

〔綜 説〕

アレルギーの標準化

東京大学医学部内科物理療法学

伊藤幸治

Key words : allergen standardization — monoclonal antibody — purified allergen

はじめに

アレルギーの診断にはアレルギーテストが極めて重要であることはいうまでもない。したがって、いかにして良いアレルギーを得て、その力価を把握し、その製品を世界的に流布させるかということ、すなわちアレルギーの標準化が重要である。また、アレルギーの標準化は減感作療法の有効性と安全性を高めるのに極めて重要である。アレルギーによる皮膚テストが始まってから、アレルギーの標準化に種々の工夫がなされてきた。最近では、*in vitro* 標準化にモノクローナル抗体による抗原の測定、Western blotting 法による抗原分析、分子遺伝学を応用したリコンビナントアレルギーの利用があり、著しい進歩がみられる。しかし、個人の生物学反応は *in vitro* では、まだ確実に測定しがたいことから、皮膚テストによる標準化も併用されている。昨年（平成3年、1991年）の日本アレルギー学会総会のシンポジウムにて「アレルギーの標準化と問題点」が取り上げられ、石井 明氏ならびに筆者が司会を務め、Jean Bousquet, 奥平博一, 安枝 浩, 村上巧啓の4氏が講演した。これを機会にアレルギー標準化の現況を示したい。この総説を書くにあたって、優れた総説¹⁾を参考にした。

I. アレルギー標準値の国際組織および標準アレルギーについて

アレルギー標準化の重要性に鑑み、これに関する国際組織として The Allergen Subcommittee of IUIS (International Union of Immunological Society) があり、現委員長は、フランスの J. Bousquet 教授（上記シンポジウム演者の1人）である。この委員会は任意的な国際単位 (IU) を標識した国際標準アレルギーエキスの作製を組織している²⁾。またこの委員会は、標

準アレルギーにはある必要条件を要求している³⁾。この要件を満たし WHO で認められた標準アレルギーには、ブタクサ花粉、オオアワガエリ花粉、ヤケヒョウヒダニがある⁴⁾⁻⁶⁾。アメリカをはじめ各国でも標準委員会があり、定期的に会合がおこなわれている。アメリカでは、AU (Allergy Unit)、北欧諸国（ノルウェーなど）では BU (Biologic Unit) が用いられ、いずれも *in vivo* で調べた生物学的活性を用いて抽出液を標識している。

II. アレルギー命名法⁷⁾

WHO の定めたアレルギー命名法は属名の最初の3文字と種名の最初の1文字をそれぞれイタリック体で記し、アレルギーの発見順にローマ数字で示す。例えば、*Dermatophagoides farinae* (コナヒョウヒダニ) I アレルギーは *Der f I* とする。

III. アレルギー力価測定法⁸⁾

アレルギーがいかなる力価を有するかについて、*in vivo* と *in vitro* 測定法がある。

in vitro 測定法¹⁾

- 1) 総蛋白質量の測定
- 2) cross radioimmuno-electrophoresis による抗原分析
- 3) Western blotting 法による抗原分析法(半定量もかねる)
- 4) RAST inhibition test
- 5) single radial immunodiffusion による単一抗原量測定
- 6) モノクローナル抗体による抗原量測定
- 7) ヒスタミン遊離試験

in vivo 測定法

8) アレルゲン皮膚テスト

以下、各測定について記す。

1) 総蛋白量測定

最初の標準化は減感作療法を創始した Noon によって示された。それは蛋白量を W/V 単位で示すものであった。ついで、Stull と Cooke は PNU (Protein Nitrogen Unit, 100PNU = 1 μ g/ml) を提唱した。蛋白量の測定は同じ材料、同じ抽出方法であれば各 lot について、ほぼ比較ができる。

したがって総蛋白量測定はある場合には用いられるが、総蛋白量はアレルゲン活性とは全く独立のものである。なぜなら、これらの蛋白の中にはアレルゲン以外の夾雑物、変性したアレルゲンなどを含むからである。1970年後半に報告された成績ではアレルゲンエキスのラベルに示されている蛋白量は実際のアレルゲン力価とは全く関係なかった。

2) cross radioimmuno-electrophoresis による抗原分析

アレルゲンをアガロース中で電気泳動すると、アレルゲン成分は電気泳動に従って並ぶ。それを再び直角方向に電気泳動する。2 回目の電気泳動の際にはアレルゲンエキ스로免疫したウサギ抗血清を入れておくと、ほぼ構成各抗原の濃度に従って弧状の沈降線が得られる。これにて 1 回の電気泳動よりも多数の抗原が存在することが分析できる。これらの抗原がアレルゲン活性を有しているかどうかを調べるために、患者血清中に浸し、洗浄後、I¹²⁵標識抗 IgE と反応させる。

