

肺アスペルギルス症患者宅の室内浮遊真菌調査

川上 裕司¹⁾ 高橋 佑子²⁾¹⁾(株)エフシージー総合研究所 環境科学研究室 〒140-0002 東京都品川区東品川3-32-42-6F²⁾(株)IHI 環境・プラントセクターエンジニアリング統括部 〒135-8710 東京都江東区豊洲3-1-1 豊洲IHIビル

Indoor airborne fungi in the house of a patient with pulmonary aspergillosis

Yuji Kawakami¹⁾ and Yuko Takahashi²⁾¹⁾Laboratory of Environmental Science, FCG Research Institute Inc., 3-32-42-6F
Higashi-Shinagawa, Shinagawa-ku, Tokyo 140-0002, Japan²⁾Engineering Department Environment & Plants Operation,
IHI Corporation, Toyosu IHI Building, 3-1-1 Toyosu Koto-ku, Tokyo 135-8710, Japan

要 旨

2005年7月5日、長崎県長崎市内所在の肺アスペルギルス症患者の一人建住宅の室内浮遊真菌調査を行った。浮遊真菌の採取は、エアサンプラー(SAS SUPER 100,PBI)を使って1Fの居間と2Fの寝室で実施した。DG-18平板培地を使い、各部屋とも10カ所の採取(100L吸引)を行った。この結果、浮遊真菌濃度の平均値は、居間では 634 ± 100.6 CFU/m³、寝室では 1220 ± 1853.9 CFU/m³であった。分離された真菌を同定した結果、居間では*Cladosporium*と*Mycelia sterilia*の両者が約70%を占めた。寝室では約70%が*Aspergillus*であった。また、*Aspergillus*は、肺アスペルギルス症の原因菌である*A. fumigatus*が100%近い割合を占めた。居住者は、日常的に*A. fumigatus*を吸入していることが示唆された。

Abstract

On July 5, 2005, samples of airborne fungi growing in the house of a patient with pulmonary aspergillosis in Nagasaki city, Nagasaki prefecture were taken for investigation. Sampling of the airborne fungi was conducted by using an air sampler (SAS SUPER 100,PBI) in the living room of the first floor and the bedroom of the second floor. Samples from ten places in each room were taken using a DG-18 medium (100L suck).

As a result, the mean value of the airborne fungi density was 634 ± 100.6 CFU/m³ in the living room, and 1220 ± 1853.9 CFU/m³ in the bedroom. Both *Cladosporium* and *Mycelia sterilia* accounted for about 70% of the fungi in the living room as a result of identifying isolates, while in the bedroom about 70% of the fungi was *Aspergillus*. Moreover, the ratio of *Aspergillus* in which *A. fumigatus* was the causal fungi of pulmonary aspergillosis was close to 100%. These figures suggest that the resident is inhaling *A. fumigatus* on a daily basis.

Key words: 肺アスペルギルス症(pulmonary aspergillosis), 浮遊真菌(airborne fungi), エアサンプラー(air sampler), アスペルギルス フミガタス(*Aspergillus fumigatus*)

1. はじめに

真菌(特に糸状菌)が原因のヒトの疾病は大きく3つに分けられる。すなわち、①カビ毒中毒症(=真菌中毒症(mycotoxicosis)、カビが産生する有毒二次代謝物による)、②真菌症(カビの人体への侵入感染による)、③アレルギー性疾患(カビがアレルギーとなる)である¹⁾。室内環境中の浮遊真菌が引き起こす疾患としては気管支喘息や過敏性肺炎などの「アレルギー性疾患」が主流であるが¹⁾、最近では重症疾

患に伴う侵襲性肺アスペルギルス症も増加しているようである⁸⁾。

しかしながら、肺アスペルギルス症の患者宅における原因真菌の調査事例は、これまでほとんど知られていない。筆者は2005年7月にその機会に恵まれ、調査に協力いただいた居住者(肺アスペルギルス症患者)から調査結果の開示について快諾が得られたので、ここに報告する。

