ゴキブリアレルギーに関する研究

2. チャバネゴキブリ抗原の性状とヒトおよび実験動物に対するアレルギー性

川上 敏興 須藤 千春 熊田 信夫

名古屋大学医学部医動物学講座 (〒466 名古屋市昭和区鶴舞町 65)

(受領: 1988年 11月 24日)

Studies on the cockroach allergy

2. Nature of the German cockroach antigen and its allergenic activity in experimental animals

Toshioki KAWAKAMI, Chiharu SUTO and Nobuo KUMADA

Department of Medical Zoology, School of Medicine, Showa-ku, Nagoya 466, Japan

Key words: *Blattella germanica*, PCA reaction, basophil degranulation test, cross-antigenicity, gel-filtration.

緒 言

ゴキブリ類は世界中で約3,500種が知られており、そのうち50種前後は家屋内の衛生害虫と考えられている。日本産のゴキブリ7科40種のうち4科9種が屋内および家屋周辺部に生息して、衛生害虫とみなされている(Asahina, 1961)。ゴキブリ類の研究に従事している人々が、かなり高頻度にゴキブリに対してアレルギー反応を起こすことは、従来からも報告されている(Bernton and Brown, 1964; 川上ら, 1982; Steinberg *et al.*, 1987)。また、アレルギー疾患の患者中にもゴキブリ抗原を用いた皮膚テスト, IgE radioallergosorbent test (RAST), 吸入誘発テストに陽性を示した例がアメリカ合衆国, タイ, 日本などから次々に報告されている(Bernton and Brown, 1964, 1970 a, b; Bernton *et al.*, 1972; Choovivathanavanich, 1974; Corazon *et al.*, 1973; Fraster, 1979; Hulett and Dockhorn, 1979; Kang, 1976; Kang and Chang, 1985; Kang and Sulit, 1978; Kang *et al.*, 1979; Richman *et al.*, 1984; 根本ら, 1973)。

前報(川上ら, 1982)においては、無作為に抽出した気管支喘息患者34例中12例が、0.01%フェノール加生理食塩水によるチャバネゴキブリ *Blattella germanica* (L.) の虫体抽出液(以下 *B. g.* 抗原)に対する特異

IgE 抗体を保有していることを、RAST 法を用いて明らかにした。また RAST および皮内テストの結果から、コナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* (Hughes) 抗原(以下 *D. f.* 抗原)と *B. g.* 抗原との間には交差抗原性のない可能性が示唆された。同時に *B. g.* 抗原の免疫原性が比較的強いことも推定され、室内塵中の主要抗原物質とされているヒョウヒダニ類、カビ類に加えて、近年の屋内暖房、空調等の普及に伴って増加傾向の顕著なゴキブリ類およびその排泄物なども、室内塵中のアレルギーの一つとなっている可能性が推定された。

今回われわれは、*B. g.* 抗原を用いて数種の動物モデルによる実験を行い、*B. g.* 抗原の特性を追究するとともに、とくにウサギ好塩基球脱顆粒反応を指標として、抗アレルギー物質の検索手段としての意義について検討した。さらに臨床所見と動物実験のデータとの相関を調べるため、喘息患者を対象として皮膚ブリックテストおよび好塩基球脱顆粒反応を実施した。

材料および方法

抗原の作製およびその性状

抗原の作製: チャバネゴキブリの虫体抽出液, チャバネゴキブリの糞抽出液, ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* (L.) の虫体抽出液, クロゴキブリ *Peripla-*

neta fuliginosa (Serville) の虫体抽出液は、いずれも前報 (川上ら, 1982) に記載した方法によって作製した。すなわち, $25 \pm 3^\circ\text{C}$ の飼育室においてマウス固型飼料 (CE-2, 日本クレア製) を餌として累代飼育した各種ゴキブリ虫体およびチャバネゴキブリの糞を少量の生理的食塩水とともに十分に磨碎し, 試料湿重量の 30 倍の 0.01 % フェノール 加生理食塩水によって $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 時間にわたって抽出した。抽出液をエーテルで脱脂したのち, これをメンブランフィルター (孔径 $0.45 \mu\text{m}$, ミリポア社製) で除菌したものを粗抗原として, 以下の実験に用いた。チャバネゴキブリ唾液は, 固定した成虫の胸部を軽く圧迫することにより, 口から出した唾液をキャピラリーで採取したものを用いた。

