

## 気管支喘息などのアレルゲンとしてのユスリカ類の 環境における動態

Chironomid midges in the recent environment: A possible role as a causative agent in allergic diseases

代表研究者	岡山大学医学部教授 Prof., Okayama Univ. Medical School Akira ISHII	石井 明
協同研究者	東京大学医学部教授 Prof., Faculty of Medicine, The Univ. of Tokyo Terumasa MIYAMOTO	宮本 昭正
	帝京大学医学部教授 Prof., School of Medicine, Teikyo Univ. Toshiro SHIBUYA	渋谷 敏朗
	富山医科薬科大学講師 Lecturer, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical Univ. Takao IGARASHI	五十嵐 隆夫

The purposes of this study project were to investigate ecology and biology of chironomid midges, to examine asthmatic patients with chironomid extracts, to elucidate the fate of dead bodies of chironomids in the natural environments and to analyze the allergenicity of chironomid extracts.

The results of the study were as follows.

### 1. Ecology and biology of chironomids

In Okayama prefecture, three sub-families, 15 genera and 21 species of chironomids were collected and classified amongst about 230 thousand of midges caught by light traps. *Polypedium arundinetum* was the largest in number. *Parachironomus arcuatus*, *Microchironomus ishii*, *Tanytarsus oyamai* and *Chironomus kiiensis* followed in number in this order. Although most chironomids emerged during summer season, every species had its own peak of emergence. For instance, *Tokunagayusurika akamusi* emerged in a large number in November to December. In Tokyo, *Chironomus yoshimatsui* was most prevalent with some other minor species.

### 2. Allergen examination in asthmatic patients

Out of 303 asthmatic patients, 38.0% were skin test positive, and 32.4% of 105 asthmatic patients were IgE-RAST positive to either of adult or larval chironomids of *T. akamusi*. These rates were the second to follow the most important allergen, house dust mite. The level of specific IgG antibody to chironomids in asthmatic patients was significantly higher than that in normal persons. Specific IgG1 and IgG4 levels in asthmatic patients were also higher than those in control group. However, the specific IgG level was not correlated to skin reaction, nor to IgE RAST scores. In the provocation test, 8 out of 9 asthmatic patients who were positive to the skin test of chironomid showed positive reaction, while 12 patients who were negative to the skin test showed negative reaction. Skin test positive patients released higher histamin from leukocytes than normal persons. The rates of the release correlated with the RAST scores. As to the season of asthma attack, the symptoms occurred most frequently in July to August in the RAST positive patients. To compare the RAST scores with environmental condition, individuals who had high

scores of the RAST (3 or 4) tended to live in the paddy or orchard areas rather than in the residential areas. We had a case of a 19-year-old female who suffered severe asthmatic attack after inhaling chironomid midges during jogging in the paddy field. She was all positive for the skin test, RAST and the provocation test with the chironomid extract.

### 3. The fate of dead bodies of chironomids

Using ELISA we detected antigens of chironomids in the house dust. The amount of the antigens was nearly half to that of the house dust mite, *Dermatophagoides*. We could also detect the antigen in the soil and the air.

### 4. Analysis of allergenicity of chironomids

By RAST inhibition test a cross reactivity was observed amongst some species of chironomids, but no cross reactivity was observed between chironomids and mite, silk or mosquito. On the other hand using ELISA inhibition test, we had another evidence that not all species of chironomids had common allergenicity. The molecular weight of the allergens were also indefinite. Haemoglobin, of which molecular weight was 17KD or 34KD, was not always the allergen in patients whereas higher molecular weight fractions (e. g. over 67KD) inhibited RAST or ELISA. Analysis using a mouse monoclonal anti-*T. akamusi* antibody suggested that epitopes involved in the cross-reactivities were not expressed in a repeating manner on the antigen molecule, and that there were not so many cross-reacting epitopes. We obtained *T. akamusi*-reactive human T cell clones responded to at least four epitopes for T lymphocytes activation. Five clones responded to both *T. akamusi* and *C. yoshimatsui*. Together with results that these two were serologically non-cross-reactive, epitopes inducing T lymphocyte response seem to be different from those recognized by B lymphocytes. During metamorphosis from pupa to adult, haemoglobin was degenerated rapidly, whereas the allergenicity detected by ELISA appeared after emerging. According to ELISA inhibition test using the extracts from dessected chironomid (head, chest, abdomen, wing and leg), the allergenicity was detected in female abdomen. However the allergenicity of egg was not so strong.

