

THE CHEMICAL TIMES

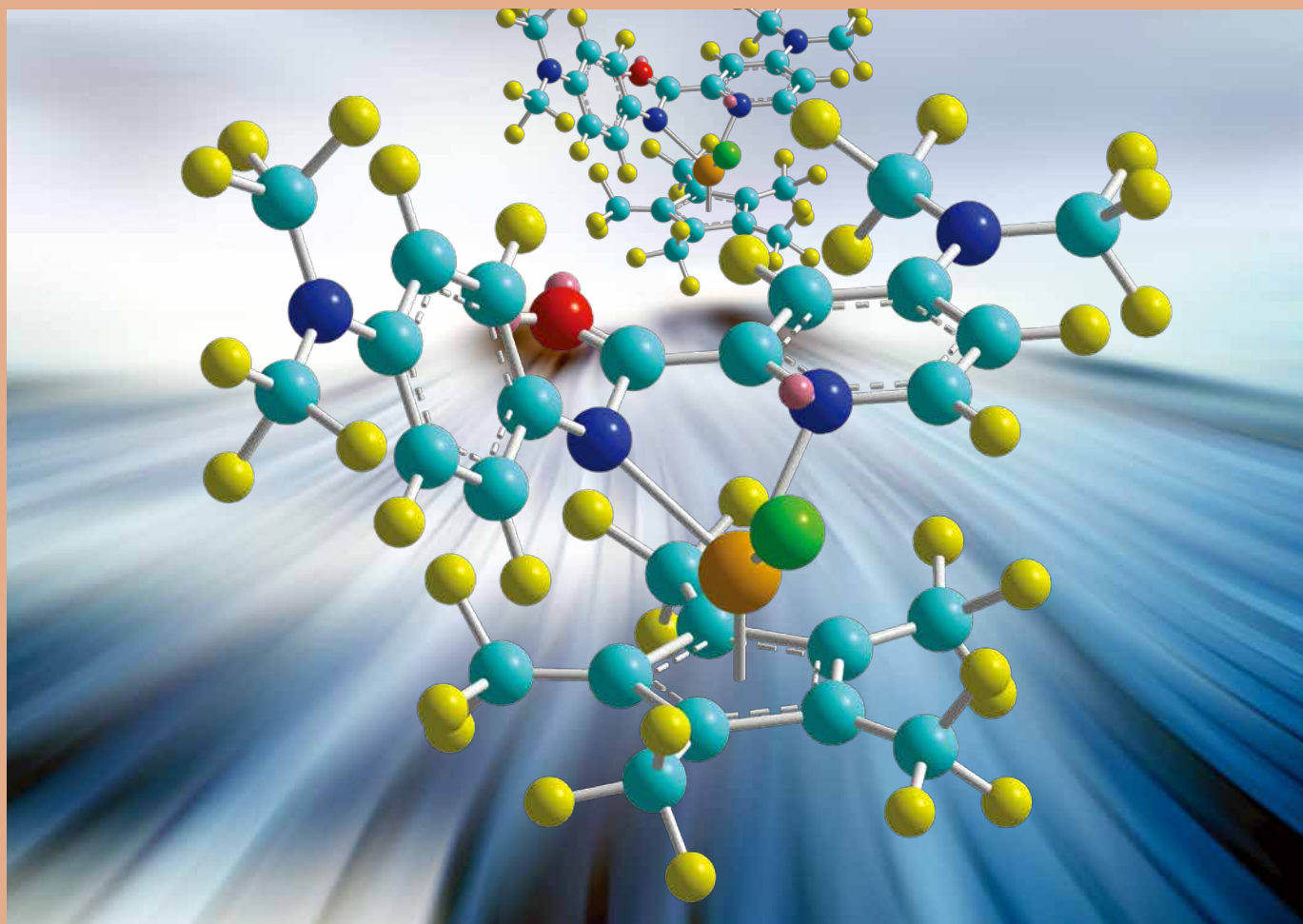
2017 No.1 (通巻243号)

ISSN 0285-2446

特集

免疫 / アレルギー

- 食物アレルギーに対する早期介入 ————— 柳田 紀之 03
海老澤 元宏
- 日本家屋のハウスダストに含まれるダニアレルゲンの変遷 ————— 嶋田 貴志 08
安枝 浩
- 室内アレルゲンの測定法 ————— 白井 秀治 12
阪口 雅弘
- 小児アレルギー性鼻炎診断の問題点とその克服の意義 ————— 松根 彰志 18
- トピックス 止血作用を持つ植物由来物質 ————— 大藏 直樹 22





新年を迎えて

代表取締役社長 野澤 学

新年あけましておめでとうございます。

「THE CHEMICAL TIMES」の読者の皆様におかれましてはつつがなく良い新年を迎えられたこととお慶び申し上げます。

昨年のリオデジャネイロ五輪では、日本は史上最多の41個のメダルを獲得しました。特に陸上男子400メートルリレーの銀メダルの快挙には驚きました。その勝因として、バトンリレーの効率と精度をとことん突き詰めて、個々の実力を存分に引き出したことがあげられます。日本が得意とするチームワークの勝利で日本の強さの“源泉”になっていると感じました。

さらに、秋には東京工業大学栄誉教授の大隅良典先生がノーベル生理学医学賞を受賞されました。受賞に対して研究をサポートする試薬メーカーの立場から心より祝福申し上げたいと思います。大隅先生はメディアのインタビューにおいて、『基礎研究の大切さ』を何度も訴えられていました。最近アカデミア等における研究は、早い段階で企業と協力し即座に産業応用に進んで行く研究方式も増えています。国際競争に勝つメソッドとして効率的ですが、科学技術創造立国を目指す

日本においては、アカデミアの研究者の自由な発想による探究心からの研究の源泉を枯渇させてはならない、との未来へのメッセージに思えました。多くの基礎研究の源泉は濾過され、多様な成果として安定した知的資源となり、それが日本のモノづくりの“源泉”となる様に、私ども試薬メーカーとしても期待に応えられるモノづくりを目指して鋭意努力して参りたいと思います。

さて、本誌は1950年の創刊以来、今号で243号となりました。昨年1月発行の239号より発行号毎に特集テーマを定めるなど大幅な刷新を行い、読者の皆様により興味を持って読んでいただけるようさまざまな見直しを行いました。当社のホームページには本誌のバックナンバーを第1号から掲載しており、1950年当時の研究成果や科学の発展に伴って試薬の品揃えや規格の変遷を感じ取る事が出来、感慨深いものがあります。今後も本誌のより一層の充実を図って参りますので、相変わらぬご指導、ご鞭撻の程何卒宜しくお願い申し上げます。

この一年が皆様にとって光輝に満ちた幸多い年であります様に祈念しております。

食物アレルギーに対する早期介入

Early intervention of food allergy

国立病院機構相模原病院小児科 医長 柳田 紀之

Noriyuki Yangida (Chief Department of Pediatrics)
Department of Pediatrics, Sagami National Hospital, Kanagawa, Japan

国立病院機構相模原病院臨床研究センター アレルギー性疾患研究部 部長 海老澤 元宏

Motohiro Ebisawa (Director)
Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, Sagami National Hospital, Kanagawa, Japan



キーワード

発症予防、早期介入、食物経口負荷試験、経口免疫療法、食物アレルギー、少量

01 はじめに

食物アレルギーの有病率は増加傾向にあり、食物アレルギーに対する発症予防と早期対応は重要性を増している。アレルギーの発症予防、早期対応については、食物アレルギーの発症予防、すでに発症した食物アレルギーへの早期介入、重症例への治療介入の3つに分けられる。それぞれの方法と効果について、最新の文献的な検討も加えて解説する。

02 食物アレルギーの発症予防

離乳食の開始時期に関する研究

Pekinらは一般集団を対象に1303人の完全母乳栄養児に対して鶏卵、牛乳、小麦、ピーナッツ、ごま、魚の6抗原を一定の摂取頻度と蛋白量で3ヶ月から摂取する群と6ヶ月から自由に摂取する群の2群に分け、1～3歳までの食物アレルギーの有無を評価した¹⁾。この研究では、Intention-to-treat解析では差がなかったが、Per-protocol解析ではピーナッツアレルギー発症の割合は早期摂取群310名中0名(0%)に対して、対照群では525名中13名(2.5%)、鶏卵では早期摂取群1.4%、対照群5.5%で差は有意であった。早期摂取群のプロトコル遵守率は42.8%と対照群の92.6%に比べて低いため、早期摂取が食物アレルギーを予防するかどうかについてはさらなる研究が必要であるが、少なくとも離乳食の開始時期を遅らせることが、食物アレルギー発症を予防する効果はないことは明らかである。

早期の導入による食物アレルギー発症予防効果

2015年にLackらのグループから継続的なピーナッツの摂取によりピーナッツアレルギーの発症を予防できることが報告

され²⁾、今後、この結果を元に世界各国のガイドラインが大きく変更される予定である。この研究ではピーナッツアレルギーを発症するリスクが高いと考えられる重症の湿疹か卵アレルギーのある生後4～10カ月の乳児640人をランダムにピーナッツ除去群とピーナッツ摂取群に分けた。5歳時点でのピーナッツアレルギーの頻度は研究開始時に皮膚テストが陰性の患者ではピーナッツ除去群で13.7%、ピーナッツ摂取群で1.9%であり、皮膚テストが陽性の患者ではピーナッツ除去群で35.3%、ピーナッツ摂取群で10.6%であった(図1)。全体では除去群で17.2%、摂取群で3.2%であった。

Intention-to-Treat解析

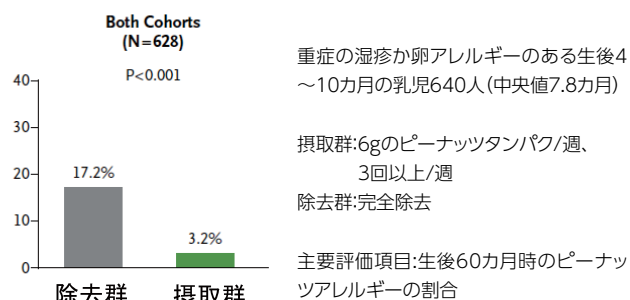
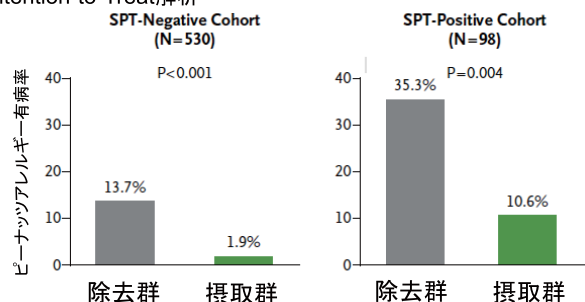


図1 ピーナッツアレルギー発症リスクがある乳児におけるピーナッツ摂取に関するランダム化比較試験

G. Dv Toit et al. New England J Med 2015, 372,803-13

さらに、同意が得られた除去群282名、摂取群274名を対象に1年間除去してピーナッツアレルギーの有無を検討しても、18.6%対4.8%で結果は変わらなかった³⁾。また、ピーナッツ摂取の介入による栄養学的な悪影響はなかったことも報告されている⁴⁾。

鶏卵に対する同様の研究では鶏卵アレルギーの発症リスクが高い乳児に対して、4～8ヶ月から生卵の粉末を指示された摂取群は33%、除去を指示された対照群は51%が鶏卵のアレルギーを発症した(有意差なし)。この研究では、摂取を指示された群の31%に重篤な反応が起こるなどして早期に中止された⁵⁾。この対象では4カ月の時点で多くがすでに鶏卵アレルギーを発症していた。また、D. E. Campbellらのグループ(BEAT Study Group)は皮膚テストで卵白への反応が2mm未満の4ヶ月児319名を全卵粉末350mgを食べる群165名とプラセボの米の粉末を食べる154名の乳児の二群に分けて、12ヶ月時の皮膚テストで3mm以上である割合を比較した⁶⁾。その結果、開始時に皮膚テストで2mm未満にもかかわらず、14名の児が開始1週間以内に卵の粉末に反応し、脱落した。12ヶ月時の卵白への感作の割合はプラセボ20%、卵の粉末11%で介入部分有意($p=0.03$)に感作の割合が低かった。しかし、卵アレルギーと確定診断された割合はプラセボ13例、卵粉末8例と差はなかった。この研究でも前の研究と同様に4ヶ月の時点で鶏卵アレルギーが成立している患者が一定数存在した。このように、食物の早期導入により一定の予防効果は期待できるが、食物アレルギーの発症予防には限界もあることに注意が必要である。

03 | 発症した食物アレルギーへの早期介入

即時型食物アレルギー児であっても、少量であれば摂取できる症例は多い⁷⁾。総負荷量を少量に設定した食物経口負荷試験を行い、陰性を確認した後に積極的に摂取を進めると、約半数の症例では1年以内により多い量を摂取できるようになる^{8, 9)}。ここでは、主に低年齢のすでに発症した食物アレルギー児に対する早期介入として、食物経口負荷試験に基づく原因食物の摂取とその予後について論じる。

少量が摂取できることの意義

近年、総負荷量を少量に設定した食物経口負荷試験の有用性が報告されている⁷⁻¹⁰⁾。少量の負荷試験で陰性を確認した後に段階的に負荷試験を行なう試みがなされている(表1)。

表1 段階的な食物経口負荷試験

総負荷量	鶏卵	牛乳	小麦	ピーナッツ
少量	加熱全卵 1/32個相当 (194mg)	牛乳 3ml相当 (102mg)	うどん 2g(52mg)	ピーナッツ0.5g (133mg)
中等量	全卵1/2個相当 (3100mg)	牛乳 25ml相当 (850mg)	うどん 15g(390mg)	ピーナッツ 3g(795mg)
大量	全卵1個相当 (6200mg)	牛乳 200ml (6800mg)	うどん200g/ パン1枚 (5200mg)	ピーナッツ 10g(2650mg)

(蛋白量)

Modified from Yanagida et al. Allergol Int. 2016; 65: 135-40.

少ない量でも、アレルギーとなる食品を摂取できるようになると、誤食の不安が軽減する¹⁰⁾。例えば、牛乳アレルギー児の多く(86%)はバター(蛋白量で牛乳3mlに相当)を摂取でき大幅な生活の質(Quality of life: QOL)改善につながる(図2)。

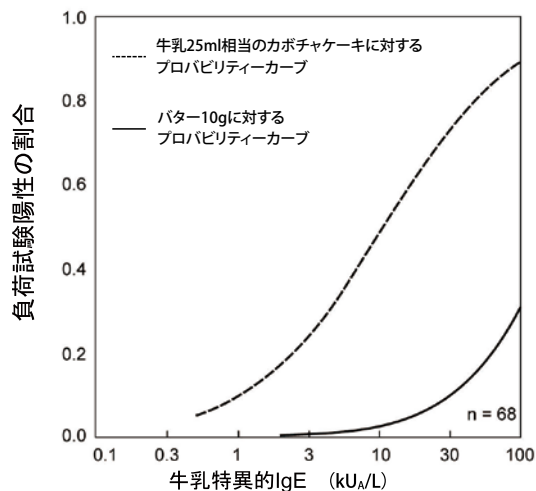


図2 バターに対する耐性獲得

Yanagida et.al Allergy Asthma Immunol Res. 2015; 7: 186-9.

少量に対する食物経口負荷試験

総負荷量を日常摂取量(鶏卵1個、牛乳200ml、6枚切れ食パン1枚など)に設定した食物経口負荷試験に比べ、総負荷量を少量に設定した食物経口負荷試験の陽性率は低く、特に特異的IgE値が高い場合にその傾向は顕著である(図2、図3)。

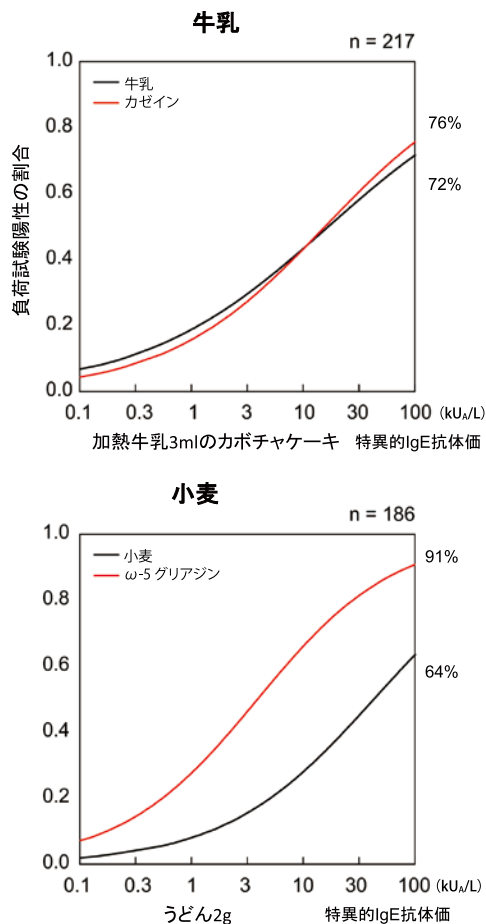


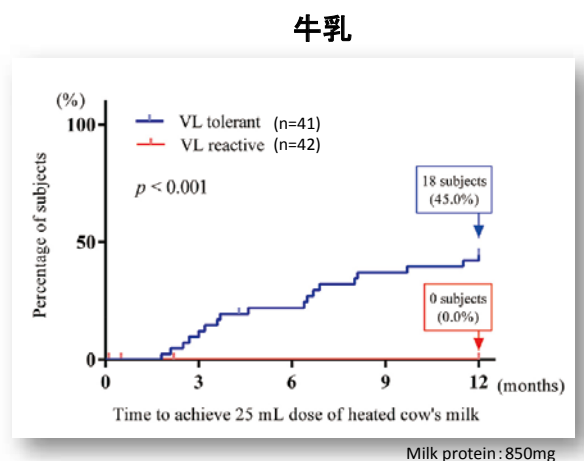
図3 少量に対するプロパビリティーカーブ

Modified from Yanagida et al. Allergol Int. 2016; 65: 135-40.