B. g. 抗原のゲルろ過: Sephadex G-100・fine (ファルマシア社製) を用い, カラムサイズ直径 $28 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$ のガラスカラムに充填し, *B. g.* 粗抗原 5 ml を 0.05 M phosphate buffered saline (pH 7.4) を用いて 30 ml/hr で展開し, 10 ml ずつ分取した。各分画につき分光光度計 (日立 101 型) によって O. D. 280 nm の吸光度を測定し, 約 50 ml ずつ F1~F6 の 6 分画に大別し, ウサギ好塩基球脱顆粒反応, マウス抗 *B. g.* IgE 抗体産生, 抗 *B. g.* IgE 保有喘息患者の皮膚プリックテストを実施した。

動物および感作

動物: マウスは当教室において累代飼育した SMA 近交系マウスの 5~6 週齢, 体重 $20 \sim 25 \text{ g}$ の雄および雌を用いた。ラットは Sprague-Dawley 系の雄, 体重 200 g 前後, ウサギは日本在来種の雄, 体重 $2 \sim 2.5 \text{ kg}$ (いずれも静岡実験動物より購入) を用いた。購入した動物は, $25 \pm 3^\circ\text{C}$ の小動物飼育室内で 1 週間以上の検疫予備飼育期間の経過後に使用した。

感作法: マウスに対する感作は, 1 個体あたり *B. g.* 抗原 (1:30) 0.2 ml にアルミゲル C γ (アラム®, シグマ社製) 1 mg を混和したものを背部皮内および腹腔内に接種して行った。初回免疫の 5 週間後に同量の *B. g.* 抗原で補追免疫を行い, その 2 週間後に心臓穿刺により採血し, 常法により血清を分離し, 抗 *B. g.* マウス血清とした。マウスを雄 5 匹, 雌 5 匹を用いた。

Sephadex G-100 ゲルろ過分画を用いたマウスの感作は, 大別した分画 F1~F6 の原液を用い, *B. g.* 粗抗原による感作と同様の方法で実施した。

ウサギの感作には, 1 羽につき *B. g.* 抗原 (1:30) 2 ml にアルミゲル C γ 100 mg を添加して背部皮内および足蹠皮下に接種した。感作の程度は, 好塩基球脱顆粒反応および同種 72 時間 PCA 反応によって観察した。なお, 感作は 1 群につき 3 羽ずつ実施し, そのうち好塩

基球数が $50/\text{mm}^3$ 以上で, かつ *B. g.* 抗原 (1:30) を添加した場合に脱顆粒率 90 % 以上を示した個体を選び供試動物として採用した。

ヒトおよびウサギ好塩基球脱顆粒反応ならびに使用薬剤

ヒト好塩基球脱顆粒反応: 対象は名古屋鉄道病院呼吸器科の外来気管支喘息患者 (軽症および中等症, 抗 *D. f.* IgE RAST 陽性), かつ血中好塩基球数 $20/\text{mm}^3$ 以上の 11 例のうち, *D. f.* 抗原の 10 倍生理食塩水希釈液添加により, 80 % 以上の脱顆粒率を示した 4 例を選んだ。

好塩基球脱顆粒反応および抑制率の判定法: 木村ら (1978) の方法に従い, トルイジンブルー染色による直接算定法を用いた。すなわち末梢血をヒトでは肘正中皮静脈から, 家兎では耳静脈から, ヘパリン $1,000 \text{ U/ml}$ 生理食塩水溶液をとおした注射筒またはヘパリン入りの真空採血管 (10 ml VT-100 H, テルモ社製) を用いて採血した。採血後ただちに, シリコン処理スピッツ管 (10 ml) に 0.25 ml ずつ分注した。以下の操作の詳細については Fig. 1 に示したとおりである。

白血球用メランジュールを用いて, 反応後の血液を 0.05 % トルイジンブルー液と混和して 1:10 に希釈染色後, Fuchs-Rosenthal 血球計算板上で光学顕微鏡 (200 倍) によって観察し, その全区画 (0.32 mm^2) 中に存在する好塩基球数を数え, 脱顆粒抑制率を下記のように計算した。

$$\text{脱顆粒抑制率 (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A: 抗原添加群の脱顆粒好塩基球数, B: 薬剤添加群の脱顆粒好塩基球数

