

蟑螂過敏

吳啓輝 李美芳

台中榮民總醫院教學研究部

摘要

漂浮在空氣的過敏原中，蟑螂是重要過敏原之一，能引發氣喘疾病。Bernton 和 Brown 在 1964 年，明確記錄蟑螂過敏原的皮膚反應試驗。隨後 Kang 等證實氣喘病患者與吸入蟑螂過敏原二者之間的關係。

最常見的美國和德國蟑螂過敏原已經被鑑定，其分子量大多分佈於 6-120 kd 之間。目前已有三種美國蟑螂過敏原 Per a 3、Per a 1 與 Per a 7 和六種德國蟑螂過敏原 Bla g 1、Bla g 2、Bla g 4、Bla g 5、Bla g 6 與 Bla g Bd90k 被選殖出，並且定出基因序列。大部分蟑螂過敏原有類別特異性，只有 Per a 1 與德國蟑螂過敏原 Bla g 1 具有交叉性過敏原 (cross-reactive allergen) 之特性。Per a 3 和昆蟲 hemolymph protein 序列有 20.1% 到 36.4% 同源性 (homology)。Per a 1 跟非洲蚊 (*Anopheles gambiae*) 之母蚊吸血時所誘發的一種前驅蛋白，有 27.0% 至 32.0% 序列相似。Per a 7 和許多無脊椎動物 tropomyosin 有很高的同源性。德國蟑螂過敏原 Bla g 2 和多種 aspartic 蛋白質酵素和 chymosin 有同源性。Bla g 4 是一種 Ligand 結合蛋白質。Bla g 5 屬於 glutathione-S-transferase (GST) 酵素家族，和其他昆蟲的 GST 和塵蟎過敏原 Der p 8 有同源性。Bla g 6 和 troponin-C 有同源性。

雖然許多蟑螂過敏原的基因已經定序，但是關於抗原表位的訊息仍不清楚。目前只有 Per a 1 與 Per a 3 之 IgE 結合表位 (epitopes) 已被標定。重組蟑螂過敏原及 IgE 結合表位之標定，可用來標準化蟑螂粗萃取液及免疫治療蟑螂過敏性疾病。

關鍵詞： 蟑螂過敏
美國蟑螂過敏原
德國蟑螂過敏原
重組過敏原
IgE 結合表位

前言

蟑螂分布在全世界人類居住的城市內，是各種傳染性疾病的媒介¹。在已知的 3500 多種蟑螂，僅有美國蟑螂 (*Periplaneta americana*)、德國 (*Blattella germanica*)、東方 (*Blatta orientalis*)、Brown-banded (*Supella longipalpis*) 和 Smokey brown (*Periplaneta uliginosa*) 等 5 類經常出現在居家環境中，並可能是室內的過敏原之一²。引起蟑螂過敏的蛋白質可能來自唾液、排泄物、分泌物、脫落的表皮和蟑螂的屍體。漂浮在空氣的過敏原中，蟑螂是重要過敏原之一，能引發氣喘疾病³。Bernton 和 Brown 在 1964 年第一次明確記錄蟑螂過敏原的皮膚反應試驗⁴。在 1979 年 Kang 等證實氣喘病患者與吸入蟑螂過敏原二者之間的關係⁵。隨後許多文獻報告，在世界各地⁶包括台灣⁷，有 40-60% 的過敏病人對蟑螂過敏原，呈陽性皮膚反應。大部分對蟑螂過敏的病患，是因為暴露於高量室內蟑螂過敏原。在醫院的急診病人中也發現，蟑螂過敏原對氣喘病患是一種重要的危險因子^{6,8,9}。1997 年美國 National Cooperative Inner City Asthma 的研究顯示，美國各大城市中，蟑螂過敏原是導致小孩氣喘的一個主要危險因素¹⁰。最近的研究更證實，波士頓城的嬰孩，如果在初生 3 個月內就暴露在蟑螂過敏原下，會在後續一年的發育成長中經常發生氣喘¹¹。

