

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-530537  
(P2008-530537A)

(43) 公表日 平成20年8月7日(2008.8.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 Q	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 39/35 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 S	
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 P	
<b>A 6 1 K 51/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/35	
<b>A 6 1 K 49/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 52 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-554381 (P2007-554381)  
 (86) (22) 出願日 平成18年2月9日 (2006.2.9)  
 (85) 翻訳文提出日 平成19年8月8日 (2007.8.8)  
 (86) 国際出願番号 PCT/AT2006/000050  
 (87) 国際公開番号 W02006/084299  
 (87) 国際公開日 平成18年8月17日 (2006.8.17)  
 (31) 優先権主張番号 A214/2005  
 (32) 優先日 平成17年2月9日 (2005.2.9)  
 (33) 優先権主張国 オーストリア (AT)

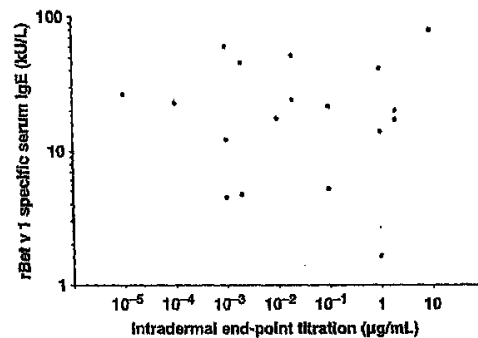
(71) 出願人 507180423  
 ビオマイ アクチエンゲゼルシャフト  
 オーストリア, ヴィエンナ アー ー 1 0 9  
 O, トップ 1, ラツアレットガッセ 1  
 9  
 (74) 代理人 110000338  
 特許業務法人原謙三国際特許事務所  
 (72) 発明者 プロビット, アショク  
 フランス, エフ-67100 ストラスブ  
 ール, リュ パラレル, 35  
 (72) 発明者 メッツ-ファヴル, カリーヌ  
 フランス, エフ-67000 ストラスブ  
 ール, リュ シャルル ゲルハルト, 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 個体のアレルギー感受性を評価する方法

(57) 【要約】

本発明は、個体のアレルギー感受性、および/または、アレルギー免疫療法の臨床上の有効性を評価するための方法であって、少なくとも一つの純粋なアレルギーまたはその誘導体を用いた免疫治療を受ける、または、受けることが意図される個体から、血液またはその分画、結合組織、鼻、気管支、皮膚又は腸の生検材料からなる群より選ばれるすくなくとも二つの、該アレルギーに反応してメディエーターを放出し得る細胞を含んでいるサンプルを供給する工程；該サンプルと、該アレルギーまたはその誘導体とを接触させる工程；ならびに該サンプルから放出されたメディエーターの量を測定して、該量を比較することにより、治療に先立って該個人のアレルギー感受性、および/または、免疫治療の臨床上の有効性を評価する工程を包含する方法を開示する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

個体のアレルゲン感受性、および/または、アレルゲン免疫療法の臨床上的有効性を評価するための方法であって、

少なくとも一つの純粋なアレルゲンまたはその誘導体を用いた免疫治療を受ける、または、受けることが意図される個体からの、血液またはその分画、結合組織、鼻、気管支、皮膚または腸の生検材料からなる群より選ばれるすくなくとも二つの、該アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞を含んでいるサンプルを供給する工程；

該サンプルと、該アレルゲンまたはその誘導体とを接触させる工程；ならびに

該サンプルから放出されたメディエーターの量を測定して、該量を比較することにより、治療に先立って該個人のアレルゲン感受性、および/または、免疫治療の臨床上的有効性を評価する工程

を包含することを特徴とする方法。

## 【請求項 2】

個体のアレルゲン感受性、および/または、アレルゲン免疫療法の臨床上的有効性を評価するための方法であって、

I g E - アレルゲン複合体に反応してメディエーターを放出し得る細胞を供給する工程；

該細胞と、すくなくとも一つの純粋なアレルゲンまたはその誘導体が接種された該個体の血清および/または血漿とを接触させる工程；ならびに

該サンプルから放出されたメディエーターの量を測定して、該量を比較することにより、治療に先立って該個人のアレルゲン感受性、および/または、免疫治療の臨床上的有効性を評価する工程

を包含することを特徴とする方法。

## 【請求項 3】

上記メディエーターが、ヒスタミン、トリプターゼ、プロスタグランジン、ロイコトリエン、特にシステイニルロイコトリエン、好酸球陽イオンタンパク質、インターロイキン ( I L ) のようなサイトカイン、特に I L - 2 R、C D 6 3、C D 2 0 3 c、及び、それらの組合せからなる群より選ばれることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

上記細胞がマストおよび/または好塩基球細胞および/または好酸球細胞であることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5】

上記サンプルが免疫グロブリン ( I g )、特に免疫グロブリン G ( I g G ) をさらに含んでいることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

上記個体を免疫療法に供する前および後に、上記サンプルが供給されることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7】

上記個体を免疫療法に供した後に、上記サンプルが供給されることを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 8】

上記個体を免疫療法に供してから、最大、1 時間、1 2 時間、2 4 時間、1 0 日間、4 週間、6 月間および 3 6 月間後にすくなくとも一つのサンプルが供給されることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 9】

上記アレルゲンが組換え技術を用いて生産されていることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 0】

上記アレルゲンが、すくなくとも一つの欠損、すくなくとも一つの置換、またはすくなく

10

20

30

40

50

くとも一つの挿入を含んでいることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

上記アレルゲンが、遺伝子組み換え技術を用いて、該アレルゲンの断片が並び換えられて改変されていることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

上記サンプルが、様々な濃度の上記アレルゲンと接触されることを特徴とする請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

上記アレルゲンの濃度が  $1 \text{ ng/ml} \sim 100 \mu\text{g/ml}$  の範囲、好ましくは  $1 \text{ pg}$  から  $10 \mu\text{g/ml}$  の範囲から選択されることを特徴とする請求項 12 に記載の方法。

10

【請求項 14】

さらに、上記細胞のメディエーターの総量が測定されていることを特徴とする請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

細胞の感作の度合いが、上記細胞のメディエーターの総量の 10%、好ましくは 30% の放出を誘導する上記アレルゲンの濃度を測定することにより規定されることを特徴とする請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

個体のアレルゲン感受性および/またはアレルゲン免疫療法の臨床上的有効性が、上記免疫療法の過程における上記細胞の感作の度合いを観察することによって、評価されることを特徴とする請求項 15 に記載の方法。

20

【請求項 17】

上記サンプルにおける上記メディエーターが、免疫学的なまたは組織学的方法によって測定されることを特徴とする請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

上記免疫学的なまたは組織学的方法が、ラジオイムノアッセイ (RIA)、酵素結合イムノソルベント検定法 (ELISA)、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応、免疫蛍光フローサイトメトリー、およびそれらの組合せからなる群より選ばれることを特徴とする請求項 17 に記載の方法。

30

【請求項 19】

上記アレルゲンが、主要なカバノキ花粉アレルゲン、特に、Bet v 1 および Bet v 4、主要なオオアワガエリ花粉アレルゲン、特に Phl p 1、Phl p 2、Phl p 5、Phl p 6 および Phl p 7、主要なイエネズミアレルゲン、特に Der p 1 および Der p 2、主要なネコアレルゲン Fel d 1、主要なミツバチアレルゲン、主要なスズメバチアレルゲン、プロフィリン、特に Phl p 12、および倉庫ダニアレルゲン、特に Lep d 2 からなる群より選ばれることを特徴とする請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

個体のアレルゲン感受性、または、すくなくとも一つのアレルギーのためのアレルゲン免疫療法の臨床上的有効性を評価するためのキットであって、

40

アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞のメディエーターの放出を誘導するためのすくなくとも一つのアレルゲン、

上記メディエーターを検出する手段、および

任意の要素として、すくなくとも一つのメディエーターの標品を備えたことを特徴とするキット。

【請求項 21】

個体のアレルゲン感受性、または、すくなくとも一つのアレルギーのためのアレルゲン免疫療法の臨床的効果を評価するためのキットであって、すくなくとも、以下の部材：

アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞のメディエーターの放出を誘導するためのすくなくとも一つのアレルゲン、

50

メディエーターを検出するための手段、  
 少なくとも一つのメディエーターの標品、および  
 I g E - アレルゲン複合体に反応してメディエーターを放出し得る細胞  
 のうちの二つ以上を備えていることを特徴とするキット。

【請求項 2 2】

上記細胞がマストおよび/または好塩基球および/または好酸球細胞であることを特徴とする請求項 2 1 に記載のキット。

【請求項 2 3】

上記アレルゲンが、主要なカバノキ花粉アレルゲン、特に、B e t v 1 および B e t v 4、主要なオオアワガエリ花粉アレルゲン、特に P h l p 1、P h l p 2、P h l p 5、P h l p 6 および P h l p 7、主要なイネネズミアレルゲン、特に D e r p 1 および D e r p 2、主要なネコアレルゲン F e l d 1、主要なミツバチアレルゲン、主要なスズメバチアレルゲン、プロフィリン、特に P h l p 1 2、および倉庫ダニアレルゲン、特に L e p d 2 からなる群より選ばれることを特徴とする請求項 2 0 ~ 2 2 のいずれか一項に記載のキット。

10

【請求項 2 4】

上記メディエーターを検出する手段が、抗体からなる群より選ばれることを特徴とする請求項 2 0 ~ 2 3 のいずれか一項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

20

【0 0 0 1】

本発明は、アレルゲン免疫療法の有効性をモニターする方法に関する。

【0 0 0 2】

アレルギーは、免疫の機能不全であり、一般的には、アレルゲンと呼ばれる本来は無害な物質に対して、個体の免疫学的な反応が過感作状態になるものである。アレルギー反応に関わる主要な抗体は、I g E である。全ての個体は、異なる I g E をもっており、それぞれのアレルギー物質は、その物質に対して特異的な I g E の産生を活性化させる。したがって、ある決められたアレルゲンと結合する I g E 抗体は、そのアレルゲンに対してのみ反応する。I g E の定常領域 ( F c 領域 ) は、細胞の特異的レセプターと結合することができ、それらの細胞は、ヒスタミンまたはほかの炎症性メディエーター、サイトカインおよび/またはプロテアーゼを周辺組織に放出することができる。ヒスタミンを放出している細胞は、主にマスト細胞および好塩基球細胞である。ヒスタミンの放出は、細胞に結合した I g E が、アレルゲンと接触シクロスリンクすることによって開始される。

30

【0 0 0 3】

とりわけ、ヒスタミンは主要なアレルギー反応の原因となる。たとえば、鼻、目、および副鼻腔に放出されたヒスタミンは、くしゃみ、鼻水、および目のかゆみを引き起こし、肺に放出されたヒスタミンは、気道の内層が狭まったり、膨れたりする原因、および粘度が高い粘液の分泌の原因となり、皮膚に放出されたヒスタミンは、発疹およびじんましんの原因となり、消化器系に放出されたヒスタミンは、胃痙攣および下痢の原因となる。

【0 0 0 4】

主要なアレルゲンとしては、ホソムギ、ブタクサ、オオアワガエリ、およびカバノキといった植物の花粉、菌の孢子、ペニシリン、サルファノミド ( s u l f a n o m i d e s )、サリチル酸塩、および局部麻酔薬といった薬剤、木の実、魚介類、卵、えんどう豆、いんげん豆、落花生、その他の豆、および牛乳といった食物、ハナバチの針の毒、カリバチの針の毒、ゴキブリのがく ( c a l y x )、およびチリダニといった昆虫に起因するもの、ならびに、動物の毛および鱗屑などに由来するものがある。

40

【0 0 0 5】

アレルギーに対する医学上の治療にはいくつかあり、医療行為としては、一般的には、以下の 3 つの方法が用いられている。すなわち、化学療法、免疫療法、および他の医学的方法である。

50

## 【0006】

化学療法においては、アレルギー仲介物の働きを抑えるために拮抗薬がもちいられており、それにより細胞の活性化および脱顆粒プロセスの活性化を阻害している。拮抗薬としては、抗ヒスタミン剤、コルチゾン、アドレナリン（エピネフリン）、テオフィリン、およびクロモリナトリウムがある。これらの薬剤は、アレルギー症状の緩和の助けとなるが、疾患の慢性的な症状については、ほとんど役に立たない。過敏症を引き起こしている人を緊急に回復させるといった急を要する場合に、これらの拮抗薬は役に立つ。

## 【0007】

ほかの医学において、いくつかの治療方法については、アレルギーの治療に効果があると、医療行為実践者に考えられており、とりわけ伝統的な漢方医学は効果があるとされている。しかし、そのどれもが、良質な証拠によってはこれまで裏づけがなされていない。

10

## 【0008】

最も見込みのある療法の形態はおそらく免疫療法である。免疫療法は、疑わしいアレルゲンの投与量を次第に増やして、時間をかけて1個体に予防接種をおこなうものである。この手法は、重症度を減少させるか、または過敏性を完全に取り除くことができる。あるいは、モノクローナル抗IgE抗体を投与することも可能である。これらの抗体は、フリーの状態にあるIgEと結合し、原因の破棄を引き起こす。モノクローナル抗IgE抗体は、好塩基球細胞およびマスト細胞上にあるFc受容体とすでに結合しているIgEとは結合せず、したがって、Fc受容体とすでに結合しているIgEは、アレルギー炎症反応を引き起こす。

20

## 【0009】

アレルゲン免疫療法に用いられているタンパク質および糖タンパク質は、通常、花粉、菌、皮膚、および昆虫の毒などの物質から抽出されている。臨床評価に基づき、疾患を引き起こす原因となるアレルゲンまたはその誘導体を含む溶液の皮下注射を、維持量に到達するまで徐々に投与量を増やしながらか、1週間に一度または二度の頻度で繰返しおこなう。その後は、2週間から4週間に一度の間隔で、維持量のアレルゲンまたは誘導体を注射によって投与する。

## 【0010】

その効果を奏するように免疫療法を遂行するためには、上記療法の進捗状況をモニターする必要がある。

30

## 【0011】

たとえば、Wantke et al. (Clin Exp Allergy 23 (1993) 992-995)において、アレルギー性鼻結膜炎に対する免疫療法をモニターする方法が開示されている。著者らは、この中で、免疫療法を施す前および施した後の患者の、自発的なヒスタミンの放出、すなわち、アレルゲンを与えないときのヒスタミンの放出を解析している。そして、アレルゲンに曝した後の血中へのヒスタミンの放出が、免疫療法を4ヶ月施した後では、著しく減少したことを示している。しかし、この方法は、特定のアレルゲンに対する感受性の変化についての評価、および治療の有効性の評価に用いることはできない。

## 【0012】

また、Stephan et al. (Allergy 44 (1989) 453-459)において、アレルゲンによって誘導される全血へのヒスタミン放出を解析した、5年以上の期間にわたるハナバチ毒に対する免疫療法の効果についての研究が報告されている。しかし、この報告の著者らは、ヒスタミン放出の結果と、たとえば皮膚の感受性といった臨床上のパラメータとを関連付けていなかった。それゆえ、あるアレルゲンに対する臨床上の感受性を測定し、反映するためにその検査方法を用いることを正当だとするデータは一切示されていない。さらには、治療前および治療後に採取したサンプルを互いに比較することもおこなっていない。

40

## 【0013】

また、Yuta et al. (Arerugi 51 (2002) 634-648)において、アレルギー性鼻炎に対する免疫療法を評価するために、好塩基球細胞からのヒスタミン放出の研究の報告がなされている。著者らは、治療を開始したときのサンプルおよび治療を開始してから6ヶ月後の

50

サンプルを解析し、免疫療法の明白な効果を示すことができている。この論文において、治療を開始する前および開始した後に採取したサンプルが解析され、著者らは、急激な (rush) 治療を施すプロトコルでは、細胞の消耗にいたるということを示すことだけであり、ヒスタミン放出の減少は示していない。これに関連して、免疫療法によって“阻害抗体”が誘導されるよりも前に、すなわち、治療を開始してから数時間から数日後に、急激な (rush) 免疫療法が働くことは、留意しておくべきである。これは、細胞の消耗と解釈することができる。しかしながら、治療を施してから数週間後に現れる阻害抗体の効果についての評価は重要である。したがって、IgG抗体が依然として存在する、たとえば全血における検査方法を用いる必要がある。それとは異なり、Yuta et al.の報告においては、細胞は洗浄されており、それゆえ、IgGによる干渉は測定できていない。