使用薬剤: ウサギおよびヒト好塩基球脱顆粒反応に対する抑制効果を調べるため, 一般に使用されている喘息治療薬 5 種を供試した。各薬剤は市販の試薬または当該製薬メーカーより提供された原末である。すなわち, aminophylline (エーザイ), *l*-isoproterenol (半井化学薬品), ketotifen (Zaditen®, Sandoz, Switzerland), tranilast (Rizaben®, キッセイ薬品工業), disodium cromoglycate (Intal®, フジサワ; 以下 DSCG と略) である。

各薬剤はメタノールに溶解し, 最終濃度相当量をスピッツ管に分注し, アスピレーターを用いて, 減圧濃縮乾固した。この薬剤の入ったスピッツ管 (それぞれ 10^{-3} M , 10^{-4} M , 10^{-5} M) に, 採取したヘパリン加血液を加えミクロスパーテルを用いて, 薬剤と血液を十分に混和したのち, 実験を行った。各薬剤について, それぞれ実験を 3 回繰り返し, その平均値によって抑制率を示した。

Fig. 1 Procedures of basophil degranulation test.

即時型皮膚反応

ウサギ同種 72 時間 PCA 反応: Benveniste *et al.* (1977) の方法に準じて行った. すなわち, 正常家兎 (雄, 2.5 ± 0.5 kg) の背部を電気バリカンおよび硫化バリウムを用いて脱毛し, 24 時間放置後, 脱毛部位に著明な炎症を認めない個体を選び, 脱毛部皮内に抗 *B. g.* ウサギ血清 0.1 ml を注射した. 受身感作の 72 時間後に, *B. g.* 抗原 1 ml と 2% エバンスブルー生理食塩水溶液 1 ml の混合液を耳静脈より注入し, 30 分後にエーテル深麻酔下で放血致死せしめたのち皮膚を反転し, 反応部位に出現した青斑の長径と短径を測定して, その平均値が 5 mm 以上のものを PCA 反応陽性と判定した.

マウス-ラット PCA 反応: 抗 *B. g.* マウス血清の生理食塩水による 10~500 倍希釈液 0.1 ml を正常 S.D. 系ラット背部の脱毛部に皮内注射し, 24 時間後に *B. g.* 抗原と 0.5% エバンスブルー生理食塩水の等容混合液 1 ml を静注した. 判定に関する操作はウサギ PCA 反応と同様に行った. 抗体価は, 陽性限界を示す抗体の希釈倍率で表した.

PCA 反応抑制試験: 抗 *B. g.* マウス血清の 250 倍生理食塩水希釈液に, 等容量の各種 ゴキブリ抗原および *D. f.* 抗原 (当教室で飼育中の *D. f.* 虫体を用いて, *B. g.* 抗原と同様の方法によって作製したもの) を加え, 37°C 1 時間反応させたのち, 5,000 rpm 20 分間遠心分離し, 分離上清液を中和血清とした. この中和血清を用いて上述のマウス-ラット PCA 反応を行い, 抗

B. g. マウス IgE 抗体価の消長を観察した.

ヒト皮膚反応 (プリックテスト): 前報に記載した方法に従った. すなわち, *B. g.* 抗原の Sephadex G-100 ゲルろ過画分と対照の生理食塩水を, それぞれ被験者の前腕屈側部の皮膚に 1 滴滴下し, ただちに注射針 ($26\frac{1}{2}$ G) で表皮を浅く穿刺した. 15 分後に穿刺部の発赤と膨疹の大きさを計測して, 判定した.

結 果

1. ウサギ同種 72 時間 PCA 反応および好塩基球脱顆粒反応

Fig. 2 に示すようにウサギ同種 72 時間 PCA 反応陽性を示す成績 (抗 *B. g.* ウサギ IgE 抗体の出現) は感作後 2 週目より認められ, 2 カ月後まで継続した. 抗体価は全期間を通じて低く, PCA titer で $\times 1 \sim \times 6$ の範囲であった.

