

# 共通抗原性アレルゲン種の計測とその生体影響に関する評価研究

プロジェクト代表者：王 青 躍（理工学研究科 環境科学・社会基盤部門・准教授）

## 1 研究の背景と目的

花粉症とは季節性アレルギー性鼻炎または結膜炎と呼ばれる花粉が原因の疾患である。スギ花粉症の罹患人口は 1980 年代から年々増加傾向にあり、国内で最も罹患人口の多い疾患の 1 つとなっている。2008 年、26%以上の国民がスギ花粉症を発症しており、特に関東地方においてはスギ花粉症の有病率が 39.6%と全国平均を遥かに上回るため<sup>1)</sup>、大気汚染物質の影響が懸念される。

スギ花粉症に関する調査では、日本国民の 2008 年における有病率が 29.8%にのぼる国民的な疾患と言われている。花粉症の原因物質は花粉に含まれるアレルゲンであり、飛散数の報告はあるがアレルゲンとしての飛散量は報告されていないのが現状である。スギ花粉主要なアレルゲンは Cryj1 と呼ばれ、スギ花粉に次ぐ花粉症の原因であるヒノキ花粉主要アレルゲン Cha o1 で、アミノ酸構造が Cryj1 と約 80%類似している<sup>2)</sup>。そのため共通抗原性を示すことが報告されており、Cha o1 が原因物質となりスギ花粉症患者が花粉症症状を発症してしまうことが報告されている<sup>3)</sup>。したがってスギ花粉症患者は、スギ花粉だけでなく、ヒノキ花粉の飛散情報も不可欠であり、かつアレルゲンとしての飛散情報も重要である。そこで、本研究ではスギおよびヒノキ花粉飛散時における大気浮遊粒子状物質 (SPM) を捕集し、既存の Cryj1 測定方法を活用して Cryj1 との共通抗原性をもつ花粉アレルゲンの簡便な測定を試みた。さらに、それらの生体影響の大きいアレルゲンの粒径別挙動を明らかにした。

## 2 実験方法

SPM 試料の捕集は埼玉大学国道 463 号沿いおよび総合研究棟 10 階の 2 点で行った。期間は 2012 年 4 月 2 日 (月) ~5 月 1 日 (火) である。飛散花粉は Durham 型花粉捕集器を用いて 24 時間捕集し、SPM 試料はアンダーセンハイポリウムエアサンプラー (AHV。流量; 566 l/min) を用いて 167 h 捕集した。気象データは気象庁の提供するデータを用いた<sup>4)</sup>。AHV は多孔ジェットノズルを用いたステージと石英繊維の捕集紙が重なった構造を持っている。そのため、SPM 試料を AHV によって、粒径別 (1 段目; 7.0  $\mu\text{m}$  以上、2 段目; 3.3~7.0  $\mu\text{m}$ 、3 段目; 2.0~3.3  $\mu\text{m}$ 、4 段目; 1.1~2.0  $\mu\text{m}$ 、5 段目; 1.1  $\mu\text{m}$  以下) に捕集した。

Durham 型花粉捕集器は重力沈降を利用した装置であり、国内では最も多く使用されている方法である。綿棒を用いて薄くワセリンを塗ったスライドガラスを設置し、大気中に飛散する花粉を 24 時間捕集する。その後スライドガラスを回収し、スライドの花弁捕集部を花粉染色液 (Phöbus Blackly 変色液) で染色し、その後飛散花粉をスギ花粉、ヒノキ花粉およびその他の花粉と区別し光学顕微鏡を用いて花粉数を計測した。さらに、計測した花粉数を個/cm<sup>2</sup>に換算した。

アンダーセンハイポリウムエアサンプラーにより大気試料を捕集したフィルターをポンチによりくり抜いた。さらに段毎のくり抜いたフィルター面積を揃えるため、1-4 段目は 8 mm $\phi$ ×30 枚、5 段目は 47 mm $\phi$ ×1 枚くりき、その後フィルターをタンパク質抽出液 (0.125 M NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>、150 mM NaCl、3 mM EDTA、0.005 wt% Tween 20、10 mM HEPES 緩衝液の混合液) 3 mL とともに遠沈管に入れ、4 °C で 24 時間静置することでフィルターからアレルゲンを抽出した。抽出液中のアレルゲン濃度は、表面プラズモン共鳴法 (SPR) 法を利用した BiacoreJ (GE Healthcare 製) を用いて測定した。Cryj1 マウスモノクローナル抗体 (013) を用いて大気中 Cryj1 濃度を、また Cryj1 ポリクローナル抗体を用いて Cryj1 および Cryj1 と共通抗原性をもつ花粉アレルゲン濃度を測定し、それぞれで測定したアレルゲン濃度の差を Cryj1 との共通抗原性をもつアレルゲン濃度とした。抽出液中のアレルゲン濃度の測定後、くり抜いたフィルター面積や抽出液量、サンプラーの吸引量から大気中アレルゲン濃度を換算した。

