

# 花粉アレルギー

安枝 浩

花粉症は花粉中に含まれる抗原成分，すなわち花粉アレルギーに感作されることによって発症する典型的なI型アレルギー反応による疾患である。わが国の代表的な花粉症であるスギ花粉症は，今日では日本の全人口の1割以上が患者であると推定されているほど有病率が高く，国民病ともいえる疾患である。スギ花粉症にはスギだけでなく，近縁のヒノキの花粉アレルギーも深く関わっている。

## 1. 花粉症の原因となる植物

世界中に数限りなくある花粉を作る植物の中で，花粉症の原因となる主なものは風媒花の植物である。風媒花の植物は虫媒花の植物に比べると種類が限られており，地球上の温帯地域に局在している。花粉症の原因となる植物は3つのグループに分類される (Table 1)。草本のgrassとweed，それに木本，treeである。Grassには主にイネ科 (Graminae)の植物が含まれる。一方，weedとtreeには多数の科の植物が含まれるが，その中で重要なものはweedではキク科 (Compositae)，treeではブナ目 (Fagales)のカバノキ科 (Betulaceae)とブナ科 (Fagaceae)，および，マツ目 (Pinales)のヒノキ科 (Cupressaceae)とスギ科 (Taxodiaceae)の植物である。これらの草本のイネ科

とキク科，木本のカバノキ科，ブナ科，スギ科，ヒノキ科の6科の植物によるものが我が国の花粉症の9割以上を占めている。さらに，その過半数はスギおよびヒノキが原因となるスギ花粉症である。これ以外にも，さまざまな植物による花粉症や花粉喘息が報告されているが，地域が限定されていたり，職業性であったりして，その患者数は上記6科に比べるとはるかに少ない。

## 2. スギ花粉由来の主要アレルギー

スギ花粉からは2種類の主要アレルギーが同定されている。1983年に著者らが報告したCry j 1 (旧名SBP)と,<sup>1)</sup>1990年にSakaguchiらが報告したCry j 2である (Table 2).<sup>2)</sup>Cry j 1とCry j 2はいずれも塩基性のタンパク質であり，分子量もともに40,000前後であるが，両者の抗原性に共通性はない。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)において，Cry j 1は特徴的な近接した2本のバンドに分離するが，これは糖鎖の部分の不均一性によるものである。Cry j 1にはN-末端から170番目と333番目のアスパラギンにフコース，キシロースを含む複合型糖鎖が結合している。<sup>3)</sup>Cry j 2の配列にもN-グリコシル化部位があるが，実際に糖鎖が結合しているかどうかは不明である。

Table 1. Principal plants that induce pollinosis.

	Family	Species
1. Grasses	Graminae	<i>Lolium perenne</i> (rye grass)
		<i>Dactylis glomerata</i> (orchard grass)
		<i>Phleum pratense</i> (timothy grass)
2. Weeds	Compositae	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (short ragweed)
		<i>Artemisia vulgaris</i> (mugwort)
3. Trees	Betulaceae	<i>Betula verrucosa</i> (birch)
		<i>Alnus incana</i> (alder)
	Fagaceae	<i>Fagus grandifolia</i> (beech)
		<i>Quercus alba</i> (oak)
	Cupressaceae	<i>Juniperus ashei</i> (mountain cedar)
		<i>Chamaecyparis obtusa</i> (Japanese cypress)
	Taxodiaceae	<i>Cryptomeria japonica</i> (Japanese cedar)

Table 2. Two major allergens, Cry j 1 and Cry j 2, from *C. japonica* pollen.