一方, *B. g.* 抗原添加による好塩基球脱顆粒反応の結果は, 感作 7 カ月後に至っても 80% の脱顆粒率を示す例もあり, ほとんどのウサギで 3~4 カ月間にわたって 80% 以上の脱顆粒率を示した. 抗原添加前の流血中好塩基球数には, 全観察期間を通じて著明な変化は認められなかったが, 脱顆粒率のピーク時にあたる感作後 1~2 カ月ごろには, やや減少する傾向がみられた.

2. マウスの IgE 抗体産生

Okudaira and Ishizaka (1973) によれば, マウス-ラット PCA ではマウス IgE 抗体のみが反応に関与する.

Fig. 2 Anti-*B. germanica* antibody production in rabbits.

PCA, passive cutaneous anaphylaxis.

Table 1 Homocytotropic antibody production in mice.

Mouse* No.	Sex	Serum dilution		
		× 10	× 100	× 500
1	M	+	—	—
2	M	+	—	—
3	M	—	—	—
4	M	++	+	—
5	M	—	—	—
6	F	+	+	—
7	F	+	—	—
8	F	++	+	+
9	F	++	+	±
10	F	+	+	—

Antibody titer was assayed by rat 24 hr PCA.

* SMA strain, 6-8 weeks old.

Table 1 に示すように、10例中8例(雌 5/5, 雄 3/5)の血清が、SD シラットを recipient とする 24 時間 PCA 反応で陽性を示し、抗 *B. g.* マウス IgE 抗体が産生されたものと認められた。抗体価は 2 例(いずれも雌)で PCA titer×500 を示した。他の 6 例は×10~×100 の範囲にとどまった。

3. *B. g.* 抗原の Sephadex G-100 ゲルろ過による分画

Fig. 3 に示すように void から F1~F6 の 6 画分に分取し、各画分を用いてヒト皮膚プリックテスト、ウサギ好塩基球脱顆粒反応を行い、マウスに対する IgE 抗体産生能についても調査した。

その結果、O. D. 280 nm の極大吸収は、F1 と F4 にあった。一方マウスに対する抗 *B. g.* IgE 抗体産生能は F2 が 10 例中 9 例で最も強く、続いて、F3 が 10 例中 6 例、F1 が 10 例中 4 例であり、O. D. 280 nm の吸

Fig. 3 Gel filtration of *B. germanica* extract on Sephadex G-100.

F1-F6: fraction 1-fraction 6. Skin test: judgements were made according to the criteria proposed by "research group of the scratch tests." R. B. D.: rabbit basophil degranulation.

収とは一致しないことを示した。

また *B. g.* 特異 IgE 抗体を有するヒトの皮膚プリックテストは、F1, F3 を用いた場合に判定 (+) ののに対し、F2 は (++) であった。判定基準は、スクラッチ研究班 (1972) の基準によった。さらに、ウサギ好塩基球脱顆粒反応では F1 が 89 %, F3~F6 が 20~30 % の脱顆粒率を示したのに対して、F2 は 94 % の脱顆粒率を示し、いずれの検定法を用いても、F2 が最も高い抗原性と免疫原性を示した。

4. *B. g.* 抗原の交差抗原性

各種ゴキブリ抽出液および *D. f.* 抗原に対する *B. g.* 抗原の交差抗原性を、*B. g.* 抗原で感作したウサギ好塩基球脱顆粒反応と、抗 *B. g.* マウス IgE 抗体を用いたラット PCA の抑制テストを用いて調べた結果 (Table 2), *B. g.* 抗原はクロゴキブリ虫体、ワモンゴキブリ虫体、チャバネゴキブリ唾液、チャバネゴキブリ糞の抽出液との間に交差抗原性が認められた。*D. f.* 抗原とは交差抗原性を示さなかった。

5. ヒトおよびウサギ好塩基球脱顆粒反応の、各種喘息薬による抑制効果の比較

Fig. 4 および Fig. 5 に示したように、aminophylline (10^{-3} M), ketotifen (10^{-3} M) ではヒトとウサギの両方に対して 77~55 % の抑制を示した。50 % 以下 30 % 以上の抑制効果を示したのは、ヒトの aminophylline (10^{-4} M), *l*-isoproterenol (10^{-3} M) であった。30 % 以下 20 % 以上の抑制効果は、ヒトに対する aminophylline (10^{-5} M), ketotifen (10^{-4} M), *l*-isoproterenol (10^{-4} M), DSCG (10^{-5} M) であり、ウサギでは keto-

Table 2 Cross reactivity of anti-*B. germanica* (whole body extract) antibody.

