

論文

関東育種基本区のスギ精英樹におけるアレルゲン含量の クローン間変異

福田 陽子⁽¹⁾・高橋 誠⁽²⁾・武津 英太郎⁽²⁾・近藤 禎二⁽²⁾・栗延 晋⁽³⁾

Yoko Goto-Fukuda⁽¹⁾, Makoto Takahashi⁽²⁾, Eitaro Fukatsu⁽²⁾, Teiji Kondo⁽²⁾
and Susumu Kurinobu⁽³⁾

Clonal variation of allergen concentration in pollen among Sugi (*Cryptomeria japonica*)
plus trees in Kanto Breeding Region

要旨:近年深刻化しているスギ花粉症の対策として、アレルゲン生産量が少ない品種の育成が求められている。アレルゲン生産量は、花粉生産量と単位花粉重量当たりのアレルゲン含量の積で求められることから、雄花着生量及びアレルゲン含量の少ないスギ精英樹を利用することによって、花粉症を軽減できると考えられる。筆者らは、雄花着生量が少ない精英樹146クローンを対象に、2002年から2005年の4年間、主要アレルゲンCry j 1及びCry j 2の含量を調査し、いずれもが少ないクローンを明らかにした。146クローンにおけるCry j 1及びCry j 2含量のクローン最小自乗推定値の平均値及び標準偏差は $453 \pm 125 \mu\text{g}$ 及び $420 \pm 143 \mu\text{g}$ であり、顕著な差異が認められた。Cry j 1及びCry j 2含量のクローン最小自乗推定値が最も少なかったクローンは天竜17号であり、 $88 \mu\text{g}$ 及び $74 \mu\text{g}$ であった。さらに、その他のクローンのCry j 1含量及びCry j 2含量について、天竜17号に対する t 検定を行い、Cry j 1含量とCry j 2含量のいずれもが少ないクローンを明らかにした。天竜17号は「花粉の少ないスギ」品種でもあることから、特に花粉症対策に有効なクローンとして、「アレルゲンの少ないスギ」品種として公表した。

-
- (1) 林木育種センター北海道育種場
〒069-0836 北海道江別市文京台緑町561-1
Hokkaido Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center
561-1 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-0836 Japan
- (2) 林木育種センター
〒319-1301 茨城県日立市十王町伊師3809-1
Forest Tree Breeding Center
3809-1 Ishi, Juo, Hitachi, Ibaraki 319-1301 Japan
- (3) 林木育種センター関西育種場
〒709-4335 岡山県勝田郡勝央町植月中1043
Kansai Regional Breeding Office, Forest Tree Breeding Center
1043 Uetsukinaka, Shoo, Katsuta, Okayama 709-4335 Japan

Summary: *Cryptomeria japonica* pollinosis has recently become a serious allergic disease in Japan. We investigated the clonal variation of Cry j 1 and Cry j 2 concentrations in pollen from 146 plus tree clones with low numbers of male flowers that had been selected in the Kanto Breeding Region. From these, we identified plus tree clones with low allergen concentration that could be used to reduce pollinosis. Cry j 1 and Cry j 2 concentrations were measured from 2002 to 2005, and the least square means were estimated for each clone. The average and standard deviation of the least square means of Cry j 1 and Cry j 2 concentrations among the 146 clones were 453 ± 125 mg and 420 ± 143 mg, respectively. Tenryu 17 had the lowest concentrations of both Cry j 1 and Cry j 2, which were 88 and 74 mg, respectively. We regarded plus tree clones that did not show significant differences in both Cry j 1 and Cry j 2 concentrations compared with Tenryu 17 as low allergen clones (t test, $p > 0.05$). The allergen concentration of the low allergen clones was 18%–63% on average for the 146 clones.

1 はじめに

現在、国民の1割以上がスギ花粉症に罹患していると言われ、スギ花粉症は日本で最も深刻なアレルギー疾患のひとつとなっている。スギは日本において主要な造林樹種のひとつであることから、林業においても花粉症対策は喫緊の課題となっており、その一環として、花粉症の原因となるアレルゲンの生産量が少ない品種の育成が求められている。ある個体が生産するアレルゲンの量は、単位花粉重量あたりのアレルゲン含量と生産する花粉量の積として表されることから、アレルゲン含量または花粉生産量が少ない品種を利用することにより、花粉症を軽減できると期待される。花粉生産量、すなわち雄花着生量に顕著なクローン間変異があることは古くから知られており、これまでに林野庁、林木育種センター、都府県の連携によって精英樹の雄花着生量の調査が行われ、「花粉の少ないスギ」品種として全国で112クローンが選定され、普及が進められている。スギ花粉の主要アレルゲンであるCry j 1¹⁴⁾とCry j 2¹⁰⁾においても、単位花粉中の含量が個体間で顕著に異なることが明らかにされており⁴⁾⁸⁾⁹⁾¹¹⁾、Cry j 1含量については遺伝率の高い形質であることも明らかにされている¹⁾²⁾⁹⁾。このため、雄花着生量だけではなくアレルゲン含量にも着目することによって、さらに花粉症軽減の効果が高いクローンを選定できると考えられる。また、花粉症対策の緊急性に鑑みると、「花粉の少ないスギ」品種には選定されなかったものの、雄花着生量が平均以下であったクローンについてアレルゲン含量を調査し、花粉症対策品種として利用可能なクローンを増やすことも必要である。本研究では、1991年より2000年に林野庁、林木育種センター、都府県の連携により行われた雄花着生量の調査の中で、雄花着生量が比較的少なかった精英樹を対象に⁶⁾、Cry j 1及びCry j 2含量を調査し、アレルゲン含量の評価を行った。

2 材料と方法

2.1 調査対象とするクローンの選定

1991年より2000年に行われた関東育種基本区内の12都県の検定林、採種園および採穂園における雄花着生量の結果に基づき、それぞれの調査地において雄花着生量が平均値以下であった精英樹146クローンを選び出し、アレルゲン含量の調査対象とした（表-1）。複数の調査地で調査されているクローンについては、それらのクローンがいずれの調査地においても平均値以下であることを確認した。この中には「花粉の少ないスギ」品種57クローンも含めた。

2.2 着花促進および花粉採取

2002年から2005年の4年間、146クローンの各1ラメートずつから花粉を採取し、Cry j 1含量及びCry j 2含量を調査した。基本的に、各クローンについて4年間同一ラメートから花粉を採取したが、そのラメートの雄花着生量が不十分な場合には、他のラメートから採取した花粉で代用した。2001年から2004年の7月上旬、100ppmのGA₃水溶液に枝を浸漬し、雄花の着花促進を行った。翌年2月、雄花着花枝を採取し、グラシン交配袋をかけて水挿しした。開葯後直ちに花粉を採取し、シリカゲルと共存させて含水率が10%以下になるまで乾燥させた後、-30℃で保存した。

