



兵庫県下におけるヤシャブシ花粉症の実態調査(第3報) : 果実過敏症におけるprofilinの意義 (社団法人神緑会事業報告1)

小笠原, 寛
栗花落, 昌和
阪上, 雅史[他]

(Citation)

神戸大学医学部神緑会学術誌, 12:7-10

(Issue Date)

1996-08

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81007455>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81007455>



社団法人神緑会事業報告 (1)

兵庫県下におけるヤシャブシ花粉症の実態調査 (第3報)

果実過敏症における profilin の意義

兵庫医科大学耳鼻咽喉科	小笠原 寛 (47年卒)	栗花落昌和	阪上 雅史
市立芦屋病院耳鼻咽喉科	吉村 史郎		
長堀病院耳鼻咽喉科	天野 吉晴		
神戸・藤谷耳鼻咽喉科	藤谷 哲造		

1. はじめに

六甲山系では明治時代からアカマツなどの植樹による治山事業が行われてきたが、東部は阪神大震災で崩壊した脆い六甲花崗岩からなり治山が困難であった。カバノキ科ハンノキ属は根粒をもち痩せ地を適地とするため、江戸時代から治山に用いられた。調査した六甲山系では約95%がオオバヤシャブシであり、他にヒメヤシャブシとヤマハンノキが植えられていた¹⁾。さらに、これらハンノキ属樹木は安価なため道路や宅地の開発時の斜面保護や緑化用に西六甲や中山山系にも大量に植えられた。80年代の初めよりハンノキ属花粉症が発生しはじめたが、開花時期がスギ花粉飛散期と重なるため、中原ら²⁾により明らかにされるまでその存在が抗原不明の鼻アレルギーとして埋没していた。

91年に芦屋川沿いで行った10年以上居住している成人女性を対象とした疫学調査では、全体で春季花粉症の有症率は24.9%であり、そのうちわけはスギ単独感作10.6%、ハンノキ属単独感作4.8%、両者の重複感作9.5%であった。また、山間部のハンノキ属花粉症の有症率はスギとの重複感作を入れると、26.1%であるのに対し山麓部から海岸に近づくにつれて16.7%、15.6%、4.3%と花粉飛散数に比例して減少したが、スギ単独の有症率はほぼ同じであった¹⁾。93年の児童を対象とした芦屋市での調査では春季花粉症の推定有症率はスギ単独、スギとハンノキ属の重複感作、ハンノキ属単独は山麓部の

小学校で、それぞれが11.3%、11.3%、4.2%であり、埋め立て地の小学校はそれぞれが11.1%、1.4%、0%であった。2回の疫学調査でオオバヤシャブシ花粉症の有症率は花粉飛散数に比例し、スギ花粉症に加算して有症率を増加させることが明らかとなり、花粉の影響の範囲は山間部の居住地から南へ5 km、山麓部から約2 kmと推定された。症状調査ではスギ花粉症と比し重症で、発熱や咽頭痛、咳そうだけでなく喘息、下痢、果実過敏症がみられた。

果実過敏症の多くはバラ科果実を原因とし口腔や咽頭の掻痒感と腫脹である oral allergy syndrome であるが、稀には呼吸困難、鼻症状、手足顔面の腫脹、紅斑など全身症状が出現する。果実過敏症は花粉症の発現より遅れて発現し、抗ハンノキ IgE 抗体が高いほど抗リンゴ IgE 抗体が高く、果実過敏症の頻度も高くなった。芦屋市での93年の疫学調査では、空中花粉数の多い山間部では果実過敏症の有症率は6.3%で、花粉数の少ない市街地の1.6%より有意に高かった³⁾。オオバヤシャブシ花粉とリンゴ果実のイムノブロット法による抗原分析では19kDの major allergen, 28kD, 14kD の profilin に共通抗原性がみられた。

今回、オオバヤシャブシの抗原に対するモノクロナル抗体の作製により major allergen を、さらに profilin の分離を行った。

AlaSTAT による profilin に対する IgE 抗体、分離した profilin と major allergen に対する

IgE 抗体を ELISA にて測定し profilin の果実過敏症の意義について検討したので報告する。

2. 方法

1. オオバヤシャブシ花粉エキスの分離

花粉は咲く直前の枝を生けて咲かした後、成熟花粉を集め10倍の重量の extraction buffer⁴⁾ にて室温で60分間抽出、遠心した上清を蒸留水に対し透析した後、凍結乾燥した。

2. profilin の分離

poly (L-proline) (Sigma) を CNBr-activated Sepharose 4B (Pharmacia) にカップリングさせたアフィニティークロマトグラフィにて分離し⁵⁾、透析後に凍結乾燥した。