Extracts	Dilution	Degranulation of basophil (%)	Inhibition* of rat PCA
<i>B. germanica</i> (whole body)	3,000	98	+
<i>B. germanica</i> (feces)	3,000	97	+
<i>B. germanica</i> (saliva)	50	97	+
<i>P. americana</i> (whole body)	3,000	80	+
<i>P. fuliginosa</i> (whole body)	3,000	75	+
<i>D. farinae</i> (whole body)	30	0	-

* + > 5 mm, - < 5 mm.

tifen (10^{-4} M), aminophylline (10^{-4} M) であった。

考 察

I 型アレルギーの動物モデルは, Portier and Richet (1902) がイソギンチャク毒素によって犬の全身性アナフィラキシーを起こしたのが最初の例とされ, 以来 Ovary and Bier (1952) の卵白アルブミンを抗原とするモルモット PCA 反応, Tada and Okumura (1971) の DNP-*Ascaris* を用いたハプテン特異的ラット PCA 反応, Ishii *et al.* (1973) の *D. f.* 抗原を用いたモルモットの実験喘息, Kudo *et al.* (1978) の *D. f.* 抗原および DNP-*D. f.* によるマウス IgE 抗体産生実験とマウス-ラット PCA 反応など多くの報告がある。

とくに Cox (1967) により I 型アレルギー反応の特異的抑制物質として, DSCG が発表されて以来, I 型アレルギー反応抑制物質の検索試験には, DSCG によ

Fig. 4 Inhibition of basophil degranulation of asthmatic patients by drugs.

Fig. 5 Inhibition of basophil degranulation of rabbits sensitized with cockroach antigen by drugs.

って顕著な抑制効果が認められるラットの PCA 反応が広く用いられている。その結果、経口投与によりラット PCA 反応を抑制する mono-chromone 骨格を有する抗アレルギー物質が数多く開発された (Barnes *et al.*, 1979 ; Szechwender *et al.*, 1979 ; Althuis *et al.*, 1980)。しかしこれらの物質のほとんどが臨床的には有効でなかった。

当然のことながら、臨床応用の可能性を十分に考慮する必要がある、新たな観点からの再検討が必要と考えられていた。

一方、I 型アレルギー反応の発現機構に関する生化学的解明も進み、leukotriene を中心とするアラキドン酸カスケードに含まれる各種の生理活性物質が、ヒスタミン等と並んで重要な化学伝達物質になることが、Hammarström *et al.* (1980) によって明らかにされ、分子レベルでの脱顆粒現象、遊離化学伝達物質を介する標的細胞の活性化現象などが認められるとともに、その各段階における酵素阻害作用に基づいて抗アレルギー物質の検索と開発が進められてきた。しかし、細胞内の多くの要因ばかりでなく、細胞間のネットワークにも密接な関連性をもつアレルギー反応の抑制には、単純な実験系を用いて選抜した物質が、ただちに临床上の有効性と結びつく確率は必ずしも高くはないと考えられる。

ウサギ好塩基球脱顆粒反応等を用いた、ゴキブリ抗原の解析

われわれが行った一連の動物実験の結果に基づいて、チャバネゴキブリ抗原の IgE クラスの産生能、およびウサギ好塩基球脱顆粒反応の意義につき考察を加える。

ウサギ好塩基球脱顆粒反応は、Fig. 2 に示すように約 6 カ月間にわたり 80 % 以上の安定した脱顆粒率を示したにもかかわらず、同種皮膚感作抗体は感作後約 2 カ月で消失した。したがって感作後 2 カ月以降の脱顆粒反応は、IgE クラスの抗体以外の抗体によって惹起されている可能性が高い。木村ら (1976) は、ヒト好塩基球が IgG によって脱顆粒反応を起こすことを明らかにしたが、ウサギ好塩基球脱顆粒反応においても IgG の関与している可能性が高い。

