

短 報

真菌及び真菌抗原の空中飛散調査 —アルテルナリア, ペニシリウム等—

鈴木道子, 沼澤聡明, 高橋裕一
安枝 浩¹⁾, 斎藤明美¹⁾

Studies on Airborne Fungi and Fungi antigens
Alternaria spp. and *Penicillium* spp.

by Michiko SUZUKI, Toshiaki NUMAZAWA, Yuichi TAKAHASHI,
Hiroshi YASUEDA and Akemi SAITOH

Key words : airborne fungi, fungi antigen, *Alternaria*, *Penicillium*

真菌の空中飛散状況と検出方法について調査した。空中真菌はアルテルナリア, ペニシリウム, クラドスポリウム各属, 酵母が認められた。その中でアルテルナリア属, ペニシリウム属が多く検出された。

アルテルナリア属の季節変動は, 春から夏にかけて一峰性を示した。ペニシリウム属も同じような傾向を示した。また, アルテルナリア属の日内変動は, 午後と朝方に多く検出される傾向が認められた。

測定法としてはイムノプロット法がすぐれていることが分かった。

I はじめに

近年, 気管支喘息の原因物質の一つとして真菌の重要性が指摘されている^{1, 2)}。しかし, 屋外, 屋内における真菌の調査はあまり報告がない。空中の真菌の飛散状態を把握するため, アルテルナリア, カンジダ, アスペルギルス, ペニシリウム, クラドスポリウムの各属について培養法で調べた。また, 免疫抗体を用い, アルテルナリアについて季節変動と日内変動を調べた。また調査方法の検討も行った。

II 材料と方法

(1) 測定場所及び調査期間

米沢市 (置賜保健所 屋上)

2002年4月~2003年4月 15:00~16:00.

山形市 (衛生研究所 屋上)

2002年6月~2002年10月.

(2) 測定方法

1. 培養法: ポテトデキストロース寒天平板培地5枚の蓋を開け10分間放置し落下した真菌を捕獲。回収した後25°Cの恒温器で3日~7日間培養を行い, さらにスライドカルチャーを実施し種類を同定した。

2. 孢子カウント法 (カウント法と略): バーカード捕集器で集めた試料をラクトフェノールコットンブルーで染色し孢子を顕微鏡 (200倍~400倍) で数えた。

3. イムノプロット法⁶⁾ (プロット法と略): バーカード捕集器で採取した試料を, ニトロセルロース膜に転写し, 5% BSAでブロッキング後, 抗ウサギ血清 (国立相模原病院 安枝博士作成), アルカリフォスファターゼ標識抗ウサギIgGで処理後, BCIP/NBPでアルテルナリア抗原を染色した。染色されたスポットを目視か10倍のルーペでカウントした。

III 結果

空中真菌の培養法 (米沢市4月) の結果は, アルテルナリア, ペニシリウム, クラドスポリウム各属及び細菌類の16個であった。最も多く検出されたのはアルテルナリア, ペニシリウム属であった。(表1)

また, 培養法で年間を通じアルテルナリアとペニシリウムを調査したところ, 6月から8月の暑い時期に多く, 11月~2月の冬期には検出されなかった。ペニシリウムについても同じような傾向が認められた (表3)。

衛生研究所屋上でバーカード捕集器を用いて採集した試料中のアルテルナリア孢子をカウント法で数えた結果

1) 国立病院機構相模原病院臨床研究センター

は、月別では6月から9月が多く10月になると減少する傾向が認められた(表2)。また、6月から10月まで日ごとのアルテルナリアの数をプロットすると同じ月の中でも日々変動することが分かった(図1)。また、プロット法で6月9日から30日まで時間ごとのアルテルナリア抗原をプロットすると、1日のうち、夜中から朝方にかけてと午後にピークが認められた。(図2)

IV 考察

山形県内陸部の空中真菌を上記3種類の方法で調べた結果、アルテルナリア、ペニシリウム、クラドスポリウム各属、酵母類が認められた。その中で多かったのはアルテルナリア属、ペニシリウム属、であった。アルテルナリア属の季節変動は春から夏にかけて多く認められ一峰性を示し、11月から2月の冬場はほとんど検出されなかった。これは、培養法でもカウント法でも同じ結果であった。アルテルナリア単独の推移を見たものではないが、松田ら⁴⁾は神戸の環境中の真菌は6月から9月と11月から2月のどちらかもしくは両方に、油井ら³⁾は5~7月、9から11月にピークが認められたと報告している。しかし、空中の真菌はその年の気候、地域に左右されることから、今後複数年にわたる調査が必要であろう。

また、今回の調査でアルテルナリア⁵⁾は1日のうち朝方と午後に多く検出される傾向が認められた。喘息の発作も朝方に多くみられることから、何らかの関連が推察されるが、解明には今後さらなる調査が必要であろう。

