

原 著

B10.Aマウスを用いた小麦依存性運動誘発 アナフィラキシーモデル系の作製

田中 守*1 山田作夫*2,3 長野隆男*2

要 約

小麦依存性運動誘発アナフィラキシー (WDEIA, Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis) は、小麦製品を摂取したのみでは症状がみられず、運動が加わった場合に限り誘発される食物アレルギーの特殊病型である。本研究ではB10.Aマウスを用いたWDEIAモデル系の作製を試みた。B10.Aマウスを3群に分け、マウスの腹腔内にグリアジン画分を含むアルミニウムアジュバントを7日毎に4回、5回、6回免疫し、感作マウスを作製した。感作成立の判定は、血清中グリアジン特異IgE値を指標とし、ELISA法により求めた。感作マウスにグリアジン画分 (0.1 g/匹) を経口投与後、30分間のトレッドミル運動 (傾斜20%, 速度15 m/分) を負荷し、その後、直腸温と自発運動量をアナフィラキシーの指標として測定した。グリアジン特異IgE値は、5回以上の免疫群で有意な上昇が観察された。体温と自発運動量は、6回免疫群で有意な低下が観察された。以上の結果から、WDEIAモデル系は6回以上の免疫を行うことが必要であると考えられた。

1. 背景

食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA, Food-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis) は原因食品を摂取したのみでは症状がみられず、運動が加わった場合に限り症状が誘発される食物アレルギーの特殊病型である^{1,2)}。FDEIAのアレルギー症状は、基本的にI型アレルギーに基づく反応と考えられている³⁾。FDEIAの原因食品は、小麦、海老、貝、ナッツ類、セロリ、コーンなど多岐にわたって報告されている^{4,9)}。中でも小麦はFDEIAの症例中57%を占める最多原因食品であり³⁾、小麦が原因で発症するFDEIAを小麦依存性運動誘発アナフィラキシー (WDEIA, Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis) という。

小麦タンパク質は溶解性の違いによって、4つに大別される。即ち、水/塩可溶性のアルブミンとグロブリン、不溶性タンパク質のグリアジンとグルテニンに分類される。グリアジンとグルテニンは、小麦全タンパク質の80%とほぼ大部分を占めるグルテンの主なタンパク質である¹⁰⁾。グリアジンは皮膚

試験や小麦タンパク質と患者血清中IgEとの反応性から、WDEIAの主要アレルゲンとして報告されている¹¹⁻¹³⁾。このように、WDEIAの検討については長年の間、小麦に関する疾患を持つ患者の血清が用いられてきた。

アナフィラキシー症状の評価を行う上で、食物アレルギー動物モデルは必要不可欠のものとなっており、イヌ^{14,15)}、子豚¹⁶⁾、マウス¹⁷⁻²³⁾、ラット^{24,25)}等で報告されている。特にマウスを用いた系により行われており、モデルの具体例として、Balb/cマウス^{18,21-23)}、C3H/HeJマウス¹⁷⁾のような近交系のマウスやB10.Aマウス^{19,20)}のようなコンジュニック系のマウスを用いた幾つかの研究がある。これらのマウスは、高いIgE反応性を示す種であることが知られている。Yanoら¹⁹⁾は、卵白に含まれるアレルゲンの1つであるリゾチームを用いたFDEIAのモデルマウスを提示した。さらに、Kozaiら²⁰⁾はFDEIAのモデルマウスを用いて、溶解度の異なる3つの小麦タンパク質 (塩溶性タンパク質画分、グリアジン画分、グルテニン画分) がWDEIAに与える影響について調べた。その結果、小麦タンパク質の中でグ

*1 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 健康科学専攻 *2 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

*3 川崎医科大学 微生物学教室

(連絡先) 長野隆男 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学
E-Mail : naganot@mw.kawasaki-m.ac.jp