---

## 研究目的

1) ユスリカの発生している湖沼・河川・水田地帯について生息するユスリカを採取し、基礎生物学的ならびに生態学的調査を行なう。

2) 主要なユスリカ種について成虫および幼虫を採取し抗原液を作成する。これを用いてアレルギー疾患患者、健常者、大量発生地住民にいかなる作用を及ぼしているか、臨床的、免疫血清学的さらには公衆衛生学的に解明する。

3) ユスリカ抗原アレルゲンの追求のための免疫学的手段を工夫して追跡しユスリカ虫体死骸の自然界における運命、散乱、消滅の過程を調べる。

4) 抗原活性、アレルゲン活性については分析実験を行ない性状を解析する。他の抗原と比較し抗原性の交差性・独立性を確かめる。

## 研究経過

共同研究者と共に近い領域研究者に呼びかけて全国的な研究班を形成し、毎年、学会開催に合わせて研究会を開き、研究成果を報告し合うと共に

連絡をとりつつ調査研究を進めた。研究成果は衛生動物学会、アレルギー学会などで発表した。1987年には衛生動物学会西日本支部大会において「ユスリカとアレルギー」の表題の下にシンポジウムを開き討議を深めた。1988年12月には東京において「ダニ、ユスリカアレルギー国際シンポジウム」が開催され、外国からの研究者の参加を得てユスリカ問題が取り上げられる予定である。

### 1. ユスリカの分布・生態・季節変動について 1.1. 児島湖周辺

ユスリカの採集にはライトトラップを用いた。終夜運転で採集したユスリカを同定し、数量を記録した。1985年7月に児島湖周辺の5地点で採集を行なった。その結果、多採集種が得られること、採集数の安定性、連絡の利便さより岡山空港を定点として1985年9月より1986年8月まで1年間毎月2回ずつライトトラップによる採集を行なった。

## 1.2. 岡山県下

1985年の5-9月、1986年の5-9月毎月1回ライトトラップを用いて、岡山県下9地点においてユスリカの採集を行なった。

## 1.3. 東京都下

東京都下の区市を対象としてユスリカの発生とその対策についてのアンケートを行なった。また、その情報をもとに4地点でユスリカ成虫および幼虫の採集を行ない同定した。

## 2. ユスリカ抗原の作成とこれを用いた診断について

### 2.1. ユスリカ抗原の作成

多種にわたるユスリカの中で比較的発生数が多く重要と考えられ採集しやすいものについて抗原を作成した。アカムシユスリカ、セスジユスリカ、オオユスリカ、ミヤコムモンユスリカなど比較的大型のユスリカを用いた。

### 2.2. 皮膚テスト

東京、富山の病院でユスリカ抗原を用いて気管支喘息患者に皮内反応やブリックテストを実施した。また、北海道、秋田、新潟、富山、東京、滋賀、大阪、香川、福岡、沖縄の計10病院に依頼し、6-15歳の喘息児697名を対象としてオオユスリカ抗原で皮内テストを施行した。

### 2.3. ユスリカ特異的IgE抗体、IgG抗体の測定

気管支喘息患者の血清に含まれるユスリカ特異的IgE抗体、IgG抗体をRASTあるいはELISAにより測定した。

### 2.4. ヒスタミン遊離試験

患者白血球にユスリカ抗原を添加し白血球からのヒスタミン遊離量を測定した。

### 2.5. 吸入誘発試験

気管支喘息患者に実際にユスリカ抗原を吸入させ呼吸1秒率の低下を観察した。皮内テストに対し陽性であった患者の群と陰性であった患者の群とを比較した。

### 2.6. 喘息発作頻度の季節変動について

ユスリカに感作されている患児群と感作されていない患児群について喘息発作の頻度を月別に記録し、ユスリカの発生時期との間に関連があるか否かを比較した。

## 2.7. ユスリカ抗原に陽性を示す喘息児と居住地との関係

RASTによりユスリカに対するIgEの高い者から低い者まで3段階に分け、患児の居住地を市街地、水田・果樹園地帯とに分けて検討した。

### 2.8. 症例検索

ユスリカによって喘息発作を起こす症例が実際にどのくらいあるのか注意を払った。

## 3. ユスリカ死骸（アレルゲン）の行方の追跡について

### 3.1. 抗ユスリカ抗体の作製

オオユスリカ、セスジユスリカ、アカムシユスリカの抗原をそれぞれウサギに免疫し抗血清を得た。またマウスに免疫しその脾細胞からモノクローナル抗体を作製した。これらを用いて環境中からのユスリカ抗原の検出を行なえるようELISAを用いた測定系をつくった。

### 3.2. 屋内塵からのユスリカ抗原の検出

ユスリカ発生地と非発生地、発生期と非発生期に地域から得た屋内塵を抽出した。抽出液中のユスリカ抗原をELISAを用いて測定した。

### 3.3. 土壌中におけるユスリカ抗原の検出

児島湖周辺の3地点で、1986年12月から1987年12月まで毎月1回表土を採集した。これを抽出し抽出液中のユスリカ抗原をELISAで測定した。

### 3.4. 大気中におけるユスリカ抗原の検出

エアースンプラーを用いて大気中の粉塵をろ紙に吸着し、ろ紙の抽出液中のユスリカ抗原量を測定した。1987年10月から開始し毎月1回10日間エアースンプラーを作動し検体を得ている。1988年10月まで続ける予定である。

### 3.5. 室内の空気中のユスリカ抗原の検出

3.4.と同様に一般住宅の室内にてエアースンプラーを作動させユスリカ抗原量を測定した。

## 4. ユスリカ抗原の分析について

### 4.1. ユスリカ抗原の交差抗原性

抗原として各種ユスリカから得た抗原、ダニ、蚊などユスリカ以外から得た抗原を用い、抗体として皮内テストなどで陽性であった喘息患児の血清、3.1.で得られた免疫動物の血清を用いた。評