2.3 アレルゲンの抽出

花粉に対し50倍量 (w/v) の0.125M炭酸水素ナトリウム+0.5M塩化ナトリウム水溶液を加え、2℃で24時間攪拌し、Cry j 1とCry j 2を同時に抽出した。抽出後、2000×gで15分間遠心分離し、上澄みを採取した。採取した上澄みは、アレルゲンの定量まで-30℃で保存した。

2.4 アレルゲンの定量

Cry j 1の定量はモノクローナル抗体J1B01を一次抗体、ウサギイムノグロブリンEポリクローナル抗体 (pAb) を用いたサンドウィッチELISA法により行った³⁾。マイクロプレート (Nunc, Denmark) の各ウェルに0.1M炭酸ナトリウム-炭酸水素ナトリウム溶媒 (pH 9.6) で1ng/μlに希釈したJ1B01を100μl加えて37℃で1時間インキュベートした後、4℃で一晩吸着させた。次に1%のウシ血清アルブミン (BSA) を含むPBSを250μlウェルに加えて37℃で1時間ブロッキングし、0.2%のTween 20を含むPBS (PBS-T) で洗浄後、0.1%のBSAおよび0.2%のTween 20を含むPBS (PBS-T-BSA) で希釈したCry j 1標品および花粉抽出液を加え、37℃で2時間反応させた。PBS-Tで洗浄後、PBS-T-BSAで0.25ng/μlに希釈したビオチン化pAbを100μl加え、37℃で1時間インキュベートした後、4℃で一晩反応させた。PBS-Tで洗浄後、1ウェル当たり0.03Uのストレプトアビジン標識β-ガラクトシダーゼを加え、37℃で1時間インキュベートして抗原抗体複合物と結合させ、PBS-Tで洗浄後、0.02Mリン酸二水素ナトリウム (pH 7.2) で調製した5mM o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシド 100μlを加えて30～40分間、酵素反応を行った。1M炭酸ナトリウム水溶液100μlを加えて酵素反応停止後、415nmでの吸光度をマイクロプレートリーダー (BioRad, Model 550) で測定した。スギ花粉標準品⁶⁾を一次スタンダードとしてCry j 1濃度を決定した二次スタンダードを使用し、8.13, 4.06, 2.03, 1.02ng/mlの4段階の濃度で3反復ずつ測定した結果に基づいて標準曲線を描き、花粉抽出液を800倍及び1600倍の2段階に希釈して各2反復ずつ測定した結果から、花粉抽出液中のCry j 1濃度を推定し、花粉1gあたりに含まれる重量に換算した。J1B01との反応性が低いアイソフォームを生産するクローン (群馬2号, 比企13号, 鯉沢17号) については、一次抗体としてモノクローナル抗体J1B07を使用する系でもCry j 1の定量を行い、2つの系で推定されたCry j 1含量を合計した³⁾。一次抗体をJ1B07とする系では、マイクロプレートに0.1M炭酸ナトリウム-炭酸水素ナトリウム溶媒 (pH 9.6) で1ng/μlに希釈したJ1B07を分注した後37℃でのインキュベートを行わず、4℃で一晩吸着させた。それ以外の手順は、J1B01を一次抗体とした系と同じである。

Cry j 2の定量は、J2A07を一次抗体、J2A01を二次抗体とするサンドウィッチELISA法により行った¹⁵⁾。定量の手順は以下の4つの変更点を除き、Cry j 1と同じである。1) ビオチン化二次抗体は0.5ng/μlに希釈して使用した。2) スタンダードとしてCry j 2精製標品 (和光純薬) を使用し、160, 80, 40, 20ng/mlで標準曲線を描いた。3) 花粉抽出液の希釈倍率は、100倍及び200倍とした。4) スタンダード及び花粉抽出液を加えた後、2時間半インキュベートした。

2.5 Cry j 1及びCry j 2含量のクローン間変異及び年次変動の検討

Cry j 1含量及びCry j 2含量について、以下の線型モデルを仮定して、解析を行った。

$$y_{ij} = \mu + F_i + Y_j + e_{ij}$$

(y_{ij} : i 番目のクローンの j 番目の年次のCry j 1またはCry j 2含量, μ : 全体の平均値, F_i : i 番目のクローンの効

果, Y_{ij} : j 番目の年次の効果, e_{ij} : 誤差)

本研究では, 1クローンあたり1ラメートについて4年間調査しており, 年次ごとのクローンの反復がない。また, 同一ラメートについて反復測定していることから, Cry j 1含量及びCry j 2含量には年次間で相関があると考えられるため, 年次を母数効果, クローンを変量効果として, クローン及び誤差の分散成分の寄与率を推定し, クローンの分散成分の寄与率を反復率とした。さらに, クローンを母数効果, 年次を変量効果とする混合モデルを仮定し, Cry j 1及びCry j 2含量のクローン最小自乗推定値を推定した。各年時間におけるCry j 1含量とCry j 2含量のクローン最小自乗推定値のSpearmanの順位相関係数を推定し, Cry j 1含量とCry j 2含量のいずれもが少ないクローンを選定できる可能性について検討した。さらに, Tukeyの多重検定によりCry j 1及びCry j 2含量の各年次間の平均値を比較するとともに, Spearmanの順位相関係数を推定し, Cry j 1及びCry j 2含量の年次変動について考察した。データ解析には農林水産研究計算・情報センターの科学技術計算システムの統計解析ソフト, SAS (Version 9.1) を使用し, クローンの効果及びクローン最小自乗推定値の推定にはMixedプロシジャを, spearmanの順位相関係数の推定にはcorrプロシジャを使用した。

2.6 各クローンのアレルゲン含量の評価

Cry j 1含量とCry j 2含量は独立した形質であることから, Cry j 1含量のクローン最小自乗推定値とCry j 2含量のクローン最小自乗推定値の合計を, 各クローンの総アレルゲン含量の推定値とした。Cry j 1およびCry j 2に対するスギ花粉症患者の感作率, すなわちアレルギー反応を示す患者の割合はほぼ同程度か, Cry j 2がやや劣る程度であることから⁵⁾¹²⁾, 特に重み付けはしないこととした。Cry j 1含量及びCry j 2含量のそれぞれについて, 最大値を示したクローンとの間に5%水準で有意差が見出されなかったクローンを1, 最小値を示したクローンとの間に5%水準で有意差が認められなかったクローンを3, いずれとも5%水準で有意な差異が認められたクローンを2とした。Cry j 1含量の評価値とCry j 2含量の評価値の合計を総アレルゲン含量の評価値として, この値に基づきアレルゲン含量の少ないクローンを明らかにした。 t 検定には, SASのMixedプロシジャのlsmeansステートメントのdiffオプションを使用した。

