

# アレルギー胃内投与後の急性運動が感作マウスのアレルギーの消化性とアナフィラキシー症状に及ぼす影響

草加一帆\*<sup>1</sup> 矢野博己\*<sup>2</sup> 加藤保子\*<sup>1</sup>

## 要 約

18匹のBALB/cマウスを感作・運動群(SE, n=6), 感作・安静群(SR, n=6), コントロール群(CE, n=6)の3群に分けた。SEとCEの2群にはオボアルブミン(OVA)/水酸化アルミニウムを1週間ごとに3回免疫した。コントロール群と比較するとOVA特異IgE値と総IgE値が2~3倍高く上昇した。SE群とCE群はOVAを胃内投与した直後に傾斜5%, 30分間のトレッドミル走を负荷した。運動负荷後にアレルギー反応を30分間観察した。SR群にはPBSを胃内投与し, 運動负荷は行わなかった。感作したマウスの生体内でのタンパク質消化性と小腸粘膜組織の傷害を運動负荷の有無で比較するとSR群に比べてSE群の小腸内部には抗原性を保持したOVA加水分解物が多く残存している傾向が認められた。SE群マウスは引っ掻いたり動きが鈍くなるようなアナフィラキシー症状が観察された。小腸粘膜上皮組織を走査電子顕微鏡で観察するとSE群では小腸の傷害が観察されたが, SR群では傷害が認められなかった。以上の結果から, アレルギータンパク質胃内投与後に中等度急性運動を负荷と消化能力の低下と小腸組織の傷害によって感作マウスはアレルギー症状を引き起こす可能性が示唆された。

## はじめに

これまでに行なわれてきた食餌摂取後の運動が胃腸内容物の消化性に及ぼす影響についての研究は, 運動生理学の見地から多くの報告がなされているが, デンプンや糖質などで血液検査による測定<sup>1-4)</sup>が容易なものに限られて用いられてきた。

タンパク質の消化・吸収についての研究は, Curit<sup>5,6)</sup>やその他多くの研究者によってタンパク質の構成炭素元素をランダムに放射性同位元素でラベルしてその消化性の研究が行なわれてきたが, 食品タンパク質の実験に適應するのは困難と考えられる。伏木ら<sup>7)</sup>はオボアルブミンを用いて免疫化学的方法でラットの胃腸内消化について報告しているが, 運動によるタンパク質の消化性についての研究はほとんど見あたらない。

一般に経口摂取されたタンパク質は, 消化管で消化されてアミノ酸やペプチドなどの低分子となり吸収されるが, 抗原性は失われ, アレルギーを引き起こすことはない。しかし, 消化管内での分解が不十分であり, 抗原性を持ったままの状態で腸管粘膜層

から吸収され血中へと通過することが報告されている。通常このような場合には消化管の粘膜上皮細胞から腸管内に分泌されるIgA(分泌型IgA)が残存している抗原と結合し, アレルギーが腸管から体内に移行するのを防ぐ<sup>8)</sup>。しかし, 1) 新生児の時に何らかの理由で母乳が与えられなかった場合, 母親の免疫グロブリンを介した受動免疫が行なわれず, 腸管からの分泌型IgAが少なく異物(抗原)の侵入に対して防御能力が低下すること<sup>9)</sup>, 2) 腸管の構造未熟により小腸粘膜上皮細胞間のtight junctionが壊れやすいこと, 3) 消化機能の未熟なため, 抗原提示されやすい状態で食物が小腸に達すること, また4) ウイルス性腸炎などへの罹患から, 小腸粘膜損傷をきたし, 消化管粘膜内に存在する免疫担当細胞が活性化されやすい等の要因によって食物アレルギーが生体内に侵入しアレルギーを発症しやすくなる。

フルマラソンやトライアスロンなどの長時間に及ぶ運動を行なった人が消化管の異常を訴えたり, 下血したという症例が報告されている<sup>10)</sup>。これらの症例報告は, 運動によって小腸粘膜上皮細胞の傷害が

生じている可能性を示唆する物と考えられる。この事実を踏まえて、矢野ら<sup>11)</sup>は腸内グラム陰性菌体外膜エンドトキシンをメルクマールとして、ラットに70%VO<sub>2</sub>maxの中等度の運動負荷を行うと肝臓のKupffer細胞によるエンドトキシンの貪食能が亢進し、同時に小腸絨毛部分のびらん像を観察したと報告している。この実験結果は、中等度の急性運動負荷が小腸絨毛の傷害を発生させる可能性を示唆したものであり、これまでに提起されてきた各種の小腸組織の破壊要因に新たな要因として加えられる可能性を示すものである。もしこのような小腸粘膜上皮組織の損傷が生じていれば、アレルゲンの生体内への侵入が更に容易になると考えられる。