受付: 2007年8月14日(Received:14 August 2007)

受理: 2007年9月29日(Accepted:29 September 2007)

2. 調査した住宅の概要

2.1 居住環境(住宅形態と立地)

長崎県長崎市内の一戸建住宅。調査当時築23年、木造二階建て戸建住宅(約30坪)。

長崎市内の盆地の地形(丘陵地帯)には住宅が建ち並んでおり、調査を行った住宅はひな壇状に住宅が立ち並ぶうちの一軒である。

1F[洋室の居間+台所(12畳)、和室、浴室、洗面所、トイレ]、2F[洋室の寝室、洋室]。

居住者の寝室は2F洋室(6畳)。風通しが悪く、夏季には室内が常に高湿度になるとの居住者の情報。

2.2 居住者(肺アスペルギルス症患者)と既往症

居住者は、患者の女性とその夫の二人。

①患者

女性(58歳)身長152cm・体重32kg

②診断名

慢性壊死性肺アスペルギルス症(左肺内の空洞部分に付着。左肺のほぼ全体の組織が破壊され、肺繊維症のような状態)

③既往症

1957年(10歳)肺浸潤(結核の初期)で入院する。

1976年(29歳)心内膜炎の手術を受ける。

1989年(42歳)糖尿病に近い症状(インスリン非依存型)と診断される。

1996年(50歳)突然の咯血で結核病棟に入院する(投薬治療)。結核菌は出ず退院する。

2000年(54歳)1月に38℃以上の熱が1週間以上続く。2月に「慢性壊死性肺アスペルギルス症」と診断され、投薬治療を開始(約2カ月間入院)する。

2004年(57歳)抗真菌薬(ミカファンギン・イトリゾール等)による治療のため約2カ月間入院する。

④調査時の状況

2005年3月に抗真菌薬ファンギゾンの点滴治療を受ける。

大学の医学部付属病院に自宅から通院中。

3. 調査日および調査方法

3.1 調査日時と天候

2005年7月5日 12:00~14:00 雨(時々曇り)

外気温と湿度(調査中の値:26.2℃・91%)、室内温度と湿度(調査中の値:1F居間;26.4℃・86%, 2F

寝室;27.2℃・89%):温湿度計(Thermo Recorder RS-11, エスベックミック社)

3.2 調査方法

3.2.1 空中浮遊真菌の採取と培養検査

浮遊真菌については1F洋室の居間(台所付属:12畳)と2F洋室の寝室(患者の寝室:6畳)を調査対象とした。

三脚に水平に取り付けたエアースンプラー(SAS SUPER 100:PBI international in Milan, Italy)にDG-18寒天平板培地(DG-18:Dichloran 18% Glycerol agar:Merck)を取り付けた。そして、各居室の床から120cmの位置でそれぞれ100L(1分間)の空気を吸引することにより空中浮遊真菌を採取した。測定の際に平板培地を交換し、1F居間と2F寝室のそれぞれで10カ所測定した。平板培地は実験室へ持ち帰り、26℃に設定した恒温機に入れて培養した。平板培地に発生した真菌集落を毎日観察し、平板培地に発生した真菌集落を10日後まで計数した。そして、合計集落数(実数)から1m³当たりの浮遊真菌数(平均値:CFU/m³)を算出した。

発生した真菌集落を単離し、DG-18、クロラムフェニコール添加ポテトデキストロース寒天平板培地(PDA:日水製薬)、またはツァベックドックス寒天平板培地(CZA:日水製薬)で再培養を行い、巨大集落の形態と色彩を観察した。また、分離株のプレパラート標本を製作し、光学顕微鏡(×50~100)で微細構造の観察を行って同定した。尚、*Aspergillus*属はKlich and Pitt⁶⁾とKlich⁷⁾の記載に、*Penicillium*属はPitt¹⁰⁾の記載に、その他はPitt and Hocking¹¹⁾の記載に基づき同定した。種までの同定が困難な株については属レベルの同定に留めた。

