

図2 花粉センサのノイズ補正方法
 風速の自動花粉測定器のカウント数への影響。風速が6mを超えると高いノイズを生じている。

があるリアルタイムでの測定を考えると少なくとも時間ごとでの検討が必要であることは言うまでもない。花粉飛散がみられない1月の調査から時間ごとの検討を行うと、風速が6mを超えると、NTT, KH3000いずれもばらつきがみえ始め、10mを超えると大きな誤差がみられる。また、1日の時間帯によりノイズの入り方が異なり(生活、交通量などの影響)、ダーラム法で花粉飛散がみられない日の花粉カウント数(NTT)を示すが、風補正、ノイズ補正が必要なことは明らかである(図2)。ただし、実際のノイズの補正は容易ではない。図3に示すが、3月25日は朝から雨が降っていて、雨は26日の朝9時すぎまで続き、この間、風はほとんどなかった。その後雨が止み、風が出てきたが、雨の影響で湿度も高く、風が吹いても砂塵が舞うこともなく、補正により実際の花粉を少なくカウントした可能性が高い。一方、雪の影響はKH3000でみられ、花粉とカウントしてしまうが、少なくとも2007(平成19)年まで十分な改善は行われていない。黄砂には多彩な粒子が含まれていて、多くの機種が影響を受けてしまう。

2. 少量花粉飛散年(2004年)の検討から

2004年はスギ、ヒノキ花粉とも千葉県では少量飛散(約260個)であったが、各自動花粉測定器とダーラム法との関係を図4に示す。各機種で測定される個数は異なるため、右縦軸の数値はそれぞれ変更されている。KP1000は感度が著しく低く花粉をほとんど測定していない。KH3000, NTTはダーラム法で花粉が確認されていない時期での高いカウント、ダーラム法で飛散が確認されている時期での低いカウントが目立つ(図5)。ダーラム法との相関は、KH3000が相関係数 $r=0.27$, KP1000 0.28 , NTT 0.28 , 神栄 0.58 (ただし、3月16日から設置)と低値であった。この年の飛散ピークがみられた3月下旬の結果をみても、たとえダーラム法でのピーク時(この年は70個/cm²/日)でも自動花粉測定器はカウントしていない。

3. 大量花粉飛散年(2005年)の検討から

2005年は記録的なスギ・ヒノキ花粉の大量飛散がみられたが、このシーズン中の自動花粉測定器とダーラム法の間には高い相関がみられ(図6)、1月24日~5月9日の測定全期間で相

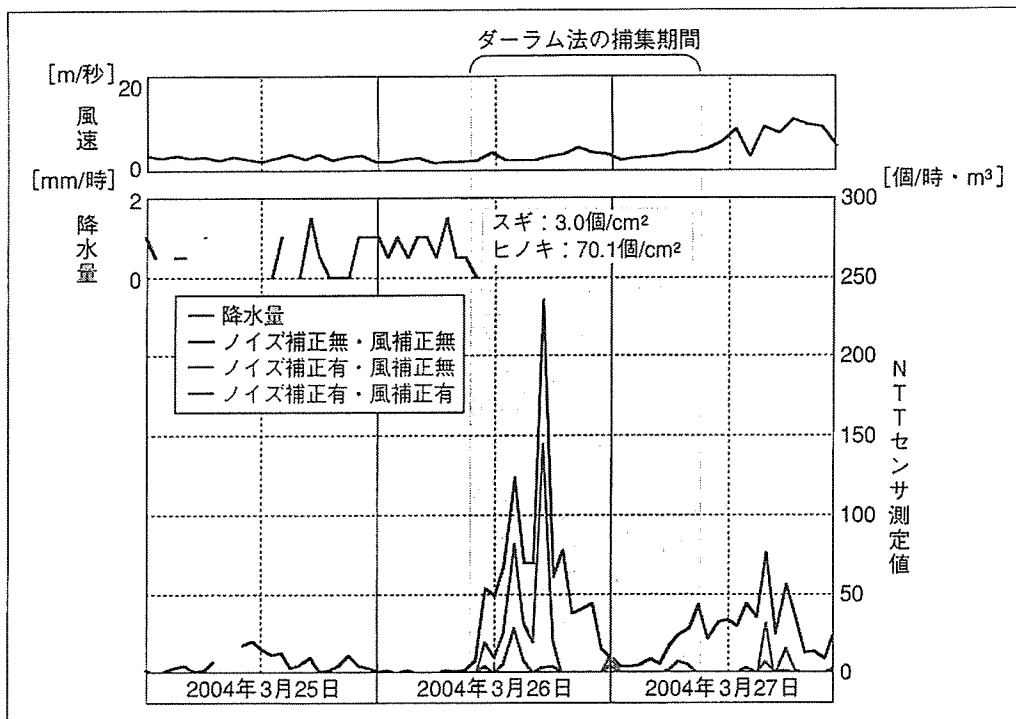


図3 ヒノキ飛散時の詳細分析結果
 雨あがりの後のカウント数への影響。風速補正をかけることで逆に実際より低いカウント数になっている。湿った地表の考慮が必要になってくる。

