

イネ花粉喘息の研究

第2報・イネ花粉と他のイネ科花粉との間の

共通抗原に関する研究

群馬大学小児科教室

木村 利定 戸所 正雄 黒梅 恭芳

館野 幸司 松村 龍雄

(特掲受付: 11月6日, 1969)

緒言

先にわれわれ¹⁾⁻⁵⁾は本邦における, 秋に好発する喘息発作の原因の1つとして, イネ花粉が重要な役割を演じていることを報告した. すなわち, 1) 空中飛散花粉の検索において, 7月中旬から9月中旬にかけて, イネ花粉と思われるイネ科花粉が急激に増加すること. 2) イネ花粉抽出液による皮内反応が, 秋に好発する喘息患児において, 高率に陽性であること. 3) イネ花粉による皮内反応は, 血清による被動性移入が可能であること. 4) イネ花粉喘息と推定される患児において, イネ花粉抽出液による吸入誘発試験が高率に陽性であり, 著明な1秒量の減少と喘息症状が誘発されたこと. 5) これら吸入誘発試験陽性児において, イネ花粉による皮内反応が稀薄な濃度で全例に陽性であったこと. などを報告した. このようにイネ花粉は, 本邦における気管支喘息の抗原として重要であることがわかった.

一方, 花粉症の発見以来, イネ科花粉相互間には, 共通抗原性が認められている. したがって, このイネ花粉喘息にみられる感作が, イネ花粉そのものによるものかあるいは, これと抗原を共通する, 他のイネ科花粉によるものかということが問題になる.

そこで, この問題を解明するために, イネ *Oryza sativa*, 小麦 *Triticum sativum*, オーチャード *Dactylis glomerata*, チモシー *Phleum pratense*, トウモロコシ *Zea mays* およびススキ *Miscanthus sinensis*, の6種の花粉抽出液の間に, in vivo および in vitro 中和試験を行ない, 共通抗原の有無を検討した.

その結果, in vivo 中和試験では, イネ花粉と他の5種のイネ科花粉との間には共通抗原性が認められず, in vitro 中和試験では, イネ花粉と小麦, オーチャードおよびチモシー花粉との間には, 軽度の共通抗原性が

証明され, イネ花粉喘息は, 主としてイネ花粉そのものに由来し, 他のイネ科花粉におけるものでないことが明らかとなつたので報告する.

実験方法並びに成績

I. In vivo 中和試験⁶⁾⁻⁹⁾ (その1)

方法

1) 花粉抽出液: 第1報と同様に作製した. すなわち, 花粉をエーテルで脱脂した後, Coca 液を5%重量容積比になるように加え, 5°Cの冷蔵庫中で48時間抽出した. 作製したイネ花粉抽出液の蛋白窒素量は, 29,100 PNU/mlであつた.

2) イネ花粉に対するレアギン血清: イネ花粉喘息患者のうち, イネ花粉抽出液に対する皮内反応閾値が高いものから採血した血清を用いた. この患児のイネ花粉抽出液に対する皮内反応閾値は1:10,000,000でありPK値は1:128であつた. なお, 他のイネ科花粉アレルギー抽出液に対する皮内反応閾値は, 小麦花粉では1:100,000, オーチャードおよびチモシー花粉では1:1,000 トウモロコシおよびススキ花粉では1:100であつた.

3) 被検者: 康健正常成人でイネ, 小麦, オーチャード, チモシー トウモロコシ および ススキ 花粉抽出液の1:100による皮内反応陰性者につき, 各イネ科花粉抗原に対する試験を, それぞれ2名ずつ計10名につき行なつた.

4) 中和試験

a) レアギンの被動性移入: 上記のレアギン血清を, 生理的食塩水を用いて1:10, 1:20, 1:40, 1:80 および1:160と稀釈し, 各稀釈血清0.02ml を, 被検者の左右, 前腕, 屈側, 皮内にそれぞれ注射した.

b) 各花粉抽出液による皮内反応: 被動性移入24時間

後、小麦、オーチャード、チモシー、トウモロコシおよびススキの各花粉ごとに、それぞれ2名づつの被験者につき、左腕には、それぞれ各花粉抽出液の1:1000を0.02ml 皮内注射し、15分後反応を測定した。なお、右腕には、対照液として生理的食塩水.002ml を皮内注射した。

成績

1) 他の花粉抽出液によるレアギンの中和：小麦、オーチャード、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉抽出液に対し、ほとんど反応が認められなかった。

2) 他の花粉抽出液によるレアギンの中和後における、イネ花粉抽出液による皮内反応：中和抗原として他の花粉抽出液によつて皮内反応を行なつた部位と、対照液によつて皮内反応を行なつた部位でのイネ花粉抽出液の反応は、同程度であつた（表1-5）。

Table 1 In Vivo Neutralization Test
(1) Wheat Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Wheat 1 : 1,000
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$

Challenge

↓ ↓
Rice
1 : 1,000

1 : 10	$\frac{11 \times 10}{36 \times 36}$	$\frac{11 \times 10}{34 \times 34}$
1 : 20	$\frac{8 \times 8}{30 \times 29}$	$\frac{9 \times 7}{29 \times 26}$
1 : 40	$\frac{9 \times 9}{30 \times 30}$	$\frac{8 \times 7}{28 \times 26}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{7 \times 7}$	$\frac{3 \times 3}{19 \times 16}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$

Table 2 In Vivo Neutralization Test
(2) Orchard Grass Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Orchard 1 : 1,000
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$

Challenge

↓ ↓
Rice
1 : 1,000

1 : 10	$\frac{10 \times 8}{22 \times 23}$	$\frac{8 \times 7}{26 \times 24}$
1 : 20	$\frac{7 \times 7}{23 \times 26}$	$\frac{6 \times 7}{16 \times 19}$
1 : 40	$\frac{6 \times 6}{10 \times 10}$	$\frac{6 \times 6}{11 \times 10}$
1 : 80	$\frac{4 \times 4}{10 \times 10}$	$\frac{4 \times 4}{10 \times 9}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{5 \times 5}$	$\frac{0 \times 0}{8 \times 8}$