	Cry j 1	Cry j 2
MW (SDS-PAGE)	41/46kDa	40kDa
pI	basic	basic
No. of amino acid residues	353	388
Carbohydrate	+	unknown
Enzyme activity	pectate lyase	polymethylgalacturonase
Localization	sexine, orbicle, (Golgi body)	starch granule

Cry j 1のアミノ酸配列はブタクサ花粉の主要アレルゲンである Amb a 1の配列と46%が一致している。わが国とアメリカの代表的な花粉症に關与する最も重要なアレルゲンが類似のタンパク質であるということは興味深い。さらに、Cry j 1やAmb a 1は細菌由来のペクテートリアーゼとも相同性があり、Cry j 1自身にもペクテートリアーゼとしての酵素活性が検出されている。<sup>4)</sup> Cry j 2のアミノ酸配列はトマトやアボガド果肉、トウモロコシ花粉のポリガラクトツロナーゼと34-43%の相同性があり、Cry j 2自身にはポリメチルガラクトツロナーゼ活性がある。<sup>5)</sup> ペクテートリアーゼとポリ(メチル)ガラクトツロナーゼはいずれも植物の細胞壁に存在する多糖体、ペクチン質を分解する酵素である。ペクチンの基本骨格であるD-ガラクトツロン酸の $\alpha 1 \rightarrow 4$ 結合を、ペクテートリアーゼは脱離反応的に切断し、ポリ(メチル)ガラクトツロナーゼは加水分解する。

スギ花粉中のCry j 1とCry j 2の存在部位は免疫細胞化学法による分析で明らかにされている。<sup>6)</sup> Cry j 1の大部分は花粉の最表層を構成する花粉壁外層(sexine)、およびその表面に付着している微粒子であるオービクル(orbicle)に存在する。細胞質のゴルジ体にもみられるがその量は少ない。すなわち、Cry j 1の大半は花粉の最表面に露出するような形で存在している。sexine, orbicleを構成する物質はもともと花粉細胞で作られたものではなく、葯の最内層組織であるタペータム由来のものである。Cry j 1も花粉壁表層にあるものは花粉細胞由来ではなく、葯で作られた後に花粉に移行してきたものと考えられている。一方、Cry j 2は花粉内部の細胞質アミロプラスト内のデンプン粒(starch granule)に局在しており、花粉壁にはまったく存在しない。

なお、アレルゲンの名称は、WHOのアレルゲン命名委員会において国際的な表記法が定められている。<sup>7)</sup> それによれば、アレルゲン名はその由来の生物の学名から属の名前3文字、種小名1文字をとり、数字(報告順)を

加えて表す。したがって、スギ、*Cryptomeria japonica*の1番目、2番目に報告されたアレルゲンはCry j 1, Cry j 2となり、同様に、ヤケヒョウヒダニ、*Dermatophagoides pteronyssinus*由来のアレルゲンであればDer p 1, Der p 2, コウジカビ、*Aspergillus fumigatus*由来のアレルゲンであればAsp f 1, Asp f 2となる。

### 3. Cry j 1とCry j 2のアレルゲン活性

スギ花粉エキス(花粉から抽出されるすべてのアレルゲンが含まれている)による皮膚テストにおいて陽性の即時型皮膚反応を示すアレルギー患者は、精製Cry j 1, Cry j 2による皮膚テストでは大半がその両方に反応する。全国の病院、10施設で無作為に集められた189例のアレルギー患者(すべてがスギ花粉症とは限らない)を対象にして、CAP-RAST(特異的IgE抗体測定用の診断薬)でスギ花粉アレルゲンに対するIgE抗体を測定すると、189例中135例(71.4%)が陽性になる。<sup>8)</sup> すなわち、スギ花粉症患者を含めてわが国のアレルギー患者のおよそ7割は、スギ花粉中の何らかの成分に対するIgE抗体を保有していることになる。さらに、スギ花粉アレルゲンに対するIgE抗体が陽性の135例についてCry j 1とCry j 2に対するIgE抗体を測定すると、両方に陰性は2例にすぎず、両方に陽性が109例(80.7%)、どちらか一方に陽性が24例となる。スギ花粉症患者の多くはCry j 1とCry j 2の両方に感作されていて、血中にはその両方に対するIgE抗体を保有しているということである。もちろん、スギ花粉中のアレルゲンはCry j 1とCry j 2だけではなく、スギ花粉エキスをイムノプロット法で分析すると患者のIgE抗体と結合するさまざまな成分が検出される。しかし、花粉中のアレルゲンの構成成分が比較的単純で、Cry j 1とCry j 2以外のアレルゲンの関与が比較的少なく、花粉全体のアレルゲン活性の大半はCry j 1とCry j 2で占められているというのがアレルゲンとしてのスギ花粉の特徴である。