3.2.2 室内付着真菌の採取と培養検査

浮遊真菌調査の補足的役割として、室内の付着真菌の採取も行った。付着真菌については1F居間と2F寝室に加えて、台所のシンクなども調査対象とした。

滅菌スタンプ瓶(栄研器材)を用いて床、窓ガラスの枠、台所のシンクなど室内の計8カ所(25cm²/1カ所)から採取し、その場でDG-18寒天平板培地に塗抹した。平板培地は実験室へ持ち帰り、26℃に設定した恒温機に入れて培養した。発生した真菌集落を単離し、以下、前述と同様の手順で分離株の同定検査を行った。

3.2.3 分離株 *Aspergillus fumigatus* Fresの高温培養検査

分離株のうち、肺アスペルギルス症の原因菌種である *A.fumigatus* については、菌株一白金じをPDA斜面培地に植え、45°Cによる高温培養検査²⁾を行った。この検査により、本種の同定を確定した。

4. 調査結果

4.1 浮遊真菌

採取した場所ごとの空中浮遊真菌数と濃度をTable 1に示した。1m³当たりの浮遊真菌濃度は、居間(Living room)の「平均634 CFU/m³」に対して寝室(Bedroom)は「平均1,220 CFU/m³」となり、居間と比較するとおよそ2倍であった。また、寝室のNo.B-3

Table 1 Number of airborne fungi isolated from an indoor location in Nagasaki city, Nagasaki prefecture

Sample No.	Measurements	CFU/m ³
L-1	83	830
L-2	45	450
L-3	55	550
L-4	61	610
L-5	61	610
L-6	66	660
L-7	60	600
L-8	70	700
L-9	70	700
L-10	63	630
Average		634 ± 100.6
Outdoor 1	99	990
B-1	61	610
B-2	140	1400
B-3	643	6430
B-4	68	680
B-5	63	630
B-6	49	490
B-7	30	300
B-8	60	600
B-9	41	410
B-10	65	650
Average		1220 ± 1853.9
Outdoor 2	90	900

CFU/m³ : colony forming unit

L : Living room

B : Bedroom

はベッドの真上に当たる場所であり、最も高い濃度(6430 CFU/m³)を示した。分離された真菌の同定結果をTable 2に列記し、属ごとの割合をFig.1,2に示した。1Fの居間と2Fの寝室では空中浮遊真菌種の割合が大きく異なる結果となった。すなわち、1Fではクロカビ類(*Cladosporium* spp.)と無孢子不完全菌類(*Mycelia sterilia*)の両方で約70%を占め、次いでススカビ類(*Alternaria* spp.)が多かった(Fig.1)。2Fの寝室ではコウジカビ類(*Aspergillus* spp.)が約70%を占めた(Fig.2)。また、*Aspergillus*属は、*A.fumigatus*が100%近い割合を占めた(Table 2, Fig.3)。

Fig.4に単離同定した *A.fumigatus* の集落(colony : Fig.4-A,B)と光学顕微鏡像(ノマルスキー微分干渉撮影 : Fig.4-C)をそれぞれ示した。培地の種類や培養日数により、本種の集落は青緑色、灰青色または濃緑色となり、綿状(ピロード状)から粉状となる。分生子頭(conidial head)は緑色・円柱状、頂のう(vesicle)はフラスコ状、分生子柄(conidiophore)は無色、フィアライド(phialide)は1段であることが形態的特徴である^{3,7,8,12,19)}。また、本種の同定を確定するために、45°Cによる高温培養検査²⁾を行った結果、3日間で斜面培地全体に旺盛に増殖した。

4.2 付着真菌

分離された真菌の同定結果をTable 3に示した。*A.fumigatus*は、2Fの寝室のベッドの下側、壁、窓の木枠、床から採取された。しかしながら、1Fの居間からは台所も含め採取されなかった。

5. 考察

調査した住宅は、居住者がクーラーを日頃から殆ど使用しないとのことで、室内全体が多湿であるように感じられた。事実、調査時が雨天であったとはいえ、寝室では90%RH近い湿度を計測し、カビが発生しやすい環境であることが示唆された。