3 結 果

3.1 Cry j 1含量及びCry j 2含量のクローン間変異及び年次変動

表-1に, 各クローンのCry j 1含量, Cry j 2含量, 各年次における調査クローン数, Cry j 1及びCry j 2含量の平均値及び標準偏差を示した。また, 各年次におけるCry j 1及びCry j 2含量の頻度分布を図-1に示した。調査対象とした146クローンのうち, アレルゲンの測定に十分な量の花粉が採取できたのは, 2002年には143クローン, 2003年には144クローン, 2002年は120クローン, 2004年は143クローンであった。Cry j 1含量とCry j 2含量はいずれも平均値付近をピークとする山型の分布をしており, 顕著なクローン間変異が認められた(図-1)。また, Tukeyの多重検定の結果, Cry j 2含量においては各年次の平均値間で有意な差異は認められなかったが, Cry j 1含量においては, 2002年と2004年の平均値, 2004年と2005年の平均値の間に0.1%水準で有意差が認められた。Cry j 1及びCry j 2含量における各年次間の順位相関係数を表-2に示した。Cry j 1含量においては, 2002年と2003年, 2002年と2005年, 2003年と2005年の間では, 0.1%水準で有意な正の相関が認められたが, 2004年とその他の年次との間では相関が低く, 2003年と2004年, 2004年と2005年の間では5%水準及び1%水準で有意な

正の相関が認められたものの、2002年と2004年の間では有意な相関は認められなかった（表-2a）。Cry j 2含量においては、いずれの年次間においても1%水準または0.1%水準で有意な相関が認められた（表-2b）。Cry j 1及びCry j 2含量の反復率は、25.7%及び29.2%であった。

3.2 アレルゲン含量のクローン最小自乗推定値の推定

4カ年のデータから推定したCry j 1含量のクローン最小自乗推定値とCry j 2含量のクローン最小自乗推定値を表-1に、Cry j 1含量のクローン最小自乗推定値とCry j 2含量のクローン最小自乗推定値の頻度分布を図-2に示した。Cry j 1及びCry j 2含量のクローン最小自乗推定値は、いずれも年次ごとのCry j 1及びCry j 2含量と同様山型の分布を示し、顕著なクローン間変異があることが明らかになった。Cry j 1及びCry j 2含量の平均値及び標準偏差は、 $453 \pm 125 \mu\text{g}$ 及び $420 \pm 143 \mu\text{g}$ であり、Cry j 1含量の方がやや平均値が高く、標準偏差が小さかった。Cry j 1含量及びCry j 2含量の最小自乗推定値の順位相関係数は0.456で、0.1%水準で有意な正の相関が見出された（図-3）。

3.3 各クローンのアレルゲン含量の評価

Cry j 1及びCry j 2含量のいずれにおいても天竜17号が最小値を示し（ $88 \mu\text{g}$ 及び $74 \mu\text{g}$ ）、Cry j 1含量においては吉田103号が $750 \mu\text{g}$ 、Cry j 2含量においては南会津8号が $750 \mu\text{g}$ の最大値を示した。これらに対するt検定の結果から、Cry j 1含量が1に区分されたクローンは44、2に区分されたクローンは86、3に区分されたクローンは16であり、Cry j 2含量が1に区分されたクローンは39、2に区分されたクローンは71、3に区分されたクローンは36であった（表-1）。これらの評価値を合計した総アレルゲン含量の評価値では、2、3、4、5及び6に区分されたクローン数はそれぞれ22、33、54、28、9クローンであり、このうち「花粉の少ないスギ」品種は13、13、20、10、1クローンであった（図-4）。Cry j 1含量とCry j 2含量がともに少ないと認められる6に区分された9クローンのうち、アレルゲン含量の測定回数が少ない大野1号を除く8クローンについて、その分布を図-3に示した。天竜17号にこれらのクローンを加えた場合の選抜率は5.5%であり、これらのクローンの総アレルゲン含量の推定値の平均値は全体の平均値 $853 \mu\text{g/g}$ の約50%に相当する $441 \mu\text{g/g}$ であった。

4 考 察

本研究では、雄花着生量が少なく、さらにアレルゲン含量も少ないスギ精英樹を特定することを目的として、「花粉の少ないスギ」品種57品種と雄花着生量が比較的に少ない精英樹89クローンの合計146品種を対象に、アレルゲン含量を調査した。花粉を採取する時期は限定されるため、1年当たりの花粉を採取できる個体数には労力的な限界がある。そのため、できるだけ多くのクローンについて調査を行うために、1クローン当たり1ラメートから花粉を採取することとし、評価の信頼性を高めるために、4年間にわたって同一ラメートから花粉を採取してアレルゲン含量を調査した。その結果、Cry j 1含量とCry j 2含量のいずれにおいても顕著なクローン間変異があることが明らかになった。また、2004年のCry j 1含量を除き、Cry j 1含量及びCry j 2含量には年次間で有意な正の順位相関が認められたことから、安定的にCry j 1含量及びCry j 2含量が少ないクローンを選定できると考えられた。4年間のCry j 1含量とCry j 2含量から求めたクローン最小自乗推定値の間には、有意な正の相関が認められたことから、Cry j 1含量とCry j 2含量がともに少ないクローンを選定できる可能性が示唆され

た。そこで、Cry j 1含量及びCry j 2含量のクローン最小自乗推定値に基づき、Cry j 1及びCry j 2含量がともに少ないクローンの選定を試みた。

Cry j 1含量とCry j 2含量のいずれにおいても天竜17号が最小値を示し、いずれも全体の平均値の5分の1から6分の1程度と著しく低く、総アレルゲン含量の推定値も全体の平均値の5分の1以下であった。さらに、その他のクローンのCry j 1含量及びCry j 2含量について、天竜17号に対する t 検定を行い、天竜17号と同様にアレルゲン含量が少ないと考えられるクローンを明らかにした。図-3から明らかなように、この方法によってCry j 1含量とCry j 2含量の両者が少ないクローンを明らかにすることができた。これらのクローンの総アレルゲン含量の推定値は、それぞれ全体の平均値の18~63%であり、これらも利用することによってスギ花粉症を軽減できると期待される。天竜17号は「花粉の少ないスギ」品種でもあり、特に花粉症対策に有効なクローンであると考えられたことから、2006年に「アレルゲンの少ないスギ」品種として公表した。

一方、「花粉の少ないスギ」品種の中にも総アレルゲン含量の評価値が2や3といった、アレルゲン含量が多いクローンが見出されたが、これらの総アレルゲン含量の推定値は最も多いクローンでも全体の平均値の2倍に満たない。筆者らが、都県⁷⁾及び林木育種センター¹³⁾で行った精英樹の雄花着生量の指数評価と、遠藤らが22年生のスギから得た着花指数と雄花乾重量の対応データに基づいて試算した結果では、「花粉の少ないスギ」品種における雄花乾重量の平均値は、一般的な精英樹の雄花生産量の5分の1程度であった（未発表）。着花指数では、雄花着生量を樹冠全体における着花枝の割合と枝当たりの平均的な着花量に基づいて評価するため、着花指数と雄花生産量の関係は樹体のサイズに影響を受ける。そのため、この試算を一般化することは難しいが、雄花着生量のクローン間変異はアレルゲン含量のクローン間変異以上に大きいと考えられるため、本研究で得られた結果が「花粉の少ないスギ」品種の有効性を否定することにはならないと考える。今後、東北育種基本区、関西育種基本区及び九州育種基本区においても精英樹のアレルゲン含量の評価を進める予定であるが、花粉症対策効果の高いクローンを選定するためには、アレルゲン含量を単独で評価するのではなく、雄花着生量の少ないクローンを対象としてアレルゲン含量を評価し、その中からアレルゲン含量が少ないクローンを選定することが望ましい。