3. モノクロナル抗体の作成と major allergen の分離

Balb/c マウスにフロイントアジュバントとともにオオバヤシャブシ花粉粗抗原を腹腔内投与し、脾臓を摘出しマウスミエローマ細胞と融合しモノクロナル抗体を作製した。培養液から Protein A (Pharmacia) を用いてモノクロナル抗体を精製し、CNBr-activated Sepharose 4B (Pharmacia) にカップリングさせ、オオバヤシャブシ花粉エキスからアフィニティークロマトグラフィにて major allergen を分離した。

4. AlaSTAT による抗 profilin-IgE 抗体の測定

カエデ、シラカンバ、ハシバミ、オリーブ、クルミの混合花粉からなる profilin に対する IgE 抗体の測定を AlaSTAT にて行った。

5. ELISA による IgE 抗体の測定

マイクロプレートに粗抗原, profilin, major allergen を結合させ、患者血清を反応させた後、hoarseradish conjugate-anti-human IgE (Cappel) を反応させ、OPD (Sigma) で発色させて IgE 抗体を測定した。

3. 結果

1. profilin の分離

図1は poly (L-proline)-Sepharose にて分離した蛋白を SDS-PAGE を行い、患者プール血清で IgE 抗体の反応をみたものである。粗抗原

では 14kD に弱い反応がみられるが、分離した蛋白では 14kD のみに強い反応がみられた。

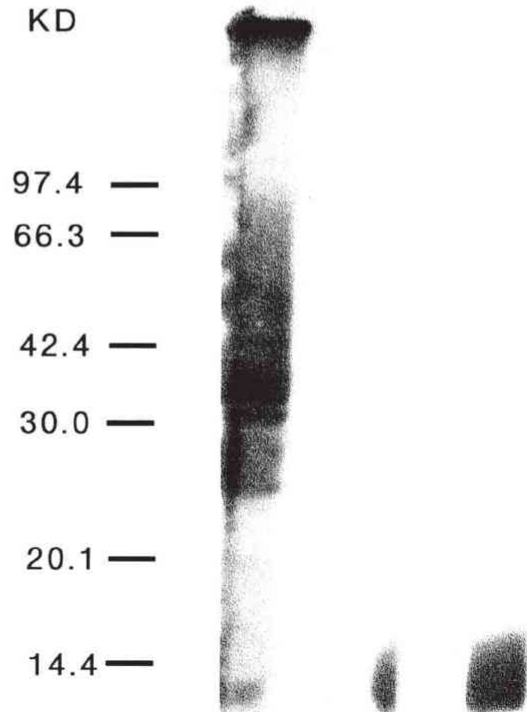


図1 花粉の Poly (L-proline)-Sepharose による分離

2. major allergen の分離

作製できた5株のモノクロナル抗体を protein A で精製し患者プール血清と混合し、精製抗体による IgE 抗体の抑制を ELISA にて検定し、かつ SDS-PAGE で 19kD の major allergen の位置で反応する No.139抗体を用いて、アフィニティークロマトグラフィで分離した。図2では



図2 m-No. 139によるオオバヤシャブシ花粉の分離

重合したと考えられる 36kD の major allergen (左11列) に一致して、右端の矢印に分離した蛋白が単一でかつ IgE 抗体に反応してみられた。

3. AlaSTAT の結果

表1に結果を示した。スコア1以上で症状ありとなしの群についてカイ二乗検定を行うと、2.99で樹木の profilin に対する IgE 抗体が陽性例ほど果実花粉症を合併する傾向がみられた。全身症状を呈する群と口腔・咽頭の腫脹など局所症状のみの群との間には差は認めなかった。

表1 AlaSTAT による樹木 profilin に対する IgE 抗体と果実過敏症との関係

スコア	0	1	2	3	4	合計
全身症状	5	0	1	0	0	6
局所症状	8	2	3	1	0	14
症状なし	21	1	3	0	0	25
合計	34	3	7	1	0	45

$\chi^2=2.99$

4. ELISA の結果

分離した profilin と major allergen に対する IgE 抗体を28症例について測定した。オオバヤシャブシに対する標準曲線を指標として RAST スコアに準じ、陽性を1から4の4段階に分類した。(表2) 症状ありとなしを抗体陰性と陽性でカイ二乗検定すると、profilin は5.10 ($P < 0.05$), major allergen は0.04となり、profilin の重要性が示唆された。なお症状の重症度による差はなかった。

4. 考察

欧州でのシラカンバ花粉症には、最大約70%に果実過敏症が合併し、我が国においても注目され始めた。食物アレルギーはそれ自身が強いアナフィラキシーを起こすだけでなく、食物依存性運動誘発アナフィラキシーの原因となり、一度経験した喉頭浮腫による呼吸困難は恐怖感を植え過呼吸発作など精神的な影響を与える。

表2 オオバヤシャブシの分離蛋白に対する ELISA による IgE 抗体と症状との関係

profilin に対する IgE 抗体

スコア	0	1	2	3	4	合計
全身症状	0	0	1	0	5	6
局所症状	1	0	0	1	8	10
症状なし	5	0	1	6	0	12
合計	6	0	2	7	13	28