この方式はエキス中のアレルゲンの分析方法として極めて優秀であるが、煩雑な上、アレルゲンの分子量を測定できないので、それ以後に現れた Western blotting 法によって代わられている。

3) Western blotting 法による抗原分析

ダニやユスリカなどから得られた抽出液を 2-メルカプトエタノールで還元後、SDS-polyacrylamide ゲル内電気泳動を行うと、分子量の低い蛋白が速く陽極側に移動する。泳動方向に割面をいれて 2 分割し、一方をクマシーブルーで染色すると多くのバンドが得られる。染色しなかった他方のゲル内で分画されている蛋白をニトロセルコース膜に転写し、膜上にて患者血清、次に酵素結合抗 IgE 抗体を反応させてアレルゲン

を検出することができる。そのバンドの位置と分子量のわかっているいくつかの標準蛋白の泳動位置からアレルゲンの分子量がわかる。またバンドの色調から IgE 抗体量がある程度推定できる場合がある。この方法は精製アレルゲンの定性にも用いられる。

4) RAST inhibition test

プール患者血清と、当該アレルゲンによる RAST の系に被検アレルゲン液を入れ、50% inhibition されるアレルゲン濃度をもって力価を示す。IgE 抗体と反応するアレルゲンの力価を示す方法として理想的ではあるが、測定結果は RAST inhibition test に使用する血清に依存する。すなわちアレルゲン液に含まれる多種アレルゲンに対するそれぞれの IgE 抗体価やそれらの割合によって左右される。

5) single radial immunodiffusion による単一抗原量測定

精製アレルゲンに対する抗体を 56°C の寒天に混合し、ガラス板上に流して固まらせ、小さなウェルに被験アレルゲンエキスを入れた後、抗原濃度に応じて生ずる沈降輪の直径を測定し、標準曲線から濃度を定める。

しかし、一種類の抗原量測定はそのアレルゲン濃度がもし全体のアレルゲン活性と相関する場合のみ有用である。また抗原量は必ずしもアレルゲン力価を示すわけではない。この方法で、測定した結果によるとブタクサ花粉の antigen E (*Amb a* I) の濃度は皮膚テストやヒスタミン遊離試験による粗抗原のアレルゲン活性力価とよく一致した⁹⁾。またネコ毛垢アレルゲン cat allergen I (*Fel d* I) の濃度は皮膚テストや RAST 阻止試験との結果と一致した¹⁰⁾。しかしヤケヒョウヒダニの糞アレルゲン *Der p* I はダニアレルゲン活性とは比例しなかった¹¹⁾。ダニのように大抵のアレルゲンは多数の IgE 結合性蛋白を保有しているので、一種類のアレルゲン濃度測定によるアレルゲン標準化は一般的には適切な方法ではない。

6) monoclonal 抗体によるアレルゲン標準化⁸⁾

マウスの骨髓腫細胞とマウス抗体産生細胞と癒合させたハイブリドーマから同一エピトープに対する均一抗体を多量に取り出す手法が開発され、医学に広く利用されている。Table 1 のように多数のアレルゲンで主要アレルゲンが精製され、これを使用してモノク

Table 1 Purified major allergens and monoclonal antibodies to them

	Numbers of allergens	Molecular weight (daltons)	Isoelectric point	Purified allergen	Numbers of monoclonal antibodies prepared
Mite					
<i>Dermatophagoides farinae</i>	4	25000, 15000		<i>Der f</i> I, <i>Der f</i> II	<i>Der f</i> I 10, special specific
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>		25000, 15000		<i>Der p</i> I, <i>Der p</i> II	<i>Der p</i> I 10, special specific <i>Der p</i> II, <i>Der f</i> II, 4
Pollens					
timothy				<i>Phl p</i> V-VII	
orchard grass	13	5000 - 669000		<i>Dac g</i> I	
perennial ryegrass	>2	28000 - 64000		<i>Lol p</i> I-VI, X	<i>Lol p</i> I >10
common ragweed	8	5000 - 38200	5.0 - 9.6	<i>Amb a</i> I-VI	<i>Amb a</i> I >10
birch	2 - 3	17000, 29000	5.0 - 6.2	<i>Bet v</i> I	
Japanese cedar	1	40000	8.6 - 9.2	<i>Cry j</i> I	
Molds					
<i>Alternaria</i>	10	25000 - 50000		<i>Alt a</i> I	2
<i>Cladosporium</i>	>60(4)†	13000 - 25000		<i>Cla h</i> I, II	
Animals					
cat	6			<i>Fel d</i> I	4
dog	24				
rat		15000		<i>Rat n</i> I, II (from urine)	
mouse		17800		(from urine)	
horse		19000 - 51000	3.8 - 4.1	<i>Equ c</i> I, II, III	
catle	17	20000 - 24000		<i>Bos d</i> I, II, III	
Insects					
honey bee venom		15800*		<i>Api m</i> I-VI	5
chironomid midge, adult		17000 - 66000			
larvae		11000		<i>Chi t</i> I	
cockroach				<i>Bla g</i> I	4
Foods					
cod fish		162000		<i>Gad c</i> I	
hen's egg		27000**, 44000***		<i>Gal d</i> , I, II, III	

