

## オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体測定と共通抗原性

小笠原 寛<sup>1)</sup>・吉村 史郎<sup>2)</sup>・中原 聰<sup>3)</sup>  
藤谷 哲造<sup>4)</sup>・榎本 雅夫<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>兵庫医科大学耳鼻咽喉科学教室 〒663 西宮市武庫川町 1 - 1

<sup>2)</sup>市立芦屋病院耳鼻咽喉科 〒659 芦屋市朝日ヶ丘町39- 1

<sup>3)</sup>中原耳鼻咽喉科医院 〒663 西宮市上甲子園 4 - 3 - 2

<sup>4)</sup>藤谷耳鼻咽喉科医院 〒651 神戸市中央区琴緒町  
5 - 6 - 3

<sup>5)</sup>和歌山赤十字病院耳鼻咽喉科 〒640 和歌山市  
小松原通 4 - 1

(1992年11月16日受理)

### The Measurement of Specific IgE Antibody to *Alnus sieboldiana* Matsumura and Cross Allergenicity

Hiroshi OGASAWARA<sup>1)</sup>, Shiro YOSHIMURA<sup>2)</sup>, Toshi NAKAHARA<sup>3)</sup>,  
Tetuzo FUJITANI<sup>4)</sup> and Masao ENOMOTO<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Otolaryngology, Hyogo College of Medicine Mukogawa-cho 1-1,  
Nishinomiya 663, Japan

<sup>2)</sup>Department of Otolaryngology, Ashiya Municipal Hospital Asahigaoka-cho  
39-1, Ashiya 659, Japan

<sup>3)</sup>Nakahara ENT Clinic, Kamikosien 4-3-2, Nishinomiya 663, Japan

<sup>4)</sup>Fujitani ENT Clinic, Kotoo-cho 5-6-3, Chuo-ku, Kobe 651,  
Japan

<sup>5)</sup>Department of Otolaryngology, Wakayama Red Cross  
Hospital Komatubaratori 4-1, Wakayama  
640, Japan

Specific IgE antibody to *Alnus Sieboldiana* Matsumura (*Alnus s.*) and alder (*Alnus robur*) were measured by the use of liquid-phase enzyme immunoassay AlaSTAT system, and results were compared to those of skin test and RAST.

The sensitivity, specificity and correspondence rate of RAST to skin test was 48%, 100% and 89% respectively. The correspondence rate between AlaSTAT to *Alnus s.* and alder was 100% and that of RAST was 77%. A high cross-reactivity among the planting alder was proved by AlaSAT inhibition experiments. A cross allergenicity among the trees belonging to the Betulaceae (alder, birch, hazel) and Fagaceae (oak) were supported by results of AlaSTAT inhibition experiments and AST screening.

**key words:** *Alnus sieboldiana* Matsumura, Pollinosis, IgE antibody, Cross-reactivity.

## 緒 言

カバノキ科樹木はその花粉に強い抗原性を有し花粉症の主要原因花粉生産樹木のひとつである。さらにシラカンバ花粉には抗体産生のアジュバント作用があることから<sup>(1)</sup>花粉症増加の原因としても注目されている。西日本を中心に開発後の緑化や治山にハンノキ属樹木が頻繁に植栽され、ことに六甲山系ではオオバヤシャブシが多用されている。オオバヤシャブシ花粉症は1990年に中原ら<sup>(2)</sup>により初めて報告されたが、'91年の六甲山麓における春季花粉症疫学調査からオオバヤシャブシはスギ花粉症を複雑に修飾し<sup>(3)</sup>、患者調査から重篤な喘息や食物アレルギーの合併が高頻度に見られた<sup>(4)</sup>。このオオバヤシャブシ花粉症診断のためのアレルゲン検査として特異 IgE 抗体を RAST (radioallergosorbent test) と AlaSTAT で測定し、その測定系を確立するとともに、オオバヤシャブシ花粉と他の樹木花粉との共通抗原性を検討した。

## 対象および方法

### 1. 対象

1991年の疫学調査時の検診者143名と兵庫医科大学または市立芦屋病院を受診したオオバヤシャブシ花粉症患者8名を対象とした。

### 2. 皮膚テスト

オオバヤシャブシのアレルゲンエキスは、エーテル処理した花粉を Unger の D.P. 液で4℃72時間抽出し、50%グリセリン5%塩化ナトリウムにて1:20の重量/容量%に調製した。皮膚テストはスクラッチ法で行い、15分後に膨疹が対照の2倍以上または5mm以上を陽性とした。