10

## 【0014】

ヒスタミン放出に加え、好塩基球細胞およびマスト細胞の活性化を評価するほかの方法も知られており、ロイトリエン (leukotrienes) 放出の測定 (Van Rooyen & Anderson, R. J. Immunol. Methods 2004, 288, 1-7)、トリプターゼ (tryptase) 放出の測定 (Taira M et al., J. Asthma 2002, 39, 315-322)、ならびに、マスト細胞および好塩基球細胞をアレルゲン特異的に活性化したときに放出されるマスト細胞または好塩基球細胞の産出物の測定などがある。さらには、個体をアレルゲンに曝したときに引き起こる、CD63およびCD203cといった活性化マーカーのアップレギュレーションをフローサイトメトリーを用いて測定することができる (Hauswirth A. W., et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2002, 110, 102-109)。

20

## 【0015】

したがって、本発明の目的は、アレルゲン免疫療法の臨床上の有効性および進捗状況、ならびに個体のアレルゲン感受性をできるだけ精密にモニターする、in vitroにおける手段および方法を提供することである。

## 【0016】

したがって、本発明は、個体のアレルゲン感受性、および/または、アレルゲン免疫療法の臨床上の有効性を評価するための方法であって、少なくとも一つの純粋なアレルゲンまたはその誘導体を用いた免疫治療を受ける、または、受けることが意図される個体から、血液またはその分画、結合組織、鼻、気管支、皮膚又は腸の生検材料からなる群より選ばれ、すくなくとも二つの、該アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞を含んでいるサンプルを供給する工程；該サンプルと、該アレルゲンまたはその誘導体とを接触させる工程；ならびに該サンプルから放出されたメディエーターの量を測定して、該量を比較することにより、治療に先立って該個人のアレルゲン感受性、および/または、免疫治療の臨床上の有効性を評価する工程を包含する方法を提供する。

30

## 【0017】

個体のアレルゲン感受性、ならびに/または、アレルゲン免疫療法の臨床上の有効性および進捗状況を評価することは、例えば、適用されるアレルゲンの投与量および/または時間間隔を調整することによる、効果的な治療を確実に行うため重要である。したがって、上記免疫療法をモニターするための信頼性できる方法であって、免疫療法の最中に、特定のタイプのアレルゲンプリオンに対する個体の感受性を直接反映する方法が求められている。アレルゲンに特異的に結合しているIgEの量を測定することは、特定のタイプのアレルゲンに対する個体の感作の度合いの測定にはそぐわないことが判明した。なぜならば、個体におけるIgEの存在量と、マスト細胞および好塩基球細胞から放出されるメディエーターとの間には直接の相関がないからである。したがって、メディエーター放出細胞を備えた個体のサンプルのメディエーターの放出が望ましい。驚くべきことに、本発明に係る方法は、伝統的に用いられている皮膚感作性試験と、全く同じではないにせよ、匹敵し得る結果を与えることが見出された。

40

## 【0018】

個体から供与されたサンプルは、好ましくは、免疫療法に用いられるものと同じアレル

50

ゲンに接触される。しかし、免疫療法をアレルゲン抽出物を用いて実施し、該治療を実質的に純化された（「純粋な」）アレルゲンを用いてモニターすることも可能である。

【0019】

もちろん、本発明に係る方法は、治療の最中に、個体のアレルゲン感受性を測定することにより、アレルゲン免疫治療の進捗をモニターするためにもまた用いることができる。

【0020】

本発明に係る「アレルゲン」は、メディエーター放出細胞のメディエーターの放出の誘発、および個体における結果的なアレルギー性の影響の発生の原因である、特定の抗体（IgE）の産生を誘導することができる分子または分子の混合物である。もちろん、「アレルゲン」は、IgE以外の抗体（例えば、IgG）の産生を誘導することもできる。しかしながら、本発明に係る方法において用いられるアレルゲンは、好ましくは純化されている。すなわち、上記アレルゲンは、実質的には単一のアレルゲン分子から構成されており、純度は90%（w/w）を超え、好ましくは95%（w/w）であり、最も好ましくは99%（w/w）である。実質的に純化された、または単離されたアレルゲンを用いることにより、再現性のある様式で、免疫療法、および本発明に係る方法において用いられるアレルゲンの量を決定し、投与することができる。対照的に、アレルゲン抽出物は、具体的な精製条件に応じて、特定のアレルゲンを様々な濃度で含む。さらに、アレルゲン抽出物はまた、一以上のアレルゲンを含み得る。これらは、上記抽出物中において、様々な濃度で存在し得（目的のアレルゲンの量を厳密な様式で規定できない）、相互反応を引き起こし得る（例えば、Marth K et al., (2004) J. Allergy Clin. Immunol. 113:470-474; Marth K et al., (2004) XXIII EAACI congress abstract book 597:181; Akkerdaas H J et al., (2003) Arb. Paul Ehrlich Inst. Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf. a. M. 94:87-95を参照）。その上、アレルゲン抽出物は、汚染物質、または該抽出物の安定性に影響を与え得る物質を含み得る。この問題もまた、実質的に純化された、または「純粋な」アレルゲンを用いることによって避けることができる。

10

20

【0021】

本明細書で用いられる場合、用語アレルゲン「誘導体」とは、改変（欠損、点変異、切断等）されたアレルゲンであって、該アレルゲン誘導体の誘導元の、天然のアレルゲンと同じ抗原性およびIgE結合特性を依然示しているものを指す。

【0022】

本発明の好ましい実施形態によれば、上記メディエーターは、ヒスタミン、トリプターゼ、プロスタグランジン、ロイコトリエン、特にシステイニルロイコトリエン、好酸球陽イオンタンパク質、インターロイキン（IL）のようなサイトカイン、特にIL-2R、CD63、CD203c、およびそれらの組合せからなる群より選ばれる。

30

【0023】

個体をアレルゲンに曝露した後の該個体のアレルギー性反応は、主に、マスト細胞によるメディエーターの放出によって引き起こされる。これらのメディエーターは、アレルギー性反応の初期症状（例えば、くしゃみ、かゆみ）を引き起こし、循環白血球（例えば、好酸球）の産生および局部組織への浸潤を促す。上記メディエーターは、脱顆粒により（ヒスタミンおよびプロテアーゼ）、または、該メディエーターの新規合成後に（Quraishi S. A. et al., JAOA Supplement 5, 104-. S7-S15）上記細胞から放出される。また、本発明によれば、メディエーターに加えて、活性化マーカーを測定することができる（例えば、Yoshimura C, et al., (2002) J Allergy Clin Immunol. 109:817-23）。

40

【0024】

上記サンプルは、血液またはその分画（例えば、血漿、血清）、結合組織、鼻、気管支、皮膚または腸の生検材料である。

【0025】

メディエーター放出細胞は、血液およびその分画において、結合組織およびその他のいくつかの組織において、見出され得る。驚くべきことに、本発明に係る方法は、純粋なアレルゲンを用いた場合、特に全血を用いた場合において、皮膚の感受性を厳密に反映する

50

ことが見出された。対照的に、特異的な I g E の測定結果は、皮膚の感受性と相関しない。したがって、本発明に係る方法において用いられるサンプルは、血液サンプル（好ましくはヘパリン処置された血液）、または結合組織であり得る。

【0026】

本発明に係る方法において用いられるメディエーター放出細胞は、上記サンプルから単離されたものであり得る。上記単離により、該サンプルに含まれる攪乱要因となり得る他の物質を除去し得る。例えば、血液は、アレルゲンと接触することで上記サンプル中に放出されるメディエーターの量を決定する際に、高いバックグラウンドをもたらす放出されたメディエーターを含み得ることを、特に考慮する。この問題は、上記サンプルを上記アレルゲンに曝露する前に該サンプルに含まれるメディエーターの量を測定することによって避けることができる。他方では、ヒスタミンの放出と、例えば、皮膚の感受性との間には実質的に何の相関も存在しないことが実験データにより明らかになった。したがって、本発明に係る方法において用いられるべきサンプルは、該サンプルを上記アレルゲンまたはその誘導体と接触させる前に単離または洗浄されたものではない。このことは、メディエーター放出細胞が洗浄された場合、アレルゲン免疫療法の最中に導入され、I g E - アレルゲン複合体の量を低減させる（I g E 分子との拮抗作用による）遮断抗体として働く I g G 抗体を含む、すべての抗体が除去される（例えば、Stahl-Skov et al. (1977) Clin. Exp. Immunol. 27:432-439を参照）という事実により理由付けされ得る。

10

【0027】

上記細胞は、好ましくは、マスト細胞、および/または、好塩基球細胞、および/または、好酸球細胞である。

20

【0028】

マスト細胞および好塩基球細胞は、アレルゲンに曝露されたとき上記メディエーターのほとんど、特にヒスタミンを放出する細胞である。マスト細胞は、皮膚、肺、および消化管の結合組織において見出され、一方、好塩基球細胞は、血液中において見出される。これらの細胞は公知の方法により単離され得、本発明に係る方法において使用され得る。マスト細胞のための単離プロトコルは、Jamur MC et al. (J Histochem Cytochem. 1997 45:1715-1722), Massey WA (J Immunol. 1991 147:1621-7)において見つけることができ、好塩基球細胞のための単離プロトコルは、Valent P. (Proc. Natl. Acad. Sci USA 1989, 86, 5542-5546)において見つけることができる。

30

【0029】

本発明の好適な実施形態によれば、上記サンプルは、免疫グロブリン（I g）、特に免疫グロブリン G（I g G）をさらに備えている。

【0030】

処理は、I g G を含んでいるサンプル、例えば全血液のサンプルに対して好適に実施することができる。このようなサンプルにおける I g G の存在は、上記細胞を上記アレルゲンに曝露している間の遮断 I g G の妨害の測定を可能にするため、好ましい。アレルゲン免疫療法の最中、上記アレルゲンを対象とする I g G が産生される。これらの I g G は、個体が上記アレルゲンと接触した際に、該アレルゲンと結合して、該アレルゲンが I g E と結合することを阻止する。したがって、アレルゲン結合 I g G の産生は、個体のアレルゲンに対する反応に直接関係して、個体のアレルゲン感受性に影響を与えるため、上記サンプルは、I g G を含んでいることが好ましい。

40

【0031】

個体のアレルゲン感受性、またはアレルゲン免疫療法の臨床上的有効性を評価するため、上記サンプルは、好ましくは、該個体に免疫療法を受けさせる前、および後に供与される。

【0032】

免疫療法の有効性をモニターし、評価するために、該療法に先立って、および最中に個体のアレルゲンに対する感受性を測定する必要がある。したがって、上記メディエーターの放出は、上記療法の様々な段階において測定される。上記療法の最中、アレルゲンに対

50

する感受性は、理想的には減少する。さらに、免疫療法の前の一以上の時点におけるメディエーターの放出を測定することは、該療法の最中での上記アレルゲンの投与のために有用であり得る。

【0033】

本発明の他の好適な実施形態によれば、上記サンプルは、上記個体に免疫療法を受けさせた後に供与される。

【0034】

もちろん、免疫療法は、単に、アレルゲンを含んだ薬物の最初の投与の後にサンプルを分析することでも、評価し得る。

【0035】

このましくは、少なくとも一つのサンプルが、上記個体に免疫療法を受けさせた、最長1時間、2時間、6時間、12時間、24時間、5日間、10日間、4週間、6月間、12月間、24月間、および36月間後に供与される。

【0036】

分析されるべき上記サンプルは、アレルゲンの最初の投与の後、所定の期間後に供与される。一回一回の、メディエーターの放出の測定の間隔もまた、好ましくは、1時間、2時間、6時間、12時間、24時間、5日間、10日間、4週間、6月間、12月間、24月間、および36月間の範囲内で変更され得る。

【0037】

一つの好適な実施形態によれば、上記アレルゲンは、組換え技術により製造される。

【0038】

効率的なアレルゲン免疫療法、およびメディエーターの放出を測定するための正確な方法は、好ましくは、組換え技術により製造されたアレルゲンを用いて実施される。遺伝子組み換え技術によれば、特定のアレルゲンを大量に生産して、該アレルゲンを単離することができる。アレルゲンは、通常、アレルゲン（例えば花粉）を含む供給源から直接単離され、該アレルゲンは抽出物中に含まれているため、該アレルゲンは必ず、様々なアレルゲン性、または潜在的にアレルゲン性の物質の混合物の一部となる。数種のイソ型から構成される精製された「天然のアレルゲン」であっても、該イソ型のうちのいくつかは低アレルゲン性または非アレルゲン性であり得、そのため、誤った試験結果を与える（Ferreira F., et al., J. Exp. Med. 1996, 183, 599-609）。この問題は、アレルゲンの組換え技術による製造によって避け得る。個体への投与に用いられるアレルゲンはまた、本発明に係る方法においても用いられ得る。

【0039】

上記アレルゲンは好ましくは、少なくとも一つの欠損、少なくとも一つの置換、または少なくとも一つの挿入を含んでいる。

【0040】

低アレルゲン性のアレルゲンまたはその誘導体もまた、治療中に、それら誘導体に対して患者が監査し得るか否かという疑問に関して、用いられ得る。

【0041】

本発明の一つの好適な実施形態によれば、上記アレルゲンは、該アレルゲンの断片を、遺伝子組み換え技術により並び換えて改変されたものである。

【0042】

上記サンプルは、好ましくは、様々な濃度の上記アレルゲンと接触される。

【0043】

メディエーター放出細胞から放出されるメディエーターの量は、本発明に係る方法において採用された、アレルゲンの濃度に依存する。はっきりした量のメディエーターを誘導するために用いられたアレルゲンの濃が高ければ高いほど、個体から供与された細胞の感受性は低くなり、逆もまた同様である。したがって、放出されたメディエーターの量を決定するためには、様々な濃度のアレルゲンの使用が必要となる。

【0044】

10

20

30

40

50

上記アレルゲンの濃度は、 $1 \text{ ng/ml}$  から  $100 \text{ }\mu\text{g/ml}$  の範囲内で好適に選択され、 $1 \text{ pg/ml}$  から  $10 \text{ }\mu\text{g/ml}$  の範囲内で好適に選択される。

【0045】

一つの好適な実施形態によれば、個体により供給される上記サンプルに含まれる上記細胞のメディエーターの総量は、測定される。

【0046】

上記細胞に存在する膳メディエーターの量を測定するために、それらの細胞は、例えば、数回の凍結および解凍の繰り返しにより溶解される。測定されたメディエーターの量は、上記細胞より潜在的に放出可能なメディエーターを指し示し、その値は、該細胞の所定のアレルゲンに対する感作の度合いを測定するために用い得る。

10

【0047】

細胞の感作の度合いは、上記細胞のメディエーターの総量の10%、好ましくは30%の放出を誘導する上記アレルゲンの濃度を測定することにより好適に規定される。

【0048】

細胞の感作の度合いは、細胞が、メディエーター放出細胞において存在するメディエーターの総量の10%、好ましくは20%、25%、30%を放出する濃度を明らかにするため、免疫療法の進捗状況の指標となる。成功したアレルゲン免疫療法の最中では、用いられるアレルゲンの濃度は増加する。これは、高い濃度のアレルゲンが、上記細胞から所定の量のメディエーターを放出させることは、該細胞が以前の測定よりも感受性が低いことを指し示すからである。上記メディエーターを最大限の放出を誘導する投与量もまた、評価され得る。これは、用量反応曲線を作成すること、および上記免疫療法の最中に、該曲線の移動を測定することを可能にする。

20

【0049】

したがって、個体のアレルゲン感受性および/またはアレルゲン免疫療法の臨床上的有効性が、上記免疫療法の過程における上記細胞の感作の度合いを観察することによって、好適に評価される。

【0050】

本発明の一つの好適な実施形態によれば、上記サンプルにおける上記メディエーターが、免疫学的なまたは組織学的方法、好ましくは、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合イムノソルベント検定法(ELISA)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応、免疫蛍光フローサイトメトリー、およびそれらの組合せからなる群より選ばれる方法によって測定される。

30

【0051】

これらの方法はすべて、臨床上的感受性に近づいたところまで確立されている。しかしながら何れの方法も、血清学上での純粋なアレルゲン、好塩基球の活性化、および皮膚の感受性を見るために用いられたことはない(例えば、Pierkes M. et al., J Allergy Clin Immunol. (1999) 103:326-32; Di Lorenzo G. et al., J Allergy Clin Immunol. (1997) 100:832-7)。

【0052】

本発明によって用いられるべき好ましいアレルゲンは、例えば、[www.allergen.org/List.htm](http://www.allergen.org/List.htm)において得られるような、取得可能なすべての主要なタンパク質のアレルゲンを含む。本発明に係る特に好ましいアレルゲンのグループは、例えば、主要なカバノキ花粉アレルゲン、特に、Bet v 1およびBet v 4、主要なオオアワガエリ花粉アレルゲン、特にPhl p 1、Phl p 2、Phl p 5、Phl p 6およびPhl p 7、主要なイエネズミアレルゲン、特にDer p 1およびDer p 2、主要なネコアレルゲンFel d 1、主要なミツバチアレルゲン、主要なスズメバチアレルゲン、プロフィリン、特にPhl p 12、および倉庫ダニアレルゲン、特にLep d 2、そして表1に記載されたアレルゲンのような主要なアレルゲンを含む。

40

【0053】

50

(表1: 本発明によって用いられる好ましいアレルゲン(参考例を含む))

【0054】

【表1】

## アレルゲン

種名	アレルゲン名	Biochem.ID or 旧名	MW	cDNA or タンパク質	参考, Acc. No.	
Ambrosia artemisiifolia short ragweed						10
	Amb a 1	antigen E	8	C	8, 20	
	Amb a 2	antigen K	38	C	8, 21	
	Amb a 3	Ra3	11	C	22	
	Amb a 5	Ra5	5	C	11, 23	
	Amb a 6	Ra6	10	C	24, 25	
	Amb a 7	Ra7	12	P	26	
Ambrosia trifida giant ragweed						20
	Amb t 5	Ra5G	4.4	C	9, 10, 27	
Artemisia vulgaris mugwort						
	Art v 1		27-29	C	28	
	Art v 2		35	P	28A	
	Art v 3	lipid transfer protein	12	P	53	
	Art v 4	profilin	14	C	29	
Helianthus annuus sunflower						
	Hel a 1		34		29A	
	Hel a 2	profilin	15.7	C	Y15210	30
Mercurialis annua						
	Mer a 1	profilin	14-15	C	Y13271	
Caryophyllales Chenopodium album lamb's-quarters, pigweed,						
	Che a 1		17	C	AY049012, 29B	
white goosefoot						
	Che a 2	profilin	14	C	AY082337	
	Che a 3	polcalcin	10	C	AY082338	40
Salsola kali Russian-thistle						
	Sal k 1		43	P	29C	

## Rosales

Humulus japonicus

Japanese hop

Hum j 4w

C

AY335187

Parietaria judaica

Par j 1 lipid transfer protein 1

15

C

see list of isoaller-

gens

Par j 2 lipid transfer protein 2

C

see list of isoaller-

gens

Par j 3 profilin

C

see list of isoaller-

10

gens

Parietaria officinalis

Par o 1 lipid transfer protein

15

29D

## B. Grasses

Poales

Cynodon dactylon

Bermuda grass

Cyn d 1

32

C

30, 583343

20

Cyn d 7

C

31, X91256

Cyn d 12 profilin

14

C

31a, Y08390

Cyn d 15

9

C

AF517686

Cyn d 22w enolase

data

pending

Cyn d 23 Cyn d 14

9

C

AF517685

Cyn d 24 Pathogenesis- related p.