リアジンがマウスの実験系でもWDEIAを惹起する最も強いアレルゲンであると報告している。しかし、現在、動物実験として使用されている食物アレルギー動物モデルは、抗原の種類、アジュバントの種類によって免疫する回数が様々である^{16-22,24,25}ことから、免疫する回数の違いによって特異IgE値やアナフィラキシー症状が異なると予想される。それゆえ、さらなるWDEIA発症メカニズムの解明を行うには、グリアジンに対する詳細な条件を検討し、WDEIAモデル実験系を確立する必要がある。

そこで本研究では、マウスを用いたWDEIAモデル実験系を確立することを目的として、グリアジン画分を含むアルミニウムアジュバントをB10.Aマウスの腹腔内に免疫する回数が、WDEIAに与える影響を検討した。

2. 実験材料及び方法

2.1 グリアジン画分の調製

50 gの薄力粉（フラワー；日清製粉）に500 mlの0.5 M塩化ナトリウム（特級；ナカライテクス）溶液を加え、室温で2時間攪拌し、遠心分離（1,700 × g, 15分）を行い、塩溶性タンパク質を除いた。次に、残渣に500 mlの蒸留水を加え、室温で2時間攪拌し、遠心分離（1,700 × g, 15分）を行った。この作業を2回繰り返し、水溶性タンパク質及び塩類を除いた。残渣に500 mlの70%エタノール（特級；ナカライテクス）を加え、4℃で2時間攪拌し、遠心分離（1,700 × g, 15分）してエタノール抽出液を得た。エタノール抽出液を、透析膜（径21.4 mm；三光純薬）に入れ、スターラーで攪拌しながら約30倍の1%酢酸溶液中で4℃、60時間透析をおこなった。透析外液は、1日目は2~3時間毎に、それ以降は1日につき2~3回交換した。透析内液を凍結乾燥機にて凍結乾燥し、グリアジン画分を得た。

2.2 感作マウスの作製

5週齢のB10.A/SgSnSlc（日本エスエルシー）雌マウス（体重15~20 g）を実験に用いた。実験期間中の飼育期間はMF飼料（オリエンタル酵母工業）と水を自由摂取させた。室温20 ± 2℃, 12/12h（A.M.8:00-P.M.8:00）の明暗サイクルの条件で飼育した。全ての実験は、動物実験ガイドラインに従い、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て行った（承認番号：09-004）。マウスを無作為に4回免疫群（n=8）、5回免疫群（n=8）、6回免疫群（n=7）の3群に分けた。

グリアジン画分に0.1 M酢酸を加え10 mg/ml濃度のグリアジン溶液を作った。その後、PBSで1 mg/

ml濃度に希釈し、等量のImject Alum（Pierce Chemical）を加え、ボルテックスで5分間攪拌し、1匹あたり、初回は0.2 ml/匹（グリアジン量 100 μg/匹）、2回目以降は、初回の半分（グリアジン量 50 μg/0.2 ml/匹）を吸入麻酔剤であるイソフルラン（アボットジャパン）で軽く麻酔をかけたB10.Aマウスの腹腔内に注射針×26G（Terumo）を用いて、図1に示すスケジュールで各群7日毎に4回、5回または6回投与した。腹腔内投与3日後に、軽いイソフルラン麻酔下で感作マウスの眼窩静脈から採血を行い、血液を遠心分離（700 × g, 15分）し、血清を得た。この血清に等量のグリセリン（特級；和光純薬工業）を加え、以後の実験で使用するまで-30℃で保存した。