年次を母数効果として得られたCry j 1含量及びCry j 2含量における反復率は、25.7%及び29.2%であり、単年次の調査におけるCry j 1含量の反復率が60~79.8%であったのと比較して低かった¹²⁾。その理由として、年次ごとのクローンの反復がないために誤差が大きくなった可能性と、クローンと年次の交互作用が存在する可能性が考えられる。今回は、労力面の制約から、年次とクローンの組み合わせの中に反復を設けなかったために、クローンと年次の交互作用と誤差とを分けることができず、クローンと年次の交互作用を検討することができなかった。本研究の目的はアレルゲン含量の少ないクローンの選定にあったため、できるだけ多くのクローンについて複数年調査を行い、選抜強度を高めることによって、どの年次においてもアレルゲン含量が低いクローンを選定することによって、信頼性を向上させる手法を用いた。これは、クローンと年次の交互作用も含めた大きな誤差のもとでも他のクローンと比較して有意にアレルゲン含量が少ないクローンを選ぶことになり、選抜を考える上で妥当な方法といえる。しかし、将来的には、クローンと年次の交互作用についても検討する必要があるだろう。

これまでに、Cry j 1及びCry j 2含量におけるクローンと年次の効果について詳細に解析した研究はほとんどないが、既報²⁾において気象条件がCry j 1含量に影響を及ぼす可能性が示唆されていることから、アレルゲン含量には、気象条件の変化に起因する年次変動が存在すると考えられる。本研究で得られたデータでは不十分であ

るが、今後データを蓄積することによって、アレルゲン含量の年次変動に關与する要因や、雄花着生量の年次変動との同調性について明らかにできる可能性がある。Cry j 1 含量の反復率は、クローン順位の相関が低かった2004年のデータを除くと38.4%に向上した（データ示さず）。2004年は前年が冷夏であった影響で、スギの凶作年であった。凶作年には花粉飛散量そのものが少なく花粉症の発症率や重篤度が低下するので、アレルゲン含量の変動は大きな問題にならない。本研究では、雄花着生量とCry j 1 含量の關係が明らかではないため、2004年度のデータも含めて解析を行ったが、今後の研究で、凶作年においてCry j 1 含量に關するクローン間の順位が大きく変動するといった、クローンと年次の交互作用が存在することが裏付けされれば、花粉症問題への影響が大きい豊作年及び並作年のデータのみを用いた解析を行うなど、より実用に即した評価が可能となるだろう。

謝 辞

国立病院機構相模原病院臨床研究センターの安枝浩博士には、アレルゲン含量の定量に使用する抗体及びCry j 1 標品を分与していただくとともに、定量法に關してご助言いただいた。北海道育種場育種課の那須仁弥育種研究室長には、データ解析に關してご助言いただいた。千葉県印旛農林振興センターの遠藤良太氏には、スギの雄花着花指数と雄花着花乾重量のデータを提供していただいた。伊佐見邦子氏、立原克代氏には実験を補助していただいた。ここに深く感謝申し上げる。

引用文献

- 1) Goto, Y., Kondo, T., Yasueda, H.: Inducing male flowering applying gibberellic acid has no effect on the Cry j 1 concentration in *Cryptomeria japonica* pollen. *Silvae Genet* 52: 139-143 (2003)
- 2) Goto, Y., Kondo, T., Hayashi, E., Kuramoto, N., Takahashi, M., Yasueda H.: Influences of genetic and environmental factors on the concentration of the allergen Cry j 1 in sugi (*Cryptomeria japonica*) pollen. *Tree Physiol* 24: 409-414 (2004)
- 3) Goto, Y., Kondo, T., Ide, T., Yasueda, H., Kuramoto, N., Yamamoto, K.: Cry j 1 isoforms derived from *Cryptomeria japonica* trees have different binding properties to monoclonal antibodies. *Clin Exp Allergy* 34: 1754-1761 (2004)
- 4) 後藤陽子: スギにおける花粉アレルゲンの遺伝的変異に關する研究. *林育研報* 21: 1-66 (2005)
- 5) Hashimoto, M., Nigi, H., Sakaguchi, M., Inouye, S., Imaoka, K., Miyazawa H., Taniguchi, Y., Kurimoto, M., Yasueda, H., Ogawa, T.: Sensitivity to two major allergens (Cry j I and Cry j II) in patients with Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollinosis. *Clin Exp Allergy* 25: 848-852 (1995)
- 6) 日本アレルギー学会アレルゲン検討委員会: 委員会報告ー我が国におけるアレルゲン標準化の基本方針とスギ花粉アレルゲンエキスの標準化ー. *アレルギー* 45: 416-421 (1996)
- 7) 林野庁: 雄花着花性に關する調査報告書 (1991-2000)
- 8) Saito, M., Teranishi, H.: Immunological determination of the major allergen, Cry j 1, in *Cryptomeria japonica* pollen of 117 clones in Toyama prefecture: Some implications for further forestry research in pollinosis prevention. *Allergol Int* 51(3): 191-196 (2000)
- 9) 斎藤真己, 寺西秀豊, 平 英彰: 全国25道県におけるスギ花粉アレルゲン-Cry j 1-量の変異と遺伝率の推定. *日林誌*

85(4): 312-317 (2003)

- 10) Sakaguchi, M., Inouye, S., Taniai, M., Ando, S., Usui, M., Matuhasi, T.: Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy* 45: 309-312 (1990)
- 11) 佐々木義則, 谷口美文, 正山征洋: スギ倍数体花粉のアレルゲン分析. 大分県林試研究時報22: 8-12 (1996)
- 12) 澤谷真奈美, 安枝 浩, 秋山一男, 信太隆夫, 谷口美文, 臼井美津子, 安藤駿作, 栗本雅司, 松橋 直. スギ花粉アレルゲン *Cry j* II の免疫学的, 物理化学的性質. アレルギー42(6):738-747 (1993)
- 13) 千田雅一, 近藤禎二: 関東育種基本区のスギ精英樹のクローン集植所における雄花着花性. 林育研報15: 1-30 (1998)
- 14) Yasueda, H., Yui, Y., Shimizu, T., Shida, T.: Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J. Allergy Clin Immunol* 71(1): 77-86 (1983)
- 15) Yasueda, H., Saito, A., Sakaguchi, M., Ide, T., Saito, S., Taniguchi, Y., Akiyama, K., Inouye, S. Identification and characterization of a group 2 conifer pollen allergen from *Chamaecyparis obtusa*, a homologue of *Cry j* 2 from *Cryptomeria japonica*. *Clin Exp Allergy* 30: 546-550 (2000)