このため、特異的IgE値が高い症例や即時型症状の既往が明らかな例などにはこういった食物経口負荷試験を用いることで、食物経口負荷試験による症状誘発のリスクを軽減することが出来ると考えられる。

少量に対する食物経口負荷試験と予後

少量(牛乳3ml、うどん2g)が摂取できた即時型食物アレルギー児の約半数が1年後には中等量(牛乳25ml、うどん15g)を摂取できることが明らかになっている^{8,9)}(図4)。



VL: Very Low Dose

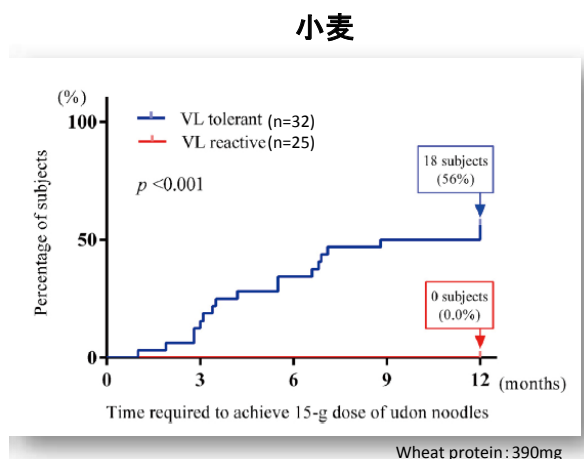


図4 少量を目標量とする負荷試験を用いたより良い管理方法
Okada et al. Allergol Int. 2015

すなわち多くの患者で少量の摂取を確認し、安全に摂取できることを確認された量を日常的に摂取することで、その後のもっと多い量に対する耐性獲得を誘導できる可能性がある。ただし、自宅で摂取する量を漸増する場合には、症状誘発のリスクを考慮し、経口免疫療法に準じた配慮が必要になるため、経口免疫療法の経験が豊富な限られた医療機関で行なうべきと考えられる。

04 | 重症例への治療介入

少量の食物経口負荷試験に反応する症例に対して、上記の発症した食物アレルギーへの早期介入を行なうのは困難である。ここでは経口免疫療法の安全性と効果について論じる。

経口免疫療法の利点と欠点

こういった、症状誘発閾値が低い症例に対しては専門医療機関による経口免疫療法の有用性が報告されている¹¹⁾。しかし、長期間の治療が必要であり、症状が誘発されることもまれではない。特に抗原特異的IgE値が高いまたは頻回のアナフィラキシー歴があるようなハイリスク例では経口免疫療法中の副反応が大きな問題となる。

最新の経口免疫療法と効果の比較

経口免疫療法の副反応を軽減し、治療効果をも高めるために経皮免疫療法¹²⁾、舌下免疫療法¹³⁾、オマリズマブ併用での経口免疫療法¹⁴⁾など、様々な新しいアプローチがされている。オマリズマブ併用での経口免疫療法は副反応を軽減させるものの、治療効果に差はないと報告されている¹⁴⁾。牛乳アレルギーに対する経口免疫療法の量と効果の関係について図5に示す。対照群との比較では、経口免疫療法は対照群に比較して有効である。治療効果と副反応の関係について、図6にまとめた。一般に投与量が多いほど治療効果も高いとされるが、副反応も多い。このように、副反応の頻度と有効性を考慮の上で治療方法を選択することが望ましい。

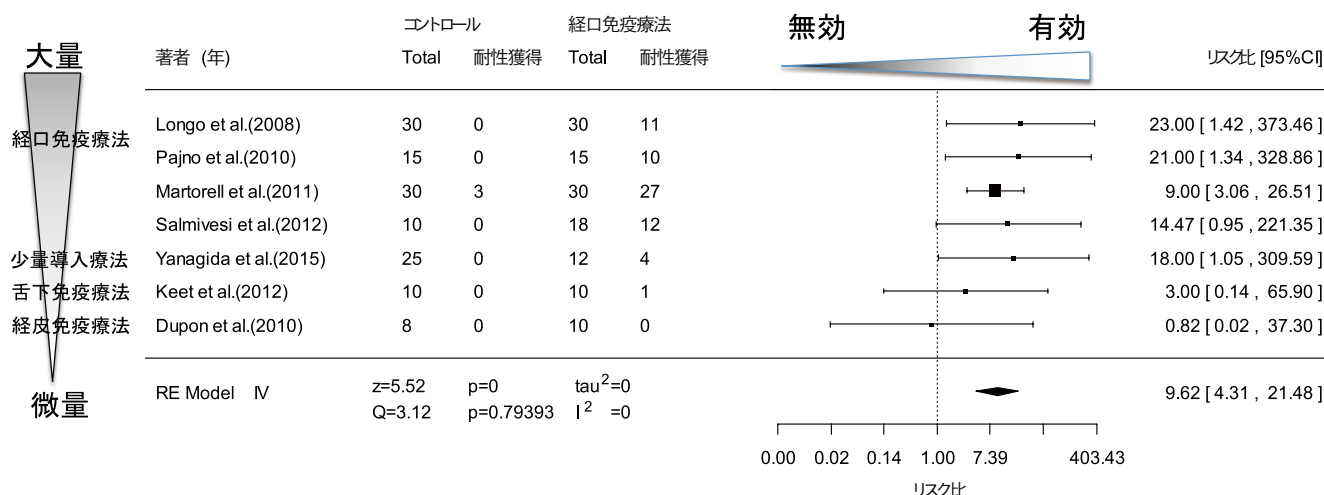


図5 牛乳に対する経口免疫療法の摂取量と効果の関係 Yanagida et.al Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2016 Tableを改変

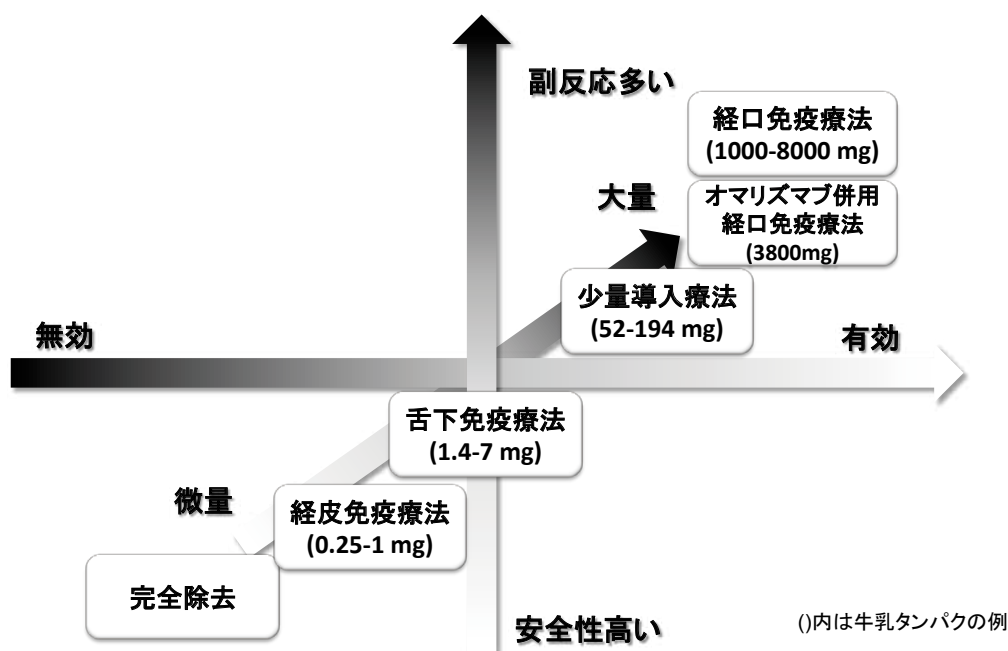


図6 重症食物アレルギー児への経口免疫療法の効果と副反応
Modified from Yanagida et.al Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2016

少量に対する経口免疫療法

当院では5歳以上で少量の食物経口負荷試験に反応する症例や重篤なアナフィラキシー例などのハイリスク例に従来よりも目標量を少量に設定した経口免疫療法(少量導入経口免疫療法)を行い(図7)、比較的安全に施行できていることを報告している¹⁵⁾。特に牛乳の経口免疫療法は他の鶏卵、小麦に比べて治療成績が良くないことが報告されているが¹⁶⁾、少量導入経口免疫療法は牛乳においても比較的安全に施行でき、かつ有用であった¹⁵⁾。これまでの報告に比べて、脱落例が非常に少ないのも特徴である。少量をとり続けることで多くは中等量も安全に摂取できるようになっており(図8)、免疫学的な変化も誘導されることが明らかになった。鶏卵も同様の結果を報告しており¹⁷⁾、少量導入経口免疫療法は特に重症例に対しての治療として期待される。また、アメリカからの報告ではピーナッツに対しては3歳以下の低年齢を対象に経口免疫療法の目標量を300mg群と3000mg群に無作為に振り分けて、4週間の完

全除去後のピーナッツ5gに対する負荷試験が陰性の割合を検討されているが、300mg群は85%(17/20)、3000mg群は78%(29/37)と摂取する量が少なくても、有効であることが明らかになっている¹⁸⁾。このように、経口免疫療法に関しては必ずしも大量に摂取しなくても耐性を誘導できる可能性があるため、安全に留意して目標量を設定すべきである。

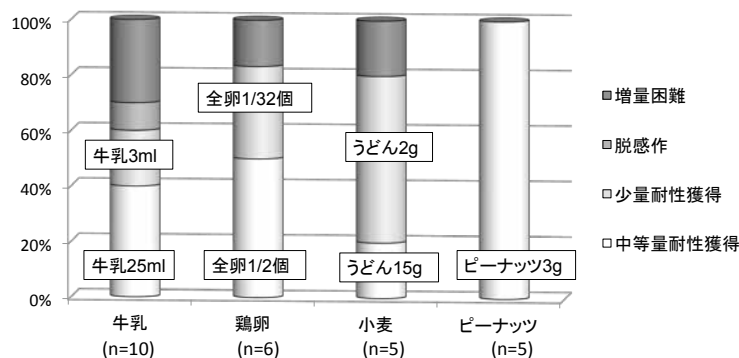
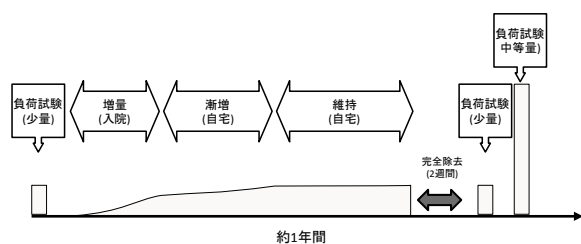


図8 少量導入療法1年後の成績
Modified from Yanagida et al. Allergol Int. 2016; 65: 135-40.



総負荷量	鶏卵	牛乳	小麦	ピーナッツ
少量	加熱全卵 1/32個相当 (194mg)	牛乳 3ml相当 (102mg)	うどん 2g(52mg)	ピーナッツ0.5g (133mg)
中等量	全卵1/2個相当 (3100mg)	牛乳 25ml相当 (850mg)	うどん 15g(390mg)	ピーナッツ 3g(795mg)

図7 少量導入経口免疫療法
Modified from Yanagida et al. Allergol Int. 2016; 65: 135-40.

05 | おわりに

食物アレルギーの分野において現在の最新の話題である発症予防、早期対応について解説した。この領域ではより安全で有効な予防法や治療法が日々研究されており、今後の発展が期待される。

参考文献

- 1) M. R. Perkin, K. Logan, A. Tseng, B. Raji, S. Ayis, J. Peacock, H. Brough, T. Marrs, S. Radulovic, J. Craven, C. Flohr, G. Lack, E. A. T. S. Team, Randomized Trial of Introduction of Allergenic Foods in Breast-Fed Infants. *N Engl J Med*, **374**, 1733 (Mar, 2016).
- 2) G. Du Toit, G. Roberts, P. H. Sayre, H. T. Bahnson, S. Radulovic, A. F. Santos, H. A. Brough, D. Phippard, M. Basting, M. Feeney, V. Turcanu, M. L. Sever, M. Gomez Lorenzo, M. Plaut, G. Lack, Randomized Trial of Peanut Consumption in Infants at Risk for Peanut Allergy. *New England Journal of Medicine*, 150223133016007 **372**, 802 (Feb, 2015).
- 3) G. Du Toit, P. H. Sayre, G. Roberts, M. L. Sever, K. Lawson, H. T. Bahnson, H. A. Brough, A. F. Santos, K. M. Harris, S. Radulovic, M. Basting, V. Turcanu, M. Plaut, G. Lack, L.-O. S. T. Immune Tolerance Network, Effect of Avoidance on Peanut Allergy after Early Peanut Consumption. *N Engl J Med*, **374**, 1435 (Apr, 2016).
- 4) M. Feeney, G. Du Toit, G. Roberts, P. H. Sayre, K. Lawson, H. T. Bahnson, M. L. Sever, S. Radulovic, M. Plaut, G. Lack, L. S. T. Immune Tolerance Network, Impact of peanut consumption in the LEAP Study: Feasibility, growth, and nutrition. *J Allergy Clin Immunol* **138**, 1108 (Oct, 2016).
- 5) D. J. Palmer, J. Metcalfe, M. Makrides, M. S. Gold, P. Quinn, C. E. West, R. Loh, S. L. Prescott, Early regular egg exposure in infants with eczema: A randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* **132**, 387 (Aug, 2013).
- 6) J. W. Tan, C. Valerio, E. H. Barnes, P. J. Turner, P. A. Van Asperen, A. M. Kakakios, D. E. Campbell, B. S. Group, A randomized trial of egg introduction from 4 months of age in infants at risk for egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*, (Oct 11, 2016).
- 7) N. Yanagida, T. Minoura, S. Kitaoka, Butter tolerance in children allergic to cow's milk. *Allergy, asthma & immunology research* **7**, 186 (Sep, 2015).
- 8) Y. Okada, N. Yanagida, S. Sato, M. Ebisawa, Better management of wheat allergy using a very low-dose food challenge: a retrospective study. *Allergol Int*, (2015).
- 9) Y. Okada, N. Yanagida, S. Sato, M. Ebisawa, Better management of cow's milk allergy using a very low dose food challenge test: A retrospective study. *Allergol Int* **64**, 272 (Jul, 2015).
- 10) N. Yanagida, Y. Okada, S. Sato, M. Ebisawa, New approach for food allergy management using low-dose oral food challenges and low-dose oral immunotherapies. *Allergol Int* **65**, 135 (Apr, 2016).
- 11) S. Sato, T. Utsunomiya, T. Imai, N. Yanagida, T. Asaumi, K. Ogura, Y. Koike, N. Hayashi, Y. Okada, A. Shukuya, M. Ebisawa, Wheat oral immunotherapy for wheat-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* **136**, 1131 (Oct, 2015).
- 12) S. Sindher, D. M. Fleischer, J. M. Spergel, Advances in the Treatment of Food Allergy: Sublingual and Epicutaneous Immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am* **36**, 39 (Feb, 2016).
- 13) S. D. Narisety, C. A. Keet, Sublingual vs oral immunotherapy for food allergy: identifying the right approach. *Drugs* **72**, 1977 (Oct 22, 2012).
- 14) R. A. Wood, J. S. Kim, R. Lindblad, K. Nadeau, A. K. Henning, P. Dawson, M. Plaut, H. A. Sampson, A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* **137**, 1103 (Apr, 2016).
- 15) N. Yanagida, S. Sato, T. Asaumi, Y. Okada, K. Ogura, M. Ebisawa, A Single-Center, Case-Control Study of Low-Dose-Induction Oral Immunotherapy with Cow's Milk. *Int Arch Allergy Immunol* **168**, 131 (Dec 19, 2015).
- 16) S. Sato, N. Yanagida, K. Ogura, T. Imai, T. Utsunomiya, K. Iikura, M. Goto, T. Asaumi, Y. Okada, Y. Koike, A. Syukuya, M. Ebisawa, Clinical studies in oral allergen-specific immunotherapy: differences among allergens. *Int Arch Allergy Immunol* **164**, 1 (2014).
- 17) N. Yanagida, S. Sato, T. Asaumi, K. Nagakura, K. Ogura, M. Ebisawa, Safety and Efficacy of Low-Dose Oral Immunotherapy for Hen's Egg Allergy in Children. *Int Arch Allergy Immunol* **submitted**, (Dec 19, 2016).
- 18) B. P. Vickery, J. P. Berglund, C. M. Burk, J. P. Fine, E. H. Kim, J. I. Kim, C. A. Keet, M. Kulis, K. G. Orgel, R. Guo, P. H. Steele, Y. V. Virkud, P. Ye, B. L. Wright, R. A. Wood, A. W. Burks, Early oral immunotherapy in peanut-allergic preschool children is safe and highly effective. *J Allergy Clin Immunol*, (Aug 4, 2016).

日本家屋のハウスダストに含まれる ダニアレルゲンの変遷

Change of house dust mite in dust of Japanese houses

京都府立医科大学 生体免疫制御学講座/ニチニチ製薬株式会社 中央研究所 特任講師/取締役部長 **嶋田 貴志**

Shimada Takashi (visiting lecturer/Director)

Department of Gastrointestinal Immunology, Kyoto Prefectural University of Medicine/Nichinichi Pharmaceutical Co., Ltd.

