

震災後の肥満とアレルギー疾患への対応
真菌およびダニ増減の関連性に関する検討

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

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、また小児が居住する住宅において、室内では真菌およびダニ汚染が進行している傾向にあることが示された。そこで本研究では、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、室内のアレルゲンとして最も重要なダニに対する増殖要因としての真菌の寄与を明らかにすることを目的とした検討を行った。

真菌がダニの増殖に関与することについてのエビデンスを得ることを目的とした実験を行った。室内に高頻度・高濃度で分布することが知られる真菌 7 種とダニ 3 種を組み合わせ、それぞれの組み合わせにおいて、共培養によるダニの増殖率、およびダニの真菌への走性を調査し、比較した。その結果、室内でアレルゲンとなるダニの種類ごとに、真菌種に対する一定の嗜好がある可能性が示唆されたが、いずれのダニにおいても、酵母類と共培養した際の増殖率は有意に高く、また酵母への嗜好性が高いことが確認された。よって、酵母類の発育しやすい特徴を持つ室内環境中で、ダニがより発育する可能性が考えられた。

研究協力者

釣木澤尚実（平塚市民病院 アレルギー内科）
押方智也子（平塚市民病院 アレルギー内科）
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）
橋本一浩（エフシージー総合研究所）

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ゲン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。実際に、研究分担者らが 2014 年以降に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の 15 歳以上住民の間で、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カビ特異的 IgE 陽性者頻度が高まっている現状が把握され、住民の間で、アレルギー性疾患発症のリスクが高まっていることが確認された¹⁾。

真菌のアレルギー性健康リスクについて検討する際に、真菌がそれ自体アレルゲンとなることはもちろんのこと、室内環境に分布する最も強いアレルゲン物質のひとつであるダニ類との関連性も考慮に入れた検討を行う必要がある。室内に分布するダニ類には多数の種類が存在することが知られるが、中でもヒョウヒダニ類は、室内のハウスダスト中に含まれる全ダニのうち9割以上を占め、さらにアレルゲン性が非常に強く、室内で曝露されるアレルゲンとして最も重要な物質であることがよく知られている。他に、真菌は、ダニとの間に強い生態的関連性を持つ。すなわち、ダニは食菌性であること²⁾、ダニは体表に真菌を付着させて移動し、増殖を促進する可能性があることが知られており³⁾、真菌が異常発育している場所では、ダニ類の増殖条件が整った環境である可能性が高い。また、室内で、ヒョウヒダニに次いで多く分布することが知られるケナガコナダニにおいては真菌種に関する嗜好性の偏りがあることが実験的に確認されたという報告がある³⁾。さらに、真菌においては、菌種によって発育に最適な気質の水分活性値が、簡易的な指標として気中の相対湿度が異なることが知られている。例として、酵母類や *Cladosporium* 属菌は好湿性真菌とされ、反対に、*Eurotium* 属菌などは好乾性真菌とされる。したがって、ダニが好む真菌種類を明らかにすることによって、室内でダニと真菌が増殖しやすい環境を特定することができる可能性がある。

これらのことから、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、真菌およびダニ汚染を改善するための基礎的データを得ることを目的として、ダニ増殖における真菌汚染の寄与に関する検討を行った。

B. 研究方法

真菌のダニアレルゲン量増加への寄与について明らかにするため、真菌がダニの増殖に関与することについてのエビデンスを得ることを目的とした2種類の実験を行った。両実験ともに、室内で高濃度・高頻度で確認される7菌種の真菌(酵母1菌種; *Candida* sp. およびカビ6菌種; *Cladosporium* sp., *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus*