表1. 岡山空港におけるユスリカ採集数. (1985, 7-1986, 12)

種名	♂	♀	計
1. Polypedilum arundinetum	5487	8767	14254
2. Parachironomus arcuatus	496	4738	5234
3. Microchironomus ishii	1241	3381	4622
4. Tanytarsus oyamai	1478	2579	4057
5. Chironomus kiiensis	872	2132	3004
6. Tanypodinae sp.	1459	1031	2490
7. Pentapedilum tigrinum	1821	528	2349
8. Polypedilum masudai	224	1353	1577
9. Polypedilum nubifer	681	299	980
10. Dicrotendipes niveicaudus	752	210	962
11. Cricotopus sylvestris	209	727	936
12. Tokunagayusurika akamusi	509	17	526
13. Limnophyes hudsoni	206	12	218
14. Smittia aterrima	106	35	141
15. Einfeldia dissidens	66	62	128
16. Cryptochironomus fulvus	102	0	102
17. Cryptotendipes fujiuartus	25	0	25
18. Chironomus nipponensis	24	0	24
19. Chironomus circumdatus	17	0	17
20. Polypedilum cultellatum	15	0	15
21. Orthocladius sp.	5	3	8
計	15795	25874	41669
不明・不能		1391	

価の方法としてはゲル内沈降反応, RAST 抑制, ELISA 抑制試験を用いた。アカムシユスリカについてはモノクローナル抗体を作成し他抗原との交差性を検討した。

#### 4.2. 液体クロマトグラフィー, ブロッキング法による抗原の分画・分析

セファデックスカラム, 高速液体クロマトグラフィーなどを用いて抗原の分子量による分画を行った。分画抗原を用いて RAST, ELISA 抑制試験を行ない活性分画を明らかにした。ユスリカ抗原を SDS-PAGE で電気泳動し, ニトロセルロースペーパーへブロッキングした。これに患者血清を反応させた後  $^{125}\text{I}$  でラベルした抗ヒト IgE を反応させ, IgE と結合する抗原のバンドを検出した。

#### 4.3. ユスリカ抗原刺激によるリンパ球増殖反応の分析, 並びにユスリカ特異的株化 T リンパ球の確立

末梢リンパ球にユスリカ抗原を加え反応増殖し

てくる細胞を検出した。抗原分画による差, 喘息既往の有無による反応性の違いを検討した。

ユスリカ抗原に対するヒトの細胞性免疫反応機構をクローン化 T 細胞を用いて検討した。

#### 4.4. ユスリカの変態に伴う抗原性の変化

幼虫, サナギ, 羽化直後成虫, 羽化 2 日後成虫に分け抗原を作成しその性状, 抗原性の変化を分光光度計, 高速液体クロマトグラフィー, ELISA で追求した。

#### 4.5. ユスリカ成虫における抗原性の局在

ユスリカ成虫を雄雌に分け羽, 肢, 頭胸部, 腹部としそれぞれ抗原を作成した。ELISA 抑制試験を行なって抗原性の局在を調べた。

### 研究成果

#### 5. ユスリカの分布・生態・季節変動

##### 5.1. 児島湖周辺

1985年7月8-9日に5地点にて3亜科14属21種約8万匹が採集された。1地点における年間採集では3亜科15属21種約4万匹が採集さ

		Skin reaction to adult midge		
		+	-	Total
Rast to adult midge	+	26*	5	31 (29.5%)
	-	15	59**	74
Total		41 (39.0%)	64	105 (100%)

Rate of coincidence  
 $= (*+**) / 105$   
 $= (26+59) / 105 = 0.81$

図1. Relation between results of prick test with 1:20 extracts and RAST.

れた(表1)。発生は6月をピークに夏期に多いが種によって異なる時期にピークをもっていた。特にアカムシユスリカは独特で11, 12月にのみ大きなピークを示し、他の季節には全く採集されなかった。

## 5.2. 岡山県下

9地点において6属12種約11万匹を採集した。ウスイロユスリカ、オオヤマチビユスリカ、セスジユスリカが代表的な種であった。

## 5.3. 東京都下

セスジユスリカが最も多く発生していた。

## 6. ユスリカ抗原を用いた診断, 臨床像

### 6.1. 皮膚テスト

アカムシユスリカの20倍抽出液を用いて東京都下の病院において303例の喘息患者にプリックテストを行なった。アカムシ成虫での陽性率は32.0%, 幼虫では30.7%, いずれかに陽性は38.0%であった。この数字はダニによる陽性率に次ぐ高さであった。富山では小児喘息患者86名(平均6.5才)にプリックテストを行い、オオユスリカ24.4%, ミヤコムモンユスリカ15.1%, セスジユスリカ16.3%, アカムシユスリカ15.1%の陽性率を得た。全国10病院の小児喘息患者におけるオオユスリカ皮内テスト陽性率は12.6%—