国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 特別研究員 **安枝 浩**

Yasueda Hiroshi (Researcher)

Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, National Hospital Organization Sagami National Hospital



キーワード

ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニ、室内塵

01 はじめに

厚生労働省健康局がん・疾病対策課の報告では、平成23年の時点で二人に一人が何らかのアレルギー性疾患に罹患していることが報告されており、5年前の三人に一人から急速に増加していることが示されている。中でもアレルギー性気管支喘息の患者は1,177千人と多く、死亡者数も減少傾向にあるものの、年間で1,550人が亡くなっている。気管支喘息だけでなくアレルギー性疾患の治療に関する研究は日々進んでいるが、単なる対症療法でしかない。予防に関しては、アレルギーの原因物質(アレルゲン)を遠ざけることが最も有効である。そのためには生活環境中のアレルゲン量を正確に計測することも重要となる。ここでは、アレルゲンとして最も問題視されているダニアレルゲンを中心に、アレルゲンの種類や測定方法を示し、日本家屋でのダニアレルゲンの変化について記す。

02 アレルギーの原因となるダニ

気管支喘息や通年性アレルギー性鼻炎の原因となるダニは、チリダニ科のヒョウヒダニである。ヒョウヒダニは人の血を吸うダニではなく、室内塵から最も普通に検出されるダニ類で、人の垢やフケ、塵の中の有機物を餌としている。室内の塵や埃の中、ぬいぐるみ、寝具やソファなどに生息している。ヒョウヒダニの中でもコナヒョウヒダニ(*Dermatophagoides farinae*;以下Df)とヤケヒョウヒダニ(*D. pteronyssinus*;以下Dp)が代表的な2種といえる。外見上、DfとDpの違いはほとんどないが、DfはDpよりも乾燥に強いと言われている(図1、表1)。

ヒョウヒダニ類は、一年中屋内で検出されるが、湿度の高い6月に特に多くなる。Dpは、温度25℃、湿度70%の条件で、卵期6.2日、幼虫期10.7日、第1若虫期8.6日、第3若虫期10.7日

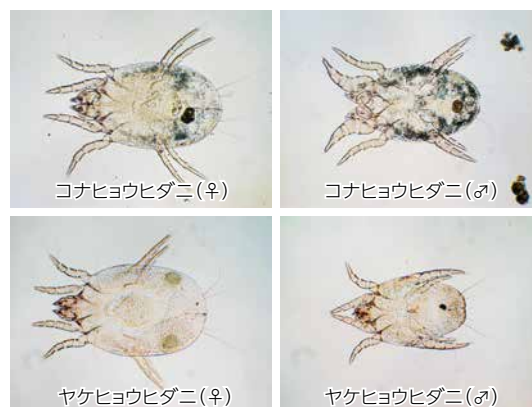


図1 ヒョウヒダニの写真(コナヒョウヒダニとヤケヒョウヒダニの雄と雌)

で、卵から成虫になるまで約37日間かかり、成虫の寿命は約70日であるという¹⁾。湿度60%以下では死亡率が高まる。卵は1日1~2個ずつ、生涯50~100個産み、成虫は数ヶ月間生存する。

DfもDpとよく似た様な外見と生態であるが、やや乾燥した環境を好み、映画館やバスの座席などでは本種の方が多くなる。生育期間は25℃、湿度76%の条件で、卵期8.1日、幼虫期8.2日、第1若虫期17.0日、第3若虫期6.6日で卵から成虫になるまで約40日間かかり、成虫の寿命は約77日であるという¹⁾。また生息密度が過剰になると数ヶ月間も発育を休止することが知られている²⁾。

表1 コナヒョウヒダニとヤケヒョウヒダニの生態学的特徴の比較

	コナヒョウヒダニ (Df)	ヤケヒョウヒダニ (Dp)
生活史	生育休止若虫出現	一般的には出現しない
地理的分布	北アメリカ、韓国 内陸地方、山岳部	西ヨーロッパ、沖縄 海岸部、平野部
気候的分布	比較的乾燥	比較的湿潤
季節変動	夏と冬の差は大 規則的	夏と冬の差は小 不規則で環境の影響が大
臨界平衡湿度	65%RH	73%RH
増加開始湿度	47~50%RH	55~60%RH
優占家庭の湿度	51.5%RH	63.5%RH
ピーク時湿度	60~70%RH	80~90%RH
発育好適湿度	60~75%RH	75~80%RH

須藤(1996) 一部改変

03 | ダニアレルゲンの種類³⁾

アレルゲンは、由来の生物の学名から属名の3文字、種名の一文字を取って命名される。DfおよびDpでは、それぞれの属名(*Dermaphagoides*)からDerを、各種名(*farinae*および*pteronysinus*)からfまたはpを取って名づけられる。アレルゲンとしてDer fで30種類、Der pで19種類がWHOのALLERGEN NOMENCLATURE(<http://www.allergen.org/>)に登録されている(表2)。

表2 ダニアレルゲンのタンパク質名と分子量

アレルゲン	物質名	分子量(kDa)	アレルゲン	物質名	分子量(kDa)
<i>Dermatophagoides farinae</i>			<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>		
Der f 1	Cysteine protease	27	Der p 1	Cysteine protease	24
Der f 2	NPC2 family	15	Der p 2	NPC2 family	15
Der f 3	Trypsin	29	Der p 3	Trypsin	31
Der f 4	α -amylase	57.9	Der p 4	α -amylase	60
			Der p 5		14
Der f 6	Chymotrypsin	25	Der p 6	Chymotrypsin	25
Der f 7		30-31	Der p 7		26, 30 and 31
Der f 8	Glutathion S-transferase	32	Der p 8	Glutathion S-transferase	27
			Der p 9	Collagenolytic serine protease	29
Der f 10	Tropomyosin	37	Der p 10	Tropomyosin	36
Der f 11	Paramyosin	98	Der p 11	Paramyosin	103
Der f 13	Fatty acid binding protein		Der p 13	Cytosolic fatty acid binding protein	15
Der f 14	Apolipoprotein	177	Der p 14	Apolipoprotein	177
Der f 15	Chitinase	98/109	Der p 15	Chitinase-like protein	
Der f 16	Gelsolin/villin	53			
Der f 17	Calcium binding protein	53			
Der f 18	Chitin-binding protein	60	Der p 18	Chitin-binding protein	
Der f 20	Arginine kinase	40	Der p 20	Arginine kinase	
Der f 21		14	Der p 21		
Der f 22					
			Der p 23	Peritrophin-like protein domain	14
Der f 24	Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein homologue	13	Der p 24	Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein homologue	13
Der f 25	Triosephosphate isomerase	34			
Der f 26	Myosin alkali light chain	18			
Der f 27	Serpin	48			
Der f 28	Heat shock protein	70			
Der f 29	Cyclophilin	16			
Der f 30	Ferritin	16			
Der f 31	Cofilin	15			
Der f 32	Secreted inorganic pyrophosphatase	35			
Der f 33	alpha-tubulin	52			
Der f 34	enamine/amine deaminase	16			
Der f 35		14.4			

これらの中でアレルギーの主な原因となるアレルゲンはDer f 1/Der p 1 (Der 1)とDer f 2/Der p 2 (Der 2)である。Der f 1/Der p 1はダニの糞中に含まれる分子量27kDa/24kDaのシステインプロテアーゼである。一方、Der f 2/Der p 2は虫体由来の分子量15kDa/15kDaのNPC2ファミリーに属するタンパク質である。

DfとDpは異なる種類のダニであるが、それぞれの対応するアレルゲンは、非常に似た構造であることが知られている。具

体的には、糞由来のDer f 1とDer p 1、虫体由来のDer f 2とDer p 2において、アミノ酸の配列では、それぞれ78%、88%が一致している。そのため、Der f 1とDer p 1およびDer f 2とDer p 2はそれぞれで非常に強い交差反応を示す。このことはDfまたはDpのいずれか一方に感作されていたとしても、DfとDpの両方でアレルギー反応を起こすことになる。このことから、臨床的にはDfとDpを別々に捉える必要は無く、同じアレルゲンDer 1として見なす方がよいと言える。

04 | ダニによるアレルギーとその予防

1匹のダニには1~2 ngのDer 2が含有されているが、1匹のダニは一生の内に4~500個の糞をし、全ての糞を合わせると40~100 ngのDer 1が含まれることになる。また、糞の大きさは0.01mmと非常に小さい上、乾燥するとさらに小さくなるため、空間に浮遊しやすい。そのため、呼吸により鼻や口から吸い込んだ場合、気管の奥まで入り込んでしまうことになり、喘息を誘発しやすくなる。本邦における気管支喘息患者の約70%はダニアレルゲンに感作されている。すなわちダニに対する免疫グロブリンE (IgE)抗体が陽性で、ダニによりアレルギー反応が誘導される状態にある。気管支喘息の原因として、アレルギー体質とダニアレルゲンへの曝露が挙げられる⁴⁾。しかも、ダニアレルゲンは気管支喘息や通年性アレルギー性鼻炎だけでなく、アトピー性皮膚炎の原因にもなることが知られている。

ヨーロッパやアメリカにおける調査データと日本での調査データを比較検討したデータを表3に示す⁵⁾。

表3 ダニアレルゲンによる室内環境の汚染

地域	調査家屋数	寝具中のDer 1量 ($\mu\text{g/g dust}$)*	検出率 (%)
日本	242	14.9	98.3
アメリカ	831	1.40	84.2
ヨーロッパ	3580	0.58	67.6

*全家屋の幾何平均値
安枝(2008) 一部改変

日本では調査したほぼ全家屋からダニアレルゲンが検出され、Der 1量の幾何平均値も、欧米に比べて、10倍から20倍以上高い。日本のダニ汚染がいかに深刻であるかが示されている。日本のデータは国立病院国立療養所気管支喘息ネットワーク研究班のもの⁶⁾、アメリカのデータはNational Survey of Lead and Allergensのもの⁷⁾、ヨーロッパはECRHS (European Community Respiratory Health Survey)の一環で10カ国から集められたものである⁸⁾。ヨーロッパではダニ汚染のひどい所からダニが生息していない所まで様々ではあるが、総じて日本よりもダニアレルゲン量は低くなっている。

居住環境のダニによる汚染レベルが高いほど感作、発症のリスクは高まる。室内塵fine dust中のDer 1量 $2\mu\text{g/g dust}$ が感作の、 $10\mu\text{g/g dust}$ が喘息発作誘発の危険因子とされている。したがって、アレルギー全般の発症を抑えるためにアレルゲンとの接触を抑えることは非常に有効である。ダニに限れば、その生息場所である室内の塵や埃の中、ぬいぐるみ、寝具やソファなどを小まめに掃除することが重要である。殺虫剤や天日干しなどでダニを殺してもアレルゲンが無くなるわけではな

く、ダニの死骸や糞は残ったままである。これを除去するためには、洗濯による水洗や十分な掃除機掛けが必要となる。

05 | 塵中のダニアレルゲンの測定

ダニの数で評価する場合、掃除機で採集した室内塵を秤量し、32メッシュおよび200メッシュの二重の篩いでfine dustを集め、改良飽和食塩水浮遊法⁹⁾で全浮遊液、フラスコ壁面洗浄液および残渣部からダニを分離して生物顕微鏡下で同定、計数する。しかしながら、この方法は時間と労力が掛かる上、熟練の技術が必要となる。また、アレルゲンの量を調べることは出来ない。

近年、ダニアレルゲンの測定方法として、Enzyme-linked-Immunosorbent Assay (ELISA)が一般的である。これは抗原特異的なモノクローナル抗体を用いて特定の抗原のみを測定する方法であり、抗体の性能により比較的簡便且つ高感度で単一の抗原を定量することが出来る。ニチニチ製薬株式会社のダニアレルゲン測定キットでは、DfおよびDpの糞由来のアレルゲン(Der f 1 & Der p 1)、それぞれについて通常版のキットで500pg/mL、高感度版のキットでは40pg/mLまで測定することが可能である。ELISAキットの操作手順を図2に示す。

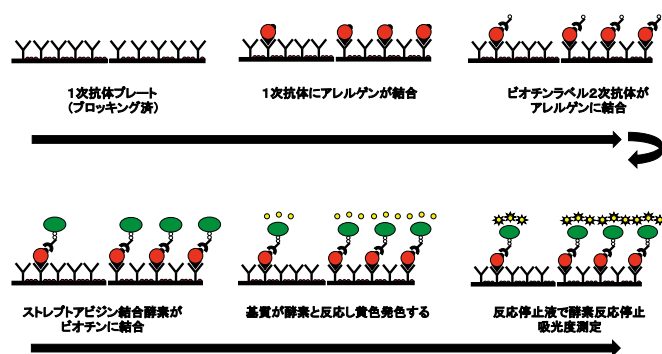


図2 ELISAの手順

①一次抗体をコーティングしたプレート（ブロッッキング済）に、②サンプルを添加し、一次抗体にアレルゲンが結合する。③ビオチン標識した二次抗体を添加し、アレルゲンに結合する。④ストレプトアビジン標識酵素を添加し、ビオチンに結合する。⑤基質を添加し、酵素により発色する。⑥酵素の反応を停止させて、色の濃さを測定する。

次に屋内塵のダニアレルゲンを測定する方法の一例を記す。まず、塵の回収は、家庭用電気掃除機のホースに不織布で出来たゴミ取り袋を装着し、床やカーペット、布団などを一定の面積を決まった時間で吸引する。得られた塵を篩掛けし、300μm以下の塵（fine dust）のみを回収する。緩衝液に懸濁、攪拌し、アレルゲンを溶出させる。遠心分離で不溶性成分を除去し、溶液中のDer f 1量とDer p 1量をELISAで測定する。両者の合計がDer 1量である。得られた値からfine dust 1gあたりのアレルゲン量を算出(μg/g dust)し、評価する。

掃除前と後でDer 1量を測定し、掃除の方法が適切であるか否かのチェックをすることも可能である。

06 | DfとDpの割合の変化

須藤らは1983年および1984年に10家屋を対象として、電気掃除機で回収した塵中のダニを生物顕微鏡下で種別、性別、発育段階別に計測し、各家屋で検出された平均数と優先度を報告している。DfとDpの平均個体数は家屋ごとに大きく異なり、Dfの優占家屋が3軒、Dpの優占家屋が5軒、ほぼ同数の家屋が2軒であった(表4)。この報告では、DfとDpに差は無いと結論付けている¹⁰⁾。

表4 名古屋における家屋ハウスダスト中のヒョウヒダニ数と割合

House	室内塵0.1g中のダニの数		割合(%)	
	Df	Dp	Df	Dp
A	64.9	14.2	82.0	18.0
B	43.0	32.1	57.3	42.7
C	17.5	6.5	72.9	27.1
D	21.3	32.2	39.8	60.2
E	9.5	20.1	32.1	67.9
F	17.9	8.9	66.8	33.2
G	5.0	6.5	43.5	56.5
H	9.1	14.0	39.4	60.6
I	2.4	7.9	23.8	78.2
J	1.7	30.9	5.2	94.8

1989年に安枝らは47家屋からfine dustを回収し、その中のダニの数ではなく、アレルゲンとしてDer f 1、Der p 1をELISAで測定をした。須藤らの報告と同様に、Der f 1とDer p 1の割合、すなわちDfとDpの割合は各家屋で大きく異なっているが、Df、あるいはDpのどちらか一方が大多数を占める家屋と、両者がほぼ共存している家屋が同程度にみられ、全体的には両者の割合に明らかな差は認められないことを報告している¹¹⁾。

しかしながら、20年後の2009年にはTakeda et alの報告¹²⁾において、343軒で調査を実施し、アレルゲンの検出率、検出量のいずれにおいても、Der f 1はDer p 1を大きく上回り、DfはDpよりも明らかに多いことを示している(表5)。

表5 アレルギー症状の有無とダニアレルゲン

ダニアレルゲン	検出率(%)	症状あり (n = 74)		症状なし (n = 269)	
		中央値(μg/g dust)	範囲(min-max)	中央値(μg/g dust)	範囲(min-max)
Der p 1	22.1	<0.10	<0.10-40.40	<0.10	<0.10-40.40
Der f 1	79.8	0.81	<0.10-19.20	0.32	<0.10-200.00
Der 1	81.7	1.14	<0.10-41.16	0.51	<0.10-200.00

さらに、2016年のKawakami et alの報告¹³⁾では、ベッドおよび床のいずれにおいても、Der f 1がDer p 1の100倍以上大きい値 (P<0.01)を示している(図3)。

以上の結果より、1990～2000年までは、家屋によってばらつきはあるものの、DfとDpはほぼ同数であったと考えられる。しかしながら、2000年後半からの調査では、DfがDpを凌駕しており、ほぼ90%の家屋でDfが優位となっていることが示された。1983年ではエアコンの普及率は50%前後、1990年には60%まで上昇し、2016年には92.5%と、ほぼ全世帯に普及している。そのため、家屋の温度は一定となり、湿度の低下(乾燥状態)、床の状況(じゅうたん、フローリングなど)が変化し、ダニ

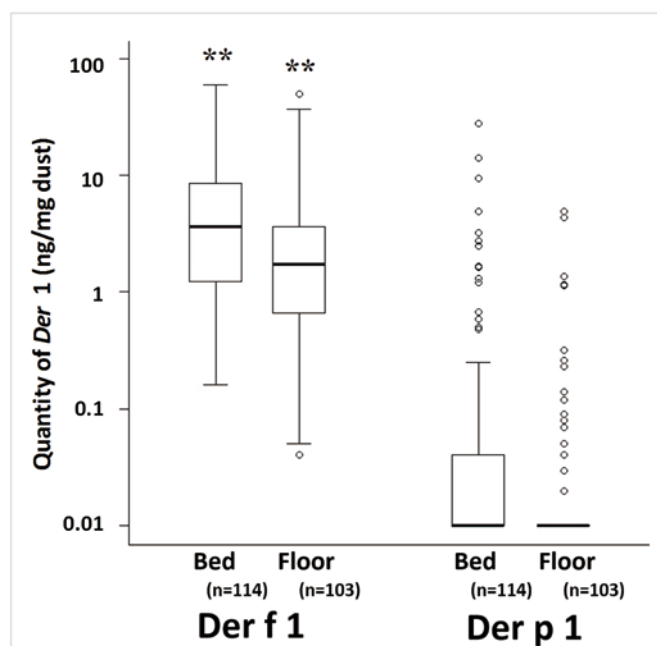


図3 寝具および床の塵中のDer 1 量

にとって住みよい環境となると同時に、より乾燥に強いDfがDpを駆逐していったと考えられる。

謝辞

本総説を執筆するにあたり、ダニアレルゲンの測定データやダニの写真を提供していただきました株式会社エフシージー総合研究所環境科学研究室 橋本一浩氏に心から感謝致します。

参考文献

- 1) 松本克彦, 岡本雅子, 和田芳武.: コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニの生活史におよぼす湿度の影響. 衛生動物 1986. **37**(1).: 79-90 (1986).
- 2) 彭城郁子, 須藤千春, 伊藤秀子.: コナヒョウヒダニ若虫における発育休止の出現および終了について. 衛生動物 1991. **41**(3).: 227-234 (1990).
- 3) WHO/IUIS Allergen Nomenclature.: <http://www.allergen.org/index.php>(参照2016-11-01).
- 4) “喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針” 厚生労働省 喘息死ゼロ作戦評価委員会, 医学専門家:大田 健、秋山一男、足立 満、森川昭廣、西間三馨、宮本昭正 日本医師会:内田健夫 喘息患者会:栗山真理子(2011).
- 5) 安枝浩., ダニアレルゲンの免疫生物学とアレルギー疾患. アレルギー 2008. **57**(7).: 807-815 (2008).
- 6) 釣木澤尚実, 安枝浩, 齋藤明美, 谷口正実, 田知本寛, 宗田良, 庄司俊輔, 中村陽一, 片田圭宜, 網島優, 副島佳文, 中野喜久男, 佐藤利雄, 白神実, 森本忠昭, 小林信之, 田口修一, 小田嶋博, 小倉英郎, 岡島宏易, 平場一美, 赤澤晃, 杉本日出雄, 長谷川俊史, 秋山一男, ら. 気管支喘息患者宅の屋内(室内塵、寝具塵) アレルゲン量全国調査. アレルギー 2004. **53**(2-3).: 332 (2004).
- 7) S. J. Arbes Jr, R. D. Cohn, M. Yin, M. L. Muilenberg, H. A. Burge, W. Friedman, D. C. Zeldin, et al. House dust mite allergen in US beds: results from the First National Survey of Lead and Allergens in Housing. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2003**. **111**(2).: 408-414 (2003).
- 8) J-P. Zock, J. Heinrich, D. Jarvis, G. Verlato, D. Norback, E. Plana, J. Sunyer, S. Chinn, M. Olivieri, A. Soon, S. Villani, M. Ponzio, A. Dahlman-Hoglund, C. Svanes, C. Luczynska, et al. Indoor Working Group of European Community Respiratory Health Survey II. Distribution and determinants of house dust mite allergens in Europe: the European Community Respiratory Health Survey II. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2006**. **118**(3).: 682-690 (2006).
- 9) H. Yasueda, H. Mita, Y. Yui, T. Shida.: Comparative analysis of physicochemical and immunochemical properties of the two major allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus* and the corresponding allergens from *Dermatophagoides farinae*. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **1989**. **88**(4).: 402-407 (1989).
- 10) 須藤千春, 彭城郁子, 伊藤秀子.: コナヒョウヒダニとヤケヒョウヒダニの個体群動態に関する比較研究. 衛生動物 1991. **42**(2).: 129-140 (1991).
- 11) H. Yasueda, H. Mita, Y. Yui, T. Shida.: Measurement of allergens associated with dust mite allergy. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **1989**. **90**(2).: 182-189 (1989).
- 12) M. Takeda, Y. Saijo, M. Yuasa, A. Kanazawa, A. Araki, R. Kishi, . Relationship between sick building syndrome and indoor environmental factors in newly built Japanese dwellings. *Int Arch Occup Environ Health* **2009**. **82**(5).: 583-593 (2009).
- 13) Y. Kawakami, K. Hashimoto, H. Oda, N. Kohyama, F. Yamazaki, T. Nishizawa, T. Saville, N. Asano, Y. Fukutomi, . Distribution of house dust mites, booklice, and fungi in bedroom floor dust and bedding of Japanese houses across three seasons. *Indoor Environment* **2016**. **19**(1).: 37-47 (2016).