そこで、本研究ではBALB/cマウスを用いてオボアルブミンで免疫して感作マウスを作成し、胃内投与後に中等度、30分間の運動を負荷した。胃腸内のタンパク質残存量から消化性を測定し、運動後のアレルギー反応の観察、運動負荷による腸管粘膜上皮組織の観察を行い、これらの結果からアレルゲンタンパク質の消化・吸収と共に食餌依存性運動誘発アナフィラキシー (food-dependent exercise-induced anaphylaxis: FDEIA) に関する基礎的資料を得ることを本研究の目的とした。

### 材料及び方法

#### 1. マウス

4週齢のBALB/c系雄マウス(日本クレア)18匹を購入し、2週間の予備飼育を行なった。実験期間中は卵白を含まないMF飼料(オリエンタル酵母工業)及び水を自由摂取させた。

#### 2. 免疫

体重が均等になるように感作しないで運動を負荷する群(control-exercise: CE群, n=6)と感作させて運動を負荷する群(sensitized-exercise: S群,

n=6)と感作させて安静にしておく群(sensitized rast: S群, n=6)に分け、S群には一匹当たり10 $\mu$ g OVA/Alum1mg/PBS200 $\mu$ l (Alum: 水酸化アルミニウム, PBS: phosphate buffer saline)を1週間間隔で3回腹腔内注射をした(Fig.1)。免疫注射前日と免疫注射の各1週間後に各マウスの眼窩静脈から採血し、EDTAチューブに入れ、4 $^{\circ}$ C、3,000rpm、10分間遠心分離を行い、上清を得た。これに等量のglycerolを加えて-20 $^{\circ}$ Cで実験に使用するまで保存した。

#### 3. 運動負荷試験

運動負荷試験実施の12時間前から3群共に絶食とした。SE群とSR群には運動負荷試験直前にゾンデを用いて、胃内へOVA(25mg/PBS, 500 $\mu$ l/匹)を投与した。CE群にはOVAの代わりに同量のPBSを投与した。その後直ちにCE群とSE群には速度15m/min、傾斜5%、30分間トレッドミル走を負荷した。なお、この運動負荷は70%VO<sub>2</sub>maxに相当する。運動負荷終了後30分間マウスのアレルギー症状の観察した。

#### 4. 胃・小腸内容物の回収

その後、エーテル麻酔下で、開腹・心臓採血を行なった。胃及び胃幽門直下から盲腸直前までを切り取り、胃と6等分に分割した小腸内容物をそれぞれ1ml PBSで洗い流し回収した。15,000rpm、10分間、4 $^{\circ}$ Cで遠心分離を行い、不溶物を除去した。小腸は、切り開きPBSで小腸内を洗浄後10%ホルマリン溶液で固定した。

#### 5. 小腸の観察

ホルマリンで固定した小腸上皮組織は、実体顕微鏡(LEICA, MZ6: 2.5 $\times$ 40)を用いて小腸粘膜上皮組織の損傷を観察した。

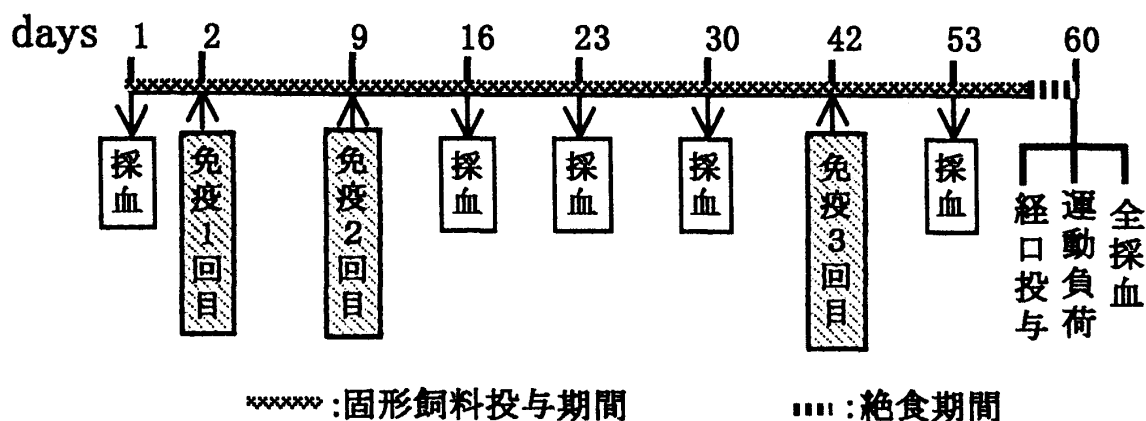


Fig.1 免疫スケジュール

↑: アレルゲンを腹腔内注射した日

## 6. 走査電子顕微鏡

小腸の一部は2%グルタルアルデド0.1M カコジレート溶液 (pH7.3) で固定した。その後1%オスミウムで後固定を行い、アルコールで脱水後、臨界点乾燥、白金パラジウムでコーティングして、走査電子顕微鏡 (日立, S-570) で観察した。