### 3. RAST による特異 IgE 抗体の測定

血清 IgE 抗体検査は Pharmacia 社の RAST キットを用いた。項目はハンノキ属 (*Alnus incana*)、シラカンバ属 (*Betula verrucosa*)、ハシバミ属 (*Corylus avellana*)、オオバヤシャブシ、コナラ (*Quercus robur*)、スギで、既製品のないオオバヤシャブシは Pharmacia 社に依頼して作製したペーパーディスクを用いた。

### 4. AlaSTAT による特異 IgE 抗体の測定

日本DPCコーポレーション社で開発された AlaSTAT を用いて、オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体の測定を行った。対照血清は抗体陰性の臍帯血4例と健常者の15血清を用いた。オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体価の高い4血清を用いて馬血清で倍々希釈する希釈試験を行った。また AlaSTAT によるハンノキ属 (*Alnus rugosa*) 特異 IgE 抗体を測定し、RAST の結果と比較した。

### 5. 抑制試験

AlaSTAT を用いてオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体の抑制試験を行い共通抗原性を検討した。インヒビターとしてヤマハンノキ (*Alnus hirsuta* Turcz.)、ヒメヤシャブシ (*Alnus pendula* Matsumura.)、シラカンバ (*Betula platyphylla japonica*)、コナラ (*Quercus serrata* Thunb.)、クヌギ (*Quercus acutissima* Carr.)、スギ、ヒノキの花粉を用いた。各花粉0.5gをPBS10mlで24hr 振盪、抽出し、同 buffer で透析したものを抗原エキスとした。オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体陽性の17検体の血清50 $\mu$ lに抗原エキス10 $\mu$ lを加え室温で2時間反応させた後、吸光度の阻害率を測定した。阻害率はPBSを対照とした吸光度を100%とした時の吸光度の低下率で示した。なお抗原エキスのタンパク濃度はヒメヤシャブシ450 $\mu$ g/ml、ヤマハンノキ2000、シラカンバ320、コナラ6400、クヌギ2200、スギ530、ヒノキ250であった。

## 結 果

### 1. RAST によるオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体の測定

Table 1 に示すようにハンノキ属特異 IgE 抗体陽性の22例の検体を用いて、RAST 法でオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体を測定すると5例に抗体が検出されず、オオバヤシャブシとハンノキ属 RAST スコアの相関係数は0.71 ( $P < 0.01$ ) であった。

### 2. 皮膚テストと RAST の比較

オオバヤシャブシ抗原エキスによる皮膚テストとハンノキ属ならびにオオバヤシャブシ RAST の関係を Table 2 に示した。感度は皮膚テスト陽性例のなかで特異 IgE 抗体が陽性例の割合を示し、特異性は皮膚テスト陰性例で、特異 IgE 抗体も陰性例の割合を示す。一致率は皮膚テストと RAST の結果がと

Table 1. Correlation between AlaSTAT and RAST to *Alnus s.*

RAST	4					
score to	3	1	3			
2		8	4			
<i>Alnus s.</i>	1	1				
0		3	2			
		0	1	2	3	4

RAST to Alder  
r = 0.71 (p < 0.01)

$$\text{Correspondent} = \frac{0+17}{0+5+0+17} \times 100 = 77$$

AlaSTAT	4			2	8	
class to	3	2	6	9	3	
2		2	1			
<i>Alnus s.</i>	1	1	1			
0						
		0	1	2	3	4

AlaSTAT class to Alder  
r = 0.80 (p < 0.01)

$$\text{Correspondent} = \frac{0+31}{0+0+0+31} \times 100 = 100$$

AlaSTAT	4		3	3		
class to	3		4	1		
2	1	1	2			
<i>Alnus s.</i>	1	4	2			
0						
		0	1	2	3	4