modified from literatures 1) & 28)

*phospholipase A₂(*Api m* I), **ovomucoid(*Gal d* I), ***ovomucoid(*Gal d* II)

† in 60 allergens, 4 are clinically important.

ローナル抗体 (monoclonal antibody ; Mab) が作られている。RAST inhibition test による標準化がプールした患者血清に依存し、ヒスタミン等価プリックテスト (histamine equivalent-prick ; HEP) による標準化は皮膚テストに用いる患者数に依存する。それに対し、モノクローナル抗体が均一であり、その供給は無限である。したがって標準化に極めて有用である。しかし、Mab によって認識されるエピトープとヒトの IgE 抗体によって認識されるエピトープとの同一性が問題となる。

① アレルゲンエピトープの分析

上記のような問題を追求する方法として、アレルゲ

ンに対する Mab と IgE 抗体との競合を調べる方法がある (Fig. 1 参照)。Fig. 1 の I は抗 IgE を使用して、ヒトの IgE 抗体を固相に固定しておく。アレルゲンをあらかじめ Mab と反応させておくと、そのアレルゲンは特異 IgE との反応が阻止されるかどうかを調べる方法である。Fig. 1 の II は、ターゲットのエピトープ以外のエピトープに対する Mab で固定されたアレルゲンのターゲットエピトープが、特異的 IgE と Mab との間にどの程度干渉し合うかを調べる方法である。Mab ではなく非特異的に固定したアレルゲンを使ってもよい。Mab を用いた最近の研究では、*Lol p* I と *Dac g* I が交差反応性がある¹²⁾。さらに草花粉の *Gp* I

Evaluation of IgE-binding Epitopes

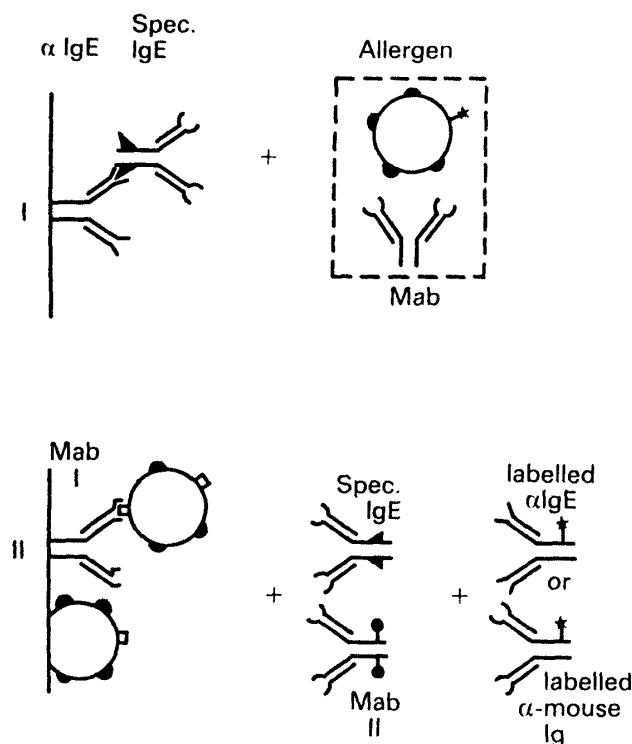


Fig. 1. Evaluation of the IgE-binding epitopes by means of monoclonal antibodies⁹⁾. α: anti

は, *Dactylis glomerata* (カモガヤ), *Lolium perenne* (ホソムギ), *Poa pratensis* (ナガハグサ), *Anthoxanthum odoratum* (ハルガヤ), *Festuca elatior* (ヒロハウシケノグサ) の花粉と交差反応性がある¹³⁾.