21

P

pending

Dactylis glomerata

orchard grass

Dac g 1

AgDg1

32

P

32

30

Dac g 2

11

C

33, S45354

Dac g 3

C

33A, U25343

Dac g 5

31

P

34

Festuca pratensis

meadow fescue

Fes p 4w

60

-

Holcus lanatus

velvet grass

Hol l 1

C

Z27084

40

Lolium perenne

rye grass

Lol p 1

group I

27

C

35, 36

Lol p 2

group II

11

P

37, 37A, X73363

Lol p 3

group III

11

P

38

	Lol p 5	Lol p IX, Lol p Ib	31/35	C	34, 39	
	Lol p 11	hom: trypsin inhibitor	16		39A	
<i>Phalaris aquatica</i>						
canary grass						
	Pha a 1			C	40, S80654	
<i>Phleum pratense</i>						
timothy	Phl p 1		27	C	X78813	
	Phl p 2			C	X75925, 41	
	Phl p 4			P	41A	10
	Phl p 5	Ag25	32	C	42	
	Phl p 6			C	Z27082, 43	
	Phl p 11	trypsin inhibitor hom.	20	C	AF521563, 43A	
	Phl p 12	profilin		C	X77583, 44	
	Phl p 13	polygalacturonase	55-60	C	AJ238848	
<i>Poa pratensis</i>						
Kentucky blue grass						
	Poa p 1	group I	33	P	46	
	Poa p 5		31/34	C	34, 47	
<i>Sorghum halepense</i>						
Johnson grass						
	Sor h 1			C	48	20
C. Trees						
Arecales						
<i>Phoenix dactylifera</i>						
date palm						
	Pho d 2	profilin	14.3	C	Asturias p.c.	30
Fagales						
<i>Alnus glutinosa</i>						
alder						
	Aln g 1		17	C	S50892	
<i>Betula verrucosa</i>						
birch	Bet v 1		17	C	see list of isoaller-	
gens						
	Bet v 2	profilin	15	C	M65179	
	Bet v 3			C	X79267	40
	Bet v 4		8	C	X87153, S54819	
	Bet v 6 h:	isoflavone reductase	33.5	C	see list of isoaller-	
gens						
	Bet v 7	cyclophilin	18	P	P81531	

Carpinus betulus					
hornbeam					
	Car b 1	17	C	see list of isoaller-	
gens					
Castanea sativa					
chestnut					
	Cas s 1	22	P	52	
	Cas s 5 chitinase				
	Cas s 8 lipid transfer protein	9.7	P	53	10
Corylus avellana					
hazel					
	Cor a 1	17	C	see list of isoaller-	
gens					
	Cor a 2 profilin	14	C		
	Cor a 8 lipid transfer protein	9	C		
	Cor a 9 11S globulin-like protein	40/?	C	Beyer p.c.	
	Cor a 10 luminal binding prot.	70	C	AJ295617	
	Cor a 11 7S vicillin-like prot.	48	C	AF441864	
Quercus alba					
White oak					20
	Que a 1	17	P	54	
Lamiales					
Oleaceae					
Fraxinus excelsior					
ash	Fra e 1	20	P	58A, AF526295	
Ligustrum vulgare					
privet	Lig v 1	20	P	58A	30
Olea europea					
olive	Ole e 1	16	C	59, 60	
	Ole e 2 profilin	15-18	C	60A	
	Ole e 3	9.2		60B	
	Ole e 4	32	P	P80741	
	Ole e 5 superoxide dismutase	16	P	P80740	
	Ole e 6	10	C	60C, U86342	
	Ole e 7	?	P	60D, P81430	
	Ole e 8 Ca <sup>2+</sup> -binding protein	21	C	60E, AF078679	
	Ole e 9 beta-1,3-glucanase	46	C	AF249675	40
	Ole e 10 glycosyl hydrolase hom.	11	C	60F, AY082335	
Syringa vulgaris					
lilac	Syr v 1	20	P	58A	
Plantaginaceae					

Plantago lanceolata					
English plantain					
	Pla l 1	18	P	P842242	
Pinales					
Cryptomeria japonica					
sugi	Cry j 1	41-45	C	55, 56	
	Cry j 2		C	57, D29772	10
Cupressus arisonica					
cypress					
	Cup a 1	43	C	A1243570	
Cupressus sempervirens					
common cypress					
	Cup s 1	43	C	see list of isoallergens	
	Cup s 3w	34	C	ref pending	
Juniperus ashei					
mountain cedar					20
	Jun a 1	43	P	P81294	
	Jun a 2		C	57A, AJ404653	
	Jun a 3	30	P	57B, P81295	
Juniperus oxycedrus					
prickly juniper					
	Jun o 4 hom: calmodulin	29	C	57C, AF031471	
Juniperus sabinoides					
mountain cedar					
	Jun s 1	50	P	58	30
Juniperus virginiana					
eastern red cedar					
	Jun v 1	43	P	P81825, 58B	
Platanaceae					
Platanus acerifolia					
London plane tree					
	Pla a 1	18	P	P82817	
	Pla a 2	43	P	P82967	
	Pla a 3 lipid transfer protein	10	P	Iris p.c.	40

## D. Mites

Acarus siro	arthropod					
mite	Aca s 13 fatty acid binding prot.	14*	C	AJ006774		
Blomia tropicalis						
mite	Blo t 1 cysteine protease	39	C	AF277840		
	Blo t 3 trypsin	24*	C	Cheong p.c.		
	Blo t 4 alpha amylase	56	C	Cheong p.c.		
	Blo t 5		C	U59102		
	Blo t 6 chymotrypsin	25	C	Cheong p.c.		
	Blo t 10 tropomyosin	33	C	61		10
	Blo t 11 paramyosin	110	C	AF525465, 61A		
	Blo t 12 Bt11a		C	U27479		
	Blo t 13 Bt6, fatty acid bind prot.		C	U58106		
	Blo t 19 anti-microbial pep. hom.	7.2	C	Cheong p.c.		
Dermatophagoides farinae						
American house dust mite						
	Der f 1 cysteine protease	25	C	69		
	Der f 2	14	C	70, 70A, see list of		
isoallergens						20
	Der f 3 trypsin	30	C	63		
	Der f 7	24-31	C	SW:Q26456, 71		
	Der f 10 tropomyosin		C	72		
	Der f 11 paramyosin	98	C	72A		
	Der f 14 mag3, apolipophorin		C	D17686		
	Der f 15 98k chitinase	98	C	AF178772		
	Der f 16 gelsolin/villin	53	C	71A		
	Der f 17 Ca binding EF protein	53	C	71A.		
	Der f 18w 60k chitinase	60	C	Weber p.c.		
Dermatophagoides microceras						30
house dust mite						
	Der m 1 cysteine protease	25	P	68		
Dermatophagoides pteronyssinus						
European house dust mite						
	Der p 1 antigen F1, cysteine protease	25	C	62, see list of		
isoallergens						
	Der p 2	14	C	62A-C, see list of		
isoallergens						
	Der p 3 trypsin	28/30	C	63		
	Der p 4 amylase	60	P	64		40
	Der p 5	14	C	65		

Der p 6	chymotrypsin	25	P	66	
Der p 7		22/28	C	67	
Der p 8	glutathione transferase		C	67A	
Der p 9	collagenolytic serine pro.		P	67B	
Der p 10	tropomyosin	36	C	Y14906	
Der p 14	apolipoprotein like prot.		C	Epton p.c.	
Euroglyphus maynei					
mite	Eur m 2		C	see list of isoallergens	10
	Eur m 14	apolipoprotein	177	C	AF149827
Glycyphagus domesticus					
storage mite					
	Gly d 2		C	72B, see isoallergen	
list					
Lepidoglyphus destructor					
storage mite					
	Lep d 2	Lep d 1	15	C	73, 74, 74A, see
isoallergen list					
	Lep d 5		C	75, AJ250278	20
	Lep d 7		C	75, AJ271058	
	Lep d 10	tropomyosin	C	75A, AJ250096	
	Lep d 13		C	75, AJ250279	
Tyrophagus putrescentiae					
storage mite					
	Tyr p 2		C	75B, Y12690	
E. Animals					
Bos domesticus					
domestic cattle					
	Bos d 2	Ag3, lipocalin	20	C	76, see isoallergen
list					
(see also foods)					
	Bos d 3	Ca-binding S100 hom.	11	C	L39834
	Bos d 4	alpha-lactalbumin	14.2	C	M18780
	Bos d 5	beta-lactoglobulin	18.3	C	X14712
	Bos d 6	serum albumin	67	C	M73993
	Bos d 7	immunoglobulin	160		77
	Bos d 8	caseins	20-30		77
Canis familiaris					
(Canis domesticus)					
	Can f 1		25	C	78, 79

dog	Can f 2		27	C	78, 79	
	Can f 3 albumin			C	S72946	
	Can f 4		18	P	A59491	
Equus caballus						
domestic horse						
	Equ c 1	lipocalin	25	C	U70823	
	Equ c 2	lipocalin	18.5	P	79A, 79B	
	Equ c 3	Ag3 - albumin	67	C	79C, X74045	
	Equ c 4		17	P	79D	10
	Equ c 5	AgX	17	P	Goubran Botros p.c.	
Felis domesticus						
cat (saliva)						
	Fel d 1	cat-1	38	C	15	
	Fel d 2	albumin		C	79E, X84842	
	Fel d 3	cystatin	11	C	79F, AF238996	
	Fel d 4	lipocalin	22	C	AY497902	
	Fel d 5w immunoglobulin A		400		Adedoyin p.c.	
	Fel d 6w immunoglobulin M					20
800-						
1000						
		Adedoyin p.c.				
	Fel d 7w	immunoglobulin G	150		Adedoyin p.c.	
Cavia porcellus						
guinea pig						
	Cav p 1	lipocalin homologue	20	P	SW:P83507, 80	
	Cav p 2		17	P	SW:P83508	30
Mus musculus						
mouse (urine)						
	Mus m 1	MUP	19	C	81, 81A	
Rattus norvegicus						
rat (urine)						
	Rat n 1		17	C	82, 83	
F. Fungi (moulds)						
1. Ascomycota						
1.1 Dothideales						
Alternaria alternata						
						40

Alt a 1	28	C	U82633	
Alt a 2	25	C	83A, U62442	
Alt a 3 heat shock prot.	70	C	U87807, U87808	
Alt a 4 prot. disulfideisomerase	57	C	X84217	
Alt a 6 acid ribosomal prot. P2	11	C	X78222, U87806	
Alt a 7 YCP4 protein	22	C	X78225	
Alt a 10 aldehyde dehydrogenase	53	C	X78227, P42041	
Alt a 11 enolase	45	C	U82437	
Alt a 12 acid ribosomal prot. P1	11	C	X84216	10
Cladosporium herbarum				
Cl a h 1	13		83B, 83C	
Cl a h 2	23		83B, 83C	
Cl a h 3 aldehyde dehydrogenase	53	C	X78228	
Cl a h 4 acid ribosomal prot. P2	11	C	X78223	
Cl a h 5 YCP4 protein	22	C	X78224	
Cl a h 6 enolase	46	C	X78226	
Cl a h 12 acid ribosomal prot. P1	11	C	X85180	
1.2 Eurotiales				
Aspergillus flavus				20
Asp fl 13 alkaline serine protease	34		84	
Aspergillus fumigatus				
Asp f 1	18	C	M83781, S39330	
Asp f 2	37	C	U56938	
Asp f 3 peroxisomal protein	19	C	U20722	
Asp f 4	30	C	AJ001732	
Asp f 5 metalloprotease	40	C	Z30424	
Asp f 6 Mn superoxide dismut.	26.5	C	U53561	
Asp f 7	12	C	AJ223315	
Asp f 8 ribosomal prot. P2	11	C	AJ224333	30
Asp f 9	34	C	AJ223327	
Asp f 10 aspartic protease	34	C	X85092	
Asp f 11 peptidyl-prolyl isomeras	24		84A	
Asp f 12 heat shock prot. P90	90	C	85	
Asp f 13 alkaline serine protease	34		84B	
Asp f 15	16	C	AJ002026	
Asp f 16	43	C	g3643813	
Asp f 17		C	AJ224865	
Asp f 18 vacuolar serine protease	34		84C	40
Asp f 22w enolase	46	C	AF284645	
Asp f 23 L3 ribosomal protein	44	C	85A, AF464911	

<i>Aspergillus niger</i>				
Asp n 14	beta-xylosidase	105	C	AF108944
Asp n 18	vacuolar serine protease	34	C	84B
Asp n 25	3-phytase B	66-100	C	85B, F34754
Asp n ?		85	C	Z84377
<i>Aspergillus oryzae</i>				
Asp o 13	alkaline serine protease	34	C	X17561
Asp o 21	TAKA-amylase A	53	C	D00434, M33218
<i>Penicillium brevicompactum</i>				
Pen b 13	alkaline serine protease	33		86A
<i>Penicillium chrysogenum</i> (formerly <i>P. notatum</i> )				
Pen ch 13	alkaline serine protease	34		87
Pen ch 18	vacuolar serine protease	32		87
Pen ch 20	N-acetyl glucosaminidase	68		87A
<i>Penicillium citrinum</i>				
Pen c 3	peroxisomal mem. prot.	18		86B
Pen c 13	alkaline serine protease	33		86A
Pen c 19	heat shock prot. P70	70	C	U64207
Pen c 22w	enolase	46	C	AF254643
Pen c 24	elongation factor 1 beta		C	AY363911
<i>Penicillium oxalicum</i>				
Pen o 18	vacuolar serine protease	34		87B
1.3 Hypocreales				
<i>Fusarium culmorum</i>				
Fus c 1	ribosomal prot. P2	11*	C	AY077706
Fus c 2	thioredoxin-like prot.	13*	C	AY077707
1.4 Onygenales				
<i>Trichophyton rubrum</i>				
Tri r 2			C	88
Tri r 4	serine protease		C	88
<i>Trichophyton tonsurans</i>				
Tri t 1		30	F	88A
Tri t 4	serine protease	83	C	88