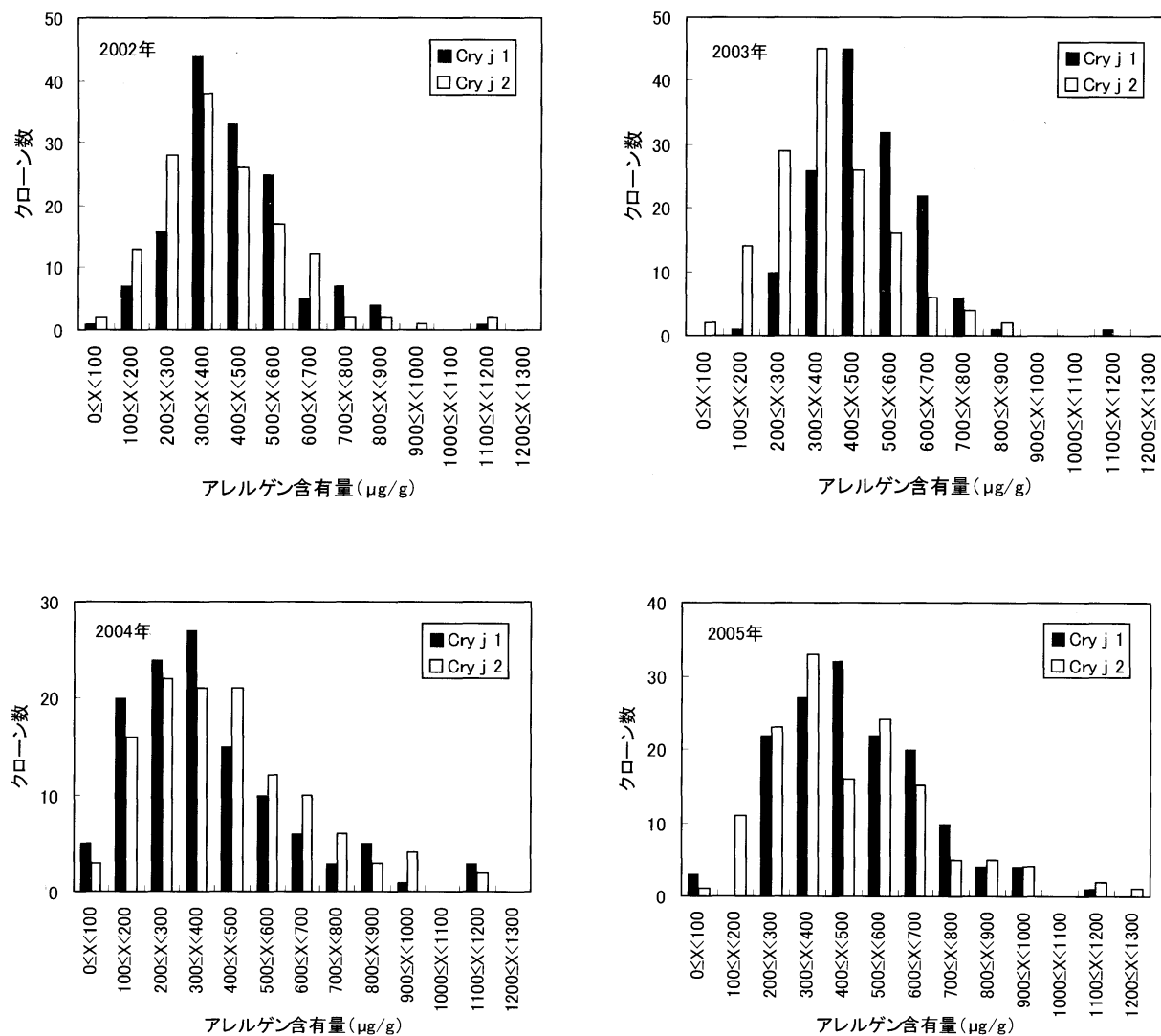


図-1 各年次におけるCryj1含量及びCryj2含量のクローン間変異

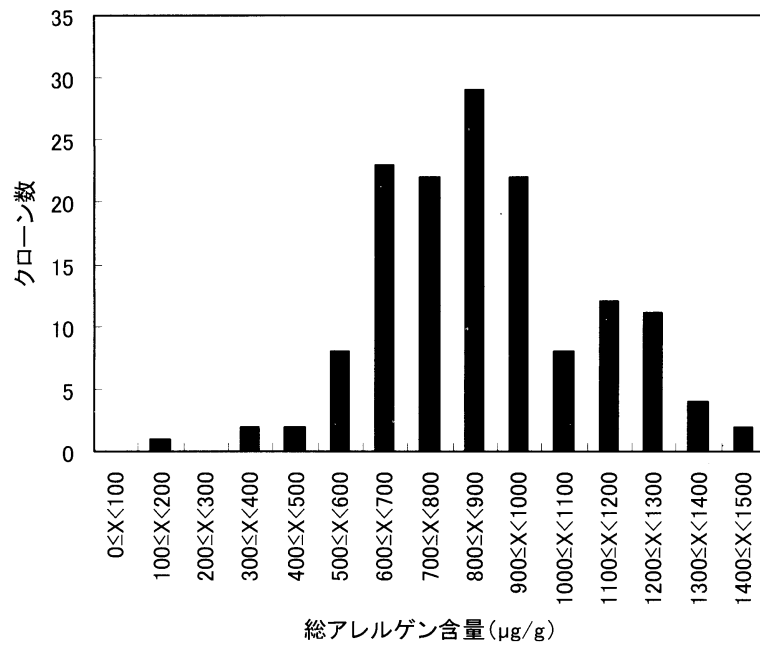


図-2 総アレルゲン含量のクローン間変異

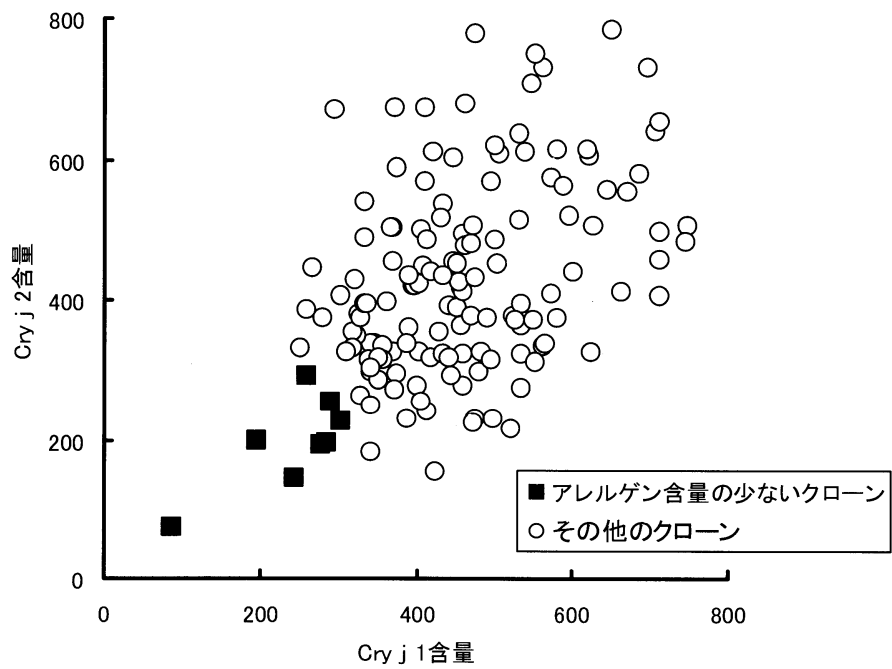


図-3 Cryj1含量とCryj2含量の相関関係

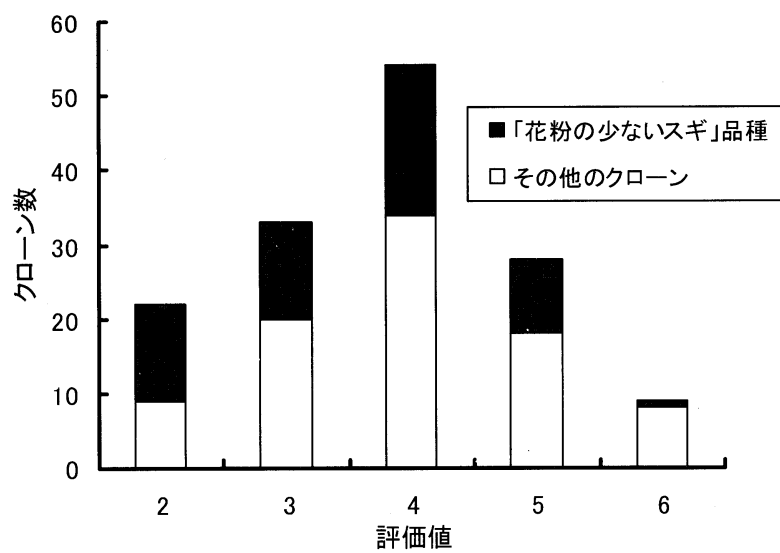


図-4 総アレルギー含量による評価値の頻度分布

表-1 146クローンCryj1,Cryj2及び総アレルギー含量とその評価値

精英樹コード	精英樹名	育種区	選抜県	Cry j 1含量 (µg/g)					Cry j 2含量 (µg/g)					総アレルギー含量 (µg/g)				
				H14	H15	H16	H17	lsn 評価値	H14	H15	H16	H17	lsn 評価値	H14	H15	H16	H17	推定値 評価値
782	南会津4	北関東	福島	307	335	252	406	325 2	316	245	79	756	349 2	623	580	330	1162	674 4
786	南会津8	北関東	福島	629	592	586	406	553 1	540	835	927	696	750 1	1169	1427	1513	1102	1303 2
796	東白川1	北関東	福島	412	385	376	430	401 2	338	251	235	286	278 3	751	637	612	716	678 5
797	東白川2	北関東	福島	196	471	203	515	346 2	379	357	180	431	337 2	575	828	383	946	683 4
802	東白川7	北関東	福島	411	458	283	428	395 2	703	346	352	274	419 2	1114	803	635	703	814 4
803	東白川8	北関東	福島	144	380	381	377	321 2	342	430	522	420	429 2	485	811	903	797	749 4
804	東白川9	北関東	福島	268	467	225	507	367 2	366	555	227	856	501 2	634	1023	452	1363	868 4
805	東白川10	北関東	福島	286	372	211	271	285 3	147	104	171	358	195 3	433	476	382	629	480 6
813	石城2	北関東	福島	442	413	157	290	326 2	384	383	188	570	381 2	826	797	345	860	707 4
814	石城3	北関東	福島	233	335	478	318	341 2	92	233	250	148	181 3	325	568	728	466	522 5
818	石川1	北関東	福島	547	772	205	507	508 2	584	468	466	914	608 1	1131	1240	670	1421	1116 3
834	田村1	北関東	福島	457	590	415	439	475 2	1104	782	514	710	778 1	1561	1372	929	1150	1253 3
846	河沼1	北関東	福島	478	588	90	522	420 2	564	518	36	643	440 2	1042	1107	126	1165	860 4
885	坂下2	北関東	福島	330	450		274	336 2	385	461		332	395 2	715	911		606	731 4
887	上都賀1	北関東	栃木	256	417	353	345	343 2	293	193	227	481	299 3	548	610	580	826	641 5
888	上都賀2	北関東	栃木	761	547	466	556	583 1	388	271	316	521	374 2	1148	819	782	1077	957 3
895	上都賀9	北関東	栃木	694	632	177	631	534 1	665	629	244	1005	636 2	1360	1261	421	1636	1169 3
900	南那須2	北関東	栃木	535	415	212	480	411 2	438	640	288	1318	671 1	973	1055	500	1798	1082 3
918	矢板4	北関東	栃木	371	413	218	479	370 2	276	366	342	321	326 2	647	779	559	800	697 4
925	今市2	北関東	栃木	404	466	125	496	373 2	614	769	662	639	671 1	1018	1235	788	1135	1044 3