45.5%に分布し全体で27.4%であった。

### 6.2. ユスリカ特異的IgE, IgG

アカムシユスリカ特異的IgEをRAST法にて検査したところ、東京では喘息患者105例中32.4%にスコア2以上が出た。富山では53名の患児においてオオユスリカ39.6%, ミヤコムモンユスリカ28.3%, セスジユスリカ22.6%, アカムシユスリカ18.9%が陽性であった。又皮膚テストの結果とも相関を示した(図1)。IgE抗体価も喘息患者では健常者に比べ高い値を有することが判明した。

### 6.3. ヒスタミン遊離試験

ユスリカに対するIgE抗体の高い患者はユスリカ抗原添加により健常者に比べヒスタミン遊離が多く認められた。

### 6.4. 吸入誘発試験

皮膚テスト陽性者9名では8例に即時型の反応がみられた。内6例は遅発型にも反応を示した(図2)。皮膚テスト陰性者12名における誘発試験は全例陰性であった。

### 6.5. 季節変動

ユスリカRAST陽性者は陰性者に比べ7-8月に有意に発作が多かった(図3)。この時期はユスリカの大量発生期に一致した。

### 6.6. 居住地

ユスリカに対するRASTスコア3以上の喘息患者は市街地より水田・果樹園地帯に有意に多く居住していた。

### 6.7. ユスリカアレルギー症例

ユスリカによる結膜炎の既往を持つ19才の女性がジョギング中、偶然ユスリカを吸い込み喘息発作を起こした症例が報告された。

## 7. ユスリカ死骸(アレルゲン)のゆくえ

### 7.1. 屋内塵中より

屋内塵抽出液中からダニ抗原量の半分程度のユスリカ抗原が検出された。アカムシユスリカ抗原は夏期より冬期に多く児島湖周辺で高値に検出された。セスジユスリカ抗原は夏期に各地より高値に検出され、量的にはアカムシユスリカ抗原より多いと考えられた(図4)。

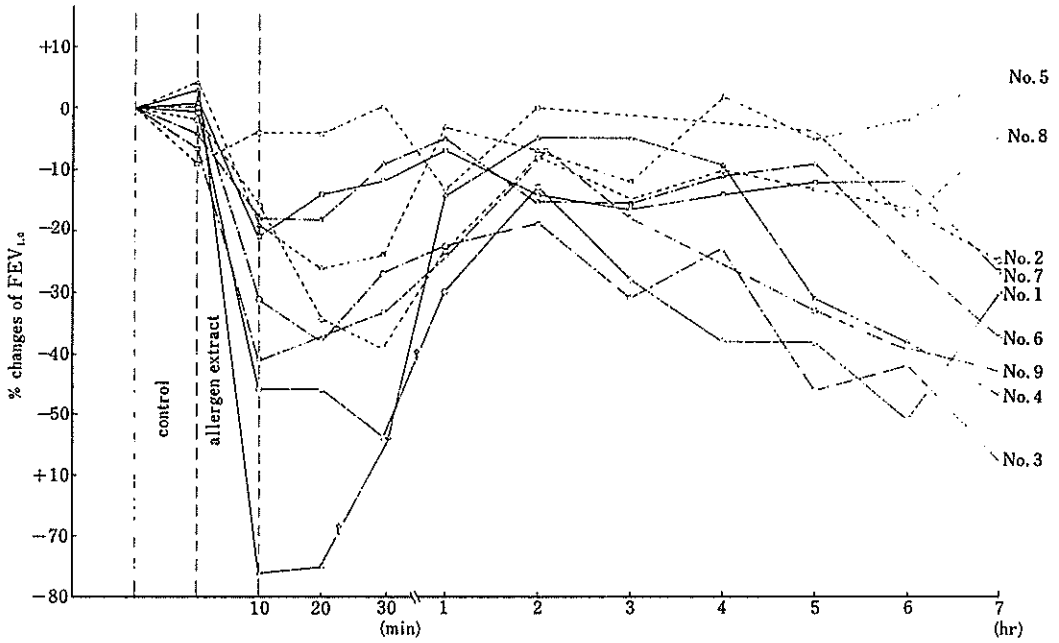


図2. Percentage changes of FEV<sub>1,10</sub> after inhalation of allergen extracts in asthmatic children with positive prick tests to the chironomids.

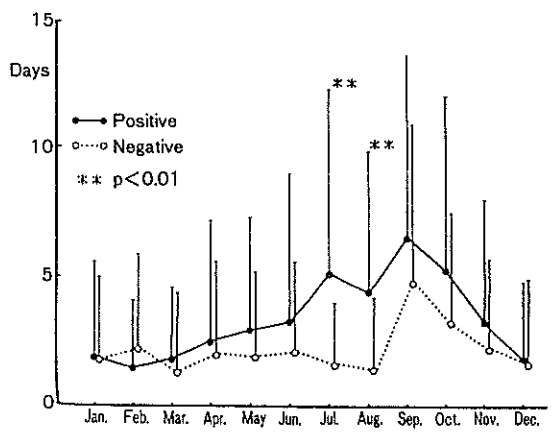


図3. Average days of asthmatic attack per month in the asthmatics with positive chironomid RAST compared with the negative. (M±SD). \*\* p<0.01