室内アレルゲンの測定法

Measurement of Indoor Allergens

NPO法人東京アレルギー・呼吸器疾患研究所 環境アレルゲン研究班 班長
環境アレルゲンinfo and care株式会社 代表取締役

白井 秀治

Hideharu Shirai (Lerder of environmental allergens dept./ CEO)

Tokyo Allergy & Respiratory Disease Research Institute / Environmental Allergy Info and Care

麻布大学獣医学部獣医学科微生物学第一研究室 教授 **阪口 雅弘**

Masahiro Sakaguchi (Professor)

Department of Veterinary Microbiology School of Veterinary Medicine, Azabu University



キーワード

ダニ、室内アレルゲン、酵素免疫測定法

01 | はじめに

室内におけるダニや真菌および室外におけるスギ花粉に代表される環境アレルゲンの暴露は、アレルギー疾患の増加に重要な関係があると考えられる。また室内でイヌやネコなどのペットを飼育する家庭では、室内塵中や空中浮遊粒子のペットアレルゲン量が、非飼育家庭に比べ多いことが報告され、ペットアレルギーの発症にそれらが関わりと考えられる。アレルギー疾患における対策の基本は、原因アレルゲンの除去と回避である。そのため、アレルゲンの汚染状況を把握することは、原因への対応を進める上で有益な情報となる。家庭内におけるアレルゲン汚染の測定は、主に室内塵を対象に行われているが、個人暴露量の評価として空中浮遊アレルゲン量の測定法が開発されてきた。本稿では、室内環境におけるアレルゲンとその測定方法について概説する。

の花粉は、屋内への流入や人による持ち込みがあり、しばしば屋内におけるアレルゲンとしても重要であると考えられる。

2-1 ダニ

アレルギーの原因として重要なダニは、チリダニ科のヤケヒョウヒダニ(*Dermatophagoides pteronyssinus*)とコナヒョウヒダニ(*D. farinae*)の2種である。これらのダニは、寝具、敷物、布製の室内インテリア用品に多く生息する。そしてそれらから回収される室内塵からは、ダニの糞や死骸が検出される。このダニの糞や死骸に含まれるタンパク成分の内、排泄物由来(Cystein protease)の分子量25,000のDer p 1/Der f 1(グループ1アレルゲンとしてDer 1)と、虫体由来(Niemann-Pick Type C2 protein)分子量14,000のDer p 2/Der f 2(グループ2アレルゲンとしてDer 2)が、ダニにおける主要なアレルゲンである。現在、ダニのアレルゲンについては、20を超えるアレルゲンが同定されている。

2-2 ペット

ペットとしてネコやイヌを飼育している場合、ペット由来のアレルゲンが室内塵、または空中から検出される。それらのアレルゲン量は、ダニアレルゲンの量よりも多いことがある²⁾。ペットに関わるアレルゲンとして、ネコの主要アレルゲンであるFel d 1は分子量19,000の糖タンパクである³⁾。イヌの主要アレルゲンであるCan f 1は分子量19,200のタンパクである⁴⁾。

2-3 花粉

日本ではスギやヒノキなどの樹木、ブタクサやオオアワガエリなどの草による花粉症が地域によって違いがあるが報告され、その他職業性の花粉症も報告されている。花粉の飛散時期から飛散終了後しばらくは、室内塵から花粉由来のアレルゲンが検出される例がある。日本ではスギ花粉症が最も重要な花粉症であり、そのスギ花粉のアレルゲンとしては、分子量45,000-50,000の塩基性糖タンパクのCry j 1⁵⁾、45,000(非

02 | アレルゲン

アレルゲンとは、気管支喘息やアレルギー性鼻炎などのアレルギー疾患における原因となる抗原をいう。広義ではダニや花粉という物質を指すこともあるが、アレルゲン量の測定を行う際には、タンパク抗原そのものを指すこともある。

室内から回収される室内塵、いわゆるハウスダストからは、ダニをはじめネコ、イヌなどの動物や、花粉、ゴキブリ、真菌、そして食物などに由来するアレルゲンが存在する(表1)。これらの

表1 室内塵から検出される主要な環境アレルゲン

ダニ	ペット(ネコ、イヌ、げっ歯類)	
ゴキブリ	真菌	花粉
食品	化学物質	

中でもダニは、多くの家庭から検出される重要なアレルゲンである¹⁾。またスギなどの風媒花

還元下では37,000)の塩基性タンパクのCry j 2⁶⁾が報告され、Cry j 3も同定された。

2-4 食物

食物アレルギーとは、多くは経口的に摂取し、症状発症や増悪をきたす場合をいう。そして経気道又は経皮的な経路によって、食物またはその成分を摂取、あるいは接触することにより、アレルギーの症状が起こることもある。近年、室内塵に種々の食物アレルギーが含まれることや⁷⁾、食物が環境抗原として果たす役割⁸⁾が指摘されている。室内環境中の食物アレルギーが、感作やアレルギーの発症、そして症状悪化に関わることを考えると、食物アレルギーも環境アレルギーとみなすことが出来ると思われる。

03 | 室内アレルギーの発生要因と浮遊粒子

室内アレルギーにおいてダニアレルギーは寝具に特に多く存在し、それを含む寝具の上げ下ろしや、寝返りなどの行為によって空中に浮遊する^{9, 10)}。また、ペットを室内で飼育している場合、ペットがアレルギーの発生原因となることが考えられる。またペットが人の布団で人と共に寝る場合、寝具からペットアレルギーが検出される²⁾。このようにペットアレルギーで汚染された寝具では、布団の上げ下ろしや寝返りなどの発塵行為によって、ペットアレルギーが浮遊することが考えられる。

食物アレルギーについて、小麦粉などの粉体を例にすれば、調理時の発塵が汚染の原因となる。さらに小麦粉が調理時の着衣に付着すれば、着衣で行動する範囲において再浮遊することが考えられる。ヨーロッパでは、パン職人が小麦粉に暴露されることによる喘息を「パン屋喘息」として古くから報告され¹¹⁾、日本においても小麦粉吸入によるアレルギー患者の報告¹²⁾がある。また、家業が米屋であったコメ喘息患者では、精米時の米粉が浮遊粒子として気管支喘息の症状増悪に関与したと考えられたケースが報告されている¹³⁾。

04 | 浮遊アレルギー粒子と落下減衰

4-1 ダニとペットアレルギー

布団たたきによってダニアレルギーを浮遊させ、アンダーセンサンプラーを用いて浮遊粒子中のアレルギーの粒子径が調査された。ダニアレルギー(Der 1, Der 2)は、粒径7 μ m以上の粒子に約50%前後分布し、さらに5.5 μ m以上の粒径粒子に80%が含まれる。そして、発生した空中浮遊ダニアレルギー濃度は、発塵行為による浮遊以後、約10~15分で約50%に減衰し、30分後の残存率は10%程度になる(図1)。この減衰率は、Der 1とDer 2で大きく変わらないことから、Der 1とDer 2の空気中での動態はほぼ同じであると考えられた¹⁴⁾。一方、ネコアレルギー(Fel d 1)は、粒径が5 μ m以下の粒子が多く、ダニアレルギーに比べ粒子径が小さい傾向にある¹⁵⁾。そのためネコアレルギー粒子は、ダニアレルギー粒子に比べ、長時間空中に浮遊していると考えられている。

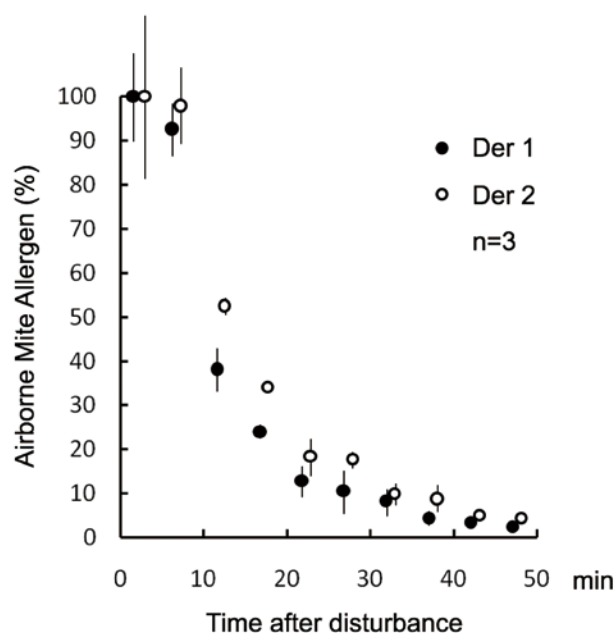


図1 ダニアレルギーの経時的減少曲線

4-2 スギ花粉

スギ花粉は屋外で発生するものであるが、人による室内への持ち込み、窓開け換気時における室内への流入があり、室内塵から検出されることがある。花粉飛散時期における室内外の花粉数の測定では、窓開けにより室内でも屋外の1/3ほどのスギ花粉が確認され、その飛散花粉数の変動は、屋外の変動パターンと非常によく似ていることが報告されている¹⁶⁾。

スギ花粉を顕微鏡するとスギ花粉粒子の多くは、直径約30 μ mの球形粒子として観察される。しかし、気流を制御した室内において花粉を散布して粒径別の落下減衰を観察すると、スギ花粉の粒径より小さな粒子、特に2 μ m前後の粒子が観察される。これらの粒子は、花粉粒子(30 μ mの球形粒子)に比べ落下速度が遅く、無換気下では1時間経過後も初期濃度の50%程の粒子の浮遊が認められる。

また屋外におけるスギ花粉の粒径分布の調査では、25 μ m以上の大粒径と5 μ m付近にピークのある二峰性を示し、室内では大粒子が少なく5 μ m以下の小粒子にピークが現れるとの報告もある¹⁷⁾。スギ花粉に関して粒子観察を行う際には、スギ花粉の形態を持たない粒子についても観察対象にすることが必要と思われる。

05 | アレルギーの評価方法

5-1 評価方法

環境汚染や浮遊粒子、室内塵などのアレルギーについて評価を行う場合、同定や計数を目的とした形態学的方法と、アレルギー(タンパク)による汚染量を測定する免疫学的方法に大別できる(表2)。

表2 環境アレルギー汚染の評価方法

形態学的方法	ダニ虫体数, pollen count
免疫学的方法	ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent assay) による単一アレルギー(主要アレルギー)の定量

形態学的方法は、鏡検によってダニや花粉の同定や計数、真菌では培養し同定、コロニー数の計数を目的に行われる。一方、免疫学的方法は、アレルゲンと特異的に結合する抗体の反応を利用した検出法で、濃度が既知の精製アレルゲンを用いて検量線を作成することで、試料中のアレルゲン濃度を定量することが可能である。特定のアレルゲンを認識する抗体は、そのアレルゲンにしか結合しない。そのため、無数にある種類のタンパクの中で、その抗体が結合するアレルゲンだけ認識することが可能になる(図2)。

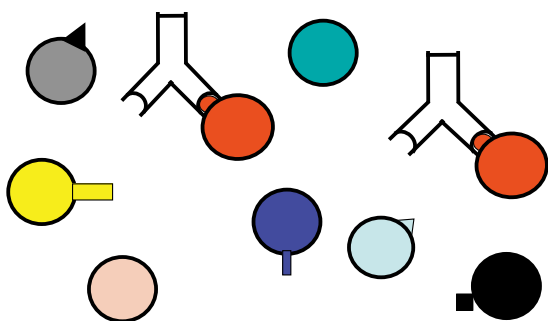


図2 アレルゲンとそのアレルゲンに対する抗体の反応
特定のタンパク質に対する抗体は、そのタンパク質だけに結合する。

5-2 ダニとダニアレルゲンの評価

ダニについて形態学的方法では、ヤケヒョウヒダニ(以下:Dp)やコナヒョウヒダニ(以下:Df)、その他のダニのように、ダニの種類ごとの計数や、卵、幼虫、若虫、成虫といったステージごとの計数、あるいは生ダニ、死骸、脱皮殻という状態での計数が行え、それぞれを個体数で表す。

一方、免疫学的な評価では、DpとDfそれぞれの主要アレルゲンであるDer p 1、Der f 1、あるいはDer p 2、Der f 2を測定し、主要アレルゲン量として表す(表3)。

表3 定量法が報告されている主要な環境アレルゲン

ダニ	Der p 1/Der f 1, Der p 2/Der f 2
ネコ	Fel d 1
イヌ	Can f 1
ゴキブリ	Bla g 1, Bla g 2, Per a 1
真菌	Asp f 1, Alt a 1
花粉	Cry j 1, Cry j 2, Amb a 1, Phl p 5, Bet v 1

Der p 1とDer f 1はアミノ酸配列に高い相同性があり、臨床的にも高い交差反応性を持つ。しかし、DpとDfは生育における至適湿度が若干異なるため、室内環境中のDer p 1とDer f 1の汚染量は、必ずしも1:1の関係にはないと考えられ、どちらか一方のみの汚染しか認められない場合もある(図3)。そのため、環境汚染の測定では、Der p 1とDer f 1それぞれを測定し、その和をDer 1として環境汚染を評価する。人における臨床的な指標¹⁾としては、室内塵1g中のDer 1が2 μ g以上でダニアレルゲン感作の危険性があり、10 μ gを超えると喘息発作を誘発する危険性があるとされている(表4)。このダニアレルゲン量は、ダニ数と有意な相関が認められる(図4)¹⁸⁾。

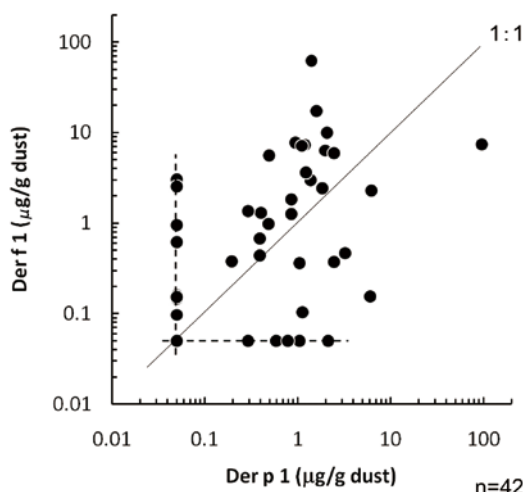


図3 室内塵中のDer p 1とDer f 1の分布

表4 喘息の危険因子としてのダニアレルゲン量

室内塵1グラムあたりのDer 1量	危険因子
2 μ g	感作の閾値
10 μ g	喘息発作誘発の閾値

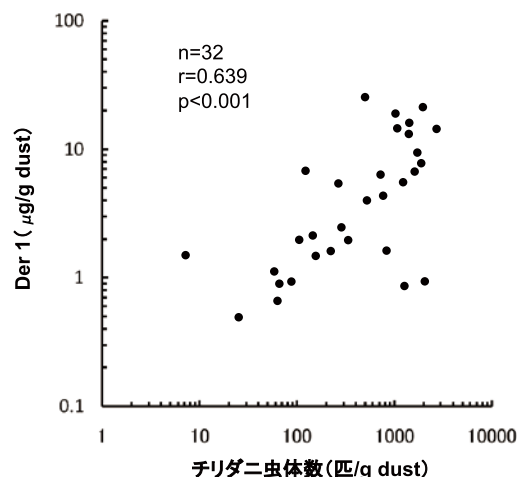


図4 チリダニ虫体数とダニアレルゲン量

5-3 花粉と花粉アレルゲンの評価

花粉について、形態学的方法では、鏡検により同定し個数を計数するのにに対し、免疫学的な評価では、スギ(*Cryptomeria japonica*)の花粉ではアレルゲンとしてCry j 1、あるいはCry j 2、ブタクサ(*Ambrosia artemisiifolia*)の花粉ではAmb a 1、オオアワガエリ(*Phleum pratense*)の花粉ではPhl p 5、シラカバ(*Betula platyphylla*, *Betula verrucosa*)の花粉ではBet v 1と、測定を行ったアレルゲン名を表す(表3)。

06 | アレルゲンの測定方法

免疫学的な測定法のうち、アレルゲンに対する特異抗体を用いてアレルゲンを測定する方法を、酵素免疫測定法(Enzyme-Linked immunosorbent assay: ELISA)という。ELISAは、測

