

ヒノキ特異的 IgE 抗体陽性患者の臨床的検討 — ヒノキ AlaSTAT 検査を用いて —

- 1) 鳥取市立病院耳鼻咽喉科
- 2) 広島市民病院耳鼻咽喉科
- 3) 岡山大学耳鼻咽喉科
- 4) 名古屋市立大学医動物学

岡野光博¹⁾ 西岡慶子²⁾ 永野稔明³⁾

太田伸生⁴⁾ 増田 游³⁾

春期花粉症患者を対象にヒノキ AlaSTAT 検査を行い、春期花粉症におけるヒノキ科花粉およびヒノキ特異的 IgE 抗体の臨床的意義について考察した。1993年2月から4月に飛散した春期花粉は1,802.8個/cm²で、スギに対するヒノキの飛散割合は1:1.83に達した。アレルゲン特異的 IgE 抗体陽性率(スコア1以上)はスギが83.5%, ヒノキが80.0%であった。76.4%がスギ・ヒノキの両者に陽性となり、12.7%がスギにのみ RAST 陽性となった一方、7.9%はヒノキに対してのみ IgE 抗体価が陽性であった。ヒノキ AlaSTAT 単独陽性患者群の臨床症候には平均罹病期間が短く、重症度は中等症以下である傾向がみられた。ヒノキの優勢飛散期である4月に受診したものは、3月以前の受診患者と比較して有意に高いヒノキ AlaSTAT スコアを呈した ($p<0.05$)。

Key words: AlaSTAT — *Chamaecyparis obtusa* (Cypress) — Japanese cedar pollinosis — tree pollen allergy

はじめに

花粉症では一般に症状の持続時期とアレルゲンである花粉の飛散時期とは一致する。スギ花粉¹⁾を代表とする春期花粉症ではスギ花粉の飛散期を過ぎても臨床症状が持続する例がかなりあり、この時期の空中花粉の多くがヒノキ科花粉であることから、春の花粉症におけるヒノキ花粉の臨床的意義が問題となる。

アレルゲンの同定には、皮膚試験、血清学的検査、誘発試験などがあるが、ヒノキ抗原に関しては市販の皮膚試薬エキ스는花粉由来ではないなど、その有効かつ免疫学的な診断法が望まれていた。今回 SRL 社よりヒノキ AlaSTAT 検査²⁾³⁾が市販されることになり、当院において春期花粉症患者を対象にヒノキ AlaSTAT 検査を行う機会があったので、その有用性を病歴、皮膚試験、鼻汁好酸球検査、臨床症状などとの関連性から検討すると共に、春期花粉症におけるヒノキ

科花粉の臨床的意義について1993年の花粉飛散状況と併せて考察した。

対象および方法

① 対象

対象は1993年2月から4月までの間に鳥取市立病院耳鼻咽喉科を受診した、最低1シーズン以上の春期(2月～4月)にのみ、くしゃみ、鼻漏、鼻閉などのアレルギー症状を有する花粉症患者85名である。通年性の症状を有するもの、他の季節に症状を有するものは除外した。うち63名(男性18名、女性45名;平均年齢35.4歳)はスギ RAST 検査およびヒノキ AlaSTAT 検査を同時に行い得た。

② 観察項目

初診時に鼻症状、アレルギー歴、罹病年数、発症日を問診、記録した。鼻症状は奥田の重症度分類⁴⁾に従い軽症、中等症、重症に分類した。

③ 検査項目

Received: October 27, 1993

Accepted: July 5, 1994

症例は、鼻汁中好酸球検査、皮膚試験（スギ、ハウスダスト、カモガヤ、ヨモギ、アルテルナリア、カンジダ）、血清 IgE 抗体値 (RIST)、および特異的 IgE 抗体 (RAST; ダニ、スギ、イネ科、キク科など) 測定によって、アレルギーの診断および抗原の検索を行った。さらに65名に対してヒノキ AlaSTAT 検査を施行した。