930	利根3	北関東	群馬	430	446		343	391 2	165	326		581	359 2	595	772		924	750 4
931	利根4	北関東	群馬	637	618	124	551	483 2	267	422	246	375	328 2	904	1040	370	926	810 4
933	利根6	北関東	群馬		601		353	446 2		366		233	293 3		967		586	739 5
938	北群馬1	北関東	群馬	448	449	245	487	407 2	279	283	229	226	254 3	726	732	474	713	662 5
939	甘楽1	北関東	群馬	562	616	198	632	502 2	558	592	739	584	618 1	1120	1208	937	1216	1120 3
943	吾妻2	北関東	群馬	234	251	980	237	426 2	152	167	135	162	154 3	386	418	1115	400	580 5
944	吾妻3	北関東	群馬	283	345	62	417	277 3	232	155	177	204	192 3	515	500	239	621	469 6
946	群馬2	北関東	群馬	540	502	138	308	372 2	298	337	139	313	272 3	838	839	277	621	644 5
947	群馬3	北関東	群馬	378	485	358	409	408 2	237	426	406	923	498 2	614	911	764	1332	906 4
948	群馬4	北関東	群馬	197	439	391		352 2	212	399	294		318 3	409	839	685		670 5
949	群馬5	北関東	群馬	477	660	1125	253	629 1	526	332	555	611	506 1	1003	992	1680	864	1135 2
952	桐生2	北関東	群馬	244	696		345	413 2	227	218		274	242 3	471	914		619	655 5
954	多野1	北関東	群馬	418	705	368	598	522 1	125	242	292	202	215 3	543	948	660	801	738 4
955	多野2	北関東	群馬	350	543	300	241	359 2	238	410	517	172	334 2	588	952	817	413	693 4
956	多野3	北関東	群馬	252	414	184	395	311 2	251	388	158	510	327 2	503	802	342	905	638 4
962	山田1	北関東	群馬	324	595		370	415 2	413	527		509	485 2	737	1123		879	899 4
964	月夜野3	北関東	群馬	437	539	220	799	499 2	402	86	237	196	230 3	839	625	457	995	729 5
965	月夜野4	北関東	群馬	366	582		272	392 2	474	538		288	435 2	840	1120		560	827 4
968	中之条4	北関東	群馬	497	1118	346	422	596 1	375	626	600	478	520 1	873	1744	946	899	1116 2
969	中之条5	北関東	群馬	351	640	1360	634	746 1	304	346	818	462	483 2	655	985	2179	1096	1229 3
976	高崎3	北関東	群馬	387	408	93	389	319 2	446	395	198	376	354 2	833	803	291	765	673 4
982	前橋4	北関東	群馬	360	549	159	266	334 2	577	499	570	514	540 1	937	1048	729	780	874 3
986	水上1	北関東	群馬	322	671	458	401	463 2	614	434	346	1315	677 1	937	1105	803	1717	1140 3
987	沼田1	北関東	群馬	306	436	696	284	431 2	344	346	535	199	356 2	650	782	1231	483	787 4
990	梅田1	北関東	群馬	202	419	118	298	259 3	218	220	317	414	292 3	420	639	435	713	552 6
993	多賀2	関東平野	茨城	150	341	307	537	334 2	370	215	483	882	488 2	519	556	791	1420	821 4
998	多賀8	関東平野	茨城	433	641	721	689	621 1	434	492	674	853	613 1	867	1133	1394	1541	1234 2
1004	多賀14	関東平野	茨城	365	562		502	461 2	175	282		369	277 3	541	844		871	738 5