Table 3 In Vivo Neutralization Test
(3) Timothy Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Timothy 1 : 1,000
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{5 \times 5}$

↓

↓

Challenge Rice
1 : 1,000

1 : 10	$\frac{13 \times 13}{38 \times 38}$	$\frac{12 \times 10}{42 \times 42}$
1 : 20	$\frac{13 \times 11}{50 \times 50}$	$\frac{10 \times 10}{37 \times 37}$
1 : 40	$\frac{12 \times 12}{49 \times 49}$	$\frac{9 \times 10}{36 \times 36}$
1 : 80	$\frac{6 \times 6}{43 \times 43}$	$\frac{9 \times 8}{33 \times 33}$
1 : 160	$\frac{7 \times 7}{33 \times 23}$	$\frac{7 \times 6}{30 \times 30}$

Table 4 In Vivo Neutralization Test
(4) Corn Pollen
Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Corn 1 : 1,000
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 6}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$

Challenge Rice
1 : 1,000

1 : 10	$\frac{11 \times 11}{48 \times 34}$	$\frac{11 \times 10}{38 \times 38}$
1 : 20	$\frac{12 \times 11}{45 \times 45}$	$\frac{9 \times 9}{33 \times 33}$
1 : 40	$\frac{10 \times 7}{32 \times 32}$	$\frac{8 \times 9}{33 \times 33}$
1 : 80	$\frac{6 \times 6}{30 \times 30}$	$\frac{8 \times 7}{36 \times 30}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{25 \times 25}$	$\frac{0 \times 0}{28 \times 25}$

小括

イネ花粉レアギン血清は、小麦、オーチャード、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉抽出液の1:1000に対して殆んど反応しなかつた。また、それぞれの花粉抽出液の注射後に行なつた、イネ花粉抽出液による皮内

Table 5 In Vivo Neutralization Test
(5) Pumpus Grass Pollen
Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Pumpus 1 : 1,000
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$

Challenge Rice
1 : 1,000

1 : 10	$\frac{10 \times 12}{28 \times 28}$	$\frac{11 \times 11}{32 \times 32}$
1 : 20	$\frac{12 \times 11}{30 \times 30}$	$\frac{11 \times 10}{33 \times 33}$
1 : 40	$\frac{13 \times 11}{30 \times 30}$	$\frac{10 \times 11}{28 \times 28}$
1 : 80	$\frac{9 \times 9}{23 \times 23}$	$\frac{8 \times 8}{27 \times 27}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{8 \times 8}$	$\frac{0 \times 0}{8 \times 6}$

反応は、対照である生理的食塩水の注射後に行なつた場合と変りなかつた。

II. in vivo 中和試験 (その2)

方法

実験方法は、Iと同様であつた。中和試験は小麦、オーチャードおよびチモシー花粉の3者についてのみ行なつた。その濃度は、前回の中和試験より10倍濃い1:1000を使用した。

成績

1) 他の花粉抽出液によるレアギンの中和：小麦およびチモシー花粉抽出液に対しては、反応が認められなかつた。しかし、オーチャード花粉抽出液に対しては、1:80まで反応が認められた。

2) 他の花粉抽出液によるレアギンの中和後における

Table 6 In Vivo Neutralization Test

(1) Wheat Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Wheat 1 : 100
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$

Challenge	$\downarrow$ Rice 1 : 1,000	$\downarrow$
1 : 10	$\frac{10 \times 10}{40 \times 44}$	$\frac{10 \times 10}{33 \times 33}$
1 : 20	$\frac{10 \times 10}{39 \times 39}$	$\frac{9 \times 9}{31 \times 33}$
1 : 40	$\frac{10 \times 11}{37 \times 37}$	$\frac{10 \times 7}{25 \times 26}$
1 : 80	$\frac{10 \times 10}{32 \times 25}$	$\frac{7 \times 8}{26 \times 26}$
1 : 160	$\frac{5 \times 5}{20 \times 17}$	$\frac{4 \times 4}{14 \times 13}$

Table 7 In Vivo Neutralization Test

(2) Orchard Grass Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Orchard 1 : 100
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{7 \times 7}{27 \times 27}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{6 \times 6}{23 \times 23}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{6 \times 6}{18 \times 18}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$

Challenge

Rice
1 : 100

1 : 10	$\frac{7 \times 7}{37 \times 37}$	$\frac{5 \times 5}{22 \times 25}$
1 : 20	$\frac{7 \times 7}{27 \times 27}$	$\frac{7 \times 7}{24 \times 23}$
1 : 40	$\frac{6 \times 6}{10 \times 10}$	$\frac{5 \times 5}{14 \times 13}$
1 : 80	$\frac{4 \times 4}{6 \times 6}$	$\frac{0 \times 0}{5 \times 5}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{7 \times 5}$

Table 8 In Vivo Neutralization Test

(3) Timothy Pollen

Neutralization

Reagin	right arm	left arm
	Saline	Timothy 1 : 100
1 : 10	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{6 \times 6}$
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{0 \times 0}$	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$

Challenge	$\downarrow$ Rice 1 : 1,000	$\downarrow$
1 : 10	$\frac{9 \times 9}{40 \times 40}$	$\frac{6 \times 6}{33 \times 33}$
1 : 20	$\frac{9 \times 9}{40 \times 40}$	$\frac{7 \times 6}{33 \times 33}$
1 : 40	$\frac{7 \times 6}{25 \times 25}$	$\frac{5 \times 5}{27 \times 27}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$	$\frac{0 \times 0}{7 \times 7}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$

る、イネ花粉抽出液による皮内反応：前回の中和試験と同様に、最初に中和抗原として他の花粉抽出液によつて皮内反応を行なつた部位と、対照液によつて皮内反応を行なつた部位でのイネ花粉抽出液の反応は同程度であつた（表6～8）。

小括

in vivo においては, イネ花粉レアギン血清は, 小麦, オーチャードおよびチモシー花粉抽出液の 1 : 100 によつても, 全く中和されないことがわかつた.