一般住宅の浮遊真菌濃度は500 CFU/m³以下の場合が多く、1,000 CFU/m³を超える場合には居住空間内の壁面などにカビの発生が認められるようになる。そして、浮遊真菌数が2,000 CFU/m³を超えると、居住者に何らかのアレルギー症状が顕れる傾向がある(私信)。今回の測定では寝室の1カ所が6,000 CFU/m³を超える真菌濃度を示したことから、寝室を経時的に測定した場合には全体的に高い数値を示すことも予想される。

Table 2 List of a airborne fungi isolated from an indoor location in Nagasaki city, Nagasaki prefecture

Species of isolates	Number of isolates ¹⁾		
	Living room (1F)	Bedroom (2F)	outdoor
Ascomycotina			
<i>Byssochlamys nivea</i>	1	0	0
<i>Eupenicillium</i> sp.	1	0	0
Deuteromycotina			
<i>Alternaria</i> spp. ²⁾	93	9	15
<i>Aspergillus fumigatus</i>	12	826	2
<i>Aspergillus niger</i>	3	0	2
<i>Aspergillus ochraceus</i>	1	0	0
<i>Aspergillus restrictus</i>	0	2	0
<i>Cladosporium</i> spp. ³⁾	206	94	33
<i>Fusarium</i> spp.	45	21	8
<i>Penicillium citrinum</i>	1	1	0
<i>Penicillium corylophilum</i>	2	7	0
<i>Penicillium glabrum</i>	13	11	7
<i>Wallemia sebi</i>	15	61	9
<i>Mycelia sterilia</i>	235	182	108
Yeasts			
<i>Rhodotorula rubra</i>	3	3	5
Others	3	3	0
Total	634	1220	189

1) Number of the airborne fungi calculated it from a real number of colony.

2) *A. alternata* and Others.

3) *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum* and Others.

Table 3 List of adhesive fungi isolated from an indoor location in Nagasaki city, Nagasaki prefecture

Species of isolates	Collection place	Collection point
Deuteromycotina		
<i>Alternaria</i> spp.	Living room (1F)	Floor
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Bedroom (2F)	Bottom of a bed, Wall, Window frame, Floor
<i>Aspergillus niger</i>	Bedroom (2F)	Floor
<i>Cladosporium</i> spp.	Kitchen (1F)	Sink, Cupboard
<i>Penicillium corylophilum</i>	Living room (1F)	Floor
<i>Mycelia sterilia</i>	Living room (1F)	Floor, Window frame
	Bedroom (2F)	Wall
Yeasts		
<i>Rhodotorula rubra</i>	Kitchen (1F)	Tableware basket
Others	Kitchen (1F)	Sink, Cutting board

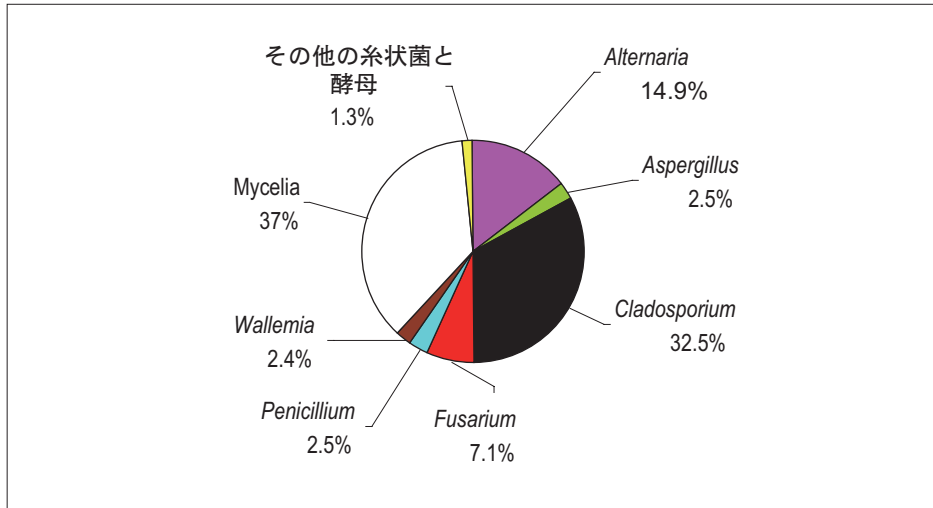


Fig.1 Classification of identified airborne fungi from the living room of the first floor.