1007	那珂1	関東平野	茨城	488	541	276	541	462 2	293	410	334	613	413 2	781	952	609	1154	874 4
1008	那珂2	関東平野	茨城	359	437		357	369 2	312	440		745	501 1	671	877		1101	870 3
1011	那珂5	関東平野	茨城	397	423	625	720	541 1	384	329	876	846	609 1	781	752	1501	1566	1150 2
1015	久慈3	関東平野	茨城	866	600		637	686 1	590	620		520	579 1	1456	1220		1157	1264 2
1018	久慈6	関東平野	茨城	570	597	267	707	535 1	274	246	232	546	325 2	844	844	499	1253	860 3
1028	久慈17	関東平野	茨城	348	607	586	785	582 1	166	504	843	942	614 1	514	1111	1430	1727	1195 2
1035	久慈24	関東平野	茨城	780	517	151	515	491 2	656	326	215	300	374 2	1436	842	367	815	865 4
1039	久慈28	関東平野	茨城	483	589	259	461	448 2	685	447	622	651	601 1	1168	1036	881	1112	1049 3
1051	稲敷1	関東平野	茨城	362	558	471	428	455 2	388	326	714	279	427 2	750	884	1185	708	882 4
1053	筑波1	関東平野	茨城	498	612		242	436 2	337	646		316	435 2	835	1257		558	870 4
1124	西川7	関東平野	埼玉	325	613	299	505	436 2	335	366	441	152	324 2	660	979	740	657	759 4
1136	比企1	関東平野	埼玉	339	572	324	362	399 2	487	354	550	291	421 2	827	926	875	653	820 4
1148	比企13	関東平野	埼玉	554	349	155	313	343 2	243	250	194	307	249 3	798	599	349	620	591 5
1152	秩父県3	関東平野	埼玉	479	543	364	634	505 2	437	302	143	918	450 2	916	845	507	1552	955 4
1154	秩父県5	関東平野	埼玉	711	544	868	703	707 1	490	479	998	586	638 1	1200	1023	1867	1289	1345 2
1159	秩父県10	関東平野	埼玉	481	575	1024	767	712 1	418	482	973	734	652 1	899	1057	1997	1501	1364 2
1170	鬼沼6	関東平野	千葉	461	420	252	724	464 2	310	339	700	560	477 2	772	759	952	1284	942 4
1174	鬼沼10	関東平野	千葉	211	368	889	374	461 2	142	374	406	366	322 2	353	742	1295	741	783 4
1175	北三原1	関東平野	千葉	272	482	551	485	448 2	278	497	746	291	453 2	550	978	1298	776	901 4
1176	北三原3	関東平野	千葉	395	384	877	840	624 1	530	203	122	453	327 2	925	587	999	1293	951 3
1178	周南1	関東平野	千葉	500	489		548	497 1	546	588		565	568 1	1046	1078		1112	1065 2
1182	東1	関東平野	千葉	785	505	554	651	624 1	626	362	784	645	604 1	1411	867	1338	1295	1228 2
1183	勝浦1	関東平野	千葉	706	750	287	514	564 1	843	336	1105	630	729 1	1550	1086	1392	1143	1293 2
1185	郷台1	関東平野	千葉	574	562	343	660	535 1	579	274	271	450	394 2	1153	836	614	1110	928 3
1202	西多摩2	関東平野	東京	298	381	518	493	423 2	600	202	629	1010	610 1	898	583	1147	1503	1033 3

「花粉の少ないスギ」品種をグレーの網掛けで示した。

表-1 (つづき)