#### 4. スギとヒノキ科花粉アレルゲンの交差反応性

花粉アレルゲンの抗原性は種 (species) ごとに独立しているのではなく、近縁の種の花粉間では何らかの交差反応性 (共通抗原性) がみられる。一般的には、その交差反応性の程度は植物分類学上の位置関係と一致しており、近縁度の高い関係にあるものほど強い交差反応性を示す。<sup>9)</sup>

スギ、ヒノキ科の植物による花粉症として、わが国の北海道と沖縄を除く地域のスギ花粉症、地中海地方の Italian cypress (*Cupressus sempervirens*) によるサイプレス花粉症、テキサス、ニューメキシコ州などアメリカ南部の mountain cedar (*Juniperus ashei*) によるマウンテンシーダー花粉症などが知られている。スギ花粉とヒノキ科花粉のアレルゲンの間にはヒトの IgE 抗体のレベルにおける強い交差反応性がある。そのためにスギ花粉症患者の臨床症状はヒノキ花粉の飛散シーズン (スギ花粉よりもおよそ 1ヶ月遅れる) にまで持ち越されるし、大半のスギ花粉症患者はヒノキ花粉エキスによる皮膚テストで陽性反応を示し、ヒノキ花粉に対する IgE 抗体が陽性になる。また、逆に、スギ花粉の曝露を受けた可能性がほとんどなく、スギ花粉アレルゲンに対する IgE 抗体を保有しているはずがないフランスのサイプレス花粉症患者の多くが皮膚テストでスギの粗抗原や Cry j 1 に陽性反応を示し、Cry j 1 あるいは Cry j 2 に対する IgE 抗体が陽性になる。

Cry j 1 と Cry j 2 に対応するヒノキ科花粉のアレルゲンが Cha o 1<sup>10,11)</sup> と Cha o 2<sup>12,13)</sup> で、Cry j 1 と Cha o 1、および Cry j 2 と Cha o 2 の間のアミノ酸配列はそれぞれ 80%、74% が一致している。ビャクシン花粉の主要アレルゲン Jun a 1、Jun a 2<sup>14)</sup> のアミノ酸配列も明らかになっており、Cry j 1 と Cry j 2 のそれとの一致率はそれぞれ 79%、71% である。スギとヒノキ科の間より同じヒノキ科のアレルゲン間の配列の一致率はさらに高く、たとえば Cha o 1 と Jun a 1 の間では 86% が一致している。このように、スギ、ヒノキ科花粉アレルゲンの対応するアレルゲン間には高い構造的類似性 (structural similarity) があり、そのためにお互いに非常に強く交差反応する。

一方、Cry j 1 あるいは Cha o 1、Jun a 1 とブタクサ花粉の Amb a 1 は同じグループに属する酵素タンパク質 (ペクチンリアーゼ) である。しかし、スギとブタクサの分類学的な近縁度は低く、Cry j 1 と Amb a 1 のアミノ酸配列は 46% しか一致していない。スギ花粉症患者がブタクサ花粉の飛散シーズンに症状が誘発されるというよ

うなことは通常は起こりえないが、これは、相同性があるとしても構造的な類似性が低い場合には、臨床的に問題となるようなレベルでの交差反応は起こらないということの意味している。