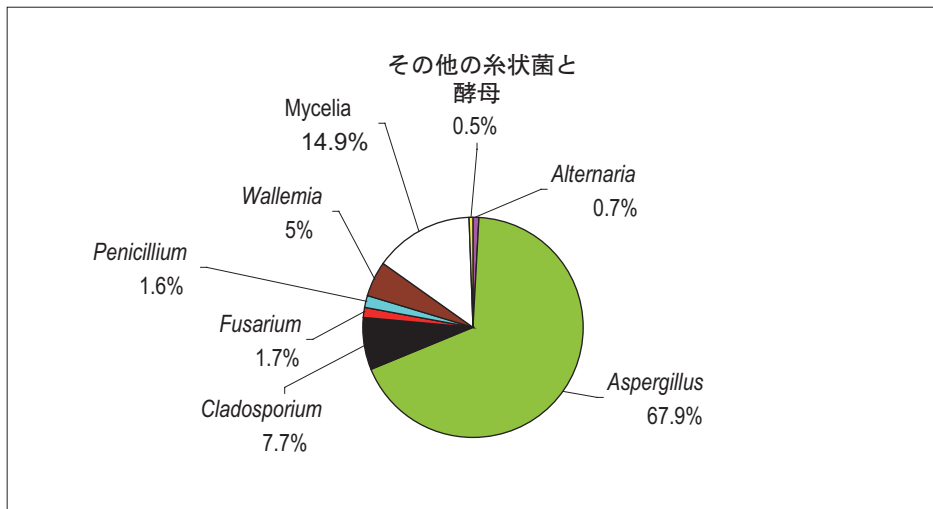


Fig.2 Classification of identified airborne fungi from the bedroom of the second floor.

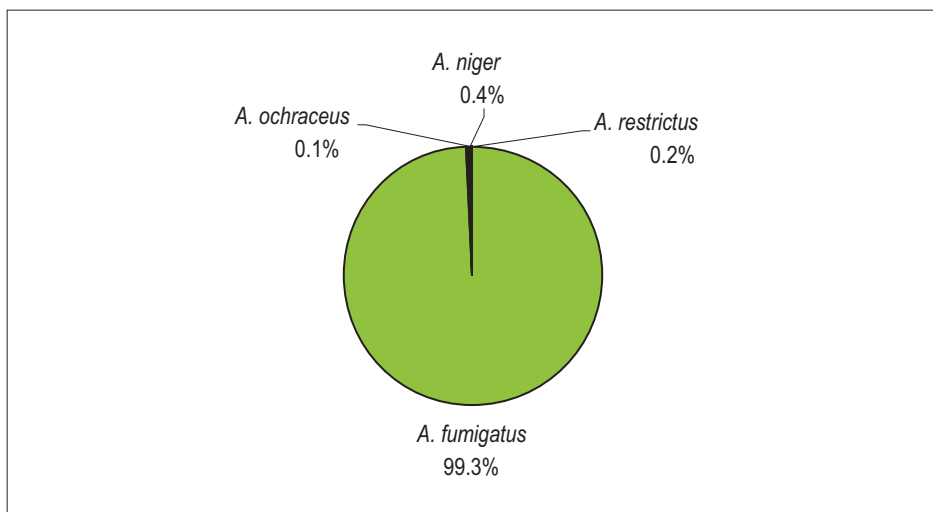


Fig.3 Classification of identified *Aspergillus* from the air.