④ AlaSTAT 検査

この検査は米国 DPC 社によって開発された、酵素免疫学的測定法によるアレルゲン特異 IgE 抗体測定キットである。測定原理は ELISA に基づいている。まずビオチン化した可溶性ポリマーにアレルゲンを結合する。ビオチンを管壁に固定化した試験管内で、患者血清中の IgE 抗体とポリマー結合アレルゲンとを反応させる。インキュベート後、アビシンをリガンド結合剤として用い反応物を試験管に固定する。洗浄後ペルオキシダーゼ標識抗 IgE 抗体を加えて反応させ再び洗浄した後、オルトフェニレンジアミンと過酸化水素の混合物を基質液として加えて発色させ、吸光度を 490nm の波長を用い測定する。アレルゲンは分枝した可溶性ポリマーに結合されて溶解状態にあることや、タンパク質、核酸などのアレルゲンを種々のカップリング剤により可溶性ポリマーに結合可能であるなどの

特徴を有する新しい IgE 抗体測定法である²⁾³⁾。

⑤ 花粉数の測定

ダーラム型花粉捕集器を鳥取市立病院 4 階屋上（高さ18m）に設置し、毎朝 8 時にスライドガラスを交換し、カルベラ液にて染色後検鏡し、花粉数を測定した。スギおよびヒノキ科花粉は形態学的に判別した。

⑥ 検定

統計学的処理は χ^2 検定をもちいて行い、危険率が 5%未満の場合を有意と判定した。また症状の重症度におけるヒノキ AlaSTAT スコアの検討は unpaired t-test にて行い、危険率が 5%未満の場合を有意と判定した。

結 果

① 当院における1993年の春期花粉飛散状況

1993年度は2月10日よりスギ花粉の本格飛散が始まり、以後いくつかの飛散のピークを記録した。総飛散量は2月が155.3個/cm²、3月が461.4個/cm²、4月が1,186.1個/cm²であった。スギ花粉の最大飛散日は3月8日であったが、4月からはスギとヒノキ科花粉数は比率が逆転した。スギに対するヒノキ科花粉の飛散割

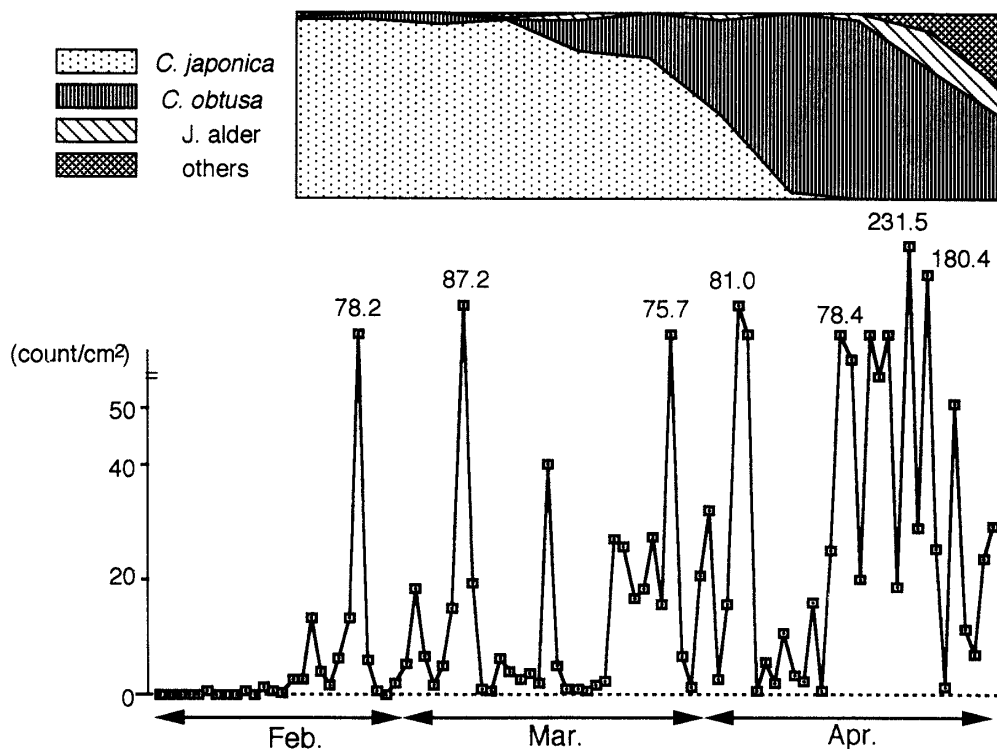


Fig. 1. Fluctuation of total pollen count and proportion of each pollen from February to April, 1993.