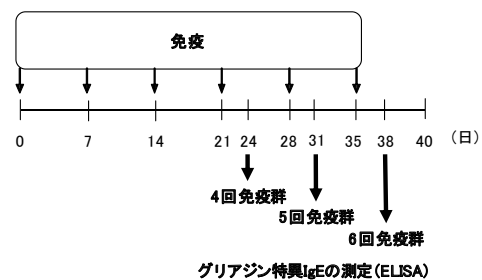


図1 グリアジン感作の免疫スケジュール。

2.3 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

マウス特異IgEの測定は、Engvallら²⁶の方法に従った。グリアジン溶液を10 μg/mlになるように、3 M尿素（特級；和光純薬工業）を含む50 mMの炭酸バッファー（pH 9.6）に溶かし、100 μlずつ96ウェルマイクロプレート（NUNC）の各ウェルに入れ、4℃で1晩静置した。各ウェルを0.05%のTween20（和光純薬工業）を含むPBS（PBS-T）で3回洗浄し、次に1%BSA/PBS-Tを100 μlずつ加え、37℃で1時間タンパク質末端結合部分をブロックした。PBS-Tで3回洗浄した後、1%BSA/PBS-Tを100 μlずつ入れ、一次抗体として各血清サンプルを、濃度が50倍希釈になるように各ウェルに入れ、37℃で1時間インキュベートした。PBS-Tで5回洗浄した後、二次抗体としてHRP-linked anti-mouse IgE（Nordic Immunological）を1000倍希釈になるように、1%BSA/PBS-Tに溶かし、各ウェルに100 μlずつ加え、37℃で1時間インキュベートし、PBS-Tで5回洗浄した。合成基質である *o*-phenyldiamine（一級；和光純薬工業）2 mgを5 mlのクエン酸バッファーに加え、さらにH₂O₂（特級；和光純薬工業）を0.006%加えたものを、各ウェルに100 μlずつ入れ、約5分間発色させ、2.5 mol/L H₂SO₄溶液を50 μl添加して酵素反応を停止させた。MODEL 550 MICROPLATE READER（Bio-Rad Laboratories）

を用いて、492 nmの吸光度を測定した。

2.4 アナフィラキシー症状の判定

グリアジン感作マウスにフォールンで軽く麻酔をかけ、フィーディングニードル専用シリンジ (Popper) を用いて、グリアジン画分 (0.1 g/PBS, 0.5 ml /匹) をそれぞれ胃内投与、トレッドミル運動 (傾斜角20%, 速度15 m/分, 時間30分) を負荷した。その後、直腸温はデジタル体温計 (佐藤計量器) を用いて試料投与前と運動負荷後に測定した。

自発運動量はP.M.8:00から1時間毎に、翌日A.M.11:00まで15時間、回転ケージ (夏目製作所) を用いて測定した。回転軸にケージの回転数を記録するカウンター (夏目製作所) を設置した。

2.5 統計処理

測定値は平均±標準誤差で示した。統計ソフトはPASW Statistics 18を使用した。独立多群の差の検定には一元配置の分散分析 (ANOVA) を用い、その後Post hoc検定としてTukey検定を用いた。危険率は5%未満とした。

3. 結果

3.1 血清中抗グリアジン特異IgE値

マウスの血清中グリアジン特異IgE値はELISA法を用いて評価した (図2)。血清中グリアジン特異IgE値は、4回免疫群 (0.34 ± 0.02) で免疫前 (0.29 ± 0.01) と比較して有意な上昇が認められなかった。一方、5回免疫群 (0.52 ± 0.01) と6回免疫群 (0.53 ± 0.05) は、免疫前と比較して有意な上昇が認められた ($p < 0.01$)。以上の結果から、5回以上の免疫群で有意なIgE値の上昇が観察された。

3.2 アナフィラキシー症状の評価

アナフィラキシーの指標として直腸温 (図3) と自発運動量 (図4) を測定した。直腸温の結果では、4回免疫群 ($38.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$) と5回免疫群 ($37.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$) で、グリアジン画分投与前 ($38.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$) と比較して直腸温の有意な低下が観察されなかった。一方、6回免疫群 ($37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$) は、グリアジン画分投与前と比較して直腸温の有意な低下が観察された ($p < 0.01$)。

自発運動量の結果では、4回免疫群 ($131 \pm 16\%$) と5回免疫群 ($73 \pm 16\%$) で、グリアジン投与前 ($100 \pm 8\%$) と比較して自発運動量の有意な低下が観察されなかった。一方、6回免疫群 ($50 \pm 15\%$) は、グリアジン画分投与前と比較して自発運動量の有意な低下が観察された ($p < 0.01$)。