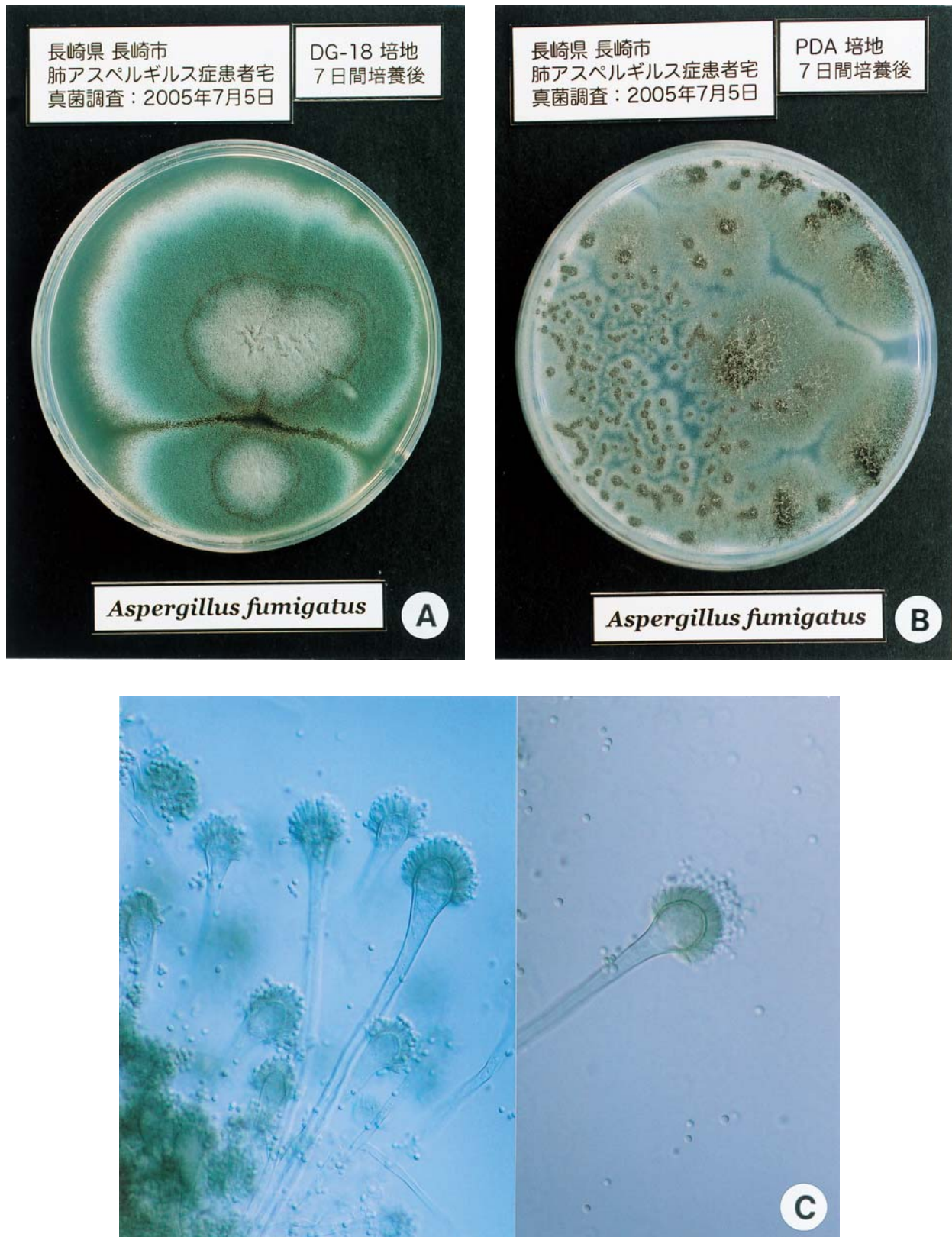


Fig.4 A characteristic of *Aspergillus fumigatus* isolated from a pulmonary aspergillosis patient's house. A, Colony cultured for seven days at 30°C by using DG-18 medium (It looks like cotton).; B, Colony cultured for seven days at 30°C by using PDA medium (It is easy to disperse by powder).; C, Light microphotograph of *A. fumigatus* ($\times 100$).

