

鳥取県における黄砂時の真菌及びエンドトキシンの挙動

【保健衛生室】

上田豊、花原悠太郎

要旨

平成23年から25年の黄砂時期である3月から5月にかけて屋外大気を平日毎日6時間サンプリングし、真菌及びエンドトキシンの挙動を調査した。その結果、総真菌、クラドスポリウム、ペニシリウム、アスペルギルス、アルテルナリアいずれも非黄砂日に比べ黄砂日に増加するはっきりとした傾向は認められなかった。また、これらの真菌は黄砂の指標であるSPMとの相関も認められなかった。エンドトキシンも非黄砂日に比べ黄砂日に増加するはっきりとした傾向は認められなかった。また、黄砂の指標であるSPMとの相関も認められなかった。以上のことからこれらの真菌生菌、エンドトキシンが喘息患者に与えている影響は大きくないことが示唆された。

1. はじめに

黄砂は東アジア大陸の乾燥地帯から巻き上げられた土壌粒子が偏西風に乗って風下に運ばれる気象現象のひとつで、春に多く観察される。鳥取県は日本海側に位置し、黄砂の飛来が多い地域のひとつである。

疫学的な見地からは、1990年以降韓国、台湾では黄砂時に呼吸器系、循環器系疾患の増加が相次いで報告されている¹⁾。日本においても2010年に小児の喘息患者の症状悪化が初めて報告され²⁾、2011年には成人の喘息患者の悪化が報告された³⁾。しかし、健康に影響を与える黄砂成分については未解明であり、黄砂粒子自身による物理的作用の他、黄砂とともに長距離輸送される大気汚染物質、微生物の影響の可能性が考えられる。このうち大気汚染物質の研究は発展しているが、微生物についてはほとんど報告がなく、真菌については台湾、韓国で少数の報告があるのみである⁴⁻⁷⁾。

こうした背景から、喘息の微生物学的悪化要因である真菌及びエンドトキシンの挙動について把握することを目的として本研究を行った。

2. 材料及び方法

2.1 サンプリング

真菌のサンプリングは、衛生環境研究所の屋上で実施した。試料は、ローボリウムエアサンプラ

ー(SIBATA)を用いて20L/minの流速で6時間(10時~16時)採取した。採取期間は平成23年から平成25年まで黄砂時期である3月1日から5月31日まで平日は毎日、黄砂が予測される日の前後は土曜日、日曜日も含めて実施した。使用したフィルターは、PTFEフィルター(東洋ろ紙、PF020)で、ステンレス製ホルダーにセットした後250℃、1時間滅菌して使用した。

2.2 真菌、エンドトキシンの抽出

サンプリング後フィルターをエンドトキシンフリーの遠沈管に移し、0.05%Tween20液10ml中にて30分間攪拌し、真菌及びエンドトキシンを抽出した。

2.3 真菌の培養

クロラムフェニコールを添加したDG18培地に抽出液を500 μ L及び100 μ Lずつ広げた。信頼性を高めるためにそれぞれ5枚のシャーレに広げ、25℃、7日間培養した後、生育したコロニー数を測定し、5枚の平均値から1m³あたりの総真菌数を算出した。また真菌のうち代表的アレルギーンとして知られるクラドスポリウム、ペニシリウム、アスペルギルス、アルテルナリアの4菌種についてはコロニーの形態観察及び菌糸・胞子の顕微鏡観察によって菌種を同定し、菌数を測定した。

2.4 エンドトキシン試験

真菌培養に使用した残りの抽出液は -20°C 冷凍保存し、6か月以内にエンドトキシンの測定を行った。Tween20によるリムルス反応の阻害を防止するため50倍に希釈し、エンドトキシン試験に供した。エンドトキシンの測定はリムルスKYテストワコー（和光純薬）を用いてカイネティック法により測定した。リムルス反応に対する阻害がないことを確認するために全検体にエンドトキシンを添加し回収試験を行った。日本薬局方の規定に従い、回収率が50%から200%の範囲内のものを有効な測定値とした。