精英樹コード	精英樹名	育種区	選抜県	Cry j 1 含量 (μg/g)					Ism	評価値	Cry j 2 含量 (μg/g)					Ism	評価値	総アレルゲン含量 (μg/g)					Ism	評価値
				H14	H15	H16	H17	H14			H15	H16	H17	H14	H15			H16	H17	推定値				
1203	西多摩3	関東平野	東京	643	580	595	535	588	1	546	330	1014	353	561	1	1189	910	1609	888	1149	2			
1213	西多摩14	関東平野	東京	696	535	493	882	652	1	1146	294	978	710	782	1	1842	829	1471	1592	1434	2			
1237	中4	関東平野	神奈川	462	479	666	656	566	1	402	338	302	308	338	2	864	817	968	964	903	3			
1247	足柄下1	関東平野	神奈川	333	322	387	278	330	2	524	288	343	348	376	2	857	610	730	626	706	4			
1248	足柄下2	関東平野	神奈川	250	265	411	395	330	2	250	263	158	384	264	3	499	528	570	779	594	5			
1249	足柄下3	関東平野	神奈川	370	221	371	373	334	2	452	365	264	493	394	2	822	586	635	865	727	4			
1250	足柄下4	関東平野	神奈川	393	283	172	318	292	3	322	242	170	290	256	3	715	525	343	607	548	6			
1251	足柄下5	関東平野	神奈川	512	607	391	693	551	1	300	273	422	488	371	2	812	880	813	1181	922	3			
1252	足柄下6	関東平野	神奈川	502		340	450	441	2	306		333	348	317	3	808		673	798	758	5			
1256	足柄上1	関東平野	神奈川	307	313	353	304	319	2	401	312	448	165	332	2	709	625	801	469	651	4			
1258	足柄上3	関東平野	神奈川	372	616	1050	612	663	1	420	373	534	318	411	2	792	988	1584	930	1074	3			
1260	足柄上5	関東平野	神奈川	303	460	460	262	371	2	332	815	284	382	453	2	635	1275	744	644	825	4			
1264	愛甲1	関東平野	神奈川	517	503		1159	711	1	319	391		503	406	2	836	894		1663	1117	3			
1265	愛甲2	関東平野	神奈川	426	454	164	409	363	2	299	465	252	571	397	2	725	919	416	980	760	4			
1268	津久井2	関東平野	神奈川	178	226	589	225	305	3	154	314	125	316	227	3	332	541	714	540	532	6			
1269	津久井3	関東平野	神奈川	465	291		668	460	2	587	463		422	493	1	1052	754		1090	952	3			
1274	丹沢1	関東平野	神奈川	384	244	491	308	357	2	275	393	250	344	316	3	659	637	742	652	672	5			
1275	丹沢3	関東平野	神奈川	562	319	375	556	453	2	398	570	450	385	451	2	961	890	825	941	904	4			
1277	丹沢5	関東平野	神奈川		631		380	475	1		166		308	230	3		797		688	705	4			
1278	丹沢6	関東平野	神奈川	771	597	614	423	601	1	418	480	402	458	440	2	1189	1077	1016	881	1041	3			
1281	丹沢9	関東平野	神奈川	553	768	824	706	713	1	627	308	271	621	457	2	1180	1076	1095	1327	1170	3			
1282	丹沢10	関東平野	神奈川	331	491		243	340	2	270	307		359	314	3	600	799		603	654	5			
1289	片浦1	関東平野	神奈川	583	449	460	410	476	2	693	453	160	417	431	2	1276	901	620	827	906	4			
1292	片浦4	関東平野	神奈川	510	587	276	921	574	1	654	592	543	501	573	1	1164	1179	819	1422	1146	2			
1293	片浦5	関東平野	神奈川	596	426	367	710	525	1	451	125	390	539	376	2	1047	551	758	1249	901	3			
1303	上伊那1	中部山岳	長野	489	445	620	453	502	2	303	350	790	500	486	2	792	795	1410	953	988	4			
1320	下高井10	中部山岳	長野	416				433	3	499				518	1	915				950	4			
1323	下高井13	中部山岳	長野	458	692	530	612	573	1	240	390	446	554	408	2	698	1083	976	1165	981	3			
1327	下高井17	中部山岳	長野	337	397	135	248	279	3	335	369	414	382	375	2	673	765	550	630	654	5			
1334	下高井24	中部山岳	長野	512	602	161	468	436	2	528	543	498	572	535	1	1040	1145	659	1040	971	3			
1342	下伊那3	中部山岳	長野	530	740	185	372	457	2	390	433	292	554	417	2	919	1173	477	925	874	4			
1364	長水5	中部山岳	長野	590	627		845	672	1	560	512		586	555	1	1150	1139		1431	1227	2			
1373	飯山2	中部山岳	長野	530	467	425	409	458	2	362	340	402	351	364	2	892	807	827	760	822	4			
1379	飯山9	中部山岳	長野	392	376	367	500	409	2	472	488	404	424	447	2	864	864	771	924	856	4			
1396	長野5	中部山岳	長野	235	357		341	296	3	270	438		1298	671	1	505	795		1639	966	4			
1415	諏沢7	中部山岳	山梨	510	491	319	560	470	2	421	492	352	240	376	2	930	983	671	800	846	4			
1431	吉田103	中部山岳	山梨	1131	447		716	750	1	996	346		170	506	1	2127	793		886	1255	2			
1439	諏沢16	中部山岳	山梨	133	215	170	267	196	3	126	198	254	217	199	3	260	412	424	484	395	6			
1440	諏沢17	中部山岳	山梨	248	421	165	237	268	3	324	416	340	699	445	2	572	837	505	935	713	5			
1469	大野1	中部山岳	岐阜		474		274	343	3		288		332	303	3		762		606	647	6			
1470	大野2	中部山岳	岐阜	406	515		541	472	2	110	188		371	225	3	517	703		912	697	5			
1484	恵那5	中部山岳	岐阜	573	415		638	527	1	440	264		409	373	2	1013	679		1047	900	3			
1490	美濃1	中部山岳	岐阜	437	267	18	289	253	3	430	154	467	276	332	2	867	420	485	565	585	5			
1491	武儀1	中部山岳	岐阜	774	452	307	388	480	2	426	165	323	273	297	3	1200	617	630	661	777	5			
1537	伊豆8	東海	静岡	522	493	572	402	497	2	229	130	411	488	315	3	751	624	983	890	812	5			
1538	伊豆9	東海	静岡	327	231	164	257	245	3	210	105	144	116	144	3	537	336	308	373	389	6			
1548	大井2	東海	静岡	427	420	317	970	534	1	470	202	687	690	512	1	897	622	1004	1660	1046	2			
1549	大井3	東海	静岡	366	688		634	548	1	146	555		1411	706	1	512	1243		2045	1253	2			
1550	大井4	東海	静岡	357	353	224	475	352	2	361	182	351	254	287	3	718	535	575	729	639	5			
1552	大井6	東海	静岡	468	597	617	463	536	1	278	278	482	68	277	3	746	874	1099	531	813	4			
1553	大井7	東海	静岡	415	493	706	635	562	1	329	374	393	248	336	2	744	867	1099	883	898	3			
1555	大井9	東海	静岡	491	605	487	627	553	1	141	360	429	316	312	3	632	965	916	943	864	4			
1557	大井11	東海	静岡	376	328	288	563	389	2	230	193	263	237	231	3	606	521	551	800	620	5			
1558	天竜1	東海	静岡	426	645	895	889	714	1	406	361	606	615	497	2	831	1006	1501	1504	1211	3			
1559	天竜2	東海	静岡	372	374	444	492	421	2	442	258	332	244	319	2	814	632	776	736	740	4			
1561	天竜4	東海	静岡	370	423	462	625	470	2	378	398	542	600	480	2	748	820	1004	1225	950	4			
1564	天竜7	東海	静岡	521	393	296	605	454	2	262	294	396	598	388	2	783	686	692	1203	841	4			
1565	天竜8	東海	静岡	803	461		904	708	1	737	557		614	638	1	1540	1018		1518					

表-2 Cryj1及びCryj2含量における年次間のクローン順位相関係数

a

	2002	2003	2004	2005
2002		0.44***	0.05 ^{n.s.}	0.54***
2003			0.20*	0.33***
2004				0.28**

b

	2002	2003	2004	2005
2002		0.34***	0.34***	0.31***
2003			0.35***	0.43***
2004				0.29**

n.s. $p > 0.05$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$