分離されたカビの種類割合を見ると、1Fの居間については従来報告されている一般住宅の調査結果(*Cladosporium*属が優占種となる)と類似していた^{5,14,16,18})。2Fの寝室では*Aspergillus*属が70%を占める結果となったが、これは1Fの居間と比較すると湿度の変化があることが一因ではないかと推察するが、継続的な測定をしていないので不明である。また、寝室のベッドの真上に当たる場所(No.B-3)とその脇に当たる場所(No.B-2)の浮遊真菌数が際立って多い結果となったが、これはベッドで就寝する居住者(肺アスペルギルス症患者)から*A. fumigatus*が排出されていることが原因かもしれない。

*Aspergillus*属のカビは、自然界に広く分布し、空中にも普遍的に浮遊していると考えられている^{13,14,17})。住環境中では乾燥気味なところでも長期に生息でき、湿度が高くなり始めると発育をはじめ。更に、30℃より高い温度になると至適条件がそろい、旺盛に繁殖する。*Aspergillus*属は南方系のカビとされており¹²)、アレルギー疾患との関わりは周知の事実である^{1,15,16})。アレルギー疾患が社会的な問題になりつつある昨今、日和見感染症(opportunistic infection)の起炎菌として、*Aspergillus*属は増加傾向にある¹³)。*Aspergillus*属の感染は主に経気道感染で、好発部位は肺病変が最も多く、肺病変から全身性播種性病変をつくることもある。肺アスペルギルス症はいくつかの病型が知られており、①非襲性肺アスペルギルス症(結核などで生じた空洞に菌球が形成される：肺アスペルギローマaspergilloma)、②侵襲性肺アスペルギルス症(脳や他の臓器に播種して重症化)、③アレルギー性気管支肺アスペルギルス症(胞子の吸入によって起こるアレルギー反応)の3つに大きく分類される^{8,13,19})。*A. fumigatus*が最も重要な原因菌とされ、*A. flavus*、*A. niger*、*A. terreus*、なども原因菌として挙げられる¹⁵)。実際に、今回の居住者と同じ慢性壊死性肺アスペルギルス症患者の喀痰培養(45症例)から分離された菌種は、*A. fumigatus*が78%(35例)、*A. niger*が13%、*A. flavus*が2%、他は未同定と報告されている⁹)。

筆者は、神奈川県横須賀市の一般住宅で、空中浮遊真菌の優占種が*A. ochraceus*であったという稀な事例を報告しているが⁴)、*Aspergillus*属は胞子を多量に産生する種が多く、条件が整った場合には、室内の空气中に多量に浮遊するように思われる。中でも*A. fumigatus*は集落が粉状となり(Fig.4)、7日以上

経過した平板培地ではシャーレの蓋を開けただけで胞子が飛散する。このような特徴から、住宅内のどこかで本種が発生した場合には、胞子が人知れず飛散し、多量に浮遊する可能性が高い。今回の調査で、*A. fumigatus*が多く分離されたことは、その可能性を裏付けるひとつの事例ではないかと考える。

筆者らは、住宅形態や築年数の異なる9軒の住宅における室内浮遊真菌調査を2年間に渡って実施した。そして、*Aspergillus*属の分離割合を調べた結果、どこの住宅でも*A. fumigatus*の割合が最も多かった⁵)。室内の浮遊真菌調査については、これまでもいくつか報告されているが^{14,16,18})、いずれも調査場所、調査回数、採取数が少ないように思われる。筆者は、一般住宅における*A. fumigatus*の室内浮遊頻度は、これまでに報告されてきた以上に高いのではないかと推察している。この原因については研究中であるが、「地球温暖化の影響で、高温に強い本種の発生量が増えたこと」や「高断熱高気密の住宅が増えたことにより、飛散しやすいカビが長時間室内に浮遊する機会が増えたこと」などが仮説として挙げられる。