Ⅲ. in vitro 中和試験⁸⁾⁹⁾

方法

1) イネ花粉レアギン血清: in vivo 中和試験に用いたものと同一の血清を使用した.

2) 被験者: 健康正常成人でイネ, 小麦, オーチャード, チモシー, トウモロコシおよびススキ花粉抽出液の 1 : 100 による皮内反応陰性者, 5 名を用いた.

3) 中和試験

a) in vitro での各花粉抽出液によるレアギンの中和: 上述のレアギン血清の 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, および 1 : 80 の稀釈系列を用いた. 次いで, 第 1 の稀釈系列には, イネ花粉抽出液の 1 : 100 を, 第 2 の稀釈系列群には, それぞれ小麦, オーチャード, チモシー, トウモロコシおよびススキ花粉などの花粉の抽出液の 1 : 100 を, 第 3 の稀釈系列には, 生理的食塩水を, いずれも等量に混じ, 37°C 1 時間処理し, さらに, 5°C の冷蔵庫に 24 時間放置した.

b) 被動性移入: 上述の in vitro 中和血清の 0.02 ml を, それぞれ被検者の前腕, 屈側, 皮内に注射した.

c) イネ花粉抽出液に対する皮内反応: 被動性移入 48 時間, 1 : 1000 イネ花粉抽出液 0.02 ml を皮内注射し, 15 分後に反応を測定した.

成績

第 1 の系列, すなわち, イネ花粉抽出液によりレアギ

Table 9 In Vitro Neutralization Test
(1) Wheat Pollen

Reagin	Rice 1 : 100	Wheat 1 : 100	Saline
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{8 \times 8}{27 \times 35}$	$\frac{8 \times 8}{36 \times 36}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$	$\frac{8 \times 8}{36 \times 36}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$	$\frac{0 \times 0}{12 \times 12}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$	$\frac{0 \times 0}{5 \times 5}$

Challenge: Rice pollen 1 : 1,000

ンの in vitro の中和を行なつた系列では, イネ花粉抽出液に対する皮内反応が全く陰性であつた. 次に, 第 2 の系列群, すなわち, それぞれ他の花粉抽出液によりレアギンの中和を行なつた系列のうち, 小麦, オーチャードおよびチモシー花粉を用いた系列では, イネ花粉に対する皮内反応の減弱傾向が認められた. しかし, トウモロコシおよびススキ花粉抽出液を用いた系列では, イネ

Table 10 In Vitro Neutralization Test
(2) Orchard Grass Pollen

Reagin	Rice 1 : 100	Orchard 1 : 110	Saline
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{6 \times 6}{16 \times 16}$	$\frac{8 \times 8}{45 \times 45}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{10 \times 10}$	$\frac{8 \times 8}{45 \times 45}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{6 \times 6}{20 \times 20}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{0 \times 0}{10 \times 10}$

Challenge: Rice pollen 1 : 1,000

Table 11 In Vitro Neutralization Test
(3) Timothy Pollen

Reagin	Rice 1 : 100	Timothy 1 : 100	Saline
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{3 \times 3}{20 \times 16}$	$\frac{3 \times 7}{20 \times 30}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{3 \times 3}{12 \times 8}$	$\frac{6 \times 6}{28 \times 28}$
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{0 \times 0}{5 \times 6}$	$\frac{6 \times 6}{30 \times 30}$
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{0 \times 0}{4 \times 4}$	$\frac{2 \times 2}{20 \times 20}$

Challenge: Rice pollen 1 : 1,000

Table 12 In Vitro Neutralization Test
(4) Corn Pollen

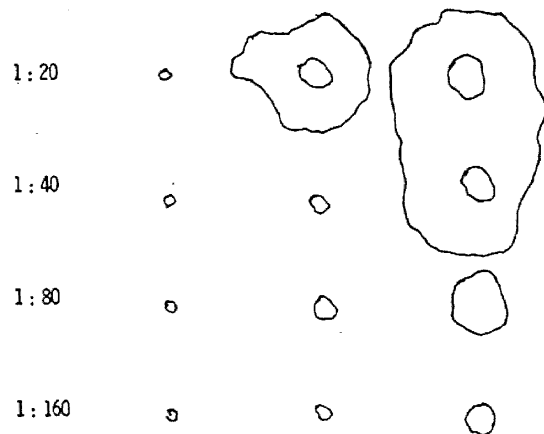
Reagin	Rice 1 : 100	Corn 1 : 100	Saline
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{9 \times 7}{34 \times 34}$	$\frac{7 \times 7}{47 \times 47}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{8 \times 7}{33 \times 25}$	
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{9 \times 6}{21 \times 17}$	
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{2 \times 2}$	$\frac{7 \times 6}{25 \times 22}$	

Challenge: Rice pollen 1 : 1,000

Table 13 In Vitro Neutralization Test
(5) Pumpus Grass Pollen

Reagin	Rice 1 : 100	Pumpus 1 : 100	Saline
1 : 20	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{9 \times 8}{38 \times 38}$	$\frac{8 \times 7}{33 \times 33}$
1 : 40	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{9 \times 8}{34 \times 34}$	
1 : 80	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{9 \times 7}{34 \times 34}$	
1 : 160	$\frac{0 \times 0}{3 \times 3}$	$\frac{9 \times 7}{34 \times 34}$	

Challenge: Rice pollen 1 : 1,000



Reagin	Rice 1:100	Wheat 1:100	Saline
--------	---------------	----------------	--------