RAST score to *Alnus s.*  
r = 0.88 (p < 0.01)

$$\text{Correspondent} = \frac{0+16}{5+0+0+16} \times 100 = 76$$

Table 2. Relationship between the skin test and in vitro test

RAST to Alder		
Positive	1	16
Negative	115	11
	Negative	Positive
	Skin test	

$$\text{Sensitivity} = \frac{16}{11+16} = 59\%$$

$$\text{Specificity} = \frac{115}{115+1} = 99\%$$

$$\text{Correspondent} = \frac{115+16}{1+115+16+11} = 92\%$$

RAST to <i>Alnus s.</i>		
positive	0	14
Negative	111	15
	Negative	Positive
	Skin test	

$$\text{Sensitivity} = \frac{14}{14+15} = 48\%$$

$$\text{Specificity} = \frac{111}{111+0} = 100\%$$

$$\text{Correspondent} = \frac{111+14}{0+111+14+15} = 89\%$$

もに陰性もしくは陽性であった例数の割合を示す。ハンノキ属 RAST では感度59%、特異性99%、一致率92%であり、オオバヤシャブシ RAST ではそれぞれ48%、100%、89%であった。

### 3. AlaSTAT によるオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体の測定

臍帯血血清4例と健常者血清15例ではオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体は全例 cut off 値 (0.35IU/ml) 以下であった。オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体が高値の4血清を用い、馬血清による希釈試験を行った結果、IgE 抗体はほぼ直線性に検出された (Fig. 1.)。RAST でハンノキ属に対する抗体が陽性の血清を用いて、AlaSTAT によるオオバヤシャブシとハンノキ属に対する特異 IgE 抗体を測定した。両者の IgE 抗体がともに陽性か陰性であった割合を一致率として示すと、Table 1 のように一致率100%で相関係数は0.80 (P < 0.01) であった。同様に RAST によるオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体測定結果は5検体が陰性で一致率77%であった。AlaSTAT と RAST によるオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体の測定結果は、AlaSTAT が高値となる傾向があり、一致率76%、相関係数0.88 (P < 0.01) であった。

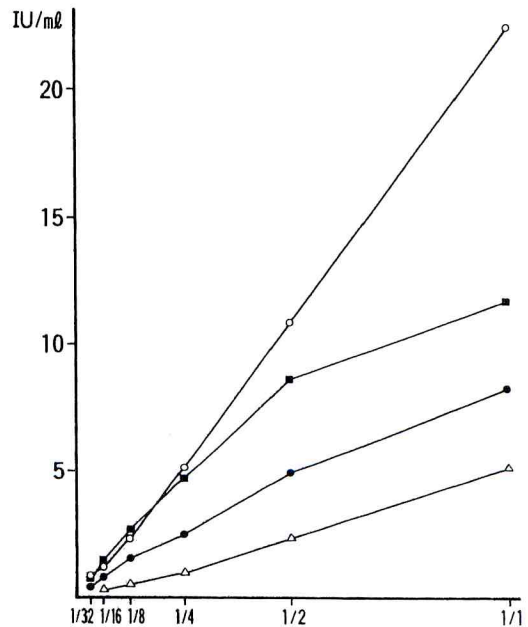


Fig. 1. A dose response curve of AlaSTAT to *Alnus sieboldiana* on 4 patients' sera.

## 4. 共通抗原性

RAST によるカバノキ科のハンノキ属, オオバヤシャブシ, シラカンバ属, ハシバミ属, ブナ科のコナラ属, スギの特異 IgE 抗体の測定結果を陽性 (スコア1以上) と陰性に分け, 各々の例数と相関係数を Table 3 に示した. カバノキ科間では高い相関がみられ, コナラとも相関がみられたが, スギとヒノキには認められなかった.

AlaSTAT によるオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体陽性の17検体を用いた抑制試験では, Table 4 に示すようにヒメヤシャブシ, ヤマハンノキで阻害率は平均99.7%, 98.5%で, シラカンバで84.2%, コナラとクヌギでは各々61.2%, 61.8%であった. スギとヒノキによる阻害率はそれぞれ1.9%と0.9%であった.

Table 3. Correlation between RAST results with various pollen. The table is symmetrical. The upper right consists of 2×2 tables. The lower left gives correlation coefficients.

