

図7. 日本全体のインフルエンザ流行の流れ



上陸地域におけるインフルエンザによる学校-学級閉鎖(2000-2001年)

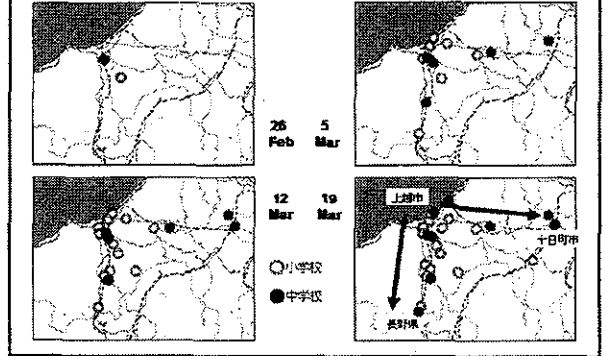


図9. 小中学校閉鎖措置から見たインフルエンザ流行の新潟県内地域伝播

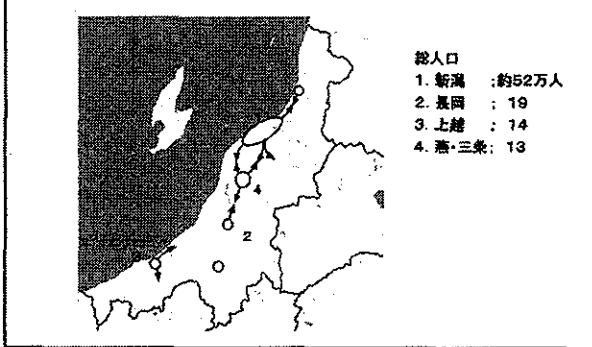


図10. 冬季の西日本平均気温、WPパターン(西太平洋)と最大インフルエンザ患者発生数との関係(1987/88-1998/99)

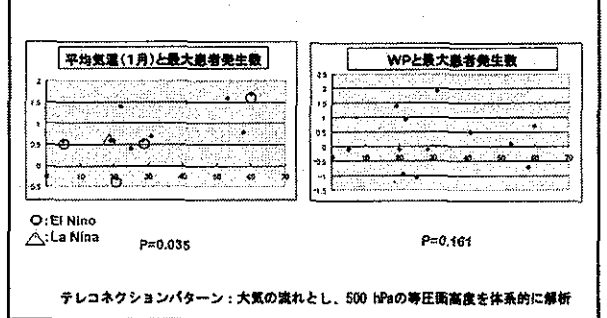
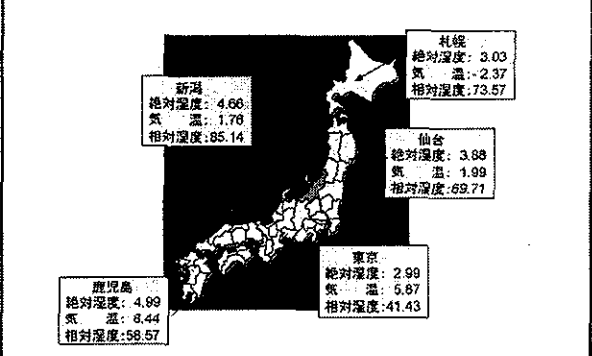


図11. 各地域における絶対湿度、気温、相対湿度との関連(2002年)



## 居住環境に基づく抗酸菌感染症の予防に関する研究

### 分担研究者

平成 16 年：御手洗聡 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科長  
平成 15 年：高橋光良 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター結核菌情報科長  
平成 14 年：阿部千代治 結核予防会結核研究所基礎研究部長

### 研究要旨

結核は空気感染性の病原体として少数でも感染性があり、発病するとさらに感染を拡大し時に致死的となる危険な感染症であり、現在も年間 3 万人以上の新規患者を認めている。また *M. avium complex* に代表される非結核性抗酸菌も臨床分離抗酸菌の約四分の一を占めるほど増加しており、結核後遺症に続発する肺感染症や免疫不全患者の全身感染症を引き起こしている。感染の成立と発病には様々な状況が関連しているが、主に①菌の病原性、②宿主の免疫状態、③環境の汚染状況が重要な因子である。このうち環境の汚染は結核菌では空気、非結核性抗酸菌では水など汚染を主な感染源とする。結核は強毒菌であるため一般の健常者でも危険性があり、空気感染であることから空気の清浄化が第一に考慮されるべきであり、換気システムの整備が重要である。また、もとから汚染の可能性が高い高蔓延地域への居住も危険である。非結核性抗酸菌については一般的に伝染性疾患としての危険はないものの、局所を含む免疫不全患者向けの環境では水の高圧蒸気滅菌など特別の配慮を必要とする。感染源の早期除去の観点から結核患者の早期発見・診断も極めて重要であり、診断の遅れが多い事を考慮して医療者に対する結核教育を徹底する事が必要である。また、潜在感染者を確実に診断する技術の開発も急務である。

### A. 研究目的

結核は世界人口の約三分の一に感染しており、毎年およそ 800 万人が発症している。病原体である結核菌は空気感染によって伝播し、少数であっても感染を成立する可能性があり、発病した場合は時に致死的となることから Biohazard level 3 に分類されている強毒菌である。発病した患者は特に排菌陽性者が危険とされ、速やかに隔離される。しかしながら、診断の遅れから同じ環境中に感染源が存在すると他者への感染の危険が生じる。

感染の危険を減じるためには、感染者を正確に把握し、その感染者が発病するのを予防し、発病した場合迅速に診断することが基本となる。このため定期・定期外健診

による感染者・患者発見は重要であるが、技術的な問題から全てを把握することはできない。従って、やむを得ず患者が発生した場合であっても他者への感染の危険を最小限とする予防措置を考慮する必要がある。

また、結核以外の非結核性抗酸菌についても土壌中や水系に存在することから、特に免疫不全患者のいる環境中では配慮を必要とする。

この研究では、主に結核を対象とした抗酸菌感染の予防に関する環境因子を解析し、事前・事後の措置について考察する。

### B. 研究方法

平成 14 年度にはこのテーマに関する現状を解析し問題点を明確にするため文献調

査を行った。

平成 15 年度は近年家族内あるいは集団感染とも思われる事例の報告もある非結核性抗酸菌に関して、居住環境中の分布に関する調査を実施した。

平成 16 年度には前 2 年間の結果を受けてさらに感染の状況を解析するための文献調査と、集団内での伝搬様式解析のための刑務所での分子疫学調査解析を実施し、具体的対策について考察した。

### C. 研究結果

平成 14 年度の文献調査では、病院、高齢者保健施設、刑務所、ホームレス収容施設、遊興施設、学校、交通機関等での集団感染事例を解析した。

病院については、精神病院、小児科病院、一般病院に分けて調査した。精神病院では狭い部屋に多くの患者を収容していること、患者は長期の入院を余儀なくされていることが感染の広がる要因になっていた。小児科病院の事例は小児科医が患者とその家族、訪問者等に感染させたものであり、病院という二次感染危険環境を明確にしている。

一般病院においては直接接点がないにも関わらず Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) により感染が証明された事例があり、これは共通する換気システムによるものであり、換気システムデザインの重要性を示していた。

米国 CDC は 1990 年に結核感染防止を目的としたガイドラインを出しており、迅速な患者隔離と治療、迅速診断技術の導入、陰圧構造の病室と採痰室、医療従事者の適切なマスクの着用が含まれている。ニューヨークの病院でガイドラインを導入前後で MDR-TB の割合を調査したところ導入後に減少したこと、結核病棟で働く医療従事者のツ反陽転率も低くなったことが明らかになった。このことは、適切な対策により結核菌の感染を防止できることを示している。

高齢者保健施設では、高齢既感染者から

の再発によると思われる事例があり、高齢者では一般に免疫力が低下している事から、以前に感染した結核菌による再燃と同時に再感染も容易に起こっているものと考えられた。感染の防止のために定期的な検診と部屋の構造、特に入居者が集まる娯楽室や食堂などの適切な換気が重要である。

刑務所やホームレス収容施設では、狭い部屋に多くの収容者が入っていることが集団感染を広げることに結びついている。また、一般的に栄養状態の不良などから易感染性もあるものと思われた。遊興施設やサウナ等での集団感染事例も報告されているが、これらも感染源との長期接触、換気不良が感染拡大の要因と見られている。