定対象とするアレルゲンと特異的に結合する抗体の反応、すなわち抗原抗体反応を利用して測定を行う。具体的なステップとしては、アレルゲンと結合する抗体を酵素で標識し、アレルゲンと結合後に基質を反応させることにより、基質を発色させる。合わせて、既知の濃度の標準アレルゲンによる発色(吸光度)をもとに検量線を作製することで、試料中のアレルゲン濃度を定量する(図5)。

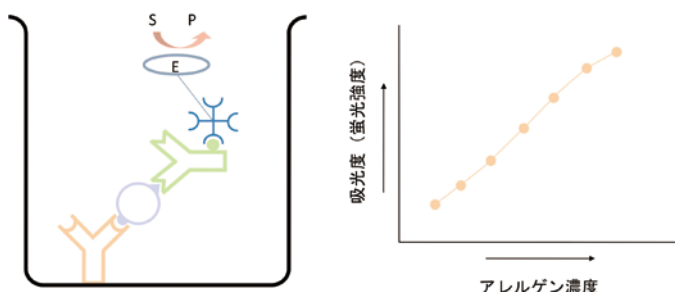


図5 ELISAによるアレルゲンの定量

近年、ダニ及び花粉をはじめ、臨床上重視される主要なアレルゲンが精製され、そのアレルゲンに対する特異的抗体が作製された。そして、それらを用いた測定系の構築によってアレルゲンを免疫学的に定量することが可能となった(表5)。現在この方法は、微量タンパクの定量法として広く用いられ、国際的な標準法として定着している¹⁾。

表5 アレルゲン量の測定単位と表記単位の例

測定単位	表記単位
室内塵(ホコリ): 1 gあたり	$\mu\text{g/g dust}$
面積: 1 m ² あたり	ng/m^2
室内空気: 1 m ³ あたり	pg/m^3
その他: 1 gあたり (寝具の詰め物など)	ng/g material

測定単位あたりのアレルゲン量として表す。

記載の表記単位は一般例であり、回収される条件およびアレルゲン量によって適切な単位を用いる。

6-1 sandwich ELISA法

ELISA法の中で抗原に対して2つの抗体を用いる方法をsandwich ELISA法と呼び、サンプルにおける抗原濃度の定量に用いられる(図6)。2つの抗体によってサンドイッチのように抗原を両側から挟みこむことから、この名前が付けられた。

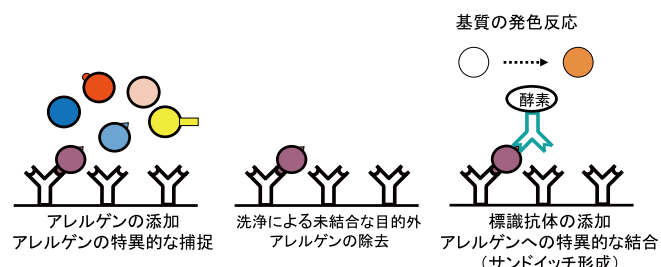


図6 sandwich ELISA法の原理

異なるエピトープを認識する2種類の抗体を用いたsandwich ELISAの原理

このsandwich ELISA法によるアレルゲンの定量は、検出の特異性が高く、多くのタンパクが混在する試料、対象が原形を留めない不定形なものや微細なものであっても、検出して汚染量を評価することが可能である。また、測定の再現性も高く、サンプルの処理から測定までを簡易なプロセスで行え、多量のサンプルを分析するような大規模な調査に対応できる。

そして実際にアレルギーの原因となるタンパク、すなわちアレルゲンを対象にし、アレルゲンの絶対量を測定する。そのため臨床症状に関わるアレルゲン汚染の評価として、アレルギー患者における環境調整の指標に用いることが可能である。一般的なsandwich ELISA法は、呈色反応によって試料中のアレルゲン濃度を定量的に評価する。また、空中浮遊アレルゲン濃度の測定や、皮膚表面や鼻腔内への吸入アレルゲン濃度の測定など、極微量のアレルゲンの測定を行う際には、より高感度な方法として蛍光酵素免疫吸着法(図7)¹⁹⁾や放射性同位元素(Radio isotope: RI)を用いたラジオイムノアッセイ²⁰⁾を用いることもある。これらの測定法は、測定対象に必要な感度や設備などを考慮し選択される。

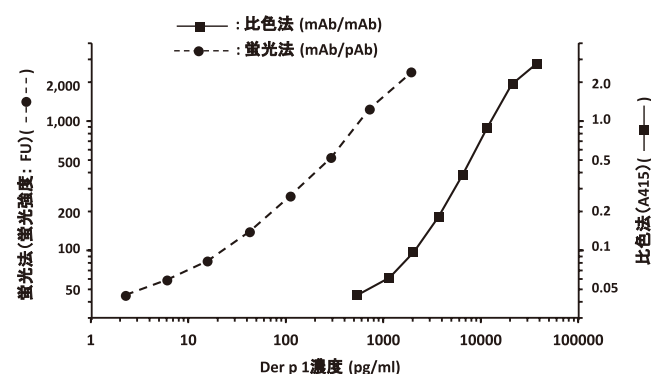


図7 2種類のELISAにおけるDer p 1の標準曲線

6-2 競合ELISA法

アレルゲンをマイクロプレートに固相化したものに、対象物質(測定試料や標準アレルゲン)とそのアレルゲンに感作された患者の血清を添加し競合反応をさせる。その後固相化抗原に対して結合しなかった患者血清中の免疫グロブリンE抗体(Immunoglobulin E: IgE)を洗浄除去する。次に酵素標識抗IgE抗体を加えて、アレルゲンと酵素基質を添加して、酵素による蛍光反応をさせ、蛍光強度を測定する(図8)。対象物質の標準アレルゲンと比較することにより、測定検体中の対象物質濃度を測定することができる。

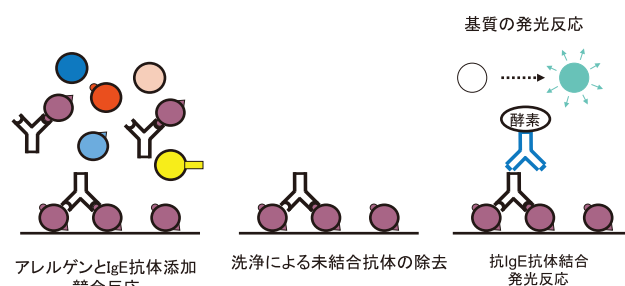


図8 競合ELISA法の原理

患者血清中のアレルゲン特異IgE抗体を用いた競合ELISA法の原理

この方法の大きな利点はアレルゲンの定量を患者血清中のIgE抗体を用いて行える点である。すなわち、よりin vivoに近いアレルゲン性の評価が出来る点が優れている。特にアレルゲンを様々な化学物等で不活化したような実験の場合、その不活化の程度を評価する方法としては最も適した方法であると考えられている。しかし、IgE抗体を測定するため、蛍光やRIを用いた高感度の測定システムが必要になる。また、そのアレルゲンに

感作された患者血清も必要になる。そのため、患者血清を用いた競合ELISA法は専門の技術や知識を持った研究者が行っている。

6-3 イムノクロマト法

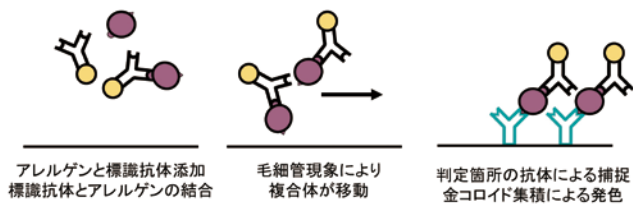


図9 イムノクロマトの原理
金コロイド標識抗体を使用した例

図9は金コロイド標識抗体を用いたイムノクロマト法の原理を表わす。毛細管現象により、サンプル中のアレルギーがメンブレン・フィルター上を移動する時に、金コロイドで標識されたアレルギー特異抗体と結合する。さらにメンブレン・フィルター上の判定箇所に固定されたアレルギー特異抗体に捕捉される。金コロイド標識された抗体・アレルギー・捕捉抗体の3者により、抗原抗体反応の複合体が形成され、集積した金コロイド等を肉眼で確認できる。

イムノクロマト法の特徴は、発色を目視で確認できるという点にある(図10)。

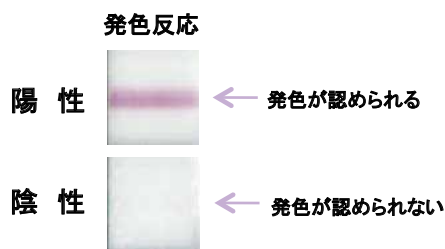


図10 イムノクロマトの判定例
金コロイド標識抗体とアレルギー、そして固相抗体の複合体形成による金コロイドの集積によって、判定箇所に金コロイドによる赤紫色のラインが出現する。

測定には専用設備は必要なく、測定を行う家庭内等の現場において、アレルギー汚染の有無を判定することができる。この方法は定性的な評価に用いられる事が多いが、イムノクロマトのストリップを開発する場合、設計条件によっては、半定量的な評価を行うよう設定することが可能である。現在ダニアレルギーについては、市販の製品が入手可能であるが、花粉については市販された製品がない。

6-4 その他

複数種類のアレルギーを同時に測定するシステムとして、各種アレルギーに対する特異抗体であらかじめ標識されたビーズを用いるマルチプレックスアレイの測定法が開発されている(Indoor Biotechnologies社、USA)。専用の読み取り装置が必要なため、測定を行える施設がまだ限られている。

07 | 試料の回収・捕集とアレルギー抽出

アレルギーの測定を行う場合、対象室内塵や空気中等から試料を回収または捕集する。

7-1 室内塵中アレルギー

室内塵の回収は、床や寝具などの対象物であれば、掃除機を用いて塵を回収する。回収した塵は、ふるいを用いて細塵を分離し、これをアレルギー抽出に用いる。アレルギーの抽出は、リン酸緩衝液(PBS)などに、必要に応じて界面活性剤及び牛血清アルブミン(Bovine serum albumin: BSA)などの蛋白を添加した緩衝液を用いる。細塵の重量を測定し、この抽出液を添加し、室温または4℃下で、静置あるいは振とうして抽出を行う。その後、抽出液をマイクロチューブ等に移し、遠心処理を行い、得られた上清をアレルギー測定に用いる(図11)¹⁰⁾。

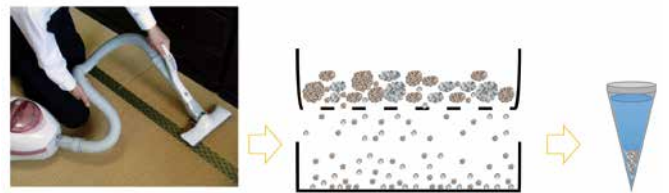


図11 室内塵の回収とアレルギー抽出
掃除機を用いて回収した室内塵は、篩にかけ大きなゴミを取り除く。得られた細塵(fine dust)の重量を測定し、アレルギーの抽出を行う。

7-2 空中浮遊粒子中のアレルギー

空中浮遊アレルギーの捕集は、エアースンプラーを用いてグラスフィルター等に浮遊アレルギーを捕集し、室内塵同様にアレルギーの抽出を行う(図12)¹⁰⁾。

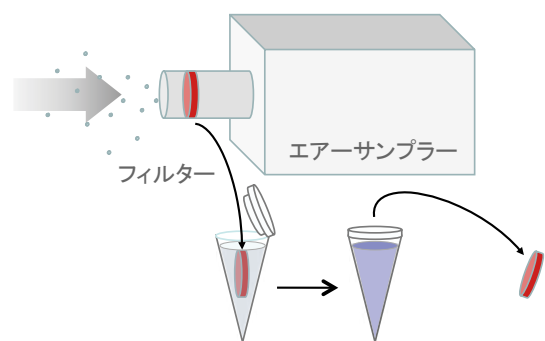


図12 空中アレルギー粒子の捕集とアレルギーの抽出
エアースンプラーのフィルター上に空中アレルギーが収集され、そのフィルター上のアレルギーを溶液中に抽出する。

試料の捕集にあつては、浮遊アレルギーの沈降による経時的な濃度減少を考慮する。個人の行動様式による暴露量の評価を行う場合は、携帯が可能な小型のエアースンプラーが選択される。また捕集時点における浮遊アレルギー濃度の測定を行う場合、ハイボリウムサンプラーを用いた捕集も行える。室内において短時間に多量の試料を捕集する場合、吸引による気流変化や残存粒子(浮遊粒子)濃度に及ぼす影響を考慮することは、アレルギー以外の試料捕集と同様に留意すべき点である。

7-3 その他

空中に浮遊した落下塵を予め設置したシャーレに回収するシャーレ法、対象表面の付着アレルゲンを粘着シートに付着させ回収するテープ法、そしてフィルターや布団綿などから直接抽出する方法など、対象や条件によって様々なアレルゲン回収方法が選択される。

08 | sandwich ELISAによるアレルゲンの測定

マイクロプレートの各ウェルに捕捉抗体を固相化し、BSA等を用いてポストコーティングを行う。次いでサンプルを各ウェルに投入して、抗体と反応させ、検出抗体、酵素、基質を順に反応させ、発色後の吸光度を測定する。既知の濃度の標準アレルゲンを用いて標準曲線を作製し、サンプルのアレルゲン濃度を求める。得られた溶液中のアレルゲン濃度は、単位サンプル量あたりのアレルゲン量として換算し表される(表5)。

近年、ELISAに必要な抗体や試薬がセットになったELISAキットが開発され、国内外の製品が、コマーシャルベースで入手可能である。国内製品の多くは、捕捉抗体が予めマイクロプレート上に固相化されている。そのため、測定時の作業工程が外国製品に比べ少なく、測定に要する時間が短縮された。

09 | 終わりに

ダニやスギなどの花粉は、鏡検によって形態学的に計数ができる。しかし、ダニであれば糞や破砕され原型を留めない死骸、スギ花粉であれば花粉外層を覆うユービッシュ体や不定形な粒子となったものなどは、形態学的に識別することが困難であり、定量することが難しいと考えられる。しかし、このような形態学的識別が困難なものでも、免疫学的方法を用いることで、アレルゲンとして測定を行うことが可能である。

環境中のアレルゲンの測定は、臨床的に重要と考えられる暴露に関わる汚染を定量的、且つ経時的な変化として評価することが出来る。そして得られた情報は、暴露予防等の対策に生かすことが可能となり、患者にとって有益な情報となると考えらる。

謝辞

本研究の一部は日本私立学校振興・共済事業団の私学助成および麻布大学研究推進・支援本部補助金の助成を受けたものである。

参考文献

- 1) TA. Platts-Mills, D. Vervlote, WR. Thomas, RC Aalberse, MD. Chapman, *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, S2- 24 (1997).
- 2) M. Sakaguchi, S. Inouye, T. Irie, H. Miyazawa, M. Watanabe, H. Yasueda, T. Shida, H. Nitta, MD. Chapman, C. Schou, RC Aalberse, *J. Allergy Clin. Immunol.* **92**, 797-802 (1993).
- 3) AK. Kristensen, C. Schou, P. Roepstorf, *Biol. Chem.* **378**, 899-908 (1997).
- 4) A. Konieczny, JP. Morgenstern, CB. Bizinkauskas, CH. Lilley, AW. Brauer, JF. Bond, RC. Aalberse, BP. Wallner, MT. Kasaian, *Immunology.* **92**, 577-586 (1997).
- 5) H. Yasueda, Y. Yui, T. Shimizu, T. Shida, *J. Allergy Clin. Immunol.* **71**, 77-86 (1983).
- 6) M. Sakaguchi, S. Inoue, M. Tania, S. Ando, M. Usui, T. Matuhasi, *Allergy.* **45**, 309-312 (1990).
- 7) 増田 進, 宇理須厚雄, 松山温子, 各務美智子, 徳田玲子, 藪田憲治, *アレルギー* **53**, s968 (2004).
- 8) AT. Fox, P. Sasieni, G. du Toit, H. Syed, G. Lack, *J. Allergy Clin. Immunol.* **123**, 417-423 (2009).
- 9) M. Sakaguchi, S. Inouye, H. Yasueda, T. Irie, S. Yoshizaaw, T. Shida, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **90**, 190-193 (1989).
- 10) M. Sakaguchi, S. Inouye, H. Yasueda, T. Shida, *Allergy* **47**, 55-57 (1992).
- 11) T. Pfeil, U. Schwabl, WT. Ulmer, W. König, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **91**, 224-231 (1990).
- 12) M. Amano, H. Ogawa, K. Kojima, T. Kamidaira, S. Suetsugu, M. Yoshihama, T. Satoh, T. Samejima, I. Matsumoto, *Biochem. J.* **330**, 1229-1234 (1998).
- 13) M. Nambu, N. Shintaku, S Ohta, *Pediatrics.* **117**, 2331-2332 (2006).
- 14) 吉沢 晋, 菅原文子, 安枝 浩, 信太隆夫, 入江建久, 阪口雅弘, 井上 栄, *アレルギー* **40**, 435-438 (1991).
- 15) CM. Luczynska, Y. Li, MD. Chapman, TA Platts-Mills, *Am. Rev. Respir. Dis.* **141**, 361-367 (1990).
- 16) 佐橋紀男, 高橋裕一, 村山貢司, スギ花粉症のすべて (メディカルジャーナル社, 東京, 1995).
- 17) 菅原文子, 宮沢博, 岡部かおり, 日本建築学会計画系論文集**515**, 75-81 (1999).
- 18) 安枝浩, 気管支喘息に関わる家庭内吸入性アレルゲン, 小屋二六・永倉俊和編 (メディカルレビュー社, 東京, 1999). pp35-43.
- 19) M. Sakaguchi, S. Inouye, T. Irie, H. Miyazawa, M. Watanabe, H. Yasueda, T. Shida, H. Nitta, MD. Chapman, C. Schou, RC. Aalberse, *J. Allergy Clin. Immunol.* **92**, 797-802 (1993).
- 20) H. Yasueda, H. Mita, Y. Yui, T. Shida, *Int. Allergy Appl. Immunol.* **90**, 182-189 (1989).

小児アレルギー性鼻炎診断の問題点とその克服の意義

What are clinical problems to overcome in pediatric pollinosis and allergic rhinitis?