しかし, *Dermatophagoides pteronyssinus* I (Der p I) には Mab で調べると 4 個のオーバーラップしないエピトープが存在するが⁸⁾¹⁴⁾, *Dermatophagoides farinae* I (Der f I) とは, ほんの少ししか交差反応性を示さない, 1 個の共通エピトープのみしか存在しない¹⁵⁾. 一方, このような Mab で得られた結果とは異なり, ダニアレルギー患者の IgE 抗体の 95% は, 両種のダニと交差反応を示す. この結果から Mab で認識されるエピトープと IgE 抗体で認識されるエピトープは異なると思われる. このことは, Mab とヒト IgE 抗体との間の交差阻止実験によっても確かめられた¹⁶⁾. このような結果から, アレルゲン標準化にヒトの血清の代わりに Mab を使うことは混乱をもたらす可能性がある. 以上のまとめとして, アレルゲンの特異エピトープ, 近似アレルゲンの共通エピトープに対する Mab が作製されるし, また IgE 抗体と反応するエピトープと反応しうる Mab も作成されうる. しかしな

が, ヒトの IgE 抗体と反応するエピトープに反応しうる Mab はまだ数少ない¹⁷⁾.

② Mab を使用したアレルゲン標準化の実際的方法

アレルゲン標準化の第一ステップは, アレルゲン液の構成成分の分析である. このために, まず SDS ゲル電気泳動あるいは isoelectrofocussing (IEP) の後に種々のプロット法が IgE 結合成分を検出するのに使用されている. この場合にプールしたアレルギー患者血清が使用されるが, その代わりに IgE 結合エピトープと反応する Mab が用いられる. Mab を用いる場合には, 異なるプール血清中の IgE 抗体のもつ様々の問題を回避できる.

診断と減感作療法に用いるアレルゲンエキスの質を改善するために 2 番目に重要なことは, アレルゲン活性そのものの測定である.

Fig. 2 は, Mab を使用したアレルゲン力価測定法を示している. I はサンドイッチ法であり, II はアレルゲンに対する特異 Mab の消費をみる inhibition test である. これらの方法を使用できるのは, ①アレルゲンが 1, 2 個のエピトープしか持っていない場合, ②複雑なアレルゲンであっても同一の, あるいは類似の活性の高いエピトープを 2, 3 個しか持っていない場

Standardization by means of Mabs

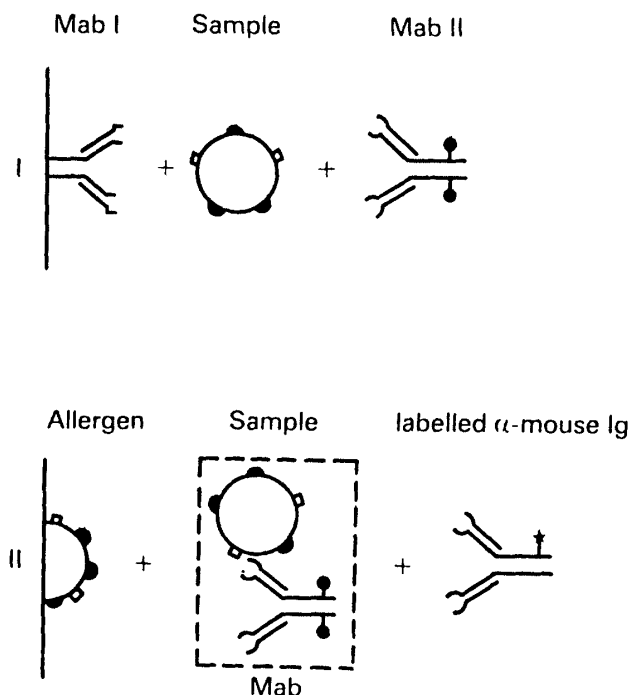


Fig. 2. Methods used for standardization of allergenic extracts⁹⁾. α: anti

合である。

その応用として、カモガヤ抗原の変性をみたデータ報告がある。カモガヤ花粉に対する Mab (D11) は、多くの種類の花粉と交差反応性を示すが、ヒトの IgE 抗体とは限られた干渉しか示さない。共通性をもつエпитープに 3 種類の花粉エキスを 37°C で 6 週間保存した。Fig. 2 の II の系を使用した阻止反応では、37°C 保存エキスの力価は、凍結乾燥にて保存したエキスを比し 1/10 に低下していた。

アレルギー標準値におけるもう 1 つの重要な課題は、複雑なエキス中の個々のアレルギーを同定し定量することである。この目的のために Fig. 2 の I のサンドイッチ法が用いられる。ヤケヒョウヒダニの *Der p* I は 0.5ng/ml まで測定できる¹⁸⁾。異なる入手経路の材料中に含まれる使用ダニアレルギー *Der p* I, II と *Der f* I, II の測定は特に有用である。Mab を使えば、アレルギーの質（力価）の測定も可能の場合がある。しかし、患者の IgE 抗体の場合には、ごく限られた数のエпитープが優性であるが、ハイブリドーマ法を使えば、活性の低いエпитープに対する Mab も産生されるので煩雑であるが、何種類の Mab を使えばよいか未だわからない。患者の IgE 抗体の場合には、ごく限られた数のエпитープが優性である。