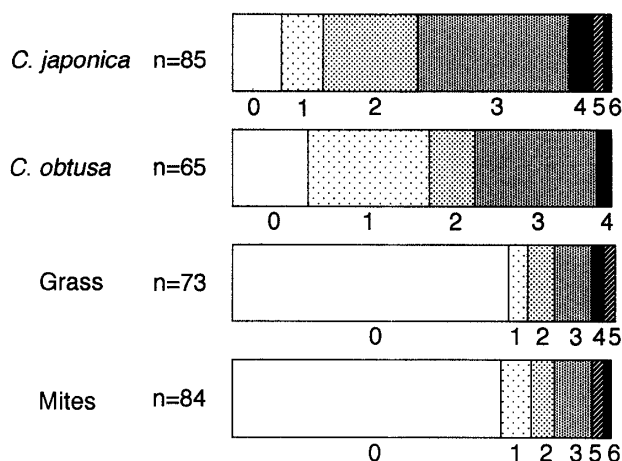


Fig. 2. Positive rate of antigen-specific IgE antibody in patients with pollinosis.

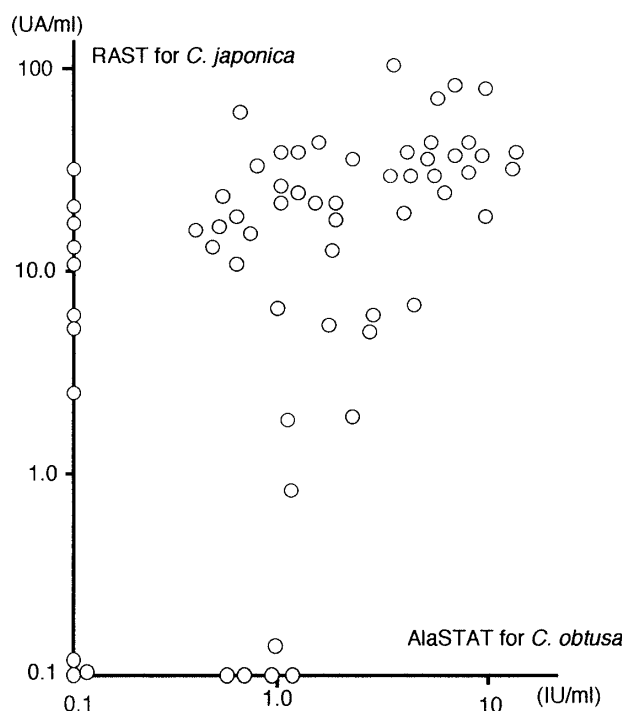


Fig. 3. Correlation between Japanese cedar-specific IgE and *Chamaecyparis obtusa* pollen-specific IgE antibody.

合は全体で1:1.83に達した (Fig. 1).

② 春期花粉症患者の IgE RAST および AlaSTAT 陽性率

スギはスコア 2 以上が68.2%, スコア 1 以上が83.5%であった。一方ヒノキはスコア 2 以上が47.7%, スコア 1 以上が80.0%で, スギと比較すると陽性率は低い傾向にあったが, 対照抗原としたイネ科花粉およびダニ抗原に比較して有意に高い陽性率を認めた ($p < 0.01$)。平均 RAST および AlaSTAT スコアはス

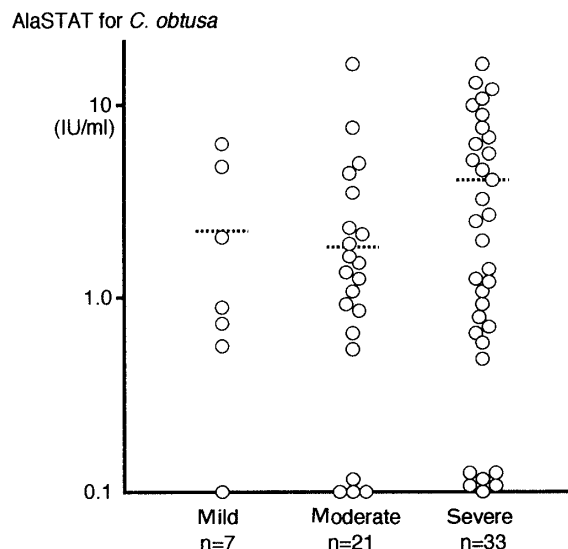


Fig. 4. Correlation between clinical severity and *Chamaecyparis obtusa* pollen-specific IgE (AlaSTAT). Mean was showed as a broken line.