Challenge: Rice Pollen 1:1,000

Fig. 1. In vitro neutralization test
(1) wheat pollen

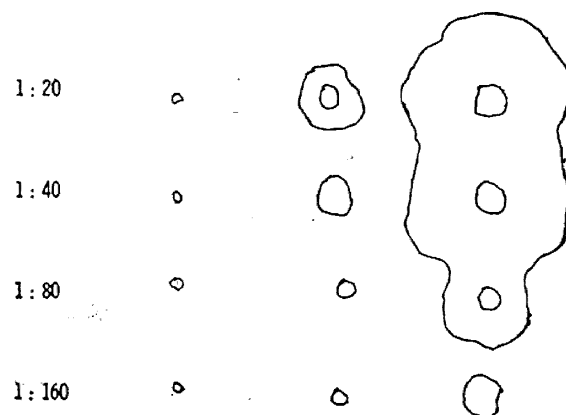
花粉抽出液に対する皮内反応の減弱傾向は全く認められなかった(表9~13)(図1~5).

小括

in vitro 中和試験により, イネ花粉レアギン血清は, イネ花粉抽出液により完全に中和された. 一方, 小麦, オーチャードおよびチモシー花粉抽出液によるある程度中和され, また, トウモロコシやススキ花粉抽出液によつては全く中和されなかった.

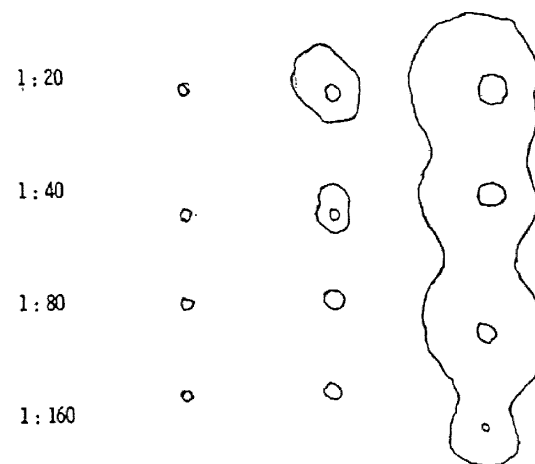
IV. サルによるPCA¹⁰⁾を用いた in vitro 中和試験方法

1) イネ花粉レアギン血清: in vivo および in vitro 中和試験と同一血清を用いた.



Reagin	Rice 1:100	Orchard 1:100	Saline
--------	---------------	------------------	--------

Challenge: Rice Pollen 1:1,000

Fig. 2. In vitro neutralization test
(2) orchard grass pollen

Reagin	Rice 1:100	Timothy 1:100	Saline
--------	---------------	------------------	--------

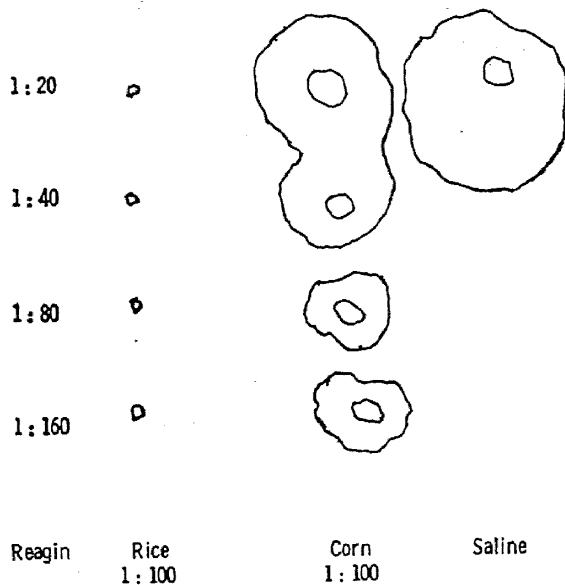
Challenge: Rice Pollen 1:1,000

Fig. 3. In vitro neutralization test
(3) timothy pollen.

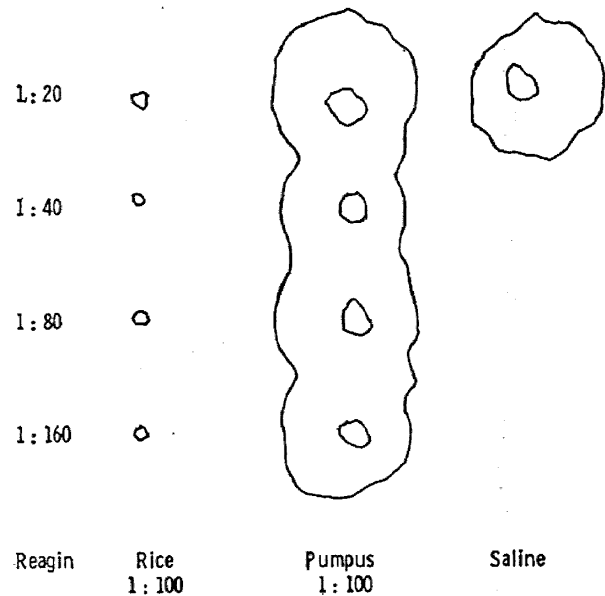
2) 実験動物: 3.5kgの牡の *Macaca mulatta* を用いた.