学校での集団感染事例では、生徒あるいは教師を感染源とするものが報告されているが、生徒を感染源とする一事例では 153 名が化学予防の対象となり、31 名が発病している。これは発病が冬季であり暖房のため換気が不十分であった事、Doctor's delay が長期であったこと等が因子として重要である。

交通機関では特に航空機での感染が報告されている。一例として MDR-TB 患者がホノルルからシカゴ経由ボルチモアへフライト、1 ヶ月後にホノルルへ戻った事例では、感染は患者と同じ区画に座っている人に起こった。また初発患者の座席の 2 列以内に座っていた人のツ反陽性率が高かった。現在、航空機内の循環空気は HEPA フィルターでろ過されており、換気回数は 1 時間におよそ 6-20 回とされている。

平成 15 年度には居住環境における非結核性抗酸菌の分布を調査している。その結果、全 80 検体中水系を中心に 30% に抗酸菌が検出されており、それらは *M. gordonae*、*M. fortuitum*、*M. abscessus*、*M. neoaurum*、*M. mucogenicum*、*M. mageritense*、*M. vaccae*、*M. obuense* 他 3 菌種の同定困難な抗酸菌種であった。*M. fortuitum*、*M. abscessus* 及び *M. mucogenicum* はヒトに対する病原性が報告

されており、他の非結核性抗酸菌についても免疫不全や免疫機能の低下した宿主に対しては十分病原性をもつと考えられる。Primm は環境中の抗酸菌はヒトや動物の日和見感染症で新興の病原体であり、塩素処理した水道水中で生存可能なことを報告しており、最も塩素に対して抵抗性なのは *M. scrofulaceum* と *M. avium* であることを報告している。

一方、この時の検体では空中浮遊抗酸菌の同定は培地汚染がひどく、培地の発育選択性を向上する必要があることが明らかとなった。

平成 16 年度は特に一般の環境とは異なる環境あるいは状況について研究を行った。

結果として、一般個人と免疫不全者について見た場合、宿主側の因子は主に発病に関するものであり、感染そのものはどのような個人でも機会は同じと考えられた。しかしながら、生体内環境という意味では、局所的あるいは全身的に免疫低下を伴う特殊な病態が存在する場合には通常的环境に存在する MAC 等の菌も感染因子として重要と思われ、そうした状況では非結核性抗酸菌についても環境因子としての重要性を認識し、消毒等の処置をとる必要があると思われた。

感染を惹起する菌側の因子としては、現状で広く流行している株が感染性の点で危険と考えられる。アジア地域では Beijing Family と呼ばれる一群の結核菌が多く認められている。これは薬剤耐性や宿主環境への適応能力により効率良く拡がったものと考えられるが、このような「流行性」の株が蔓延している地域は「環境」として危険であると考えられた。結核感染におけるいわゆる 22 high-burden countries のうち 8 か国は東一東南アジア地域に集中しており、これらの地域への訪問は、それ自体が結核感染のリスクであると考えられた。国内でも大阪市では 2003 年の統計で人口 10 万対 68.1 (同年の全国平均は 24.8) と極めて高

く、途上国を上回る結核罹患率が認められている。

結核が発生した場合に二次感染・集団感染が起こりやすい特殊な環境として、高齢者施設、福祉施設、刑務所 (監獄)、学校、病院等が考えられる。実際にそれらの施設での集団感染事例は多く報告されていた。これらに共通する因子としては、その集団性に加えて診断の遅れによる感染源との接触の長期化がある場合が多かった。

結核の伝搬様式解析の事例として特殊環境の一つである刑務所において、結核蔓延状況と RFLP による解析を実施したが、収監者から分離され最終的に解析可能であった 101 株について、18 のクラスターが形成され、サイズは 2 名から 22 名までであった。また、RFLP バンド数は 2-15 までで、最頻値は 9 本であった。主要な刑務所でのクラスター形成率はおおよそ 60-70% で、ある特定のクラスターに属する株が多く見られ、この株が調査地域であるザンビアでの流行株であることが考えられた。他の小規模な町では一つのクラスターに複数の患者がみられることはなかった。

各刑務所の内部における監房別の解析を行った結果、地域での流行株の外部からの持ち込みであろうと思われる事例もあったが、喀痰塗抹陽性であり収監期間の長い患者から監房内での感染した可能性があるものもあった。

これらの刑務所での収監状況と換気状況についてみると、一つの監房に 30-40 人がまとまって収容されており、換気に関しては通常窓を開放するのみで、機械換気等は行われていなかったことから、空気汚染が長く続いたものと考えられた。

#### D. 考察

結核の主要感染経路は空気 (飛沫) 感染である。文献からも、感染源と長期・濃厚に接触するほど感染率が高くなる事が示されている。感染源による空気の汚染は咳都

ともに排出される飛沫によるが、喀出されたばかりの飛沫は水分を多く含んでおり、急速に落下する。乾燥して飛沫核となると長時間空气中に存在するため、これを可能な限り除去する事が重要となる。

汚染した空気を除去する唯一の方法は換気である。アメリカ Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)では感染源を隔離する際の換気基準として、部屋を陰圧として外部と 2.5Pa の差をあたえ、施設を新設する際には 12ACH 以上 (1ACH では 1 時間にその部屋の容積と等量の空気が流入する)、既存の施設でも 6ACH 以上の換気効率を要求している。また、空気を還流する場合は HEPA フィルターあるいは紫外線灯による病原体の除去を必要とする。同様に、感染のリスクの高い事業所の寮や高齢者福祉施設など多数の人が集まる場所でも十分な換気が要求される。しかしながら、冷暖房効率や気流による不快等を考慮すると、このような場所での換気は一時間に 6~7 回が限界であろうと思われる。1 時間に 6 回換気すれば 23 分で 90% の菌が除去され、46 分で 99% の菌が除かれる。

環境からの感染源の早期の除去あるいは侵入の防止も極めて重要である。ザンビア刑務所における結核感染解析からも明確に示されているように、結核はある環境の内部に新たに出現する場合と外部から持ち込まれる場合がある。新たな患者が発生した場合には、その早期発見・早期診断が必要となる。従って、特に集団生活を営んでおり、二次感染が起こりやすいと思われる集団に対して定期的なチェックを実施する事が重要となる。例えば高齢者施設では入所時の胸部 X 線検査、ツベルクリン二段階法の施行、病歴の聴取等を詳しく行い、少なくとも年一回の定期健診 (胸部 X 線) を実施するべきである。また呼吸器症状のアセスメントを日常のヘルスチェックに加えることも効果的と思われる。外部からの持ち込みについては、福祉施設入所時あるいは

学校への入学時等に健診を実施して発病患者の集団への侵入を防ぐことが重要である。これらの対策に関しては、平成 17 年 4 月 1 日に施行される改正結核予防法にも明確に述べられており、効果的実践が望まれる。

これらの対策上、効果的な結核感染の診断と発病の予防が重要となるが、ツベルクリン反応を基本とする現在の感染診断では BCG 接種による影響を強く受けるため、特異性の確保が十分ではない。近年結核菌群に相対的特異的 (BCG 株や *M. avium* complex に存在しない) な蛋白抗原である ESAT-6 及び CFP-10 を利用した *ex vivo* での結核感染診断システムが開発されており、感度約 90%、特異度 98% と報告されていることから、このような新たな診断技術を健診に応用する事も考えられる。また、潜在感染状態にある結核患者がいつ発病するかを予測するための研究も必要である。

一般には病原性の弱い非結核性抗酸菌についても、免疫不全患者などがある環境では注意が必要である。高齢者が増加している今日では、免疫不全準備状態にある個人が増加している事を念頭に施設設備等対処する必要がある。

医療スタッフの人的不足や教育不足についても対策が必要である。多くの集団感染事例でも明らかのように、患者や医療者が結核を疑わなかったために診断に遅れが生じ、結果として長期接触者あるいは感染者を増加させることになっている。現在 70% 以上の大学病院に結核病床がなく、そういった大学では学生が直接結核に触れる機会も少なくなっており、結核を診断する上で問題となる事は明らかと思われる。医師となっても定期的に結核に対する意識を向上させる機会を確保する事が重要と思われる。行政のコミットメントが期待される。