日本医科大学医学部 耳鼻咽喉科学 教授／日本医科大学武蔵小杉病院 耳鼻咽喉科 部長 **松根 彰志**

Shoji Matsune (Professor / Director)

Nippon Medical School, Otolaryngology & Head and Neck Surgery / Nippon Medical School, Musashikosugi Hospital Department of Otolaryngology



キーワード

アレルギー性鼻炎、小児、診断

01 増加傾向にあるアレルギー性鼻炎、スギ花粉症 一緒に言いかえてー

本邦におけるアレルギー性鼻炎の有病率は約40%であり増加傾向にあると考えられている(1998年と2008年の比較)(図1)¹⁾。

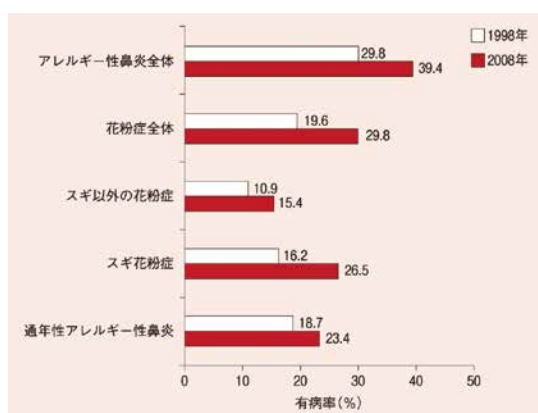


図1 アレルギー性鼻炎の有病率
鼻アレルギー診療ガイドライン 2016年(第8版)

その中でも、主なものはダニ(チリダニ科のヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニ)を抗原とする通年性アレルギー性鼻炎とスギ花粉を抗原とする季節性アレルギー性鼻炎の2つである。ダニによるものは、極めてグローバルなアレルギー性鼻炎であり、スギ花粉によるものは本邦特有のものである。アレルギー性鼻炎は10歳以上、60歳未満の世代で罹患率が高いが、近年低年齢化と同時に高齢化が進んでいる。年代別にみると30歳未満では、通年性アレルギー性鼻炎の方がスギ花粉症より多いが、それ以上の年齢層では通年性よりスギ花粉症の方が多い(2008年)(図2)。2016年に当科(日本医科大学武蔵小杉病院耳鼻咽喉科)で血中抗体陽性率の調査を行った結果、20歳以上ではダニ抗体よりもスギ花粉抗体陽性率のほうが上回っている。抗体陽性には、「感作しているが未発症」の場合も含まれるので注意が必要であるが、スギ花粉症は、アレルギー性鼻炎の中でも増加傾向にあると思われる。ただし、10歳未満の

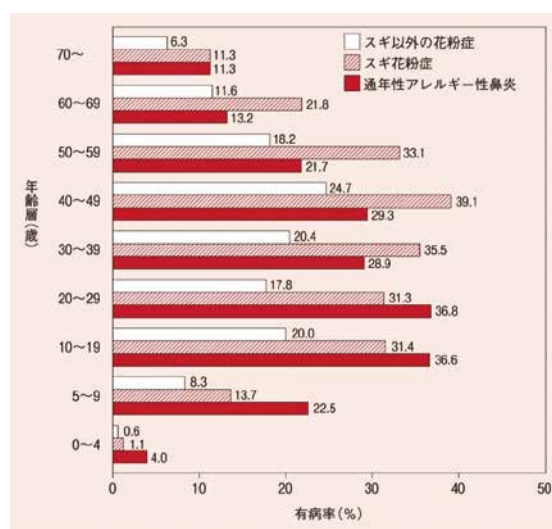


図2 年齢層別有病率
鼻アレルギー診療ガイドライン 2016年(第8版)

小児に関しては、有病率、陽性率ともに、スギ花粉症よりは圧倒的にダニによる通年性アレルギー性鼻炎の頻度が高い結果となった(図3,4)。

年齢別スギ&ヒノキ陽性率

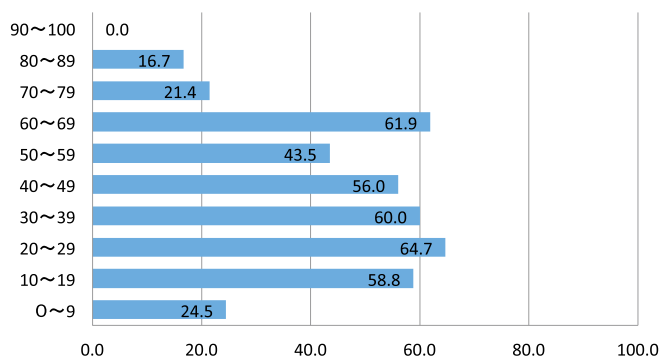


図3 スギ(&ヒノキ)、血中抗体陽性率
2016年 日本医科大学武蔵小杉病院 耳鼻咽喉科(対象208名)

年齢別ヤケヒョウヒダニ&コナヒョウヒダニ陽性率

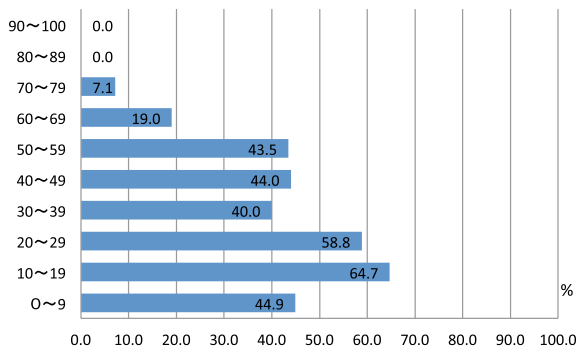


図4 ダニ(ヤケヒョウヒダニ&コナヒョウヒダニ)、血中抗体陽性率
2016年 日本医科大学武蔵小杉病院 耳鼻咽喉科(対象208名)

02 | 他のアレルギー疾患との疫学的検討

アレルギー性鼻炎の病態の中心は、即時型(I型)アレルギー反応であるが、類似疾患(アレルギー疾患)として気管支喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどがある。アレルギー性鼻炎が増加傾向にあることは先に述べたが、アレルギー疾患全体で見た場合、「リウマチ・アレルギー対策委員会報告書」によると、罹患率は本邦の全人口の3人に1人(平成17年)であったのが、急速に増加して平成23年には2人に1人と報告されている。こうした状況を踏まえ、アレルギー疾患対策基本法が平成27年12月25日に施行され、今後、本邦におけるアレルギー疾患対策は国を挙げて推し進めることになっている。

平成28年に発表された厚生労働省の「アレルギー疾患の推計患者数の年次推移」(図5)によると、アレルギー疾患の中でも、特に花粉症を含むアレルギー性鼻炎の推計患者数の増加が著しいことがわかる。

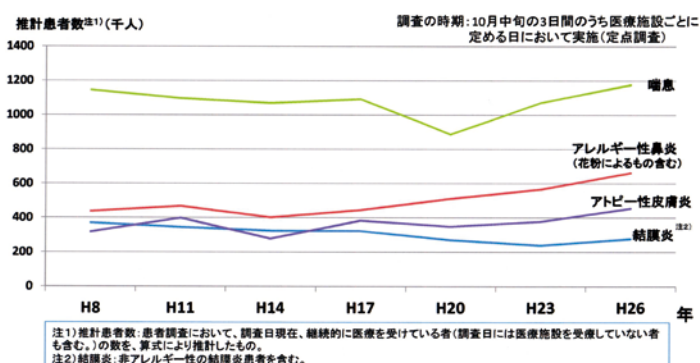


図5 アレルギー疾患の推計患者数の年次推移
厚生労働省 資料(平成28年2月3日)
患者調査(総患者数、性・年齢階級×傷病小分類別)データをもとに集計

また、「アレルギー疾患の年齢別患者構成割合」(図6)を見た場合、推計値ではあるが、アレルギー性鼻炎の患者数は、アトピー性皮膚炎と結膜炎よりも多く喘息に次ぐ。そして、どの疾患も全般的に若年者に多いが、特にアレルギー性鼻炎は他のアレルギー疾患と比べても「0～19歳」の年齢層で非常に多いことが特徴的である。

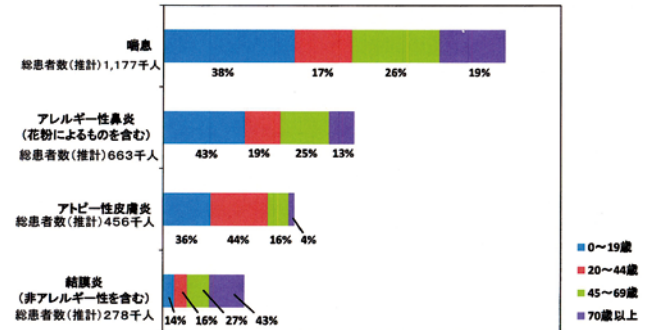


図6 アレルギー疾患の年齢別患者構成割合の比較(平成26年)
厚生労働省 資料(平成28年2月3日)
患者調査(総患者数、性・年齢階級×傷病小分類別)データをもとに集計

このように、未成年世代を中心としたアレルギー性鼻炎の増加傾向は、アレルギー性疾患の患者数全体を押し上げている可能性がある。

03 | 本邦に特徴的なスギ花粉症

本邦における特徴的かつ代表的な花粉症はスギ花粉症である。スギ花粉症は、近年スギ・ヒノキ花粉症とも呼ばれることがあり、多くのスギ花粉症患者がヒノキ花粉症の症状も呈する。したがって、スギ花粉飛散時期のみならずゴールデンウィークも終わり、そろそろイネ科の花粉症かと思われる時期まで鼻症状(くしゃみ、水様性鼻漏、鼻づまりなど)が続く。さらに鼻症状以外に強烈な目のかゆみやのどの違和感を示し、時には皮膚症状を呈するなど症状は極めて強い。本邦のスギ花粉症患者は、同じ花粉症でも欧州のイネ科花粉症、北米のブタクサ花粉症と比べて、ひどい症状に苦しめられており、QOL (Quality of Life, 生活の質)の低下は顕著である。有病率26%以上という疫学も示すように、スギ花粉症は重大な国民病である。スギ花粉症によるQOL障害は著しく労働生産性を低下させるとの調査報告もある²⁾。安倍晋三首相も2015年3月27日の参院予算委員会で、「(スギを中心とした)花粉症について「社会的、経済的にも大きな影響を与えており、政府をあげて対応すべき大きな課題だ」との見方を示している。重大なQOL疾患としてのスギ花粉症対策は急務である。

04 | 花粉症と口腔アレルギー症候群

口腔アレルギー症候群(Oral allergy syndrome: OAS)とは、食物の摂取時に口腔・咽頭粘膜を中心に生じるIgE抗体伝達性即時型食物アレルギーである。一般的には野菜・果実と花粉

との交叉抗原性によって起こる症候群としてとらえられることが多い。最近では、花粉-食物アレルギー症候群 (pollen food allergy syndrome; PFAS) とも呼ばれている(3)。

OASの臨床症状は、食物摂取直後から始まる。口唇、舌、口蓋、咽喉頭の急激な掻痒感、刺痛感、血管性浮腫などで、通常これらの症状は次第に治まっていく。稀に喉頭絞扼感や呼吸困難など重篤な症状をきたす場合も報告されている。診断は、病歴およびプリックテストなどによる特異液IgE抗体の証明によって行う。確定診断は、食物の舌下投与で行う。

食物アレルギーにはクラス1とクラス2があるが、OASやPFASはクラス2食物アレルギーである。以下にその概念の概略を述べておく¹⁾。

- ① クラス1食物アレルギー;食物を摂取することで経腸管感作により生じる食物アレルギーで、感作抗原と誘発抗原は同一である。熱や消化酵素に対して安定性が高い完全食物アレルギーが関与する。
- ② クラス2食物アレルギー;花粉など他の抗原を吸入・接触することで感作され、抗原の交叉反応性により生じる食物アレルギーである。(OAS, PFAS)どのような花粉症によりどのような食物アレルギーが起こり得るか、これまでの報告をもとにまとめると(表1)⁴⁾の如くなる。シラカバ(and ハンノキ)花粉症で最も頻度が高いと言われているが、スギ花粉症でもナス科やウリ科の食物などにアレルギー反応を起こしうることが知られている。

表1 花粉との共通抗原性が報告された主な果実・野菜

花粉	果物・野菜
シラカンバ	バラ科(りんご、西洋ナシ、サクランボ、モモ、スモモ、アンズ、アーモンド)、セリ科(セロリ、ニンジン)、ナス科(ポテト)、マタタビ科(キウイ)、カバノキ科(ヘーゼルナッツ)、ウルシ科(マンゴー)、シシトウガラシなど
スギ	ナス科(トマト)、ウリ科(メロン、スイカ)、マタタビ科(キウイ)
ヨモギ	セリ科(セロリ、ニンジン)、ウルシ科(マンゴー)、スパイスなど
イネ科	ウリ科(メロン、スイカ)、ナス科(トマト、ポテト)、マタタビ科(キウイ)、ミカン科(オレンジ)、豆科(ピーナッツ)など
ブタクサ	ウリ科(メロン、スイカ、カンタロープ、ズッキーニ、きゅうり)、パショウ科(バナナ)など
プラタナス	カバノキ科(ヘーゼルナッツ)、バラ科(りんご)、レタス、トウモロコシ、豆科(ピーナッツ、ヒヨコ豆)

05 | 小児「アレルギーマーチ」とダニアレルギー対策の重要性

以上のように本邦でのスギ花粉症対策の重要性を十分認識したうえで、小児のダニ抗原による通年性アレルギー性鼻炎対策の重大性を取り上げたい。かつて、馬場らは「アレルギーマーチの概念」(図7)⁵⁾に示す如く「アトピー素因を有する患児において、複数のアレルギー疾患が成長とともに新たに発症したり、増悪、軽快を繰り返す現象をアレルギーマーチという。」を提唱した。この概念は、ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)などの海外のガイドラインでも「アトピーマーチ」として紹介されている⁶⁾。ただし、その内容に関して、特にアレルギー性鼻炎と喘息の発症の関係について、もともとは「喘息の後にアレルギー性鼻炎」と示されていたが、現在では「アレルギー性鼻炎発症が先行し喘息発症の危険因子となる」との理解

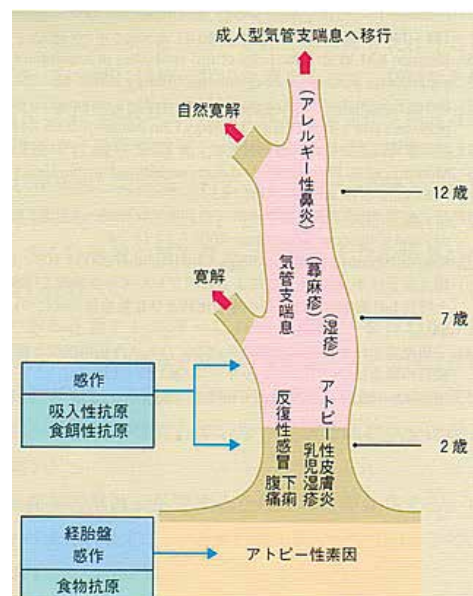


図7 アレルギーマーチの概念
馬場らの初期の図に基づく

が定着している⁴⁾。前述のデータのごとく、10歳未満の小児アレルギー性鼻炎は、ダニに対するI型アレルギーが原因であることが最も多く、スギ感作陽性よりもダニ感作陽性の方が喘息の発症に深く関与しているとの報告がある^{7,8)}。

小児での喘息の発症には、先天的な素因や生後の発育環境におけるダニ抗原暴露量などの多彩なリスクの関与が考えられるが、ダニ感作とダニによるアレルギー性鼻炎の先行がかなり重要な因子であることは間違いない。就学前の幼児が鼻漏を主訴として耳鼻咽喉科を受診した際、それがダニ抗原によるアレルギー性鼻炎であるか正確な診断が可能となれば、早期に治療介入できるようになる。その結果、その後の喘息発症のみならず新規の抗原感作も含めたアレルギーマーチの進行を抑制することが期待できるようになることから、早期診断は重要なアレルギー対策の一つと言える。

06 | 小児アレルギー性鼻炎の診断

小児でダニによるアレルギー性鼻炎の診断を正確に行い、治療介入を行うことの重要性は上述の如くであるが、実際には正確な診断は容易でないことが多い。小児といっても10歳前後より年長になってくると成人と同様の診断基準で行うことができる。しかし、就学前の幼児を対象とするとかなり難しくなる。特に限られた時間に多くの患者の処置等の診療を行う必要のある実地臨床の場ではかなり難しい。

1歳児のダニによるアレルギー性鼻炎の診断には、①適切な問診と②感作抗体(ダニ)の確認が重要との報告がある⁹⁾。この報告によると、鼻汁スメアーが意外とあてにならない。つまり、鼻汁好酸球が陽性であっても吸入抗原が陽性に出ない例が多くある。問診の中心となる鼻症状については、4歳に近づいてくるとアデノイド増殖症や口蓋扁桃肥大などの要素が加わってくるため、「鼻閉よりは、くしゃみの連発を中心として鼻水を伴っているかをしつこく聞くべし」とされている。1歳児のダニによるアレルギー性鼻炎の有病率は1.9%ということで、福井県の小児(1~2歳)アレルギー性鼻炎有病率の報告ともほぼ一致した内容

となっている(表2)。

表2 小児(1~2歳)アレルギー性鼻炎有病率の報告(文献9を引用)

	地域 発表年	対象年齢	N	調査方法	有病率
海外	ドイツ 2002	1歳	1743	質問票	14.20%
	ニュージーランド 2006	1歳3ヵ月	881		24.90%
	フランス 2011	1歳6ヵ月	1850		9.10%
	イギリス 1998	2歳	1218		5.00%
国内	福井 2012	2歳未満	408	*	1.50%

* 質問票、特異的IgE 鼻内炎症、鼻汁好酸球

こうした報告をもとに1~2歳でのダニによるアレルギー性鼻炎診断のための基準としては、以下の2点を基準とすることが望ましいと考える。

- ① 鼻閉よりは、くしゃみの連発を伴う鼻汁あるかを中心に確認。
鼻汁については感冒等を考慮し、2週間以上持続していることも確認する。
- ② スコア2以上のダニ抗体の確認。

現時点で②については、通常の採血が困難なため2社から耳朶血や指先から得られた少量の血液で感作抗原をチェックするキットが発売されており、これらを活用することが最も現実的である。しかし、アレルギー性鼻炎の診断は基本的には小児科ではなく耳鼻咽喉科が行うべきであること考えると、採血を伴う検査法は大規模病院では問題ないとしても、採血の機会が少ないクリニックなどでは難度が高い。このため、本来②を実施すべき場合であっても、現場では①を中心としたやり方で対処していることが多い。採血を伴う検査方法は、検査される側(親、小児)だけでなく、検査する側(医師)にも少なからぬストレスを与えることから、今後は②を容易に検査できるようにすることが、就学前小児のアレルギー性鼻炎診断の重要な課題の1つとなる。