3) 実施方法:

a) レアギンの中和. IIIの in vitro 中和試験と同様に行なつた. レアギン血清の1:10, 1:20, 1:40お



Challenge : Rice Pollen 1:1,000

Fig. 4. In vitro neutralization test
(4) corn pollen

Challenge : Rice Pollen 1:1,000

Fig. 5. In vitro neutralization test
(5) pumpus grass pollen

よび 1:80 の稀釈系列を 7 列作成し、各系列にイネ、小麦、オーチャード、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉抽出液の 1:100 および生理的食塩水をそれぞれ等量に混じ、37°C 1 時間処理し、さらに、5°C の冷蔵庫に 24 時間放置した。

b) 被動性移入：サルの大腿屈側および腋窩の皮内に上述の in vitro 中和血清の 0.1ml をそれぞれ注射した。

c) イネ花粉による惹起注射：被動性移入 24 時間後、イネ花粉抽出液 2,000 PNU に 0.5% の Evans blue 5 ml を混合して静注し、15 分後に反応を測定した。

成績

イネ花粉抽出液を用いて中和した部位では、反応が全く認められなかった。小麦およびオーチャード花粉抽出

液を用いて中和した部位では、反応の減弱傾向が認められた。しかし、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉抽出液で中和をした部位では、反応の減弱傾向は認められなかった (表 14, 図 6, 図 7)。

小括

サルにおける PCA を用いた in vitro 中和試験により、イネ花粉抽出液により完全に中和され、小麦およびオーチャード花粉抽出液により軽度中和され、また、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉抽出液によっては、全く中和されないことがわかった。

V. モルモットにおける PCA 反応¹¹⁾を用いた in vitro 中和試験

方法

1) イネ花粉に対する抗血清：ウサギに、イネ花粉抽

Table 14 In Vitro Neutralization Test by Using PCA Reaction in Monkey

Reagin	Saline	Rice	Wheat	Orchard	Timothy	Corn	Pumpus
1:20	21×21	0×0	7×7	20×20	22×22	21×21	20×20
1:40	15×15	0×0	4×4	11×11	17×17	22×22	18×18
1:80	15×15	0×0	4×4	11×11	12×12	12×12	14×14
1:160	13×13	0×0	0×0	0×0	9×9	9×9	8×8

Challenge: Rice pollen 2,000 PNU

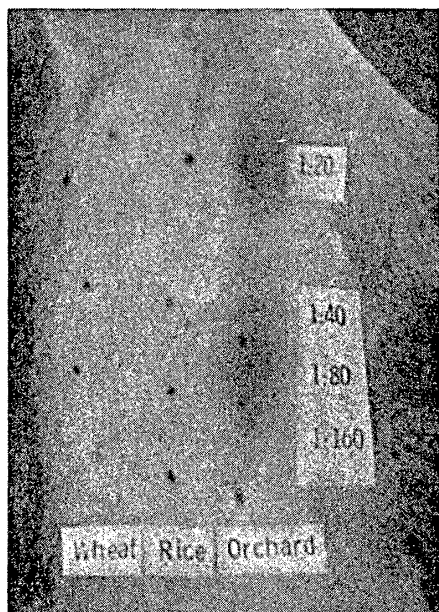


Fig. 6. In vitro neutralization test by using PCA reaction in monkey.

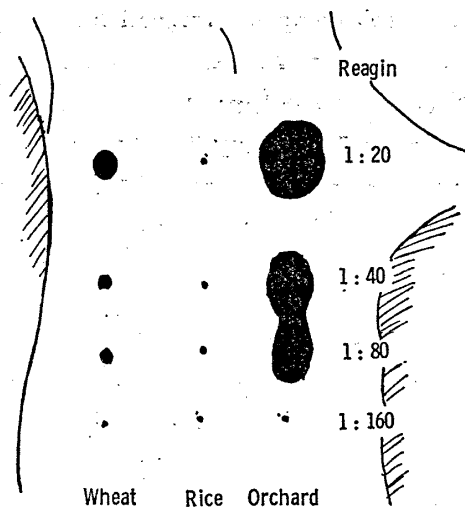


Fig. 7. In vitro neutralization test by using PCA reaction in monkey.

抽出液の1:100を0.5mlとフロイントアジュバンド0.5mlの混合物を、1週1回合計3回皮下注射し、最後に、抽出液1.0mlを静注した。1週間後に採血した血清は、沈降反応による抗体価は、抗原希釈で1:100であった。

2) 実験動物：250～300gのモルモットを用いた。

3) 実施方法

a) 抗血清の中和：Ⅲ、Ⅳのin vitro中和試験と同様にin vitroにて中和を行なった。抗血清の1:10, 1:20, 1:40および1:80の希釈系列を用いた。ついで

で第1の希釈系列には、イネ花粉抽出液の1:100を、第2の希釈系列群には、小麦、オーチャードおよびチモシーなどの花粉の抽出液の1:100を、第3の希釈系列には、生理的食塩水を、いずれも等量に混じ、37℃1時間処理し、さらに5℃の冷蔵庫に24時間放置した。

b) 被動性移入：モルモットの腹部皮内に上述のin vitro中和血清の0.1mlをそれぞれ注射した。第1の希釈系列は1:10のみ注射した。

c) イネ花粉による惹起注射：被動性移入4時間後、イネ花粉抽出液150 PNUと0.5%のEvans blueを0.5mlを混合して静注し、15～30分後に反応を測定した。

成績

イネ花粉抽出液を用いて中和した部位では、反応が全く認められなかった。小麦花粉抽出液を用いて中和した部位では、反応の減弱傾向が軽度認められるが、オーチャードおよびチモシー花粉抽出液を用いて中和した部位では、反応の減弱は全く認められなかった(表15～17)。

小括

モルモットにおけるPCAを用いたin vitroの中和

Table 15 In Vitro Neutralization Test with Wheat Pollen by Using Reaction in Guinea Pig

Reagin	Saline	Rice 1 : 100	Wheat 1 : 100
1 : 20	14×17	0×0	11×14
1 : 40	11×14		9×11
1 : 80	12×14		0×0
1 : 160	10×14		0×0

Challenge: Rice pollen 1 : 100

Table 16 In Vitro Neutralization Test with Orchard Grass Pollen by Using PCA Reaction in Guinea Pig

Reagin	Saline	Rice 1 : 100	Orchard 1 : 100
1 : 20	17×18	0×0	12×11
1 : 40	16×18		16×16
1 : 80	13×17		17×16
1 : 160	6×13		13×15