penicillioides, *Eurotium* sp. および *Penicillium expansum*; 図1)、および3種のダニ(ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニおよびケナガコナダニ)を用いた。真菌1種とダニ1種を組み合わせ、それぞれの組み合わせにおいて、共培養によるダニの増殖率、およびダニの真菌への走性を、実験的に確認することとした。ダニの走性を確認する実験では、図2に示す通りの実験装置を使用した。滅菌した直径1.5cm 濾紙(直径8mm 濾紙)をPDA およびM40Y 平板培地上に置き、菌株の孢子懸濁液を塗抹して、25℃で7日間培養することによって、濾紙上に真菌が生育した真菌濾紙を作製した。この真菌濾紙7菌種分を1片ずつ、直径12cm のガラスシャーレの縁に沿って均等に並べた。ガラスシャーレ中央に、ダニ飼育用培地中で培地1gあたり20,000頭以上の密度で増殖したダニを適当数配置した後、ガラスシャーレ上部を酸素透過性のあるフィルム(MILLIWRAP、MILLIPORE 製)で覆い、湿度75%・25℃で8~14時間、暗条件下で静置した。静置後、直ちに-30℃で凍結した。その後、濾紙を50mlの遠沈管に入れ、0.1%DEI WEL(富士フィルム)溶液を2ml加えボルテックスで混合後、60℃の温湯で40分加熱し、ダニ測定用分散液とした。本分散液を新たな濾紙上に展開し、ダニ頭数を計測した。また、ダニの増殖率を確認する実験では、以下の通りに示す実験装置を使用した。上述の真菌濾紙1菌種を滅菌ガラス試験管に2片ずつ加え、そこにダニ1種を10-13匹ずつ接種した。試験管上部を酸素透過性のあるフィルムで覆い、湿度75%・25℃で2か月間、暗条件下で静置した。静置後、直ちに-30℃で凍結した。その後、上述のダニの真菌への走性実験と同様の方法でダニ測定用分散液を作製し、試験管内で増殖したダニ頭数を計測した。

(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

ダニと真菌の共培養による増殖効率確認実験の結果を表1に示した。各真菌種につき3回繰り返し実験を行ったところ、ケナガコナダニでは、*Candida* sp.との組み合わせにおいて2か月後に626頭となり最も増殖効率が高く、次いで *Cladosporium* sp.との組み

合わせが 596 頭と高値を示した。他 4 菌種では、有意な差は見られなかった。ヤケヒョウヒダニおよびコナヒョウヒダニでは、*Candida* sp.との組み合わせにおいてそれぞれ 91 頭および 162 頭と有意な増殖が確認され、他 5 菌種では、増殖が確認できなかった。さらに、ヒョウヒダニ 2 種と比較して、ケナガコナダニの増殖効率が高いことが示された。これらのことから、ダニの種類によって、増殖に寄与する真菌種類は異なるが、*Candida* sp.は 3 種のダニ全てにおいて増殖に寄与する可能性があること、および真菌と共培養した場合、ケナガコナダニはヒョウヒダニと比較して増殖しやすいことが確認された。

また、ダニの真菌に対する走性観察について、各実験装置においてダニが真菌片に集積する様子を図 3 に示した。実験で得られたダニ集積数を表 2 に示した。ケナガコナダニでは、7 種の真菌において、陰性対照とした真菌の生育しない濾紙片と比較して有意に多いダニの集積が見られた。中でも *Candida* sp.については 1311 頭が集積し、他 6 真菌種と比較しても有意に多いダニの集積が見られた。また、*Eurotium* に対して他の 6 真菌種と比較してダニの集積は 161 頭と有意に少なかった。ヤケヒョウヒダニおよびコナヒョウヒダニでは、*Candida* sp.でのみそれぞれ 352 頭および 623 頭と、陰性対照と比較して有意に多いダニの集積が見られ、他の真菌種では陰性対照と比較した場合明確な集積が確認できなかった。

D. 考察

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い。本研究において実施した共培養によるダニの増殖率、およびダニの真菌への走性実験の結果から、室内でアレルゲンとなるダニの種類ごとに、特定の真菌種との組み合わせによる増殖効率の違いおよび走性が異なり、真菌種に対する一定の嗜好がある可能性が示唆された。加えて、いずれのダニにおいても、*Candida* sp.と共培養した際の増殖効率、および *Candida* sp.への集積性は有意に高く、酵母への嗜好性が高いことが示唆された。このことから、*Candida* をはじめとした酵母が発育しやすい特徴、すなわち高い相対湿度条件下にある室内環

境中で、アレルゲンとなるダニがより発育する可能性が示唆された。しかし、カビとダニ増殖の関連性については不明な点が多く、さらなる調査データの収集が必要であると言える。

E. 結論

カビとダニ増殖の関連性について、室内アレルゲンとなるヒョウヒダニを中心としたダニ類は、全体として酵母類による増殖性および走性が高いことが明らかとなった。酵母類が生育しやすい室内環境とならない環境整備を行うことによって、アレルゲンとなるダニ類の増殖を抑制する効果がある可能性が示唆された。本研究から得られた知見により、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た。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できると考えられた。

F. 参考文献

- 1) 渡辺麻衣子. (2015) 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業「東日本大震災にみる災害時居住環境を汚染する真菌のアレルギーリスク評価及び予防衛生管理に関する研究」平成 26 年度総括研究報告書.
- 2) 諸角聖. (1987) 菌株保存におけるダニの食害. 防菌防徹, 15:351-355.
- 3) 諸角 聖, 吉川 翠, 和宇慶 朝昭, 一言 広. (1987) ケナガコナダニの食菌性と真菌伝播能. 4:133-141.