ギが 2.37 ± 1.36 , ヒノキが 1.69 ± 1.22 であった (Fig. 2)。このうちスギ RAST 検査およびヒノキ AlaSTAT 検査を同時に施行できた63名を対象に以後の検討を行った。

③ スギ RAST とヒノキ AlaSTAT との相関

X 軸にヒノキ AlaSTAT, Y 軸にスギ RAST を取り, それらを対数表示すると, $Y = 0.53X + 1.02$ となり, $r = 0.40$ と弱いながらも正の相関を示した。63名中47名(74.6%)が両者に陽性反応を示し, 8名(12.7%)がスギのみに RAST 陽性となる一方, 5名(7.9%)はヒノキに対してのみ IgE 抗体価が陽性であった (Fig. 3)。

④ 自他覚所見の比較

ヒノキ AlaSTAT にのみ陽性を示した患者群の自他覚所見を, スギとヒノキの両者に陽性を示した患者群, およびスギにのみ陽性を示した患者群と比較した。アレルギー歴, 鼻汁中好酸球陽性率, 血清 IgE 値などは他の 2 群と同程度に認めたが, 平均罹病期間は短く, 重症度はすべて中等症以下であり, 他の 2 群と比較して有意差がみられた ($p < 0.05$) (Table 1)。

⑤ ヒノキ AlaSTAT 値と初診時の重症度

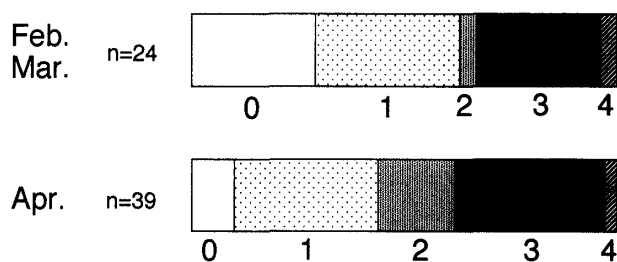
ヒノキ AlaSTAT 値は軽症群で 2.15 ± 2.34 , 中等症群で 1.71 ± 1.82 , 重症群で 3.75 ± 4.12 (IU/ml) となり, 重症群で AlaSTAT 値が上昇する傾向にあったが, 統計学的に有意ではなかった (Fig. 4)。

⑥ 受診時期によるヒノキ AlaSTAT スコア

当院では4月に入りスギとヒノキの飛散割合が逆転

Table 1 Clinical characterization of patients sensitized only to *Chamaecyparis obtusa* pollen

Sensitization		only to <i>C. obtusa</i>	<i>C. japonica</i> <i>C. obtusa</i>	only to <i>C. japonica</i>	neither <i>C. japonica</i> nor <i>C. obtusa</i>
Number		5	47	8	3
Sex	Male	2	12	4	0
	Female	3	35	4	3
Mean age	(yr.)	35.0±22.4	36.6±11.6	30.4±13.5	30.0±1.4
Mean duration	(yr.)	1.4±0.5	4.8±3.0	3.6±1.9	2.7±1.6
Rate of allergic history	(%)	33.3	26.1	39.9	0
Severity	Severe	0	28	5	1
	Moderate	4	14	3	1
	Mild	1	5	0	1
Positive rate of nasal eosinophils	(%)	80.0	87.0	87.5	66.7
Positive rate of skin scratch test to J. cedar	(%)	20.0	90.5	87.5	0
IgE	(IU/ml)	228.6±267.0	285.2±434.5	223.4±361.8	64.7±51.2

Fig. 5. Correlation between *Chamaecyparis obtusa* pollen-specific IgE (AlaSTAT) and time of visiting hospital.

