

短報

コナヒョウヒダニが生産する アレルゲン Der f 1 量の測定と その安定性の評価

稲田貴嗣, 竹田 茂

Measurement of allergen content of Der f 1 yielded from *Dermatophagoides farinae* and evaluation of its stability

Takatsugu INADA and Shigeru TAKEDA

はじめに

屋内性ダニ類のチリダニ科ヒョウヒダニ属のコナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* とヤケヒョウヒダニ *D. pteronyssinus* は、喘息やアトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患を引き起こすアレルゲン物質を生産することが知られている^{1,2)}。これらのダニはどこの家庭でも普通に発生するダニで、床や布団などから採取した屋内塵（ハウスダスト）中に見つかるダニの大多数を占めている。

ダニアレルゲンとなる物質を明らかにするために、ダニおよびダニ飼育培地からタンパク質が抽出・分離され、その構造解析などの研究が盛んに行われている。その結果、排泄物（糞）由来アレルゲン（Der 1）や虫体由来アレルゲン（Der 2）など10数種類のヒョウヒダニ由来のアレルゲンが見つかり³⁾、それらの性状や構造が明らかにされている。それらのダニアレルゲンの中でも Der 1 および Der 2 はアレルギー疾患と関連が強く、屋内塵中などにそれらが多く蓄積すると喘息の感作や発作を誘発することが知られている。特に、長期間押入に収納されていた寝具はダニが増加しやすい環境に置かれ、ダニの糞や死骸などが蓄積されている。そのため寝具を使用する際、ダニアレルゲンを吸引することによって喘息発作を誘発する危険性が大きい⁴⁾と考えられている。寝具など、定期的に清掃が行われない状況にある場合、ダニアレルゲンは蓄積され増加するのか、それとも徐々にアレルゲン性を失うのか、その安定性は明らかでない。そこでコナヒョウヒダニを個別に飼育して、生産さ

れるダニアレルゲン（Der f 1）量を測定し、ついで Der f 1 の活性が時間の経過によってどのように変化するかを試験した。

材料および方法

1. 材料および飼育室の環境条件

ダニは神奈川県内の一般家庭で採取した屋内塵から分離・抽出し、餌（35g）の入った腰高シャーレ（ $\phi 90\text{mm} \times 60\text{mm}$ ）で飼育培養したコナヒョウヒダニを用いた。

餌は飼育培養前に飼育室内と同条件に数週間置くことによって水分含量を調整した、マウス・ラット用粉末飼料（MF粉末、オリエンタル酵母工業）を用いた。

飼育室は、25°C、65%RH、24時間暗条件に調節した。

2. 糞の採集

培養したコナヒョウヒダニを、飽和食塩水浮遊法を用いて餌から紙上に分離し、実体顕微鏡下で若虫を抽出した。若虫は成虫になるまで、飼育室に置いたガラス管（図1）の中で1個体ずつ飼育した。成虫を別のガラス管に移し、さらに飼育室で2週間飼育後、ダニの糞を餌とともにガラス管内から取り出した（オス：334個体、メス：383個体）。ガラス管内の餌は、1本あたり平均0.003g使用した。

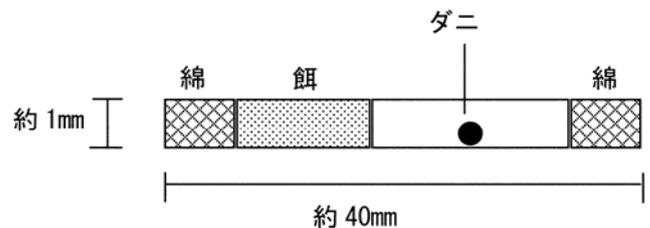


図1 ダニの個別飼育容器

3. ダニアレルゲンの安定性試験

ダニの糞が蓄積された餌を、雌雄別に3-13匹分を1サンプルとしてシャーレに集めた（オス：48サンプル、メス：49サンプル）。ダニを取り除いた後、餌が飛散ないようにシャーレにナイロン布でフタをして、飼育室に一定期間（1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月）放置した。

4. ダニアレルゲン Der f 1 量の測定

シャーレ内の餌をマイクロチューブ（1.5ml）に移し、1%BSA含PBS-T（0.05% Tween20）を1ml加え、室温（25°C）で4時間攪拌した。ついで2000rpm、10分間遠心後、上澄み液を用いて、ELISA法で Der f 1 量を測定した。

モノクロナール抗体および標準ダニ抗原は、INDOOR社製ELISAキット（Der f 1 ELISA 20）を用いた。

ELISA法の作業手順は、wellの洗浄回数を5回に変更した以外はELISAキット付属の手順書に従った。

結果および考察

1. Der f 1生産量

糞採集直後の試料で測定したDer f 1生産量を表1に示した。コナヒョウヒダニ1匹が1日あたりに生産するDer f 1量はオスが 0.37 ± 0.17 ng (平均 \pm 標準偏差)、メスが 0.28 ± 0.09 ngであった。

表1 コナヒョウヒダニ1匹が1日に生産するDer f 1量

	平均 \pm SD (ng)	最大 (ng)	最小 (ng)
オス成虫	0.37 ± 0.17	0.71	0.28
メス成虫	0.28 ± 0.09	0.39	0.18