Challenge: Rice pollen 1 : 100

Table 17 In Vitro Neutralization Test
with Timothy Pollen by Using PCA
Reaction in Guinea Pig

Reagin	Saline	Rice 1 : 100	Timothy 1 : 100
1 : 20	14×26	0×0	18×20
1 : 40	18×22		12×18
1 : 80	19×26		12×20
1 : 160	9×12		9×12

Challenge: Rice Pollen 1 : 100

試験により、イネ花粉に対する抗血清は、イネ花粉抽出液により完全に中和され、小麦花粉抽出液により軽度中和されるが、オーチャードおよびチモシー花粉抽出液では全く中和されないことがわかった。

総括

イネ花粉と他のイネ科花粉、すなわち小麦、オーチャード、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉との間の交叉反応性を、中和試験を用いて検討した。

1) 花粉喘息患者のレアギンを用いた交叉反応試験。

a) in vivo 中和試験：交叉反応は全く認められなかった。

b) in vitro 中和試験：交叉反応は小麦、オーチャードおよびチモシー花粉との間にわずかに認められ、トウモロコシおよびススキ花粉との間には全く認められなかった。

c) サルにおけるPCA反応を用いた in vitro 中和試験：交叉反応は小麦およびオーチャード花粉との間に軽度に認められ、チモシー、トウモロコシおよびススキ花粉との間には全く認められなかった。

2) イネ花粉で感作したウサギ血清を用いての交叉反応試験

モルモットにおけるPCAを用いた in vitro 中和試験：交叉反応は小麦粉との間には軽度に認められ、オーチャードおよびチモシー花粉との間には全く認められなかった。

以上の成績を総合すると、イネ花粉との交叉反応は、小麦、オーチャードおよびチモシー花粉では軽度に認められ、トウモロコシおよびススキ花粉では全く認められないことがわかった。(図8)

考案

1) 従来、牧草花粉の抗原性については、大別して2

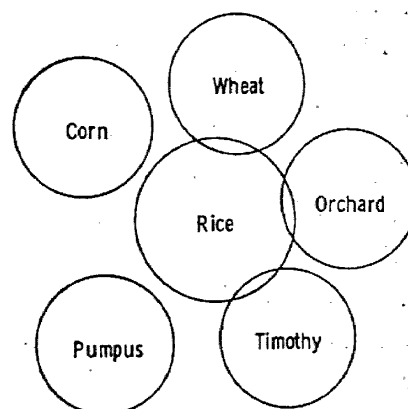


Fig. 8. Cross antigenicity between rice pollen and other grass pollens.

つの考え方があるようである。第1は、イネ科花粉の共通抗原性を重視する考え方であり、減感作に用いる抗原も、代表的な1ないし数種の花粉を用いればよいとする考え方である。第2は、それぞれのイネ科花粉の特異抗原を重視する考え方であり、減感作療法に用いる抗原も、実際に個々の患者が感作されている花粉を用いなければならないとする考え方である。

第1のイネ科花粉の共通抗原性を重視する研究としては、まず、減感作療法を考案した Noon¹²⁾ を始め、Freeman¹³⁾、Goodale¹⁴⁾ および Cooke and Vander Veer¹⁵⁾ 等があげられる。かれらはチモシー花粉が、最も広範囲に共通抗原を有すると考え、減感作療法の抗原としてチモシー花粉を用いている。

このイネ科花粉の共通抗原を重視する論拠としては、

- 牧草花粉症の患者では、皮膚反応は種々のイネ科花粉に対して陽性の場合が多いこと (Scheppegrell¹⁶⁾)。b) 未だ暴露されたことのない花粉によつても陽性反応を呈すること (Chobot¹⁷⁾, Phommen¹⁸⁾, Duchaine¹⁹⁾)。c) チモシー花粉単独の減感作療法で、大部分の牧草花粉症が治癒すること (Tuft²⁰⁾, Urbach²¹⁾, Frankland²²⁾, Chobot¹⁷⁾)。d) 共通抗原が中和試験で証明されること (Chobot¹⁷⁾, Stull, Cooke and Barnard²³⁾)。e) 共通抗原が gel diffusion で証明されること (Wodehouse²⁴⁾, Augustin²⁵⁾) 等があげられる。

第2の個々のイネ科花粉の特異抗原を重視する論拠としては、a) 1種の花粉のみで感作されている牧草花粉症がかなりの数に認められること (Piness²⁶⁾, Piness and Miller²⁷⁾, Grubb and Vaughan²⁸⁾)。b) 米国西部のようなチモシーの少ない地方における草牧花粉症では、チモシー花粉による皮膚反応が陰性であること

(Watson and Kibler²⁹), Lamson and Miller³⁰), Lamson and Alles³¹), Vaughan³²). c) チモシー花粉のみによる減感作療法で治療しない牧草花粉症が存在すること (Henderson³³), Anderson³⁴), S.M. Feinberg³⁵), Sternberg³⁶), Grubb and Vaughan³⁷). d) 中和試験によつて, 個々の花粉に特異抗原が証明されること (DeBesche⁷), CoCa and Grove⁸), Rackemann and Wager³⁷). e) gel diffusion によつて, 特異抗原が証明されること (J.G. Feinberg³⁸) 等である.

これらの2つの立場は, いずれもイネ科花粉相互間に, ある程度の交叉反応があることを認めている. 問題は, 個々の花粉に存在する特異抗原を重視するか否かである. 第1の立場はこの特異抗原を“Minor Antigen”として軽視するのに反し, 第2の立場はそれを重視している.