10

20

30

40

1.5 Saccharomycetales					
Candida albicans					
	Cand a 1		40	C	89
	Cand a 3 peroxisomal protein		29	C	AY136739
Candida boidinii					
	Cand b 2		20	C	J04984, J04985
2. Basidiomycotina					10
2.1 Hymenomyces					
Psilocybe cubensis					
	Psi c 1				
	Psi c 2	cyclophilin	16		89A
Coprinus comatus					
shaggy cap					
	Cop c 1 leucine zipper protein		11	C	AJ132235
	Cop c 2				AJ242791
	Cop c 3				AJ242792
	Cop c 5				AJ242793
	Cop c 7				AJ242794
					20
2.2 Urediniomycetes					
Rhodotorula mucilaginosa					
	Rho m 1 enolase		47	C	89B
	Rho m 2 vacuolar serine protease		31	C	AY547285
					30
2.3 Ustilaginomycetes					
Malassezia furfur					
	Mala f 2 MF1, peroxisomal membrane protein		21	C	AB011804, 90
	Mala f 3 MF2, peroxisomal membrane protein		20	C	AB011805, 90
	Mala f 4 mitochondrial malate dehydrogenase		35	C	AF084828, 90A
Malassezia sympodialis					
	Mala s 1			C	X96486, 91
	Mala s 5		18*	C	AJ011955
	Mala s 6		17*	C	AJ011956
	Mala s 7			C	AJ011957, 91A
					40

Mala s 8			19*	C	AJ011958, 91A	
Mala s 9			37*	C	AJ011959, 91A	
Mala s 10	heat shock prot. 70		86	C	AJ428052	
Mala s 11	Mn superoxide dismut.		23	C	AJ548421	
3. Deuteromycotina						
3.1 Tuberculariales						
Epicoccum purpurascens						
(formerly H. nigrum)						
Epi p 1	serine protease		30	P	SW:P83340, 91B	10
G. Insects						
Aedes aegyptii						
mosquito						
Aed a 1	apyrase		68	C	L12389	
Aed a 2			37	C	M33157	
Apis mellifera						
honey bee						
Api m 1	phospholipase A2		16	C	92	20
Api m 2	hyaluronidase		44	C	93	
Api m 4	melittin		3	C	94	
Api m 6			7-8	P	Kettner p.c.	
Api m 7	CUB serine protease		39	C	AY127579	
Bombus pennsylvanicus						
bumble bee						
Bom p 1	phospholipase		16	P	95	
Bom p 4	protease			P	95	
Blattella germanica						
German cockroach						
Bla g 1	Bd90k			C		
Bla g 2	aspartic protease		36	C	96	
Bla g 4	calycin		21	C	97	
Bla g 5	glutathione transferase		22	C	98	
Bla g 6	troponin C		27	C	98	
Periplaneta americana						
American cockroach						
Per a 1	Cr-P11			C		
Per a 3	Cr-P1		72-78	C	98A	40
Per a 7	tropomyosin		37	C	Y14854	
Chironomus kiliensis						

midge	Chi k 10	tropomyosin	32.5*	C	AJ012184	
Chironomus thummi thummi						
midge	Chi t 1-9	hemoglobin	16	C	99	
	Chi t 1.01	component III	16	C	P02229	
	Chi t 1.02	component IV	16	C	P02230	
	Chi t 2.0101	component I	16	C	P02221	
	Chi t 2.0102	component IA	16	C	P02221	
	Chi t 3	component II-beta	16	C	P02222	
	Chi t 4	component IIIA	16	C	P02231	10
	Chi t 5	component VI	16	C	P02224	
	Chi t 6.01	component VIIA	16	C	P02226	
	Chi t 6.02	component IX	16	C	P02223	
	Chi t 7	component VIIB	16	C	P02225	
	Chi t 8	component VIIIA	16	C	P02227	
	Chi t 9	component X	16	C	P02228	
Ctenocephalides felis felis						
cat flea						
	Cte f 1					
	Cte f 2	Mlb	27	C	AF231352	20
	Cte f 3		25	C		
Thaumetopoea pityocampa						
pine processionary moth						
	Tha p 1		15	P	PIR:A59396, 99A	
Lepisma saccharina						
silverfish						
	Lep s 1	tropomyosin	36	C	AJ309202	
Dolichovespula maculata						
white face hornet						
	Dol m 1	phospholipase A1	35	C	100	30
	Dol m 2	hyaluronidase	44	C	101	
	Dol m 5	antigen 5	23	C	102, 103	
Dolichovespula arenaria						
yellow hornet						
	Dol a 5	antigen 5	23	C	104	
Polistes annularis						
wasp	Pol a 1	phospholipase A1	35	P	105	
	Pol a 2	hyaluronidase	44	P	105	
	Pol a 5	antigen 5	23	C	104	40
Polistes dominulus						
Mediterranean paper wasp						

	Pol d 1					Hoffman p.c.	
	Pol d 4	serine protease	32-34	C		Hoffman p.c.	
	Pol d 5					P81656	
Polistes exclamans							
wasp	Pol e 1	phospholipase A1	34	P		107	
	Pol e 5	antigen 5	23	C		104	
Polistes fuscatus							
wasp	Pol f 5	antigen 5	23	C		106	
Polistes gallicus							
wasp	Pol g 5	antigen 5	24	C		P83377	10
Polistes metricus							
wasp	Pol m 5	antigen 5	23	C		106	
Vespa crabo							
European hornet							
	Vesp c 1	phospholipase	34	P		107	
	Vesp c 5	antigen 5	23	C		106	
Vespa mandarina							
giant asian hornet							
	Vesp m 1					Hoffman p.c.	20
	Vesp m 5					P81657	
Vespula flavopilosa							
yellowjacket	Ves f 5	antigen 5	23	C		106	
Vespula germanica							
yellowjacket	Ves g 5	antigen 5	23	C		106	
Vespula maculifrons							
yellowjacket							
	Ves m 1	phospholipase A1	33.5	C		108	
	Ves m 2	hyaluronidase	44	P		109	30
	Ves m 5	antigen 5	23	C		104	
Vespula pennsylvanica							
yellowjacket							
	Ves p 5	antigen 5	23	C		106	
Vespula squamosa							
yellowjacket							
	Ves s 5	antigen 5	23	C		106	
Vespula vidua							
wasp	Ves vi 5	antigen 5	23	C		106	
Vespula vulgaris							
yellowjacket							
	Ves v 1	phospholipase A1	35	C		105A	40

	Ves v 2	hyaluronidase	44	P	105A	
	Ves v 5	antigen 5	23	C	104	
<i>Myrmecia pilosula</i>						
Australian jumper ant						
	Myr p 1			C	X70256	
	Myr p 2			C	S81785	
<i>Solenopsis geminata</i>						
tropical fire ant						
	Sol g 2				Hoffman p.c.	10
	Sol g 4				Hoffman p.c.	
<i>Solenopsis invicta</i>						
	fire ant		13	C	110, 111	
	Sol i 2		24	C	110	
	Sol i 3		13	C	110	
	Sol i 4					
<i>Solenopsis saevissima</i>						
Brazilian fire ant						
	Sol s 2				Hoffman p.c.	
<i>Triatoma protracta</i>						
California kissing bug						
	Tria p 1	Procalin	20	C	AF179004, 111A.	20
H. Foods						
<i>Gadus callarias</i>						
cod						
	Gad c 1	allergen M	12	C	112, 113	
<i>Salmo salar</i>						
Atlantic salmon						
	Sal s 1	parvalbumin	12	C	X97824	30
<i>Bos domesticus</i>						
domestic cattle						
	Bos d 4	alpha-lactalbumin	14.2	C	M18780	
(milk)	Bos d 5	beta-lactoglobulin	18.3	C	X14712	
see also animals						
	Bos d 6	serum albumin	67	C	M73993	
	Bos d 7	immunoglobulin	160		77	
	Bos d 8	caseins	20-30		77	40
<i>Gallus domesticus</i>						
chicken						
	Gal d 1	ovomucoid	28	C	114, 115	

	Gal d 2	ovalbumin	44	C	114, 115	
	Gal d 3	Ag22, conalbumin	78	C	114, 115	
	Gal d 4	lysozyme	14	C	114, 115	
	Gal d 5	serum albumin	69	C	X60688	
Metapenaeus ensis						
shrimp	Met e 1	tropomyosin		C	U08008	
Penaeus aztecus						
shrimp	Pen a 1	tropomyosin	36	P	116	
Penaeus indicus						
shrimp	Pen i 1	tropomyosin	34	C	116A	10
Penaeus monodon						
black tiger shrimp						
	Pen m 1	tropomyosin	38	C		
	Pen m 2	arginine kinase	40	C	AF479772, 117	
Todarodes pacificus						
squid	Tod p 1	tropomyosin	38	P	117A	
Helix aspersa						
brown garden snail						
	Hel as 1	tropomyosin	36	C	Y14855, 117B	20
Haliotis midae						
abalone						
	Hal m 1		49		117C	
Rana esculenta						
edible frog						
	Ran e 1	parvalbumin alpha	11.9*	C	AJ315959	
	Ran e 2	parvalbumin beta	11.7*	C	AJ414730	
Brassica juncea						
oriental mustard						
	Bra j 1	2S albumin	14	C	118	30
Brassica napus						
rapeseed						
	Bra n 1	2S albumin	15	P	118A, P80208	
Brassica rapa						
turnip	Bra r 2	hom: prohevein	25		P81729	
Hordeum vulgare						
barley	Hor v 15	BMAI-1	15	C	119	
	Hor v 16	alpha-amylase				
	Hor v 17	beta-amylase				40
	Hor v 21	gamma-3 hordein	34	C	119A,	

SW:P80198

## Secale cereale

rye Sec c 20 secalin see isoall. list

## Triticum aestivum

wheat Tri a 18 agglutinin

Tri a 19 omega-5 gliadin 65 P PTR:A59156

## Zea mays

## maize, corn

Zea m 14 lipid transfer prot. 9 P P19656 10

## Oryza sativa

rice Ory s 1 C 119B, U31771

## Apium graveolens

celery Api g 1 hom: Bet v 1 16\* C Z48967

Api g 4 profilin AF129423

Api g 5 55/58 P P81943

## Daucus carota

carrot Dau c 1 hom: Bet v 1 16 C 117D, see isoallergen

## list

Dau c 4 profilin C AF456482 20

## Corylus avellana

## hazelnut

Cor a 1.04 hom: Bet v 1 17 C see list of isoaller-

## gens

Cor a 2 profilin 14 C AF327622

Cor a 8 lipid transfer protein 9 C AF329829

## Malus domestica

apple Mal d 1 hom: Bet v 1 C see list of isoaller-

## gens

Mal d 2 hom: thaumatin C AJ243427 30

Mal d 3 lipid transfer protein 9 C Pastorello p.c.

Mal d 4 profilin 14.4\* C see list of isoaller-

## gens

## Pyrus communis

pear Pyr c 1 hom: Bet v 1 18 C AF05730

Pyr c 4 profilin 14 C AF129424

Pyr c 5 hom: isoflavone reductas 33.5 C AF071477

## Persea americana

avocado Pers a 1 endochitinase 32 C Z78202 40

## Prunus armeniaca

## apricot

Pru ar 1 hom: Bet v 1 C U93165

Pru ar 3 lipid transfer protein 9 P

Prunus avium						
sweet cherry						
	Pru av 1 hom: Bet v 1			C	U66076	
	Pru av 2 hom: thaumatin			C	U32440	
	Pru av 3 lipid transfer protein	10		C	AF221501	
	Pru av 4 profilin	15		C	AF129425	
Prunus domestica						
European plum						
	Pru d 3 lipid transfer protein	9		P	119C	10
Prunus persica						
peach						
	Pru p 3 lipid transfer protein	10		P	P81402	
	Pru p 4 profilin	14		C	see isoallergen list	
Asparagus officinalis						
Asparagus						
	Aspa o 1 lipid transfer protein	9		P	119D	
Crocus sativus						
saffron crocus						
	Cro s 1	21			Varasteh A-R p.c.	
Lactuca sativa						
lettuce						20
	Lac s 1	lipid transfer protein	9		Vieths p.c.	
Vitis vinifera						
grape						
	Vit v 1	lipid transfer protein	9	P	P80274	
Musa x paradisiaca						
banana						
	Mus xp 1	profilin	15	C	AF377948	
Ananas comosus						
pineapple						
	Ana c 1 profilin	15		C	AF377949	
	Ana c 2 bromelain	22.8*		C	119E-G, D14059	30
Citrus limon						
lemon						
	Cit l 3 lipid transfer protein	9		P	Torrejon p.c.	
Citrus sinensis						
sweet orange						
	Cit s 1 germin-like protein	23		P	Torrejon p.c.	
	Cit s 2 profilin	14		P	Torrejon p.c.	
	Cit s 3 lipid transfer protein	9		P	Torrejon p.c.	
Litchi chinensis						
litchi						
	Lit c 1	profilin	15	C	AY049013	
Sinapis alba						40
yellow mustard						
	Sin a 1	2S albumin	14	C	120	

Glycine max						
soybean	Gly m 1	HPS	7	P		120A
	Gly m 2		8	P		A57106
	Gly m 3	profilin	14	C		see list of isoaller-
gens						
	Gly m 4	(SAM22) PR-10 prot.	17	C		X60043, 120B
Vigna radiata						
mung bean						
	Vig r 1	PR-10 protein	15	C		AY792956
Arachis hypogaea						
peanut	Ara h 1	vicilin	63.5	C		I34402
	Ara h 2	conglutin	17	C		I77197
	Ara h 3	glycinin	60	C		AF093541
	Ara h 4	glycinin	37	C		AF086821
	Ara h 5	profilin	15	C		AF059616
	Ara h 6	hom: conglutin	15	C		AF092846
	Ara h 7	hom: conglutin	15	C		AF091737
	Ara h 8	PR-10 protein	17	C		AY328088
Lens culinaris						
lentil						
	Len c 1	vicilin	47	C		see list of isoaller-
gens						
	Len c 2	seed biotinylated prot.	66	P		120C
Pisum sativum						
pea						
	Pis s 1	vicilin	44	C		see list of isoaller-
gens						
	Pis s 2	convicilin	63	C		pending
Actinidia chinensis						
kiwi						
	Act c 1	cysteine protease	30	P		P00785
	Act c 2	thamatin-like protein	24	P		SW:P81370, 121
Capsicum annuum						
bell pepper						
	Cap a 1w	osmotin-like protein	23	C		AJ297410
	Cap a 2	profilin	14	C		AJ417552
Lycopersicon esculentum						
tomato						
	Lyc e 1	profilin	14	C		AJ417553
	Lyc e 2	b-fructofuranosidase	50	C		see isoallergen list
	Lyc e 3	lipid transfer prot.	6	C		U81996
Solanum tuberosum						
potato						
	Sola t 1	patatin	43	P		P15476
	Sola t 2	cathepsin D inhibitor	21	P		P16348
	Sola t 3	cysteine protease inhibitor	21	P		P20347
	Sola t 4	aspartic protease inhibitor	16+4	P		P30941
Bertholletia excelsa						

10

20

30

40

Brazil nut						
	Ber e 1 2S albumin	9	C	P04403, M17146		
	Ber e 2 11S globulin seed storage protein	29	C	AY221641		
Juglans nigra black walnut						
	Jug n 1 2S albumin	19*	C	AY102930		
	Jug n 2 vicilin-like prot.	56*	C	AY102931		
Juglans regia English walnut						10
	Jug r 1 2S albumin		C	U66866		
	Jug r 2 vicilin	44	C	AF066055		
	Jug r 3 lipid transfer protein	9	P	Pastorello		
Anacardium occidentale Cashew						
	Ana o 1 vicilin-like protein	50	C	see isoallergen list		
	Ana o 2 legumin-like protein	55	C	AF453947		
	Ana o 3 2S albumin	14	C	AY081853		
Ricinus communis Castor bean						
	Ric c 1 2S albumin		C	P01089		20
Sesamum indicum sesame						
	Ses i 1 2S albumin	9	C	121A, AF240005		
	Ses i 2 2S albumin	7	C	AF091841		
	Ses i 3 7S vicilin-like globulin	45	C	AF240006		
	Ses i 4 oleosin	17	C	AAG23840		
	Ses i 5 oleosin	15	C	AAD42942		
Cucumis melo muskmelon						
	Cuc m 1 serine protease	66	C	D32206		30
	Cuc m 2 profilin	14	C	AY271295		
	Cuc m 3 pathogenesis-rel.p. PR-1	16*	P	P83834		
I. Others						
Anisakis simplex nematode						
	Ani s 1	24	P	121B, A59069		
	Ani s 2 paramyosin	97	C	AF173004		
	Ani s 3 tropomyosin	41	C	121C, Y19221		40
	Ani s 4	9	P	P83885		
Argas reflexus						

pigeon tick							
	Arg r 1		17	C		AJ697694	
Ascaris suum							
worm	Asc s 1		10	P		122	
Carica papaya							
papaya	Car p 3w	papain	23.4*	C		122A, M15203	
Dendronephthya nipponica							
soft coral							
	Den n 1		53	P		122B	10
Hevea brasiliensis							
rubber (latex)							
	Hev b 1	elongation factor	58	P		123, 124	
	Hev b 2	1,3-glucanase	34/36	C		125	
	Hev b 3		24	P		126, 127	
	Hev b 4	component of	100-	P		128	
		microhelix complex	115				
	Hev b 5		16	C		U42640	
	Hev b 6.01	hevein precursor	20	C		M36986, p02877	
	Hev b 6.02	hevein	5	C		M36986, p02877	20
	Hev b 6.03	C-terminal fragment	14	C		M36986, p02877	
	Hev b 7.01	hom: patatin from B-serum	42	C		U80598	
	Hev b 7.02	hom: patatin from C-serum	44	C		AJ223038	
	Hev b 8	profilin	14	C		see list of isoaller-	
gens							
	Hev b 9	enolase	51	C		AJ132580	
	Hev b 10	Mn superoxide dismut.	26	C		see list of isoaller-	
gens							
	Hev b 11	class 1 chitinase		C		see list of isoaller-	30
gens							
	Hev b 12	lipid transfer protein	9.3	C		AY057860	
	Hev b 13	esterase	42	P		P83269	
Homo sapiens							
human autoallergens							
	Hom s 1		73*	C		Y14314	
	Hom s 2		10.3*	C		X80909	
	Hom s 3		20.1*	C		X89985	
	Hom s 4		36*	C		Y17711	
	Hom s 5		42.6*	C		P02538	40
Triplochiton scleroxylon							
obeche	Trip s 1	class 1 chitinase	38.5	P		Kesphnl p.c.	