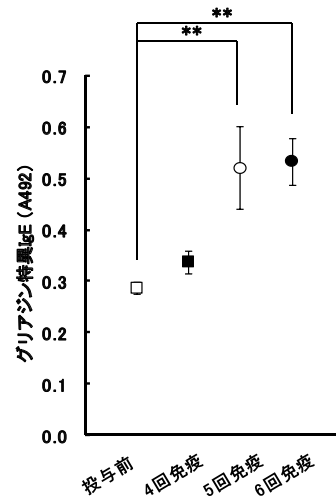


図2 グリアジン画分で感作したB10.Aマウスの血清中グリアジン特異IgE値。

グリアジン特異IgE値は吸光度 (492nm) で表した。□: 免疫前 (n=23), ■: 4回免疫群 (n=8), ○: 5回免疫群 (n=8), ●: 6回免疫群 (n=7)。** $p < 0.01$ 。

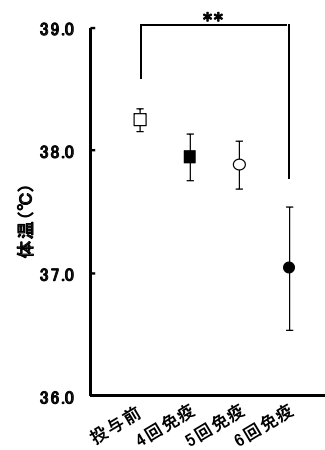


図3 グリアジン画分投与、運動負荷後の直腸温の比較。感作マウスにグリアジン画分を投与、運動負荷前後の直腸温を、デジタル体温計を用いて測定した。□: 投与前 (n=23), ■: 4回免疫群 (n=8), ○: 5回免疫群 (n=8), ●: 6回免疫群 (n=7)。** $p < 0.01$ 。

4. 考察

WDEIAモデル実験系の確立は、WDEIAのメカニズムの理解とその解決のために重要である。本研究では、グリアジン画分を含むアルミニウムアジュバントをB10.Aマウスの腹腔内に免疫する回数、WDEIAに与える影響を調べた。

I型アレルギーは、アレルゲン特異的なIgE抗体の過剰産生を特徴とすることから、I型アレルギーのモデル系の指標としてIgEがよく用いられている¹⁷⁻²⁵⁾。実際、グリアジンに対する特異IgEは、WDEIA患者にも認められている^{27,28)}。そのため、WDEIAモデル系を確立するためにはグリアジンに対するIgEを高めたマウスを作製する必要があると

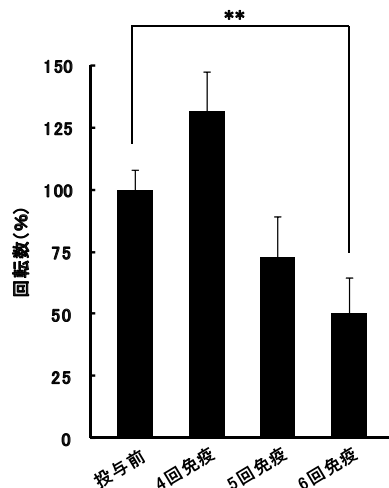


図4 グリアジン画分投与、運動負荷後の自発運動量の比較。感作マウスにグリアジン画分を投与、運動負荷後回転ケージを用いてP.M.8:00～A.M.11:00までの計15時間の回転数を測定した。投与前：投与前 (n=23)，4回免疫：4回免疫群 (n=8)，5回免疫：5回免疫群 (n=8)，6回免疫：6回免疫群 (n=7)。** $p < 0.01$ 。