WHO⁵⁾ やPlatts-Mills et al.⁶⁾ などによって細塵1gあたりのDer 1量 2μ gがアレルギー患者の感作基準とされている。このDer 1量は、Tovey et al.⁷⁾ が測定したヤケヒョウヒダニの糞1個に含まれるDer p 1量と1日に生産される糞数から、ダニ100匹が7日間に排出する量に相当するといわれている。今回の測定結果をもとにダニ100匹が7日間で生産するDer f 1量を算出すると、オス 0.26μ g、メス 0.20μ gであり、Tovey et al.⁷⁾ の報告値の約1/10の量であった。Tovey et al.⁷⁾ は、ダニの飼育環境が最適でない場合、糞の生産数が減少することを報告している。本試験では餌にカビが発生するのを抑えるため、コナヒョウヒダニの発育に最適な湿度(約70%RH)よりも少し低い条件(65%RH)で飼育を行っており、その影響を受けて糞の生産量が減少した可能性が考えられる。このことは、ダニが好む最適な状態にならないように住環境を調節することによって、ダニアレルゲンの蓄積量が抑えられることを示している。ダニの発生数を抑制するための一般的な対策として、室内を乾燥させることが重要とされている。室内を乾燥するなどの住環境対策を行うことは、ダニの発生数を抑制するだけでなく、ダニアレルゲン生産量の抑制にもつながると考えられる。

2. アレルゲン活性の変化

時間経過にともなうDer f 1量の変化を図2に示した。

オスが生産したDer f 1量は糞採集直後の試料(0.37 ± 0.17 ng/匹/日)、1ヶ月後の試料(0.34 ± 0.13 ng/匹/日)、3ヶ月後の試料(0.32 ± 0.11 ng/匹/日)、6ヶ月後の試料(0.28 ± 0.10 ng/匹/日)で有意な差はなく(Kruskal-Wallis test, N.S.)、時間経過にともなうアレルゲン活性の減少は見られなかった。一方、メスでは

3ヶ月後の試料(0.16 ± 0.06 ng/匹/日)が糞採集直後(0.28 ± 0.09 ng/匹/日)および1ヶ月経過後の試料(0.22 ± 0.08 ng/匹/日)よりもDer f 1量が少なく、有意な差が見られた(Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$)。しかし6ヶ月経過した試料(0.18 ± 0.07 ng/匹/日)では他の試料と有意な差は無く(Mann-Whitney U-test, N.S.)、メスでもDer f 1のアレルゲン活性は6ヶ月間失われぬものと考えられる。橋本・吉村⁸⁾は屋内塵中のダニアレルゲン活性の安定性を夏期の住環境(25–38°C, 70%RH以上, 直射日光が1日数時間当たる条件)で2ヶ月間試験し、Der 1の分解や変性はほとんど無く、居住環境の条件ではDer 1の安定性は高いとしている。本試験においてもDer f 1のアレルゲン活性は6ヶ月間変化があまり見られず、橋本・吉村⁸⁾と同様に、その安定性が高いことが示された。したがって、ダニアレルゲンは自然に減少することはなく、清掃などによって除去しない限り、蓄積され増えていくものと考えられる。

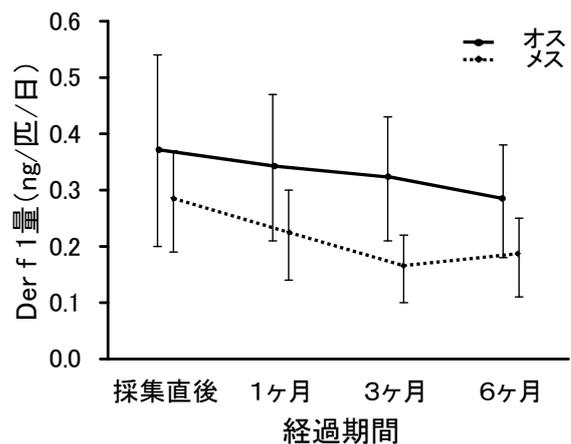


図2 時間経過にともなうDer f 1量の変化
Error bar:SD

まとめ

本試験の結果、Der f 1の活性は長期間変化しないことが明らかになった。一方、1個体が生産したDer f 1量は一般的にいわれている値に比べて非常に少なかった。原因のひとつとして湿度などの環境要因が影響している可能性が考えられた。今後この原因を明らかにすることが、温湿度の調整など環境整備の面からダニアレルゲン対策を行ううえで重要であると考えられる。

謝辞

本研究は、平成17年度神奈川県重点基礎研究費で行われた。

(平成19年7月20日受理)

文 献

- 1) Voorhorst, R., Spieksma-Boezeman, M. I. A. and Spieksma, F. Th. M.: Is a mite (*Dermatophagoides* sp.) the producer of the house-dust allergen?, *Allergie und Asthma*, **10**, 329-334 (1964)
- 2) 宮本昭正, 大島司郎, 石崎達, 佐藤重男: 室内塵とダニの抗原性の一致について, *アレルギー*, **17**, 85-90 (1968)
- 3) Thomas, W. R., W. Smith, B. J. Hales, K. L. Mills and R. M. O'Brien: Characterization and immunobiology of house dust mite allergens, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **129**, 1-18 (2002)
- 4) 西宮市ダニアレルギー調査委員会: ダニアレルギー調査報告書, 西宮市環境衛生局出版, 兵庫 (1989)
- 5) WHO : Dust mite allergens and asthma. A worldwide problem, *Bull. WHO*, 769-780 (1988)
- 6) Platts-Mills, T. A. E., W. R. Thomas, R. C. Aalberse, D. Vervloet and M. D. Chapman: Dust mite allergens and asthma: Report of a second international workshop, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **89**, 1046-1060 (1992)
- 7) Tovey, E. R., M. D. Chapman and T. A. E. Platts-Mills : Mite faeces are a major source of house dust allergens, *Nature*, **289**, 592-593 (1981)
- 8) 橋本知幸, 吉村結子: コナヒョウヒダニDer I アレルゲンの飼育培地中における蓄積と安定性の評価, *日環セ所報*, **28**, 56-62 (2001)