## 【 0 0 5 5 】

( 参考 )

- 1 Marsh, D. G., and L. R. Freidhoff. 1992. ALBE, an allergen database. IUIS, Baltimore, MD, Edition 1.0.
- 2 Marsh, D. G. et al., 1986. Allergen nomenclature. Bull WHO 64:767-770.
- 3 King, T. P. et al., 1964. Biochemistry 3:458-468.
- 4 Lowenstein, H. 1980. Allergy 35:188-191.

- 5 Aukrust, L. 1980. *Allergy* 35:206-207.
- 6 Demerec, M. et al. 1966. *Genetics* 54:61-75.
- 7 Bodmer, J. G. et al., 1991. *Immunogenetics* 33:301-309.
- 8 Griffith, I. J. et al., 1991. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 96:296-304.
- 9 Roebber, M. et al., 1985. *J. Immunol.* 134:3062-3069.
- 10 Metzler, W. J. et al., 1992. *Biochemistry* 31:5117-5127.
- 11 Metzler, W. J. et al., 1992. *Biochemistry* 31:8697-8705.
- 12 Goodfriend, L. et al., 1979. *Fed. Proc.* 38:1415.
- 13 Ekramoddoullah, A. K. M. et al., 1982. *Mol. Immunol.* 19:1527-1534.
- 14 Ansari, A. A. et al. 1987. *J. Allergy Clin. Immunol.* 80:229-235. 10
- 15 Morgenstern, J. P. et al. 1991. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:9690-9694.
- 16 Griffith, I. J. et al. 1992. *Gene* 113:263-268.
- 17 Weber, A. et al. 1986. *Biochem. Physiol.* 83B:321-324.
- 18 Weber, A. et al. 1987. *Allergy* 42:464-470.
- 19 Stanworth, D. R. et al. 1990. *Bulletin WHO* 68:109-111.
- 20 Rafnar, T. et al. 1991. *J. Biol. Chem.* 266:1229-1236.
- 21 Rogers, B. L. et al. 1991. *J. Immunol.* 147:2547-2552.
- 22 Klapper, D. G. et al. 1980. *Biochemistry* 19:5729-5734.
- 23 Ghosh, B. et al. 1993. *J. Immunol.* 150:5391-5399.
- 24 Roebber, M. et al. 1983. *J. Immunol.* 131:706-711. 20
- 25 Lubahn, B., and D. G. Klapper. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:338.
- 26 Roebber, M., and D. G. Marsh. 1991. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87:324.
- 27 Goodfriend L. et al. *Mol Immunol* 22:899-906, 1985.
- 28 Himly M. et al. *FASEB J* 17:106-108, 2003.
- 28A Nilsen, B. M. et al. 1991. *J. Biol. Chem.* 266:2660-2668.
- 29 Wopfner N. et al. *Biol Chem* 383:1779-1789, 2002.
- 29A Jimenez A. et al. 1994. *Int Arch Allergy Immunol* 105:297-307.
- 29B Barderas R. et al. *Int Arch Allergy Immunol* 127:47-54, 2002.
- 29C Carnes J. et al. *Allergy* 56, Supplement 68:274, 2001.
- 29D Giuliani A. et al. *Allergy* 42:434-440, 1987. 30
- 30 Smith, P. M. et al. 1996. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98:331-343.
- 31 Suphioglu, C. et al. 1997. *FEBS Lett.* 402:167-172.
- 31a Asturias J. A. et al. 1997. *Clin Exp Allergy* 27:1307-1313.
- 32 Mecheri, S. et al. 1985. *Allergy Appl. Immunol.* 78:283-289.
- 33 Roberts, A.M. et al. 1993. *Allergy* 48:615-623.
- 33a Guerin-Marchand, C. et al. 1996. *Mol. Immunol.* 33:797-806.
- 34 Klysner, S. et al. 1992. *Clin. Exp. Allergy* 22:491-497.
- 35 Perez, M. et al. 1990. *J. Biol. Chem.* 265:16210-16215.
- 36 Griffith, I. J. et al. 1991. *FEBS Letters* 279:210-215.
- 37 Ansari, A. A. et al. 1989. *J. Biol. Chem.* 264:11181-11185. 37a Sidoli, A. et al. 1993. *J. Biol. Chem.* 268:21819-21825. 40
- 38 Ansari, A. A. et al. 1989. *Biochemistry* 28:8665-8670.
- 39 Singh, M. B. et al. 1991. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:1384-1388.
- 39a van Ree R. et al. 1995. *J Allergy Clin Immunol* 95:970-978.
- 40 Suphioglu, C. and Singh, M. B. 1995. *Clin. Exp. Allergy* 25:853-865.
- 41 Dolecek, C. et al. 1993. *FEBS Lett.* 335:299-304.
- 41A Fischer S. et al. 1996. *J Allergy Clin Immunol* 98:189-198.
- 42 Matthiesen, F., and H. Lowenstein. 1991. *Clin. Exp. Allergy* 21:297-307.
- 43 Petersen, A. et al. 1995. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 108:55-59.
- 43A Marknell DeWitt A. et al. *Clin Exp Allergy* 32:1329-1340, 2002. 50

- 44 Valenta, R. et al. 1994. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199:106-118.
- 46 Esch, R. E. , and D. G. Klapper. 1989. *Mol. Immunol.* 26:557- 561.
- 47 Olsen, E. et al. 1991. *J. Immunol.* 147:205-211.
- 48 Avj ioglu, A. et al. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:340. 52 Kos T. et al. 1993. *Biochem Biophys Res Commun* 196:1086-92.
- 53 Diaz-Perales A. et al. 2000. *Clin Exp Allergy* '30:1403-1410.
- 54 Ipsen, H. , and O. C. Hansen. 1991. *Mol. Immunol.* 28:1279- 1288.
- 55 Taniai, M. et al. 1988. *FEBS Lett.* 239:329-332.
- 56 Griffith, I. J. et al. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:339.
- 57 Sakaguchi, M. et al. *Allergy* 45:309-312 , 1990. 10
- 57A Yokoyama M. et al. *Biochem Biophys Res Commun* 275:195-202 ,2000.
- 57B Midoro-Horiuti T. et al. *J Immunol* 164:2188-2192 , 2000.
- 57C Tinghino R. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 101:772-777 ,1998.
- 58 Gross GN et al. *Scand J Immunol* 8:437-441 , 1978. 58A Obispo TM et al. *Clin Exp Allergy* 23:311-316, 1993. 58B Midoro-Horiuti T. et al. *Clin Exp Allergy* 31:771-778 , 2001.
- 59 Lombardero M. et al. *Clin. Exp. Allergy* 24:765-770 , 1994.
- 60 Villalba, M. et al. *Eur. J. Biochem.* 216:863-869, 1993. 60A Asturias JA et al . *J Allergy Clin Immunol* 100:365-372 , 1997.
- 60B Batanero E. et al. *Eur J Biochem* 241:772-778 , 1996. 20
- 60C Batanero E. et al. *FEBS Lett.* 410:293-296, 1997.
- 60D Tejera ML et al. *J Allergy Clin Immunol* 104:797-802 , 1999.
- 60E Ledesma A. et al. *FEBS Lett* 466:192-196, 2000.
- 60F Barral P. et al. *J Immunol* 172:3644-3651 , 2004.
- 61 Yi FC et al. *Clin Exp Allergy* 32:1203-1210 , 2002.
- 61A Ramos JD et al. *Int Arch Allergy Immunol* 126:286-293 , 2001.
- 62 Chua, K. Y. et al. *J. Exp. Med.* 167:175-182 , 1988.
- 62A Chua, K. Y. et al. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 91:118-123 , 1990.
- 62B Smith AM et al. *Int Arch Allergy Immunol* 124:61-63 , 2001. 62C Smith AM et al . *J Allergy Clin Immunol* 107:977-984 , 2001. 30
- 63 Smith WA, Thomas WR. *Int Arch Allergy Immunol* 109:133-140 , 1996.
- 64 Lake, F. R. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87:1035-1042 , 1991.
- 65 Tovey, E. R. et al. *J. Exp. Med.* 170:1457-1462 , 1989.
- 66 Yasueda, H. , T. Shida, T. Ando, S. Sugiyama, and H. Yamakawa. 1991. Allergenic and proteolytic properties of fourth allergens from *Dermatophagoides* mites. In: "Dust Mite Allergens and Asthma. Report of the 2nd international workshop" A. Todt, Ed. , UCB Institute of Allergy, Brussels , Belgium, pp. 63-64.
- 67 Shen, H. -D. et al. *Clin. Exp. Allergy* 23:934-940, 1993. 67A O' Neil GM et al . *Biochim Biophys Acta*, 1219:521-528 , 1994. 67B King C. et al. *J Allergy Clin Immunol* 98:739-747 , 1996. 40
- 68 Lind P. et al. *J. Immunol.* 140:4256-4262 , 1988.
- 69 Dilworth, R. J. et al. *Clin. Exp. Allergy* 21:25-32 , 1991.
- 70 Nishiyama, C. et al. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 101:159- 166, 1993.
- 70A Trudinger, M. et al. *Clin. Exp. Allergy* 21:33-38 , 1991.
- 71 Shen HD et al. *Clin Exp Allergy* 25:1000-1006, 1995.
- 71A Tategaki A. et al. *ACI International suppl.* 1:74-76, 2000.
- 72 Aki T. et al. *J Allergy Clin Immunol* 96:74-83, 1995. 72A Tsai L. et al. *Clin Exp Allergy* 29:1606-1613 , 1999. 72B Gafvelin G. et al. *J Allergy Clin Immunol* 107:511-518 , 2001.
- 73 van Hage-Hamsten. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:353, 1993. 50

- 74 Varela J. et al. *Eur J Biochem* 225:93-98 , 1994. 74A Schmidt M. et al. *FEBS Lett* 370:11-14 , 1995.
- 75 Eriksson TLJ et al. *Eur. J. Biochem.* 268:287-294 , 2001. 75A Saarne T. et al. *Int Arch Allergy Immunol* 130:258-265 , 2003.
- 75B Eriksson TL et al. *Eur. J. Biochem.* 251 ( 1-2 ) , 443-447 , 1998.
- 76 Rautiainen J, Rytönen M, Pelkonen J, Pentikainen J, Perola O, Virtanen T, Zeiler T, Mantyjärvi R. BDA20 , a major bovine dander allergen characterised at the sequence level is Bos d 2. Submitted.
- 77 Gjesing B, Lowenstein H. *Ann Allergy* 53:602 , 1984.
- 78 de Groot, H. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87:1056-1065, 1991. 10
- 79 Konieczny, A. Personal communication/ Immunologic Pharmaceutical Corp.
- 79A Bulone, V. *Eur J Biochem* 253:202-211, 1998.
- 79B Swiss-Prot ace. P81216, P81217.
- 79C Dandeu J. P. et al. ( 1993 ). *J. Chromatogr.* 621:23-31.
- 79D Goubran Botros H. et al. 1998. *J. Chromatogr. B* 710:57-65.
- 79E Hilger C. et al. *Allergy* 52:179-187 ; and Hilger C. et al. *Gene* 169:295-296, 1996.
- 79F Ichikawa K. et al. *Clin Exp Allergy*, In Press 2001.
- 80 Fahlbusch B. et al. *Allergy* 57:417-422 , 2002.
- 81 McDonald, B. et al. 1988. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83:251. 81A Clarke, A. J. et al. 1984. *EMBO J* 3:1045-1052. 20
- 82 Longbottom, J. L. 1983. *Characterisation of allergens from the urines of experimental animals.* McMillan Press , London, pp. 525-529.
- 83 Laperche, Y. et al. 1983. *Cell* 32:453-460.
- 83A Bush RK et al. 1999. *J Allergy Clin Immunol* 104:665-671.
- 83B Aukrust L, Borch SM. 1979. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 60:68-79.
- 83C Sward-Nordmo M. et al. 1988. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 85:288-294.
- 84 Shen, et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103:S157 , 1999.
- 84A Cramer R. *Epidemiology and molecular basis of the involvement of Aspergillus fumigatus in allergic diseases.* *Contrib. Microbiol. Vol. 2* , Karger, Basel (in press ). 84B Shen, et al. (manuscript submitted) , 1999 30
- 84C Shen HD et al. *Vacuolar serine proteinase:A major allergen of Aspergillus fumigatus.* 10th International Congress of Immunology, Abstract, 1998.
- 85 Kumar A. et al. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:1024- 1030.
- 85A Saxena S. et al. 2003. *Clin Exp Immunol* 134:86-91. 85B Baur X. et al. *Allergy* 57:943-945 , 2002. 86A Shen HD et al. 1996. *Clin Exp Allergy* 26:444-451. 86B Shen, et al. Abstract ; *The XVIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology*, Brussels , Belgium, 3-7 July 1999.
- 87 Shen HD et al. *Clin Exp Allergy* 29:642-651 , 1999. 87A Shen HD et al. *Clin Exp Allergy* 25:350-356, 1995. 87B Shen HD et al. *J Lab Clin Med* 137:115-124 , 2001 40
- 88 Woodfolk JA et al. 1998. *J Biol Chem* 273:29489-96. 88A Deuell, B. et al. 1991. *J. Immunol.* 147:96-101.
- 89 Shen, H. D. et al. 1991. *Clin. Exp. Allergy* 21:675-681. 89A Horner WE et al. 1995. *Int Arch Allergy Immunol* 107:298- 300.
- 89B Chang CY et al. *J Biomed Sci* 9:645-655, 2002.
- 90 Yasueda H. et al. *Biochem Biophys Res Commun* 248:240-244 , 1998. NB:strain TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).
- 90A Onishi Y. et al. *Eur J Biochem* 261:148-154 , 1999. NB:strain TIMM2782 (Teiky 50