## E. 結論

(1) 結核の感染を予防するため、特に集団生活を営む環境においては定期健診・有症

- 状受診を確実に実施し、感染源と長期間接触しないようにすることが重要である。
- (2) 結核に汚染された空気を吸入しないため、特に高齢者福祉施設、刑務所、遊興施設、公共交通機関、病院等では適切な換気・空調システムを整備する必要がある。
  - (3) 免疫不全患者がいる環境においては、非結核性抗酸菌症による環境汚染についても滅菌・消毒等の処置を実施する。
  - (4) 結核の疫学情報に留意し、高蔓延地域に赴く事は避ける。やむを得ず居住・旅行等行う際には呼吸器症状のある人に注意し、マスク等の対策も考慮する。
  - (5) 結核を早期に診断するため医療者の教育を徹底して行い、同時に有効簡易な診断法を開発する事が重要である。

#### F. 健康危惧情報

本研究においては、結核感染が疑われる対象者からの喀痰検体採取、鏡検、分離培養、同定、薬剤感受性試験、および RFLP 用の結核菌を準備するそれぞれの段階において、特に耐性菌を含む感染の危険がある。全ての結核菌の取り扱いにはバイオハザード指針に従って P3 レベルの実験室で行った。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Takii T, Yamamoto Y, Chiba T, Abe C, Belisle JT, Brennan PJ, and Onozaki K: Simple fibroblast-based assay for screening of new antimicrobial drugs against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2533-2539.
- 2) Aono A, Hirano K, Hamasaki S, and Abe C: Evaluation of BACTEC MGIT 960 PZA medium for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide (PZA): compared with the results of pyrazinamidase assay and Kyokuto PZA test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 347-352.
- 3) Itoh, S., Y. Kazumi, C. Abe, and M. Takahashi. 2003. Heterogeneity of RNA polymerase gene (*rpoB*) sequences of *Mycobacterium gordonae* clinical isolates identified with a DNA probe kit and by conventional methods. *J. Clin. Microbiol.* 41: 1656-1663.
- 4) Ito A, Kishi F, Saito N, Kazumi Y and Mitarai S. Pulmonary *Mycobacterium intermedium* disease in an elderly man with healed pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* (in press)
- 5) 鹿住祐子、大友幸二、高橋光良、御手洗聡、菅原 勇、和泉純子、安藤昭子、長谷川秀浩：皮膚から分離された *Mycobacterium shinshuense* の細菌学的解析。結核。2004; 79: 437-441.
- 6) 御手洗聡：結核の現状と薬物療法：分子疫学 医薬ジャーナル。2004; 40: 740-744.

##### 2. 学会発表

- 1) 鹿住祐子、高橋光良.同定困難な抗酸菌のシーケンスによる評価。結核。2003. 78(3): 272.
- 2) 平野和重、青野昭雄、浜崎園美、高橋光良、鹿住祐子、阿部千代治.キャピリア TB 陰性結核菌と MPB64 遺伝子の変異。結核。2003. 78(3): 275.
- 3) Habeenzu C, Mitarai S, Lubasi D, Mwansa J, Mudenda V, and Kantenga T: The impact of tuberculosis and the levels of initial and acquired anti-tuberculosis drug resistance in Zambian prisons. XXXIIth conference of International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Paris. 2001
- 4) 御手洗聡、高橋光良、鹿住祐子、大泉耕太郎：ザンビア国刑務所における結核感染の分子疫学的検討（抄録）。第 78 回日本結核病学会総会 倉敷 2003 年 4 月 25 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

#### <研究協力者>

鹿住祐子

結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス  
センター結核菌情報科

大友幸二

結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス  
センター細菌検査科

平野和重

結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス  
センター細菌検査科

厚生労働科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）  
総合研究報告書

ダニアレルギー患者の居住環境等の背景因子に関する検討

分担研究者 秋山一男（独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長）

研究要旨

ダニによる汚染の実態を明らかにするための室内環境調査に有用な簡易モニタリング手法を開発した。医療用粘着テープで寝具表面、皮膚表面から試料を採取する方法（テープ法）は、サンプリングが簡便であるのみならず、その測定値は室内空気中アレルギー濃度と有意に相関して、曝露の指標として有用である可能性が示された。

一般家庭の室内においてダニの増殖に関わる主要な要因を明らかにすることを目的として、ダニアレルギーによる汚染のレベル、室内温湿度の1年間にわたる経時的な測定と、住宅構造、生活様式に関するアンケート調査を実施した。わが国の一般家庭においては、室内の相対湿度をダニの増殖が停止するといわれている50%以下のレベルに1年を通して維持することは不可能であった。このような温湿度管理だけではダニの増殖を制御することのできないわが国の室内環境においては、一般的な室内環境整備策を効率よく組み合わせてそれを励行することにより汚染の低減化を図ることが重要である。

研究協力者

安枝浩，齋藤明美，轡田和子，西岡謙二（（独）国立病院機構相模原病院臨床研究センター）

A. 研究目的

わが国は世界の中でも有数のヒョウヒダニ（以下ダニ）汚染地域である。ダニによる室内環境の汚染の実態を明らかにするためには、大規模な疫学的調査を実施する必要がある。室内環境がダニのアレルギーにどれだけ汚染されているのかの評価は、室内の床や寝具から室内塵試料を集めて、その中の菌数やアレルギー量を測定するというのが一般的である。しかし、この方法では家庭内に掃除機を持ち込んで室内塵を採取する必要がある。より簡単に試料を採取できる方法の開発を目的として、医療用粘着テープを寝具表面、あるいはヒトの皮膚表面に貼付してアレルギー測定用の試料を採取する方法、すなわちテープ法について検討した。さらに、テープ法による寝具表面、就寝者皮膚表面のダニアレルギー量と、寝室内空気中の1日平均ダニアレルギー濃度を測定して、テープ法での測定値が、曝露の指標として有用であるかどうかについて検討した。

このダニによる室内環境の汚染の低減化を実行するためには、室内におけるダニの増殖に関わる、あるいは増殖の抑制に関わる主要な要因を明らか

にして、それに対する具体的な対応策を確立する必要がある。どのような要因がダニの増殖に最も大きく影響を及ぼすのかを解明することを目的として、ボランティアの家屋の寝室を対象にして、住宅構造、生活様式に関するアンケート調査とダニアレルギーによる汚染のレベル、室内温湿度の1年間にわたる経時的な測定を実施した。

B. 研究方法

大きさ6x7cmの医療用テープ（テガダームトランスペアレントドレッシング 1625WJ, 3M）を敷フトン（ベッドの場合はベッドパッド）の上面に3枚、左右の肘窩に各1枚を貼付して試料を採取した。テープによる試料の採取後、敷フトンから2分間かけてハンドクリーナー（ナショナル HC-V11, 松下電器）で専用の小型紙パックに塵を採取した。また、空気試料は、被験者の寝室において、2.5 L/minの流速で直径2.5 cmのガラス繊維濾紙上に24時間吸引捕集した。

寝具表面、皮膚表面から試料を採取したテープ、および空気試料を採取したガラス繊維濾紙は、2 mlのELISA用緩衝液にて室温、4時間抽出し、抽出液中のヤケヒョウヒダニ由来のDer p 1とコナヒョウヒダニ由来のDer f 1をそれぞれ高感度蛍光ELISAで測定した。Der p 1とDer f 1の合計量をDer 1量として、テープ法の場合には1平方



メートルあたりの Der 1 量 (ng/m<sup>2</sup>) で、空気試料の場合には空気 1 立方メートルあたりの Der 1 量 (pg/m<sup>3</sup>) で表した。ハンドクリーナーで採取した寝具塵は秤量後、ELISA 用緩衝液にて 1:100 (W/V) の濃度で室温、4 時間抽出して、抽出液中の Der p 1 と Der f 1 を比色法 ELISA で測定した。Der p 1 と Der f 1 の合計量を Der 1 量として、室内塵 1 グラムあたりの Der 1 量 (μg/g dust) で表した。

寝室内の温湿度は床から約 1 メートルの高さの場所に測定機 (SK-L200TH, 佐藤計量器製作所) を設置して、30 分間隔で測定、記録した。

アンケートは家屋 (構造, 築年数, 階), 居間, 寝室 (広さ, 床材の種類, カーペット, ソファ, カーテン, 空気清浄機の有無, 掃除頻度), フトン (素材, 使用年数, 掃除頻度, シーツ洗濯, 丸洗いの履歴, 防ダニ加工, 防ダニカバーの有無) ベット (種類, 飼育場所, 飼育歴) などの調査項目について実施した。

