

Title	家屋塵中のアレルゲンについての研究
Author(s)	豊島, 協一郎
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29666">https://hdl.handle.net/11094/29666</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	豊島協一郎 とよしま きょういち ろう
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1642 号
学位授与の日付	昭和 44 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医学研究科内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	家屋塵中のアレルゲンについての研究
論文審査委員	(主査) 教授 蒲生 逸夫 (副査) 教授 山村 雄一 教授 北川 正保

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

家屋塵が気管支喘息のアレルゲンとして重要なことは多くの研究者達に認められ、気管支喘息の診断および治療に家屋塵抽出液が利用されている。しかし、家屋塵アレルゲンの本体に関しては、いまだ一定の見解はない。著者は、家屋塵粗抽出物またはその各分画のアレルゲン活性と物理化学的特性を比較検討して、家屋塵アレルゲンの本体を知ろうとした。

#### 〔方法ならびに成績〕

気管支喘息患児(以後「患者」と略す)個々の家屋塵(以後「単一家屋塵」と称す)、またはそれらを約20種混合した家屋塵(以後「混合家屋塵」と称す)を、脱脂後りん酸緩衝液(pH 7.4, 0.02M)で抽出し、抽出液を脱イオン水に対して透析してから membrane filtea No. 5 で濾過して、濾液を凍結乾燥した。これが単一家屋塵粗抽出物(「HDi」と略す)および混合家屋塵粗抽出物(「HD」と略す)である。

HD の 0.5 $\mu$ g/0.025ml 滅菌生理食塩液溶液で患者に皮内反応検査をすると、75%が陽性を示したが、非アレルギー小児では4%に陽性を認めただけであった。種々の HDi の同濃度液を、HD 陽性患者に皮内反応検査をすると、ほとんどの例が陽性を示し、各単一家屋塵中に共通に含まれる家屋塵アレルゲンが存在することを知った。そこで、混合家屋塵を、家屋塵アレルゲン抽出の原料として研究を進めた。

HD をトリプシンで分解しても皮内反応活性は影響を受けなかったが、過沃素酸酸化では活性の低下を認め、家屋塵アレルゲンと多糖類成分との関係が考えられた。

抗 HD モルモット血清に対し、HD は、寒天ゲル内沈降反応(二重拡散法)で2本の沈降線を形成したが、HD 溶液を沸騰水浴中で5分間加熱すると沈降線を形成しなくなった。しかし、皮内反応活

性は、5分、10分、30分、60分の加熱でも変化が認められなかった。そこで、アレルゲンは上記ゲル内沈降反応で認められた抗原性物質とは異なった物質であろうと考えた。

HD を Sephadex G 50 でゲル濾過して、exclude (Fr. 2) および include の分画 (Fr. 3 および Fr. 4) に分けると、皮内反応活性は exclude 分画に存し、この分画では、280m $\mu$  吸光成分および糖成分が一致して流出した。また、この分画の収量は、重量法で12%であった。

Hdi 4種のゲル濾過でも、類似のクロマトグラムが認められ、皮内反応活性は exclude 分画に強かった。

ついで、HD のゲル濾過活性分画を CM-セルロース カラム クロマトグラフィーで分画すると、吸着されない成分 (CM 1) と 0.1N NaOH, 0.3M NaCl で溶出される成分 (CM 2) とにわかれ、皮内反応活性は吸着されない分画に強かった。この活性分画では、280m $\mu$  吸光成分および糖成分が一致して流出し、収量は重量法で18%であった。

CM-セルロースに吸着されない分画を、さらに DEAE-セルロース カラム クロマトグラフィーで、吸着されない成分 (DEAE 1), pH7.4, 0.02M リン酸緩衝液から 0.2M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2M NaCl への gradient elution で pH 7.0, 0.1M NaCl の附近に溶出される成分 (DEAE 2), 0.1NHCl, 2M NaCl で溶出される成分 (DEAE 3) に分画した。皮内反応活性は DEAE 2 に最も強く、DEAE 1 にも弱いながら活性が認められ、DEAE 2 の主要成分および DEAE 1 では、280m $\mu$  吸光成分および糖成分の流出が一致していた。分画の収量は、重量法で DEAE 2 は43%、DEAE 1 は44%であった。

Fr. 2, CM 1, DEAE 1, DEAE 2 を、HD と同時に閾値試験を行なった。HD の閾値濃度に対する各分画の閾値濃度の比の逆数を、各分画の活性指数とすると、Fr. 2 では  $2^{1.5\pm 0.8}$ , CM 1,  $2^{2.9\pm 1.1}$ , DEAE 1,  $2^{1.4\pm 0.5}$ , DEAE 2,  $2^{3.3\pm 1.4}$  であって、Fr. 2, CM 1, DEAE 2 の順に活性が増加していることが示された。DEAE 2 は、脱脂家屋塵 100g から 11.6mg が得られた。

HD およびその各分画の分析値と皮内反応活性を比較すると、糖、蛋白、総Nの含量、或いは糖/蛋白、糖/総N、蛋白/総Nの比と皮内反応活性との間には一定の関係が見出されなかったが、ヘキソサミン含量は活性の強弱と相関した。しかし、活性指数とヘキソサミン含量%との間の直線的な相関はなかった。

DEAE 2 の分析値は、乾燥重量に対する%で示すと、糖 (アンスロン法、グルコース当量) 23.0, 総N 3.4, 蛋白 (Folin-Ciocalteu 法、牛血清アルブミン当量) 9.0, ヘキソサミン (Boas 法、グルコサミン当量) 5.0 であった。総Pは、HD で0.13%以下であった。

CM 分画、DEAE 分画での P.K. 反応は、大部分の例で CM 1, DEAE 2 が陽性を呈し、CM 2, DEAE 3 が陰性であった。反応強度は、全例 CM 1 > CM 2, DEAE 2 > DEAE 1 > DEAE 3 であった。このことは、患者に直接皮内反応を行なって調べた活性を基準にして追究してきた活性分画がアレルゲンを含んでおり、今までに皮内反応活性と表現した活性を、アレルゲン活性と呼び換えても良いことを示している。

#### 〔総括〕

1. 家屋塵アレルゲンは、非透析性水溶性物質で、大多数の患者家屋塵中に共通して含まれていた。
2. HD を、ゲル濾過、イオン交換セルロースクロマトグラフィーで分画を重ね、単位重量当りのア

レルゲン活性が約10倍強い分画を分離した。しかし、活性指数は患者によって異なっているので、アレルゲンの多様性も考えられる。

3. アレルゲン活性におよぼす各種化学的処理の影響、クロマトグラフィーによる 280nm 吸光成分、糖成分の流出の同時性、ヘキソサミン含量とアレルゲン活性との相関から、家屋塵アレルゲンは糖蛋白結合体であると考えた。

### 論文の審査結果の要旨

気管支喘息患者個々の家屋塵中には、共通のアレルゲンが含まれていることを証明し、クロマトグラフィーによる分画を重ねて、アレルゲン活性のかなり強い分画を分離して種々の検討を行なった結果、その性状は糖蛋白であろうことを示している。

このような家屋塵アレルゲンの精製およびその性状の解明は、気管支喘息の病因追究を進める基盤となるもので、本研究の意義は大きい。