スギ花粉とヒノキ科花粉アレルゲン間の交差反応性についての免疫化学的な解析は、これまでに花粉由来の粗抗原や一部の主要アレルゲンの精製標品を用いて検討した報告がいくつかある。<sup>15,16)</sup> しかし、2つのグループのそれぞれの主要アレルゲン間での交差反応性についての系統的な解析は行われていない。われわれは、Cry j 1 と Cha o 1、Cry j 2 と Cha o 2 の間のヒトの IgE 抗体のレベルにおける交差反応性について、これらのアレルゲンの精製標品を用いて、末梢血白血球からのヒスタミン遊離試験、RAST による IgE 抗体の測定、あるいは RAST 抑制試験などにより詳細な解析を進めてきた。<sup>17)</sup> その成績を要約すると、①スギ花粉症患者血中の Cry j 1 と Cha o 1 に対する IgE 抗体価、および Cry j 2 と Cha o 2 に対する IgE 抗体価の間には有意な相関関係がある (Fig. 1)、②スギ花粉症患者末梢血白血球からのヒスタミン遊離試験における Cry j 1 と Cha o 1 に対する細胞の sensitivity (25% ヒスタミン遊離を引き起こす抗原濃度)、Cry j 2 と Cha o 2 に対する細胞の sensitivity はいずれも有意に相関する、③スギ花粉症患者血清を用いて Cry j 1 と Cha o 1 の間、Cry j 2 と Cha o 2 の間で RAST 抑制試験を行うといずれも有意な抑制がかかる、となり、これらの結果はヒトの IgE 抗体のレベルにおいて Cry j 1 と Cha o 1、Cry j 2 と Cha o 2 はいずれも強く交差反応するということを明確に示している。しかしながら Fig. 1 にあるように、全例が Cha o 1 よりも Cry j 1、Cha o 2 よりも Cry j 2 に対して高い抗体価を示し、ヒスタミン遊離試験においても全例が Cha o 1 よりも Cry j 1、Cha o 2 よりも Cry j 2 に対して高い sensitivity を有している。さらに、RAST 抑制試験においても、Cry j 1 と Cha o 1 の間 (あるいは Cry j 2 と Cha o 2 の間) で交差反応する IgE 抗体は Cha o 1 よりも Cry j 1 に対してより高い親和性を持って反応する、という成績が得られている。

スギ花粉アレルゲンとヒノキ科花粉アレルゲンの関係をまとめれば、両者の間には強い交差反応性があるために、スギ花粉症患者はスギ花粉アレルゲンだけでなくヒノキ科花粉アレルゲンに対しても反応して症状が誘発されるが、ヒノキ科花粉アレルゲンよりもスギ花粉アレルゲンに対しておしなべて強く反応する、ということになる。日本では地域差はあるもののスギとヒノキの両方の花粉が飛散している。そのような環境でなぜヒノキよりもスギ

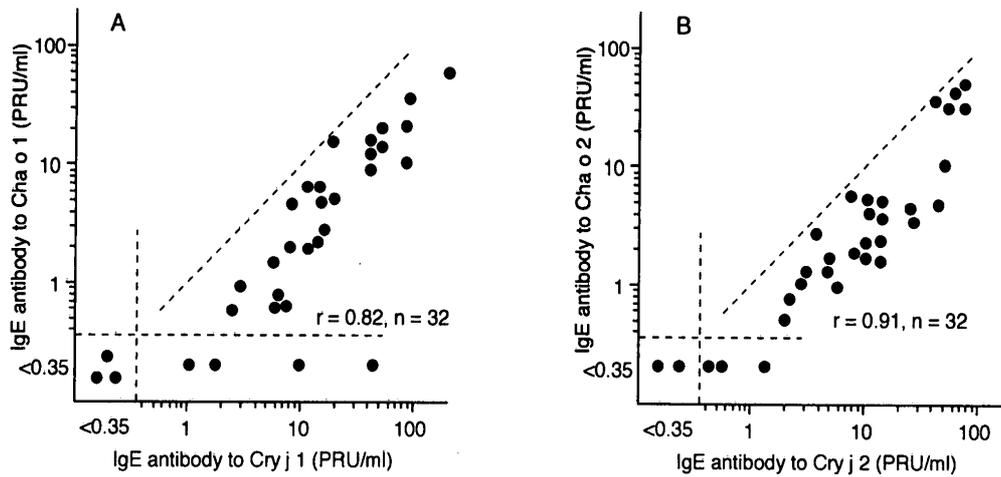


Fig. 1. Comparison of IgE antibody levels to Cry j 1 and Cha o 1 (A), and to Cry j 2 and Cha o 2 (B) in serum samples from 32 patients with Japanese cedar pollinosis.