G. 健康危険情報

特になし

H. 研究発表

1. 論文発表

特に無し。

2. 学会発表

- 1) 宮城県石巻市における仮設住宅に居住歴のある住民を対象とした集団検診の喘息の有病率とダニアレルゲン感作の推移. 押方智也子, 渡辺麻衣子, 石田正嗣, 小林誠一, 栗山進一, 金子猛, 鎌田洋一, 矢内勝, 釣木澤尚. 第 49 回日本職業・環境アレルギー

ー学会総会・学術大会．2018.06.

- 2)東日本大震災後の小児アレルギー疾患に対する環境整備介入効果の検証． 釣木澤尚実，押方智也子，渡辺麻衣子，松原博子，栗山進一，嶋田貴志，鎌田洋一，金子猛，矢内勝，呉繁夫．第49回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会．2018.07.

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

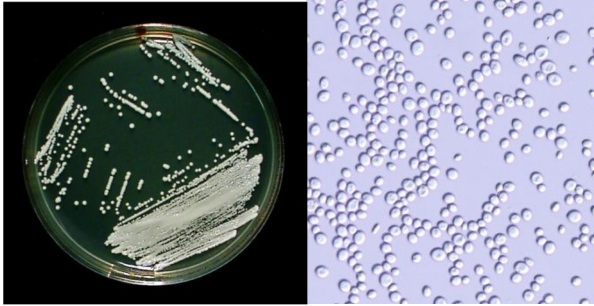
特になし

2. 実用新案登録

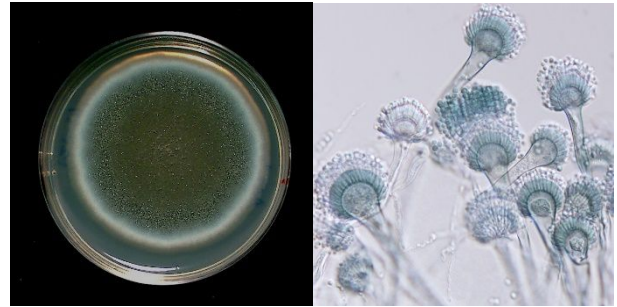
特になし

3. その他

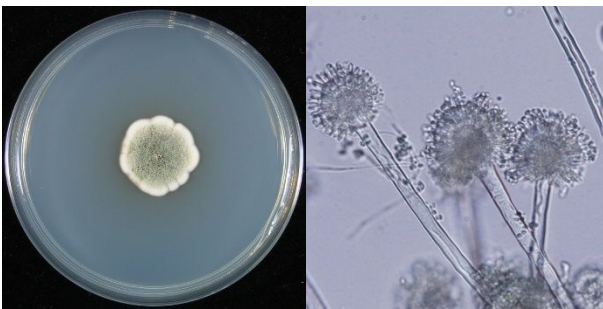
特になし



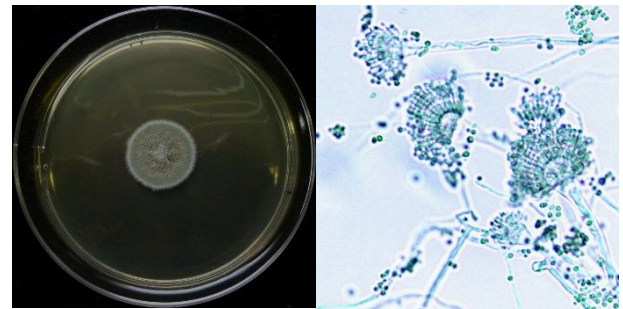
(1) *Candida* sp.