考えた。現在、実験動物にIgEを産生させる方法としてコレラ毒素^{16,17)}、フロイント完全アジュバント^{14,18)}、アルミニウムアジュバント^{19-21,24,25)}などを用いて免疫する方法が一般的に行われている。アルミニウムアジュバントは、抗原を吸着し沈殿物として存在する水酸化アルミニウムゲルから成り、抗原・水酸化アルミニウムゲル複合体が投与部位に長く留まりアジュバント効果を示す。このアルミニウムアジュバントはコレラ毒素やフロイント完全アジュバントなどで見られる副作用がなく、ヒトに用いることができる唯一のアジュバントとして知られている²⁹⁾。従って、アルミニウムアジュバントを用いることで投与動物に対する副作用を気にすることなくIgEの産生を促進させることができると考えた。そのため、本実験では、マウスのIgEを高めるためにアルミニウムアジュバントを使用した。実験の結果、感作マウスの血清中グリアジン特異IgEは、5回以上の免疫群で有意に高値を示した。この結果から、5回以上の免疫でグリアジンによる感作が成立したと考えられた。

飯倉³⁰⁾は、抗原特異IgE値の高低とアレルギー症状の重症度は必ずしも一致しておらず完全な指標にはならないことを、Finkelman³¹⁾は、IgE欠損マウスにおいてIgEを必要としない抗原特異アナフィ

ラキシー反応が存在することを報告している。従って、グリアジン特異IgE値の高低から、WDEIAのモデルマウスとしてグリアジン感作マウスを評価することはできないといえる。そこで、感作マウスにグリアジンを投与、運動負荷後のアナフィラキシー症状の判定からWDEIAの評価をする必要があると考えた。マウスを用いたアナフィラキシー症状の判定方法としては、これまでに血圧の測定^{23,32)}、呼吸数³²⁾、体温³²⁾、自発運動量の測定²¹⁾による報告や、アナフィラキシー症状の肉眼観察による判定方法¹⁷⁾などが報告されている。本研究では、直腸温と自発運動量を採用した。直腸温については、Makabe-Kobayashiら³²⁾が、感作マウスの体温はマスト細胞から放出されるヒスタミンによって低下すると報告している。自発運動量については、Jooら²¹⁾が、長時間のアナフィラキシー症状の判定に回転式運動量測定装置を用いた自発運動量の測定が有用であると報告している。従って、直腸温と自発運動量を併用することで、アレルゲン投与、運動負荷後のアナフィラキシー症状に加え、長時間のアナフィラキシー症状を評価できると考えた。直腸温測定の結果、感作マウスにグリアジン画分を投与、運動負荷後の直腸温は、有意に6回免疫群で低下が観察された。自発運動量測定の結果、感作マウスにグリアジン画分を投与、運動負荷後の自発運動量でも、有意に6回免疫群で低下が観察された。以上のことから、直腸温と自発運動量を指標としてみると、6回免疫群でWDEIAを惹起することが示された。

結論として、B10.Aマウスを3群に分け、マウスの腹腔内にグリアジン画分を含むアルミニウムアジュバントをそれぞれ7日毎に4回、5回、6回免疫し、グリアジン感作マウスを作製した。血清中グリアジン特異IgE値は5回以上の免疫群で有意に高値を示した。感作マウスにグリアジン画分を投与、運動負荷後の体温と自発運動量は、有意に6回免疫群で観察された。以上の結果から、WDEIAモデル系は6回以上の免疫を行うことが必要であると考えられた。

