

マルチチャンネル SPR イメージングによるアレルギー検査法

Laboratory testing method for type I allergy by means of multi channel SPRI

日立ハイテク¹, 広大医² ○小原 隆之¹, 隈崎 修孝¹, 川口 智子², 秀 道広², 柳瀬 雄輝²Hitachi High-Technologies Corporation¹, Hiroshima Univ.²,○Takayuki Obara¹, Nobutaka Kumazaki¹, Tomoko Kawaguchi², Michihiro Hide², Yuhki Yanase²

E-mail: obara-takayuki@naka.hitachi-hitec.com

〔背景〕

アレルギー疾患の診療では、原因抗原の同定が重要となる。花粉症などの I 型アレルギーは免疫細胞の一種である好塩基球やマスト細胞により引き起こされる。生体内で好塩基球上の IgE 抗体が抗原を認識すると、細胞が活性化されてヒスタミン等を放出しアレルギー反応を惹起する。よって、被験者血液中の好塩基球細胞を抗原で刺激し、その応答を測定すれば、原因抗原の同定が可能である。現在、このアレルギー検査に適用可能な、生細胞応答の測定技術を開発している。

これまでに、SPR により様々な生細胞の刺激応答を非標識、経時的、高感度に検出できることを示した。また、センサチップ上の 1 生細胞の応答を二次元的に可視化できる SPR イメージング (SPRI) の開発に成功した。さらに、この原理を用いて多種類の細胞の屈折率を同時に測定可能な、マルチチャンネル SPRI 装置 (mSPRI) を開発した。今回、mSPRI で、抗原に対する生細胞応答の複数条件同時測定を試みた。

〔方法〕

mSPRI は、SPRI 光学系と細胞用送液系からなる。SPRI 光学系は、波長 640nm の LED と倍率 0.6 倍のテレセントリックレンズ、CMOS イメージセンサを用いて構築した。細胞用送液系として、センサチップ上に流路 4 本 (幅 0.5mm) を持つ PDMS 製フローセルを設けた。

モデル細胞系として、好塩基球の応答性研究に広く用いられる、ラット好塩基球性白血病細胞株 RBL-2H3 を用いた。RBL-2H3 を抗 dinitrophenyl (DNP)-IgE 抗体の存在下で浮遊培養することで、細胞に DNP 抗原への応答性を与えた。細胞浮遊液を 37℃ に保温し、ポンプでセンサチップ上の流路に送液し静置することで、センサチップ上へ細胞を結合させた。続いて各チャンネルの流路に DNP 抗原液、またはコントロールとしての培地を送液し、細胞の応答を mSPRI で観察し続けた。取得した mSPRI イメージ上で各チャンネルの流路に相当する領域の平均輝度を測定値とし、その経時変化をプロットした。

〔結果〕

抗原液を流した 2 チャンネルの測定値は上昇したが、培地を流した 2 チャンネルで上昇は認められなかった (図 1)。

〔考察〕

mSPRI を用いて複数条件の細胞応答を同時に測定できた。また、細胞浮遊液を入力として、細胞のセンサチップへの結合、抗原刺激、応答測定という一連の処理をフローセル中で実施できた。この結果は mSPRI によりアレルギー原因抗原の同定が可能であることを示している。将来的にチャンネル数を増やすことで、網羅的な候補抗原のスクリーニングも可能になるものと考えている。

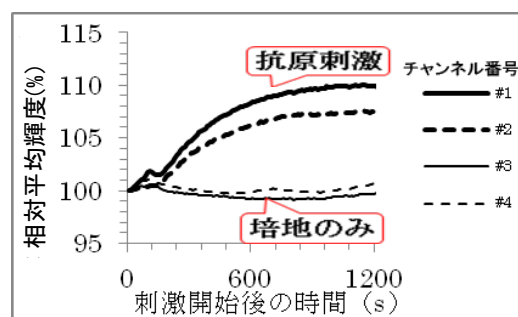


図 1 抗原刺激応答の 4ch 同時測定結果