2.5 SPM 試験

倉吉市内に β 線吸収法によるSPM測定装置（東亜DKK(株)）を設置して連続的に測定し、10時から16時までの1時間あたりの平均値を算出した。

2.6 黄砂日の判定

黄砂日の判定は鳥取地方気象台での観測で10時から16時までの間で3時間以上黄砂が認められた日を黄砂日とした。

2.7 統計解析

黄砂日と非黄砂日との真菌濃度はt-検定によって有意差の有無を検定した。また、SPMとの関係については、相関係数を算出した。

3. 結果および考察

3.1 黄砂日と非黄砂日の真菌数

黄砂日は通算で9日であり、また非黄砂日は161日であった。総真菌数は黄砂日で $257.3\text{cfu}/\text{m}^3$ 、非黄砂日で $256.5\text{cfu}/\text{m}^3$ であり、ほとんど差がられなかった（表1）。クラドスポリウムについては、平均値は黄砂日が $169.6\text{cfu}/\text{m}^3$ であるのに対し、非黄砂日は $85.3\text{cfu}/\text{m}^3$ であったが、日によって測定値の変動が大きく、有意差は認められなかった。他の3菌種も同様に有意な差は認められなかった。

表1. 黄砂日及び非黄砂日の真菌数

黄砂・非黄砂区分	総真菌数 (cfu/m ³)	クラドスポリウム (cfu/m ³)	ペニシリウム (cfu/m ³)	アスペルギルス (cfu/m ³)	アルテルナリア (cfu/m ³)
黄砂日平均(n=9)	257.3	169.6	3.7	0.9	6.0
非黄砂日平均(n=161)	256.5	85.3	3.0	0.5	2.3
有意差(t-test)	1.00	0.45	0.74	0.44	0.31

また、経時的にみても黄砂日に総真菌数、代表的アレルゲン4菌種は、いずれも増加する傾向はみられなかった。



図1. 2013年総真菌及びクラドスポリウムの経時変化

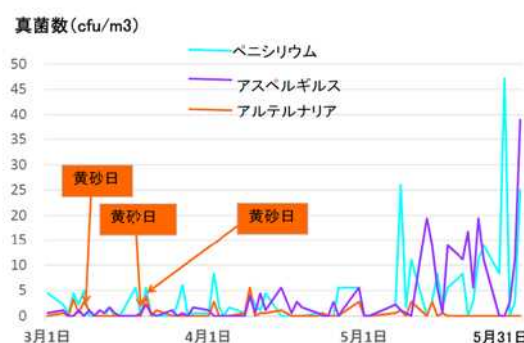


図2. 2013年ペニシリウム等の経時変化

3.2 真菌とSPMとの関係

総真菌数、代表的アレルゲン4菌種とSPMとの関係については相関係数はいずれも0.1未満であり、相関は認められなかった。

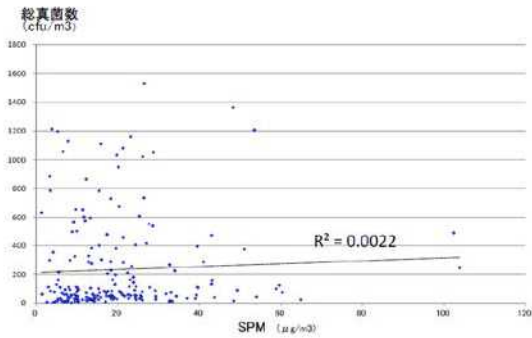


図3. 総真菌数とSPMとの関係

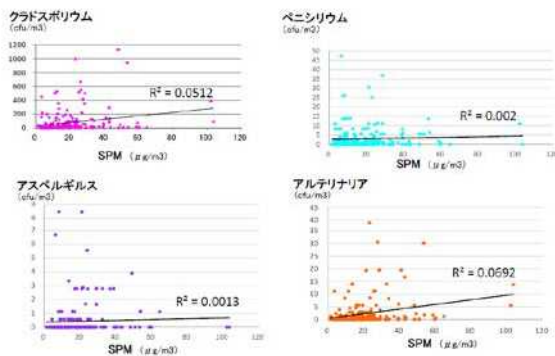


図4. 主要4菌種とSPMとの関係

3.3 黄砂日、非黄砂日のエンドトキシン濃度

黄砂日には 0.41 EU/m^3 、非黄砂日は 0.21 EU/m^3 と黄砂日の方が高かったが、日々の変動が大きく有意差は認められなかった。また経時的にみても黄砂日にエンドトキシンが上昇する傾向は認められなかった。