過敏原的分子特性

利用各種免疫化學的技術，目前最常見的美國和德國蟑螂過敏原已經被鑑定，其分子量大多分佈於 6-120 kd 之間^{3,6}。我們早期由美國蟑螂粗萃取液，分離並部分純化出兩群過敏原，分別命名為 Cr-PI (Per a 3) 及 Cr-PII (Per a 1)¹²。Per a 3 群中有兩個主要蛋白質，分子量是 78 和 72 kd，且已知會引起蟑螂過敏患者 T 細胞的增生¹³。而在 Per a 1 群中，分子量為 45、32 和 28 kd 的蛋白質，也已確定是美國蟑螂主要過敏原¹⁴。應用分子選殖技術，可以決定蟑螂過敏原的基因序列，以及研究其生化活性與在正常情形下所扮演的生物角色。構築美國與德國蟑螂的 cDNA 表現基因庫，可利用過敏病人的 IgE 或單株抗體，來篩選含過敏原基因的重組株。這個方法可以快速確立過敏原蛋白質之初級結構，以及 B 細胞與 T 細胞抗原結合表位之線性關係。

目前已有三種美國蟑螂過敏原 Per a 3、Per a 1 與 Per a 7 和六種德國蟑螂過敏原 Bla g 1、Bla g 2、Bla g 4、Bla g 5、Bla g 6 與 Bla g Bd90k 被選殖出，並已定出基因序列^{6,15-27}。大部分蟑螂過敏原有類別特異性，只有 Per a 1 與德國蟑螂過敏原 Bla g 1²³ (包含 Bla g Bd90K) 具有交叉性過敏原之特性¹⁵。

Per a 3 isoallergen 包含有 Per a 3.01、Per a 3.0201、Per a 3.0202 及 Per a 3.0203，是多型態 (polymorphism) 的過敏原。Per a 3 過敏原和目前一些已知的蛋白質序列沒有相似性，而在序列中芳香氨基酸 (aromatic amino acid) 佔有 16.5% 到 17.3%。Per a 3 和昆蟲的 hemolymph protein 序列有 20.1% 到 36.4% 同源性¹⁵⁻¹⁷。美國蟑螂跟其他昆蟲的 hemolymph protein 及動物 lectin，含有相似的 lipopolysaccharide-binding protein，推論這類蛋白質可能也是過敏原。Chironomus thummi (european midge) 的 hemoglobin (Chi t 1) 已

知是引起鼻炎、結膜炎與氣喘的主要過敏原成分²⁸。與 Chironomidae 相近品種間的 hemoglobin 都有免疫交叉反應²⁹，這些結果顯示昆蟲 hemoglobin 和 hemocyanins 都可能是節肢動物的重要過敏原。Per a 1 也包含許多 isoallergen (Per a 1.0101、Per a 1.0102、Per a 1.0104、Per a 1.02 and Per a 1.03)，其分子序列都有很高的同源性。Per a 1 和 Bla g 1²³ 及原來發表為德國蟑螂 Bla g Bd90K²⁷ 過敏原分子有許多共同特性，包括分子內重複序列、磷酸化結合位、粒線體能量轉移蛋白特徵、以及沒有 cysteine 和 N-glycosylation site¹⁸⁻²⁰。Per a 1 跟非洲蚊之母蚊吸血時所誘發的一種前驅蛋白有 27.0% 至 32.0% 序列相似。Per a 7 和許多無脊椎動物的 tropomyosin 有很高的同源性，例如小蝦、蝸牛^{21、22} 和塵蟎之過敏原 Der p 10 及 Der f 10³⁰⁻³²。蟑螂、塵蟎和小蝦的 tropomyosin 具有交叉性的過敏原之特性，它們之分子序列有高相似性，在臨床上有一定的重要性³³。