## 7. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

消化管から PBS 抽出した内容物を凍結乾燥後、PBS で溶解し10倍濃縮物とした。これに等量の sample buffer (20%SDS+10%2メルカプトメタノール) を加え、沸騰水中で5分間加熱して電気泳動用試料とした。1%SDSを含む17.5%アクリルアミドゲルを下層に、同様に4.5%ゲルを上層に用い、Laemmli<sup>12)</sup> の方法に従って泳動した。

## 8. 免疫ブロッティング

SDS-PAGE で分離したゲルをニトロセルロース膜に転写した後、3%BSA/TBS (bovine serum albumine/tris buffered saline pH7.5) 溶液中で37℃, 3時間又は4℃, 一晩でインキュベートし、タンパク質未結合部位を飽和させた。次に一次抗体として、抗OVA特異血清 (anti OVA, chicken, 名古屋大学大学院分子生体制御講座松田 幹教授から贈与を受ける) を1%BSA/TBS 5ml に1/10<sup>3</sup>量になるように加え、室温で1時間振盪して反応させた後、Tween20を含むTBS溶液 (TBS-T溶液) で洗浄した。二次抗体として、peroxidase conjugated goat anti rabbit immunoglobulin (DAKO) を1%BSA/TBS5mlに1/10<sup>3</sup>量となるように加え1時間振盪し反応させた。4-chloro-1-naphthol/methanol /TBS溶液/0.003% $H_2O_2$  を基質として加え、遮光した状態で20~30分間発色させ、OVAの検出を行なった。

## 9. ELISA<sup>13)</sup>

10 $\mu$ g/ml濃度のOVAをマイクロプレートの各ウエルの中に100 $\mu$ l添加し、37℃で3時間インキュベートしてウエルにOVAを吸着させた。Tween20を含むPBS溶液 (以下PBS-T溶液) で10分間洗浄後、1%BSA/PBS-T溶液を100 $\mu$ l加え、37℃, 30分間インキュベートして、ウエルのOVA未結合部分をブロックした。PBS-T溶液で洗浄した後、1%BSA/PBS-T溶液を各ウエルの中に100 $\mu$ l添加し、一次抗体として各マウスより採取した血清を1/10<sup>2</sup>量になるように各ウエルに加えた。37℃で一時間インキュベートした後、PBS-T溶液で3回洗浄した。二

次抗体はOVA特異IgEを測定する場合にはPOD-linked anti mouse IgE (1/10<sup>3</sup>量, Nordic) を用い、OVA特異IgGを測定する場合にはPOD-linked anti mouse IgG (1/10<sup>4</sup>量, Nordic) を用いた。これら二次抗体は1%BSA/PBS-Tで1/10<sup>4</sup>濃度として、各ウエルに100 $\mu$ lずつ添加した。二次抗体添加後は37℃で1時間インキュベートした。PBS-T溶液で3回洗浄後、合成基質であるo-phenylene diamineを含むnitrophenol phosphate disodium溶液/0.003% $H_2O_2$ 基質として加え、15~20分間発色させ2.5mol/L  $H_2SO_4$  50 $\mu$ lを加えて発色を止め、492nmの吸光度を測定した。

## 10. total IgEの定量

マウスの血清中total IgEはマウスIgE測定キット (森永生科学) を用いて測定した。抗体固相化したモジュールプレートに検体希釈溶液に血清を添加し、4℃で一晩静置後、二次抗体として酵素標識ヤギ抗マウスIgEを加え、常温で2時間静置反応させた。標準IgE溶液にて作成した検量線を用いてマウス血液中のIgE値を求めた。

## 11. 胃及び小腸内容物のタンパク質量の測定

胃及び小腸内容物のタンパク量の定量は、Lowry法<sup>14)</sup>で行った。

## 12. 統計処理

OVA特異IgEは二元配置の分散分析を用いて、その後FisherのPLSD (post hoc test) 法により検定を行なった。血中total IgE、胃及び小腸内各タンパク質量はt-テストを用いて検定を行った。なお、統計処理にはStat View (Ver.5.)を使用した。危険率5%以下で有意となるものを有意差ありと判定した。

## 結果及び考察

SE群とSR群をOVAで免疫し、免疫注射後1週間毎に採血した。その血清中OVA特異IgEをFig.2に示した。2回の免疫では、OVA特異IgE値の有意な増加は認められなかったが、3回目の免疫によってSE群、SR群のOVA特異IgE値はCE群より有意に上昇した。