したため、便宜上2月、3月をヒノキの劣勢飛散期、4月を優勢飛散期としてその時期に受診した患者のヒノキ AlaSTAT スコアを比較した。ヒノキ AlaSTAT 陽性率は劣勢飛散期で70.8%、優勢飛散期で89.7%であり、優勢飛散期の方が陽性率の高い傾向にあった。さらにヒノキ AlaSTAT スコア2以上を示したものの割合は劣勢飛散期で37.5%であるのに比べ、優勢飛散期では56.4%となり、これら2群の間に有意差を認めた ($p<0.05$)。一方、発症時期によるヒノキ AlaSTAT スコアには特定の傾向はみられなかった。またスギ RAST に関しては、受診時期および発症時期ともに、そのスコアに有意の傾向は見いだせなかった (Fig. 5)。

考 察

1964年に斎藤が初めて報告して以来、スギ花粉症は増加の一途をたどっている¹⁾。その原因として産業構造や生活環境の変化などが挙げられるが、最も大きな要因の一つとしてスギ花粉の飛散量の増加が挙げられる。このことはヒノキ科花粉に関しても同様であり、特にここ15年間ではスギよりもヒノキの植林が進められている事実は、ヒノキ科花粉症においても今後注意深い観察が必要とされよう⁵⁾。

当院における1993年度の春期花粉飛散量は1802.8個/cm²で、4月に入りスギとヒノキの飛散割合が逆転し、全体としては1:1.83とヒノキの飛散量の方が多かった。当地域における春期花粉の発生源は鳥取、岡山、および兵庫県のスギ・ヒノキ林と考えられる。これら3県を併せたスギ・ヒノキ林の面積は420,467haであり、その比率は1:1.06とヒノキ林の方が若干優占である⁶⁾。また兵庫県におけるヒノキ花粉飛散数は90年から増加傾向にあり、53年から83年までの活発な造林の結果、樹齢31年以上のヒノキ林総面積は2018年には91年の2.8倍になり、飛散の中心は丹波山地から中国山地へ移ると予測されている⁷⁾。これらの事実からも今後当地域においてもヒノキ科花粉の飛散量増加が予想され、注意深い観察が必要とされる。

スギ (*Cryptomeria japonica*) は裸子植物門、球果植物綱、マツ目、スギ科、スギ属に属し、1属1種という特殊な植物である¹⁾。一方ヒノキ科植物はスギと同

様にマツ目に属するが、ヒノキ属、ネズコ属、ビャクシン属、など7つの属に群別されている⁵⁾。スギの主要アレルゲンとして *Cry j I*⁸⁾, *Cry j II*⁹⁾が知られており、それぞれ分子量40KD, 37KD の糖タンパクである。一方ヒノキの主要アレルゲン (HMA) は分子量45KD, 等電点6.5~6.8の糖タンパクであるとされ、生化学的にはこれらの抗原の性状は明らかに異なっている⁵⁾。井手ら¹⁰⁾はゲル内沈降反応およびイムノブロッティングによりスギ科・ヒノキ科樹木花粉間の共通抗原性と共通アレルゲン性を示すと共に、皮膚試験による検討ではヒノキ単独感作例はないと報告している。またIgE抗体に対するエピトープレベルでのスギ・ヒノキ間の交差反応性も報告されている¹¹⁾。一方伊藤ら¹²⁾は、スギ花粉とヒノキ花粉との間には共通する抗原が存在するが、ヒノキ特有の抗原があることが推測されると報告すると共に、皮膚テストにてアレルギー患者のうち5.8%がスギ陰性でヒノキにのみ陽性であったと報告している¹³⁾。また榎本ら¹⁴⁾¹⁵⁾は皮膚試験でスギ、ヒノキの両方に陽性を示した患者血清を対象にスギおよびヒノキ AlaSTAT 検査を試みたところ、AlaSTAT でスギ、ヒノキが陽性であったものはそれぞれ100%であり、両者のクラス間相関は0.5677で低い相関を示したと報告している。さらに吸収試験でスギ、ヒノキの共通抗原部分以外のそれぞれの抗原部分を認識している患者が存在していることを示唆している。伊藤ら¹⁰⁾もCAP RAST 検査でヒノキ単独 RAST 陽性者が2名あったと報告している。今回我々がスギ RAST 検査およびヒノキ AlaSTAT 検査を用いて検討したところ、74.6%が両者に陽性反応を示したが、7.9%の人はスギに対するIgE抗体価が無いか極く微量であるにも関わらず、ヒノキに対するクラス1以上のIgE抗体を認めた。この結果はヒノキ AlaSTAT 検査の特異性、鋭敏性を信頼するかぎりにはヒノキ花粉の単独感作例の存在を示している。伊藤ら³⁾はAlaSTATクラスとRASTスコアとの相関について述べている。1367件の検体数で相関係数が0.90 ($p < 0.01$) と非常に高い相関が得られ、またAlaSTATの陽性・陰性はRASTの陽性・陰性とかなり一致し、両方法の一致率は90.7%であったと報告している。特にスギに関しては相関係数が0.91 ($p < 0.01$) と非常に高い相関を示している。今回我々の報告ではヒノキ AlaSTAT クラスと RAST スコアとの相関は検討できなかったが、これらの報告から高い相関が予想される。