7.2. 土壤中より

土壤中からはダニ抗原はほとんど検出されなかったが、ユスリカ抗原は季節変動をもって検出された。アカムシユスリカ抗原は11-1月に、セスジユスリカ抗原は6-7月にピークを示した。

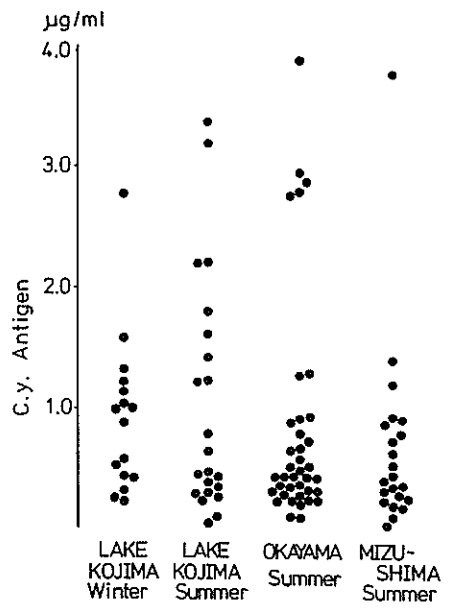


図4. *Chironomus yoshimatsui* antigen in house dust from residents around lake Kojima.

7.3. 空气中より

7-8月、9-10月にユスリカ抗原量の大きな

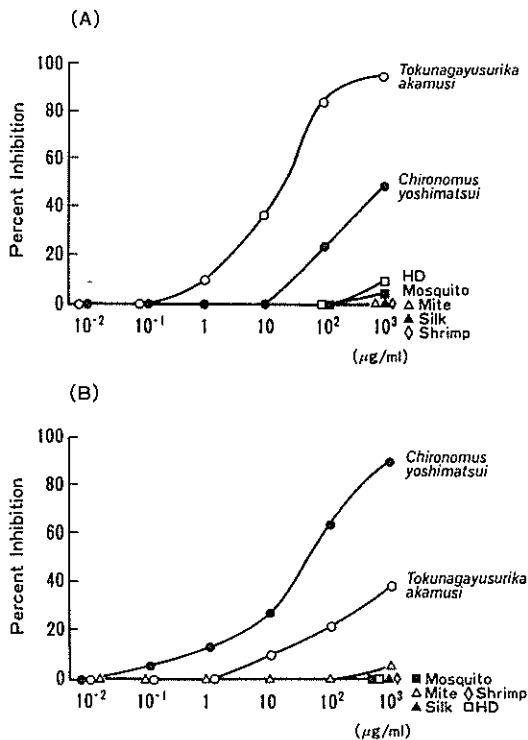


図5. RAST抑制試験。(A) *Tokunagayusurika akamusi*, (B) *chironomus yoshimatsui*. The ordinate indicates percentage inhibition and the abscissa, final concentration of allergens.

ピークがみられた。

#### 7.4. 室内の空中ユスリカ抗原

一般住宅の室内では9-10月にピークがみられた。室外の3500倍以上にも達し冬の間にも多く認められた。

### 8. 抗原分析

#### 8.1. 交差抗原性

ヒト血清によるIgE-RAST抑制試験ではユスリカ相互間にある程度の交差反応性はあるが、ダニ、キヌ、エビ、蚊のいずれにも交差反応性は認められなかった(図5A, B)。免疫したウサギの血清IgE-ELISA抑制試験ではアカムシユスリカはセスジユスリカ、オオユスリカとは交差性を認めなかった。マウスモノクローナル抗体を用いたサンドウィッチELISAでも、抗アカムシユスリカ抗体はアカムシユスリカ抗原とのみ反応した

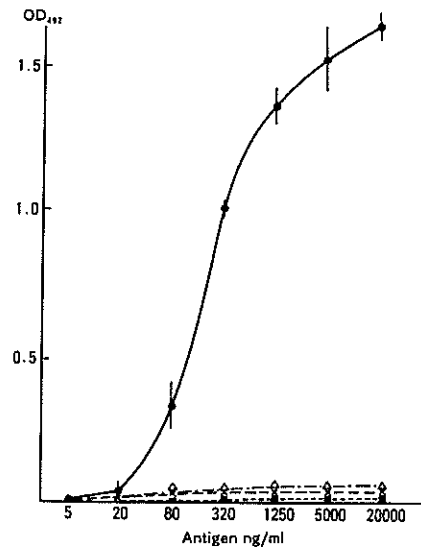


図6. Double bind ELISA of 416-23-7 anti-Ta monoclonal antibody. 100 μl of Ta-column-purified 416-23-7, 5 μg/ml, was coated on microplate wells. 100 μl of various concentration of Ta (—●—), Cp (···×···), Cy (—●—△—) and Df (··■··) were added to the wells to react with solid phase antibodies. After washing, HRPO-labeled 416-23-7 was added. Bindings of the labeled antibodies on the captured antigens were visualized using enzyme substrate.