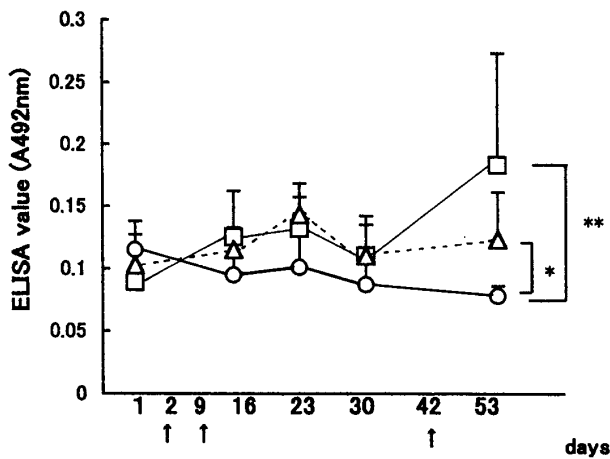


Fig.2 免疫注射による特異的IgE値の変動  
 免疫前の免疫後各1週間後に採血して得られた、  
 血清中OVA特異抗体価をELISAで測定した。  
 ○: CE群(n=6) △: SE群(n=6) □: SR群(n=6)  
 Value are mean ± SD. \*: P < .01 \*\*: P < .0001

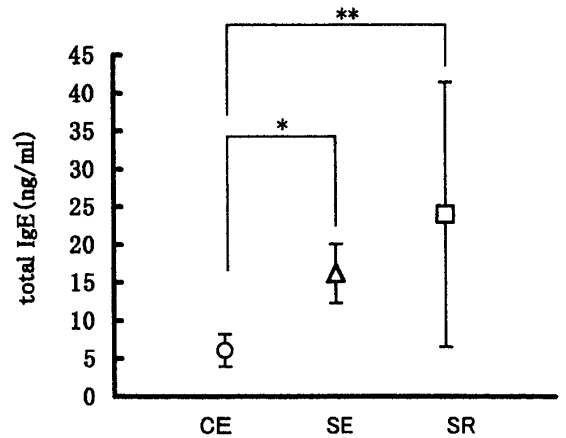


Fig.3 BALB/cマウスの血清中total IgE  
 採血で得られた血清からtotal IgE値を、  
 森永のマウスIgE測定キットで測定した。  
 ○: CE群(n=6) △: SE群(n=6) □: SR群(n=6)  
 Value are mean ± SD. \*: P < .05 \*\*: P < .005

運動負荷後の血清中のtotal IgE量をFig.3に示した。CE群のIgE濃度の平均値は6.1ng/mlであり、非感作マウスが元来示すIgE値数ng/ml程度であった<sup>15)</sup>。一方、SE群とSR群の平均IgE濃度は16.22ng/mlと24.0ng/mlであり、CE群と比べると約3倍と4倍以上に増加していた。特異IgE値とtotal IgE値はCE群に比べSE, SR群が有意に上昇していたことから、BALB/cマウスの感作モデルが成立したことが確認された。

運動負荷後のマウスアレルギー症状の観察結果をTable.1に示した。CE群ではアレルギー症状が全く認められなかったが、SE群では全てのマウスに痒み症状が観察され、さらに50%のマウスに毛の逆立ちが見られた。SR群では50%のマウスにかゆみが認められたが、毛の逆立ちは1匹も観察されなかった。C3H/HeJマウスにコレラトキシンと共にアレルギーを投与した時のアナフィラキシー症状について、Liら<sup>16)</sup>は5段階評価を行なっている。これをTable.2に示した。この5段階判定法を用いて、今

Table.1 運動後のアレルギー症状の評価

群	免疫 #	胃内投与 *	トレッドミル走	アレルギー様反応		スコア	total IgE (ng/ml)	OVA 特異 IgE Ab492
				痒み	毛の逆立ち			
CE	×	PBS	○		+	1	9	0.087
	×	PBS	○			0	7.83	0.092
	×	PBS	○			0	5.33	0.077
	×	PBS	○			0	5.33	0.078
	×	PBS	○			0	4.17	0.074
	×	PBS	○			0	7.83	0.065
平均						0.2		
SE	○	OVA	○	++	+	2	9.5	0.154
	○	OVA	○	++	++	2	19.83	0.108
	○	OVA	○	++		2	17.33	0.135
	○	OVA	○	++		2	17.17	0.173
	○	OVA	○	++		2	19.5	0.083
	○	OVA	○	++	+	2	14	0.082
平均						2		
SR	○	OVA	×	+		1	11.5	0.113
	○	OVA	×			0	12	0.097
	○	OVA	×	+		1	18.33	0.162
	○	OVA	×	+		1	58.33	0.158
	○	OVA	×			0	23.17	0.221
	○	OVA	×			0	20.67	0.345
平均						0.5		