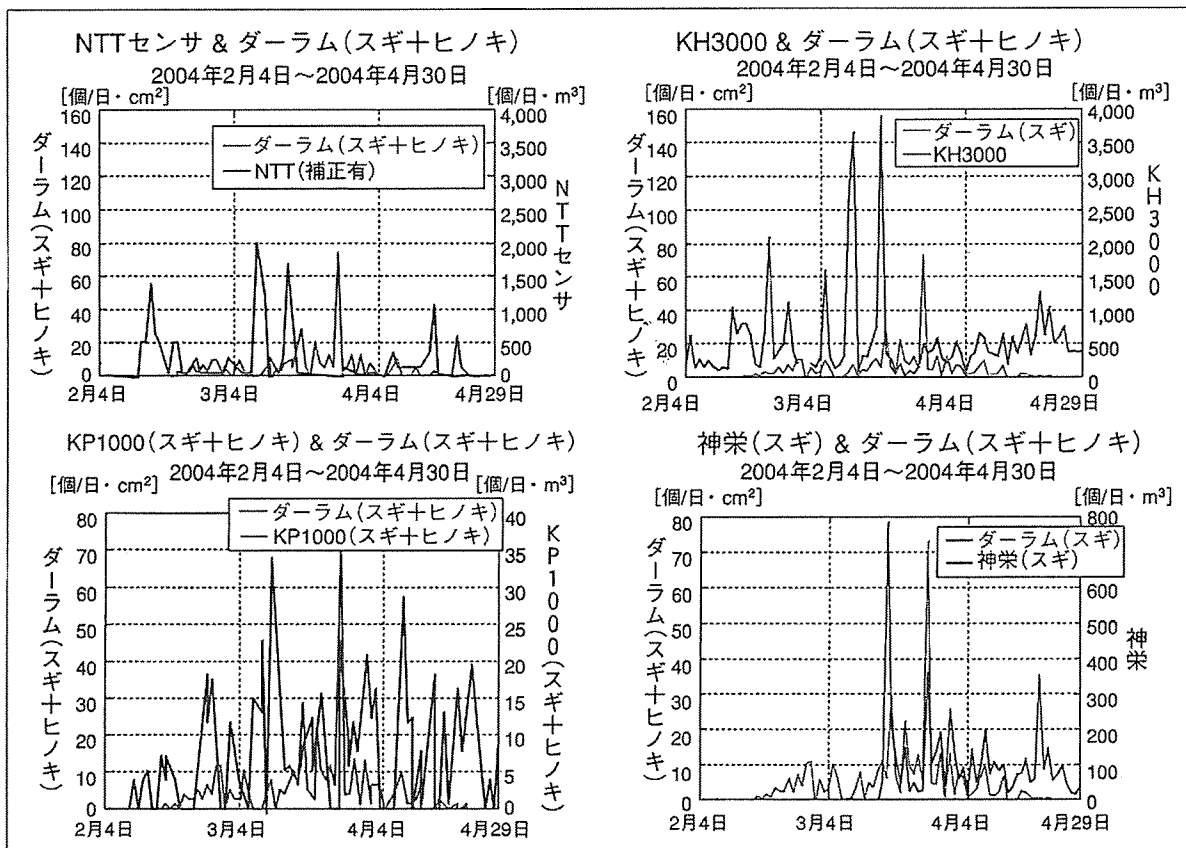


図4 花粉少量飛散期の自動花粉測定器のカウント数とダークラム法による花粉測定値との関連相関は低い。

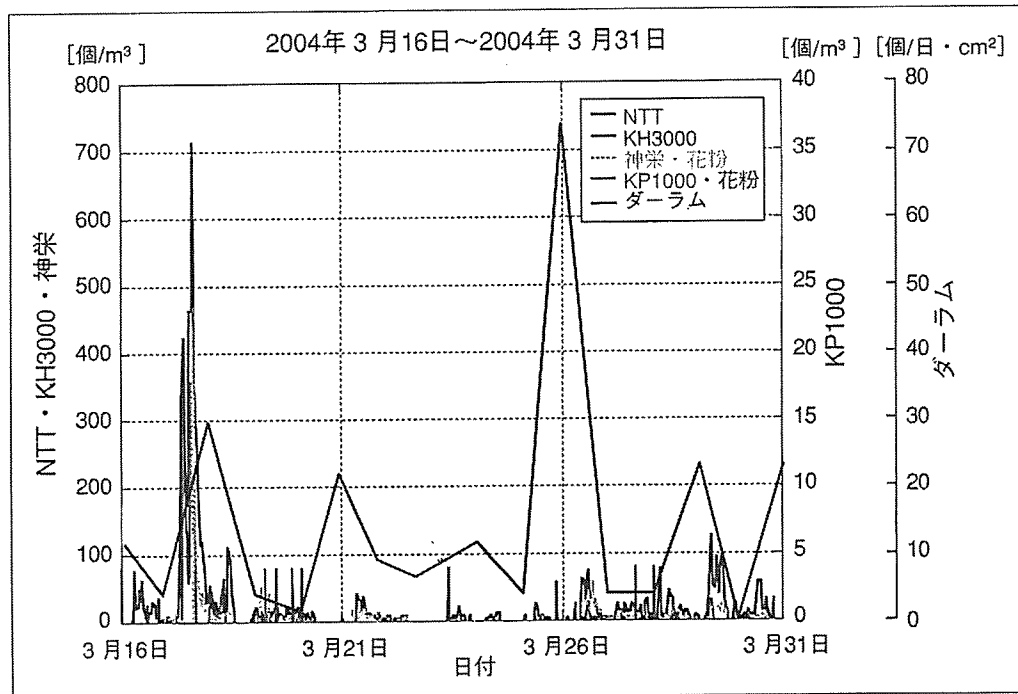


図5 4機種センサの結果
ダーラム法とKH3000, NTT測定器との低い相関値。

関係数はKH3000 0.79, NTT-神栄 0.70と高値であった。とくに、花粉飛散がピークを示した3月1日~3月31日に限ると相関係数はKH3000が0.90, NTT-神栄が0.92であった。しかし、花粉飛散ピークの前後である1月24日~2月28日(図7), 4月1日~5月9日を見るとダーラム法との相関は低く, KH3000, NTT-神栄それぞれピーク前期0.45, 0.52, ピーク後期0.48, 0.45であった。すなわち花粉飛散が多いときには、自動花粉測定器はダーラム法と高い相関がみられるが、花粉飛散が少ないときには2004年の検討結果と同様で、相関係数は低値となり、このことは花粉粒子と空中浮遊粒子すなわちノイズとの識別に大きな問題があることを示している。自動花粉測定器と同様の容量型花粉採集器であるバーカード法を用いた検討でも花粉飛散ピーク時には高い相関がみられている。

4. 自動花粉測定器の精度向上に向けた検討
神栄はKH3000, NTT同様、空中浮遊粒子との識別に大きな問題があるが、特徴として大気中の全粒子数とその中で花粉と認識した花粉数(誤差を含む)を表示する。そこで、花粉が飛散していない2006年1月に神栄のセンサーが空中浮遊

粒子を花粉粒子と識別してしまう誤認率を計算し、さらに花粉曝露室内にこの神栄センサーを置いて、花粉を飛散させそのときの花粉粒子識別率から、花粉識別判別式により花粉と識別される粒子数を計算し、そこから新たな補正式を作り、本式を用いて2006年、2007年の花粉飛散の検討を行った。その結果、2006年2~4月のダーラム法との日ごとの測定数との相関を検討したところ、補正式により相関係数は0.54から0.91に上昇した。この補正式は地域ごとに作成する必要があるが、2007年のスギ・ヒノキ花粉飛散シーズンでの検討でも、千葉と成田で検討したところ0.77, 0.80と高い相関が認められた。さらに、追試が必要であるが、このような取り組みが自動花粉測定器の精度の向上に有意に働くことが期待できる。ただし、この補正式の作成には測定器の測定する全粒子数を花粉と判別する花粉数の2つの測定値の情報が必要であり、このままではKH3000やNTTのセンサーには応用できない。違った対策が必要である。

おわりに

各種の自動花粉測定器を同地点に設置して検

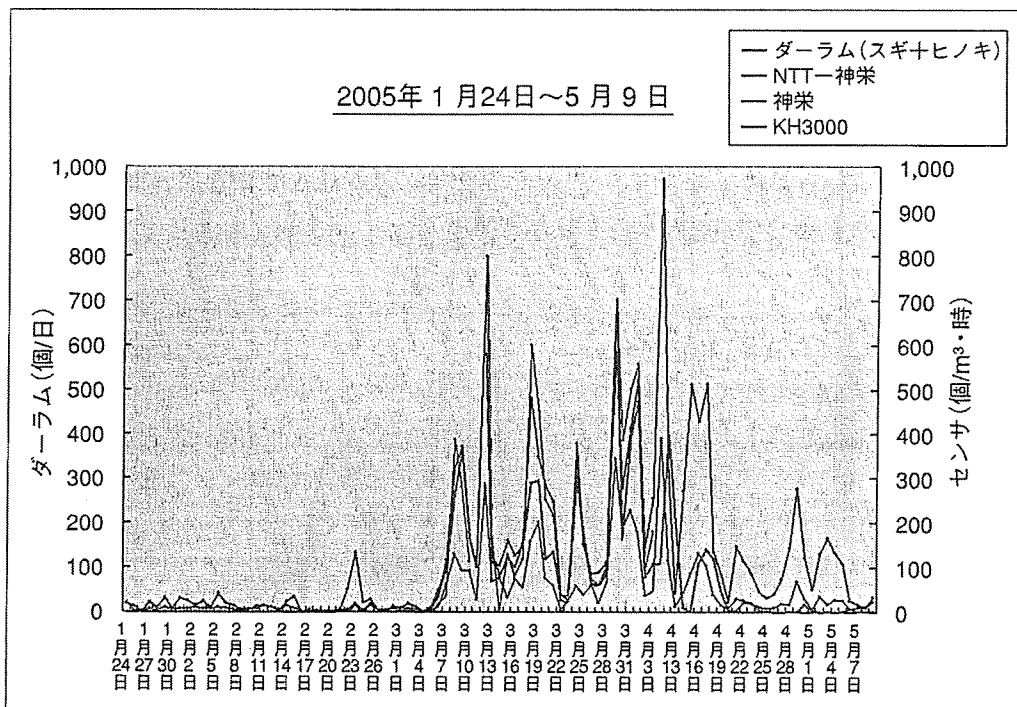


図6 千葉大学屋上花粉センサ観測結果(全期間, スギ+ヒノキ)
 大量花粉飛散期の自動花粉測定器とダーラム法による花粉測定値との高い相関。

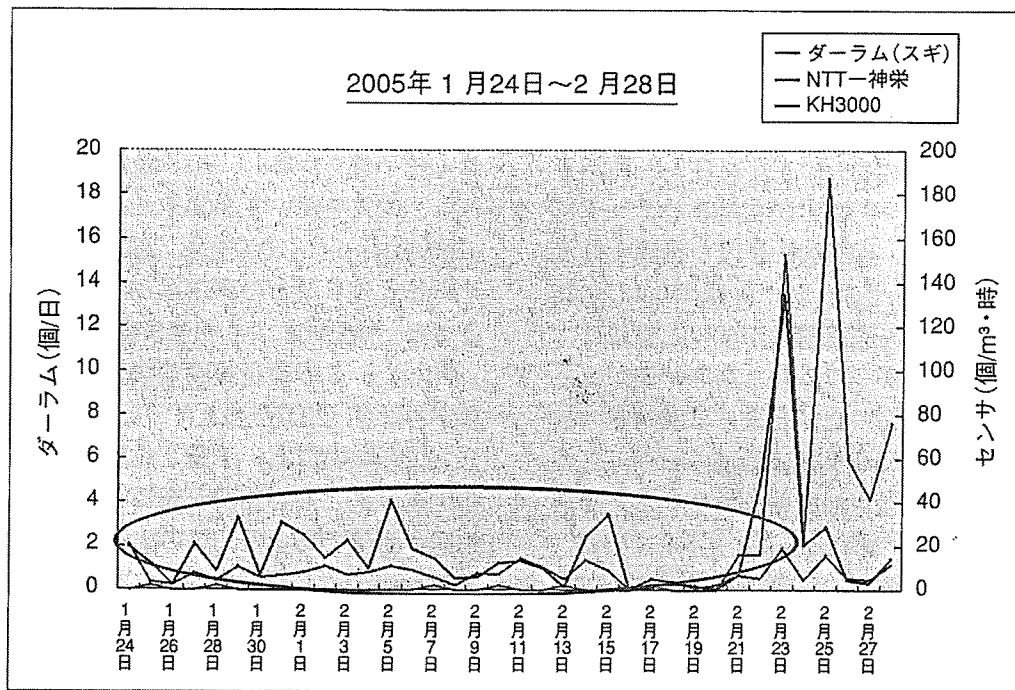


図7 屋上花粉センサ観測結果(スギ大量飛散前)
 大量花粉飛散がみられた2005年の飛散初期. 相関は低い。

討を行った。ダーラム法は重力法による花粉構築法であり、自動花粉測定器は容量法による方法で基本的に異なった測定法の相関を求めることは問題があるかもしれない。しかし、現在の

自動花粉測定器は、空中浮遊粒子との識別に大きな問題を有しており、とくに花粉飛散が少ないときにはその誤差が目立つ。風速や気象条件にも大きな影響を受ける。花粉飛散開始日の検

討は不可能であり、また花粉飛散シーズン中のカウントにも限界があることを十分認識して数値の解釈を行う必要がある。決して安価なものではなく機種によっては購入に300万円以上必要である。しかも、設置後は年間のメンテナンスが必要であるが、これも決して安価ではないことも考慮すべきである。

本研究はウェザー・サービス株式会社横田匡彦氏、NTT環境エネルギー研究所古保静男氏、東京大学大学院機械工学専攻J. J. Delaunay博士との共同研究です。

文 献

1) Delaunay J, Sasajima H, Okamoto Y. Side-by-side

comparison of automatic pollen counters for use in pollen information systems. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007 ; 98 : 553.