- o University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).
- 91 Schmidt M. et al. *Eur J Biochem* 246:181-185 , 1997. NB:strain ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection). 91A Rasool O. et al. *Eur J Biochem* 267:4355-4361 , 2000. NB:strain ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection). 91B NB:; strain 4625 (Indian Agricultural Research Institute, PUSA; New Delhi , India ).
- 92 Kuchler, K. et al. 1989. *Eur. J. Biochem.* 184:249-254.
- 93 Gmachl, M. , and G. Kreil. 1993. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:3569-3573.
- 93A Hoffman DR. 1977. *J Allergy Clin. Immunol.* 59:364-366. 10
- 94 Habermann, E. 1972. *Science* 177:314-322.
- 95 Hoffman DR, Jacobson RS. 1996. *J. Allergy Clin. Immunol.* 97:812-821.
- 95A Hoffman DR, El-Choufani AE, Smith MM, de Groot H. 2001. Occupational allergy to bumblebee venom: Allergens of *Bombus terrestris*. *J Allergy Clin Immunol* In press.
- 95B Helm R. et al. 1996. *J Allerg Clin Immunol* 98:172-180. 95C Pomes A. et al. 1998. *J Biol Chem* 273:30801-30807.
- 96 Arruda LK et al. *J Biol Chem* 270:19563-19568 , 1995.
- 97 Arruda LK et al. *J Biol Chem* 270:31196-31201 , 1995.
- 98 Arruda LK et al. *Int Arch Allergy Immunol* 107:295-297 , 1995. 98A Wu CH et al 20  
. 1998. *J Allergy Clin Immunol* 101:832-840. 98B Melen E. et al. 1999. *J Allergy Clin Immunol* 103:859-64. 98C Wu CH et al. *J Biol Chem* 271:17937-17943, 1996. 98D Wu CH et al. *Molecular Immunol* 34:1-8 , 1997. 98E Santos ABR et al. 1999. *J Allergy Clin Immunol* 104:329-337. 98F Asturias JA et al. 1999. *J Immunol* 162:4342-4348.
- 99 Mazur, G. et al. 1990. *Monog. Allergy* 28:121-137. 99A Moneo I. et al. *Allergy* 58:34-37 , 2003.
- 100 Soldatova, L. et al. 1993. *FEBS Letters* 320:145-149.
- 101 Lu, G. et al. 1994. *J. Allergy Clin. Immunol.* 93:224.
- 102 Fang, K. S. F. et al. 1988. *Proc. Natl. Acad. Sci. , USA* 85:895-899. 30
- 103 King, T. P. et al. 1990. *Prot. Seq. Data Anal.* 3:263-266.
- 104 Lu, G. et al. 1993. *J. Immunol.* 150:2823-2830.
- 105 King, T. P. and Lu, G. 1997. Unpublished data.
- 105A King TP et al. 1996. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98:588- 600.
- 106 Hoffman, D. R. 1993. *J. Allergy Clin. Immunol.* 92:707-716.
- 107 Hoffman DR. 1992. Unpublished data.
- 108 Hoffman DR. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:187 , 1993.
- 109 Jacobson RS et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 89:292 , 1992.
- 110 Hoffman DR. *J. Allergy Clin. Immunol* 91:71-78 , 1993.
- 111 Schmidt M. et al. *FEBS Letters* 319:138-140 , 1993. HIA Paddock CD et al. *J I* 40  
*mmunol* 167:2694-2699, 2001.
- 112 Elsayed S, Bennich H. *Scand J Immunol* 3:683-686, 1974.
- 113 Elsayed S. et al. *Immunochemistry* 9:647-661, 1972.
- 114 Hoffman, D. R. 1983. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71:481- 486.
- 115 Langeland, T. 1983. *Allergy* 38:493-500.
- 116 Daul CB, Slattery M, Morgan JE, Lehrer SB. 1993. Common Crustacea allergens: identification of B cell epitopes with the shrimp specific monoclonal antibodies . In: "Molecular Biology and Immunology of Allergens" (D. Kraft and A. Sehon, eds . ). CRC Press, Boca Raton. pp. 291-293.
- 116A Shanti KN et al. *J. Immunol.* 151:5354-5363, 1993. 50

- 117 Yu CJ et al. J Immunol 170:445-453, 2003.
- 117A Miyazawa M et al. J. Allergy Clin. Immunol. 98:948-953, 1996.
- 117B Asturias JA et al. Int Arch Allergy Immunol 128:90-96, 2002.
- 117C Lopata AL et al. J. Allergy Clin. Immunol. 100:642-648, 1997.
- 117D Hoffmann-Sommergruber K. et al. Clin. Exp. Allergy 29:840-847, 1999.
- 118 Monsalve RI et al. Biochem. J. 293:625-632 1993.
- 118A. Monsalve RI et al. 1997. Clin Exp Allergy 27:833-841.
- 119 Mena, M. et al. Plant Molec. Biol. 20:451-458 , 1992. 119A Palosuo K. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 108:634-638 , 2001.
- 119B Xu H. et al. Gene 164:255-259, 1995. 10
- 119C Pastorello EA et al. J. Allergy Clin. Immunol. 94:699-707 , 1994.
- 119D Diaz-Perales A. et al. J Allergy Clin Immunol 110:790-796, 2002.
- 119E Galleguillos F, Rodriguez JC. Clin Allergy 8:21-24 , 1978.
- 119F Baur X. Clin Allergy 9:451-457 , 1979.
- 119G Gailhofer G. et al. Clin Allergy 18:445-450 , 1988.
- 120 Menendez-Arias, L. et al. 1988. Eur. J. Biochem. 177:159- 166.
- 120A Gonzalez R. et al. Lancet 346:48-49 , 1995.
- 120B Kleine-Tebbe J. et al. J Allergy Clin Immunol 110:797-804 , 2002.
- 120C Sanchez-Monge R. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 106 :955-961, 2000.
- 121 Gavrovic-Jankulovic M. et al. J Allergy Clin Immunol 110:805-810 , 2002. 20
- 121A Pastorello EA et al. J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. 756:85-93, 2001.
- 121B Moneo I. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 106:177-182 , 2000.
- 121C Asturias JA et al. 2000. Allergy 55:898-890.
- 122 Christie, J. F. et al. 1990. Immunology 69:596-602. 122A Baur X. et al. Clin Allergy 12:9-17 , 1982.
- 122B Onisuka R. et al. Int Arch Allergy Immunol 125:135-143 , 2001.
- 123 Czuppon AB et al. J Allergy Clin Immunol 92:690-697 , 1993.
- 124 Attanayaka DPSTG et al. 1991. Plant Mol Biol 16:1079-1081.
- 125 Chye ML, Cheung KY. 1995. Plant Mol Biol 26:397-402.
- 126 Alenius H. et al. 1993. Int Arch Allergy Immunol 102:61- 66. 30
- 127 Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, Hamilton RG, Cardosa MJ. 1996. The 14.6 kD (REF, Hev b 1 ) and 24 kD (Hev b 3) rubber particle proteins are recognised by IgE from Spina Bifida patients with Latex allergy. J Allerg Clin Immunol in press.
- 128 Sunderasan E. et al. 1995. J nat Rubb Res 10:82-99.

【 0 0 5 6 】

これらのアレルゲンをエンコードする塩基配列の知識は、それらの組換え体の生産を可能にする。したがって、特に、これらのアレルゲンは、免疫療法および本発明に係る方法において、好適に用いることができる。

【 0 0 5 7 】

本発明の他の観点は、個体のアレルゲン感受性、および/または、アレルゲン免疫療法の臨床上の有効性を評価するための方法であって、I g E - アレルゲン複合体に反応してメディエーターを放出し得る細胞を供給する工程；該細胞と、すくなくとも一つの純粋なアレルゲンまたはその誘導体が接種された該個体の血清および/または血漿とを接触させる工程；ならびに該サンプルから放出されたメディエーターの量を測定して、該量を比較することにより、治療に先立った該個人のアレルゲン感受性、および/または、免疫治療の臨床上の有効性を評価する工程を包含する方法に関する。

【 0 0 5 8 】

メディエーターを放出可能な細胞は、通常、該細胞に結合したI g E分子を備える。そのような細胞は、本発明に係る方法に供される個体、または他の個体から得られたサンプル

ルから単離され得る。もちろん、本発明に係る方法において、I g E に結合可能な細胞株を用いることも可能である。

【0059】

本発明に係る方法は、個体の血漿および血清におけるアレルゲン特異的 I g E および I g G 分子の間の比率を測定することを可能にするので、特に、該個体のアレルゲン感受性を測定するために適している。遊離 I g E ではなく、I g E - アレルゲン複合体のみが、白血球のようなメディエーター放出細胞からのメディエーター放出を誘導し得るため、放出されたメディエーターのレベルは、上記サンプル中に存在する I g E 複合体の量と相関する。言い換えれば、上記サンプル中の I g E 複合体の量は、アレルゲン特異的 I g E、アレルゲン、および、遊離したアレルゲンに対して、I g E と拮抗して、結果的に I g E - アレルゲン複合体の形成を抑制する、I g E 以外のアレルゲン特異的抗体、例えば I g G、I g A または I g M のそれぞれの量と相関する。これは、低レベルのアレルゲン特異的 I g E、または高レベルのアレルゲン特異的 I g G はともに、少ない数の I g E 複合体の形成を導いて、メディエーター放出を低減させることを意味する。

10

【0060】

上記血清および/または血漿におけるアレルゲンの濃度は、好ましくは 1 ng / ml から 100 μg / ml の範囲内であり、より好ましくは 1 pg / ml から 10 μg / ml の範囲内である。

【0061】

本発明の他の観点は、個体のアレルゲン感受性、または、すくなくとも一つのアレルギーのためのアレルゲン免疫療法の臨床上の有効性を評価するためのキットであって、アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞のメディエーターの放出を誘導するためのすくなくとも一つのアレルゲン、上記メディエーターを検出する手段、および任意の要素として、すくなくとも一つのメディエーターの標準を備えているキットに関する。

20

【0062】

本明細書において提供される上記キットは、すくなくとも一つのアレルゲンを備えており、該アレルゲンは、サンプル中に含まれるメディエーター放出細胞からのメディエーター放出を誘導するために用い得る。放出されたメディエーターは、その後、直接検出されるか、好ましくは、上記サンプルの固形分が除かれた後に、反応混合液の上清において検出される。上記アレルゲンに結合している I g E の検出のための手段が、任意に、本発明に係るキットに含まれる。I g E は、独特のアレルゲンに結合し得、メディエーター放出細胞およびアレルゲンに結合した際に、該細胞からのメディエーター放出を仲介し得る。しかしながら、アレルゲン特異的な I g E は、通常は血液中には検出されず、個人が、アレルゲンに感作したときのみ生産される。上記サンプルにおけるメディエーターの量を正確に測定するため（検量線の提供のため）、メディエーターの標品が、上記キットに任意に含まれ得る。

30

【0063】

上記細胞は、好ましくはマストおよび/または好塩基球および/または好酸球細胞である。

【0064】

本発明の他の好適な実施形態によれば、上記アレルゲンは、主要なカバノキ花粉アレルゲン、特に、Bet v 1 および Bet v 4、主要なオオアワガエリ花粉アレルゲン、特に Phl p 1、Phl p 2、Phl p 5、Phl p 6 および Phl p 7、主要なイエネズミアレルゲン、特に Der p 1 および Der p 2、主要なネコアレルゲン Fel d 1、主要なミツバチアレルゲン、主要なスズメバチアレルゲン、プロフィリン、特に Phl p 12、および倉庫ダニアレルゲン、特に Lep d 2、および表 1 に記載のアレルゲンからなる群より選ばれる。

40

【0065】

上記メディエーターを検出する手段は、好ましくは抗体である。

【0066】

50

上述したようなメディエーターは、好ましくは、免疫学的方法により検出される。したがって、上記キットは、特異的なメディエーターに結合し得る、少なくとも一つの抗体を提供し得る。好ましくは、酵素結合イムノソルベント検定法 ( E L I Z A )、ラジオイムノアッセイ ( R I A )、または側方流動装置が用いられる。

【 0 0 6 7 】

本発明の他の観点は、個体のアレルゲン感受性、または、すくなくとも一つのアレルギーのためのアレルゲン免疫療法の臨床的効果を評価するためのキットであって、すくなくとも、以下の部材：アレルゲンに反応してメディエーターを放出し得る細胞のメディエーターの放出を誘導するためのすくなくとも一つのアレルゲン、メディエーターを検出するための手段、すくなくとも一つのメディエーターの標品、および I g E - アレルゲン複合体に反応してメディエーターを放出し得る細胞のうちの一つ以上を備えていることを特徴とするキットに関する。

10

【 0 0 6 8 】

本発明は、図面および実施例によってさらに詳述されるが、これらに限定されるものではない。

【 0 0 6 9 】

〔実施例〕

(実施例 1)

アレルゲンによる、エフェクター細胞 ( マスト細胞および好塩基球 ) と結合 I g E 抗体とのクロスリンクは、I 型アレルギーにおける即時症状の誘導に不可欠な事象である ( Kawakami T, et al., Nat Rev Immunol (2002) 2:773-86 )。PrausnitzおよびKustner (Prausnitz C, et al., Centralbe F Bact 1 Abt Orig (1921) 86:160-8) による古典的な実験で示されているように、この事象は、3つの主要な要因、すなわち、アレルゲン特異的 I g E 抗体、エフェクター細胞、およびアレルゲンに左右されるものである。I g E 抗体の特徴づけおよび診断テストの開発により、アレルゲン特異的 I g E 抗体の正確な量を測定することができるので、アレルゲン特異的な血清 I g E レベルと、アレルギー患者のアレルゲンに対する生物学的感受性との関連性を調べる研究がいくつかなされてきている (Stenius B, et al., Clin Allergy (1971) 1:37-55; Bryant DH, et al., Clin Allergy (1975) 5:145-57; Pauli G, et al., Clin Allergy (1977) 7:337-46; Bousquet J, et al., Clin Allergy (1987) 17:529-36; Witteman AM, et al., J Allergy Clin Immunol (1996) 97:16-25; Niederberger V, et al. J Invest Dermatol (2001) 117:845-51; Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24; Lichtenstein LM, et al. J Allergy Clin Immunol (1971) 47:103 (A37))。即時型の反応が生じるには、アレルゲン特異的血清 I g E の存在が必要条件であるということは広く認められていることである。しかし、アレルゲン特異的 I g E の量と、ある特定のアレルゲンに対する即時型の感受性との間に関連があるかということに関しては、大いに議論すべき事柄である。問題なのは、過去におこなわれたほとんど全ての研究は、アレルゲン抽出物を使用している、すなわち、アレルゲンと非アレルゲン性分子との混合物を使用しているということである (Stenius B, et al., Clin Allergy (1971) 1:37-55; Bousquet J, et al., Clin Allergy (1987) 17:529-36; Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24; Lichtenstein LM, et al. J Allergy Clin Immunol (1971) 47:103 (A37))。このことが、これらの研究において、アレルゲン特異的 I g E レベルと生物学的活性との間の分子レベルでの関連性を解析できなかった理由である。皮膚の感受性とアレルゲン特異的 I g E レベルとの関係を再調査するための、精製した天然のアレルゲンおよび組み換えアレルゲンを用いた最近の研究は、これらのパラメータの間にあるかなりの相違点を報告している (Witteman AM, et al., J Allergy Clin Immunol (1996) 97:16-25; Niederberger V, et al. J Invest Dermatol (2001) 117:848-51)。この例の中では、アレルゲン特異的 I g E レベルと、エフェクター細胞の応答性と、*in vivo* の感受性との間の関連をさらに調査するために、精製した組み換え B e t v 1 が例証のツールとして用いられている。B e t v 1 は、主要なカバノキの花粉アレルゲンである。花粉が飛散するシーズンではな

20

30

40

50

いときに、明確な臨床の基準により選択された18人のカバノキ花粉アレルギー患者の集団において、構造上折りたたまった規定量の組み換えBet v 1に応じた、皮膚の感受性と好塩基球の脱顆粒とを定量化した。そして、生物学的な結果と、血清学上の結果とを比較した。なお、Bet v 1特異的IgE抗体レベルを測定するために、異なる二つの測定方法を用いた。一方は、いかなるBet v 1特異的IgEをも検出する測定方法であり、もう一方は、エフェクター細胞に結合することができるBet v 1特異的IgEを検出する測定方法である。

#### 【0070】

(材料および方法)

(調査の母集団)

患者に対する調査は、カバノキの花粉の季節が始まる前の、1月から4月までの間に行われた。カバノキ花粉症の病歴、および、カバノキ花粉の抽出物に対する皮膚のプリックテスト陽性を基準として、18人の患者、28歳から58歳の間(平均年齢:45.6歳)の、8人の女性と10人の男性が、調査に含められた。すべての患者は、少なくとも3年前に初めて診断を受けている中等度から重度の鼻結膜炎を患っている。5人の患者は、カバノキの花粉の季節において、穏やかな喘息を患い、12人の患者は、バラ科ファミリーの果物(リンゴ、モモ、アプリコット、およびアーモンド)、ナス科の野菜(イモ、トマト)、およびセリ科ファミリーの野菜(セロリ、ニンジン)に対する口腔アレルギー症候群を患っている。イエダニ、菌性のアレルゲンの混合物、イヌおよびネコの鱗屑、ゴキブリ、草、樹木(カバノキ、オリーブ、およびセイヨウトネリコ)、および雑草の花粉からなる一連の標準的な呼吸器のアレルゲン(Staller genes, France)を用いた皮膚のプリックテストが、感作のプロフィールを同定するために実施された。患者の特徴が、後述するテーブル1に示されている。

#### 【0071】

(調査の設計)

アレルゲン特異的IgEレベル、皮膚の感受性、および好塩基球の脱顆粒の間の起こり得る関連性を分析するために、同一の日に、患者の血が採血され、彼らの皮膚が試験された。上記分析は、季節的なアレルゲン接触が原因の効果を排除するために、カバノキの花粉の季節を厳格に外して行われた。患者らは、上記調査を開始する少なくとも1週間から、抗アレルギー、または抗炎症性の服用を禁じられていた。何れの患者も、過去5年に渡って、アレルゲン特異的な免疫療法を受けていなかった。インフォームドコンセントが得られた後、好塩基球のヒスタミン放出および血清のサンプリングのために血液が採取された。その直後、皮内皮膚試験が、終点滴定法(end-point titration, Grammer LC, et al., J Allergy Clin Immunol (1985) 76:123-7)を用いて実施された。