德國蟑螂過敏原 Bla g 2 和多種 aspartic 蛋白質酵素如 pepsin、cathepsin、和 chymosin 有同源性²⁴。蟑螂過敏病患約有 60%~80% 對 Bla g 2 呈陽性 IgE 反應。Bla g 4 是一種 Ligand 結合蛋白如 calycins²⁵。蟑螂過敏患約有 60% 對 Bla g 4 呈陽性 IgE 反應。Calycins 代表一群重要的過敏原蛋白，例如牛奶的 beta lactoglobulin 和老鼠的尿蛋白。Bla g 5 屬於 GST 酵素家族²⁶，對蟑螂過敏患者有 40% 呈陽性 IgE 反應。Bla g 5 和其他昆蟲的 GST 有 50% 的同源性，和塵蟎的 GST 過敏原 Der p 8 則有 28% 的同源性。GST 是昆蟲對毒性化合物的解毒酵素，為了抵抗殺蟲劑而產生，因此造成 GST 過敏原的 upregulation 可能經由殺蟲劑的使用所導致。Bla g 6 和 troponin-C 有同源性⁶。表一所列是目前已發表的蟑螂過敏原清單，這些過敏原之基因序列皆可由所列之文獻中查出。

表一 蟑螂過敏原之免疫化學特性

種類	過敏原	IgE 結合 (%)	分子量	功能
美國蟑螂	Per a 1	54-77	26-45 kd	Unknown
	Per a 3	26-95	56-79 kd	Insect hemolymph
	Per a 7	50	33 kd	Tropomyosin
德國蟑螂	Bla g 1	30-50	20-15 kd	Unknown
	Bla g 1 ((Bd90K)	77	90 kd	Unknown
	Bla g 2	60	36 kd	Aspartic protease
	Bla g 4	40-60	18 kd	Calycin
	Bla g 5	70	23 kd	GST
	Bla g 6	50	18 kd	Troponin C

過敏原的抗原表位

雖然許多蟑螂過敏原的基因已經定序，但是關於抗原表位的訊息仍不清楚。最近我

們實驗室從 Per a 3.01 重組過敏原 (685 個氨基酸) 利用限制酵素切位 (restriction site) 或聚合酵素連鎖反應 (PCR) 的方法，設計特定的突變株，藉由 *E-coli* 的蛋白質表現載體產生重組蛋白，經免疫轉漬法測定是否具 IgE 活性。實驗結果得知 N-端氨基酸片段 1-399、410-443、472-551、502-579、636-685、606-636 和 C-端片段 636-685 都不能跟 IgE 結合。另一方面，片段 340-425、378-474、466-579、502-595、595-638、466-579 和 595-636 等則對 IgE 呈陽性反應。由以上結果得知，在 Per a 3.01 重組過敏原 IgE 抗原結合表位為氨基酸序列 400-409、466-471、580-595 與 595-605，而且集中在 N 端³⁴。先前我們已經報告 Per a 1.02 的重組過敏原 C42，其 IgE 抗原結合表位是位於分子內的重複區中¹⁹。最近的實驗結果得知，Per a 1.0104 重組株 (274 個氨基酸) 片段 1-77、86-205、200-266 對 IgE 呈陰性反應，而在片段 1-87 與 C 端片段的 200-274 則對 IgE 呈陽性反應。故我們推論氨基酸序列 78-85 與 267-274 是 Per a 1.0104 過敏原 IgE 抗原結合表位³⁵。進一步我們也以合成氨基酸的方法，確認以上關於 Per a 1.0104 與 Per a 3.01 的 IgE 結合表位。用變更重組過敏原結構或過敏原片段氨基酸，來進行免疫治療過敏性疾病的目的是在增加病患 IgG (或 IgG4) 的產量、downregulate IgE 的製造或控制 T 細胞或肥大細胞之反應。至目前為止，還未知上述那一種改變能改善病患之症狀。目前已有報告指出，以改變過敏原分子後之 bovine dauder Bos d 2³⁶ 及塵蟎 Der P 2 過敏原³⁷ 作免疫治療，病患之 IgE 結合能力會有顯著之降低。這種降低 IgE 結合能力之治療方式亦可能應用於其他過敏性疾病。