- 2) 奥田茂利, 榎本雅夫, 芝埜 彰, ほか. リアルタイム花粉モニターKH-3000を用いた空中飛散花粉の検討. *Durham法との比較. 日耳鼻解法* 2005 ; 108 : 801.
- 3) 瀬野悟史, 榎本雅夫, 池田和己, ほか. リアルタイム花粉モニター(KH-3000)の検討. *耳鼻臨床* 2003 ; 96 : 83.
- 4) 佐橋紀男, 藤田敏男. レーザー光学手法を用いた新しい花粉計測法とその成果. *環境技術* 2003 ; 32 : 191.

* * *

リアルタイムモニター飛散数の情報のあり方の研究と舌下ペプチド・アジュバント療法の臨床研究 山形県における花粉症の地域特異性

分担研究者： 太田伸男 山形大学情報構造統御学講座耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野 講師
研究協力者： 石田晃弘 山形大学情報構造統御学講座耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野 助教
鈴木祐輔 山形大学情報構造統御学講座耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野 助教

研究要旨

花粉症の原因抗原としてはスギ・イネ科が有名であるが、地域や時期によってはその他の花粉抗原も重要である。今回我々は当科を受診したアレルギー性鼻炎患者の花粉抗原陽性率について調査・検討したので報告する。対象はアレルギー性鼻炎症例 151 症例（男性 90 例，女性 61 例）で、ハウスダスト・ダニ・スギ・カモガヤ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリア・カンジタ・アスペルギルスに加え，従来本邦で報告されたことの少ないシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギのエキスをを用いてスクラッチテストを施行した。その結果、陽性率はスギ（45%）よりもカモガヤ（51%）のほうが高く，シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギはそれぞれ 13%，8%，9%，11%，10%とスギ，イネ科花粉に比べると低いが真菌より高い陽性率であった。山形においてはスギだけでなくイネ科花粉や，イネ科花粉と飛散時期の重なるシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ花粉の陽性率が高く重要な抗原と考えられた。重複陽性率も高く，近後は各抗原間の交差反応性の検討も必要と考えられた。

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎は患者数が多く，その症状も強く QOL も低下することなどにより近年大きな社会的注目を集めている。原因抗原の全国平均陽性率はハウスダスト・ダニが 23.4%，スギ 26.5%と報告され，主要な抗原であると考えられる。しかし，スギ，イネ科以外にも花粉症の原因となる花粉には多くのものがあり，季節や地域によっては様々な花粉が飛散している。

地域に根ざしたアレルギー性鼻炎の診療を考えると，その地域特性を知っておく必要がある。山形県は首都圏と異なりスギ花粉症患者よりもイネ科花粉症患者のほうが多い傾向があり，その他様々な花粉が季節ごとに飛散している。また山形県衛生研究所のホームページにてシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギなどの比較的珍しい花粉抗原の飛散時期・飛散状況も公開されている。これらの花粉の飛散時期は春～夏，特に 5～6 月にあたり，スギ・イネ科花粉の飛散時期と重なる。過去に山形市におけるシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ花粉の実際の陽性率に関する検討はなされていなかった。

今回，我々は主要花粉抗原陽性率のほか

に，シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ花粉の陽性率と重複陽性率について調査，検討した。

B. 研究方法

2003 年 5 月から 2008 年 12 月までに山形大学附属病院耳鼻咽喉科アレルギー外来を受診した 151 例（男性 90 例，女性 61 例）を対象に行った。年齢は 2 歳～83 歳，平均年齢は 30.3 歳であった。陽性の判定方法はスクラッチテストを用いて行った。判定は奥田の基準に準じ，紅斑 21 mm 以上，膨疹 9 mm 以上を陽性と判定した。

ハウスダスト・ダニ・アルテルナリア・アスペルギルスおよびスギ・ヒノキ・カモガヤ・チモシー・ヨモギ・カナムグラ・ブタクサ各花粉のスクラッチエキス（トリイ薬品製）を使用した。シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ各花粉のスクラッチエキスは安枝の方法に準じて作製した。シラカンバとヤナギ花粉（International Biological INC (USA) 社製），ヒメスイバ花粉（Allergon 社（Sweden）社製）を使用し，コナラとオニグルミ花粉は開花期に雄花序を水栽培して集めた花粉を使用した。それぞれ花粉重量の 20 倍量の

0.125M重炭酸アンモニウム液を加えて、4℃で48時間静置し時々用手攪拌しながら抽出した。抽出液は蒸留水に対して2日間透析後0.45μのミリポアフィルターを通して除菌した。除菌後、試料を滅菌したセルローズチューブ(Visking社)に入れ、50%グリセリン-5% NaCl溶液を外液として、4℃に1週間放置し、溶媒交換を行った。溶媒交換後内液の容量が減少するので、最終的に50%グリセリン-5% NaCl溶液で20倍液に調製し、診断用花粉エキスとした。

対照液はアレルゲンスクラッチエキス「トリイ」対照液を使用した。

倫理面への配慮

結果に関しては抗原の陽性率のみを公表し、個人情報管理には十分に配慮した。また、検査費用にも負担がないよう配慮した。

C. 研究結果

1)ハウスダスト、ダニの陽性率はそれぞれ79%、57%と高値を示した。スギ花粉は45%、イネ科花粉はカモガヤ51%、チモシー36%とスギよりもイネ科のほうが陽性率が高い傾向が認められた。ブタクサ30%、ヨモギ19%、カナムグラ37%、アルテルナリア7%、カンジタ5%、アスペルギルス5%であった。シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギはそれぞれ13%、8%、9%、11%、10%であり、真菌アレルギーより高い陽性率であった。シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ少なくともどれか一つに反応する抗原陽性率は26%も見られた。性差は特に認められなかった。

年齢別では~20歳が14例、21~30歳が93例、31~40歳が17例、41歳~が27例であった。シラカンバ、ヒメスイバ、コナラ、ヤナギにおいて31歳以上の高齢層で陽性率が高い傾向が認められた。

スクラッチテスト施行時期を主にスギ花粉飛散時期である2~4月、イネ科花粉・シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ花粉飛散時期である5~6月、7~8月、キク科花粉飛散時期の9~10月、11~1月に分けて検討した。2~4月は14例、5~6月は53例、7~8月は20例、9~10月は31例、11~1月は24例であった(施行時期

不明者9例を除く)。シラカンバ、ヒメスイバ、コナラ、ヤナギにおいて2~4月に検査を施行した群で陽性率が高い傾向が認められた。

2)各々の重複陽性率についても調査を行った。スギ花粉陽性者ではハウスダスト・イネ科・キク科花粉への重複陽性率が高く、シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギはそれぞれ10~21%と高い傾向が一部認められた。

イネ科花粉陽性者における重複陽性率はカモガヤ陽性者ではスギ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリアが12~58%と高く、シラカンバ・ヒメスイバが19、14%と高い傾向であった。チモシー陽性者ではスギ・カモガヤ・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリアが13~81%と高く、シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギは15~22%と高い傾向を認めた。シラカンバ陽性者における重複陽性率はハウスダスト・スギ・カモガヤ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリアがそれぞれ21~95%と高く、クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギは32~42%であった。クルミ陽性者における重複陽性率はスギ・カモガヤ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・アルテルナリアが25~83%と高く、シラカンバ・ヒメスイバ・コナラは25~58%であった。

ヒメスイバ陽性者における重複陽性率はハウスダスト・ダニ・スギ・カモガヤ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリア・アスペルギルスがそれぞれ15~85%と高く、シラカンバ・クルミ・コナラ・ヤナギは23~54%であった。

コナラ陽性者における重複陽性率はスギ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カナムグラ・アルテルナリアが19~69%と高く、シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・ヤナギは31~50%であった。

ヤナギ陽性者における重複陽性率はハウスダスト・スギ・カモガヤ・チモシー・ブタクサ・ヨモギ・カンジタが20~87%と高く、シラカンバ・ヒメスイバ・コナラは33~40%であった。