(図6)。

#### 8.2. 抗原の分画

RASTによると主要アレルゲン活性は分子量6.7万以上の比較的高いところにある(図7A, B)。ELISAでも分子量の高いところに活性が認められている。ブロッティングでは高分子量の部分の他、30KD, 56KDにも反応するバンドが認められた(図8)。

#### 8.3. リンパ球の反応

アカムシユスリカ成虫抗原(TAA)を用いて *in vitro* で誘導したクローン化T細胞10株の特異性を検討し、5クローンはTAA, 同幼虫抗原(TAL)およびセスジユスリカ成虫抗原(CYA)全てに強い反応を示した他、3種類の反応パターンが認められ、TAAに存在する少なくとも4種類の異なったT細胞認識エピトープの存在を確認

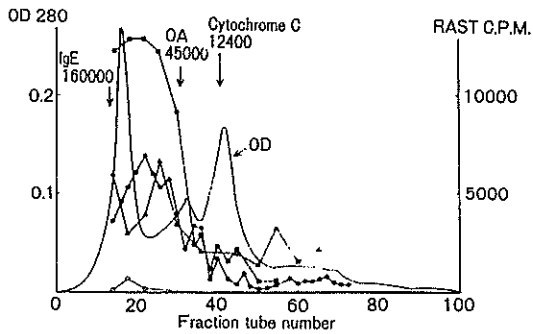


図 7 A. Sephadex G-200 gel filtration of extract from adult midge and RAST with each fraction in 4 patients and a normal individuals. Each fraction was coupled to a paper disc.  
 ■ ▲ ●: patients. ○: normal individual.

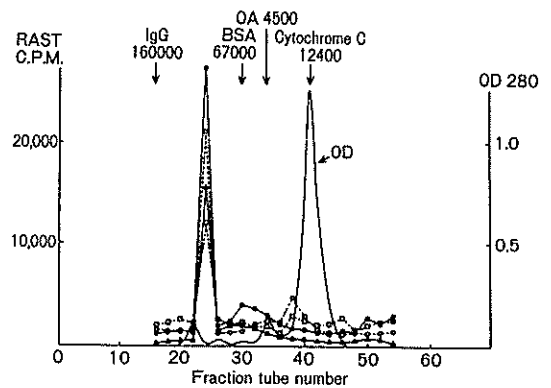


図 7 B. Sephadex G-200 gel filtration of extract from larval midges, and RAST with each fraction in 4 patients. Each fraction was coupled to a paper disc.

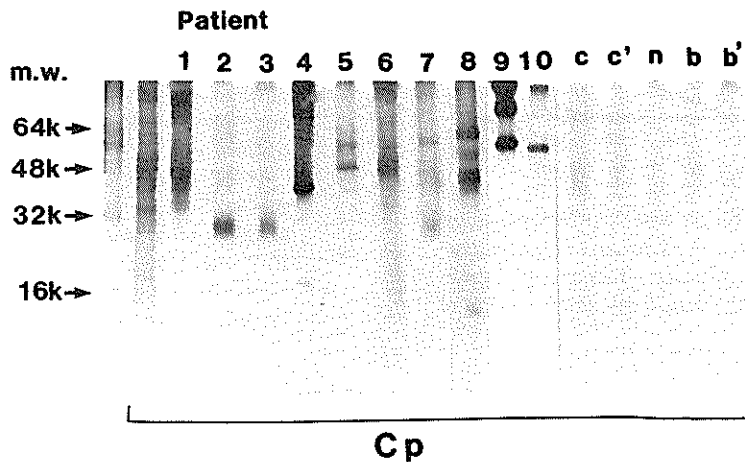


図 8. Detection of specific Ig E-binding to extracts of Chironomus plumosus by SDS-PAGE and Western blotting method, using 10 patient sera, 2 cord blood sera (c, c'), non-atopic serum (n), PBS (b) and TBS (b').

した。B細胞はTAAとCYAとを明確に識別するが、T細胞はむしろTAAとCYAの共通決定基を積極的に認識することがわかった。TAAの高分子量分画にT細胞は反応し、従来アレルゲン活性が示唆されていたヘモグロビンがT細胞応答の誘導に重要な関与をすることを支持する現象は観察されなかった。

#### 8.4. 変態による抗原の変化

幼虫-成虫に伴いヘモグロビンは急速に消失した。一方、幼虫-成虫に従いアレルゲン性が出現

してきた。

#### 8.5. 抗原性の局在

雌の腹部に強い抗原性があることが分かった。しかし、虫卵そのものの抗原性は強くなかった(図9)。

#### 今後の課題と発展

3年余りの研究・調査から我が国においてユスリカは吸入性抗原として重要な地位を占めていることが示された。今後の課題として



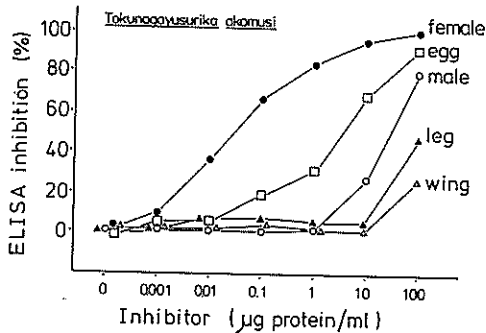


図9. ELISA inhibition test of IgE antibody to *Tokunagayusurika akamusi* whole body with *T. Akamusi* female body, male body, leg, wing and egg antigens.