結語

漂浮在空氣中的蟑螂過敏原是僅次於塵蟎的第二位過敏原。氣喘的發生和吸入室內過敏原有絕對的關聯性。在城市和城市附近地區，有 40% 到 60% 的氣喘患者有蟑螂過敏原的 IgE 抗體。利用 IgE 結合表位之重組過敏原，來做免疫治療過敏疾病是許多人的期望。針對特異性重組過敏原或抗原表位來做免疫治療，其效果是會比使用粗萃取液疫苗更為有效。這些優點包含可以降低每一批次疫苗製造之差異，及使用少量的標準化的過敏原。重組蟑螂過敏原及 IgE 結合表位之標定，可用來標準化蟑螂粗萃取液及免疫治療蟑螂過敏性疾病。

參考文獻

1. Roth LM, Willis ER. The medical and veterinary importance of cockroaches. *Miscellaneous Smithsonian Collections* 1952;134:28.
2. Koehler PG, Patterson RS, Brenner RJ. Cockroaches. In : Mallis A, ed. *Handbook of pest control: the behaviour, life history and control of household pests*. 7th ed. Cleveland: Franzak and Foster, 1990. P. 101-74.
3. Helm RM. Cockroach and other inhalant insect allergens. In: Lockey RF and Bukantz SC, editors. *Allergens and allergen immunotherapy*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc.,

1999;203-23.

4. Bernton H, Brown H. Insect allergy-preliminary studies of the cockroach. *J Allergy* 1964;35:506-13.
5. Kang B, Vellody D, Homburger H, Yunginger JW. Cockroach as a cause of allergic asthma. Its specificity and immunologic profile. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:80-6.
6. Chapman MD, Valies LD, Hayden ML, Platts-Mills TAE, Arruda LK. Cockroach allergens and their role in asthma. In: Kay AB, ed. *Allergy and allergic diseases*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd; 1996. P. 942-51.
7. Lan JL, Lee DT, Wu CH, Chang CP, Yeh CL. Cockroach hypersensitivity: preliminary study of allergic cockroach asthma in Taiwan. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:736-40.
8. Gelber LE, Seltzer LH, Bouzoukis JK, Pollart SM, Chapman MD, Platts-Mills TAE. Sensitization and exposure to indoor allergens as risk factors for asthma among patients presenting to hospital. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:573-8.
9. Call RS, Smith TE, Morris E, Chapman MD, Platts-Mills TAE. Risk factors for asthma in inner city children. *J Pediatr* 1992;121:862-6.
10. Rosenstreich DL, Eggleston PA, Kattan M, Baker D, Salvin RG, Gergen P, et al. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *N Engl J Med* 1997;336:1356-62.
11. Gold DR, Burge HA, Carey V, Milton DK, Platts-Mills TAE, Weiss ST. Predictors of repeated wheeze in first year of life. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:227-36.
12. Wu CH, Lan JL. Cockroach hypersensitivity: Isolation and partial characterization of major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:727-35.
13. Jeng KCG, Liu MT, Wu CH, Wong D, Lan JL. American cockroach Cr-PI allergen induces lymphocyte proliferation and cytokine production in atopic patients. *Clin Exp Allergy* 1996;26:349-56.
14. Wu CH, Hsieh MJ, Huang JH, Luo SF. Identification of low molecular weight allergens of American cockroach and production of monoclonal antibodies. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;76:195-203.
15. Wu CH, Wang NM, Lee MF, Kao CYY, Luo SF. Cloning of the American cockroach Cr-P11 allergens: Evidences for the existence of cross-reactive allergens between species. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:832-40.
16. Wu CH, Lee MF, Liao SC, Luo SF. Sequencing analysis of cDNA clones encoding the American cockroach Cr-PI allergens. Homology with insect hemolymph proteins. *J Biol Chem* 1996;271:17937-43.
17. Wu CH, Lee MF, Wang NM, Luo SF. Sequencing and immunochemical characterization of the American cockroach Per a 3 (Cr-PI) isoallergenic variants. *Mol Immunol* 1997;34:1-8.