### 3 研究の成果

本研究では、2012 年度のスギおよびヒノキ花粉飛散時期における Cry j 1 との共通抗原性をもつアレルゲン濃度の測定を行った。4 月 4 日からの期間では気温が高く降水もなく、飛散源である群馬からの風が多かったため飛散花粉数が多くなり、アレルゲンも高濃度となった。4 月 11 日の期間では、期間中最も降水量が多く気温も高く飛散花粉数も多かったが総研棟 10 階ではほとんどアレルゲン濃度が観測されなかった。しかし、国道沿いでは Cry j 1 と共通抗原性をもつ花粉アレルゲン濃度のみ観測された。4 月 18 日および 4 月 25 日からの期間では、スギ花粉およびヒノキ花粉は飛散終了に近付いていたが、その他の花粉の飛散数が増えていた。Cry j 1 との共通抗原性をもつ花粉アレルゲン濃度のみ観測された期間は、スギ花粉アレルゲン Cry j 2 や Cry j 1 との共通抗原性をもつその他の花粉の影響が大きいことが予想される。

総研棟 10 階および国道沿いでのアレルゲン濃度を比較すると、国道沿いにおいて高濃度の大気中アレルゲン濃度を観測した。これは先行研究で報告されているように、自動車走行により地面に沈降した花粉が微小化し、ユービッシュ小体が剥離・溶出され、アレルゲン含有粒子が微小粒径へ

移行しているという報告と一致した<sup>5)</sup>。さらに、Cry j 1 との共通抗原性をもつ花粉アレルゲン濃度の粒径別挙動を見ると、粒径 3.3~7.0 μm および 3.3~7.0 μm のアレルゲン濃度が高濃度で、Cry j 1 での粒径 7.0 μm 以上および 1.1 μm 以下でのアレルゲン濃度が高濃度になったという過去の調査と異なる報告が得られた。また、Cry j 1 に次ぐスギ花粉主要なアレルゲンである Cry j 2 では、AHV の各粒径範囲にアレルゲン濃度が観測されており、Cry j 1 との共通抗原性をもつアレルゲンに関して、Cry j 1 とは別の挙動を示していることを確認した。しかし、Cry j 1 との共通抗原性をもつ花粉アレルゲンについてもスギ花粉と同様に微小粒径範囲へアレルゲン含有粒子が移行している可能性を示唆した。微小粒子は下気道に侵入して喘息や花粉症症状の悪化など、生体への影響を及ぼす可能性が高い。したがって、花粉症患者にとって、全ての飛散花粉数のみならず、その共通抗原性アレルゲンとしての飛散情報の提供も求められている。

#### 参考文献

- 1) 村山貢司ら、スギ花粉症有病率の地域差について、アレルギー, **59**, 47-54 (2010).
- 2) Motohiko Suzuki et al., *Molecular Immunology*, **33**, 451-460 (1996).
- 3) 岸川禮子ら、日本アレルギー学会, **50**(4), 369-378 (2001).
- 4) 気象庁(2013.01.25 閲覧) ; <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>
- 5) Wang, Q., Morita, J., Gong, X., Nakamura, S., Suzuki, M., Lu, S., Sekiguchi, K., Nakajima, T., Nakajima, D., Miwa, M., Characterization of the physical form of allergenic Cry j 1 in the urban atmosphere and determination of Cry j 1 denaturation by air pollutants, *Asian Journal of Atmospheric Environment*, **6**(1), 33-40 (2012).

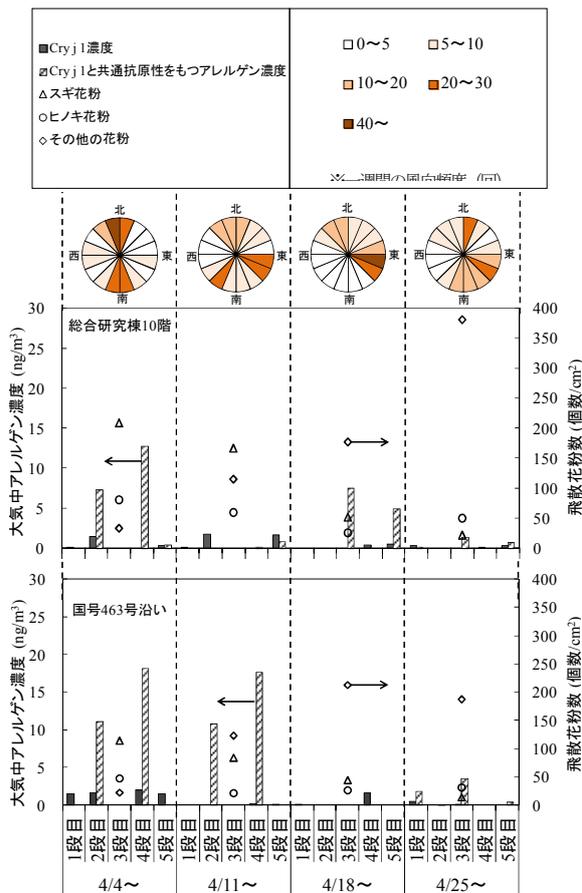


図1. Cry j 1 および Cry j 1 との共通抗原性をもつ花粉アレルゲン濃度、飛散花粉数および風向  
 ※1 段目:7.0 μm~, 2 段目:3.3~7.0 μm, 3 段目:2.0~3.3 μm, 4 段目:1.1~2.0 μm, 5 段目:1.1 μm 以下