寝室内での各種サンプリングは、健常ボランティア (主に研究室のスタッフ, およびその家族) を対象にして実施した。1 年間にわたる室内環境調査, および温湿度の測定は, これまでの調査において, ダニによる室内環境汚染のレベルが比較的低かった家屋 3 軒, わが国の平均, あるいはそれ以上であった家屋 2 軒, それに加えて, 1 年を通じて家屋全体を空調機で温度管理している新築一戸建ての家屋の合計 6 家屋を選んだ。調査は平成 16 年 1 月から 12 月までの 1 年間, 各家屋の夫婦の寝室で行い, 掃除機, テープによるサンプリングは奇数月の中旬に合計 6 回実施した。

(倫理面への配慮)

ボランティアに対して室内環境中アレルゲンを測定することの意義を十分に説明し, 自由意思による同意を得た上で, 各種サンプリング, および温湿度記録計設置の依頼を行い, その測定結果の解析に際しては, 個人を特定できないように十分に配慮した。

### C. 研究結果

1. テープ法によるダニアレルゲンの検出, および従来の掃除機法との関係

テープ法で採取した試料中のダニアレルゲン量の測定に用いた Der p 1/Der f 1 の高感度蛍光 ELISA の検出感度が 1 pg/ml, テープからアレルゲンを抽出する液量が 2 ml, テープ 1 枚の面積が 42 cm<sup>2</sup> であることから, テープ法による寝具表面

Der 1 量の検出下限は 0.5 ng/m<sup>2</sup> (0.001 ng/ml × 2 ml ÷ 0.0042 m<sup>2</sup> = 0.47 ng/m<sup>2</sup>) であった。

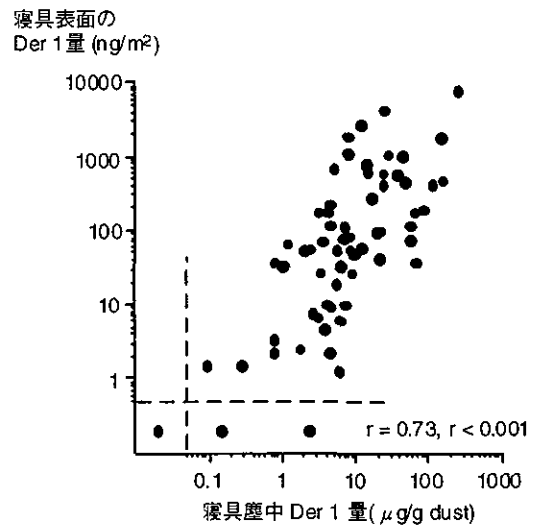


図1 寝具表面 Der 1 量と寝具塵中 Der 1 量の関係

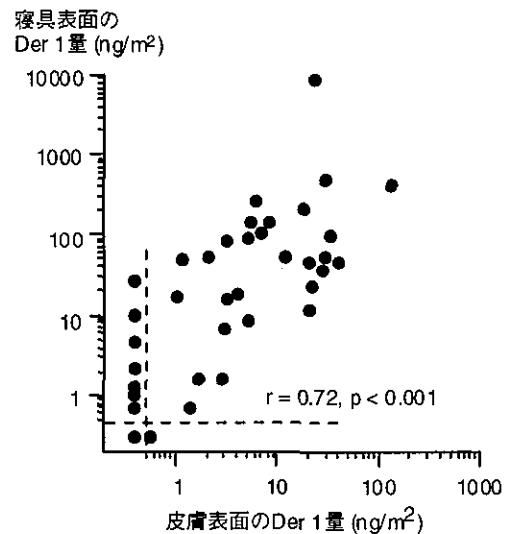


図2 寝具表面 Der 1 量と皮膚表面 Der 1 量の関係

テープ法による寝具表面 Der 1 量と従来法による寝具塵中 Der 1 量との関係を図 1 に, テープ法による寝具表面 Der 1 量と就寝者の皮膚表面 Der 1 量との関係を図 2 に示した。テープ法によってもほぼ全例の寝具からダニアレルゲンが検出され, 寝具表面と寝具塵中の Der 1 量の間, 寝具表面と皮膚表面の Der 1 量の間にはいずれも良好な相関が認められた。

## 2. 寝具表面、皮膚表面 Der 1 量と寝室内空气中 Der 1 濃度との関係

寝室内で 24 時間エアサンプリングを行い、1 日平均の室内空气中 Der 1 濃度を求めて、その濃度と寝具表面、および就寝者の皮膚表面 Der 1 量との関係を検討した。図 3 に空气中濃度と寝具表面 Der 1 量との関係を、図 4 に空气中濃度と皮膚表面 Der 1 量との関係を示した。テープ法で採取した寝具表面、および就寝者の皮膚表面ダニアレルゲン量はいずれも、寝室内空气中のダニアレルゲン濃度と有意に相関した。

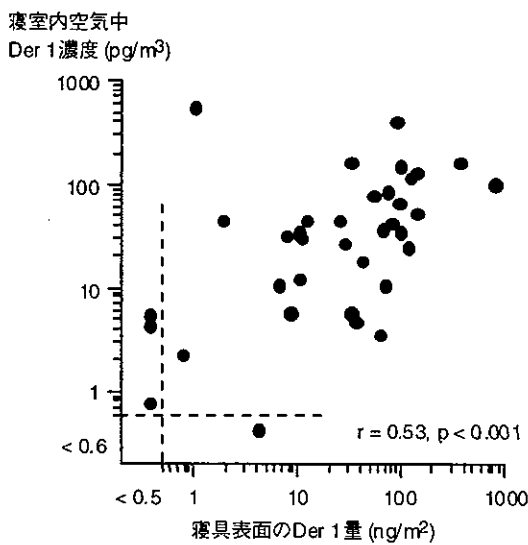


図 3 寝室内空气中 Der 1 濃度と寝具表面 Der 1 量の関係

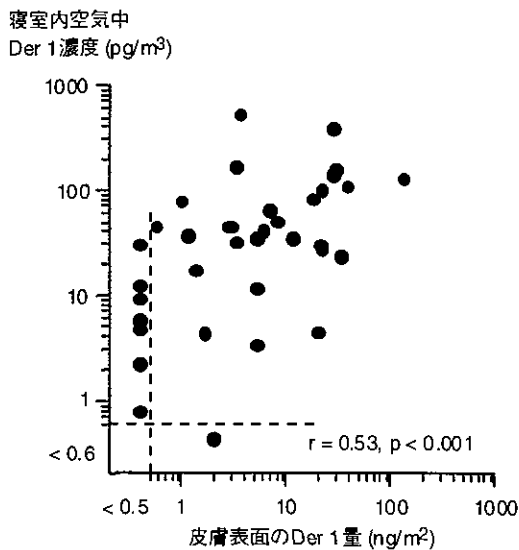


図 4 寝室内空气中 Der 1 濃度と皮膚表面 Der 1 量の関係

## 3. ヒョウヒダニの増殖に関わる室内環境要因の解析

### 3-1 調査開始時点での汚染のレベル

以前の調査において汚染のレベルが比較的低かった家屋 3 軒 (L1, L2, L3), 高かった家屋 2 軒 (H1, H2), 家屋全体を温度管理している家屋 (C1), 合計 6 家屋の調査開始時 (2004 年 1 月) における掃除機法による寝具、床の汚染のレベルと、代表的な調査項目の結果を表 1 に示した。ダスト中の Der 1 量は寝具、床ともに、3 件の低汚染家屋ではいずれも  $10 \mu\text{g/g dust}$  以下、2 軒の高汚染家屋では  $10 \mu\text{g/g dust}$  以上であった。また、空調家屋も高汚染家屋と同等のレベルであった。

表 1 調査開始時点での各家屋の汚染のレベル、および主な住環境調査の内容

	家屋					
	L1	L2	L3	H1	H2	C1
Der 1 量 ( $\mu\text{g/g dust}$ )						
寝具	3.08	0.50	4.98	46.3	96.7	34.3
寝室床	3.32	0.47	8.90	16.8	14.9	41.2
建築様式	集合住宅	一戸建	一戸建	一戸建	集合住宅	一戸建
建築年数	5年以上	5年以上	5年以上	5年以上	5年以上	1年未満
寝室の床	タタミ	フローリング	フローリング	タタミ	全面カーペット	部分カーペット
寝具	フuton	フuton	ベッド	フuton	ベッド	ベッド
掃除機掛け 回数	1回以下	2回以上	1回以下	1回以下	2回以上	1回以下
開放型暖房器 具の使用	無し	有り	無し	有り	無し	無し