18. Wu CH, Lee MF, Liao SC. Isolation and preliminary characterization of cDNA encoding American cockroach allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:352-9.
19. Wang NM, Lee MF, Wu CH. Immunological characterization of a recombinant American cockroach (*Periplaneta americana*) Per a 1 (Cr-P11) allergen. *Allergy* 1999;54:119-27.
20. Yang CY, Wu JD, Wu CH. Sequence analysis of the first complete cDNA clone encoding an American cockroach Per a 1 allergen. *BBA-Gene Struct Expr* 2000;1517:153-8.
21. Asturias JA, Gomez-Bayon N, Arilla MC, Martinez A, Palacios R, Sanchez-Gascon F, et al. Molecular characterization of American cockroach tropomyosin (*Periplaneta americana* allergen 7), a cross-reactive allergen. *J Immunol* 1999;162:4342-8.
22. Santos ABR, Chapman MD, Aalberse RC, Vailes LD, Ferriani PL, Oliver C, et al. Cockroach allergens and asthma in Brazil: Identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and shrimp allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:329-37.
23. Pomes A, Melen E, Vailes LD, Retief JD, Arruda LK, Chapman MD. Novel allergen structures with tandem amino acid repeats derived from German and American cockroach. *J Biol Chem*. 1998;273:30801-7.
24. Arruda L, Vailes LD, Mann BJ, Shannon J, Fox JW, Vedvick TS, et al. Molecular cloning of a major cockroach (*Blattella germanica*) allergen, Bla g 2. *J Biol Chem* 1995;270:19563-8.
25. Arruda L, Vailes LD, Hayden ML, Benjamin DC, Chapman MD. Cloning of cockroach allergen, Bla g 4, identifies ligand binding proteins (or calycins) as a cause of IgE antibody responses. *J Biol Chem* 1995;270:31196-201.
26. Arruda LK, Vailes LD, Platts-Mills TAE, Hayden ML, Chapman MD. Induction of IgE antibody responses by glutathione S-transferase from the German cockroach (*Blattella germanica*). *J Biol Chem* 1997;272:20907-12.
27. Helm R, Cockrell G, Stanley JS, Brenner RJ, Burks W, Bannon GA, et al. Isolation and characterization of a clone encoding a major allergen (Bla g Bd90K) involved in IgE-mediated cockroach hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:172-80.
28. Jomori T, Natori S. Molecular cloning of cDNA for lipopolysaccharide-binding protein from the hemolymph of American cockroach, *Periplaneta americana*. *J Biol Chem* 1991;266:13318-23.
29. Baur X. Chironomid midge allergy. *Arerugi-Jpn J Allergo* 1992;41:81-5.
30. Asturias JA, Arilla MC, Gomez-Bayon N, Martinez A, Martinez J, Palacios R. Sequencing and high level expression in *Escherichia coli* of the tropomyosin allergen (Der p 10) from *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Biochim Biophys Acta* 1998;1397:27-30.
31. Aki T, Kodama T, Fujikawa A, Miura K, Shigeta S, Wada T, et al. Immunochemical

characterization of recombinant and native tropomyosin as a new allergen from the house dust mite, *Dermatophagoides fririnae*. J Allergy Clin Immunol 1995;96:74-83.

32. Shanti KN, Martin BM, Nagpal S, Metcalfe DD, Rao PVS. Identification of tropomyosin as the major shrimp allergen and characterization of its IgE-binding epitopes. J Immunol 1993;151:5354-63.
33. Reese G, Ayuso R, Lehrer SB. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. Int Arch Allergy Immunol 1999;119:247-58.
34. Wu CH, Lee MF, Tseng CY. IgE-binding epitopes of the American cockroach Per a 3 allergen. Allergy (October) 2003;58:?
35. Wu CH, Lee MF, Yang JS, Tseng CY. IgE-binding epitopes of the American cockroach Per a 1 allergen. Mol Immunol 2002;39:459-64.
36. Zeiler T, Taivainen A, Rytönen M, Rautiainen J, Karjalainen H, Mantylarvi R, Tuomisto L, Virtanen T. Recombinant allergen fragments as candidate preparations for allergen immunotherapy. J. Allergy Clin Immunol 1997;100:721-7.
37. Smith AM, Chapman MD. Reduction in IgE binding to allergen variants generated by site-directed mutagenesis : Contribution of disulfide bonds to the antigenic structure of the major house dust mite allergen Der p 2. Mol Immunol 1996;35:399-405.