### 9.1. 他抗原との関係

他の昆虫抗原との交差性の問題また独立抗原ながらダニ抗原とは皮膚テスト, RAST IgE などで見ると両抗原に対して反応する症例が多い。減感作などを検討するにあたり真のアレルゲンを明らかにしなくてはならない。

### 9.2. ユスリカ各種間の抗原性の相違

ユスリカ科には多数の種があり, 当初我々の考慮していた種以外の種, 特に小型種が数の上では優先となっていることが分かった。これら種間の交差抗原性, 独立抗原性についてはさらなる検討が必要である。

### 9.3. 抗原の分析

主要抗原成分を明らかにする必要がある。外国ではユスリカ幼虫の主要抗原はヘモグロビンにあると報告されているが, 我々の研究では成虫においては必ずしもそうではなかった。その相違関係をさらに詳細に明らかにしてゆく必要がある。

### 9.4. 公衆衛生学的調査

全国の病院のいくつかに依頼して, アレルギー患者におけるユスリカ抗原の反応について検査した成績は出せたが, ユスリカ発生地の地域住民にどのような影響を与えているかなどの問題については, さらに調査が必要と思われる。

### 9.5. ユスリカ発生への対策

ユスリカが人間に与える影響は一定程度明らかになったが, ユスリカ発生の対策予防は今回の研究目的ではなかったが, 今後は是非必要とされる課

題であろう。

### 謝 辞

日産科学振興財団の助成により行なわれたこの表題の研究・調査に対し, 多数の方々のご協力, ご支援を得たことにつき関係者一同深甚の謝意を表します。

### 発表論文

- 1) 五十嵐隆夫, 佐伯陽子, 岡田敏夫, 熊谷 朗, 佐々 学: ユスリカ喘息の2症例. 治療学, 14, 122-126 (1985).
- 2) 池本孝哉, 宮崎道雄, 渋谷敏朗: 東京都内のユスリカ発生とその対策. 環境衛生, 32(10), 20-25 (1985).
- 3) Ito K., Miyamoto T., Shibuya T., Kamei K., Mano K., Taniat T., Sasa M.: Skin test and radioallergosorbent test with extract of larval and adult midge of *Tokunagayusurika akamusi* (Diptera: Chironomidae) in asthmatic patients of metropolitan area of Tokyo. *Annals of Allergy*, 87, 199-204 (1986).
- 4) 村上巧啓, 五十嵐隆夫, 佐伯陽子, 足立雄一, 松野正知, 岡田敏夫, 河合幸一郎, 熊谷 朗, 佐々 学: ユスリカ喘息に関する研究. アレルギー, 35, 393-401 (1986).
- 5) 五十嵐隆夫, 村上巧啓, 佐伯陽子, 足立雄一, 松野正知, 丸山明夫, 岡田敏夫: ユスリカ喘息. 小児科の進歩, 6, 141-146 (1986).
- 6) 五十嵐隆夫, 村上巧啓, 岡田敏夫, 河合幸一郎, 熊谷 朗, 佐々 学, 水上陽真, 渡辺弘之: ユスリカ喘息一大発作を起こした1例一. 治療学, 16, 687-691 (1986).
- 7) 渋谷敏朗: ユスリカと喘息. 環境管理技術, 4(4), 207-212 (1986).
- 8) Igarashi T., Murakami G., Adachi Y., Matsuo M., Saeki Y., Okada T., Kawai K., Kumagai A. and Sasa M.: Common occurrence in Toyama of bronchial asthma induced by chironomid midges. *Jpn. J. Exp. Med.*, 57, 1-9 (1987).
- 9) Yamashita N., Ito K., Nakagawa T., Haida M., Okudaira H., Nakada T., Miyamoto T., Shibuya T., Kamei K. and Sasa M.: IgG and IgE antibodies to Chironomidae in asthmatic patients. *Clin. exp. Immunol.*, 68, 93-99 (1987).
- 10) 伊藤幸治, 山下直美, 中田重俊, 宮本昭正, 渋谷敏朗, 亀井喜世子, 佐々 学: 喘息患者におけるユスリカと他のアレルゲンとの比較. アレルギー, 36(1), 30-37 (1987).
- 11) 村上巧啓, 五十嵐隆夫, 佐伯陽子, 足立雄一, 松野正知, 岡田敏夫, 河合幸一郎, 熊谷 朗, 佐々 学: ユスリカ喘息に関する研究 第2報 ユスリカ種別間の交叉抗原性について. アレルギー, 36, 81-85 (1987).