本研究は川崎医療福祉大学平成21年度医療福祉研究費により実施された。

文 献

- 1) Kemp SF, Lockey RF, Wolf BL and Lieberman P : Anaphylaxis. A review of 266 cases. *Archives of Internal Medicine*, **155**(16), 1749–1754, 1995.
- 2) Castells MC, Horan RF and Sheffer AL : Exercise-induced anaphylaxis (EIA). *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, **17**(4), 413–424, 1999.
- 3) 原田晋, 堀川達弥, 市橋正光 : Food-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis (FDEIA) の本邦報告例集計による考察. *アレルギー*, **49**(11), 1066–1073, 2000.
- 4) Romano A, Di Fonso M, Giuffreda F, Papa G, Artesani MC, Viola M, Venuti A, Palmieri V and Zeppilli P : Food-dependent exercise-induced anaphylaxis : Clinical and laboratory findings in 54 subjects. *International Archives of Allergy and Immunology*, **125**(3), 264–272, 2001.
- 5) Dohi M, Suko M, Sugiyama H, Yamashita N, Tadokoro K, Juji F, Okudaira H, Sano Y, Ito K and Miyamoto T : Food-dependent, exercise-induced anaphylaxis : A study on 11 Japanese cases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **87**(1 Pt 1), 34–40, 1991.
- 6) Harada S, Horikawa T, Ashida M, Kamo T, Nishioka E and Ichihashi M : Aspirin enhances the induction of type I allergic symptoms when combined with food and exercise in patients with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *British Journal of Dermatology*, **145**(2), 336–339, 2001.
- 7) Maulits RM, Pratt DS and Schocket AL : Exercise-induced anaphylactic reaction to shell-fish. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **63**(6), 433–434, 1979.
- 8) McNeil D and Strauss RH : Exercise-induced anaphylaxis related to food intake. *Annals of Allergy*, **61**(6), 440–442, 1988.
- 9) Pauls JD and Cross D : Food-dependent exercise-induced anaphylaxis to corn. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **101**(6 Pt 1), 853–854, 1998.
- 10) Shewry PR and Tatham AS : The prolamin storage proteins of cereal seeds : structure and evolution. *Biochemical Journal*, **267**(1), 1–12, 1990.
- 11) Varjonen E, Vainio E and Kalimo K : Life-threatening, recurrent anaphylaxis caused by allergy to gliadin and exercise. *Clinical and Experimental Allergy*, **27**(2), 162–166, 1997.
- 12) Battais F, Pineau F, Popineau Y, Aparicio C, Kanny G, Guerin L, Moneret-Vautrin DA and Denery-Papini S : Food allergy to wheat : Identification of immunoglobulin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour. *Clinical and Experimental Allergy*, **33**(7) : 962–970, 2003.
- 13) Matsuo H, Morimoto K, Akaki T, Kaneko S, Kusatake K, Kuroda T, Niihara H, Hide M and Morita E : Exercise and aspirin increase levels of circulating gliadin peptides in patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clinical and Experimental Allergy*, **35**(4), 461–466, 2005.
- 14) Jeffers JG, Meyer EK and Sosis EJ : Responses of dogs with food allergies to single-ingredient dietary provocation. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **209**(3), 608–611, 1996.
- 15) Ermel RW, Kock M, Griffey SM, Reinhart GA and Frick OL : The atopic dog : a model for food allergy. *Laboratory Animal Science*, **47**(1), 40–49, 1997.
- 16) Helm RM : Food allergy animal models: an overview. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **964**, 139–150, 2002.
- 17) Li XM, Schofield BH, Huang CK, Kleiner GI and Sampson HA : A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103**(2 Pt 1), 206–214, 1999.
- 18) Kweon MN, Yamamoto M, Kajiki M, Takahashi I and Kiyono H : Systemically derived large intestinal CD4 (+) Th2 cells play a central role in STAT6-mediated allergic diarrhea. *Journal of Clinical Investigation*, **106**(2), 199–206, 2000.
- 19) Yano H, Kato Y and Matsuda T : Acute exercise induces gastrointestinal leakage of allergen in lysozyme-sensitized mice. *European Journal of Applied Physiology*, **87**(4-5), 358–364, 2002.
- 20) Kozai H, Yano H, Matsuda T and Kato Y : Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis in mice is caused by gliadin fraction and glutenin treatments. *Immunology Letters*, **102**(1), 83–90, 2006.
- 21) Joo K and Kato Y : Assessment of allergenic activity of a heat-coagulated ovalbumin after in vivo digestion. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **70**(3), 591–597, 2006.
- 22) Katayama S and Mine Y : Quillaja saponin can modulate ovalbumin-induced IgE allergic responses through regulation