# : OVA 10 $\mu$ g / Alm 1mg / PBS 200 $\mu$ l / 匹

\* : 25mg / PBS 0.5ml / 匹

Table.2 Liらが用いたアレルギー症状の判断基準

スコア	症 状
0	症状なし
1	鼻や頭の周りを引っ掻いたり、こすったりする
2	目や口の周りの腫れ、毛の逆立ち、活動力の減少、呼吸数増加
3	喘鳴音、苦しい息遣い、口や尻尾の周りのチアノーゼ
4	刺激もしくは震えや痙攣の後に動かなくなる
5	死亡

Li et al. J Allergy Clin Immunol. 103, 206-212 (1999)

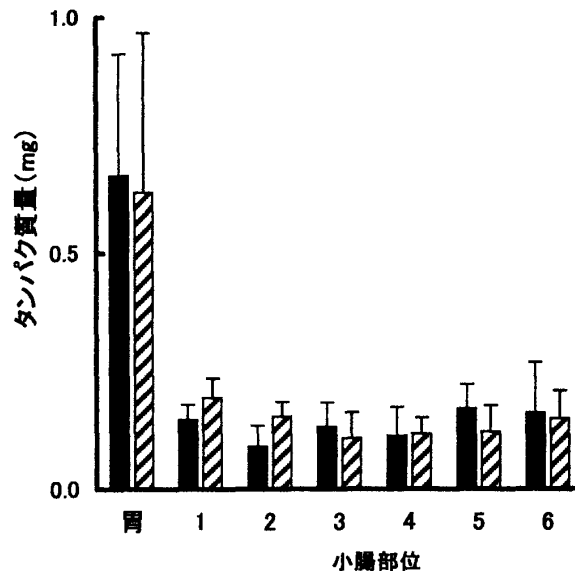


Fig.4 胃及び小腸内各部位のタンパク質量

胃及び6等分した小腸内容物を1mlのPBSで抽出した。

各内容物のタンパク質の定量をlowry法で測定した。

■: SE群 (n=6) ▨: SR群 (n=6)

Value are mean  $\pm$  SD.

回の運動後のBALB/cマウスの症状を評価すると、CE群の平均スコアは0.2、SE群の平均スコアは2、SR群の平均スコアは0.5となった (Table.1)。Liらはコレラトキシンとアレルギーを投与した場合のマウスのアナフィラキシー症状を観察して、5段階のうち5の評価も出している。評価5はアナフィラキシーショックによる死亡マウスも報告している。今回の70%VO<sub>2</sub>max運動負荷では、このような高いスコアのアナフィラキシー症状は観察されなかった。しかし、対照としたCE群と比較して、SE群とSR群のスコアは高く、且つ感作して運動させたSE群全てのマウスのスコアは他に比べて高かった。

SE, SRの2群は運動前にOVAを胃内投与している。運動によってOVAが胃・小腸において完全に消化されているかどうかを知るために、まず胃及び小腸内のタンパク質量を測定し、Fig.4に示した。SE群とSR群で比較すると、胃内投与1時間後の胃及び小腸各部位における残存タンパク質量に大きな差は認められなかった。そこで、両群の胃及び小腸内全タンパク質量を比較すると、両群共にOVA25mg

を胃内投与、1時間後の胃及び小腸内タンパク質残存量はSE群では約3.6mg、SR群は3mgとなり、有意差は認められなかったもののSE群はSR群と比べて多い傾向にあった。(Fig.5)

以上のように、12時間の絶食後にOVAを胃内投与後、タンパク質量を測定したが、胃・小腸内には粘液及び消化液など、投与タンパク質以外に各種のタンパク質が含まれる。そこで、腸内容物をSDS-PAGEで分離後、OVA特異抗体を用いたimmunoblottingでOVAの検出を試み、各群の代表的な例をFig.6に示した。SE群の胃からのPBS抽出物には、タンパク質は存在しなかったが、6等分した小腸のうち、2、3番目及び4、5番目の部位にタンパク質の存在が認められた。OVAに対するimmunoblottingを行うと、小腸の2及び3番目の部位に認められたタンパク質はOVA由来のペプチドであった。一方、SR群ではSE群と同様に胃にはタンパク質の存在がほとんど認められなかったが、小腸4及び5番目の部位にタンパク質の存在が認められた。さらに、immunoblottingによって、4及び5番目にOVAの