$\chi^2=5.10$

major allergen に対する IgE 抗体

スコア	0	1	2	3	4	合計
全身症状	0	1	0	1	4	6
局所症状	1	0	2	2	5	10
症状なし	1	3	4	2	2	12
合計	2	4	6	5	11	28

$\chi^2=0.04$

小児の早い時期に発症する過敏症は牛乳、卵、豆、米、小麦などとの合併例が多く、成人になり発病する例は果実のみが原因で小児の例と異なる⁶⁾。

我々の果実過敏症例では原因花粉はカバノキ科が最も頻度が高く、イネ科やキク科が少数例みられたが、スギやヒノキ科のみの感作例には認めなかった。イネ科やキク科花粉が原因と考えられたのはイネ科3例、両者が原因の1例であった。これらに対する IgE 抗体は全てスコア4以上であり、AlaSTAT によるイネと雑草の profilin に対する IgE 抗体もスコア3以上であった。また、トリイ薬品のカモガヤとヨモギのスクラッチ用エキスを透析し凍結乾燥させたのをを用いたイムノプロットにて IgE 抗体と反応する profilin が確認された。

profilin は花粉と果実、野菜に共通するアクチン結合性の蛋白で、成熟核の骨格成分、棘皮動物の精子先端での反応、phospho-inositide pathway での役割を持つ。オオバヤシャブシ花粉エキスを poly (L-proline)-Sepharose にて分離した蛋白は14kD の位置のみに泳動し、患者

の IgE 抗体が反応したことから profilin といえる。果実過敏症の発現には major allergen より profilin との関係が強く、この profilin の測定は果実過敏症の診断と発症機序を考える上で有意義であった。

profilin はカバノキ科、イネ科、キク科の間に共通抗原性があり、種々の果実や野菜とも共通抗原性がある。このためほとんどの症例はこれら花粉症に罹患した後、果実過敏症が発現していた。原因果実はバラ科果実でリンゴやモモの頻度が高く、バラ科以外にウリ科とキウイが多く、重症になるとブドウ、オレンジ、ナッツにも反応した。全身型の重症者 7 例の RIST は $112 \pm 70 \text{ U/ml}$ でハンノキの RAST スコアは 4.2 ± 0.9 に対し、局所の反応にとどまる 19 例では RIST は $356 \pm 65 \text{ U/ml}$ で RAST スコアは 3.2 ± 1.3 であった。総 IgE が低くある特定の抗原に対する IgE 抗体のみが高い例は全身反応型となる傾向があり注意を要すると考えた。

神戸市東灘区の六甲山麓部での 89 年から 96 年までのダークラム型花粉捕集器による花粉飛散数は 1 平方センチあたり 331, 289, 436, 399, 705, 571, 381, 439 個と増加がみられた。オオバヤシャブシの他の樹種への転換は困難極めるため、花粉症の有症率の増加と IgE 抗体上昇による果実過敏症合併の増加をいかに防止するかが問題である。食物アレルギーの治療は原因食除去が基本であるが、共通抗原により多種の食品が原因となれば非常に困難である。リンゴによる経口減感作療法による免疫寛容の導入を試みており、今後この可能性を追求するとともに、抗原の分析を進め、T 細胞エピトープに対するペプチドによる免疫療法が可能か検討する予定である。

5. まとめ

オオバヤシャブシ花粉の major allergen を作製したモノクロナル抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーで、アクチン結合性蛋白の profilin を poly (L-proline)-Sephrose にて分離し、これら分離蛋白に対する IgE 抗体を測定し、14kD の profilin が最も果実過敏症の発現に重要と考えた。イネ科とキク科の花粉症でも profilin が果実過敏症の発現に重要な役割を果たしていた。

文 献

- 1) 吉村史郎, 小笠原寛, 中原聰, 藤谷哲造 (1995) : 芦屋市におけるオオバヤシャブシ (ハンノキ属) 花粉症の疫学調査. アレルギー 44, 602-608.
- 2) 中原聰, 芦田恒雄, 衛藤幸男, 他 (1990) : オオバヤシャブシ花粉症の 1 例とその疫学調査. アレルギー 39, 104-109.
- 3) 小笠原寛, 栗花落昌和, 他 (1994) : 兵庫県下におけるヤシャブシ花粉症の実態調査 (第 1 報) リンゴ果実との共通抗原性. 神経学会学術誌 10, 9-11.
- 4) Jorolim, E. et al (1989) : Monoclonal antibodies against birch pollen allergens : characterization by immunoblotting and use for single-step affinity purification of the major allergen Bet v I. Int Arch Allergy Immunol, 90, 54-60.
- 5) Valenta, R. et al (1992) : Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. J Exp Med, 175, 377-385.
- 6) 渡辺一彦, 久保田和樹 (1996) : 果実過敏症の 34 例の臨床的検討. アレルギー, 45, 331.