- of Th1/Th2 balance in a murine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**(9), 3271–3276, 2006.
- 23) Liu X, Feng J, Xu ZR, Wang YZ and Liu JX : Oral allergy syndrome and anaphylactic reactions in BALB/c mice caused by soybean glycinin and beta-conglycinin. *Clinical and Experimental Allergy*, **38**(2), 350–356, 2008.
- 24) Watanabe J, Tanabe S, Watanabe M, Kasai T and Sonoyama K : Consumption of hypoallergenic flour prevents gluten-induced airway inflammation in Brown Norway rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **65**(8) : 1729–1735, 2001.
- 25) Ogawa T, Miura S, Tsuzuki Y, Ogino T, Teramoto K, Inamura T, Watanabe C, Hokari R, Nagata H and Ishii H : Chronic allergy to dietary ovalbumin induces lymphocyte migration to rat small intestinal mucosa that is inhibited by MAdCAM-1. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, **286**(5), G702–G710, 2004.
- 26) Engvall E and Perlmann P : Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, **8**(9), 871–874, 1971.
- 27) Matsuo H, Morita E, Tatham AS, Morimoto K, Horikawa T, Osuna H, Ikezawa Z, Kaneko S, Kohno K and Dekio S : Identification of the IgE-binding epitope in omega-5 gliadin, a major allergen in wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Journal of Biological Chemistry*, **279**(13), 12135–12140, 2004.
- 28) 松本亮典, 小川晃弘, 牧野琢丸, 岡野光博 : 耳鼻咽喉科で経験した食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA : Food-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis) 症例の検討. *アレルギー*, **58**(5), 548–553, 2009.
- 29) Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala Fs and Flavell RA : Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature*, **453**(7198), 1122–1126, 2008.
- 30) 飯倉洋治, 今井孝成 : 食物アレルギーの実態及び誘発物質の解明に関する研究 平成14年度研究報告書 重篤な食物アレルギーの全国調査に関する研究. 厚生労働省, 16–17, 2003.
- 31) Finkelman FD : Anaphylaxis : lessons from mouse models. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **120**(3), 506–515, 2007.
- 32) Makabe-Kobayashi Y, Hori Y, Adachi T, Ishigaki-Suzuki S, Kikuchi Y, Kagaya Y, Shirato K, Nagy A, Ujiike A, Takai T, Watanabe T and Ohtsu H : The control effect of histamine on body temperature and respiratory function in IgE-dependent systemic anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **110**(2), 298–303, 2002.

(平成22年10月22日受理)

Development of a Murine Model for Wheat-dependent Exercise-induced Anaphylaxis Using B10.A Mice

Mamoru TANAKA, Sakuo YAMADA and Takao NAGANO

(Accepted Oct. 22, 2010)

Key words : mouse model, wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis, gliadin, IgE

Abstract

Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA) is a distinct form of food allergy induced by physical exercise. In this study, for the purpose of making a mouse model of WDEIA, we divided B10.A mice into three groups. The mice were intraperitoneally injected with gliadin/Alum four, five or six times at an interval of 7 days ; i.e. a four injection group, five injection group, six injection group. The specific anti-gliadin IgE in serum was evaluated by ELISA. To assess anaphylaxis symptoms, rectal temperature and voluntary physical activity were examined. The sensitized mice were orally challenged with 0.1 g gliadin, and then treated with forced runs on a treadmill for 30 min (15 m/min and 20 % gradient) . After the exercise, rectal temperature was examined and then voluntary physical activity was also monitored. The amount of gliadin-specific IgE in the five injection group and six injection group was significantly higher than before sensitization. The mice showed a significant decrease in the rectal temperature and voluntary physical activity, especially in the six injection group. We concluded that the murine model of WDEIA, sensitized at more than six injections by gliadin with alum, is useful for research of WDEIA.

Correspondence to : Takao NAGANO

Department of Clinical Nutrition
Faculty of Health Science and Technology
Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, 701-0193, Japan
E-Mail : naganot@mw.kawasaki-m.ac.jp

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.20, No.2, 2011 405–410)