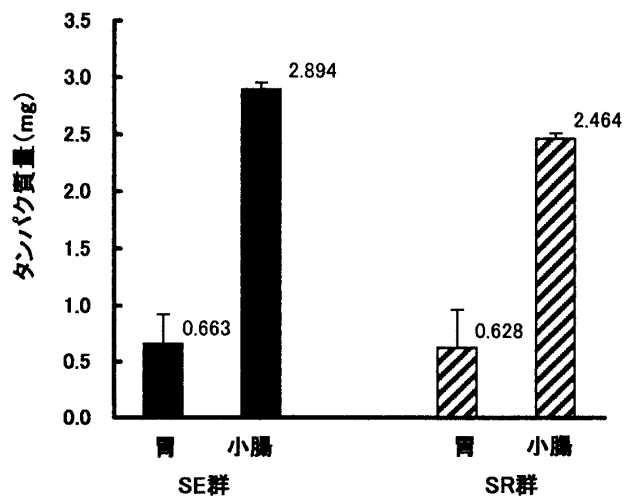


Fig.5 急性運動負荷の有無による胃及び小腸内各タンパク質量の比較  
胃と小腸内全量のタンパク質量を SE 群と SR 群で比較した。  
■: SE 群 (n=6) □: SR 群 (n=6)  
Value are mean  $\pm$  SD.

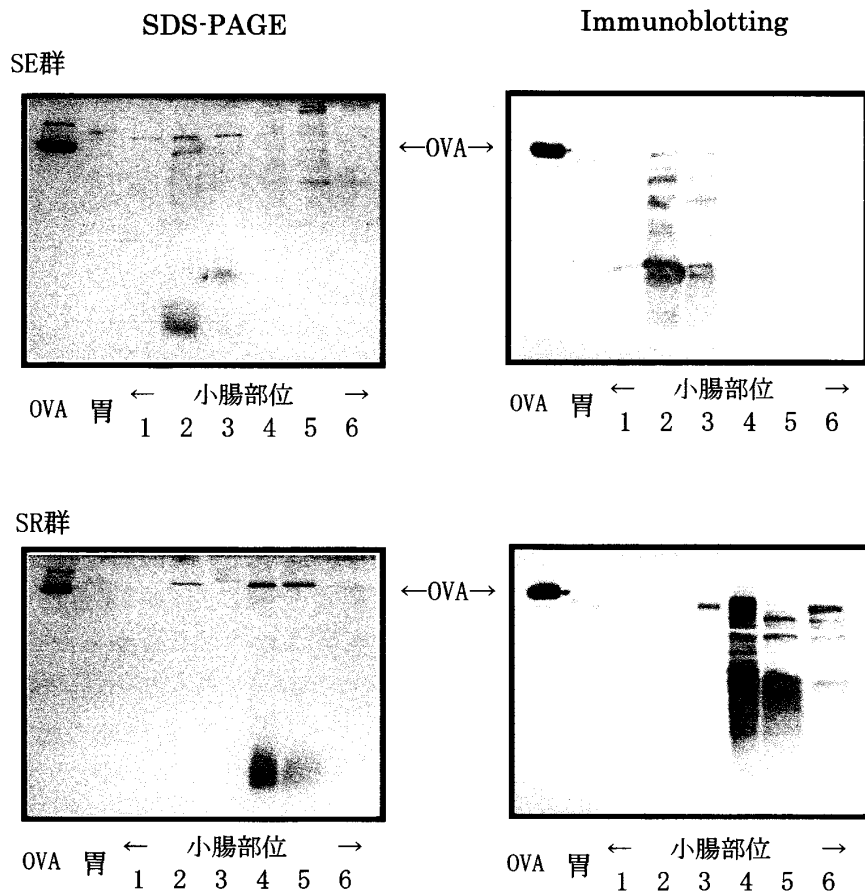


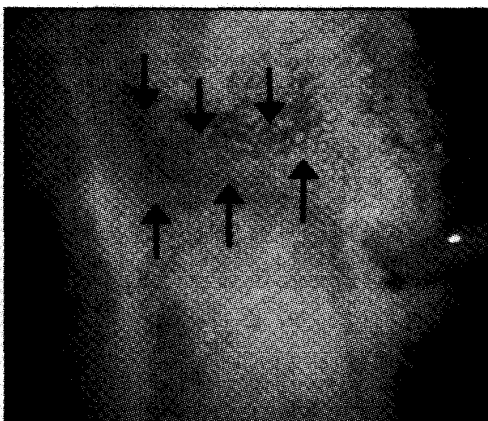
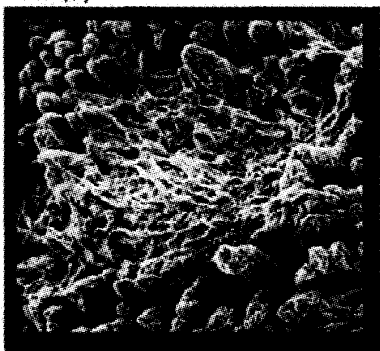
Fig.6 OVA の消化性に及ぼす急性運動負荷の影響  
消化管内容物の SDS-PAGE 及び、  
抗 OVA 特異抗体を用いた免疫ブロッティング。  
SDS-PAGE 17.5% acryl amide gel