D. 考察

以前の報告と同様にスギ花粉よりもイネ科のカモガヤ花粉の陽性率が高いという傾向が認められ、山形市においてはイネ科花粉も重要な抗原であると考えられた。また、チモシー、ブタクサ、ヨモギ、カナムグラの陽性率も相当数認め、以前の報告と同様の傾向を認めた。今回新たに調査項目に加えたシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギの陽性率は従来ほとんど検討されておらず、当科を受診された限られた症例数ではあるが、その陽性率はスギ、イネ科、キク科花粉と比較すると低いものの真菌よりも高く、注目すべき抗原と考えられた。

2008年度も実際に各花粉が計測されている。シラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギの花粉飛散状況や抗原陽性率、他の抗原との重複の状態、さらに地域特性についての報告は稀少であり、今回の検討の結果これらの花粉アレルゲンは臨床場においても重要と考えられた。

年齢別では、ハウスダスト・ダニは若年層で抗原陽性率が高く、これは曝露される機会が多いためと考えられる。また、シラカンバ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギでは30歳代以降で抗原陽性率が高い傾向が認められた。ハウスダスト・ダニやスギ・イネ科花粉に比べると曝露される機会が少ないためと予想されるがカバノキ・クルミ・コナラについてはイネ科花粉と同等の非花粉飛散数を認めるので単純に曝露機会の問題だけでは説明しきれず、その他の要因も関連してくる可能性がある。

スクラッチテスト施行時期別では、シラカンバ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギでは2~4月に陽性率が高い傾向を認めた。ヤナギはこれらの中でも比較的早期に花粉が飛散するので飛散時期と一部合致している傾向はあるが、その他は花粉飛散時期とは一致しなかった。

スギ花粉陽性者における重複陽性率は各花粉とも高い傾向が認められた。イネ科花粉陽性者ではイネ科同士の重複陽性率が高く、またカナムグラに対しても重複陽性率が高かった。シラカンバ花粉症患者は、口腔アレルギー症候群(oral allergy

syndrome)の合併が多いとされ、報告によって31%から61%までと差が認められる。今回の調査では21%(9/19)であった。各花粉との重複陽性率の高さも交差反応性が原因である可能性が考えられる。クルミ陽性者ではチモシー・シラカンバ・コナラ花粉への重複陽性率が高い傾向が認められ、ヒメスイバ陽性者ではカナムグラ、シラカンバ、コナラ、ヤナギ花粉への重複陽性率が高い傾向が認められた。これらは植物学的にもまったく異なったもの同士であり明らかな原因は不明である。コナラ陽性者ではシラカンバ花粉への重複陽性率が高い傾向が認められた。シラカンバとコナラは同じブナ目同士であり植物分類学的には近い関係であるので交差反応性がある可能性がある。

今回の調査における重複陽性率の高い傾向は何らかの交差反応性に起因する可能性があり、今後 RAST inhibition test 等を用いこれら花粉間の共通抗原性の有無を検索する必要と考えられた。

E. 結論

- 山形市においてはスギ花粉よりもイネ科花粉の陽性率が高い傾向が認められた。イネ科花粉の飛散時期は5月から6月とスギ花粉飛散時期に続いており、スギ花粉飛散終了後も症状が遷延するイネ科花粉症患者の割合も高いと考えられた。
- 従来検討されなかったシラカンバ・クルミ・ヒメスイバ・コナラ・ヤナギ花粉の陽性者も認められた。季節や地域によって様々な花粉が飛散し、その花粉に感作されている症例も相当数いるものと考えられた。
- スギやイネ科花粉との重複陽性者も多く認め各々の花粉飛散時期に留意する必要性が考えられた。
- 各々の花粉に重複して陽性を示す症例が多数存在し、何らかの共通抗原性が存在する可能性も示唆された。今後 RAST inhibition test 等を用いた抗原間の交差反応性の検索が必要と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takahashi Y, Aoyama M, Abe T, Aita T, Kawashima S, Ohta N, Sakaguchi M: Development of electron spin resonance radical immunoassay for measurement of airborne orchard grass (*Dactylis glomerata*) pollen antigens. *Aerobiologia*, 2008; 24:53-59
2. 太田伸男: 副鼻腔手術を極める 内視鏡下副鼻腔手術のための支援機器: レーザー. *JOHNS* 2008; 24(2):161-164
3. 太田伸男: 花粉症の薬物治療. *アレルギーの臨床*, 2008; 28(1):45-50
4. 太田伸男: アレルギー性副鼻腔炎. *アレルギーの臨床*, 2008; 28(5):29-31
5. 太田伸男: 副鼻腔疾患の治療. *ENTONI*, 2008; 90:95-101

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

Development of electron spin resonance radical immunoassay for measurement of airborne orchard grass (*Dactylis glomerata*) pollen antigens

Yuichi Takahashi · Masaaki Aoyama ·
Etsuko Abe · Takeshi Aita · Shigeto Kawashima ·
Nobuo Ohta · Masahiro Sakaguchi

Received: 6 August 2007 / Accepted: 20 November 2007 / Published online: 5 January 2008
© Springer Science+Business Media B.V. 2008

Abstract We have developed a highly sensitive method for the measurement of airborne orchard grass (*Dactylis glomerata*: Dac g) pollen antigens using an electron spin resonance (ESR) radical immunoassay. In this immunoassay, the lowest detectable level of Dac g antigen in a sample is 0.1 arbitrary unit; the amount of Dac g antigen in single pollen grains was found to be as 1.84 units. Thus, Dac g antigens can be detected in amounts of 1/20th of that contained in the grain. This immunoassay enables early detection of grass pollen antigens. Such

information may be useful for patients with grass pollinosis, especially for those who show symptoms when only low levels of the pollen antigens are present in air. In this study, minor amounts of Dac g antigen (cross-reactive antigens) were detected in late March, after which the levels gradually increased. The levels were detected to be 10 units/m³ until the middle of May and then increased after blooming of orchard grass. High levels were maintained until the middle of June. Some patients who suffer from grass pollinosis show symptoms in late April and early May, when the airborne Dac g antigen levels were found to be 5–10 units/m³.

Y. Takahashi · E. Abe · T. Aita
The Yamagata Prefectural Institute of Public Health,
Yamagata 990-0031, Japan

M. Aoyama
RADIA Project, Yamagata Promotional Organization
for Industrial Technology Institute for Life Support
Technology, Yamagata 990-2473, Japan

S. Kawashima
Graduate School of Agriculture,
Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan

N. Ohta
Department of ENT, School of Medicine, Yamagata
University, Yamagata 990-9585, Japan

M. Sakaguchi (✉)
Department of Veterinary Microbiology,
School of Veterinary Medicine, Azabu University,
1-17-71 Fuchinobe, Sagami-hara,
Kanagawa 229-8501, Japan
e-mail: sakagum@azabu-u.ac.jp

Keywords Airborne pollen · Allergen ·
ESR radical immunoassay · Orchard grass ·
Japanese cedar

Abbreviations

BCA	Bicinchoninic acid
BCIP/NBT	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitroblue tetrazolium
BSA	Bovine serum albumin
CNBr	Cyanogen bromide
Dac g	<i>Dactylis glomerata</i>
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FCS	Fetal bovine serum
ESR	Electron spin resonance
HRP	Horseradish peroxidase
MONALISA	Monitoring Network of Allergen by Immuno-Sampling

NHS	<i>N</i> -hydroxysuccinimide
PBS	Phosphate-buffered saline
RSI	Relative signal intensity
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
SPT	Skin prick test

1 Introduction

The number of airborne pollen grains is typically counted morphologically using microscopy. Pollen information is derived from these data. However, because grass pollen shares similar morphological characteristics, it is difficult to discriminate between species of pollen grains using light-microscopic pollen counts. It is known that species of grass pollen antigenicity differ with each species of grass pollen, and the pollen antigens of some grasses are not cross-reactive with those of other grass species (Esch 1999; Martin et al. 1985; Weber and Nelson 1985). Fortunately, most grasses associated with pollinosis in our region are cross-reactive species belonging Poöideae. In addition, submicron-size particles bearing pollen antigens such as starch granules (Spieksma et al. 1991) exist other than as antigens from the pollen itself. Such submicron-size particles have been isolated from pollen grains under wet conditions (Suphioglu et al. 1992) and are also considered to be the causative agents of pollinosis.

To obtain more information about the pollen, it is desirable to measure antigens that are cross-reactive with grass pollen. We applied an immunochemical technique for the quantification of airborne grass pollen antigens. A major problem in this context is that only small amounts of these antigens are present in air, and a highly sensitive analytical technique is required for such measurements. Recently, an electron spin resonance (ESR) radical immunoassay was developed as a highly sensitive method for detecting hepatitis B surface antigen (Matsuo et al. 1998; Aoki et al. 2002). In our previous study, we have shown that the sensitivity of this immunoassay is 10- to 100-fold higher than that of the conventional enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Aoyama and Takahashi 2004; Takahashi et al. 2007).

In this study, we used the ESR radical immunoassay to quantify airborne grass pollen antigen.

Orchard grass pollen antigen was chosen as the target, because this species is universally distributed throughout our region and is considered to be the most common species contributing to total regional airborne grass pollen antigens.