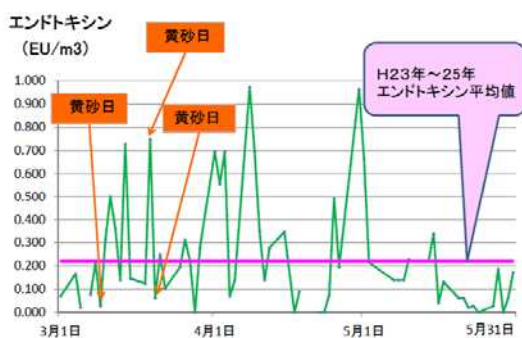


図5. 2013年エンドトキシンの経時的変化

3.4 エンドトキシンとSPMとの関係

相関係数は 0.1 未満であり、相関関係は認められなかった。

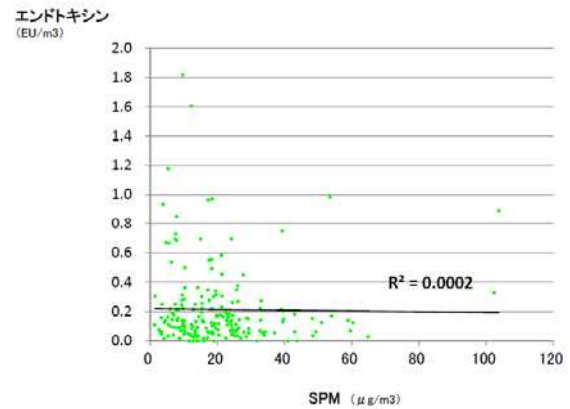


図6. エンドトキシンとSPMとの関係

4 考察

黄砂時の真菌については、台湾、韓国で研究報告がなされており、総真菌あるいは一部の真菌が黄砂日に増加するとの報告、増加傾向がみられないとの報告があり、その評価が分かれている⁴⁻⁷⁾。日本国内ではまだ報告がないが、今回の研究では、総真菌数、代表的アレルギー4菌種については非黄砂日と有意な差はみられず、経時的にも黄砂日前後に上昇する傾向はみられなかった。また SPM は黄砂の指標として知られているが、これらについても、相関関係はみられなかった。今回の研究では、総真菌及び主要なアレルギー4菌種に限定し、培養法による生菌のみを対象としており、対象が真菌すべてを網羅したものでない。しかし、これらのアレルギーとして主要な真菌生菌については、喘息患者への影響が大きいことが示唆された。

また、エンドトキシンについてはまだ黄砂日、非黄砂日を比較した報告はない。しかし、真菌同様、黄砂日、非黄砂日との有意差、経

時的関連性、S P Mとの相関はいずれも認められず、喘息患者への影響は大きくないことが示唆された。

5. 参考文献

- 1) 橋爪真弘他：黄砂の健康影響—疫学文献レビュー，日衛誌，65, 413-421 (2010)
- 2) Kanatani K, et al.: Toyama Asian Desert Dust and Asthma Study Team., Desert dust exposure is associated with increased risk of asthma hospitalization in children, *Am J Respir Crit Care Med.*, 182(12), 1475-1481 (2010).
- 3) Watanabe M., et al.: Correlation between Asian dust storms and worsening asthma in Western Japan, *Allergol Int.*, 60(3):267-75 (2011)
- 4) Choi, D.S., et al.: Distribution of airborne microorganisms in yellow sands of Korea, *J. Microbiol.*, 35, 1-9 (1997)
- 5) Wu, P., et al.: Increased levels of ambient fungal spores in Taiwan are associated with dust events from China, *Atmospheric Environment*, 38, 4879-4886 (2004)
- 6) Ho H.M., et al.: Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan, *Atmospheric Environment*, 39, 5839-5850 (2005)
- 7) Chao H.J., et al.: The effects of transported Asian dust on the composition and concentration of ambient fungi in Taiwan. *Int J Biometeorol.* 56, 211-219. (2012)

The behavior of fungi and endotoxin during Asian dust in Tottori

Yutaka UEDA, Yutaro HANABARA

Abstract

Air samples were collected for 6 hours everyday on weekdays between march and may of 2011-2013. The concentration of total fungi, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Alternaria* had not significant difference between the days affected by Asian dust and the background days. The concentration of these fungi was not associated with SPM. The concentration of endotoxin also had not significant difference between the days affected by Asian dust and the background days. The concentration of endotoxin was not associated with SPM. From these results, it is suggest that these living fungi and endotoxin have not a great influence on the patients of asthma during Asian dust.