存在が認められた。

また、小腸の 6 番目で、CBB 染色タンパク質の存在が認められなかったが、immunoblotting では 6 番目にも OVA の存在が認められた。これらの結果から、SE 群・SR 群の両群共に OVA の胃内投与 1 時間後には胃内の OVA は全く残存しなかった。また、小腸内に残存する OVA を両群で比較すると、SE 群は小腸の 2 及び 3 番目に存在することが確認

されたが、SR 群は小腸の 4、5 及び 6 番目に抗原性を残した OVA を確認した。SE 群では小腸の前半にタンパク質抗原の存在が見られることから、運動を負荷することで小腸内でのタンパク質の分解が遅く、小腸 2 に見られるタンパク質は分子量の大きい位置に存在しており、完全に消化されていないことが判明した。SR 群では小腸の後半にタンパク質抗原の存在が見られ、小腸 4、5 では低分子のペプ

## SE群



## SR群

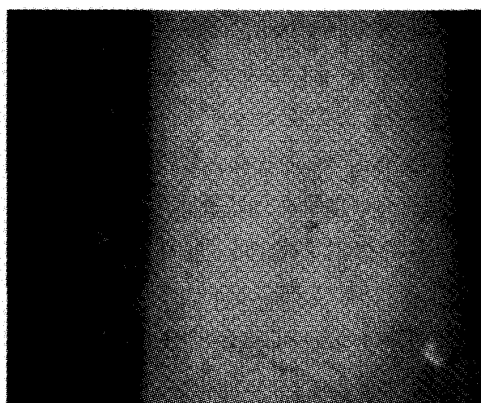
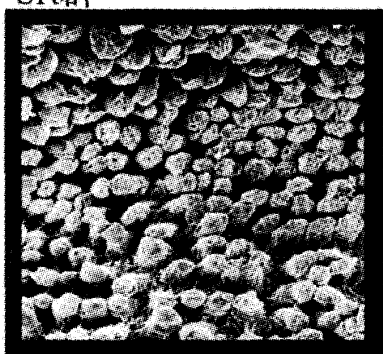


Fig.7 急性運動負荷の有無による小腸粘膜上皮組織の変化

右：走査電子顕微鏡像 (×100)

左：実体顕微鏡像 (2.5×40)

チドにまで分解が進んでいることが判明した。

今回の実験では、タンパク質投与後1時間で消化管の内容物について測定しており、胃内での消化性の差は少ないが、小腸ではSE群はSR群に比べると消化性が低下していることが分かった。更に運動負荷の時間、強度を変化させることで、運動による消化性への影響が明らかになるのではないかと考える。

矢野らは、腸管由来エンドトキシンをラットに経口投与し、腸内の濃度を一定に保った状態で、ラットに急性運動を負荷すると、エンドトキシンの血中濃度が増加したことと、小腸絨毛部分にびらんを観察した。この小腸粘膜組織傷害が、血中エンドトキシン濃度を有意に上昇させた可能性を示唆している<sup>17-19)</sup>。

そこで、急性運動負荷により小腸粘膜上皮組織が損傷を受けてタンパク質の吸収に影響を及ぼすのではないかと考え、小腸粘膜上皮組織のホルマリン固定をして、その形態を二つの顕微鏡で観察しそれらの代表的なものを Fig.7 に示した。免疫後にケージ

内に放置しておいたSR群は走査電子顕微鏡と実体顕微鏡のどちらからも小腸粘膜上皮組織の傷害は確認されなかった。しかし、免疫後に運動を負荷したSE群では実体顕微鏡で観察したところ明らかな粘膜上皮組織の一部に傷害が見られ、走査電子顕微鏡の観察でも上皮組織の傷害が観察された。このように観察されたSE群の粘膜上皮組織の傷害は小腸全体に見られたものではなく、また、マウスにより傷害部位が異なり、特定の場所に傷害がみられることはなかった。

以上の結果より、SE群のマウスはOVA特異IgE及びtotal IgE価の上昇が確認された。BALB/cマウスにOVA経口投与した後、運動負荷すると、消化能力の低下に伴って抗原性を保持したOVAが腸内に残存し、且つ、小腸粘膜上皮細胞の傷害が観察された。即ち、完全に消化されず抗原構造を維持したままのOVAが小腸内に認められたことから、アレルギー活性を保持したOVAが小腸粘膜上皮組織の損傷部位を介して体内へ吸収され、アレルギー症状を誘発する要因となったのではないかと考えられた。