Sephadex G-100 でゲルろ過した *B. g.* 抗原 6 画分のおのおのを用いてマウス IgE 抗体産生能、*B. g.* RAST 陽性者におけるヒト皮膚プリックテスト、*B. g.* 抗原感作ウサギの好塩基球脱顆粒反応について検討した結果、抗原活性のピークはすべて F2 にあった。F2 の分子量は溶出体積から 25,000~45,000 の範囲であると推定した (日本化学会編, 1967)。この抗原活性の一致性により、ヒトおよび動物モデルのいずれによっても、分子量のほぼ等しい物質が抗原性を発揮したものと考え

られる。*B. g.* 抗原の画分のうち O. D. 280 nm の極大吸収は F1, F4 にみられ、吸光度の低い F2 に強い抗原活性がみられたことは、Twarog *et al.* (1977) がワモンゴキブリで報告したゲルろ過分画と皮膚テストの結果、および阿部・石井 (1984) が *Dermatophagoides pteronyssinus* について報告した抗原活性部分の特徴と類似しており、興味深い。

B. g. 抗原の交差抗原性

さきに *D. f.* 抗原に対する皮内反応成績と、*B. g.* 抗原に対する RAST 値との比較から、ヒトに対しては、*D. f.* 抗原と *B. g.* 抗原は交差抗原性を示さないことを推定したが、Table 2 に示すようにラット PCA 反応抑制試験によって、動物モデルにおいてもまた *B. g.* 抗原と *D. f.* 抗原の間に交差抗原性がみられないことが明らかとなった。

さらに、チャバネゴキブリの糞、唾液、クロゴキブリ虫体、ワモンゴキブリ虫体からの粗抽出液について、*B. g.* 抗原との交差抗原性を調べた結果、いずれの組合せにも交差抗原性が認められた。以上のように、従来から室内塵中の主要抗原とされているヒョウヒダニと、本報で示した *B. g.* 抗原その他のゴキブリ抗原とは互いに異質のものと考えられる。ゴキブリ類、とくにその死虫体、排泄物などは室内塵中に存在する独立の抗原因子として考慮する必要がある。

抗喘息薬の好塩基球脱顆粒反応抑制

B. g. 抗原を用いて感作したウサギの流血中好塩基球脱顆粒反応と比較検討のため、臨床で喘息治療に広く用いられている薬品数種に対する抑制効果を調べた。その結果、ウサギとヒトの好塩基球脱顆粒反応はともに、aminophylline, ketotifen により 10^{-3} M において 50 % 以上の抑制効果を示し、その他の薬物についても、両反応系は類似した抑制効果を示すことが認められた。また実験動物として同一の個体を反復して試験対象とすることが可能なウサギの好塩基球脱顆粒反応は、I 型アレルギー反応の *in vitro* モデルとして有用であることと示唆され、I 型アレルギーの特異的抑制物質の検索や、抗原成分の生物試験にも活用できることが明らかになった。

ま と め

- 1) チャバネゴキブリ (*B. g.*) 抗原は、マウス、ウサギに対し特異 IgE 抗体を産生せしめた。
- 2) *B. g.* 抗原は、他のゴキブリ類およびチャバネゴキブリ糞抽出液、唾液との間に交差抗原性を示したが、コナヒョウヒダニ抗原との間に交差抗原性を示さなかった。

3) *B. g.* 抗原の Sephadex G-100 ゲルろ過画分のウサギ好塩基球脱顆粒反応, ヒト皮膚ブリックテスト誘発抗原活性およびマウス IgE 抗体産生能は, いずれも分子量 25,000~45,000 の F2 画分が最大であった。

4) ウサギおよびヒト好塩基球脱顆粒反応に対する各種抗喘息薬の抑制効果は, aminophylline, ketotifen において 10^{-3} M で 50 % 以上を示し, その他の薬物においても両反応の作用に一致点が多く認められた。

5) 以上の結果から, *B. g.* 抗原で免疫したウサギの好塩基球脱顆粒反応は, I 型アレルギーの *in vitro* モデルとして有用であると考えられた。

