

震災後の肥満とアレルギー疾患への対応
東日本大震災後の小児気管支喘息の有症率と環境整備介入による変化
真菌汚染および真菌・ダニ量増減の関連性

研究分担者 渡辺 麻衣子
国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部・室長

研究要旨

小児の住環境における真菌およびダニ汚染程度の評価、および環境整備介入による真菌数軽減効果の有無を検討する目的で、異なる自治体間における寝具付着真菌数の測定および比較、および環境整備介入前後の真菌数の比較を行った。その結果、真菌数においても、寝室および寝具のメンテナンスを中心とした介入方法によって、アレルギー物質の軽減効果が得られたことが確認できた。さらに、一度環境整備介入を行えば、この軽減効果は持続的に得られる可能性が高いことが示された。また、石巻市、岩沼市、加美町において同様の方法で得られた寝具付着真菌数を比較した結果、今回、沿岸部からの距離のもたらす津波被害程度や住宅全壊程度といった震災から受けた被害程度と、寝具付着真菌数との間に、直接の関連性を検出することはできなかった。今後、東北地方以外の地域で、同様の方法による寝具付着真菌数調査を行い、今回の結果と比較する必要があると考えられた。

研究協力者

釣木澤尚実・国立病院機構埼玉病院 呼吸器内科、押方智也子・国立病院機構埼玉病院 呼吸器内科、齋藤明美・国立病院機構相模原病院臨床研究センター、鎌田洋一・甲子園大学 栄養学部、山崎朗子・岩手大学 農学部 共同獣医学科

A. 研究目的

研究代表者らの過去の研究成果から、東日本大震災後に小児のアレルギー疾患が有意に増加していることが明らかとなった。また、研究分担者らの過去の研究成果から、被災地に多く建設された応急仮設住宅において、室内では高度な真菌汚染が進行している傾向にあることが示された。真菌は住環境において普遍的に存在する微生物であるが、何らかの要因によって室内で異常発育することがある。災害時には、住環境の

温度・湿度がコントロール不能になり、清掃が不十分となる問題が生じやすいことから、異常発育に陥りやすい。室内において、真菌の異常発育とダニの増殖は密接な相関関係にあることが以前から多くの研究者によって主張されている。両者は、吸入曝露によってアレルギーとなることが広く知られており、真菌とダニに高濃度汚染された住環境の居住者は、アレルギーを発症するリスクに晒される。研究分担者らが過去の研究で実施した呼吸器アレルギー集団検診の結果から、宮城県石巻市内に居住する仮設住宅に居住する15歳以上の住人の中で、喘息の有病率が比較的高値を示したこと、および血清学的検査を行ったところ血中のダニおよび複数菌種の真菌特異的 IgE 陽性者頻度が高まっていることが確認された。これらのことから、本研究では、東日本大震災後に見られた小児のアレルギー疾患の増加が、住環境の真菌およびダニ汚染

と関連したものである可能性を考慮し、小児の住環境における真菌およびダニ汚染程度の評価、およびダニ増殖における真菌汚染の寄与に関する検討を行い、真菌およびダニ汚染を改善するための効果的な介入方法の確立を目的とした研究を行うこととする。

H28年度は、石巻市小学校2年生全児童を対象として、住宅状況および住まい方、およびアレルギー疾患有症率調査を実施した。また、同意の得られた一部の対象者において、使用する寝具表面に付着するDer1量および総真菌数の定量を行った。その結果、寝具付着真菌数は比較的多く、かつ対象者間で大きなバラつきが見られたことが確認された。そこで、今年度は、H28年度調査対象者に対して、ダニ、真菌に対する環境整備指導を定期的に行い、Der1量および真菌数の継続的变化を追跡する。環境整備指導実施前後にH28年度の方法と同様の方法で、アレルギー疾患有症率等調査および寝具付着Der1量・真菌量の計測を行う。さらに、石巻市以外の市町村で同様の寝具付着Der1量・真菌量調査を行い、これまでに得られた結果が、石巻市特有の現象であるのか否かを確認する。得られたデータを比較解析し、Der1量および真菌量の間に関連性、および、石巻市におけるダニ・真菌の高濃度汚染状態をもたらす要因について考察する。これらによって、被災状況とこれらのアレルゲン量の増減の関連性とその要因、および各環境整備介入方法の効果について、明らかにする。

