

3. 空中花粉アレルゲン濃度の推定と予測・測定手法の検証

(4) 空中スギ花粉数と花粉アレルゲン量との関係

山形県衛生研究所 高橋 裕一

1. 緒言

各地で行われている『スギ花粉情報』はスギ花粉の数を知らせるものであるが、花粉に含まれる花粉アレルゲンの量はスギの木によって大きな違いがあることが最近の研究で明らかになってきた(本報告書:「空中花粉アレルゲン濃度の推定(3) スギ花粉アレルゲン(Cry j 1)の年次差と濃度分布」を参照)。このことから、空中スギ花粉数と花粉アレルゲン量とは異なるのではないかとの疑問を持つようになった。そこで、同時に捕集した試料にみられるスギ花粉数とスギ花粉アレルゲン量との関係を調べた。

2. 研究方法

空中の花粉試料はサイクロンサンプラー(バーカード C90M, バーカード社, 英国)を用いて捕集した。捕集後の試料は200 μ l の150mM NaCl, 0.125M NH_4HCO_3 , 3mM EDTA, 0.005% ツイーン 20 を含む10mM ヘペス緩衝液(pH 7.4)で15分間抽出した。抽出後に4,000 rpmで5分間遠心して花粉とアレルゲンを分離し、上清で花粉アレルゲン量を、沈殿でスギ花粉数を測定した。スギ花粉アレルゲンとしてはCry j 1抗原を対象とした。Cry j 1の定量には表面プラズモン共鳴法¹⁾²⁾と酵素免疫学的方法(ELISA法)を用いた。表面プラズモン共鳴法は抗Cry j 1モノクローナル抗体(KOWA; KW-S131)を専用のセンサーチップCM5(ピアコア AB, Uppsala, Sweden)表面に不溶化して用いた。試料はヘペス緩衝液(150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.01% ツイーン 20 を含む10mM ヘペス緩衝液, pH7.4)で25 , 流速10 μ l/分の条件で流しCry j 1の濃度を測定した。ELISA法によるCry j 1測定は、抗Cry j 1モノクローナル抗体(BIJ07)をELISAプレートに固相化し、ウシ血清アルブミンでブロッキング処理した後に、100 μ l ずつ大気試料を注入し反応後に1次抗体としてビオチン標識抗Cry j 1モノクローナル抗体(biotin-JIB01)を、次いでアルカリホスファターゼ標識アビジンを反応させ、酵素の基質で発色させ、吸光度から濃度を求めた。標準は日本アレルギー学会より提供されたCry j 1標準液(12.5 μ g/ml 液)を用いた。標準Cry j 1は濃度が3.9 ng/mlから500ng/mlになるようにヘペス緩衝液で希釈して使用した。

3. 結果

表面プラズモン共鳴法で得られたCry j 1値とELISA法で得られたCry j 1値とは良く一致した(図1、 $r=0.86$, $p<0.01$)。したがって、表面プラズモン共鳴法で得られたCry j 1値は標準法であるELISA法と同様に信頼できると考えられる。図2は2000年のスギ花粉シーズンにサンプリングした試料を用いてスギ花粉数とCry j 1量との関係をみたものである。Cry j 1はスギ花粉が検出される前から検出された。Cry j 1値とスギ花粉数は多くの日で一致しなかった。図には2000年の結果を示したが、2001年に行った調査でも類似した結果が得られた。

4. 考察

空中に飛散するCry j 1量とスギ花粉の数は多くの日で一致しなかった。これは前述のように花粉中のCry j 1量はスギの木ごとに異なること、スギ花粉シーズンにはスギ花粉以外にもCry j 1を有する大気浮遊粒子が存在すること³⁾からも推測されたことである。これらのことから空中花粉の数を情報化している現在の『スギ花粉情報』は花粉アレルゲンの情報に改めるべきであると考え⁴⁾。

5. 参考文献

1. Yuichi Takahashi, Takeshi Ohashi, Takao Nagoya, Masahiro Sakaguchi, Hiroshi Yasueda, Hiroshi Nitta: Possibility of real-time measurement of an airborne *Cryptomeria japonica* pollen allergen based on the principle of surface plasmon resonance, *Aerobiologia* 17, 313-318, 2001.
2. 高橋裕一, 大橋 武: 表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用した空中花粉アレルゲンのリアルタイム測定、*アレルギー* 51, 24-29, 2002.
3. 高橋裕一, 名古屋隆生、太田伸男: エアロアレルゲンイムノプロット法による花粉アレルゲン (Cry j 1, Dac g) を有する花粉種および大気浮遊粒子の同定、*アレルギー* 51, 609-614, 2002.
4. 高橋裕一: 空中花粉および空中花粉アレルゲン測定の現状と将来展望 サンプラーの種類、花粉の同定法および標準化・リアルタイム化、*医学のあゆみ*, 200, 353-357, 2002