	Alder	<u>Alnus s.</u>		Birch		Hazel		Oak		J. cedar	
		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Alder	-	0	0	0	0	0	0	0	0	136	30
	+	5	17	1	11	3	9	7	5	6	21
<u>Alnus s.</u>	0.71 P<0.01	-	1	1	2	0	2	0	130	30	
		+	0	11	1	10	5	6	2	15	
Birch	0.73 P<0.01	0.55		-	1	0	1	0	1	0	
			+	+	2	11	6	7	4	9	
Hazel	0.85 P<0.001	0.93 P<0.001	0.55 P<0.05		-	3	0	3	0		
				+	+	4	7	2	9		
Oak	0.31	0.91 P<0.001	0.42	0.90 P<0.001		-	4	3	4	3	
					+	+	1	6			
J. cedar	-0.04	-0.06	0.63	0.52	0.26		-				
						+	+				

Table 4. Inhibition of *Alnus s.* pollen AlaSTAT with seven species of pollen on 17 patients' sera

pollen	range %	mean±SD
<u>Alnus pendula</u>	98.5-100	99.7±0.4
<u>Alnus hirsuta</u>	91.1-100	98.5±2.4
<u>Betula verrucosa</u>	51.5-99.4	84.2±14.4
<u>Quercus serrata</u>	6.4-92.5	61.2±27.0
<u>Quercus acutissima</u>	7.1-94.7	61.8±26.4
<u>Cryptomeria japonica</u>	0-9.4	1.9±2.9
<u>Cupressaceae</u>	0-7.5	0.9±2.1

## 考 察

特異 IgE 抗体の測定には1967年に RAST が開発され広く用いられてきたが、最近はより簡便で迅速に測定でき、アレルゲン結合量が多く、感度が高く、しかも特異性の高い測定方法が開発されている。AlaSTAT は非特異 IgE 抗体や遮断抗体の影響なしに、特異 IgE 抗体の絶対量が測定可能で、皮膚試験や RAST との相関も高い液相免疫測定法である。また AlaSTAT では75IU/mlと RAST の17.5PRU/ml よりもはるかに高い濃度まで測定が可能である<sup>(6)</sup>。今回の希釈試験の結果も22.3IU/mlまで直線性が認められており、馬血清による希釈の影響なしに正確に測定できることが確認された。本法によるオオバヤシャブシとハンノキ属の特異 IgE 抗体の測定結果は相関係数0.80であった。RAST では両者の相関係数は0.71で、5検体がオオバヤシャブシの特異 IgE 抗体が測定限界以下であった。六甲山麓ではハンノキ属花粉飛散総数の約95%はオオバヤシャブシで、残りがヤマハンノキ、ヒメシャブシで他の花粉はみられないことから、この5検体は他の花粉の影響を受け難く、結果は RAST の検出感度が低いためと考えられ、AlaSTATがより信頼性が高いといえる。

皮膚テストと RAST によるオオバヤシャブシとハンノキ属の検査結果の一致率はそれぞれ89.3%、92.3%と高く、特異性が100%、99.1%であるのに対し、感度は48.3%、69.3%と低くなった。この感度はダニ、家塵、ネコ上皮、イヌ上皮、牛乳、カモガヤ、スギ、ブタクサ、アスペルギルス、アルテルナリアの平均値が77%であるのに対して、卵白やヨモギでは低値を示す報告もある<sup>(6)</sup>。オオバヤシャブシで皮膚テストが RAST よりも陽性率が高いのは、皮膚テストの特異性に問題があることも推測されるが、血清抗体価だけで花粉症を診断するには慎重を要する。

樹木花粉間には共通抗原性があることが知られており、皮膚テストや免疫拡散法、抑制試験の結果からカバノキ科の属間の共通抗原性が報告されている<sup>(6,7)</sup>。AlaSTAT による抑制試験ではオオバヤシャブシ特異 IgE 抗体はヒメシャブシとヤマハンノキの抗原エキスを添加によりほぼ100%吸収され、またオオバヤシャブシとハンノキ属特異 IgE 抗体値は高い相関を示し、オオバヤシャブシ花粉症はハンノキ属花粉症として捉えることができた。またシラカンバ花粉エキスでも抗体吸収がみられ、オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体値