B. 研究方法

本年度は、宮城県石巻市での介入試験の継続、および宮城県岩沼市および加美町での真菌・ダニの汚染状況の把握および介入試験を開始した。

宮城県内に居住する小学生をもつ家庭を対象として、環境中のアレルゲン汚染量調査、および環境整備介入によるアレルゲン汚染量および臨床症状の変化を、研究分担者・釣木澤博士と共同で実施した。そのうち、ダニアレルゲンであるDer1量汚染量測定、および環境整備介入方法については、研究分担者・釣木澤博士の研究分担報告書を参照のこと。本報告書では、寝具に付着した真菌量および市町村間での真菌量の相違についてのみ報告する。

寝具や寝室のメンテナンスを中心とした環境整備

方法による、寝具に付着する真菌量軽減効果を確認するため、2017年3月および7月に実施した環境整備介入の前後で、対象者16名の同一の寝具について同様の方法で寝具付着物を採取、培養し、真菌数を比較することとした。さらに、宮城県内の津波被災程度および海岸線からの距離や緯度が異なる2自治体として、岩沼市および加美町を選択し、石巻市と同様の方法で、小学1~6年生の寝具付着物を採取、培養して真菌数を決定し、自治体間で真菌数を比較した。対象者数は、石巻市小学2年生(2017年4月に3年生に進級)のうち調査を希望した101人、および岩沼市または加美町に居住する小学1~6年生のうち調査を希望した615名および200名であった。

研究対象者の寝具(シーツやベッドパットではなく布団やベッドマット本体)表面積1m²あたりに付着する真菌叢の調査方法、すなわちテープ培養法を以下に述べる。同意の得られた調査対象者それぞれに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(テガダーム; 3M)を配布し、1回のサンプリングにおいて寝具表面に3枚ずつ貼付し寝具付着物を採取した。そのうち2枚をDer1量、1枚を真菌叢の測定にそれぞれ使用した。環境整備介入の効果を検討するため、環境整備前および整備2週間後両方でサンプリングを実施した。得られたテガダームをDichloran Glycerol Agar (DG-18; Oxoid) 寒天培地の寒天面に貼り付け、2晩静置後にテガダームを除去し、25度さらに5晩培養を継続した。その後、寒天培地上に形成された真菌コロニー(図1)を計測し、colony forming unit(CFU)で表した。この値から寝具1m²あたりの総真菌数を算出した。さらに、形成されたコロニーを目視および実体顕微鏡観察により観察し、アレルギー性が比較的高い菌種が多く属するグループとして、代表的なアレルギー性真菌である*Aspergillus fumigatus*が属する*Aspergillus*属菌、*Candida albicans*および*Malassezia furfur*が属する酵母類、およびその他の計3グループに分類し、それぞれの菌数を計測した。分類は、寒天平板上に形成されたコロニー性状の目視および実体顕微鏡観察像、および生物顕微鏡によるプレパラート観察像(図2)を指標として行った。プレパラート観察は、DG-18寒天平板培地上に形成されたコロニーをかきとりスライド標本を

作製し、実施した。

(倫理面への配慮)以上の研究はヘルシンキ宣言を遵守して遂行し、研究対象者に対する不利益、危険性を排除し、同意を得た。また当院の倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

喘息有症率調査、アレルゲンのうちダニアレルゲン Der 1 の寝具汚染量調査、および環境委整備指導に関する結果は、研究分担者・釣木澤博士の進捗状況報告書を参照のこと。

真菌の寝具付着菌数調査の結果を図3および4に示した。石巻市小学2年生において2017年3月および2018年7月(小学3年生に進級している)に実施した環境整備介入の前後で、寝具付着真菌数を比較した結果を図3に示した。さらに、ここでは参考として、2017年4月に同様の方法で実施した石巻市内仮設住宅居住者20名(平均年齢約60歳)の環境整備介入前後の寝具付着真菌数も示した。比較した結果、石巻市小学2年生の家庭で実施した3月の介入では、介入前から寝具100cm²相当に付着する菌数が10CFU以下と低かった4例を除き全体として介入後に菌数は低下する傾向が見られた。特に寝具100cm²相当に付着する菌数が10CFU以上であった高濃度真菌数検体については、33CFUから48CFUに増加した1例以外で著しい低下が見られ、介入効果による菌数の軽減が確認された。その後に行われた7月の介入では、10CFUを超えた家庭が16例中1例も無く、16例中8例で菌数が増加していたが、もともとの菌数が少なかったことから真菌汚染程度の上昇とみなす必要は無く、3月の介入後に得られた真菌数の軽減効果が持続して得られているものと考えられた。