### 3-2 室内の平均気温、相対湿度の月別推移

各家屋の月平均気温、相対湿度の 12 ヶ月間の推移を室外の温湿度 (神奈川県農林水産情報センターのデータ) とともに図 5 に示した。平均気温の変動は空調管理している家屋 (C1) が最も少なく、最高月 (7 月の  $26.7^\circ\text{C}$ ) と最低月 (1 月の  $19.4^\circ\text{C}$ ) の差が  $7.3^\circ\text{C}$  しかなかった。それ以外の家屋では、最高月の気温には大きな違いは見られなかった ( $28.6\sim 29.3^\circ\text{C}$ ) が、最低月は家屋ごとの差が大きく ( $10.6\sim 15.8^\circ\text{C}$ )、C1 家屋の  $19.4^\circ\text{C}$  よりもはるかに低値であった。また、最高月と最

低月の差は最大の家屋 (L2) では 18.2℃, 最小の家屋 (H2) でも 13.6℃あった。

月平均の相対湿度は, 6月から9月の間は全家屋ともに 50%を上回っており, 家屋間での差も最大で 5%程度しかなかった。一方, 10月から3月にかけては, 開放型暖房器具を使用している2家屋 (H1, L2) では相対湿度は夏季よりも上昇しており, 使用していない4家屋では明らかに低下していた。特に, 冬期の平均気温が高い2家屋 (C1, L1) では低下が顕著であった。

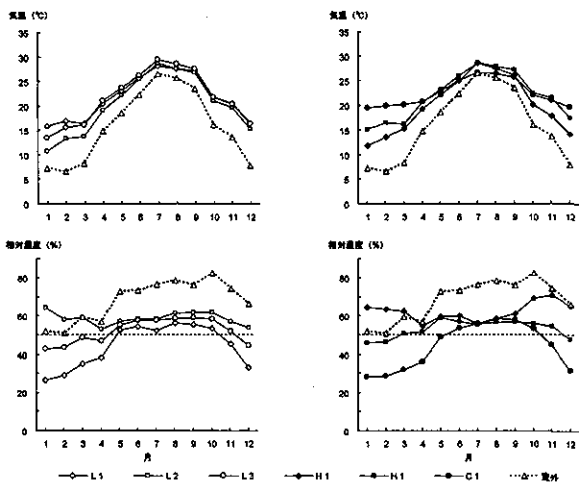


図5 各家屋における月平均気温, 平均相対湿度の12ヶ月間の推移

### 3-3 汚染レベルの1年間の推移

2ヶ月に1回奇数月にサンプリングした試料中の Der 1 量を図6, 図7に示した。図6は敷フトン, 寝室の床から掃除機法でサンプリングしたダスト中 Der 1 量, 図7は敷フトン表面, 就寝者の肘窩からテープ法でサンプリングした表面 Der 1 量である。この4種類の Der 1 量の中で, L群とH群の間で最も顕著な差が見られたのは, 寝具由来のダスト中 Der 1 量であった。通年的に空調機で家屋全体の温度を管理している C1 の汚染のレベルは H 群の2家屋とほぼ同レベルであった。寝具, 床のダスト中 Der 1 量の季節推移には明確な傾向は認められず, 夏から秋にかけて高く, 冬から春にかけて低くなるという典型的なパターンを示したのは, L1 と L3 の寝具ぐらいであった。L2 の床の Der 1 量が3月の 0.72 から5月の 38.7  $\mu\text{g/g dust}$  へと約 50 倍もの大幅な上昇が見られたが, この間に寝室をフローリングの部屋からカーペット敷の部屋へ移動していた。それにもなって, 寝具の Der 1 量も 0.37 から 3.15  $\mu\text{g/g dust}$

へと 10 倍近く増加していた (図6)。テープ法で肘窩からサンプリングした皮膚表面 Der 1 量は全例が7月に最大値を示し, 9月がそれに次いだ。これはこの時期に全例が半袖の寝間着を着用し, 肘窩が露出していたことによるものと考えられた。

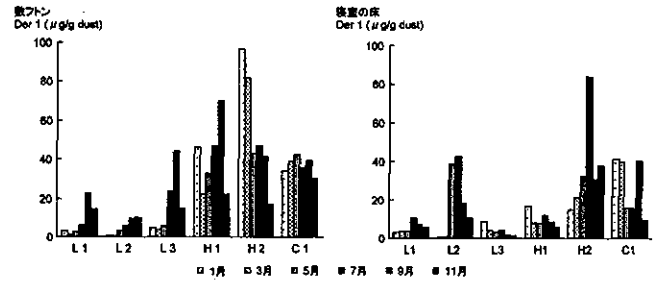


図6 敷フトン(左), 寝室の床(右)由来のダスト中ダニアレルゲン(Der 1)量の1年間の推移

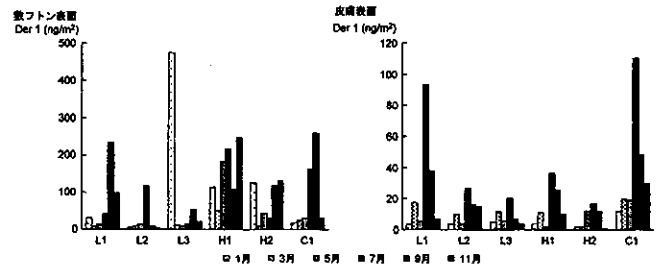


図7 敷フトン表面(左), 皮膚表面(右)のダニアレルゲン(Der 1)量の1年間の推移

### D. 考察

アレルギー疾患, 特に気管支喘息の病態に環境アレルゲンがどのようにかかわっているのかを検証するためには, 汚染のレベルを正しく反映するアレルゲンモニタリングシステムが必須である。さらに, このようなモニタリングシステムは方法が簡便で試料の処理能力に優れているということも必要条件となる。すなわち, 正確で, かつ簡便な室内環境アレルゲン測定システムの開発が望まれている。室内環境アレルゲンとして最も重要なものは室内塵中に生息する2種類のヒョウヒダニ, ヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニである。ダニによる室内環境汚染を評価する測定システムとしては, 室内塵中のヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニの主要アレルゲンである Der p 1 と Der f 1 を合計した量, すなわち Der 1 量を免疫化学的に測定するという方法が世界的な標準になっている。

新たにテープ法を開発したことによって, 寝具表面, ヒトの皮膚表面のダニアレルゲン量を直接

評価することが可能になった。テープ法の最大の特長は、従来の掃除機法よりもサンプリングがきわめて簡単に行えるということである。しかし、テープ法で採取されるアレルゲン量は超微量であるため、高感度の測定法が必須になる。検出感度が1 pg/mlのDer p 1/Der f 1の高感度蛍光ELISAを確立しているため、ほとんどの検体から検出下限値以上のダニアレルゲンを検出することができた。テープ法による寝具表面Der 1量は、寝具塵中のDer 1量(図1)、および就寝者皮膚表面のDer 1量(図2)のいずれともきわめて良好な相関関係が得られ、本法での測定値が汚染の指標として有用であることが裏付けられた。さらに、テープ法での測定値と寝室内空気中のダニアレルゲン濃度との間にも有意な相関関係がみられた(図3, 4)。このことは、煩雑なエアサンプリングを行わなくても、テープ法で簡単にダニアレルゲン曝露のレベルを推定できるということを示唆している。テープ法はこれからのアレルゲン曝露の評価や実態調査においてきわめて有用なツールになることが期待される。

わが国は世界でも有数のダニ汚染地域であるが、その最大の要因は温暖湿潤な気候であると考えられている。ヒョウヒダニを純培養した場合、増殖に最も影響を及ぼすのは温湿度、特に湿度である。気温25℃、相対湿度75%で最もよく増殖し、相対湿度50%以下では増殖は完全に停止するといわれている。実際、1年を通して換気だけで室内の相対湿度を50%以下に維持することができる北欧やアルプス高地などでは、一般家庭室内のダニ汚染のレベルはきわめて低値である。また、わが国のような温暖、湿潤な気候の地域においても、家屋全体の湿度を制御できる強力な除湿機を設置して通年的に湿度を50%以下にさえ維持すれば、ダニの増殖は停止して汚染のレベルも徐々に低下することが米国における調査で示されている。しかしながら、今回の温湿度調査で明らかになったように、わが国の一般家庭では相対湿度を50%以下に維持することは不可能である。それにもかかわらずきわめて稀ではあるが、汚染のレベルが著しく低い家屋が見いだされている。これらの汚染のレベルが低い家屋と平均的、あるいはそれ以上の家屋との種々のパラメーターを対比することにより、ダニの増殖抑制に関わる要因を浮かび上がらせることを試みた。