これらの2つの立場を通じて重要なことは, 両者ともにイネ科花粉として対象にしているのは, Timothy を中心として, Red-top, June grass, Sweet vernal, Low spear, Orchard grass, Rye, Wheat, Bermuda grass, Johnson grass, Crab grass, Velvet grass, などであつて, イネ花粉をあつかっていないことである. 第1報で述べたように, イネ花粉のアレルゲンとしての役割については, Sangiorgi³⁹) が花粉症のアレルゲンとしてあげた報告の引用を Unger の著書に認め得るのみであつて, イネ花粉は, 従来, 気管支喘息のアレルゲンとして報告されていなかったようであり, したがつて研究対象とされていなかった. 要するに, 以上のイネ科花粉における共通抗原性を重視する立場もこれを重視せぬ立場も, とともにイネ花粉を除くイネ科花粉について論じていたのである.

われわれのイネ花粉症の患者血清を用いた交叉反応実験の成績をまとめると, 共通抗原の関与は, ときに僅かに認められることはあつたが, 一般に少なく, 特異抗原の重要性が認められた. すなわち, イネ花粉症における感作抗原は, イネ花粉自身であり共通抗原を有する他のイネ科花粉によるものではないことがわかつた. このように, イネ花粉と他の種々のイネ科花粉との間には, 一般に共通抗原性は少なく, したがつて, イネ花粉症の減感作療法には, イネ花粉そのものを用いる必要性が推定された.

最近, 我妻⁴⁰) は牧草花粉症18例につき皮膚反応を行ない, オーチャードには100%陽性となるのに反し, イネ花粉に対しては16.7%と低く, 牧草花粉とイネ花粉とは

交叉反応性ははなはだ少ないと言つている. この成績は, われわれの成績とも一致しており, イネ花粉症の独立性を示すものと思われる.

2) 植物分類学と交叉反応

牧野および根本⁴¹) によると, イネ科植物は形態学的に2群に大別されている. すなわち, 以上の実験に用いた6種の植物のうちイネ, ススキおよびトウモロコシは第1群に属し, 小麦, オーチャードおよびチモシーは第2群に属している. しかるに, 以上の血清学的な中和試験の成績では, 形態学上において, イネと比較的遠い他のイネ科花粉, 小麦, オーチャードおよびチモシーとの間には, 交叉反応が認められ, 比較的近い他のイネ科花粉, ススキおよびトウモロコシとの間には, 交叉反応が全く認められなかつた.

すなわち, イネ科植物の花粉の血清学的分類と形態学的分類とは必ずしも一致しないことがわかつた. 植物を分類する上で形態学的特徴ばかりでなく, 雄性としての生殖体である花粉の近親関係をみていくことは, 系統発生を追求する上で重要であると思われる. すなわち, 花粉の抗原構造は分類学上の重要な鑑別点となり, また, 植物の再分類を行なう上で有用と考えられた.

結 語

イネ花粉と他のイネ科花粉, すなわち, 小麦, オーチャード, チモシー, トウモロコシおよびススキ花粉との間の交叉反応性を, 中和試験を用いて検討した. その結果, イネ花粉との交叉反応は, 小麦, オーチャードおよびチモシー花粉において軽度で認められ, トウモロコシおよびススキ花粉では全く認められないことがわかつた. すなわち, イネ花粉喘息は主としてイネ花粉そのものに由来し, 他のイネ科花粉によるものではないことが明らかになつた.

最後に, 牧草花粉をいただきました市立札幌病院小児科我妻義則博士および鳥居薬品株式会社の御厚意に感謝いたします.

文 献

- 1) 松村龍雄, 木村利定, 鎗野幸司, 加藤英輔, 戸所正雄, 中島茂樹, 黒梅恭芳: イネ花粉喘息, 昭和43年9月第1回日本小児科学会秋季大会にて発表.
- 2) 松村龍雄, 木村利定, 鎗野幸司, 加藤英輔, 戸所正雄, 中島茂樹, 黒梅恭芳: イネ花粉喘息, 昭和43年11月第18回アレルギー学会にて発表.
- 3) Matsumura, T., Kimura, T., Tateno, K.,