また、図4においては、石巻市、岩沼市、加美町で実施した寝具付着菌数調査の結果を、総真菌数、*Aspergillus*属菌および酵母類に分けて、比較した結果を箱髭図によって示し、比較した。その結果、石巻市は酵母類菌数のみ他自治体より有意に高く、石巻市と同様に津波被害が大きかった岩沼市よりも総真菌数が高かった。岩沼市は総真菌数、*Aspergillus*属菌数、酵母類菌数ともに他自治体と比較して有意に低い

傾向にあり、津波被害程度や海辺の高湿度気候と寝具付着菌数の程度との間に関連性は見られなかった。加美町は、総真菌数は他2自治体と比較して低くはなかったが、*Aspergillus*属菌および酵母類菌数は比較的lowであった傾向が見られ、これらアレルギー性真菌の割合は低かったことが示唆された。

D. 考察 (見出し:MSP ゴシック 10ポイント)

図3の結果から、ダニアレルゲンタンパク量の軽減と同様に、真菌数においても、寝室および寝具のメンテナンスを中心とした介入方法によって、アレルゲン物質の軽減効果が得られたことが確認できた。さらに、2017年7月の菌数が介入前も低かった理由としては、1度目の介入効果が持続したためである可能性があると考えられた。したがって、一度環境整備介入を行えば、軽減効果は持続的に得られる可能性が高いことが示された。なお、比較対象として、同様の環境整備介入試験によって得られた、石巻市内における平均年齢約60歳の応急仮設住宅居住者の使用する寝具の介入前後の真菌数を比較した結果を図3に示した。仮設住宅から得られた結果では、介入前にテガダーム1枚あたり10CFU以上であった家庭のうち10以下に低下した家庭は2例しかなく、逆に2例で30CFU以上と大幅に増加し、1例で10CFUに低下が見られなかった。これは小学生の家庭では見られなかった傾向であった。このことから、小学生をもつ家庭、すなわち掃除を中心的行う家族の年齢層が比較的低いと考えられる家庭においては明確な効果が現れた方法でも、高齢者に同じ整備方法の指導を行ったとしても、整備を効果的に実施できず十分な真菌数低減効果が得られにくいことが示唆された。

図4の結果から、沿岸部からの距離のもたらず津波被害程度や住宅全壊程度といった震災から受けた被害程度や、温度湿度といった気候の違いと、寝具付着真菌数との間に、直接の関連性を検出することはできなかった。しかし、加美町は、他2自治体と比較して震災による被害程度が小さかったことが知られるが、総真菌数は他2自治体と比較して低くはなかったものの、*Aspergillus*属菌および酵母類菌数は比較的lowであった傾向が見られ、アレルギーのリスクが低い他真菌類の増殖の割合が高かった傾向にあると考えられ

た。自治体によって、曝露する菌種の違いをもたらすアレルギーリスクの違いが生じた可能性が考えられた。さらに、岩沼市は他2自治体と比較して全体的に付着真菌数が少ない傾向にあったことから、被災や温湿度湿度とは直接の関連性が低い何らかの事柄が影響し、真菌数が低くなっている可能性も考えられた。今後、保護者から、の聞き取り調査によって真菌数の違いをもたらす要因を明らかにする必要がある

本研究の結果から、住宅の被災程度や温湿度等気候の違いが寝具付着真菌の増殖に及ぼす影響の有無とそこからもたらされる真菌アレルギーリスクの大きさの違いを明らかにすることはできなかった。また、東北地方全体で真菌数が高くなっている傾向がある可能性があるが、比較しこれを判断するための、本研究以外の寝具付着真菌数のデータに乏しいという現状がある。そこで今後、関東地方等で同様のデータを収集する必要があることが考えられた。さらに、真菌の存在がダニ汚染程度に関わっていることが過去の複数の研究から示唆されているが、真菌とダニ増殖の関連性については不明な点が多く、今年度までに明らかとなった真菌叢データを参照し、優占菌種の菌数がダニ増殖に与える影響を実験的に検討する必要があると考えられた。これらのことから、引き続き調査を継続し、これらの調査データの収集が必要であると言える。

