や、アレルゲン特異的抗体の検出を行うための ELISA 法および Western blot 法の基礎検討を行った。今回、小柴胡湯エキス由来の生薬抗原としてハプテン化バイカリンと人参高分子量成分を想定し、これらの抗原に対するモノクローナル抗体を使用して ELISA 法の感度検定および問題点の解析を行った。さらに小柴胡湯エキスを免疫した動物の抗血清を用い、生薬抗原特異抗体および生薬抗原の検出を行い、患者血清を用いた検査における今後の問題点を指摘し考察した。

キーワード：漢方薬アレルギー、生薬抗原、抗原特異抗体