ヒノキ単独感作例の臨床症候の特徴をスギ・ヒノキ

感作群、スギ単独感作群と比較すると、本群は平均罹病期間が短く、重症度は中等症以下であった。この事実と本年度のヒノキの飛散状況等を総合し考察すると、飛散量の多いヒノキにまず感作したのがヒノキ AlaSTAT 単独陽性患者であり、その人たちが年を経るにつれスギにも感作し重症化していくのではないかと考えられる。清水ら¹⁷⁾は1977年の段階ではヒノキ科花粉症はみだせなかったが、これは花粉の飛散量の比率にも原因していると考えられ、地域的には今後ヒノキ科花粉症が発見される可能性を指摘した。さらに彼らはスギ花粉で感作された患者がヒノキ科花粉によってもしだいに感作され長期にわたり臨床症状を呈すると推測しているが、今回の検討ではその逆もありうることを推測された。今後スギ・ヒノキ科花粉の飛散状況を追跡するとともに、ヒノキ単独感作例を長期的に観察する必要があると思われた。

ヒノキ AlaSTAT スコアと初診時の症状の重症度との関係を検討してみると、スコアの上昇に伴って重症度も増す傾向にあった。スギ特異的IgE抗体のクラスが高くなるほどスギ花粉症発症の自覚症状も強くなるという報告¹⁸⁾や中等症、重症においてスギ抗原の方が有意にヒノキより RAST 陽性率が高いという報告¹⁹⁾もあり、春期花粉症の重症度の解析にはスギ・ヒノキ科花粉の両者を併せて考える必要がある。

症状の発症時期とヒノキ AlaSTAT スコアとの関連性を検討してみると、ヒノキの優勢飛散期である4月に受診したものは2月、3月の受診患者に比べて有意に高いヒノキ AlaSTAT スコアを呈した。伊藤ら¹⁶⁾はスギ・ヒノキの花 pollen 飛散パターンは一致する時期があり、さらに共通抗原性のこともあり、スギ・ヒノキによる症状は明確には区別がつかないとしている。今回の検討からは春期花粉症患者のうちヒノキに対する感受性を持つものは、ヒノキが本格的に飛散した後に症状も本格化し、受診傾向を示すのではないかと考えられる。

文 献

- 1) 斎藤洋三：スギ花粉症患者の動態と患者増加の原因，“アレルギー性鼻炎と花粉症の診療 Q & A” (斎藤洋三 編)，臨床医薬研究協会，東京，pp.30-31, 1990.
- 2) El Shami, A.S. and Alaba, O.: Liquid phase *in vitro* allergen-specific IgE assay with *in situ*