2 Materials and methods

2.1 Sampling and antigen extract

A cyclone sampler, CM 90 (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, UK) was installed at Iwanami in Yamagata City, and airborne pollen antigens were collected in 1-ml tubes. No large community of grasses is present in any direction within 500 m of the sampling site. The tubes were replaced and samples were collected at 6:00 daily. The antigens in the airborne samples were extracted with 100 µl of 0.125 M ammonium bicarbonate in 0.1% bovine serum albumin (BSA) for 2 h at room temperature. The scratch extract of *Dactylis glomerata* pollen (B3SFV2) (Torii Pharmaceutical, Tokyo, Japan) was used for the standard solution, and we defined the concentration of the scratch extract as 100,000 arbitrary units/ml. Dac g content in single pollen grains was determined by extraction of a reference pollen provided from International Biological (Piedmont, OK) with 300 µl of 0.125 M ammonium bicarbonate overnight at 4°C. After centrifugation, the aliquot was used to measure Dac g antigen, and the pellets were used to count the number of Dac g pollen grains.

2.2 Preparation of horseradish peroxidase (HRP)-conjugated antibody

Antibodies against Dac g antigens were prepared with Japanese white rabbits. Two rabbits were immunized subcutaneously with 400 µg (200 µg each rabbit) Dac g antigen from Greer Laboratories (Lenoir, NC) mixed with Freund's complete adjuvant. Boosts were given at 4, 8 and 12 weeks after the first injection and small bleeds were taken a week after each boost to check the antibody response. A large bleed was taken a week after the final boost (Kane and Banks 2000). Antisera were precipitated with 35% saturated ammonium sulfate, and they were dialyzed with 0.125 M NaCl and 0.05 M phosphate-buffered saline (PBS) at

pH 7.0. The ammonium precipitates were then passed through protein A column to purify IgG fraction. A portion of the IgG fraction was further purified with the antigen-combined column, and the purified samples were eluted with 10 mM glycine-hydrochloric acid at pH 2.0. The eluate was immediately replaced with PBS (pH 7.0). The final protein concentration of the refined antibody against Dac g was 0.5 mg/ml as measured using the BCA protein assay kit (Pierce, Rockford, IL). The antigen-combined column was made using Dac g antigen (Funakoshi, Tokyo, Japan) reacted with CNBr-activated Sepharose 4B (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden). The refined antibody was conjugated with horseradish peroxidase using peroxidase labeling Kit-SH (Dojindo Molecular Technologies, Tokyo, Japan).

2.3 Electron spin resonance (ESR) radical immunoassay for Dac g antigen

Dac g antigen for SPT extract (Torii Pharmaceutical) was diluted 2,000-fold with PBS. The protein concentration of the Dac g antigens measured with BCA protein assay kit (Pierce) was 2.75 mg/ml. One hundred μ l of the diluted antigen was put in a 96-well plate (Nunc, Kamstrupvej, Denmark), and the samples were reacted for 6 h at 4°C. After three washes with ultra pure water, 370 μ l Stabilguard (SurModics, Eden Prairie, MN) was placed in each well, and the reaction was blocked overnight at 4°C. The plate were washed with ultra-pure water, dried in a desiccator, and kept at 4°C until use. Measurements were carried out as follows. Seven different concentrations of Dac g standard solution (5, 10, 20, 40, 100, 200, and 400 units/ml) were prepared prior for each measurement. One hundred μ l of the standard solution or 100 μ l of PBS containing 2% BSA was placed in each well of Dac g antigen-coated plate, and then 0.125 M ammonium bicarbonate (30 μ l) or an airborne sample (30 μ l) was added to each well. Then, 50 μ l HRP-conjugated antibody against Dac g diluted with 10% fetal bovine serum (FBS) and 0.1 M PBS was added to each well, and the solutions were mixed thoroughly. Each sample was usually put in a single well, and in some noticeable cases, samples were measured in duplicate. The seven standard solutions were measured each time. The plate was left for 2 h at room temperature or left overnight at 4°C. After

several washes in washing solution, 150 μ l of 4 mM *p*-acetamidophenol and 0.34 mM 1-hydroxy-2,2,5,5-tetramethyl-3-imidazoline 3-oxide and 0.01% hydroperoxide were added to each well and reacted for 1 h at 37°C. The enzyme reaction was stopped with 50 μ l sodium azide (100 mM). The amount of nitroxide radical (stable radical) produced as a result of the enzyme reaction was measured with an ESR device (FR30, JEOL, Tokyo, Japan) at a center field of 336.1 ± 5 mT. Details of the ESR measurement technique have been reported elsewhere (Matsuo et al. 1998; Aoki et al. 2002).

2.4 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and immunoblotting

The pollen protein samples were analyzed by SDS-PAGE (12.5% acryl amide concentration; Bio-Rad, Hercules, CA). Prestained protein molecular weight standards-high (Life Technologies, Tokyo, Japan) was used as a molecular weight standard. Electrophoresis was performed at a constant voltage of 12 V for 1 h. After electrophoresis, the gel was placed on a nitrocellulose membrane, and the antigens were transferred onto the membrane. The gels were stained with Coomassie-blue G-250. The membrane was blocked with PBS in 5% BSA overnight at 4°C, then the samples were reacted with 500-fold diluted biotinylated antibody against Dac g for 2 h. Antibody against Dac g was biotinized with long-arm NHS biotin (Vector Laboratories, Burlingame, CA) (Abdul-Ahad and Brett 2000). After three washes with PBS, the samples were reacted with 500-fold diluted alkaline phosphatase conjugated streptavidine (Vector Laboratories). Finally, the Dac g antigen bands were visualized with BCIP/NBT substrate (KPL, Washington, DC).

3 Results

3.1 Dac g reacts with the antibody against Dac g

The Dac g antigen from Greer laboratory that was used for immunization showed five clear bands in SDS-PAGE, with approximate molecular weights of

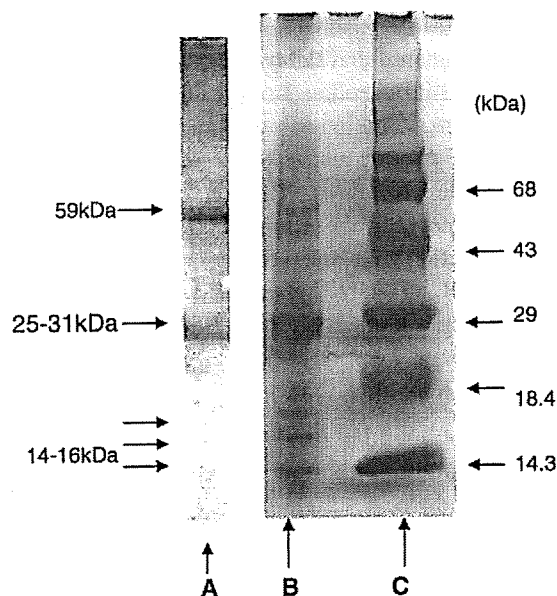


Fig. 1 Determination of molecular components of Dac g extract analyzed by SDS-PAGE and antibody against Dac g specificity by Western blotting. A: Antibody against Dac g analyzed by Western blotting. B: Molecular components of the Dac g extract analyzed by SDS-PAGE. C: Molecular weight markers: lysozyme (14.3 kDa), β -lactoglobulin (18.4 kDa), carbonic anhydrase (29 kDa), ovalbumin (43 kDa), and albumin (68 kDa)

59, 25–31, 16, 15, and 14 kDa. The 25–31 kDa band was broad and dense. The 59 and 25–31 kDa bands reacted with the antibody against Dac g. Three bands of low molecular weights, 14, 15, and 16 kDa, did not react with the antibody against Dac g (Fig. 1). Therefore, the antibody against Dac g contained antibodies against 59 and 25–31 kDa antigens.

3.2 Standard curve of ESR radical immunoassay

A standard curve was obtained using ESR radical immunoassay, and the results are shown in Fig. 2. The vertical axis indicates the relative signal intensity (RSI) (%); the horizontal axis indicates Dac g concentration expressed as unit/ml. The RSI (%) was calculated from the following equation.

$$\text{RSI}(\%) = \frac{\text{Signal intensity of a standard Dac g}}{\text{Signal intensity of a zero standard (without Dac g)}} \times 100$$