- 12) 池上伯郎, 山田ゆかり, 臼井美津子, 安藤駿作, 松岡裕之, 土居弘幸, 石井 明, 松橋 直: アカムシユスリカ, オオユスリカ, セスジユスリカおよびコナヒョウヒダニ間の交差抗原性について. *アレルギー*, 36(9), 855-864 (1987).
- 13) 佐伯陽子, 岡田敏夫: ユスリカ喘息 医学の歩み, 143, 152 (1987).
- 14) 佐伯陽子, 五十嵐隆夫, 村上巧啓, 足立雄一, 松野正知, 岡田敏夫, 鏡森定信, 熊谷 朗, 佐々学: ユスリカ喘息の臨床的検討 ユスリカ RAST 陽性者, 陰性者の居住地分布, 発作の季節変動について. *アレルギー*, 36, 1054-1060 (1987).
- 15) 石井 明: 昆虫ダニによるアレルギーについて. *生活と環境*, 32(8), 24-26 (1987).
- 16) 五十嵐隆夫: ユスリカアレルギーについて. *生活と環境*, 32(8), 34-37 (1987).
- 17) Matsuoka H., Ishii A. and Nouno S.: Detection of IgE antibodies to larvae and adults of chironomids using enzyme-linked immunosorbent assay. *Allergy*, 43, 425-429 (1988).
- 18) 頓宮廉正, 板野一男, 石井 明: 岡山県におけるユスリカ科 Chironomidae の季節消長 岡山医学会雑誌, 100(5, 6), 555-563 (1988).
- 19) 村主節雄, 原田正和: IV. ユスリカ 1. 生態: The 8th Rokko Conference 吸入性抗原-主に喘息の病因として (宮本昭正他編 *メディカルトリビューン*) p. 113-129 (1988).
- 20) 伊藤幸治, 山下直美, 宮本昭正: IV. ユスリカ 2. 気管支喘息におけるユスリカのアレルギー検査: The 8th Rokko Conference 吸入性抗原-主に喘息の病因として (宮本昭正他編 *メディカルトリビューン*) p. 130-142 (1988).
- 21) 五十嵐隆夫, 村上巧啓: アレルゲンとしてのユスリカとその現状 小児科 MOOK, 金原出版, 東京 1988. (印刷中).
- 22) 村上巧啓, 五十嵐隆夫, 岡田敏夫: 小児アレルギーのすべて 8. ユスリカ喘息, 小児科診療, 51(10): 2047-2050, 1988.
- 23) 佐伯陽子: TOPICS ユスリカ喘息, 臨床検査, 33(1): 97-98, 1988.
- 24) Yamashita N., Ito K., Miyamoto T., Shibuya T., Kamei K. and Sasa M.: Independency of midge-allergen examined by RAST inhibition test. (submitted)
- 25) Yamashita N., Morita Y., Ito K., Miyamoto T., Shibuya T., Kamei K. and Sasa M.: Chironomidae as a cause of histamine release in patients of asthma. *Ann. Allergy*, in press.
- 26) Suguri S., Harada M., Sasa M., Ishii A., Itano K. and Matsuoka H.: A year-round survey of chironomid midges by light trap collections at Lake Kojima in Okayama Prefecture. *Jpn. J. Sanit.* 2001., 40(1): 33-39, 1989.
- 27) Edahiro T., Ohta N. and Ishii A.: Analysis of the chironomid allergens using specific T cell lines and clones in humans. (submitted)
- 28) 十字文子, 伊藤幸治, 山下直美, 宮本昭正, 渋谷敏朗, 亀井喜世子, 佐々学: 東京と近郊の小児アレルギー疾患のアカムシユスリカ (*Tokunagayusurika akamusi*) の RAST について *アレルギー* 37(12): 1130-1137, 1988.
- 29) 谷崎勝朗, 周藤真康, 貴谷 光, 荒木洋行, 奥田博之, 高橋 清, 木村郁郎, 松岡裕之, 石井 明: アトピー型喘息におけるユスリカ抗原の病因的意義 *アレルギーの臨床* 8(14): 33-36, 1988.
- 30) 貴谷 光, 荒木洋行, 周藤真康, 谷崎勝朗, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎, 松岡裕之, 石井 明: 気管支喘息におけるユスリカ抗原の免疫アレルギー学的検討 *アレルギー* 38(1): 41-48, 1989.
- 31) Edahiro, T., N. Ohta, H. Matsuoka, A. Ishii, Y. Tanizaki, H. Kitani, T. Kunitomi, S. Noonoo and K. Tachibana: Lymphocyte response to chironomid antigens in asthmatic or non-asthmatic individuals: Population study and correlation between lymphocyte response and IgE level. (submitted).
- 32) 貴谷 光, 荒木洋行, 周藤真康, 谷崎勝朗, 松岡裕之, 石井 明, 鳥取県におけるユスリカ喘息について. *鳥取医学雑誌* 16(2): 193-197, 1989.
- 33) Yamashita, N., K. Ito, T. Miyamoto, K. Mano, T. Shibuya, K. Kamei and M. Sasa: Allergenicity of chironomides in asthmatic patients. (submitted).
- 34) H. Matsuoka, A. Ishii, J.Y. Kimura and S. Noonoo: Developmental change of chironomid midge allergen during metamorphosis. (submitted).