である。新しい診断基準、診断学、あるいは診断ツールの開発が必要である。

参考文献

- 1) 鼻アレルギー診療ガイドライン—通年性鼻炎と花粉症—。鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会編。2016年度版(改訂第8版)(ライフ・サイエンス、(東京、改訂第8版、2016)。
- 2) 荻野 敏、伊藤 真貴。アレルギー性疾患の労働生産性(解説) 鼻アレルギーフロンティア 9(2)、: 58-62、(2009)。
- 3) 千貫祐子、花粉—食物アレルギー症候群(pollen food allergy syndrome; PFAS)Prog. Med. 36(11)、1523-1527、(2016)。
- 4) 近藤康人、口腔アレルギー症候群 小児科臨床 63(12)、:2469-76、(2010)。
- 5) M. Baba M, K. Yamaguchi, K. "The allergy march" Can it be prevented? Allergy & Clinical Immunology News. 1(3)、:71-73、(1989)。
- 6) ARIA 2008 (日本語版)、ARIA2008日本語版編集委員会編、ARIA日本委員会 監修、ARIA2008日本語版編集委員会(協和企画、東京、Allergy 63 (suppl 86)、2008)。
- 7) 島 正之、安達元明、小学生のスギ花粉症とそれに関する因子の検討。千葉大学環境科学研究報告 :27、: 9-14、(2002)。
- 8) 島 正之、佐橋紀男、小学生の血清スギ特異的IgE抗体および花粉症症状に関する疫学的研究。千葉大学環境科学研究報告 :28、: 1-6、(2003)。
- 9) 米倉修二、小児アレルギー性鼻炎診断法についての検討。第19回那須ティーチン学会集録集、p22-p31、岡本美孝(編、集)pp.22-31 (2015)。

07 | まとめ

1. アレルギー性鼻炎は今後とも増加傾向にあり、発症の低年齢化と高齢化も進んでいる。
2. アレルギー疾患全体の中でも、アレルギー性鼻炎の増加傾向、若年層での有病率の高さは特に著しい。
3. スギ花粉症は、わが国に特徴的なアレルギー性鼻炎であり、QOLへの影響は他の花粉症より大きい。
4. 花粉症は、口腔アレルギー症候群(花粉—食物アレルギー症候群、クラス2食物アレルギー)を引き起こすことがある。
5. 10歳未満の小児では、スギ花粉症よりダニによるアレルギー性鼻炎が著しく多い。
6. 幼少児のダニによるアレルギー性鼻炎は、アレルギーマーチ等その後のアトピー疾患全体を制御する観点から早期に介入し治療すべき。
7. 幼少児の特に1~2歳児の、アレルギー性鼻炎の診断は困難

止血作用を持つ植物由来物質

Hemostatic natural substances from plants

帝京大学薬学部 病態生理学研究室 准教授 **大藏 直樹**

Naoki Ohkura (Associate professor)

Department of Molecular Physiology and Pathology, School of Pharma-Sciences, Teikyo University



キーワード

生薬、止血薬、血液凝固

1 はじめに

血液の全成分が血管外に出ることを出血という。皮膚の表面の小さな切り傷や擦り傷からの少量の出血を日常経験する機会も多いが、出血がいつまでも止まらなかったらどうなるのかなどと考えることはないかもしれない。しかし、出血は、生命に重大な危険を及ぼすこともあるため、それを止める止血は生体にとって非常に重要な生理機構である。また、止血は傷口からの体液流出を防ぐだけでなく微生物の体内への侵入を防ぐための生体防御機構でもある。傷口が修復されるためには止血機構が働いて止血血栓がつくられる必要がある。

人類の歴史は戦いの歴史であり、怪我や出血と戦った歴史であるともいえる。そのため、生体に備わった止血機構を手助けし、速やかに止血するために古くから様々な止血薬が用いられてきた。止血機構は血小板や血液凝固因子、血管の内側を覆う血管内皮細胞などによって構成されているが、我々はこれらを調節する機能を持つ植物由来の天然物の探索研究を行ってきた¹⁾⁻⁷⁾。このような天然物を使えば血液を固まりやすくしたり固まりにくくしたりできるからである。つまり、このような天然物の中には、出血時に血を止める止血薬となりそうなものや、止血機構が病的に働いて血液が固まってしまう血栓症の予防や治療に応用できそうなものがあるのである。本稿では、特に止血に注目し、まず止血機構と止血薬について述べ、そして我々がこれまでの研究で出会った植物由来の止血物質とその応用の可能性について概説したい。

2 止血機構と止血

健常な状態では、血液は血管内を滞ることなく血管内を流れているが、血管が傷つくと血液は血管外に流れ出る。こ

れを出血という。出血には、怪我や組織の損傷により血管が損傷して血液が漏れ出るものと、血小板や凝固因子が正常に働かないため正常な止血機構が働かずに起こる出血、すなわち、出血性素因が理由となる出血がある。出血性素因があると、打撲がなくても皮下出血や内臓出血がみられたり、傷口からの出血が止まりにくいなどの症状がみられたりする。いずれにしても、出血した時は適切な処置を行って速やかに止血する必要がある。

出血がいつまでも止まらなければ大切な体液が身体から失われるため、生体には出血を止める機構(止血機構)が備わっている(図1)。

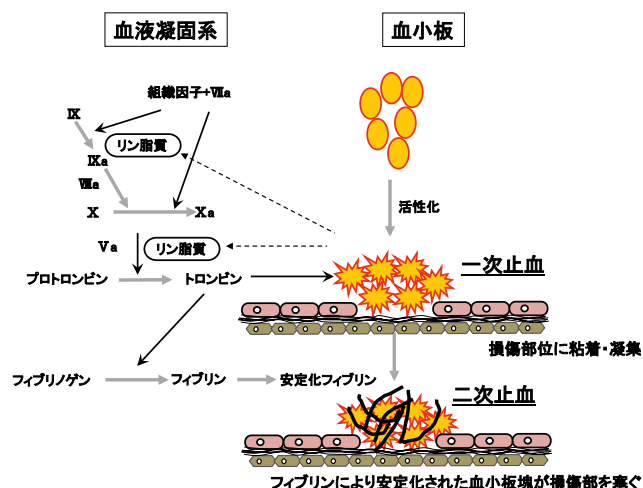


図1 血液凝固系と血小板による止血機構

止血には血液に含まれる細胞成分の一種である血小板、血漿中の凝固因子と線溶因子、および、血液が流れる血管とその内側を覆う内皮細胞などの止血関連因子が複雑に関係している。血管が損傷すると血小板が傷口に粘着し、粘着した血小板が活性化すると、さらに多くの血小板が集合して凝集し血小板による血栓が作られて傷口を塞ぐ。これを一次止血という。一次止血に引き続き、活性化された血小板のリン脂質膜上では凝固因子が段階的に増幅されて活性化さ

れる血液凝固反応が進行する。血液凝固反応では、血液中の凝固因子と呼ばれる一群のタンパク質の働きでできた酵素であるトロンビンが、フィブリノーゲンをフィブリンという線維状の物質に変換する。そして、このフィブリンの網目構造が血小板血栓を強固に結び付けて、安定な血栓を作る。これを二次止血という。損傷した血管が修復され、止血していた血栓が不要になると線溶系が働いて血栓は溶かされて除去される。血液凝固反応は様々な機構で制御されているが、その制御機構に異常が生じたり、動脈硬化など血管が損傷を受けたりすると不必要な血栓が形成されて血管閉塞が起こり、末梢組織の壊死をきたす血栓症につながる。

ところで、近年、止血関連因子は、止血や血栓症の発症だけでなく、ガンの増殖や転移への関与^{8),9),10)}、血管への作用^{11),12)}、アレルギーへの関与¹³⁾、中枢神経系¹⁴⁾での作用などが明らかになってきた。また、血栓を溶かして血流を再開させる薬剤として使われる組織プラスミノゲン活性化因子(tPA)に組織再生効果が見つかったことや、血小板が創傷治療や組織再生作用を持つことも興味深い^{15),16),17)}。我々が注目している血液凝固系に作用する天然物は、出血や血栓症などに関連する止血機構の制御だけでなく、止血関連因子が持つ止血以外の生理機構を制御する物質である可能性もある。

3 医療で使われる止血薬

止血薬は、血管強化薬、凝固促進薬、抗線溶薬、局所止血薬などに分類される(表1)^{18),19),20)}。

表1 止血薬の分類

血管強化薬	カルバゾクロム、アドレノクロム
凝固促進薬	ヘモコアグラージ
抗線溶薬	トラネキサム酸、イブシロンアミノカプロン酸
局所止血薬	トロンビン製剤、コラーゲン使用吸収性局所止血剤、酸化セルロース、液体フィブリン製剤、液状フィブリン接着剤、アドレナリンなど

血管強化薬とは、毛細血管の透過性を抑制し、脆弱性を改善することによって出血を防止する薬で、カルバゾクロムやアドレノクロムなどがこれに属す。血管透過性が高まると血液成分が血管外に漏出し出血も多くなるが、血管強化薬は血管透過性が高まるのを抑制して止血するもので、凝固系や線溶系とは関係なく止血作用を示すと考えられている。その効果は強いものではなく、作用機序については不明な点もあるが、紫斑病や皮膚や粘膜からの出血に対して用いられている。

凝固促進薬のレプチラーゼ(ヘモコアグラージ)は蛇毒由来の酵素である。蛇毒に止血作用があることは、18世紀頃から知られていたが1950年代にKlobusitzkyらによって、ブラジル産の毒蛇*Bothrops jararaca*から血液凝固・止血作用を有する酵素が分離精製され、ヘモコアグラージと命

名された²¹⁾。この酵素は血液凝固反応の最終段階で働くトロンビンと同様の作用を示すだけでなく、外因系凝固反応を活性化するトロンボプラスチン様作用、血小板凝集を促進する作用なども併せ持つとされ、肺出血、鼻出血、口腔内出血、性器出血、腎出血、創傷出血の治療に、筋肉内又は静脈内に投与して使われる。ヘビ毒からは血液凝固系に作用する物質が数多く見つかり、古くから血液凝固系を制御する薬物としての利用が考えられてきたが、レプチラーゼは現在臨床の場で利用される唯一の蛇毒製剤のようである。

抗線溶薬とは、血栓が溶解されるときに働くプラスミンというプロテアーゼを阻害する抗プラスミン薬のことで、血栓の溶解を抑制して止血作用を示すものである。トラネキサム酸が内服薬や注射薬として使われており、線溶反応が亢進することによって起こる異常出血に極めて有効である。

局所止血薬は、小血管や毛細血管からの出血(外傷に伴う出血、手術中の出血、膀胱出血、抜歯後の出血、鼻出血、上部消化管からの出血など)が止血されにくいときに使用されるもので、トロンビン製剤、コラーゲン使用吸収性局所止血剤、酸化セルロース、液状フィブリン接着剤、アドレナリンなどがある。トロンビン製剤はヒトやウシの血液から精製した凝固因子で、出血部位に生理食塩液に溶かして噴霧するか、あるいは粉末のまま出血部位に撒布して出血部位にフィブリンを生成させて止血する。また胃潰瘍など上部消化管出血の場合には、適当な緩衝剤に溶かしたトロンビン製剤溶液を経口投与して止血することもある。コラーゲン使用吸収性局所止血剤は、ウシ真皮コラーゲンの三次元構造を保持したまま微結晶にした微線維性コラーゲンで、傷口へ強く付着して優れた血小板凝集作用を発揮する。酸化セルロースはヘモグロビンと結合し凝血塊を形成し密着するものである。液状フィブリン接着剤は、ヒトのフィブリノーゲンと第XIII因子を含有した第1液とトロンビンとカルシウムを含む第2液の2つを傷口に塗布し、創面で架橋化フィブリンを接着剤のように生成させて止血する。アドレナリンは、その血管収縮作用を利用し粘膜などからの出血に対する局所止血薬として用いられる。

4 止血作用を持つ植物由来物質

4.1 止血作用を持つ植物

古くからヨモギ、ドクダミ、イタドリなどの野草が切り傷や擦り傷の止血の治療に民間薬として使われてきた。これらの野草にどれくらいの止血効果があるのかについては不明な点も多いが、局所における止血効果は野草に含まれるタンニンの収斂作用による組織や血管の収縮が機序の1つであると考えられる。実際、これらの野草には多くのタンニンが含まれている²²⁾。

一方、漢方処方薬などの原料となる生薬の中には、止血作用があるとされてきたものがあるが、これらの中には現

代医療の中で新たな使い方が模索されているものもある。例えば、田七(でんひち)は、ウコギ科ニンジン属の田七人参 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. CHEN の根を乾燥させたもので、歯科領域で臨床応用の可能性が示唆されてきた²³⁾。抗凝固薬を使用している患者では血液凝固因子の活性が抑えられ、また、肝炎の患者では肝臓での産生が低下して血液凝固因子の量が減少する。このような患者では、抜歯後の止血が起こりにくいことが問題であるが、患者に田七エキスをを用いて効果的に止血を行った例が報告されている²⁴⁾²⁵⁾。また、複数の生薬を組み合わせて作られた漢方薬が、鼻出血、子宮出血などの治療に有効性を示した例も報告されている²⁶⁾²⁷⁾。

止血に用いられる生薬については、小菅らのグループにより体系的な研究が本邦でおこなわれてきた。その結果、田七、地榆(ちゆ)、旱蓮草(かんれんそう)などの生薬の熱水エキスを腹腔内に投与したマウスで明らかな止血作用が確認されている²⁸⁾。これらの生薬の中の止血成分についても1980年代に小菅らにより単離され、一部は構造決定もなされているが^{29),30),31)}、作用点や作用機序に関する解明はその後も行われていないようである。国外のグループの報告もあるが、成分や作用機序の解明が行われているものは見当たらない。止血作用を持つと報告されている植物を表2に示した²⁹⁻⁴⁸⁾。

表2 止血作用を持つとされる植物

植物名(生薬名)	試験方法	活性成分	参考文献
<i>Annona senegalensis</i>	coagulation	tannins, mucilages	33)
<i>Artemisia annua</i> L.	coagulation	unknown	35)
<i>Artemisia montana</i> (艾葉)	tannin activity	chlorogenic acid, dicaffeoylquinic acid	36)
<i>Biota orientalis</i> (側柏葉)	tail bleeding	quercitrin	37)
<i>Cassytha filiformis</i>	coagulation	alkaloids, tannins, mucilage	33)
<i>Cirsium japonicum</i> (大薊)	tail bleeding	pectolinarin	34)
<i>Cissampelos mucronata</i>	coagulation	alkaloids, tannins	33)
<i>Crocus sativus</i> L.	coagulation	unknown	38)
<i>Gastrodia elata</i> (天麻)	coagulation	unknown	38)
<i>Hypericum erectum</i> (旱蓮草)	tail bleeding	wedelolactone, desmethylwedelolactone	39)
<i>Impatiens balsamina</i> L. (鳳仙花)	coagulation	unknown	38)
<i>Jatropha multifida</i>	coagulation	unknown	40)
<i>Lamioophlomis rotata</i>	tail bleeding	unknown	41)
<i>Musa sapientum</i>	coagulation	unknown	42)
<i>Nelumbinis receptaculum</i> (蓮房)	tail bleeding	quercetin	43)
<i>Newbouldia laevis</i>	coagulation	tannins, triterpenoids, mucilages	33)
<i>Panax pseudoginseng</i> (田七)	tail bleeding	denticine (β -N-oxalo-L- α,β -diaminopropionic acid)	29)
<i>Pelargonium zonale</i>	tail bleeding	unknown	44)
<i>Prunus armeniaca</i> (杏仁)	coagulation	unknown	38)
<i>Prunus persica</i> (桃仁)	coagulation	unknown	38)
<i>sanguisorba officinalis</i> L. (地榆)	tail bleeding	3,3',4-tri-O-methyllellagic acid	45)
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> (荊芥)	coagulation	unknown	46)
<i>Sophora japonica</i> (槐花)	tail bleeding	quercetin	47)
<i>Trillium kamtschaticum</i>	platelet aggregation	spirostanol glycosides	48)
<i>Typha latifolia</i> (蒲黄)	tail bleeding, coagulation	isorhamnetin, acidic polysaccharide	1) 2) 31)

4.2 ガマの止血作用

蒲黄(ほうおう)は日本全土の川辺、湿地に自生するガマ科の多年草のガマやヒメガマなどの成熟花粉で、古くから止血に使われてきた(図2)。



図2 ガマとガマ花粉(蒲黄)

ガマ花粉は、外用で擦り傷、切り傷などの止血効果があるほか、内服で吐血、子宮出血、血尿などの出血を止める作用があるとされている。また、打ち身や打撲などで内出血がある場合に患部に塗布するとうっ血をとる効果があるともされている。つまり、様々な出血に対して、塗って効くこともあれば飲んで効くこともあるというのである。しかし、ガマ花粉の止血作用に関する研究はほとんど行われていない。止血作用があると誤解されたまま長年使われてきただけで、実際には止血作用など持たない可能性もある。そこで、我々は、血液やマウスを使った実験で、ガマ花粉の止血作用についての検討を行った。

ガマ花粉に蒸留水を400mL加えて煎じ、約200mLになるまで煮詰めたものを遠心・濾過して微粉末を除いたものを実験に使用した。図3はガマ花粉抽出液の血液凝固時間への影響を示したものである¹⁾。

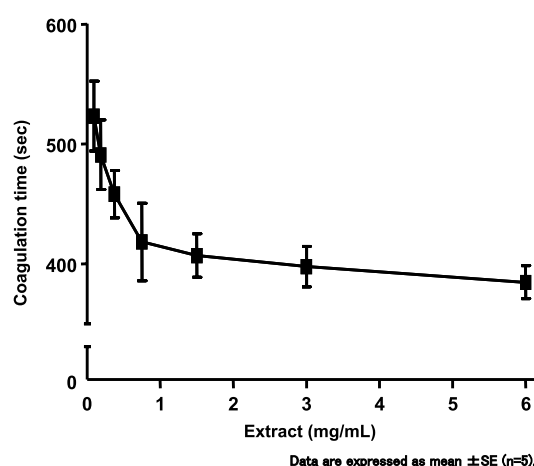


図3 ガマ花粉抽出液による血漿の血液凝固反応時間の短縮 (Ohkura et al. 2011より)

血漿に塩化カルシウムを加えると血漿は凝固するが、これにガマ花粉抽出液を加えると添加量依存的に凝固時間は短縮され、ガマ花粉抽出液は血漿の凝固反応を促進する作用があることがわかった。さらに検討した結果、凝固時間を短