#### 【0072】

(アレルゲン特異的抗体の検出および定量)

アレルゲン特異的なIgG1ないしIgG4サブクラスのレベル、ならびにアレルゲン特異的IgMおよびIgAのレベルが、イソ型特異的モノクローナル抗体を用いたELISA法により、文献(Vrtala S, et al., J Allergy Clin Immunol (1996) 97:781-7)に記載されたように、測定された。結果は、2回の測定の平均として表され、結合した抗体の量に対応するOD値により示される。

#### 【0073】

(好塩基球のヒスタミン放出試験)

rBET v 1、およびポジティブコントロールとしてのIgE抗体を用いた、全血への誘発(Challenge)が、Tanisaki et al. (Tanisaki Y, et al., Int Arch Allergy Appl Immunol (1984) 73:141-5)に記載の方法に従った用量反応様式によって実施された。10mlの静脈血が、1mlのヘパリンを含んでいるプラスチックシリンジに吸引された。様々な濃度の、rBET v 1( $10^{-4}$ から10mg/ml)、またはIgE抗体( $10^{-4}$ から $10^{-3}$ ; e-specific, Dako, Glostru

10

20

30

40

50

p、Denmark)が250 $\mu$ l、トリス緩衝液(10mmol/l Tris、136mmol/l NaCl、2.7mmol/l KCl、0.23mmol/l MgCl<sub>2</sub>、1.8mmol/l CaCl<sub>2</sub>、5.5mmol/lグルコース;pH7.3)に1:4の割合で溶解された全血500mlを含んでいるテストチューブに添加された。混合された溶液は、37にて30分間インキュベートされた。反応が停止され、5分間の375 $\times$ gでの低温(4)遠心分離によって、細胞が分離された。細胞の含まれていない上清200 $\mu$ lが、アシル化されたヒスタミンモノクローナル抗体(Immuno tech、Marseille、France)を用いたラジオイムノアッセイにおいて、文献(Morel AM, et al., J Allergy Clin Immunol (1988) 82:646-54)に以前記載されたように、ヒスタミンの定量に用いられた。全ヒスタミンは、反復された解凍および凍結による細胞の溶解の後に測定された。すべての実験は、2回行われた。好塩基球の感受性の度合いを示すのに用いられるパラメータは、全ヒスタミンの30%の放出を誘導する最低限のアレルゲンの濃度とした。

10

## 【0074】

(皮内試験)

rBet v 1の10倍希釈液0.03mlを腕の側面部に注射することにより、閾値皮内皮膚試験が実施された。連続的な希釈は、1000mg/mlの溶液から準備され、最初に試験された希釈液は10mg/mlであった。上記テスト群は、注射の15分後に読み取られた。膨疹および紅斑の面積が記録された。誘導された膨疹の面積が、注射による膨疹の面積を超過した場合に、上記試験は陽性であるとみなされ、陽性の試験結果を誘導する最低限のアレルゲン濃度が、他のパラメータとの対比に用いられた(Grammer LC, et al., J Allergy Clin Immunol (1985) 76:123-7)。

20

## 【0075】

(データの統計学的解析)

異なるパラメータ間の相関は、VisualStats Professionalソフトウェア(バージョン2003)を用いた、スピアマン s 非パラメトリック検定により検定された。

## 【0076】

(結果)

## 【0077】

30

【表 2】

テーブル1, 調査母集団での、臨床データ、血清検査結果、好塩基球ヒスタミン放出、および皮膚試験

N	イニシャル	年齢	症状	ブリックテスト 陽性	食品アレルギー	+ID試験	30% HR	IgE クラス	特異的IgE (kU/L)(S)	全IgE (kU/L)(T)	(S/T)%	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1	F-T	58	R-C	m, b, o, g	a, c, p, al, n	10 <sup>-3</sup>	0.3 x 10 <sup>-2</sup>	3	12.1	30.6	39.5	0.24	0.15	0.181	0.131
2	S-F	33	R-C	b		0.3 x 10 <sup>-1</sup>	0.3 x 10 <sup>-2</sup>	4	24.1	142	16.9	0.798	0.111	0.092	0.408
3	W-F	53	R-C	b, o	a, p, n	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	3	5.22	11.5	45.4	0.537	0.079	0.788	0.082
4	F-JJ	51	R-C	b		10 <sup>-5</sup>	0.3 x 10 <sup>-5</sup>	5	59.9	128	46.8	1.066	0.106	0.072	0.198
5	G-S	49	R-C	m, b	a, p, ap	0.3 x 10	10 <sup>-1</sup>	3	17.1	33	51.8	0.187	0.074	0.065	0.075
6	S-S	50	R-C	b, o, w, c		1	0.3 x 10 <sup>-2</sup>	4	41.1	168	24.5	0.287	0.081	0.081	0.103
7	B-A	39	R-C, A	b, a		0.3 x 10	0.3 x 10 <sup>-1</sup>	4	20	43	46.5	0.296	0.088	0.081	0.071
8	O-C	37	R-C	b, o, a, w	a, c, p	10	10 <sup>-1</sup>	5	79.9	231	34.6	0.658	0.09	0.83	0.209
9	L-N	44	R-C, A	b, a	a, n	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-2</sup>	4	26.6	115	23.1	1.925	0.098	0.074	0.136
10	M-C	43	R-C, A	b, o		10 <sup>-5</sup>	0.3 x 10 <sup>-3</sup>	3	4.51	6.9	65.4	0.5	0.173	0.063	0.06
11	H-C	58	R-C	b, o, a	a	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	4	22.7	113	20	0.505	0.1	0.068	0.208
12	P-D	49	R-C, A	m, b, a, g	a, c, ap, p, m, ce, ca	10 <sup>-2</sup>	1	3	17.4	94.5	18.4	1.043	0.075	0.065	0.129
13	H-M	41	R-C	m, b, o	a, c, p, al, n	0.3 x 10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	5	51.5	82.2	62.6	0.183	0.059	0.065	0.082
14	W-S	53	R-C, A	m, b	a	0.3 x 10 <sup>-2</sup>	0.3 x 10 <sup>-1</sup>	4	45.5	72.3	62.9	0.238	0.161	0.075	0.889
15	B-E	28	R-C	b, g	n, al	1	10 <sup>-2</sup>	3	14	90.9	15.4	0.389	0.069	0.079	0.078
16	B-M	50	R-C	b, o, g	a, p	0.3 x 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	3	4.74	16.5	28.7	0.14	0.064	0.065	0.065
17	W-B	46	R-C	m, b, g, o, w, c	a, ca, k	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	4	21.4	91.3	23.4	0.344	0.066	0.075	0.111
18	S-B	40	R-C	b		1	1	2	1.65	NA	NA	0.113	0.061	0.065	0.074

症状: R, 鼻炎; C, 結膜炎; S, 喘息  
 ブリックテスト陽性: m, ダニ; b, カバノキ; o, オリブ; g, 草; w, 雑草; a, セイヨウトネリコ; c, ネコ  
 食品アレルギー: a, リンゴ; ap, アプリコット; c, チェリー; p, 毛毛; al, アーモンド; n, ナッツ; k, キウイ; ce, セロリ; ca, ニンジン  
 ID試験、皮内試験: HR, ヒスタミン放出(µg/mL); c.p.m, 毎分カウント数

【0078】

(rBet v

1 - 特異的免疫グロブリンEレベルと、rBet v

1 に対する皮

50

10

20

30

40

膚の感受性との間の乏しい関係性)

rBet v 1 - 特異的免疫グロブリンEレベルと、皮膚の感受性とを比較するために、rBet v 1 - 特異的IgEレベルがCAPにより測定され、皮内試験膨疹反応陽性を誘導するrBet v 1の濃度の閾値と相関させた。図1は、アレルゲン特異的IgEレベルと、皮膚の感受性との間になんの関連性もないことを示している ( $r = -0.007$ 、 $p = 0.977$ )。個々の患者においては、アレルゲン特異的IgEレベルと皮膚の感受性との間に強い不一致が観察された。例えば、患者8は、高いBet v 1特異的IgEレベル ( $79.9 \text{ kU/l}$ )を示したが、ID反応陽性を示したのは、 $10 \text{ mg/ml}$ のrBet v 1においてのみであった(テーブル1)。一方、患者10は、低いrBet v 1特異的IgEレベル ( $4.5 \text{ kU/l}$ )を有していたが、患者8に比べ、 $1000$ 倍もの大きな、Bet v 1に対する皮膚の感受性を有していた ( $1 \text{ ng/ml}$ においてID試験反応陽性)。互いに類似するrBet v 1 - 特異的IgEレベル ( $17.1 \sim 26.6 \text{ kU/l}$ )を有していた7人の患者(2、5、7、9、11、12および17)は、とても幅広い、rBet v 1に対する皮膚の感受性を示した(3から $10 \sim 5 \text{ mg/ml}$ ) (テーブル1)。

【0079】

(rBet v 1 - 特異的免疫グロブリンEレベルとrBet v 1関連の好塩基球の感受性との間の乏しい関係性)

図2 (IgE対30%ヒスタミン放出)は、rBet v 1 - 特異的IgEレベルとBet v 1誘導性の好塩基球の感受性との間の関連性もまた欠けていることを示す(図2:  $r = -0.113$ 、 $p = 0.656$ )。30%のヒスタミン放出を誘導するためのrBet v 1濃度は、 $10^{-3}$ から $1 \text{ mg/ml}$ の間で様々である。rBet v 1 - 特異的IgE (RASTクラス3:  $4.51 \sim 17.1 \text{ kU/l}$ )が所定のレベルの場合において、30%のヒスタミン放出を誘導するrBet v 1濃度は、 $1000$ 倍にも変化する ( $1 \sim 10^{-3} \text{ mg/ml}$ )。

【0080】

(rBet v 1 - 誘導性の好塩基球のヒスタミン放出と、皮膚の感受性との間の関係性)

図3は、皮内試験および好塩基球のヒスタミン放出試験のそれぞれの結果が、血清学のおよび生物学的な試験の結果よりもよく関連していることを示している。30%のヒスタミン放出を誘導するrBet v 1の濃度と、皮内膨疹反応との間において、明らかな傾向が存在した ( $r = 0.614$ ;  $p = 0.007$ )。rBet v 1 - 特異的IgEレベルと生物学的テストとの間の関連性が非常に悪かった患者(例えば、患者8および10)も、皮内試験結果と好塩基球のヒスタミン放出とが比較された場合、よりよい関連性を示す(テーブル1)。血清学的試験と生物学的試験との間の不一致を説明するために実施されたその他の試験の結果は、以下に示される。

【0081】

(rBet v 1 - 特異的免疫グロブリンGサブクラス、免疫グロブリンA、および免疫グロブリンMの測定)

上述したように、Bet v 1 - アレルギーの患者の血清は、IgEがBet v 1に結合することを妨げ得、またはIgE以外のBet v 1分子上のエピトープを認識し得、よって、IgEのBet v 1への結合に無影響であり得る(Visco V, et al., J Immunol (1996) 157:956-62; Denepoux S, et al., FEBS Lett (2000) 465:39-46)したがって、rBet v 1 - 特異的IgGレベルが測定された(IgG1 ~ IgG4; テーブル1)。上記患者は、様々なrBet v 1特異的IgG1 ~ IgG4サブクラス反応を示し、IgG1およびIgG4サブクラスにおいて最も目立つ反応を有していた。上記血清では、顕著なrBet v 1 - 特異的IgAおよびIgM抗体は検出されず、このことは、これらの抗体クラスが、IgEのBet v 1認識に影響を及ぼし得るという可能性を排除している。

【0082】

10

20

30

40

50

(全免疫グロブリンEに対するパーセンテージとしての、Bet v 1 - 特異的免疫グロブリンEの評価)

もし、Bet v 1 - 特異的IgEが、全IgEの低いパーセンテージのみを担っているとしたら、乏しいヒスタミン放出および皮膚の反応性は、好塩基球およびマスト細胞が他のアレルゲンに対するIgEによって基本的に占有されているという事実によって説明され得る。したがって、全IgEの値が測定され、Bet v 1 - 特異的IgEのパーセンテージが算定された。本実施例における患者は、比較的低い全IgE値を有しており(<168kU/L)、低いパーセンテージのBet v 1 - 特異的IgEと乏しい生物学的反応との間には何の関係性も見つからなかった。例えば、患者11は、高い感受性を有しておりながら、Bet v 1 - 特異的IgEは、全IgEのたった20%を担っているに過ぎなかった。一方、患者13は、感受性は低かったが、全IgEの62.6%が、Bet v 1に対するものであった(テーブル1)。

【0083】

(議論)

アレルゲン特異的IgE抗体レベル、エフェクター細胞の感受性、および臨床状の感受性が相関しているかという疑問は未だ議論的である。様々なアレルゲン性および非アレルゲン性成分の混合複合体を使った場合であっても、アレルゲン - 特異的血清IgE抗体とアレルゲン - 誘導性の即時型の反応が顕著に相関することをいくつかの研究が示しているが、上記混合複合体を用いることは、皮膚試験とRASTとの比較を困難にしている(Stenius B, et al., Clin Allergy (1971) 1:37-55; Bousquet J, et al., Clin Allergy (1987) 17:529-36; Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24; Lichtenstein LM, et al., J Allergy Clin Immunol (1971) 47:103 (A37))。近年、精製されたアレルゲン(Wittman AM, et al., J Allergy Clin Immunol (1996) 97:16-25) および組換えアレルゲン(Niederberger V, et al., J Invest Dermatol (2001) 117:848-51)を用いた他の研究が、抗体レベルと生物学的感受性との間の考慮すべき不一致を示している。

【0084】

特異的IgE、好塩基球の脱顆粒、および皮膚の感受性との間を分子レベルで探査するための構造上折りたたまった規定量の精製アレルゲン(すなわち、主要なカバノキ花粉アレルゲン、Bet v 1)を用いた臨床的な研究が実施された。上記3つの方法間のよい一致と、カバノキの感受性の臨床的な妥当性が見出された;しかしながら、アレルゲン - 特異的IgE、好塩基球の感受性、およびin vivoでの感受性(すなわち、終点滴定により測定された皮膚の感受性)の間には強い不一致が見つけられた。いくつかの患者においては、非常に低い特異的IgEレベルと、好塩基球の脱顆粒および皮膚試験における高い感受性とが観察され、その逆も観察された。文献の吟味は、皮膚試験、好塩基球のヒスタミン放出、および特異的IgEレベルを比較する研究が不足していることを明らかにする。数少ない得られる研究は、非常に幅広く変化した結果を示し、精製されていないアレルゲン抽出物を用いて実施されていた。例えば、Norman et al. (Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24)は、ブタクサ花粉症の診断において、上記3つの試験が互いによく一致することを見出した。Lichtenstein et al. (Lichtenstein LM, et al., J Allergy Clin Immunol (1971) 47:103 (A37))は、皮膚試験とヒスタミン放出との間に定量的に顕著な関係性を見出した。しかしながら、この例では、特異的IgEの測定は実施されていない。抗原に感作された白血球およびマスト細胞の反応は、非常にさまざまな因子に依存し得る。

【0085】

低い感受性および乏しいヒスタミン放出についての一つの可能性は、全血清IgE中に占めるアレルゲン - 特異的IgEの小さい割合である。したがって、全IgEレベルが測定され、アレルゲン - 特異的IgEのパーセンテージが算定された。しかしながら、アレルゲン - 特異的IgE反応の低いパーセンテージと、乏しい生物学的活性との間には関係性は、見出されなかった。全IgE中の特異的IgEの低いパーセンテージが、所定のアレ

ルゲンに対する生物学的な反応に關与し得るという可能性は、多重に感作された対象において、より重大である (Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24; Conroy MC, et al., J Immunol (1977) 118:1317-21; MacGlashan DW Jr, et al., J Immunol (1986) 136:2231-9)。

【 0 0 8 6 】

アレルゲン - 特異的 I g E レベルと生物学的反応の間の不一致に關与するいくつかの他の因子があるが、それらは、精製されたアレルゲンを用いた系においても対処し得ない。それらは、血清 I g E レベルによって制御されるパラメータである、I g E 受容体細胞表面の密度の多様性に起因する、好塩基球およびマスト細胞の個体間における感受性の差異を含んでいる (Conroy MC, et al., J Immunol (1977) 118:1317-21; Malveaux FJ, et al., J Clin Invest (1978) 62:176-81; Dembo M, et al., J Immunol (1978) 121:345-53; MacGlashan DW Jr, et al., J Allergy Clin Immunol (1999) 104:492-8)。似たような全 I g E の血清濃度、および抗原特異的 I g E の血清濃度の場合に、様々な細胞の感受性が、用量反応曲線 (50%または30%の感受性によって測定) の変数の変化によって示されている (Conroy MC, et al., J Immunol (1977) 118:1317-21; MacGlashan DW Jr., J Allergy Clin Immunol (1993) 91:605-15)。