はシラカンバ属とハシバミ属に対して有意の相関がみられたが、六甲山系にはシラカンバやハシバミ属は自生していないことから、属間の共通抗原性も示唆された。さらにブナ目ブナ科とカバノキ科との共通抗原性を示唆する報告もあり<sup>(6,8)</sup>、我々の行った抑制試験結果からも17検体中5検体がコナラ、クヌギで80%以上の抑制を示しており、RAST の相関もみられることから共通抗原性が示唆された。コナラ属クヌギとコナラによるそれぞれのオオバヤシャブシに対する抗体の抑制率は非常によく近似しており、相関係数は0.98 ( $P<0.001$ ) でほぼ類似した抗原性が示唆された。スギやヒノキとカバノキ科間では抑制試験でほとんど抑制が認められず、RAST も相関しないことから共通抗原性はないものと考えられた。

オオバヤシャブシ特異 IgE 抗体はブナ目の多くに、特に近縁種ほど強く反応することが明らかになった。西日本はブナ目を中心とする照葉樹林であるため、オオバヤシャブシ植栽地を共通抗原性のない樹種に代えることは難しい。幸いコナラ花粉は抗原性が弱く、花粉症の発生も少ないと報告されている<sup>(9)</sup>。今後、共通抗原の働きや臨床病態を詳細に検討し、樹種選択の範囲を広げることが必要である。

## 要 約

オオバヤシャブシとハンノキ属に対する特異 IgE 抗体を液相酵素抗体法による AlaSTAT で測定し、皮膚テストと RAST の結果と比較した。皮膚テストと RAST による特異 IgE 抗体の関係では感度は48%、特異性100%、一致率89%であった。オオバヤシャブシとハンノキ属に対する抗体測定では AlaSTAT の一致率は100%であったが、RAST では77%であった。AlaSTAT による抑制試験の結果、植栽されているハンノキ属間では緊密な共通抗原性がみられ、カバノキ科（ハンノキ属、シラカンバ属、ハシバミ属）とブナ科（コナラ属）の種々の樹木間の共通抗原性も推察された。

## 謝 辞

シラカンバ花粉を提供していただいた東邦大学薬学部、佐橋紀男先生と AlaSTAT による測定の便宜をいただいた日本DPCコーポレーション社に深謝いたします。

## 引用文献

- 1) Strannegard, O.: Adjuvant effect of birch pollen on antibody production. *Int. Arch. Allergy* **47**, 14-22 (1974).
  - 2) 中原 聰・芦田恒雄・衛藤幸男・吉川恒男・井手武・田端司郎: オオバヤシヤブシ花粉症の1例とその疫学調査. *アレルギー* **39**, 104-109 (1990).
  - 3) 小笠原寛・雲井健雄・魚本雄二郎・吉村史郎・藤谷哲造・中原 聰・稲守 徹: ヤシヤブシ花粉症の実態調査. *神緑会学術誌* **8**, 107-108 (1992).
  - 4) 小笠原寛・吉村史郎・魚本雄二郎・藤谷哲造・中原 聰: 兵庫県の花粉症, ヤシヤブシ (ハンノキ) 花粉症の発生地区と重篤な症状. *兵庫県医師会医学誌* **35**, 33-36 (1992).
  - 5) 伊藤幸治・宮本昭正・牧野荘平・福田 健・九嶋敦 他: 新しい IgE 抗体測定法, AlaSTAT の有用性の検討. *アレルギー* **40**, 444-453 (1991).
  - 6) Eriksson, N.E., Wihl, J.A., Arredal, H. and Stradhede, S.O.: Tree pollen allergy. III. Cross reaction based on results from skin tests and the RAST in hay fever patients. A multi-centre study. *Allergy* **42**, 205-214 (1987).
  - 7) Ipsen, H., Bowadt, H., Janniche, H., et al.: Immunochemical characterization of reference alder (*Alnus glutinosa*) and hazel (*Corylus avellana*) pollen extracts and the partial immunochemical identity between the major allergens of alder, birch and hazel pollens. *Allergy* **40**, 510-518 (1985).
  - 8) Van Dalen, G. and Voorhorst, R.: Allergen community in pollen from certain tree species. *Ann. Allergy* **46**, 276-278 (1981).
  - 9) 降矢和夫: コナラ花粉症. *アレルギーの臨床* No.22, 21-23 (1983).
-