喘息患者血液を提供していただいた名古屋鉄道病院呼吸器科, 高納 修博士およびご協力いただいた名古屋大学医学部医動物学講座の皆様には深謝します。

引用文献

- 阿部達也, 石井 明 (1984): ダニアレルギー患者と免疫マウスの IgE に結合するヤケヒョウヒダニ抗原の差異について. アレルギー, **33**: 112-116.
- Althuis, T. H., S. B. Kadin, L. J. Czuba, P. F. Moose and H. J. Hess (1980): Structure-activity relationships in a series of novel 3, 4-dihydro-4-oxopyrimido [4, 5-b] quinoline-2-carboxylic acid antiallergic agents. *J. Med. Chem.*, **23**: 262-269.
- Asahina, S. (1961): A revised list of the Japanese cockroaches of sanitary importance (Insecta, Blattaria). *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **14**: 147-156.
- Barnes, A. C., P. W. Hairsine, S. S. Matharu, P. J. Ramm and J. B. Taylor (1979): Pharmacologically active sulfoximides, 5-hexyl-7-(S-methylsulfonimidoyl) xanthone-2-carboxylic acid, a potent antiallergic agent. *J. Med. Chem.*, **22**: 418-424.
- Benveniste, J., J. Egido, V. G. Millet and G. Camussi (1977): Detection of immediate hypersensitivity in rabbits by direct basophil degranulation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **59**: 271-279.
- Bernton, H. S. and H. Brown (1964): Insect allergy; Preliminary studies of the cockroach. *J. Allergy*, **35**: 506-513.
- Bernton, H. S. and H. Brown (1970 a): Cockroach allergy; Age of onset of skin reactivity. *Ann. Allergy*, **28**: 420-422.
- Bernton, H. S. and H. Brown (1970 b): Insect allergy; The allergenicity of the excrement of the cockroach. *Ann. Allergy*, **28**: 543-547.
- Bernton, H. S., T. F. McMahon and H. Brown (1972): Cockroach asthma. *Br. J. Dis. Chest*, **66**: 61-66.
- Choovivathanavanich, P. (1974): Insect allergy; Antigenicity of cockroach and its excrement. *J. Med. Ass. Thailand*, **57**: 237-240.
- Corazon, G., C. Roscoe, J. R. Young, M. N. Chehreh and R. B. Scott (1973): Bronchial challenge studies with cockroach antigen in asthmatic children. *Ann. Allergy*, **31**: 407-412.
- Cox, J. S. G. (1967): Disodium cromoglycate (FPL 670) ('Intal'); A specific inhibitor of reaginic antibody-antigen mechanisms. *Nature*, **216**: 1328-1329.
- Fraster, B. N. (1979): Cockroaches in relation to bronchial asthma in the Durban area. *South. Africa. Med.*, **73**: 590-595.
- Hammarström, S., B. Samueisson, D. A. Clark, G. Goto, A. Marfat, C. Mioskowski and E. J. Corey (1980): Stereochemistry of leukotriene C-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **92**: 946-953.
- Hulett, A. and R. Dockhorn (1979): House dust mite and cockroach allergy in a midwestern population. *Ann. Allergy*, **42**: 160-165.
- Ishii, A., T. Matsushashi, J. Miyamoto and M. Sasa (1973): Production of homocytotropic antibody in guinea pigs inhaled with an extract of the house dust mite, *Dermatophagoides farinae*. *Jpn. J. Exp. Med.*, **43**: 25-32.
- Kang, B. (1976): Study on cockroach antigen as a probable causative agent in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **58**: 357-365.
- Kang, B. and J. L. Chang (1985): Allergic impact of inhaled arthropod material. *Clin. Rev. Allergy*, **3**: 363-375.
- Kang, B. and N. Sulit (1978): A comparative study of prevalence of skin hypersensitivity to cockroaches and house dust antigens. *Ann. Allergy*, **41**: 333-336.
- Kang, B., D. Vellody, H. Homburger and J. W. Yunginger (1979): Cockroach cause of allergic asthma; Its specificity and immunologic profile. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **63**: 80-86.
- 川上敏興, 須藤千春, 八倉隆保, 熊田信夫 (1982): ゴキブリアレルギーに関する研究 1. 日本産住家性ゴキブリ類のアレルギー発現性について. 衛生動物, **33**: 233-238.
- 木村郁郎, 谷崎勝朗, 佐藤周一, 高橋 清, 上田暢男, 斎藤勝剛 (1976): *In vitro* 免疫反応下における好塩基球の生態観察—気管支喘息患者好塩基球の抗ヒト IgG に対する反応性. アレルギー, **25**: 489-492.
- 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 細川正雄, 小野波津子, 石橋 健, 合田吉徳, 中村之信, 佐々木良英, 小林 誠 (1978): アレルゲン検出における

反応好塩基球の意義—好塩基球直接算定法を応用して. アレルギー, **27** : 725-729.