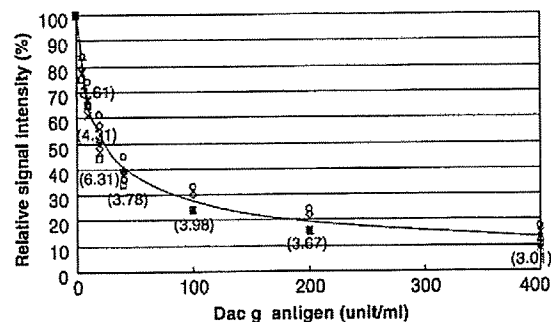


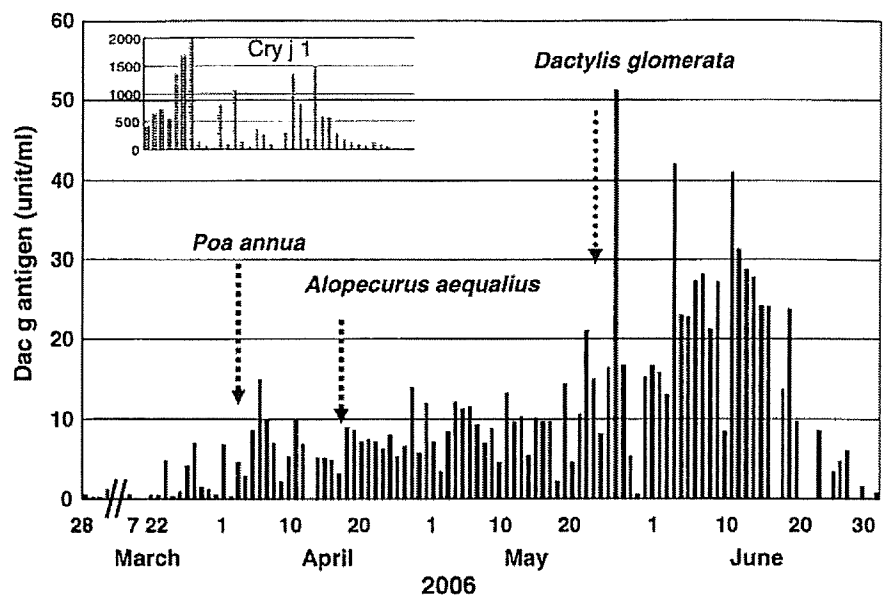
Fig. 2 Relationship between Dac g levels and relative signal intensity determined by ESR radical immunoassay. Seven concentrations (5, 10, 20, 40, 100, 200, and 400 units/ml) of Dac g were measured five times, and the RSI (%) was plotted on the vertical axis. A regression curve is derived from the mean value of the five measurements. Standard errors are shown in parentheses

The standard error of RSI (%) was in the range of 3.0–6.3% (mean 4.1%, $n = 6$) (Fig. 2), and therefore we defined a 90% intercept value of RSI to the zero standard signal intensity as the detection limit in this study. A zero standard means maximum binding capacity of the system in this case. The 90% intercept value of the signal intensity was approximately 3.5 units/ml. On the other hand, the amount of Dac g in single pollen grains was found to be 1.84 units/grain (1.38–2.24 units/grain, $n = 8$) based on a reference pollen obtained commercially.

3.3 Measurement of airborne Dac g antigen

The level of airborne Dac g antigens was examined during the period of 22 March and 30 June in 2006 (Fig. 3). Minor amounts of cross-reactive antigens to Dac g were already detected in late March, and the levels gradually increased thereafter. The levels were found to be 10 units/m³ until the middle of May. The Dac g levels increased after the blooming of orchard grass, and a high level of Dac g antigen was maintained until the middle of June. Symptoms of some grass pollinosis patients had already begun in

Fig. 3 Daily fluctuation of airborne Dac g measured by ESR radical immunoassay during the period from 7 March to 30 June 2006. Arrows indicate the flowering time of relevant grasses near the sampling site. Daily fluctuation of airborne Cry j 1 level is shown. The horizontal scale is adjusted for comparison



late April, when the airborne Dac g levels were fluctuating between 5 and 10 units/m³.

The relationship between the daily amount of airborne Cry j 1 (a major pollen allergen from Japanese cedar pollen) and that of Dac g was examined, and no relationship between the two values was observed (between 22 March and 10 May, $r = -0.1828$, $n = 50$).

4 Discussion

We have developed a highly sensitive method for measuring airborne Dac g antigens using ESR radical immunoassay. The 90% intercept value was calculated as 3.5 units/ml as described in Sect. 3. Each measurement needs 30 μ l extract; therefore, a level of Dac g in excess of 0.1 unit in the sample is detectable. The Dac g content in single pollen grains of *D. glomerata* was determined as 1.84 units. Thus, the amount of Dac g that could be detected was as low as 1/20th of that contained in single grains. Using this method, the Dac g antigen was detectable during the early stage of the grass pollen season. This approach is expected to provide useful information for grass pollinosis patients, especially for those who show symptoms at times when only a low level of antigen is present in air. Data are available 2½ h after sampling, namely, 30 min extraction (Takahashi

et al. 2001), 60 min antibody reaction and 60 min radical reaction. We could use the above treatment times without sensitivity loss on the occasion of the pollen allergen information. It is possible to supply the pollen allergen information to local residence through mass media until evening time on the same day.

Also, we have been providing information about Cry j 1 antigen in airborne pollen during the pollen season since 2005. It is well known that some patients displayed symptoms several weeks before airborne Japanese cedar pollen has been detected by microscopy. No airborne Cry j 1 has been detected using the conventional ELISA during this times. The development of the ESR radical immunoassay has now made it possible to conduct such measurements, and it has been reported that some patients show their symptoms during a period in which airborne Cry j 1 levels fluctuating between 1 and 3 μ g/m³. Such information could be useful for the patients whose symptoms begin early in the flowering season (Takahashi et al. 2007). Now we have been supplying airborne Cry j 1 information through internet and local TV at the pollen season.

Low levels of Dac g were present during the latter half of the Japanese cedar pollen season. Japanese cedar pollinosis is the most common in Japan, and more than 10% of Japanese suffer from it. Some patients who suffer from the pollinosis during this

season think that Japanese cedar pollen is their causative pollen, but it is clarified from this study that Dac g pollen was also detected in air at that time. It has been reported that some grass pollinosis patients show symptoms in late April and early May in our region (Takahashi et al. 1987), and this time corresponds to the period when early flowering species of grasses start to bloom. It is likely that the symptoms of these patients are provoked not only by Japanese cedar pollen, but also by grass pollen. Interestingly, no positive correlation was observed between the amounts of Cry j 1 and Dac g antigen in air, samples of which were collected during Japanese cedar pollen season. Dac g and Cry j 1 do not have any cross-reactive antigens. The comparison was made because we want to examine whether they appear in air simultaneously or independently controlled under different meteorological conditions, and further whether there are more patient symptoms in connection with the appearance of these antigens.

Airborne samples were taken using Burkard Cyclone sampler in this research. The manufacturer of the sampler announced that the collection efficiency of the sampler is 90% in 1- μ l range particles; that is to say, allergens existed as minute particles under 1 μ l, and gas-shaped particles could not be sampled. In Europe, the MONALISA (Monitoring Network of Allergen by Immuno-Sampling) project was initiated in 2005. The aim of the project is to characterize pollen allergens such as Poaceae, *Betula*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Cupressus*, *Parietaria*, and *Olea* pollens for the benefit of pollinosis patients. Several sampling methods were examined in the MONALISA project. According to Rantio-Lehtimäki of Turk University, samplings into the liquid were diluted, and ELISA results were not reliable (personal communication). The advantage of the Cyclone sampler is that allergens in large volumes of air could be collected in a very small quantity of extraction medium (at least 50 μ l). Therefore, we chose the cyclone sampler for the study.

In this research, we used an antibody against Dac g antigen, because *D. glomerata* is the most widely distributed species in our region and is considered to be the main species contributing to the total airborne grass pollen antigens in this region. A number of studies have been conducted to analyze *D. glomerata* pollen antigens (Esch and Klapper 1989; Cuerin-Marchand et al. 1996; Roberts et al. 1993;

Leduc-Brodard et al. 1996; van Oort et al. 2001). The extent of cross-antigenicity among grass antigens remains difficult to estimate. The antibody used in this study recognized antigens with molecular weights of 59 and 27–35 kDa. It is likely that 59 kDa antigen is Dac g 4, and 27–35 kDa antigen is Dac g 1 and/or Dac g 5. According to Esch (1999), Dac g 5 has a wide molecular weight distribution and is cross-reactive within pollen antigens from Poöideae. Therefore, Dac g 5 was considered to be one of the suitably defined antigens for our purpose.

As for antibody, several categories of antibodies are available for the airborne antigen measurements, e.g., antibodies created from crude antigen extracts, antibodies created from defined antigens, monoclonal antibodies, and polyclonal antibodies. There are no commercial products for antibodies against grass pollen antigens in Japan. First of all, we must prepare antibodies against grass pollen antigens. Monoclonal antibodies are easy to manage concerning quality control as indicated by the example that the MONALISA project has selected them. However, we prepared polyclonal antibodies because we want to use antibodies that have wide specificities related to local grass pollinosis, and it can be made easily. There is, certainly, a problem with quality control among preparations. However, we do not worry about this matter concerning the standpoint of pollen allergen information, because outstanding sensitivity of the ESR method made it possible to dilute the HRP-conjugated antibody to 10,000-fold. So, we can use the same preparation for many years. Addition to this, we think suitable antibody will differ from place to place as discussed in the next paragraph.