1年間の調査から結論的にいえることは、ダニの増殖抑制に関わる主要な要因を明確にすることはできなかった、ということである。1年間の温湿度の推移にはさまざまなパターンが見られたが、汚染のレベル、あるいはその推移とは全く関連が見られなかった。家屋全体を通年的に空調機で温度管理している家屋C1は、結果的に1年を通じて最も低湿度であったが、汚染のレベルは平均以上であった。C1は調査開始直前に新築された家屋で、その時点でのダニアレルゲンは旧家屋からの持ち込みであると考えられる。温度管理によりダニが増殖しないのであれば、1年を通じて汚染のレベルは徐々に低下するはずであるが、全く低下傾向が見えないということは、家屋全体の温度管理を目的とした空調に伴う二次的な湿度の低下だけではダニの増殖を防ぐことはできないということを示している。ダニの増殖を防ぐためには、米国での報告のように、温度管理だけでなく強力な除湿機による湿度の制御も必要であり、一般家庭における対策としては非現実的である。

わが国の一般家庭における現実的なダニ汚染の低減化対策という面から示唆に富むのは、家屋L2における汚染の推移である。L2は、冬期に居間で開放型暖房器具を使用していることもあり、1年を通じて相対湿度は60%前後で推移している(図5)。湿度は決して低くはないにもかかわらず、調査開始時点では汚染のレベルは非常に低く、ダスト中のDer 1量は感作の閾値とされる2 µg/g dustよりはるかに低値である。このような低レベルはわが国の一般家庭ではきわめて稀である。これには、フローリングの床、頻回の掃除等が寄与しているものと推察される(表1)。しかし、寝室をフローリングの部屋からカーペットのある部屋(それ以前の使用状況は不明)に変更したとたんに床の汚染は急上昇して、それにともなって寝具の汚染も徐々に上昇している。このことは、温湿度の制御でダニの増殖を阻止することがまず不可能なわが国のような地域においては、可能な限り除湿を心がけることとともに、あるいはそれ以上に、カーペットや布製家具の除去、こまめな掃除、洗濯といったごく一般的な室内環境整備策が、ダニによる室内環境汚染の低減化に重要であるということを示している。

## E. 結論

ダニによる室内環境の汚染の実態を明らかにするための室内環境調査に有用な簡易モニタリング手法を開発した。医療用粘着テープで寝具表面、皮膚表面から試料を採取する方法(テープ法)は、サンプリングが簡便であるのみならず、その測定値は室内空気中アレルゲン濃度と有意に相関して、曝露の指標として有用である可能性が示された。

わが国の一般家庭においては、室内の相対湿度を通年的に 50%以下に維持することは不可能であり、ダニによる室内環境汚染の低減化には、カーペットの除去、頻回の掃除、洗濯といった一般的な室内環境整備策の励行が必須である。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ・ Yasueda H, Saito A, Nishioka K, Kutsuwada K, Akiyama K: Measurement of *Dermatophagoides* mite allergens on bedding and human skin surfaces. Clin Exp Allergy 33: 1654-1658, 2003.
- ・ 秋山一男: 気管支喘息の原因としての吸入アレルゲンと空気中ダニアレルゲン濃度測定の意義. 臨床環境医学 13: 11-16, 2004.
- ・ 秋山一男: 生活環境病としてのアレルギー疾患. アレルギー・免疫 12: 9-11, 2005.

### 2. 学会発表

- ・ 齋藤明美, 轡田和子, 安枝浩, 秋山一男, 岡田千春, 高橋清: テープ法による生活環境中アレルゲン量の評価. 第 15 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2003.5.12. 横浜.
- ・ 秋山一男: 気管支喘息の原因としての吸入アレルゲンと空気中ダニアレルゲン濃度測定の意義. シンポジウム「粒子状物質の健康影響」. 第 12 回日本臨床環境医学会総会 2003.6.20 東京.
- ・ 西岡謙二, 齋藤明美, 山田節, 齋藤博久, 秋山一男, 安枝浩: アトピー性皮膚炎乳幼児の皮膚表面ダニアレルゲン量. 第 53 回日本アレルギー学会総会 2003.10.23. 岐阜.
- ・ 釣木澤尚美, 安枝浩, 齋藤明美, 秋山一男, 他: 気管支喘息患者宅の屋内(室内塵, 寝具塵)アレルゲン量全国調査. 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2004.5.13. 前橋.

- ・ 川口博史, 小島実緒, 竹内瑞恵, 齋藤明美, 安枝浩, 秋山一男, 高鳥浩介: アトピー性皮膚炎(AD)患者の住環境における真菌. 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2004.5.13. 前橋.
- ・ 西岡謙二, 齋藤明美, 轡田和子, 秋山一男, 安枝浩: アトピー性皮膚炎乳幼児の皮膚表面ダニアレルゲン量. 第 54 回日本アレルギー学会総会 2004.11.5. 横浜.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働省科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）

総合研究報告書

黒色真菌 *Stachybotrys chartarum* の病原性に関する研究

分担研究者 亀井克彦 千葉大学真菌医学研究センター教授

研究要旨

*Stachybotrys chartarum* はヒト居住環境内に常在する真菌であり、我国の生活環境からも検出されている。近年、本菌吸入と乳児特発性肺胞出血（AIPH）との関係が示唆されているが、本菌の病原性に関しては不明な点が多い。そこで、本菌がヒトに与える影響を、白血球に対する抵抗性、培養上清の生物活性、マウスに投与した場合の病理組織学的変化等の観点から検討した。

その結果、1) 本菌培養上清および洗浄液中に種々の生物活性が見られた、2) 本菌胞子はヒト好中球の殺菌能に抵抗性であった、3) 本菌胞子をマウス気道内に反復して投与すると、肺胞性肺炎からやがて好酸球による血管周囲の間質性肺炎へと移行し、一部では肺動脈壁肥厚に至ったが、全経過を通じて胞子の発芽は見られず、胞子は緩徐に排除された、等が明らかとなった。以上より、本菌の潜在的感染性は否定できないものの実際の感染に至る虞は少ないこと、その一方で、胞子の吸入により特殊な間質性肺炎や肺動脈壁肥厚など、多彩な病変を形成する可能性があることが示唆された。居住環境内における本菌がさまざまな疾患の原因となっている可能性があり、今後の研究が急務と考えられる。

亀井克彦・千葉大学真菌医学研究センター・  
教授

A. 研究目的

*Stachybotrys chartarum* は環境内常在真菌であり、土壌や腐敗した植物の他、我国住居における生活環境からにおいてもその存在が確認されている（図1）。本菌とヒト疾患との関連性としては、本菌の産生するマイコトキシンを経口的に摂取することによって発症する中毒症が有名であるが、それ以外の病原性はほとんど知られていなかった。し

かし、1990年代に米国オハイオ州の本菌が生息する家庭において多数の乳児特発性肺胞出血症例（acute idiopathic pulmonary hemorrhage / hemosiderosis in infants: AIPH）の発症が報告されたことを契機に、本菌とAIPHとの関係に注目が集まるようになった。現在ではその因果関係についての研究が多く報告されるようになってきているが、結論は得られていない。またAIPH以外の疾患に関する研究はほとんどなされていない。そこで本菌とヒトの疾患との関連を明らかにするため

に、本菌の病原性に関する基礎的な検討を行った。

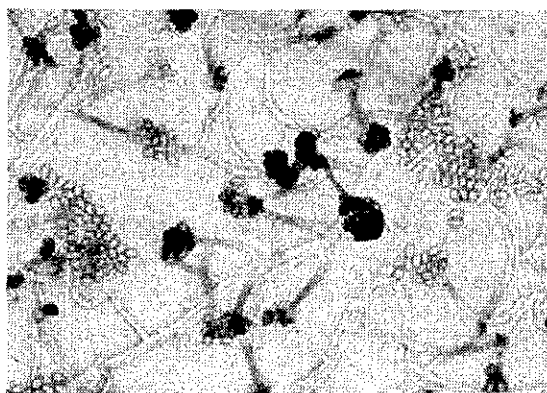


図1： *Stachybotrys chartarum* の孢子

## B. 研究方法

### 1) 最高発育温度

ヒト体内における発育の可能性を検討するために、日本および中国の土壌から採取された本菌株 15 株をポテトデキストロース寒天 (PDA) スラントにて培養し、最高発育温度を確認した。