Kudo, K., H. Okudaira, T. Miyamoto, T. Nakagawa and Y. Horiuchi (1978): IgE antibody response to mite antigen in the mouse; Suppression of an established IgE antibody response by chemically modified antigen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **61** : 1-9.

根本俊和, 青木秀夫, 池 愛子, 小林節雄 (1973): ゴキブリ喘息の一例. アレルギー, **22** : 635-639.

日本化学会編 (1967): 実験化学講座, 続2, 分離と精製, 271 pp., 丸善 (株), 東京.

Okudaira, H. and K. Ishizaka (1973): Reaginic antibody formation in the mouse III; Collaboration between hapten-specific helper cells for secondary antihapten antibody formation. *J. Immunol.*, **111** : 1420-1428.

Ovary, Z. and O. G. Bier (1952): Quantitative study of arthus reaction and cutaneous anaphylaxies induced passively in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **81** : 584-586.

Portier, P. and C. Richet (1902): De l'action anaphylactique des certaines venis. *C. R. Soc. Biol.*, **54** : 170-173.

Richman, P. G., H. A. Khan, P. C. Turkeltaub, F. J. Malveaux and H. Baer (1984): The important sources of German cockroach allergens as determined by RAST analysis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **73** : 590-595.

Scchwender, C. F., B. R. Sunday and D. J. Herzig (1979): 11-Oxo-11 H-pyrido [2, 1-b] quinazoline-8-carboxylic acid, an orally active antiallergy agent. *J. Med. Chem.*, **22** : 114-116.

スクラッチ研究班 (班長: 松村龍夫) (1972): スクラッチ (搔破) 反応—術式の検討および陽性判定基準について. アレルギー, **21** : 50-63.

Steinberg, D. R., D. I. Bernstein, J. S. Gallagher, L. Arlian and I. L. Bernstein (1987): Cockroach sensitization in laboratory workers. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **80** : 586-590.

Tada, T. and K. Okumura (1971): Regulation of homocytotropic antibody formation in the

rat. *J. Immunol.*, **106** : 1002-1011.

Twarog, F. J., F. J. Picone, R. S. Strunk, J. So and H. R. Colton (1977): Immediate hypersensitivity to cockroach; Isolation and purification of the major antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **59** : 154-160.

Summary

Allergenicity of the cockroach, *Blattella germanica* L. (*B. g.*), was studied by means of the following examinations, namely basophil degranulation (BD) test in rabbits and humans, passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction in rabbits and rats, and prick test in humans. Also examined was the cross-antigenicity among the crude antigens of cockroaches and house-dust mites. Inhibition effect of several anti-asthmatic drugs on BD test in rabbits and humans was tested additionally.

Inoculation of crude *B. g.* antigen into mice and rabbits produced specific IgE antibodies detectable by BD test and PCA reaction. Although the cross-antigenicities were seen among several kinds of cockroach antigens including the whole body antigens from *B. g.*, *Periplaneta americana*, and *P. fuliginosa*, and from the feces and saliva of *B. g.*, none of these cockroach antigens cross-reacted with the antigen from the house-dust mite, *Dermatophagoides farinae*. Of the six fractions collected from the crude *B. g.* antigen through Sephadex G-100 column, F-2, with molecular weight of 25,000-45,000, showed the maximum activity in BD test in rabbits, in IgE production in mice, and in the prick tests in humans who suffered from asthma. The effect of ca. 50 % inhibition on BD in rabbits and humans was seen in aminophylline and ketotifen treatment each at 10^{-3} M concentration. From these results, the BD test in rabbits proved to be one of the reliable bioassay methods applicable to the screening of anti-allergic agents.