## 文 献

- 1) Murray R (1987) The effects of Consuming Carbo-hydrate-Electrolyte Beverages on Gastric Emptying and Fluid Absorption During and following exercise. *Sports Med*, 4. 322-351.
- 2) Ryan AJ, Bleiler TL, Carteer JE et al (1989) Gastric emptying during prolonged cycling exercise in the heat. *Med. Sci. Sports Exerc*, 21. 51-58.
- 3) Gue M, Peeters T and Depoortere I (1989) Stress-induced Changes in Gastric Emptying, Postprandial Motility, and Plasma Gut Hormone Levels in dogs. *Gastroenterology*, 97. 1101-1107.
- 4) Costill DL and Saltin B (1974) Factors limiting gastric emptying during rest and exercise. *J. Appl. Physiol.* 37. 679-683.
- 5) Curtis KJ, Kim YS, Perdomo JM, Silk DBA and Whitehead JS (1987) Protein digestion and absorption in the rat. *J. Physiol*, 274, 409.
- 6) Curtis KJ, Grains HD and Kim YS (1978) Protein digestion and absorption in rats with pancreatic duct occlusion. *Gastroent.* 74, 1271.
- 7) T Fusiki, N Yamamoto and K Iwai (1985) Investigation of Digestion and Absorption of a Dietary Protein by Using Its Antigenicity as an Index. *Agric Biol. Chem*, 49(5), 1335-1342.
- 8) 菅野道廣 岸野泰雄 (1995) 食物アレルギー, 光生館, 東京, pp118-119.
- 9) 名倉 宏 長谷川英章 (1988) 消化吸収・最近のトピックス (2) 消化吸収と免疫異常. 臨牀化器内科13 (2), 249-255.
- 10) 矢野博己 矢野理佐 (1996) 食餌直後に運動を控えるべきか. 腹部内臓への血液循環. 体育の科学46. 812-817.
- 11) 矢野博己 木下幸文 矢野理佐 (1999) 運動ストレスに対する肝免疫細胞防衛機構の応答とそのメカニズム. 第14回「健康医科学」研究助成論文集. 143-150.
- 12) Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 680-68.
- 13) Engvall E and Perhaun P (1971) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*8, 871-874.
- 14) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- 15) 古川 漸 (1982) 血清 IgE 測定の意義—小児科の正常値, 小児科23 : 555.
- 16) LiXM, Schofield BH, Huang CK, Kleiner GI and Sampson HA (1999) A Murine model of IgE-Mediated cow's milk hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 103, 206-212.
- 17) Halvorsen FA, Lyng J and Ritland S. (1986) Gastrointestinal bleeding in marathon runners. *Scand. J. Gastroenterol.*, 21, 493-497.
- 18) Moses FM (1993) Gastrointestinal bleeding and the athlete. *Am. J. Gastroenterol.* 88, 1157-1159.
- 19) Stewart JG, Ahlquist DA, McGill DB, Ilstrup DM, Schwartz S and Owen RA (1984) Gastrointestinal blood loss and anemia in runners. *Ann. Int. Med.*, 100, 843-845.

(平成13年10月18日受理)



## Anaphylaxis and Reduced Digestibility of Allergen due to Acute Exercise in mice Sensitized with Intra-gastric Injections of Allergen

Kazuho KUSAKA, Hiromi YANO and Yasuko KATO

(Accepted Oct. 18, 2001)

Key words : OVALBUMIN, SENSITIZED MICE, EXERCISE, HYPERSENSITIVITY RESPONSES, INTESTINAL MUCOSAL LESION

### Abstract

Eighteen BALB/c mice were separated into three groups : sensitized-exercise (SE, n=6), sensitized-rest (SR, n=6), and control (CE, n=6) groups. The SE and SR groups were sensitized with three weekly injections of ovalbumin (OVA) in Al (OH) 3. OVA specific IgE and total IgE values increased 2–3 fold in the sensitized group compared to the controls. The SE and control groups were subjected to treadmill running at a 5% grade for 30 min immediately after immediately intra-gastric injection of OVA. Hypersensitivity responses were measured 30 min after running. The SR group was not subjected to the running. Protein digestion in vivo and tissue damage in the small intestine membrane were compared between the SE and SR groups. More hydrolytic cleavages of OVA with antigenic activity were detected in the intestines of the SE group. The mice of the SE group showed more anaphylactic symptoms such as scratching and reduced physical activity. Some intestinal mucosal lesions were observed in the SE group with scanning electron microscopy but not in SR group. The above results suggest that acute exercise after intra-gastric injection of allergenic protein induce hypersensitivity responses in sensitized mice resulting from lower digestion and injuries to intestinal tissues.

Correspondence to : Kazuho KUSAKA

Doctoral Program in Health Science, Graduate School of  
Medical Professions, Kawasaki University of Medical Welfare  
Kurashiki, 701-0193, Japan  
(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.11, No.2, 2001 331–339)