### 2) 培養上清および孢子洗浄液の細胞傷害性についての検討

・ 培養上清および孢子洗浄液： *S. chartarum* の孢子を RPMI 1640 にて 37℃ で最長 14 日間にわたり培養し、フィルター滅菌して培養上清を作成した。また、25℃ で 4 週間培養した本菌を RPMI 1640 で洗浄して孢子を回収する際、回収した液を滅菌フィルターにてろ過し、孢子洗浄液として用いた。

・ マクロファージおよび好中球： マウス (BALB/c、8 週齢、オス) から回収した腹腔マクロファージと、健常人末梢血から分

離した好中球を用いた。

・ 96 穴マイクロプレート上でこれらの白血球 ( $2 \times 10^4$  cells/well) に *S. chartarum* の培養上清または孢子洗浄液および FBS を添加して 37℃ CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 48 時間培養し、マクロファージの形態学的変化を観察した。

### 3) 好中球による孢子の貪食能、殺菌能についての検討

96 穴マイクロプレートに好中球の浮遊液 ( $10 \times 10^4$  cells/well) と *S. chartarum* 孢子および血清を添加して 37℃ で培養し、貪食能および殺菌能を測定した。また、対照として *Aspergillus fumigatus* (IFM 49896) の孢子を用いて同様の検討を行った。

### 4) 孢子洗浄液に含まれる細胞傷害活性の分析

PDA スラントで 4 週間、25℃ で培養して得た本菌孢子から、孢子洗浄液を作製した。この洗浄液をクロロホルム抽出により、クロロホルム層および水層に分離した。マウス腹腔マクロファージにクロロホルム画分または水層を添加して、経時的にマクロファージの形態変化を観察した。

### 5) マウスにおける組織傷害性

本菌の孢子をマウスに単回投与し、本菌の吸入が組織に与える影響を検討した。また、環境中で本菌に繰り返し曝露されることを考慮し、本菌の孢子をマウスに反復投与した場合の組織への影響等についても検討した。

#### a. 使用菌株

白血球に対する強い細胞傷害性を示した IFM 53637 を用いた。尚、短期間反復投与群では、わが国の居住環境で頻りに検出される *Penicillium decumbens* (IFM 46582) との比較を行った。

#### b. マウス

ddY マウス (6 週齢、オス) を使用した。

#### c. 菌の洗浄液の作製および胞子の採取

本菌胞子を 25℃ のインキュベーター内で 3 週間培養し、胞子を回収して用いた。

#### d. 実験方法

免疫抑制剤などを使用していない健常のマウスをケタミンおよびキシラジンの混合液にて麻酔し、気管内に挿管して菌の洗浄液および胞子を注入した。マウスはアイソレーター内にて水と餌を適宜与えて飼育した。

マウスに 1 回あたり投与した胞子数および注入の回数は、 $1 \times 10^4$  個を 1 回のみ ( $n = 9$ 、単回投与群)、 $1 \times 10^5$  個を週 2 回ずつ 3 週間 ( $n = 8$ 、短期間反復投与群)、 $1 \times 10^2$ 、 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$  個をそれぞれ 2 週間に 3 回ずつ 8 週間 (各  $n = 6$ 、長期間反復投与群) とした。1 回に投与した菌液量はそれぞれ 25  $\mu$ l/mouse とした。また、RPMI1640 のみを投与した群を対照群とした。

単回投与群は投与後 1、3、7 日後に、短期間反復投与群は最後の投与から 4 日後に、長期間反復投与群では最後の投与から 1、7 日後に、各個体から肺、肝、腎、脾を摘出して病理組織学的検討を行った。染色は原則として Hematoxylin Eosin (HE) 染色法を用いた。

#### C. 研究結果

##### a) 最高発育温度

いずれの菌株においても最高発育温度は 37℃ であることが確認された。38℃ では発育は認められないものの、少なくとも 2 週間は菌の生存は可能であった。

##### b) 培養上清および胞子洗浄液の細胞傷害性についての検討

培養上清の添加によりマクロファージは著しく紡錘形に変形した。胞子洗浄液は低濃度においては培養上清と同様の変化をもたらした。しかし、高濃度 (30-50%) 添加すると空胞形成が認められるようになり、一部の株では 1% 以上の添加で 24 時間以内に細胞の崩壊に至った。好中球に胞子洗浄液を添加して培養すると、好中球は曝露後 2 時間程度から膨張を開始しやがて崩壊に至った。

##### c) ヒト好中球による胞子の貪食能、殺菌能についての検討

好中球の %phagocytosis は、培養開始後 60 分までに 70-80% 程度に達した。一方、*A. fumigatus* においては %phagocytosis は約 50% にとどまり、*S. chartarum* に比して好中球の貪食に対する抵抗性が認められた。一方、phagocytic index では、*S. chartarum* が *A. fumigatus* よりも低値を示した。また、*S. chartarum* の胞子の生存率は、貪食開始後 6 時間で 60-80% 程度であり、好中球の殺菌能に対する抵抗性が認められた。



d) 孢子洗浄液に含まれる細胞傷害性成分の分析

マクロファージにクロロホルム画分を添加すると、マクロファージの紡錐形への変形は、クロロホルム画分および水層の両方に認められた。しかし、マクロファージの崩壊はクロロホルム画分添加系のみ認められ、細胞は培養開始後 24 時間までに崩壊した。水層を添加した系では細胞の崩壊は見いだされなかった。

A. マウスにおける組織傷害性

1) 単回投与群

本菌投与後 1 日目に、肺胞内に好中球を主体とした炎症細胞浸潤が認められた。3 日目にはこれらの炎症は消退するとともに、肺胞内の炎症細胞の主体はマクロファージに変化した。菌の投与後 7 日目にこれらの炎症像は認められなくなった。

また、肺内で孢子の存在は確認されたものの、投与後の日数の経過とともに数が減少し、7 日目には見られなくなった。全経過を通じて孢子の発芽は確認されなかった。

2) 短期間反復投与群

菌の最終投与終了後 4 日目に、肺胞内および血管周囲に多数の好酸球、好中球およびマクロファージによる細胞浸潤が認められた。一部には多核巨細胞が見られた。また、対照として *P. decumbens* を投与したマウスでは炎症細胞の浸潤を含め、有意な所見は認められなかった。

3) 長期間反復投与群

$1 \times 10^4$  個/mouse の孢子を投与したマウスにおいて、菌の最終投与終了後 1 日目に肺動脈の周囲に多数の好酸球を含む炎症細胞浸潤が認められた (図 2)。一部のマウスでは、血管壁の肥厚による動脈内腔の狭窄および閉塞が見られた (図 3)。



図 2 長期間反復暴露後の間質病変 (HE 染色。100X)

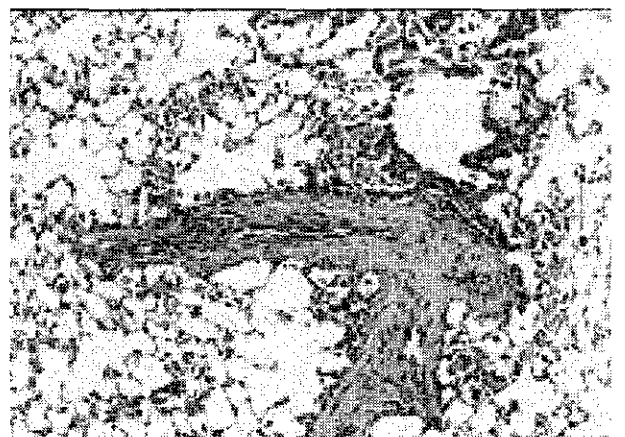


図 3 長期間反復暴露後の血管病変 (HE 染色。400X)