10

【 0 0 8 7 】

その上、好塩基球に匹敵する数の I g E 分子を有している個人は、0 - 100%の彼らのヒスタミン容量を放出し得ることが示されている (Conroy MC, et al., J Immunol (1977) 118:1317-21)。同じことが皮膚のマスト細胞についても観察されている (Petersen LJ, et al., J Allergy Clin Immunol (1996) 97:672-9; Bordignon V, et al., Invest Allergol Clin Immunol (2000) 10:78-82)。加えて、初期シグナルイベントは、特異的 I g E のレベル、または好塩基球の感受性にリンクしない、シクキナーゼ (Syk kinase) および I P 3 生成物が關与していることが示されている (MacGlashan DW Jr., J Allergy Clin Immunol (1993) 91:605-15; Miura K, et al., J Immunol (2001) 167:7027; MacGlashan DW Jr., J Immunol (2003) 170:4914-25)。

20

【 0 0 8 8 】

近年の証拠は、マスト細胞がまた、トル (Toll) 様受容体を介して影響され得ることを指し示している (Marshall JS, et al., Int Arch Allergy Immunol (2003) 132:87-97)。しかしながら、上記実験に用いた r B e t v 1 調製物は、エンドトキシンを含有していない。

30

【 0 0 8 9 】

最後に、アナフィラキシー性の活性を誘導するエピトープに対する様々な親和性および結合特異性を有する I g E 抗体の存在が、血清学および生物学的試験結果に影響を及ぼし得た可能性がある。

【 0 0 9 0 】

結論として、本調査は、アレルゲン特異的血清 I g E レベルが、細胞および *in vivo* の試験で測定されるような生物学的な感受性に必ずしも關連していないことを、分子レベルで示す。しかしながら、穏やかな關連性が、皮膚試験と、好塩基球のヒスタミン放出試験との間に見出された。

40

【 0 0 9 1 】

( 実施例 2 )

正しい投与量を選択し得るように、治療の前に患者の感受性を測定するために、全血の好塩基球のヒスタミン放出試験が用いられる。高い感受性を有する患者は、より低い感受性を有する患者に比べて、少ない投与量を注射される。処置の前に、精製されたアレルゲンを用いて用量反応曲線が構築される。並行して、アレルゲンに対する感受性に影響し得る細胞の全般的な感受性を測定するために、細胞が I g E 抗体によって刺激される。通常のケースでは処置の 4 ~ 8 週間後の、上記アレルゲンに対する I g G 抗体が検出可能となった後に、処置の成功が調整される。I g G 抗体のプロッキングは、感受性の低減の原因となり得るため、並行して所定のアレルゲンに対する I g G のレベルを測定することは有

50

用であり得る。再び、用量反応が精製されたアレルゲンおよび I g E 抗体を用いて測定される。細胞を最大限に活性化する（すなわち、最大限のヒスタミン放出、または C D 2 0 3 c の発現亢進）投与量、または、所定の度合いの活性化を与える投与量が測定され、処置の前に得られたテスト結果と比較される。材料および方法は、実施例 1 の記載に従う。

【 0 0 9 2 】

（実施例 3）

洗浄された顆粒球調整物を用いた好塩基球のヒスタミン放出実験が、文献（Stahl-Skov et al., 1977. J Exp Immunol 27:432-439）に記載のように実施された。ヒスタミン放出データと、皮膚の感受性との間には何の相関も見られなかった。

【 0 0 9 3 】

ヒスタミン放出は、アレルギー性の患者から得た好塩基球を用いて行われた。それらは、デキストラン沈降により濃縮され、単離され、洗浄され、ヒスタミン放出バッファーへ再懸濁され、様々な濃度の組換え B e t v 1 ( $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-1}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ )、または I g E 抗体 m A b E - 1 2 4 - 2 - 8 ( $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) に、96 ウェルのマイクロタイターのプレート（TPP、Trasadingen、Switzerland）において 37 で 30 分間さらされた。インキュベーション後、細胞は遠心分離された。細胞の含まれない上清が回収され、市販のラジオイムノアッセイ（Immunotech、Marseille、France）を用いて、ヒスタミン容量が分析された。ヒスタミン放出は、細胞溶解物において測定された全ヒスタミンに対するパーセンテージによって表された（Valent et al., 1989, Proc Natl Acad Sci USA 86:5542-5546）。

【 0 0 9 4 】

皮膚プリックテストが、組換え B e t v 1 の連続希釈（1 : 2）を用いて、文献（Pauli et al., 1996, J Allergy Clin Immunol 97:1100-1109）に記載のように、実施された。

【 0 0 9 5 】

組換え B e t v 1 にさらされた好塩基球からのヒスタミン放出の最大値（H R % - m a x）は、皮膚プリックテスト反応（ $\text{mm}^2$ ）とは相関しなかった。（S P T  $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）（ $r = 0.224$ 、 $p = 0.342$ ）（図 5）。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 9 6 】

【図 1】図 1 は、皮内終点滴定（x 軸：最初の陽性反応が得られるアレルゲン濃度）の結果と、r B e t v 1 - 特異的血清 I g E（y 軸：k U / L C A P システム）との関係を示す。

【図 2】図 2 は、好塩基球のヒスタミン放出（x 軸：30%のヒスタミン放出が得られるアレルゲン濃度）の結果と、r B e t v 1 - 特異的血清 I g E（y 軸：k U / L C A P システム）との関係を示す。

【図 3】図 3 は、皮内終点滴定（x 軸：最初の陽性反応を与えるアレルゲン濃度）の結果と、好塩基球のヒスタミン放出（y 軸：30%のヒスタミン放出が得られるアレルゲン濃度）の結果との関係を示す。

【図 4】図 4 は、C A P により測定された r B e t v 1 - 特異的 I g E（x 軸：k U / L）と、標識された鎖により測定された r B e t v 1 - 特異的 I g E（y 軸：毎分カウント（c . p . m .）；1 : 5 血清希釈液）との関係を示す。

【図 5】図 5 は、好塩基球のヒスタミン放出（x 軸：最大限のヒスタミン放出（%））の結果と、皮膚プリックテスト（y 軸： $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の組換え B e t v 1 を用いた皮膚プリックテストにより誘導された膨疹反応（ $\text{mm}^2$ ））の結果との関係を示す。

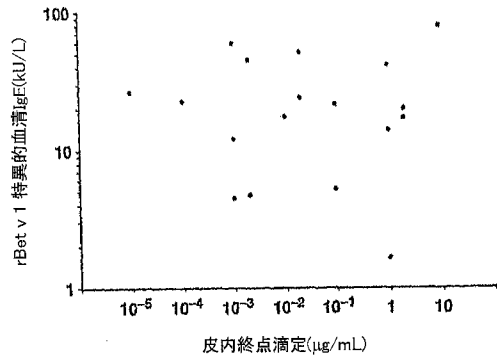
10

20

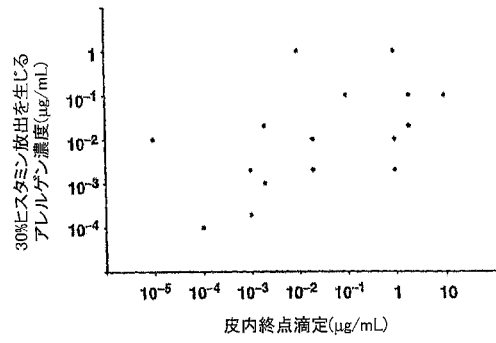
30

40

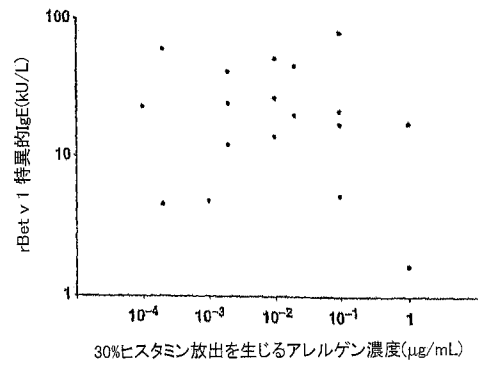
【 図 1 】



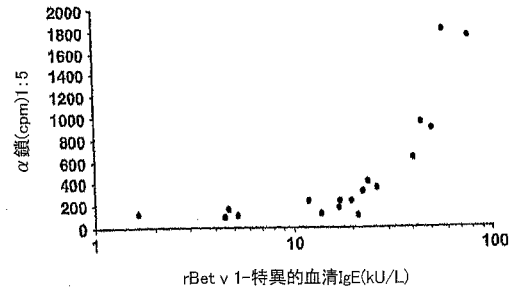
【 図 3 】



【 図 2 】



【 図 4 】



【 図 5 】

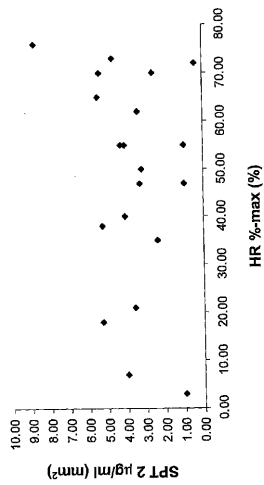


Figure 5

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/AT2006/000050

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NIEDERBERGER V ET AL: "Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease." 5 October 2004 (2004-10-05), PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA. 5 OCT 2004, VOL. 101 SUPPL 2, PAGE(S) 14677 - 14682 , XP002373813 ISSN: 0027-8424	1-14, 17-24
Y	page 14677, column 2, paragraph 2 page 14678, column 2, paragraph 3 figure 3 ----- -/--	15,16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
27 March 2006		09.08.2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Schalich, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/AT2006/000050

C(Continuation). - DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VAN HAGE-HAMSTEN M ET AL: "Nasal challenges with recombinant derivatives of the major birch pollen allergen Bet v 1 induce fewer symptoms and lower mediator release than rBet v 1 wild-type in patients with allergic rhinitis" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, vol. 32, no. 10, October 2002 (2002-10), pages 1448-1453, XP002373758 ISSN: 0954-7894	1-14, 17-24
Y	page 1449 - page 1450 figures 2,3	15,16
X	----- KLIMEK L ET AL: "Short-term preseasonal birch pollen allergoid immunotherapy influences symptoms, specific nasal provocation and cytokine levels in nasal secretions, but not peripheral T-cell responses, in patients with allergic rhinitis" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, vol. 29, no. 10, October 1999 (1999-10), pages 1326-1335, XP002373759 ISSN: 0954-7894	1-14, 17-24
Y	page 1329, column 2, paragraphs 2,4 page 1332, column 1, paragraph 2	15,16
X	----- NOPP ANNA ET AL: "Comparison of inflammatory responses to genetically engineered hypoallergenic derivatives of the major birch pollen allergen Bet v 1 and to recombinant Bet v 1 wild type in skin chamber fluids collected from birch pollen-allergic patients" JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, vol. 106, no. 1 Part 1, July 2000 (2000-07), pages 101-109, XP002373760 ISSN: 0091-6749	1-14, 17-24
Y	page 102, column 2, paragraph 4 page 104, column 1, paragraph 3 - column 2 figures 1-5	15,16
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/AT2006/000050

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DE WECK A L ET AL: "Cellular allergen stimulation test (CAST) 2003, a review." JOURNAL OF INVESTIGATIONAL ALLERGOLOGY &amp; CLINICAL IMMUNOLOGY : OFFICIAL ORGAN OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION OF ASTHMOLOGY (INTERASMA) AND SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA. 2004, vol. 14, no. 4, 2004, pages 253-273, XP009063712 ISSN: 1018-9068 the whole document</p>	1-24
A	<p>VALENT P ET AL: "Assays for measuring in vitro basophil activation induced by recombinant allergens" METHODS : A COMPANION TO METHODS IN ENZYMOLOGY, ACADEMIC PRESS INC., NEW YORK, NY, US, vol. 32, no. 3, March 2004 (2004-03), pages 265-270, XP004488977 ISSN: 1046-2023 the whole document</p>	1-24
Y	<p>PUROHIT A ET AL: "Poor association between allergen-specific serum immunoglobulin E levels, skin sensitivity and basophil degranulation: a study with recombinant birch pollen allergen Bet v 1 and an immunoglobulin E detection system measuring immunoglobulin E capable of binding to FcepsilonRI" CLINICAL AND EXPERIMENTAL ALLERGY, vol. 35, no. 2, February 2005 (2005-02), pages 186-192, XP002373761 ISSN: 0954-7894 page 189; figures 1-3</p>	15,16

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
 PCT/AT2006/000050
**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
 1-24 (in part)

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ AT2006/ 000050

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of Bet v 1 for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
2. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of Bet v 4 for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
3. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of major timothy grass pollen allergens for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
4. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of major house dust mite allergens for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
5. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of major cat allergens, Fel d1, for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
6. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of major bee allergens for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
7. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of major wasp allergens for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---
8. claims: Claims 1-24 (in part)  
Use of storage mite allergens for detection of the allergen sensitivity of an individual  
---

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 39/36</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K	49/02	A
<b>A 6 1 P 37/08</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K	49/00	A
		A 6 1 K	39/36	
		A 6 1 P	37/08	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

- (72) 発明者 ヴェロ, アンジェル  
フランス, エフ - 6 7 6 1 0 ラ ワンツェノー, リュ ドゥ ドゥイヤック, 2 7
- (72) 発明者 ポーリ, ガブリエル  
フランス, エフ - 6 7 3 0 0 ストラスブール, アヴェニュー デュ ジェネラル デゥ ゴール, 2 2
- (72) 発明者 ラファー, シルヴィア  
オーストリア, ヴィエンナ アー - 1 1 2 0, クリヒバウムガッセ 4 2
- (72) 発明者 ヴァレンタ, ルドルフ  
オーストリア, テレージエンフェルド アー - 2 6 0 4, ベートーヴェンシュトラッセ 1 8
- (72) 発明者 モーテス - ルクシュ, ナディーン  
オーストリア, ヴィエンナ アー - 1 1 8 0, パスチエンガッセ 5 0 / 7
- (72) 発明者 ヴァレント, ペーター  
オーストリア, ヴィエンナ アー - 1 1 8 0, シュールガッセ 7 / 1 / 8
- F ターム(参考) 4C085 AA03 AA33 BB03 BB04 BB36 CC01 CC05 CC22 EE01 GG01  
HH03 HH11 JJ02 KA27 KA29 KB82 LL03

专利名称(译)	评估个体过敏原敏感性的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008530537A</a>	公开(公告)日	2008-08-07
申请号	JP2007554381	申请日	2006-02-09
[标]申请(专利权)人(译)	碧欧美公司		
申请(专利权)人(译)	Biomai股份公司		
[标]发明人	プロヒットアシヨク メッツファヴルカリーヌ ヴェロアンジェル ポーリガブリエル ラファーシルヴィア ヴァレンタルドルフ モーテスルクシュナディーン ヴァレントペーター		
发明人	プロヒット,アシヨク メッツ-ファヴル,カリーヌ ヴェロ,アンジェル ポーリ,ガブリエル ラファー,シルヴィア ヴァレンタ,ルドルフ モーテス-ルクシュ,ナディーン ヴァレント,ペーター		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/35 A61K39/395 A61K51/00 A61K49/00 A61K39/36 A61P37/08		
CPC分类号	A61P37/08 G01N33/6854 G01N2800/24		
FI分类号	G01N33/53.Q G01N33/53.S G01N33/53.P A61K39/35 A61K39/395 A61K49/02.A A61K49/00.A A61K39/36 A61P37/08		
F-TERM分类号	4C085/AA03 4C085/AA33 4C085/BB03 4C085/BB04 4C085/BB36 4C085/CC01 4C085/CC05 4C085/CC22 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/HH03 4C085/HH11 4C085/JJ02 4C085/KA27 4C085/KA29 4C085/KB82 4C085/LL03		
优先权	2005000214 2005-02-09 AT		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明公开了一种用于评估个体的变应原敏感性和/或变应原免疫疗法的临床功效的方法，该方法包括以下步骤：提供至少两个选自血液或其级分，结缔组织，鼻，支气管的样品 接受或打算接受至少一种纯过敏原或其衍生物进行免疫治疗的个体的皮肤，肠或肠活检材料，其中样品包含能够响应所述过敏原释放介质，使所述样品与所述过敏原接触的细胞。衍生物，并确定从所述样品释放的介体的量，并通过比较所述量来评估治疗前个体的变应原敏感性和/或免疫疗法的临床功效。