今後、喘息有症例とその寝具付着真菌数との関連性、同一の対象者寝具における総真菌数とDer1量との間の関連性、および真菌数とダニ増加の間の相関性の有無について検討する予定である。これらを明らかにすることによって、効果の高い環境整備介入方法を明らかにし、大規模震災後の小児における住宅整備を中心としたアレルギー疾患の重症化防止方法についての提言としてまとめることができると考える。それによって、アレルギー原因や家庭における環境整備方法に関する啓発活動の意義を高め、活発化すること、また、小児医学、公衆衛生学等の母子保健分野において、小児アレルギー疾患と予防策に関連した、社会的にインパクトのある情報を広く提供することができると考えられた。

E. 結論

ダニアレルゲンタンパク量の軽減と同様に、真菌数においても、寝室および寝具のメンテナンスを中心とした介入方法によって、アレルゲン物質の軽減効果が得られたことが確認できた。さらに、2017年7月の菌数が介入前も低かった理由としては、1度目の介入効果が持続したためである可能性があると考えられた。したがって、一度環境整備介入を行えば、軽減効果は持続的に得られる可能性が高いことが示された。また、石巻市、岩沼市、加美町において同様の方法で得られた寝具付着真菌数を比較した結果、沿岸部からの距離のもたらす津波被害程度や住宅全壊程度といった震災から受けた被害程度と、寝具付着真菌数との間に、直接の関連性を検出することはできなかった。今後、東北地方以外の地域で、同様の方法による寝具付着真菌数調査を行い、今回の結果と比較する必要があると考えられた。また、真菌とダニ増殖の関連性についてさらなるデータ収集を継続して住環境のアレルゲン汚染に対する真菌汚染が果たす役割を明らかにし、小児アレルギー疾患の予防方法に関する情報を社会に提供するため、本研究を継続する必要性が高いと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

1. 応急仮設住宅居住者における住宅汚染真菌特異的IgE濃度の測定. 久保文、窪崎敦隆、押方智也子、齋藤明美、石田雅嗣、小林誠一、鎌田洋一、山崎朗子、矢内勝、寺嶋淳、釣木澤尚実、渡辺麻衣子. 日本防菌防黴学会 第44回年次大会, 2017.09.
2. 水害被災後の家屋の真菌叢の推移及び家屋の環境による真菌叢の相違. 土田康之、渡辺麻衣子、高木拓也、小沼ルミ、寺嶋淳、木村悟隆. 日本防菌防黴学会 第44回年次大会, 2017.09.
3. 培養法およびアンプリコンシーケンス解析に

よる室内真菌叢の比較. 青木渉, 窪崎敦隆, 野地歩, 吉成知也, 橋本一浩, 小沼ルミ, 久保文, 南千紘, 小林直樹, 小西良子, 石毛太一郎, 寺嶋淳, 佐々木剛, 渡辺麻衣子. 平成 29 年室内環境学会学術大会, 2017.12.

特になし
3. その他
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

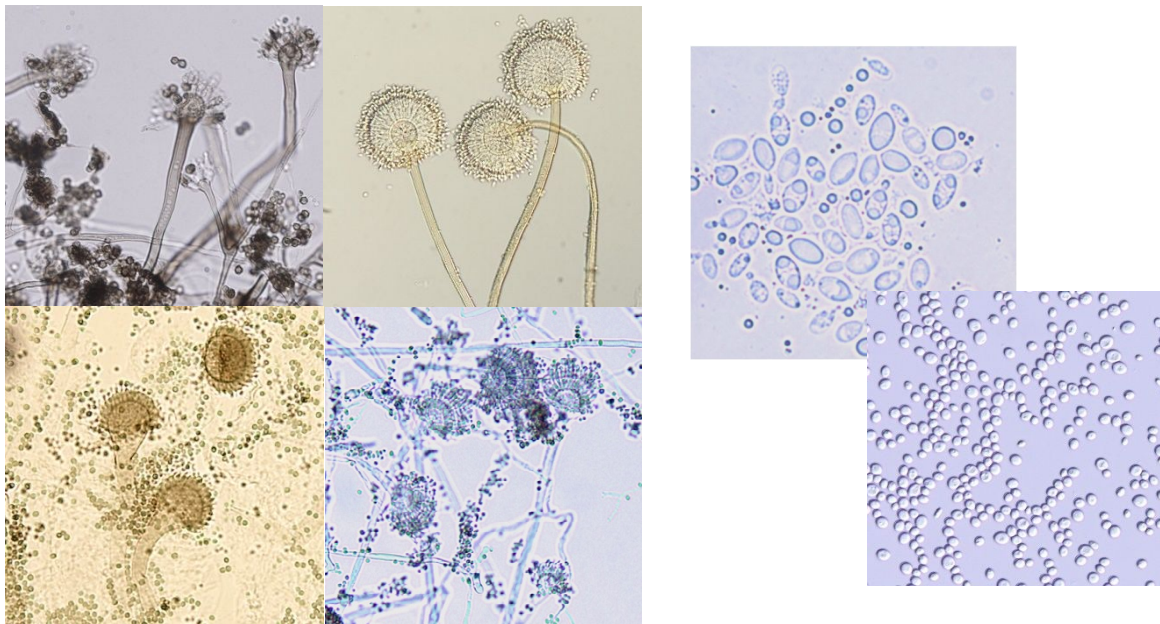
1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録