一方、 $1 \times 10^3$  個/mouse の孢子を反復投与したマウスでは、最終投与終了後 1 日目に肺胞

内にリンパ球やマクロファージを主体とする炎症細胞浸潤が見られたが、その程度は  $1 \times 10^4$  個/mouse を反復投与した場合と比べて軽微であった。 $1 \times 10^2$  個/mouse での炎症細胞浸潤は更に弱かった。

なお、いずれの実験系においても、肝、腎、脾に有意な所見は認められなかった。

#### B. 細胞傷害性が異なる菌株の投与による組織傷害性の相違

In vitro での実験で細胞傷害性が強かった菌株 (IFM 53637) を投与したマウスでは、投与後 1 日目に、肺胞に好中球およびマクロファージを主体とした炎症細胞浸潤が認められた。一方、細胞傷害性が弱かった菌株 (IFM 53635) を投与したマウスの肺においても同様の炎症細胞浸潤が見られたが、IFM 53637 に比べてその程度は明らかに軽微であった。

#### D. 考察

1) *S. chartarum* は 37℃ で発育が見られないものの、生存は 38℃ においても可能であった。マウス肺感染モデルにおいては、肺内での発芽は認められず、胞子は次第に減少していったが、1 週間後も一部は肺内に生存していた。一方、in vitro の実験では *S. chartarum* の胞子は、好中球の殺菌に対して抵抗性を示していた。これらの点より、本菌がヒトに感染する可能性は低いが、本菌はヒトに病原性を示す基本的な要件を有しているものと考えられる。

2) 本菌の胞子洗浄液で見られた細胞傷害活性の原因となっている物質は明らかでないが、胞子洗浄液のクロロホルム画分に含まれる細胞傷害性成分が何らかの関与をしている可能性が示唆される。また、後述する肺における炎症の惹起も成分に由来している可能性が考えられる。

3) 今回の *S. chartarum* 気道内注入モデルでは、肺胞出血は限定的なものにとどまり、本菌吸入が直接 AIPH の発症に結びつく明確な証拠は得られなかった。一方、本菌注入後、マウスにおいて比較的長期間にわたり激しい肺胞性肺炎が生じ、さらに反復した投与により、好酸球をまじえた血管周囲の間質性肺炎や、肺動脈壁肥厚による内腔の狭窄・閉塞といった、これまでに報告のない病変の形成が確認された。いずれの病変においても本菌の定着は確認されておらず、これらに本菌による感染ではなく、本菌に含まれている活性物質により惹起された病態と考えられた。

4) 本実験で、以上のような幾つかの新しい知見が得られた。その理由としては、a. 本研究で用いた菌株は、日本および中国で分離されたもので、これまでの欧米の研究で使用されてきた菌株とは異なっている、b. 実験に用いた動物種が異なる、c. これまでに行われたことのない確実な気道内注入法 (気管内挿管) による気道内反復投与が用いられた、などの点が影響した可能性が考えられる。

本研究により、*S. chartarum* の吸入によって種々の肺病変が形成される可能性が明らかとなった。これは実際の生活環境においても、本菌胞子の吸入によって住人の肺に慢性炎症を生じたり、肺循環障害を含めた重篤な疾患が惹起することにより、本菌が広義の Sick Building Syndrome の原因となっている可能性を示している。特に、終日生活する居住環境において本菌が大量に発生すると、住人は反復して慢性的な暴露を受けると考えられる。傷害の発生機序はもちろんのこと、ヒトとマウスとの種の相違、日本、中国株と、欧米株との相違、さらには我が国の生活環境において本菌胞子がどの程度の濃度に達し得るのかといった環境要因を含め、今後詳細な検討が必要であると考えられる。

#### E. 結論

*Stachybotrys chartarum* の気道内投与により、マウスには明らかな AIPH 類似の肺胞出血は得られなかった。しかし、本菌胞子が強力な生物学的活性を有していること、本菌の暴露によりマウス肺において好酸球による血管周囲間質の炎症に加え、一部で肺動脈壁肥厚が認められたことより、居住環境内の本菌の吸入が肺胞出血とは異なった形の重大な疾患と関連している可能性が示唆された。本菌とヒト肺疾患との関連性について、更なる検討が必要と考える。

#### F. 健康危険情報

現時点では特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

・ Eri Ochiai, Katsuhiko Kamei, Kenzo Hiroshima, Akira Watanabe, Yoshie Hashimoto, Ayaka Sato, Akikazu Ando: The pathogenicity of *Stachybotrys chartarum*. Japanese Journal of Medical Mycology (印刷中)

##### 2. 学会発表

- ・ 落合恵理、亀井克彦ほか：*Stachybotrys chartarum* の白血球に対する細胞傷害性に関する検討。真菌症フォーラム第5回学術集会、2004.
- ・ 落合恵里、亀井克彦、佐藤綾香、渡邊哲、橋本佳江、日暮浩実：*Stachybotrys chartarum* による肺病変に関する研究、第48回日本医真菌学会総会、2004.
- ・ 落合恵理、亀井克彦、佐藤綾香、渡邊哲、橋本佳江、日暮浩実：*Stachybotrys chartarum* の気道内投与による肺組織の傷害について。真菌症フォーラム第6回学術集会、2005.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## 居住環境中の真菌による疾患についての実態調査・研究

分担研究者 高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長

### 研究要旨

居住環境にみる真菌とその健康被害の観点から文献検索を行った。1966-2002年までの文献をキーワードとして居住環境、真菌、アレルギー、感染の組み合わせで検索したところ計343件あり、感染、アレルギーに関する文献が38-127件であった。これら文献を1966年から5年単位で見ると1996年以降での報告数が多くなっている。

居住環境中の真菌量や分布の測定法は培養によって実施されているが、真菌の測定を簡易かつ迅速に実施できる方法として二重蛍光染色法及び市販ファンギフローラYによる蛍光測定の方法で検証しその有用性を確認した。

また、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握することが目的であり、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境を中心に真菌の分布を調査し、同環境は特異な真菌生態を有していることを明らかにすることができた。

生活環境にみる真菌の具体的除去対策を、タタミ、ジュタン・カーペット、フローリングおよび空中環境を対象に行った。除塵ならびに除真菌法として、掃除機、粘着クリーナー、拭き・掃き掃除、空気清浄機で比較したところ、特に除真菌効果の高い掃除方法は、掃除機ならびに空気清浄機の使用であった。

### A. 研究目的

居住環境における真菌とそれに基づく疾患の発症、感染性疾患の伝播についての検討はほとんどなされていない。そこで、これらの点について知見を収集し、最終目標として居住環境中の真菌による疾病の予防を目的とした居住環境の維持管理の在り方、疾患の伝播予防法について研究を行う。

まず国内外での居住環境にみる真菌による健康被害を背景とする実態や問題点を把握するための文献検索を行った。特に国内で研究が遅れている分野や今後問題となる可能性のある居住環境由来の真菌を拾いあげ、その重要性や国内における研究の必要性を明確にすることを目的とした。

居住環境中の真菌量や分布の測定法は培養によって実施されているのが現状である。しかし、真菌の測定をなるべく簡易かつ迅速に実施できる方法があれば居住環境の真菌測定は比較的円滑に進むものと思われ、真菌の迅速かつ簡易な手法の検討をすることを目的とした。

また本研究課題は、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握することが目的の一つで、これまで居住環境のうち、屋内・屋外の空気中における真菌の動態について国内国外問わず多くの報告がなされてきた。しかし感染性疾患と真菌との関わりの観点からみると今日話題となる日和見感染性真菌の生態を把握することが重要である。ところが、

現実には日和見感染性真菌の居住環境での分布を詳しく調査した報告はほとんどない。そこで、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境を中心にして真菌の分布を調査した。

研究課題のまとめとして生活環境にみる有害真菌の制御を具体的に実施した場合、どの程度可能か検討することとした。すなわち、生活環境には *Cladosporium*, *Penicillium* を主要とした真菌が生息しており、こうした真菌について5通りの清掃をすることにより、いかに減少させることが可能か検討し、その有効性を目的として研究を行った。

### B. 研究方法

1) 文献調査として Medline および Science Direct で検索した。居住環境と真菌との関連について「居住環境、真菌、感染、アレルギー」をキーワードとして検索を行った。

さらに、この検索でヒットした文献を以下の項目別に分類した。空気質、生態、方法、予防、制御、生物活性、汚染、ハウスダスト、空気、湿度、免疫、毒素、シックハウスおよび *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Sporothrix*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Ustilago*, 皮膚糸状菌, *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, 酵母, 放線菌