このような状況から、多くのアレルギーの持つエпитープに対する Mab を作製し分析するよりも、分子クロニング法によってリコンビナントのアレルギーを作製して、それをもとにアレルギーエキス中の同一成分を測定した方がはるかに簡便であると思われる。

7) ヒスタミン遊離試験

血清のようにプールできないため、個人の白血球と別々に使用し、また操作も煩雑であるので、アレルギー標準化の手段としては殆んど用いられていない。

8) 皮膚反応によるアレルギー標準化¹⁹⁾

以上述べた様々のアレルギー力価測定法は患者を使わないという点で簡便であるが、あくまで抗原抗体反応のみを使用しているので、その結果は生物学的反応である皮膚反応とはかなり解離している。したがって *in vitro* で標準化したアレルギーを実際に使用した場合、患者によっては強すぎる反応を示すことがある。そこで皮膚テストによるアレルギー標準化も重要である。アレルギーエキスの力価を皮膚テストで調べる場合、比較に用いる標準アレルギーは必要なアレルギー

を適切な割合で含んでいることが望ましい。標準的なやり方は、標準アレルギーと比検アレルギーの連続希釈液（例えば 3 倍連続希釈）を作り、皮内テストを行う。対数で示した濃度と、反応の度合との間の反応曲線（通常、直線に近い）の比較から比検のアレルギーの力価は求められる。反応曲線のスロープは反応度合を膨疹直径で示した場合、ゆるやかすぎて比較の際誤差が大きくなるので、紅斑直径を用いた方がよいとされる。もし標準アレルギーと比検アレルギーの反応曲線が平行でなく交差する場合には、両者のアレルギー成分の構成が異なっていることを示唆する。皮膚テストによるアレルギー力価の表示方法として、以下のものがある。

ID₅₀EAL: 直角方向の紅斑直径の合計が 50mm となるアレルギー力価。

HEP: プリックテストで塩酸ヒスタミン 1mg/ml と同じ膨疹直径を示すアレルギー力価を 1HEP とし、1HEP を 1000 BU (biologic unit) とする。

ID₅₀EAL に比し HEP は患者にとって苦痛の少ないプリックテストを使っている。基準として塩酸ヒスタミンを使っているなどの理由でより広く用いられており、全ての標準アレルギーエキスは 100000BU/ml とするように提唱されている。ただし、プリックテストであり、また紅斑ではなく膨疹直径を用いているので、正確さ、鋭敏性が劣るといわれている。95%信頼限界ではアレルギー力価は 30 人の患者を使用した場合 30 倍の範囲があり、20 人の患者を使用した場合 100 倍の範囲である。一方、ID₅₀EAL は 15 人の患者しか使用しない場合でも 10 倍の範囲である。

HEP 方式の場合、テスト患者の数を増やせば誤差範囲は小さくなる。現在ヨーロッパでは 30~50 の患者を用いている。

IV. アレルギー分析と標準化

以下、日本で重要なアレルギーであるダニ、スギ、ユスリカの標準化について記す。

1) ダニ

安枝らは、*Der f* I, II, *Der p* I, II それぞれに対するウサギ抗体を作製し、それぞれの抗原性を調べたところ、*Der f* I, *Der p* I は強い交差反応性を示すが、種特異性もあることを示し、また、*Der f* II, *Der p* II は抗原的には区別できないことを示した。この抗体

Table 2 Allergens of mite (*Dermatophagoides farinae*)

RIEP	MW		60% SAS	Protease activity
Me1	17KD	<i>Der f</i> II	sup	No activity
Me2	27KD	<i>Der f</i> I	ppt	PK3 } SH protease
Me3	45KD	<i>Der f</i> ?	sup, ppt ?	PK2 ? }
Me4	80KD	<i>Der f</i> ?	sup ?	PK1 ? trypsin like protease

RIEP: Radioimmuno-electrophoresis.

SAS: Saturated ammonium sulphate.