Some patients show symptoms before the flowering of *D. glomerata*. The amounts of airborne allergens causing grass pollinosis can be roughly estimated to quantify the airborne Dac g levels, because the antibody used in the present study reacts not only to Dac g pollen antigens, but also to grass pollen antigens cross-reactive with Dac g from other plants of the Poöideae subfamily. Thus, the airborne grass pollen antigens observed before *D. glomerata* flowering season that bloom until late May (Takahashi et al. 1993) may not have been Dac g itself, but may have been other species having cross-reactive antigens with Dac g antigen. Two early blooming species of grasses in our region are *Alopecurus aequalis* and *Poa annua*. However, early blooming species are not

limited to the above-mentioned species; for example, *Anthoxanthum odoratum* blooms prior to the major grass pollen season in some areas in Japan (Sudo et al. 2005). It would be desirable to investigate antibodies with a broad range of specificity against major allergens related to local grass pollinosis. Moreover, it would be helpful to examine antibodies in immunization with a mixture of grass pollen antigens from different species. Antibodies suitable for such studies will be those against the most important species in a particular region, and we think the suitable antibody will differ from place to place. Further research is still needed to clarify the differences among applied antibodies and to identify the appropriate antibodies for the measurement.

Acknowledgement We would like to thank to Dr. Takao Akatsuka, Professor of Emeritus of Yamagata University and President of Yamagata College of Industry and Technology for his helpful comments.

References

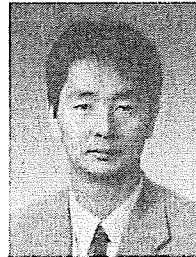
- Abdul-Ahad, W., & Brett, M. (2000). Biotin coupling. In J. P. Gosling (Ed.), *Immunoassays* (pp. 122–123). Oxford: Oxford University Press.
- Aoki, M., Saito, T., Watanabe, H., Matsuo, T., Saito, K., Togashi, H., Kawata, S., Ishikawa, K., Aoyama, M., Kamada, H., & Shinzawa, H. (2002). Clinical significance of a highly sensitive enzyme immunoassay of hepatitis B surface antigen using a novel electron spin resonance technique. *Journal of Medical Virology*, *66*, 116–170.
- Aoyama, M., & Takahashi, Y. (2004). Development of super-sensitive radical immunoassay for Cry j 1. *Japanese Journal of Allergology*, *53*, 1088–1090 (in Japanese with English abstract and legends).
- Cuerin-Marchand, C., Senechal, H., Bouin, A.-P., Leduc-Brodard, V., Taudou, G., Weyer, A., Peltre, G., & David, B. (1996). Cloning, sequencing and immunological characterization of Dac g 3, a major allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *Molecular Immunology*, *33*, 797–806.
- Esch, R. E. (1999). Grass pollen allergens. In R. F. Lockey & S. C. Bukantz (Eds.), *Allergens and allergen immunotherapy* (pp. 103–120). New York: Marcel Dekker.
- Esch, R. E., & Klapper, D. E. (1989). Isolation and characterization of a major cross reactive grass group I allergenic determinant. *Molecular Immunology*, *26*, 557–561.
- Kane, M. M., & Banks, J. N. (2000). Raising antibodies. In J. P. Gosling (Ed.), *Immunoassays* (pp. 19–58). New York: Oxford.
- Leduc-Brodard, V., Inacio, F., Jaquinod, F., Forest, E., David, B., & Peltre, G. (1996). Characterization of Dac g 4, a major basic allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *98*, 1065–1072.
- Martin, B. G., Mansfield, L. E., & Nelson, H. S. (1985). Cross-allergenicity among the grasses. *Annals of Allergy*, *54*, 99–104.
- Matsuo, T., Shinzawa, H., Togashi, H., Aoki, M., Sugahara, K., Saito, K., Saito, T., Takahashi, T., Yamaguchi, I., Aoyama, M., & Kamada, H. (1998). Highly sensitive hepatitis B surface antigen detection by measuring stable nitroxide radical formation with ESR spectroscopy. *Free Radical Biology and Medicine*, *25*, 929–935.
- Roberts, A. M., Bevan, L. J., Flora, P. S., Jepson, I., & Walker, M. R. (1993). Nucleotide sequence of c-DNA encoding the group α allergen cocksfoot/orchard grass (*Dactylis glomerata*), Dac g α . *Allergy*, *48*, 615–623.
- Spiekma, F. Th. M., Kramps, J. A., Plomp, A., & Koerten, H. K. (1991). Grass-pollen allergen carried by the smaller micronic aerosol fraction *Grana*, *30*, 90–101.
- Sudo, R., Sudo, M., Saiga, S., & Utumi, S. (2005). Relationship between pollen dispersal of grasses and early spring meteorological conditions in Morioka City, Japan. *Japanese Journal of Palynology*, *51*, 69–74 (in Japanese with English abstract and legends).
- Suphioglu, C., Singh, M. B., Taylor, P. B., Sellomo, R., Holmes, P., Puy, R., & Knox, R. B. (1992). Mechanism of grass-pollen induced asthma. *Lancet*, *339*, 569–572.
- Takahashi, Y., Matsuura, K., & Katagiri, S. (1987). Annual meadow grass (*Poa annua* L.) pollinosis. Early spring pollinosis caused by grass pollen. *Japanese Journal of Allergology*, *37*, 7–15 (in Japanese with English abstract and legends).
- Takahashi, Y., Sakaguchi, M., Inouye, S., Yasueda, H., Shida, T., & Katagiri, S. (1993). Airborne grass pollen antigens in a grassland as studied by immunoblotting with anti-Lol p 1 antibody. *Grana*, *32*, 302–307.
- Takahashi, Y., Ohashi, T., Nagoya, T., Sakaguchi, M., Yasueda, H., Nitta, H. (2001). Possibility of real-time measurement of an airborne *Cryptomeria japonica* pollen allergen based on the principle of the surface plasmon resonance. *Aerobiologia*, *17*, 313–318.
- Takahashi, Y., Aoyama, M., Yoshitake, M., Abe, E., Ohta, N., & Sakaguchi, M. (2007). Relationship between airborne Cry j 1 and the onset time of the symptoms of Japanese cedar pollinosis patients. *Allergology International*, *56*, 277–283.
- van Oort, E., de Heer, P. G., Lerouge, P., Faye, L., Aalberse, R. C., & van-Ree, R. (2001). Immunochemical characterization of two *Picia pastries*-derived recombinant group 5 *Dactylis glomerata* isoallergens. *International Archives of Allergy and Immunology*, *126*, 196–205.
- Weber, R. W., & Nelson, H. S. (1985). Pollen allergens and their interrelationships. *Clinical Reviews in Allergy*, *3*, 291–318.

6 花粉症の薬物治療

Medical treatment for cedar pollinosis

山形大学医学部情報構造統御学講座
耳鼻咽喉-頭頸部外科学分野 講師

おおた のぶお
太田 伸男



太田 伸男
1992年山形大学医学部大学院医学研究科卒業。96年米国国立衛生研究所(NIH)留学、現在に至る。研究テーマはアレルギー性鼻炎の基礎的および臨床的研究、Wegener肉芽腫症の病態に関する研究。

Key words : 花粉症、初期治療、導入療法、維持療法

Abstract

花粉症患者の増加が著しく社会問題となっている。花粉症の薬物治療は症状、重症度に応じた薬物選択と治療効果の判定には鼻症状や鼻所見などの総合的な判断だけでなく、患者満足度やQOLの向上も考慮する必要がある。花粉症の低年齢化が進行している今日、残念ながら自然寛解の少ない疾患であることを患者に認識させ、症状、重症度に応じた対応法の確立に患者自身も積極的に参加するように意識を高めていくことが重要である。

り、抗原の特定は患者の生活指導の上でも重要である。しかし、実際には薬物治療が中心となっているのが実情である。治療効果の判定には鼻症状や鼻所見などの総合的な判断だけでなく、患者満足度やQOLの向上も考慮する必要がある1-4。花粉症の低年齢化が進行している今日、残念ながら自然寛解の少ない疾患であることを患者に認識させ、症状、重症度に応じた対応法の確立に患者自身も積極的に参加するように意識を高めていくことが重要である(表1)。

1. 花粉症の治療

はじめに

近年、アレルギー性鼻炎の有病率が上昇しているだけでなく、発症の低年齢化が指摘されている。国民の10%以上がスギ花粉症に罹患しており、特に若年層ではスギ花粉に対する抗体の保有率が50%を超え、その半数は実際に花粉症の症状を発症している。症状を抑制するためには抗原回避が最も重要であ

花粉症は自然寛解が少なく治療は長期間に及ぶことが多い。そのため、アレルギー性鼻炎患者のニーズは短期的な症状の緩和であったり、長期的な寛解であったりそれぞれ大きく異なる。したがって、個々の患者の症状と重症度を評価すると同時にそれぞれのニーズを適切に把握し、きめこまやかに対処する必要がある。一般的に、多少のくしゃみや鼻汁などの症状は残っても日常の生活上の支障と