縮する物質は、ガン花粉から抽出された酸性多糖類であり、これが内因系凝固反応の開始段階で働く凝固第Ⅻ因子の活性化を促進したことが明らかとなった¹⁾。酸性多糖類によるこの反応は、ガン花粉の外用による止血効果の一部を担っていると思われる。次にマウスを使った実験により止血効果を調べた。ガン抽出液(乾燥重量1.2mgの成分を含む)を1日1回マウスに7日間経口投与し、最終経口投与の3時間後に麻酔を投与した。完全に麻酔が効いたことを確認後に尻尾の先端を2mm切断し、濾紙に血液が付かなくなるまでの時間を測定して、これを止血時間とした。蒸留水を投与したコントロールマウスでは、止血するまでに550秒ほどかかったが、ガン花粉抽出液を投与したマウスでは、300秒ほどで止血された¹⁾。止血薬としては投与後速やかに効果が現れることが望まれるため、投与後どれくらいの時間で止血効果が見られるかについても検討した。その結果、経口投与による止血効果はガン抽出液投与1時間後には認められた²⁾(図4)。

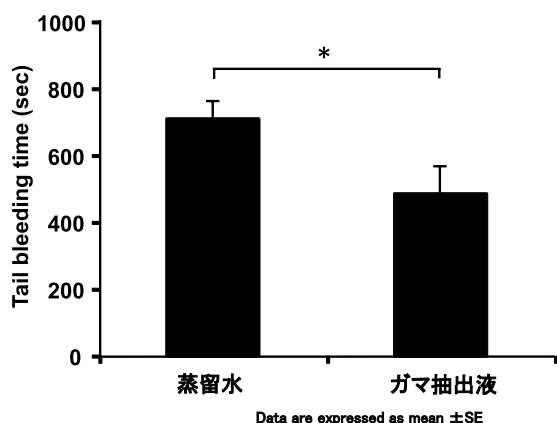


図4 ガン花粉抽出液による止血時間の短縮 (Ohkura et al. 2012より) (* P<0.05, n=6)

また、酸性多糖類による凝固第Ⅻ因子の活性化もガン花粉抽出液との反応開始後分単位で起こり、止血効果は短時間で現れることがわかった²⁾(図5)。

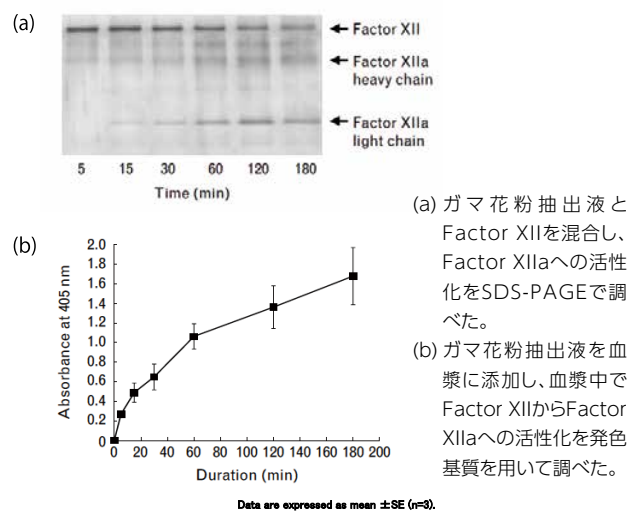


図5 ガン花粉抽出液による凝固第Ⅻ因子の活性化 (Ohkura et al. 2012より)

経口投与による作用に酸性多糖類が関与するかどうか調べるため、酸性多糖類を除去したガン花粉抽出液を経口投与したが止血効果に変化はなかった。このことは、内服による止血作用には酸性多糖類以外の物質が関与することを示す。ガン花粉中には、酸性多糖類の他にもフラボノイドなど多種のポリフェノールが含まれている。ガン花粉から抽出したフラボノイドの一種であるイソラムネチンのみを腹腔内に注入するとマウスの止血時間が短くなることが既にIshidaらによって示されていることから³¹⁾、ガン花粉を経口投与した時の止血時間短縮に関わる物質もイソラムネチンである可能性が高い(図6)。

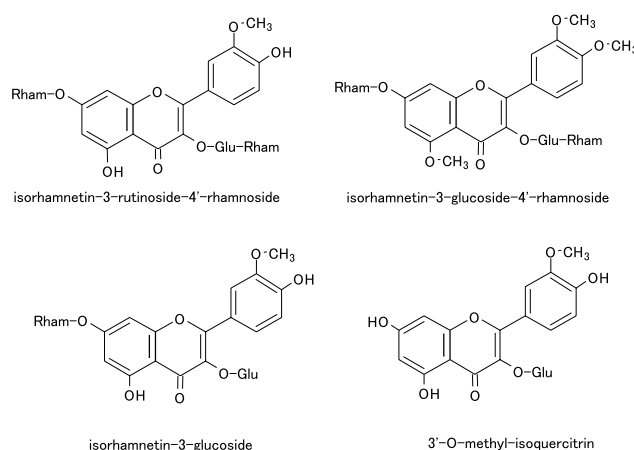


図6 ガンに含まれるイソラムネチン

我々は、外用による止血作用についてもマウスを用いた実験で調べた。マウスに麻酔を投与し完全に麻酔が効いたことを確認後、先端2mmを切断した尻尾をチューブに入れたガン花粉抽出液に浸した。その5分後にチューブの赤血球数を測定して出血量を測定したところ、ガン花粉抽出液は、出血量を有意に減少させた¹⁾。詳細な機序については今後解明する必要があるが、ガン花粉は経口投与でも外用でも止血作用を示すことが動物実験で示された。

4.3 土方家の家伝薬、石田散薬

石田散薬は新選組の副長、土方歳三の生家が製造、販売していた家伝薬で、切り傷、骨折、打ち身、捻挫等に効用があるとされていた。服用法はユニークで、水ではなく熱燗にした日本酒で服用するというものであった。製造法は、河川の水辺に生えるタデ科多年草ミゾソバを天日で乾燥させた後に黒焼きにして鉄鍋に入れ、日本酒を散布して再び乾燥させた後に、薬研にかけて粉末にするというものである。石田散薬は、1948年(昭和23年)の薬事法改正まで約250年間製造・販売されていた家伝薬であるが、現在は薬として使われることはない。しかし、伝説の秘薬ともいえる石田散薬に興味を抱く人もおり、石田散薬の成分についての研究がなされている⁴⁹⁾。再現した石田散薬の成分を解析したところ、興味深いことに上記のガン花粉の止血成分と同じイソラムネ

チンが含まれていたと報告されている⁴⁹⁾。石田散葉は切り傷や内出血に対し一定の効果があつたのかもしれない。

4.4 種々の生薬の止血作用の可能性

これまで述べてきたように、多くの植物や生薬由来物質には止血作用が見られる。一般的な生薬114種の抽出液ライブラリーを対象に、血液凝固反応と凝固第Ⅱ因子の活性化を指標にスクリーニングを行い、止血作用を示す可能性のある生薬の探索を行った⁵⁾。その結果、赤芍(せきしゃく)・檳榔子(びんろうじ)などをはじめとした17種類の生薬抽出物に血液凝固反応を促進する作用がみられた⁵⁾。これらの中の牛蒡子(ごぼうし)や艾葉(がいよう)、には、凝固第Ⅱ因子を活性化する作用もみられた⁵⁾。in vitroの凝固促進作用を指標にしたものであるため実際の止血効果は明らかでないし、他の評価系を使えば同ライブラリーから別の生薬が候補に上がるかもしれないが、これまで止血薬として使われなかった生薬の中に止血薬としての可能性を持つものが存在するのかもしれない。

5 終わりに

植物由来物質の中には優れた止血作用を持つ物質も存在する。民間薬や生薬として古くから利用されているものもあるが、上述のように作用機序や有効な成分など明らかになっていない点が多い。これらが解明されれば止血薬として臨床の場で応用できるものとなる可能性も考えられる。20年ほど前までは、植物由来の物質の止血作用についての研究が本邦でも幾つか見られたが、近年ではその存在が忘れられている感もある。植物由来の止血物質は、時代遅れで忘れ去られる運命にあるものかもしれないが、その有用性が見落とされているだけならば、完全に忘れ去られてしまう前に今一度、再開発の可能性を探ってみてもよいかもしれない。

参考文献

- 1) N. Ohkura, K. Tamura, A. Tanaka, J. Matsuda, G. Atsumi, *Blood Coagul. Fibrinolysis* **22**(8), 631-636 (2011).
- 2) N. Ohkura, C. Tauchi, A. Nakayama, G. Atsumi, *Blood Coagul. Fibrinolysis* **23**(3), 254-255 (2012).
- 3) N. Ohkura, Y. Nakakuki, M. Taniguchi, S. Kanai, A. Nakayama, K. Ohnishi, T. Sakata, T. Nohira, J. Matsuda, K. Baba, G. Atsumi, *Biofactors* **37**(6), 455-461 (2011).
- 4) N. Ohkura, H. Oiwa, K. Ohnishi, M. Taniguchi, K. Baba, G. Atsumi, *J Intercult Ethnopharmacol* **4**(4), 355-357 (2015).
- 5) N. Ohkura, H. Yokouchi, M. Mimura, R. Nakamura, G. Atsumi, *J Intercult Ethnopharmacol* **4**(1), 19-23 (2015).
- 6) N. Ohkura, K. Oishi, F. Kihara-Negishi, G. Atsumi, T. Tatefuji, *J Intercult Ethnopharmacol* **5**(4), 439-443 (2016).
- 7) N. Ohkura, K. Ohnishi, M. Taniguchi, A. Nakayama, Y. Usuba, M. Fujita, A. Fujii, K. Ishibashi, K. Baba, G. Atsumi, *Pharmazie* **71**(11), 651-654 (2016).
- 8) A. M. Hanly, D. C. Winter, *Semin. Thromb. Hemost.* **33**(7), 673-679 (2007).
- 9) 竹本愛, 藤田直也, 日本血栓止血学会誌 **27**(1), 11-17 (2016).
- 10) U. Leppert, A. Eisenreich, *Int. J. Cancer* **137**(3), 497-503 (2015).
- 11) 内場光浩, 日本血栓止血学会誌 **19**(3), 378-383 (2008).
- 12) 永井信夫, 日本血栓止血学会誌 **22**(1), 41-48 (2011).
- 13) 瀬嶋尊之, 日本血栓止血学会誌 **18**(4), 302-308 (2007).
- 14) 永井信夫, 日本血栓止血学会誌 **20**(1), 18-22 (2009).
- 15) M. Ohki, Y. Ohki, M. Ishihara, C. Nishida, Y. Tashiro, H. Akiyama, H. Komiya, L. R. Lund, A. Nitta, K. Yamada, Z. Zhu, H. Ogawa, H. Yagita, K. Okumura, H. Nakauchi, Z. Werb, B. Heissig, K. Hattori, *Blood* **115**(21), 4302-4312 (2010).
- 16) 高橋一広, 村田聡一郎, 大河内信弘, *Organ Biology* **20**(1), 19-28 (2013).
- 17) 岡田清孝, 松尾理, 日本血栓止血学会誌 **19**(2), 216-225 (2008).
- 18) 早川峰司, 丸藤哲, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 278-280 (2009).
- 19) 森美貴, 和田英夫, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 281-284 (2009).
- 20) 朝倉英策, 林朋恵, 日本血栓止血学会誌 **20**(3), 285-288 (2009).
- 21) D. Klobusitzky, *Am. J. Med. Sci.* **242**, 107-123 (1961).
- 22) 奥田拓男, 日本醸造協会雑誌 **78**(10), 728-732 (1983).
- 23) 王宝禮, 日本歯科東洋医学会誌 **31**(1-2), 1-6 (2012).
- 24) 角田宗弘, 藤原春奈, 齋藤道雄, 永山正人, 日本歯科東洋医学会誌 **26**(1-2), 23-27 (2007).
- 25) 齋藤道雄, 永山正人, 岩崎嘉代, 木村明美, 平井由香里, 秦光潤, 佐々木康弘, 梶 純也, 山下満, 須藤孝秀, 市川徹, 雨宮淳, 田村直樹, 日本歯科東洋医学会誌 **33**(1-2), 47-49 (2014).
- 26) 勝田正泰, 日本東洋医学会誌 **29**(4), 183-185 (1978).
- 27) 岩淵慎助, *Pharma Medica* **25**(10), 47-51 (2007).
- 28) 小菅卓夫, 横田正実, 吉田昌史, 落合明男, 薬学雑誌 **101**(6), 501-503 (1981).
- 29) 小菅卓夫, 横田正実, 落合明男, 薬学雑誌 **101**(7), 629-632 (1981).
- 30) T. Kosuge, H. Ishida, M. Ishii, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(4), 1496-1498 (1985).
- 31) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **37**(6), 1616-1618 (1989).
- 32) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **36**(11), 4414-4420 (1988).
- 33) C. Dandjesso, J. R. Klotso, T. V. Dougnon, J. Segbo, J-M. Ategbro, F. Gbaguidi, L. Fah, B. Fanou, F. Loko, K. Dramane, *Indian J Sci Technol* **5**(8), 3105-3109 (2012).
- 34) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **35**(2), 861-864 (1987).
- 35) B. Wang, J. Sui, Z. Yu, L. Zhu, *Iran J Pharm Res* **10**(1), 57-62 (2011).
- 36) 縣功, 薬学雑誌 **119**(4), 237-248 (1999).
- 37) T. Kosuge, H. Ishida, T. Satoh, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(1), 206-209 (1985).

- 38) 奥山徹, 成井孝雄, 倉田英明, 王正徳, 橋本孝雄, 竹内幸一, 大村弥生, 大野雪子, 和漢医薬学会誌 **5**, 167-178 (1988).
- 39) T. Kosuge, H. Ishida, T. Satoh, *Chem. Pharm. Bull.* **33**(1), 202-205 (1985).
- 40) T. V. Dougnon, J. R. Klotoe, P. A. Etorh, J. Segbo, J. M. Ategbo, O. A. Sodipo, T. J. Dougnon, C. Dandjesso, F. Loko, K. Dramane, *J. Phys. Pharm. Adv.* **2**(6), 227-234 (2012).
- 41) M. Li, Z. Jia, Z. Hu, R. Zhang, T. Shen, *Phytother Res* **22**(6), 759-765 (2008).
- 42) J. R. Klotoe, T. V. Dougnon, T. I. Sacramento, C. Dandjesso, A. P. Etorh, H. Koudokpon, V. B. A. Fanou, L. Fah, J.M. Ategbo, F. Loko, K. Dramane, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2**(7), 65-69 (2012).
- 43) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **36**(11), 4585-4587 (1988).
- 44) X. Paez, L. Hernandez, *J Clin Pharmacol* **43**(3), 291-295 (2003).
- 45) T. Kosuge, H. Ishida, M. Yokota, M. Yoshida, *Chem. Pharm. Bull.* **32**(11), 4478-4481 (1984).
- 46) A. W. Ding, H. Wu, L. D. Kong, S. L. Wang, Z. Z. Gao, M. X. Zhao, M. Tan, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **18**(10), 598-600 (1993).
- 47) H. Ishida, T. Umino, K. Tsuji, T. Kosuge, *Chem. Pharm. Bull.* **35**(2), 857-860 (1987).
- 48) Y. Chen, W. Ni, H. Yan, X-J. Qin, A. Khan, H. Liu, T. Shu, L-Y. Jin, H-Y. Liu, *Phytochemistry* **131**(1), 165-173 (2016).
- 49) 山田健二, 寺澤雅治, 上村直樹, 椿孝治, 松岡寛, 志田保夫, 伊奈郊二, 東京薬科大学研究紀要 **8**, 57-62 (2005).



キーワード解説

アレルギー

ダニや花粉、食物中の成分などの異物(抗原物質)に感作されている生体に、その異物が再び侵入した時に、生体中で産生される特異的に反応する免疫物質(IgE抗体)により起こる過剰な免疫反応(抗原抗体反応)に基づく炎症などの障害を指します。これらのアレルギー反応はI型からIV型まで分類されており、近年、短い時間で症状が出るI型(即時型)が増えています。

アレルギー反応の分類(GellとCoombsの分類を一部改編)

Type	I型	II型	III型	IV型
別名	即時型、アナフィラキシー型	細胞傷害型、細胞融解型	免疫複合体系、Arthus型	遅延型、細胞性免疫型、ツベルクリン型
関連する因子	好塩基球、マスト細胞(肥満細胞)、IgE抗体	抗体(IgG、IgM)、補体	免疫複合体(IgG、IgM)	感作T細胞(Tリンパ球)
主な抗原	外来性抗原(ダニ、スギ花粉、ハウスダスト、カビなど)	自己抗原(細胞膜や基底膜等)	自己抗原(変性IgGやDNAなど)	自己抗原
代表疾患	気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシーなど	自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、バセドウ病(V型)など	膠原病、急性糸球体腎炎など	ツベルクリン反応、接触性皮膚炎など

アレルゲン

アレルギー反応を引き起こす抗原物質のことを指します。空気中を浮遊しているスギ、ブタクサ、ヒノキ、その他の草木の花粉、カビなどの菌類、動物の皮膚、昆虫毒、ダニ、室内塵(ハウスダスト)、食物中の成分、ある種の薬物などがアレルゲンとして知られています。これらの多くは非常に微量でも感作を誘導することが知られています。

CicaAllerTest® Cedar pollen allergen Cry j 1

シカアレルテスト® スギ花粉アレルゲン Cry j 1

シカアレルテスト® スギ花粉アレルゲンCry j 1は、スギ花粉の主要アレルゲンであるCry j 1を定性的に検出するイムノクロマト試薬です。



使用例

- 花粉に汚染されている箇所の特定
- 清掃状態の確認
- 抗アレルゲン剤の性能評価

特長

- 短時間！ — 判定時間はわずか15分です。
- 高感度！ — 最少検出感度は1 ng/mL(Cry j 1)です。
- 簡便！ — 目視による判定のため、特別な装置は必要ありません。

関連製品

シカアレルテスト® ダニアレルゲン Der f 1

発売予定

※無断転載および複製を禁じます。



関東化学株式会社

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

室町東三井ビルディング

電話(03)6214-1090 FAX(03)3241-1047

HP <http://www.kanto.co.jp/times/>

E-mail : chemiti-info@gms.kanto.co.jp 編集責任者：猪瀬真人

平成 29 年 1 月発行