を使ってそれぞれのダニ抗原は10pg/mlまで測定できることを示した。当教室の灰田、奥平らのグループにより、あるいは鳥居薬品の研究グループとの共同研究により以下の点が明らかになった。灰田、奥平、猪、安藤ら²⁰⁾のグループはダニの radioimmuno-electrophoresis を行い、4種の major allergen (Me 1, Me 2, Me 3, Me 4)を同定した。臨床的研究によると Me 1が患者 IgE 抗体と最も高率にしかも最も強く反応した。更に SDS-PAGE を high liquid chromatography で Me 1の分子量を調べたところ17,000 daltonsであった。Me 1以外のアレルギーを immunoblotting で調べたところ Me 1は27,000, Me 3は43,000, Me 4は80,000 daltonsであった。Me 1は Chapman, Platts-Mills のグループが報告している *Der f* II (虫体由来)と免疫学的、物理化学に同一と考えられ、Me 2は *Der f* I (糞由来)と一致する。

ダニ粗抗原を sephacryl S-200 で分画し protease 活性を調べたところ、protease 活性をもたない17KDのピークと活性をもつ3つのピーク (PK 1, PK 2, PK 3)が得られた。PK 1は trypsin-like の protease で PK 2, PK 3は SH protease と思われた。それぞれのピークと Me 命名, *Der f* 命名との関係は Table 2のごとくである。結城ら²¹⁾は *Der f* II の産生ダニ遺伝子を用いてリコンビナントアレルギーを作製した。このアレルギーはアレルギー患者に皮膚反応陽性を示す。

Chapman ら²²⁾は、*Der p* I と *Der f* I に対する Mab を用いて、室内塵中のそれぞれの抗原量を測定し、*D. teronyssinus* ペーパーディスクを用いた RAST inhibition test との相関を調べたところ、 $r=0.77$ ($n=21$, <0.001) の結果を得た。

1) スギアレルギーとスギアレルギーエキスの問題点²³⁾

安枝ら²⁴⁾は日本スギ花粉より SBP (sugi basic protein), WHO 命名法である *Cry j* I を分離精製し、ウギに免疫してポリクローナルな特異的抗血清 (pAb)

を作製した²⁵⁾。SBP は等電点が異なる、すなわち抗原性は同一だが4つの subfraction に分れる。酸、アルカリ、熱に不安定である。抽出される速度も速く、花粉が鼻腔に付着するとすぐ溶けて出てくることを意味する。安枝らは *Cry j* I に対する Mab を作製し、*Cry j* I 抗原量を測定している²³⁾。鳥居薬品のスギアレルギーは標準的な Coca 液による抽出法を用いているが収率はよくない。また、市販の治療用エキス中の *Cry j* I content は異常に低く、計算量の数%しか見いだせない。しかも、pAb-ELISA と Mab-ELISA での値を比較すると、本来同じ値であるべきものが、pAb-ELISA での値の方が明らかに高値を示した。さらに、治療用エキスを Sephacryl S-200 のカラムで分画すると、Mab-ELISA では *Cry j* I 本来の溶出位置 (MW 40K 付近) にのみ活性が検出されるが、pAb-ELISA では検出される活性の半分以上が本来の溶出位置よりも高分子側に見いだされ、治療用エキス中の *Cry j* I のかなりの部分が変性している可能性が強く示唆された。スギ花粉症は我が国で最も罹患率の高いアトピー性疾患であり、その有効な治療方法を確立する必要がある。これまでのスギ花粉症減感作療法の治療成績は必ずしも満足できるものではなく、そのことには市販エキスの有しているこれらの問題点が密接に関わっているものと考えられる。市販のスギエキスは古典的な Coca の溶液で抽出されているが、これはスギ花粉抽出には適切でなく、グリセリンを含まない液が適切であるが、市販許可申請の際の抽出方法は許可制度上なかなか変更しがたいという事情が存在することも指摘されている。

ブタクサの主要抗原と考えられている antigen E は抽出速度が遅く、量の少ない Ra 5の方が臨床的に重要と思われる (Table 3)。

3) ユスリカ

ユスリカアレルギーはスーダンのナイル河のアスワ

Table 3 Comparison of major allergens from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*), common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), and perrenneal ryegrass (*Lolium perenne*)

	SBP (<i>Cry j</i> I)	AgE (<i>Amb a</i> I)	Group 1 (<i>Lol p</i> I)
Molecular weight	40000	38000	27000
Isoelectric point	8.9, 9.2	5.0, 5.1	5.2, 5.3
Content of glucoside(%)	6.3	<0.5	5.4
Stability			
heat	—	—	+
acid	—	—	+
degenerating agent	—	—	—
trypsin	+	+	—
Content in pollen (mg/g pollen)	0.5	4.8	6.3
Extraction verosity	fast	slow	fast

+ : stable — : inactivated

(Yasueda²⁵)