調査に適した方法を検討したところ、培養法は、①真菌を直接培養し菌名を特定する確実な方法ではあるが、結果を得るまで1週間~2週間と時間が必要で、リアル

タイムでの情報は期待できない。②真菌は生菌、死菌を問わずアレルギーになりうるが、この方法では死菌は検出できない。また、③落下法で見ると菌の直径が15ミクロン以上でないと確実に捕集できないなどの欠点がある。一方、カウント法は約半日で結果がえられ、死菌であっても検出できるが、胞子を染色しカウントすることから、顕微鏡で見て特徴のある胞子でないとカウントできず、大多数の真菌胞子を区別することは困難であり、種類を特定できない。

また、プロット法の処理時間はカウント法と同様、約半日必要である。しかし、胞子の形、生死にかかわらず、相対する免疫血清があれば検出可能である。

以上のことからプロット法が測定法としてはすぐれている。今後は、ペニシリウム属やクラドスポリウム属に応用する計画である。

(本研究は第55回日本アレルギー学会秋季学術大会—盛岡市—2005年9月で発表した)

文 献

- 1) 鳥居新平：アレルギーの臨床10 (7), (1990)
- 2) 井出宏嗣：臨床医薬情報5 (6), 697-700 (1986)
- 3) 油井泰雄：アレルギーの臨床 (1983)
- 4) 松田良夫：真菌誌13, 1 (1972)
- 5) 可部順三郎：アレルギーの臨床9 (11) 785-786 (1989)
- 6) 高橋裕一他：アレルギー39 (12), 1612-1620, (1996)

表1 屋外真菌の種類(米沢)

菌名	個/シャーレ5枚
アルテルナリア属	8
ペニシリウム属	1
クラドスポリウム属	1
酵 母	1
その他の真菌類	2
細菌類	3
合 計	16

表2 アレテルナリア胞子数の月集計結果(山形)

月	アルテルナリア 個/m ³
6	193
7	321
8	286
9	127
10	16

表3 空中のアテルナリア属数(米沢・培養法)

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
アテルナリア属	8	8	10	14	21	8	3	0	0	0	0	2
ベニシリウム属	1	26	15	23	55	10	8	0	0	0	1	2

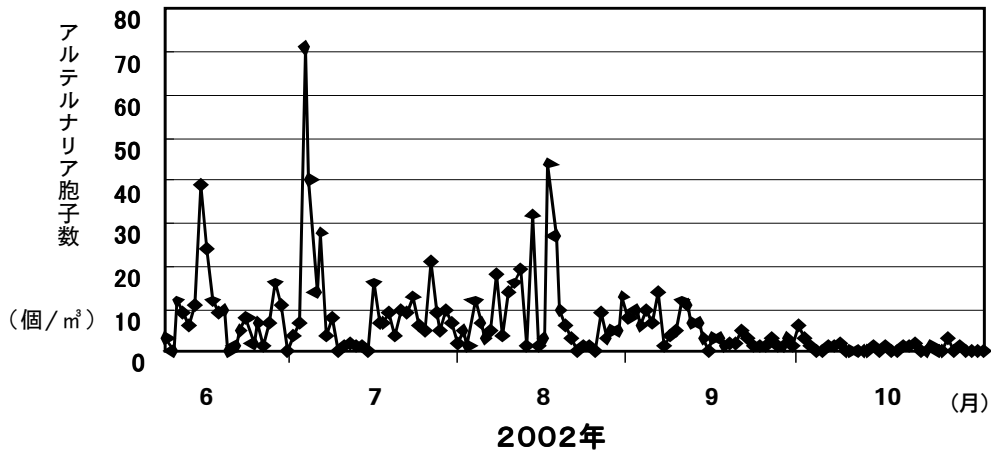


図1 アテルナリア胞子数の日ごとの変化

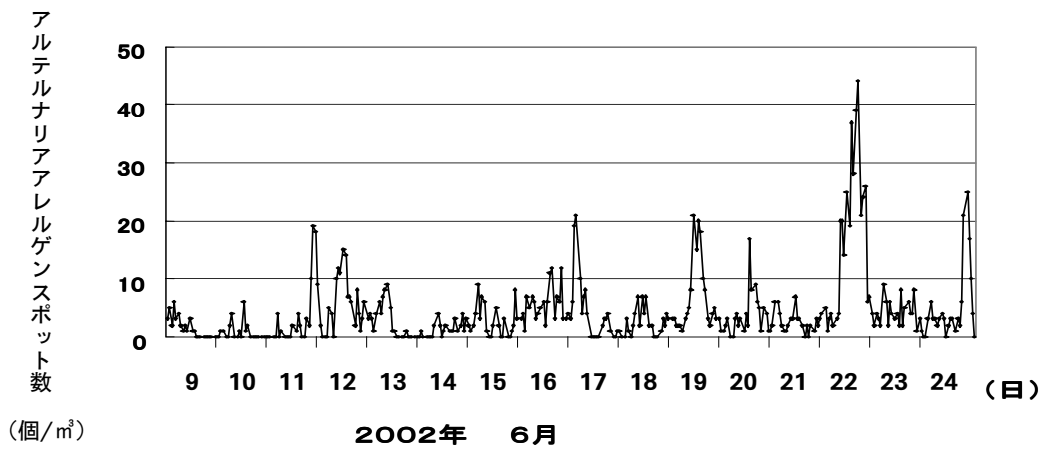


図2 アテルナリアアレルゲンスポット数の時間ごとの変化