居住者である肺アスペルギルス症患者は、これまで様々な治療薬を服用しているようだが、原因菌である*A. fumigatus*を日常的に吸入している可能性が高いことも推察される。治療薬を服用する一方で、原因菌を吸入している状況は、治療の上で妨げになることは明らかである。このような事例の場合には、居住環境中に原因菌を増やさない対策を講じることも必要ではないだろうか。

亜熱帯化が指摘されている日本の気候風土では、*Aspergillus*属のカビによるアレルギー疾患が更に問題視される可能性があり、室内浮遊真菌のデータの集積が今後とも重要な課題になると思われる。

謝 辞

測定調査にご協力くださり、更に調査結果を公表するにあたり、その主旨を理解し快諾いただいた調査住宅の居住者に深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 秋山一男：室内環境におけるアレルギー疾患の現状—真菌アレルギーを中心に—、室内環境、10、11-16(2007)。
- 2) ISO copyright office：Incubation, Indoor air — Part 17: Detection and enumeration of moulds —

- Culture-based method, DRAFT INTERNATIONAL STANDARD ISO/DIS 16000-17, International Organization for Standardization, 6-7 (2006).
- 3) 角田 廣, 辰野高司, 上野芳夫: I *Aspergillus* 属, マイコトキシン図説, 地人書館, 東京, p. 1-39(1979).
 - 4) 川上裕司: 神奈川県横須賀市の住宅におけるアスペルギルス オクラセウスの発生事例, 室内環境学会誌, 9, 37-43(2006).
 - 5) 川上裕司, 阿部恵子: 居住環境内におけるカビ汚染の実態調査, 第24回エアロゾル科学・技術研究討論会講演要旨集, 1-2(2007).
 - 6) Klich M.A. and Pitt J.I.: A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, North Ryde, Australia, p.115 (1988).
 - 7) Klich M.A.: Introduction of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherland, p.116 (1988).
 - 8) 工藤肇, 中村正夫, 菅野治重: 2.真菌学各論, 微生物学/臨床微生物学, 講談社, 東京, p. 313-329(1989).
 - 9) 小川賢二, 奥村欣由, 二改俊章, 垂水 修, 中川 拓, 齋藤裕子: 慢性型肺アスペルギルス症の臨床的検討およびエステラーゼ阻害物質の検討, 真菌誌, 47, 171-178(2006).
 - 10) Pitt J.I.: The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, England, p.634 (1979).
 - 11) Pitt J. I. and Hocking A.D.: *Aspergillus* and related teleomorphs. In: Fungi and Food Spoilage, 2nd ed., Blackie Academic and Professional, London, England, p.413-414 (1997).
 - 12) Samson R.A, Hoekstra E.S and Frisvad J.C: Chapter 1 *Aspergillus* Fr.:Fr., Introduction to food-and airborne fungi 7th.ed., Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht, Wageningen, The Netherlands, p.64-97 (2004).
 - 13) 佐藤哲夫: 肺アスペルギルス症, 肺感染症と画像診断, 医療科学社, 東京, p.57-59(2004).
 - 14) Takahashi T.: Airborne fungal colony-forming units in outdoor and indoor environments in Yokohama, Japan. Mycopathologia 139, 23-33, 1997
 - 15) 高鳥浩介, 秋山一男: カビの生態講座9-4.カビとヒトとの関わり, カビによる害を中心に-, 防菌防黴, 27, 201-206(1999).
 - 16) 高鳥浩介: 真菌アレルギー-住環境にみる真菌とその生態-, 日本医真菌学会雑誌, 42, 113-117(2001).
 - 17) 高鳥浩介 監修: かび検査マニュアルカラー図譜, テクノシステム, 東京, p.540(2002).
 - 18) 坪内春夫: 名古屋市内の室外・室内空气中の浮遊カビ, 生活と環境, 46, 48-56(2001).
 - 19) 山口恵三, 松本哲哉: 23.真菌, イラストレイテッド微生物学, 丸善, 東京, p.293-307(2004).