ンハイダム周辺の気管支喘息，ドイツで魚の餌料に加工されるユスリカ幼虫による鼻炎，喘息が有名で，日本でもユスリカ喘息が知られるようになった．ドイツの Baur²⁶⁾は *Chironomus thummi thummi* (CTT) の幼虫アレルゲンの主要アレルゲンが hemoglobin (Hb) であることを示し，*Chi t I* と命名した．分子量は monomer が 16,000Kd, dimer が 2,000Kd であった．*Chi t I* は 15 種のユスリカ幼虫のヘモグロビンと交差反応性がある．*Chi t I* の 91~101 のアミノ酸配列に強い抗原性がみられ，これを合成したものは患者 IgE, IgG 抗体，ウサギ IgG 抗体，マウスモノクローナル抗体 (Mab) と反応した阻止試験により，Mab と患者 IgE 抗体とは交差反応が示された．

次に河合ら²⁷⁾の成績を以下に記す．

(1) ダニ抗原との交差抗原性

ユスリカ陽性血清を用いた RAST 抑制試験ではコナヒョウヒダニとは交差抗原はない．

(2) ユスリカ種別間の交差抗原性

日本におけるユスリカの種別は現在 500 種を越えているが，そのうちよく見られるオオユスリカ *Chironomus plumosus* (CP)，ミヤコムモンユスリカ (PK)，セスジユスリカ (CY)，アカムシユスリカ (TA) の成虫 4 種の交差抗原性をユスリカ陽性血清を用いた RAST 抑制試験にて調べると，種別間には強い共通抗原性を認めた．

(3) Pharmacia CTT RAST と CP RAST 及び CP

AlaSTAT との相関

CP RAST と Pharmacia CTT RAST のクラス間には $r=0.64$ ($n=50$)，CP AlaSTAT と Pharmacia CTT RAST のクラス間には $r=0.81$ ($n=50$) といずれも有意な正の相関を認めたが，CP 特異的 IgE 抗体を有しているが CTT 特異的 IgE 抗体陰性を示す例が多く認められた．

(4) Western blotting 法による主要感作抗原分画の検討

CP 成虫抗原を SDS-PAGE, Western blotting 法を用いて 10 名の喘息患者血清の IgE 抗体の反応する感作抗原分画を検出したところ，MW 30kd 及びさらに高分子のところにバンドがみられた．MW 30kd のバンドは，あらかじめ血清を幼虫抗原の dimeric Hb にて吸収しておくで消失した．主要感作抗原分画の 1 つに幼虫の dimeric Hb が含まれるが高分子分画にさらに多くのバンドが認められた．

(5) Hb を持たない *Cricotopus sylvestris* (CS)，キソガワフユユスリカ *Hydrobaenus kondoi* (HK) 成虫のアレルゲン性の検討

気管支喘息児 42 名に対し，RAST 陽性率はそれぞれ 35.7%，23.8% であった．

以上より，日本産ユスリカ成虫の主要感作抗原分画の 1 つとして dimeric Hb がみられるが，CTT とは異なりさらに高分子に強く反応する分画が存在し，今後の検討が必要であるとしている．

文 献

- 1) Baer, H., Anderson, M.C. and Turkeltaub, P.C.: Allergenic extracts. In "Allergy, Principles and Practice" (ed. by E. Middleton, Jr. et al), The C. V. Mosby Company, St. Louis, pp.373-401, 1988.
- 2) Bousquet, J.: Allergen standardization: Methods and clinical implications. アレルギー 40, 860, 1991.
- 3) Lowenstein, H.: Selection of reference preparation. IUIS reference preparation criteria. In 4th International Paul Ehrlich Seminar on the Regulatory Control and Standardization of Allergenic Extracts, October 16-17, 1985. (ed. by H.D. Brede, Schaeffer, M., Sisk, C.), Bethesda, Md., Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1987.
- 4) Ford, A., Seagroatt, V., Platts-Mills, T.A.E., et al.: A collaborative study on the first international standard of *Dermatophagoides pteronyssinus* (house dust mite) extract. *J. Allergy Clin.*