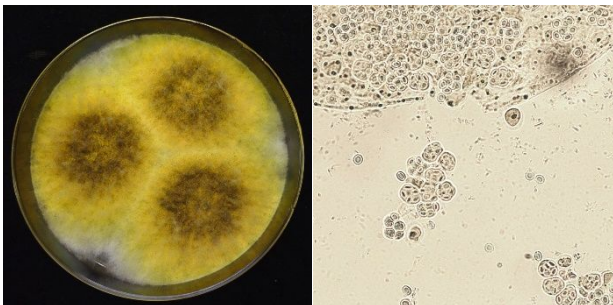
(2) *Aspergillus fumigatus*



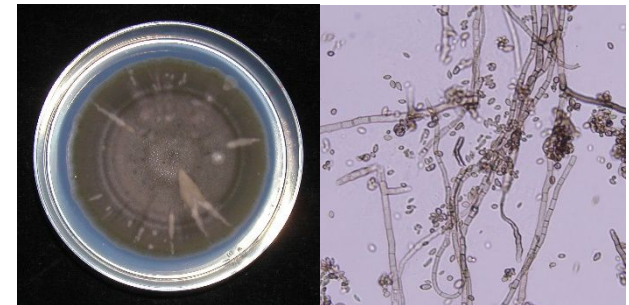
(3) *Aspergillus versicolor*



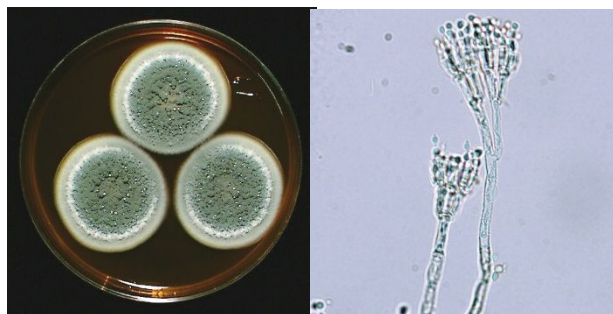
(4) *Aspergillus penicillioides*



(5) *Eurotium* sp.



(6) *Cladosporium* sp.



(7) *Penicillium expansum*

図1 . 本研究で供試した真菌のコロニー像および顕微鏡観察像

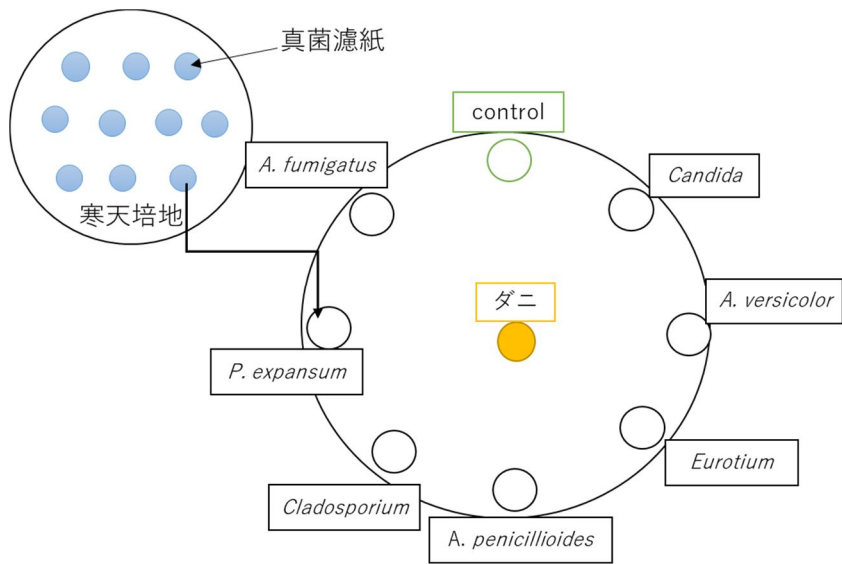


図2 . ダニの真菌に対する走性観察実験装置



図3 . 真菌濾紙片へ集積するダニの様子

表 1 . 真菌濾紙片へ集積したダニ数の真菌種間の比較

ダニ種	陰性対照	<i>Candida</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. penicillioides</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>Eurotium</i>	<i>P. expansum</i>
ケナガ コナダニ	3	626	596	200	153	223	60	188
ヤケ ヒョウヒダニ	1	91	15	8	1	8	18	20
コナ ヒョウヒダニ	3	162	21	11	13	3	2	6

表 2 . 各種真菌と共培養したダニの増殖数の比較

ダニ種	陰性対照	<i>Candida</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. penicillioides</i>	<i>A. versicolor</i>	<i>Eurotium</i>	<i>P. expansum</i>
ケナガ コナダニ	8	1311	708	355	204	223	161	295
ヤケ ヒョウヒダニ	6	352	14	11	1	8	18	35
コナ ヒョウヒダニ	10	623	35	22	5	23	6	38