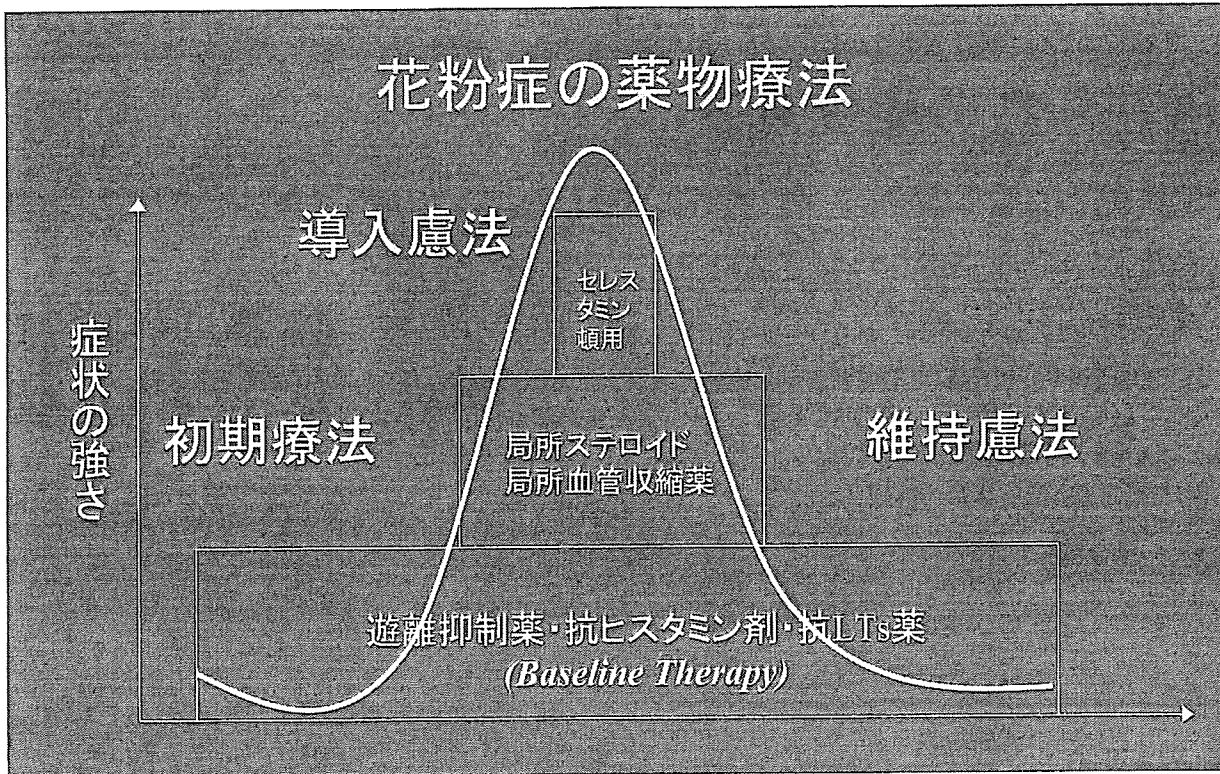


図1 Baseline Therapy(ベースライン治療)

ならない状態を維持できることが治療の目標となる。具体的な治療方法は、1) セルフケア、2) 薬物療法、3) 特異的減感作療法、4) 外科的治療に分けられる。薬物療法が行われることが多いが、患者のQOLと満足度を向上させるためには、各々の症状と重症度に応じた治療方法の組み合わせが必要となる。

1) 薬物療法

現在、表2に示すように奏効機序の異なる多彩な薬物が開発されており、これらを症状、重症度に応じて単剤でまたは組み合わせて用いる。慢性疾患である通年性アレルギー性鼻炎と急性疾患に近い経過を示す花粉症では薬剤の選択方法は多少異なる。

a)花粉症の薬物治療 (図1)

花粉症においても抗原回避と薬物治療が中心となる。受診の時期や花粉飛散量に応じ、

個々の症例に最も適した薬物、または薬物の組み合わせを見つけることが肝要である。このためには、患者自身に医師任せではなく医師との共同作業が必要で、鼻アレルギー日記を用いた病状の理解の共有と協力の重要性を患者にも理解してもらう必要がある。

花粉症に対する薬物療法としては、症状が出る前から治療を開始する初期治療、症状が強くなってから治療を始める導入療法、よくなった症状を維持するための維持療法がある。患者の持つ感受性、反応性を考慮した上で、治療開始時期や使用薬剤を決定することが大切である。しかし、個人の過敏性を知る確立された手段はなく、患者が来院する時期およびその症状に適合した方法をとるのが現時点での選択となっている。1-4また、薬剤の効果と副作用については個人差がかなり

表1 花粉症の特徴

- 1) 発作性反復性のくしゃみ、水様性鼻汁、鼻閉、眼のかゆみ
- 2) 発症時期は季節性で原因花粉の時期に一致
- 3) 鼻汁、結膜分泌物中に好酸球増多がある
- 4) 花粉抗原による皮膚反応、特異的IgE検査が陽性
- 5) 既往歴や家族歴にアレルギー疾患が多い

表2 アレルギー性鼻炎用抗アレルギー薬

- 1) ケミカルメディエーター遊離抑制薬
 インタール アレギサール リザベン ソルファ
- 2) ケミカルメディエーター受容体拮抗薬
 H1受容体拮抗薬
 第1世代：ポララミン タベジール
 第2世代：クラリチン ザジテン アレロック リボスチン ジルテック
 ニポラジン アレジオン エバステル ゼスラン レミカット
 ヒスマナール アレグラ タリオン
 トロンボキサラン A2受容体拮抗薬 バイナス
 ロイコトリン受容体拮抗薬 オノン
- 3) Th2サイトカイン阻害薬 アイピーディー
- 4) ステロイド（局所，全身）
 アルデシンAQ ネーザル リノコート フルナーゼ
 セレスタミン
- 5) その他 変調療法薬 生物製剤 漢方薬
 ベコナーゼ アルデシン フルナーゼ セレスタミン

大きく、その有用度は実際に使ってみなければわからない。また、薬物の効果は軽症例では単剤で十分でも、重症、最重症例では奏効機序の異なる複数の薬剤の併用が必要となり、重症度と症状に応じた治療戦略を立てる必要がある。（表3）

①初期治療（症状がないか出始めてすぐに治療する場合）（表3）

症状がでる前から治療を始める方法で、目

的は過敏性亢進を抑制することであり、第2世代抗ヒスタミン薬、ケミカルメディエーター遊離抑制薬、抗ロイコトリエン薬のいずれかを例年の症状の程度によって選択し花粉飛散終了まで続ける。花粉飛散数が増加し、このBaseline Therapyの薬剤のみでは症状の抑制ができなくなった場合には、ベース以外の効果作用機序の薬剤を併用する。また、花粉飛散ピークの特に出る強い場合には糖尿病

表3 重症度に応じた花粉症に対する治療法の選択（参考文献1より引用）

重症度	初期療法	軽症	中等症	重症・最重症
病型			くしゃみ・ 鼻漏型	くしゃみ・ 鼻漏型
			鼻閉型または鼻閉を 主とする完全型	鼻閉型または鼻閉を 主とする完全型
	①遊離抑制薬 ②第2世代 抗ヒスタミン薬 ③抗LTs薬	①第2世代 抗ヒスタミン薬 ②鼻噴霧用 ステロイド薬	第2世代 抗ヒスタミン薬 + 鼻噴霧用 ステロイド薬 + 第2世代 抗ヒスタミン薬	鼻噴霧用 ステロイド薬 + 第2世代 抗ヒスタミン薬 + 第2世代 抗ヒスタミン薬
治療	①、②、③のい ずれが一つ	①と点眼薬で治 療を開始し、必 要に応じて②を 追加		必要に応じて点眼薬・血 管収縮薬を治療開始時 の7～10日間に限って 用いる 鼻閉が特に強い症例で は経口ステロイド薬4 ～7日間処方して治療開 始することもある
		点眼用抗ヒスタミン薬または遊離抑制薬		点眼用抗ヒスタミン薬、遊離抑制薬ま たはステロイド薬 鼻閉型で鼻粘膜形態異常を伴う症例では手術 特異的免疫療法 抗原除去・回避

や消化性潰瘍などの合併症がないことを確認した上で、経口ステロイドの頓用も行う。また、大量飛散が予測されている場合は、局所ステロイドを併用することも有効である。

②導入療法（症状が強くなってから治療を始める場合）（表3）

大多数の患者は症状がある程度強くなってから医療機関を受診する。この時点での鼻粘膜は反応性が亢進した状態にあり、導入療法として最初に強力な治療を行って症状とともに過敏性も花粉飛散前の状態に戻すことが重要である。適切なケミカルメディエーター受容体拮抗薬を病型および重症度から選択しBaseline Therapyのベースとして開始し、効果が不十分の場合は局所ステロイド薬などベース以外の効果作用機序の薬剤を併用する。症

状の特に強い場合は、さらに経口ステロイド薬を1から2週間を限度に併用する。

③維持療法（よくなった症状を維持するため）

初期療法や導入療法によって、よくなった症状を維持するためにベースとなるケミカルメディエーター受容体拮抗薬やケミカルメディエーター遊離抑制薬を花粉飛散終了まで続ける。症状や重症度に応じてベースとなる薬剤の変更や局所ステロイドの併用も考慮する。

b) 花粉症の薬物治療の副作用（表4）

現在使用されている花粉症治療薬は原因療法薬ではなく、症状を緩和する対症療法薬である。このため薬物療法中には有害な副作用や薬剤相互作用の発現に注意すると同時に、もし現れた場合には迅速かつ適切に対処して