- Immunol.* 75, 676, 1985.
- 5) Gjesing, B., Jager, L., Marsh, D.G., et al.: The international collaborative study establishing the first international standard for timothy (*Phleum pratense*) grass pollen allergenic extract. *J. Allergy Clin. Immunol.* 75, 258, 1985.
 - 6) Helm, R.M., Gauerke, M.B., Baer, H., et al.: Production and testing of an international reference standard of short ragweed pollen extract. *J. Allergy Clin. Immunol.* 73, 790, 1984.
 - 7) Marsh, D.G., Goodfriend, L., King, T.P., Lowenstein, H. and Platts-Mills, T.A.E.: Allergen nomenclature. *Bull. WHO* 64, 757, 1986.
 - 8) Diener, C. and Jager, L.: Research trend, monoclonal antibodies in the standardization of allergens. *Allergy Clin. Immunol. News* 1(6), 180-182, 1989.
 - 9) Baer, H., Maloney, C.J., Norman, P.S., et al.: The potency and group I antigen content of six commercially prepared grass pollen extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 54, 157, 1974.
 - 10) Ohman, J.L. Jr., Lowell, F.C., Bloch, K.J., et al.: Allergens of mammalian origin. V. Properties of extracts derived from the domestic cat. *Clin. Allergy* 6, 419, 1976.
 - 11) Ackland, J. and Stewart, G.A.: Quantitation and thermal stability of the mite allergen DPT 12 in whole mite extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 74, 848, 1984.
 - 12) Mourad, W., Mecheri, S., Peltre, G., David, B. and Herbert, J.: Study of the epitope structure of purified *Dac g* I and *Lol p* I, the major allergens of *Dactylis glomerata* and *Lolium perenne* pollens, using monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 141, 3486, 1988.
 - 13) Esch, R.E. and Klapper, D.G.: Identification and localization of allergenic determinants on grass group I antigens using monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 142, 179, 1989.
 - 14) Lind, P., Hansen, O.C. and Horn, N.: The binding of mouse hybridoma and human IgE antibodies to the major fecal allergen, *Der p* I, of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J. Immunol.* 140, 4256, 1988.
 - 15) Chapman, M.D., Heymann, P.W. and Platts-Mills, T.A.E.: Epitope mapping of two major inhalant allergens, *Der p* I and *Der f* I, from mites of the genus *Dermatophagoides*. *J. Immunol.* 139, 1479, 1987.
 - 16) Platts-Mills, T.A.E. and Chapman, M.D.: Dust mites: Immunology, allergic disease and environmental control. *J. Allergy Clin. Immunol.* 80, 755, 1987.
 - 17) Ecsh, R.E. and Klapper, D.G.: Crossreactive and unique grass group I antigenic determinants defined by monoclonal antibodies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 489, 1987.
 - 18) Chapman, M.D.: Allergen specific monoclonal antibodies; new tools for the management of allergic disease. *Allergy* 43(Suppl 5), 7, 1988.
 - 19) Sub-committee on skin tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology: Skin tests used in type I allergy testing, position paper. (ed. by S. Dreborg). *Allergy* 44(Suppl 10), 1-99, 1989.
 - 20) Haida, M., Yamashita, N., Ino, Y., Ando, N., Okudaira, H. and Miyamoto, T.: Purification and characterization of the house dust mite, *Dermatophagoides farinae*. International Symposium of Mite and Midge Allergy (ed. by T. Miyamoto), pp.128-145, 1988.
 - 21) Yuuki, T., Okumura, Y., Ando, T., Yamakawa, H., Suko, M., Haida, M. and Okudaira, H.: Cloning and sequencing of cDNAs corresponding to mite major allergen *Der f* II. *Jpn. J. Allergol.* 39, 557-561, 1990.
 - 22) Chapman, M.D., Heymann, P.W., Wilkins, S.R., Brown, M.J. and Platts-Mills, T.A.E.: Monoclonal immunoassays for major dust mite (*Dermatophagoides*) allergens, *Der p* I and *Der f* I, and quantitative analysis of the allergen content of mite and house dust extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 80, 184-194, 1987.
 - 23) 安枝 浩: スギ花粉アレルゲンエキスの標準化. アレルギー 40, 862, 1991.
 - 24) Yasueda, H., Yui, Y. and Shida, T.: Isolation and partial characterization of the major allergen extract from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 77-83, 1983.
 - 25) 安枝 浩: 抗原分析. 第8回六甲コンファレンス 吸入性抗原—主に喘息の原因として(宮本昭正, 他編集), メディカルトリビューン, pp.55-68, 1988.
 - 26) Baur, X. and Mazur, G.: Structure of major chironomid allergens and epitopes: Studies with allergen fragments, A synthetic peptide, monoclonal, and human antibodies. International Symposium on Mite and Midge Allergy (ed. by T. Miyamoto), pp.364-372, 1988.
 - 27) 村上巧啓, 五十嵐隆夫: ユスリカアレルゲンの標準化. アレルギー 40, 863, 1991.
 - 28) Platts-Mills, T.A.E., Chapman, M.D., Pollart, S. M., Heymann, P.W. and Luczynska, C.M.: The use of monoclonal antibody assays for major allergens to study the risk of exposure to International Symposium on Mite and Midge Allergy (ed. by T. Miyamoto), pp.57-76, 1988.