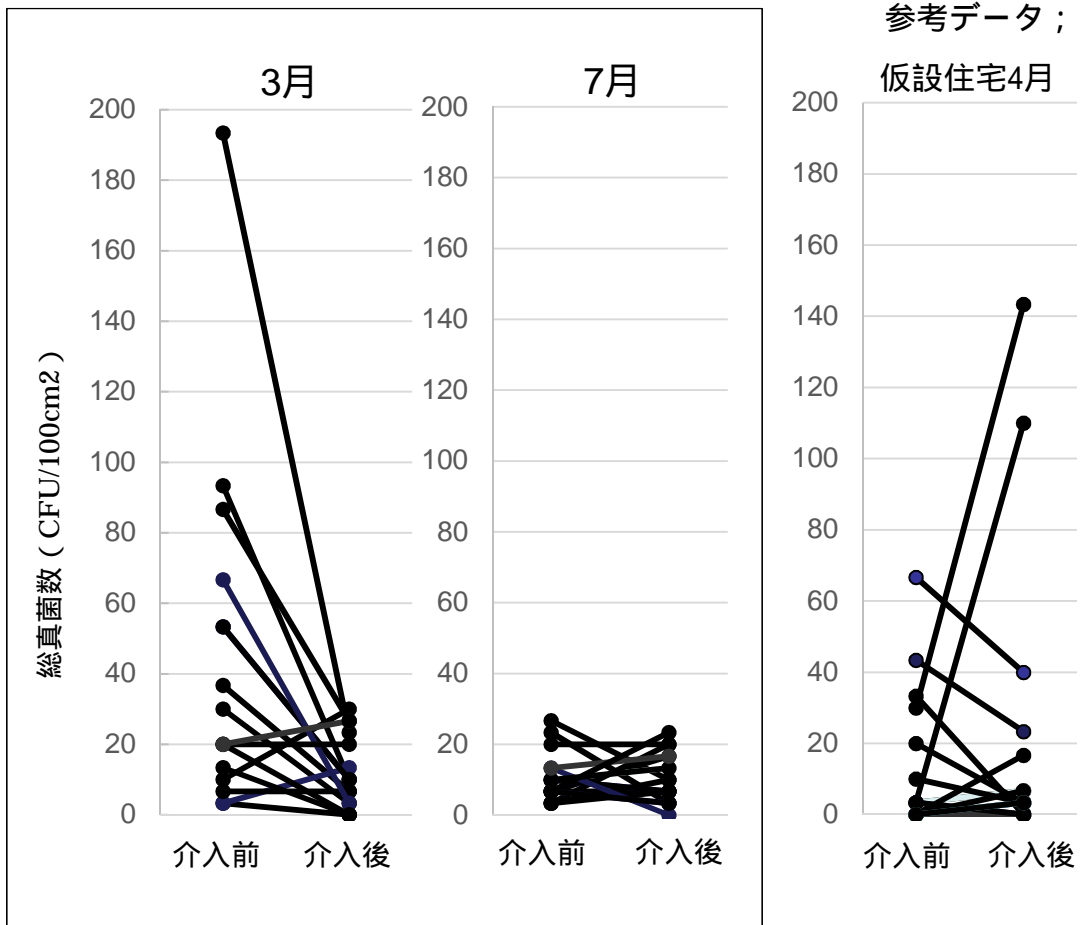
図 1 . テープ培養法によって寒天平板上に形成された寝具付着真菌コロニー像



(1) 住宅室内でしばしば確認された
Aspergillus 属菌 4 種

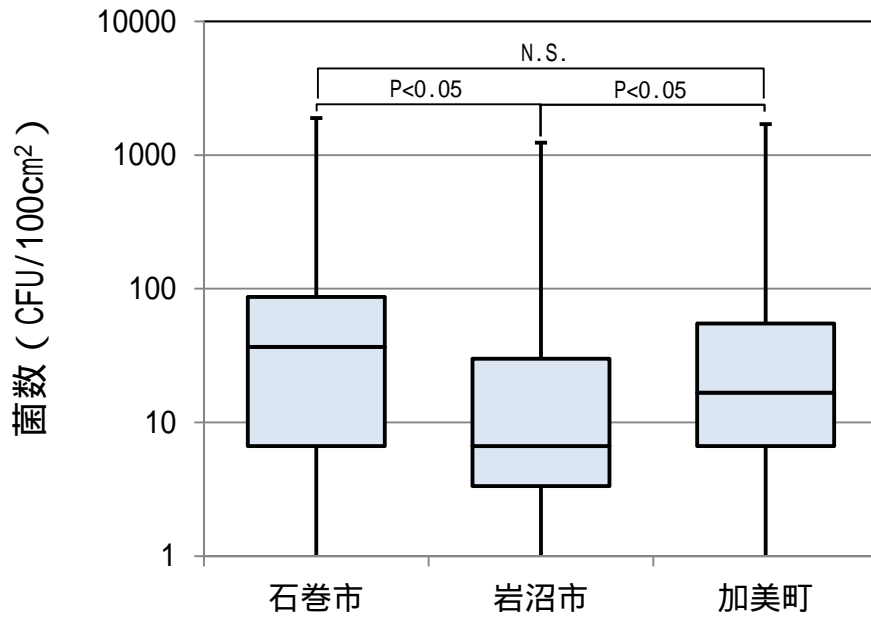
(2) 酵母類

図 2 . 真菌のプレパレート観察像

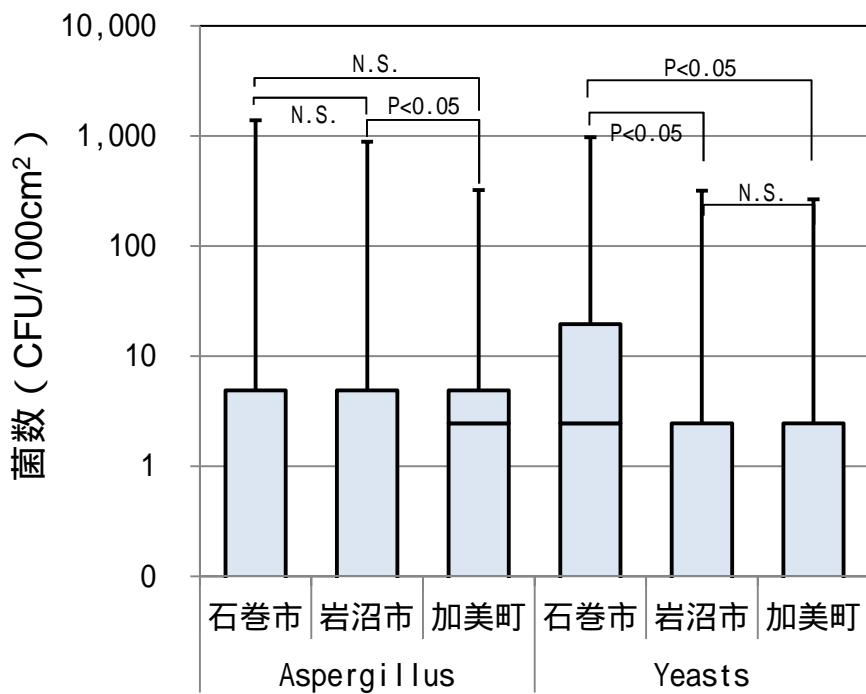


真菌の菌数を寝具 100cm²に付着した colony forming unit (CFU) で表した。石巻市小学2年生の寝具から3月に、および石巻市3年生の寝具から7月に、それぞれ採取したテガダームから培養した菌数について、環境整備介入前および介入後の同一の児童における菌数を比較した。

図 3. 石巻市小学 2-3 年生における寝具付着真総菌数の環境整備介入前後の推移



(1) 各市町村における総真菌数の比較



(2) 各市町村における *Aspergillus* 属菌および酵母類菌数の比較

真菌の菌数を colony forming unit (CFU) で表した。グラフは箱髭図で表し、それぞれ最大値・第三四分位・中央値第一四分位・最小値を示した。

図 4. 各市町村における寝具付着真菌数の比較