- immobilization in advances in the biosciences. 74, "Allergy and Molecular Biology" (ed. by El Shami, A.S. and T.G. Merrett), Pergamon Press, Oxford, New York, pp.191-201, 1989.
- 3) 伊藤幸治, 宮本昭正, 牧野莊平, 福田 健, 九嶋敦, 他: 新しい IgE 測定法, Ala STAT の有用性の検討. アレルギー 40, 444-453, 1991.
 - 4) 奥田 稔: 問診のとり方. "鼻アレルギー", 金原出版, 東京, pp.134-137, 1988.
 - 5) 芦田恒雄: 花粉症の原因となるヒノキ科植物とその花粉. "アレルギー性鼻炎と花粉症の診療 Q & A" (斎藤洋三 編), 臨床医薬研究協会, 東京, pp. 34-35, 1990.
 - 6) 堀部 徹, 三好教夫: 中国・四国地方のスギ・ヒノキの森林面積について. 備讃空中花粉研究会誌 3, 47-49, 1992.
 - 7) 小笠原寛, 吉村史郎, 中原 聡, 藤谷哲造: スギ・ヒノキ花粉飛散数の推移と予測. アレルギー 42, 420, 1993.
 - 8) Yasueda, H., Yui, Y., Shimizu, T. and Shida, T.: Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 77-86, 1983.
 - 9) Sakaguchi, M., Inouye, S., Taniai, M., Ando, S., Usui, M. and Matsushashi, T.: Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy* 45, 309-312, 1990.
 - 10) 井手 武, 芦田恒雄: スギ科・ヒノキ科樹木花粉の共通抗原性. アレルギーの臨床 11, 174-178, 1991.
 - 11) Taniai, M., Kayano, T., Takakura, R., Yamamoto, S., Usui, M., et al.: Epitopes on *Cry j* I and *Cry j* II for the human IgE antibodies cross-reactive between *Cupressus sempervirens* and *Cryptomeria japonica* pollen. *Mol. Immunol.* 30, 183-189, 1993.
 - 12) 伊藤隆博, 西村 稔, 鈴木元彦, 間宮紳一郎, 馬場駿吉: RAST 抑制試験, イムノプロテイング法によるスギ・ヒノキ花粉の抗原性の検討. アレルギー 42, 476, 1993.
 - 13) 伊藤隆博, 西村 稔, 鈴木元彦, 馬場駿吉: ヒノキ花粉症についての研究 (その 1). 耳鼻免疫アレルギー 10, 124-125, 1992.
 - 14) 榎本雅夫, 横山道明, 大西成雄: スギとヒノキ花粉の共通抗原性. アレルギー 41, 1050, 1991.
 - 15) 榎本雅夫, 芦田恒雄, 井手 武: AlaSTAT によるヒノキ花粉特異 IgE 抗体の測定. アレルギーの臨床 11, 1093-1097, 1991.
 - 16) 伊藤隆博, 西村 稔, 鈴木元彦, 間宮紳一郎, 佐藤薫, 他: ヒノキ花粉に対する特異 IgE 抗体の検索. 耳鼻臨床 86, 957-962, 1993.
 - 17) 清水章治, 信太隆夫: スギ花粉症におけるヒノキ科花粉の意義. アレルギー 26, 318-319, 1977.
 - 18) 西川恵子, 西川益利, 寺本憲子: スギ特異的 IgE 抗体産生と自覚症状. アレルギーの臨床 12, 216-218, 1992.

CLINICAL CHARACTERIZATION OF ALLERGIC PATIENTS SENSITIZED TO *CAMAECYPARIS OBTUSA*

—Using AlaSTAT System—

Mitsuhiro Okano¹⁾, Keiko Nishioka²⁾, Toshiaki Nagano³⁾,
Nobuo Ohta⁴⁾ and Yu Masuda³⁾

¹⁾Department of Otorhinolaryngology, Tottori Municipal Hospital

²⁾Department of Otorhinolaryngology, Hiroshima City Hospital

³⁾Department of Otorhinolaryngology, Okayama University Medical School

⁴⁾Department of Medical Zoology, Nagoya City University Medical School

Clinical characterization of patients with allergy to *Chamaecyparis obtusa* (Cypress) pollen and their specific IgE antibody was investigated by using AlaSTAT assay, a new method for the measurement of antigen-specific IgE antibody. Positive rate of antigen-specific antibody in patients with allergic pollinosis was 83.5% for Japanese cedar pollen and 80.0% for *Chamaecyparis obtusa* pollen. 76.4% of patients were sensitized both to Japanese cedar and *Chamaecyparis obtusa* pollen, however, 7.9% were sensitized only to the latter. As for clinical symptoms, duration of attack was short and severity was mild or moderate in the patients sensitized only to *Chamaecyparis obtusa* pollen. Patients who visited hospital in April, in that *Chamaecyparis obtusa* pollen disseminated in the air predominantly, showed significant elevation in AlaSTAT scores compared with patients who visited in February and March ($p < 0.05$).