花粉のアレルゲンに対してより強く反応するのか、それは単なる飛散数の違いの反映にすぎないのか、アレルゲンの免疫原性や抗原性そのものに差があるためなのか、あるいは毎年必ず最初にスギ花粉、次いでヒノキ花粉という、曝露のタイミングの問題なのか、これらのことを明らかにしていくことが今後の課題である。

## 文 献

- 1) Yasueda, H. *et al.*: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **71**, 77 (1983).
- 2) Sakaguchi, M. *et al.*: *Allergy*, **45**, 309 (1990).
- 3) Hinó, K. *et al.*: *J. Biochem.*, **117**, 289 (1995).
- 4) Taniguchi, Y. *et al.*: *Allergy*, **50**, 90 (1995).
- 5) Ohtsuki, T. *et al.*: *Allergy*, **50**, 483 (1995).
- 6) Miki-Hiroshige, H. *et al.*: *Sex Plant Reprod.*, **7**, 95 (1994).
- 7) King, T. P. *et al.*: *Bull. WHO*, **72**, 797 (1994).
- 8) Sadanaga, Y. *et al.*: *Allergol. Int.*, **47**, 285 (1998).
- 9) Weber, R. W. and Nelson, H. S.: *Clin. Rev. Allergy*, **3**, 291 (1985).
- 10) 井手 武, 芦田恒雄: *アレルギーの臨床*, **11**, 174 (1991).
- 11) Suzuki, M. *et al.*: *Mol. Immunol.*, **33**, 451 (1996).
- 12) Mori, T. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 166 (1999).
- 13) Yasueda, H. *et al.*: *Clin. Exp. Allergy*, **30**, 546 (2000).
- 14) Midoro-Horiuti, T. *et al.*: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **104**, 613 (1999).
- 15) 榎本雅夫, 大西成雄: *アレルギー*, **43**, 106 (1993).
- 16) 井手 武, 芦田恒雄: *アレルギーの臨床*, **16**, 160 (1996).
- 17) 安枝 浩: *スギ花粉症克服に向けた総合研究成果報告書*, p.239, 科学技術庁研究開発局(2000).

## 花粉アレルゲンの遺伝子解析

山本 恵三<sup>1\*</sup>・後藤 陽子<sup>2</sup>

現時点において花粉アレルゲンの遺伝子解析というと、アレルゲン遺伝子のクローニング、遺伝子の構造と機能、特に、エピトープの解析、遺伝子産物の本来の生物学的役割の解明などを行い、得られた知見をいかに花粉症の予防と治療に役立てるかということになる。実は、この分野は本誌の読者の方々が想像するほどには進展していない。そこで本稿では、アレルゲン遺伝子のクローニングの現状や、徐々に蓄積されてきた配列データからどのようなことがわかってきたかについて紹介する。また後半では、スギの個体レベルでのアレルゲンの多様性について、最近の筆者らの研究で得られた知見も交えて述べたいと思う。

### 1. アレルゲン遺伝子クローニングの現状

Genbank に対して “pollen AND allergen\*” という検索語を入力して検索すると、673 件ヒットする。その中から、花粉アレルゲンではないものや特許などで由来がはっきりしないものを除き、アレルゲンであるとはっきりと同定されているものをまとめたものが表 1 である。この中で最も古いのは 1989 年にクローニングされた *Bet v 1* であり、その他はすべて 90 年代以降にクローニングされている。Blackley によって花粉症が最初に立証されたのは 1873 年であり、アメリカでは早くからブタクサ花粉症の研究が進められてきたにも関わらず、遺伝子がク

\* 著者紹介 (代表) <sup>1</sup> 奈良県立医科大学化学教室 (講師) 〒634-8521 奈良県橿原市四条町 840

TEL/FAX. 0774-29-8810 E-mail: kama@naramed-u.ac.jp

<sup>2</sup> 林木育種センター環境育種研究室