- Kato, E., Todokoro, M., Nakajima, S. and Kuroume, T.: Rice Pollen Asthma, 11nd International Symposium on Pediatric Allergy, Mexico City, Decemb. 1968.
- 4) Matsumura, T., Kimura, T., Tateno, K., Kato, E., Todokoro, M., Nakajima, S. and Kuroume, T.: Rice Pollen Asthma, The Journal of Asthma Research 7, 7, 1969.
- 5) 松村龍雄, 木村利定, 館野幸司, 加藤英輔, 戸所正雄, 中島茂樹, 黒梅恭芳: イネ花粉喘息の研究, 第1報, フレルギー投稿中.
- 6) Prausnitz, C. and Küstner, H.: Studien über die Ueberempfindlichkeit. Centralbl. f. Bakt., Orig. 86, 160, 1921.
- 7) DeBesche, A.: Studies on the Reactions of Asthmatics and on Passive Transference of Hypersusceptibility. Am. J. M. Sc. 166, 265, 1923.
- 8) CoCa, A.F. and Grove, E.: Studies in Hypersensitiveness. XIII. A study of the atopic reagin. J. Immunol 10, 445, 1925.
- 9) Miyamoto, T., Oshima, S., Ishizaki, T. and Sato, S.: Allergenic iaentity between the common floor mite (*Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961) and house dust as a causative antigen in bronchial asthma. J. Allergy 42, 14, 1968.
- 10) Layton, L.L., Yamanaka, E., Lee, S. and Green, T.W.: Multiple allergies to the pollen and seed antigens of *Ricinus communis* (castor bean). J. Allergy 33, 232, 1962.
- 11) Ovary, Z.: Immediate reactions in the skin of experimental animals provoked by antibody-antigen interaction. Progress in allergy 5, 459, 1958.
- 12) Noon, L.: Prophylactic Inoculations Against Hay Fever. Lancet 1572, 1911.
- 13) Freeman, J.: Further Observations on the Treatment of Hay Fever by Hypodermic Inoculations of Pollen Vaccine, Lancet 2, 814, 1911.
- 14) Goodale, J.L.: Preliminary Notes on the Anaphylactic Skin Reactions Excited in Hay Fever Subjects by the Pollen of Various Species of Plants. Boston M. & S. J. 171, 695, 1914.
- 15) Cooke, R.A., and Vander, V.A.: Human Sensitization. J. Immunol 1, 201, 1916.
- 16) Scheppegrell, W.: Immunological Classification of Common Hay Fever Plants and Trees. M.J. & Rec 117, 721, 1923.
- 17) Chobot, R.: Studies in Specific Hyersensitiveness; Relationship of Atopens in the Pollens of Bermuda Grass(*Condyon dactylon*) and Timothy Grass(*Phleum pratense*). J. Immunol 16, 281, 1929.
- 18) Coca, A.F., Walzer, M. and Thommen, A. A.: Asthma and Hay Fever in Theory and Practice. Springfield, 1931, Charles C. Thomas.
- 19) Duchaine, J.: Kritische Bemerkungen zu Allergie-Hauttestungen. All. u. Asthma 1, 243, 1955.
- 20) Tuft, L.: Clinical Allergy, W.B. Saunders Co. 1937, pg. 383.
- 21) Urbach, E.: Allergy, Grune & Stratton, 1943, p. 317.
- 22) Frankland, A.W.: Seasonal hay fever and asthma treated with pollen extracts. Int. Arch. Allergy 6, 45, 1955.
- 23) Stull, A., Cooke, R.A. and Barnard, J.: The Biologic Identity of Certain Grass Pollens Causing Hay Fever. J. Allergy 3, 352, 1932.
- 24) Wodehouse, R.P.: Antigenic analysis by gel diffusion. 2. Grass pollen. Int. Arch. Allergy 6, 65, 1955.
- 25) Augustin, R.: Methods of standardizing extracts containing allergens, and their limitations. 3rd int. Congr. Allergol. Abstracts of Communications 1, 411, 1956.
- 26) Piness, G.: Study of Two Hundred and Two Cases of Hay Fever. J.A.M.A. 84, 584, 1925.
- 27) Piness, G., and Miller, H.: Specificity of Pollen Allergens. J. Allergy 1, 483, 1930.
- 28) Grubb, G.D. and Vaughan, W.T.: Evidence of group specific and species specific sensitization to pollen. J. Allergy 9, 211, 1938.
- 29) Watson, S.H. and Kibler, C.S.: Etiology of Hay Fever in Arizona and the Southwest. J.A.M.A. 78, 719, 1922.
- 30) Lamson, R.W. and Miller, H.: Pollen Allergy. Genesis of Skin Hypersitiveness in Man. Arch. Int Med. 40, 618, 1927.
- 31) Lamson, R.W. and Alles, G.: Evidence of Specificity of Intracutaneous Pollen Test in Man. J. Lab. & Clin. Med. 13, 1129, 1928.
- 32) Vaughan, W.T.: Allergy and Applied Immunology, St. Louis 1931, The C.V. Mosby Co.
- 33) Henderson, A.T.: Harben Lectures, 1928 Clinical Studies, Hay Fever, Seasonal and Perennial, Skin Manifestations: Urticaria,

- Eczema, Angioneurotic Oedema, Ulceration of Cornea; Summary and Conclusions. J. State Med 37, 125, 1929.
- 34) Anderson, J.M.: A New Method of Preparation of Pollen Extracts. J. Allergy 6, 244, 1935.
 - 35) Feinberg, S.M.: Allergy in practice, p. 58, 589 (Year Book Publishers, Inc., Chicago 1946).
 - 36) Sternberg, L.: Mixed grass pollen vs. pure timothy extract in uncontrolled summer hay fever patients. J. Allergy 23, 163, 1952.
 - 37) Rackemann, F.M. and Wagner, H.C.: The desensitization of skin sites passively sensitized with serum of patients with hay fever. Crossed reactions of different pollens. The variations in the recipient. J. Allergy 7, 319, 1936.
 - 38) Feinberg, J.G.: Immunological inadequacy of randomly selected grass pollen extracts in specific hay fever therapy. Int. Arch. Allergy 16, 1, 1960.
 - 39) Sangiorgi, P.: Observation of pollinosis in Lombardia in the last three years, Part II, cited by L. Unger in Bronchial Asthma, pp. 601, Charles C Thomas, Springfield. Illinois, 1945.
 - 40) 我妻義則：私信，昭和44年8月。
 - 41) 牧野富太郎，根本莞爾：日本植物総覧，春陽堂，1295頁，1931.
-

Studies on Rice Pollen Asthma

II. Studies on cross antigenicity between Rice Pollen and other Grass Pollens

Toshisada Kimura, Masao Todokoro, Takayoshi Kuroume, Kouji Tateno and
Tatsuo Matsumura

Department of Pediatrics, Gunma University School of Medicine, Maebashi

In the previous paper, authors reported that rice pollen was considered as one of the important inhalant allergens to cause asthmatic attacks in early fall in Japan. However, a problem remains to be solved as to whether hypersensitivity to rice pollen can be produced by the exposure to rice pollen itself or to other grass pollens which presumably cross react with it and are grown or cultivated widely in Japan.

In the present paper, cross antigenicity was examined by means of passive transfer-in vivo and -in vitro neutralization test as well as in vitro neutralization test by using PCA reaction in monkey and guinea pig, between rice pollen and other grass pollens including wheat, orchard grass, timothy, corn and pumpus grass pollens.

As a result, it was demonstrated that weak cross antigenicity exists between rice pollen and pollens of wheat, orchard grass and timothy, but none between rice pollen and corn pollen as well as pumpus grass pollen.

From these results, it seems reasonable to conclude that hypersensitivity to rice pollen found in asthmatic children could be attributable mainly to rice pollen itself which floats abundantly from late summer to early fall in Japan.
