

資料

## 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

川上 裕司

[受付 2005.9.12] [受理 2005.11.7]

### An Outbreak of *Aspergillus ochraceus* Wilhelm in a House in Yokosuka, Kanagawa Prefecture

Yuji KAWAKAMI

[Received September 12, 2005] [Accepted November 7, 2005]

#### 要 旨

2004年5月30日、神奈川県横須賀市内に建つ一戸建住宅内のカビ調査を行った。エアサンプラーを使った浮遊真菌の採取と滅菌スタンプ瓶を使った付着真菌の採取を実施した。この結果、大量のアスペルギルス オクラセウス (*Aspergillus ochraceus*) が分離された。台所から分離された *A. ochraceus* の1株について“オクラトキシンA産生能”を検査したところ、強い産生能を有することが判明した。一般住宅における本菌の大量発生はこれまで報告されておらず、稀な事例である。

#### Abstract

On May 30, 2004, samples of fungi growing in a house in Yokosuka, Kanagawa Prefecture were taken for investigation. Airborne fungi were collected using an air sampler and surface fungi were collected using a sterile stamp bottle. A large number of *Aspergillus ochraceus* were isolated from the samples. On investigation, one strain of *A. ochraceus* isolated from a kitchen sample showed a strong ability to produce ochratoxin A. No large-quantity outbreak of *A. ochraceus* in an ordinary house has been reported previously, and is a rare occurrence.

**Key words:** airborne fungi, air sampler, *Aspergillus ochraceus*, ochratoxin A

#### 1. はじめに

近年、室内環境中の浮遊微生物によるアレルギー問題が社会的にクローズアップされ、それを除去するための様々な空気清浄機が市販されている。室内環境学会では、空中浮遊微生物および微生物アレルギーを室内大気中から除去する除去装置の評価法の開発を目的として、2004年に「微生物除去および防止性能評価ワーキンググループ」を設立し、研究活動中である。筆者はワーキンググループ「テーマ3：居住空間で許容される浮遊微生物濃度の目標値」の代表研究者として研究中であるが、本研究を開始する直前、室内浮遊カビおよび付着カビの調査事例としてはかなり特異的といえる事例に遭遇した。

真菌（特にカビ）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（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<sup>1)</sup>。室内環境中の浮遊カビを調査対象とした場合、真菌症かまたはアレルギー性疾患の原因となるカビの採取（定量と優占種の特定制）を目的とするのが普通で、カビ毒（mycotoxin）を産生するカビの採取を目的とすることはない。ところが、ここで紹介する事例は、結果的にカビ毒を産生する菌種が一般住宅の室内環境から大量に分離されたという珍しい事例である。

大量に分離されたアスペルギルス オクラセウス

(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3-32-42-6F  
Laboratory of Environmental Science, FCG Research Institute Inc.  
3-32-42-6F Higashi-Shinagawa, Shinagawa-ku, Tokyo 140-0002, Japan

(*Aspergillus ochraceus* Wilhelm) は、オクラトキシンA (ochratoxin A) およびペニシリン酸 (penicillic acid) を産生することで知られ、特に、オクラトキシンAは肝臓、肝障害、腎障害の原因とされている<sup>2)</sup>。しかしながら、*A. ochraceus*が問題視されるのは食品に発生した場合であり、室内環境中に大発生して問題となったという報告は知られていない<sup>3,4)</sup>。一般住宅における本カビの発生の事例は、これまで数多くのカビ調査を行ってきた筆者の経験からしても初めてであり<sup>5,6)</sup>、速報として室内環境学会・日本環境管理学会合同研究発表会(2004年、東海大学)において発表した<sup>7)</sup>が、ワーキンググループの研究を進める上で、詳細を開示しておいた方が良くと考え、ここに報告することにした。

## 2. 調査した住宅の概要

### 2.1 居住環境(住宅形態と立地)

神奈川県横須賀市内の一戸建住宅。調査当時築5年、1999年に建築された木造建売住宅。山(丘陵地帯)の北側斜面に造成された宅地に約100軒の住宅が建ち並び、調査を行った住宅は最上部に近い場所に建てられている(ベランダは北北東に向く)。

1F [台所、洋室の居間、洋室、浴室&洗面所、トイレ]、  
2F [和室、洋室]。

1F北東側に位置する台所の床には大型の床下収納スペースがあり、その床下の高さは約150cm。台所の床下と他の部屋の床下(約50cm)とは、基礎コンクリートで仕切られている。

2F寝室(洋室)と和室は風通しが悪く、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 家族構成とアレルギー疾患

- ①夫婦と子供1名(男性33歳、女性32歳、女兒4歳)。
- ②家族全員が就寝時によく咳き込むことがある。
- ③女性32歳と女兒4歳は「ハウスダストアレルギー」との医師の診断。
- ④アレルギー対策として、2F寝室(洋室)のベッド脇には、空気清浄機(シャープ製)を置いて就寝時に必ず作動させている。

## 3. 調査日および調査方法

### 3.1 調査日時と天候

2004年5月30日 10:00~14:00 晴れ~曇り

## 3.2 調査方法

### 3.2.1 目視によるカビの発生状況調査と温湿度の測定

浮遊真菌と付着真菌の測定を行う前に、1Fと2Fの各居室を回ってカビの発生状況を目視観察した。また、台所の床下収納ボックスを外して床下へ潜り、同様の観察を行った。その際、温湿度計(Thermo Recorder: RS-11, エスベックミック社)を用いて、各部屋の温湿度を測定して参考データとした。

### 3.2.2 空中浮遊真菌の採取と培養検査

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)を装着した。そして、床下は50リッター(30秒間)の空気を基礎コンクリートから70cmの位置で採取し、その他の居室は床から120cmの位置でそれぞれ200リッター(2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。測定の度に平板培地を交換し、床下は4回、台所、居間、寝室は2回、洗面所は1回測定した。PDA平板培地は直ちに実験室へ持ち帰り、26℃に設定した恒温機に入れて培養した。毎日観察を行い、平板培地に発生した真菌集落を10日後まで計数し、合計集落数(実数)から1立方メートル当たりの浮遊真菌数(複数測定は平均値: CFU/m<sup>3</sup>)を算出した。

発生した真菌集落を単離し、PDA平板培地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、光学顕微鏡で微細構造の観察を行って同定した。なお、*Aspergillus*属はKlich and Pitt<sup>7)</sup>、*Penicillium*属はPitt<sup>8)</sup>の記載に、その他はPitt and Hocking<sup>9)</sup>の記載に基づき同定した。なお、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。

### 3.2.3 室内付着真菌の採取と培養検査

滅菌スタンプ瓶(栄研器材)16個を用いて床下および室内の計8カ所から採取し、その場でPDA平板培地に塗抹した。PDA平板培地は直ちに実験室へ持ち帰り、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。

### 3.2.4 分離株のカビ毒産生能検査

分離株のうち、カビ毒オクラトキシンA産生菌種である*A. ochraceus*については、室内の台所で採取した株を使って「オクラトキシンAの産生能の有無」

を(財)マイコトキシン検査協会に委託して調べた。検査の手順は以下の通りである。

分離株を更に麦培地で25℃・7日間培養。培養物に20 mlの酢酸エチルを加えて3時間放置し、この液を濾紙で濾過することにより酢酸エチル抽出液を得た。抽出液を濃縮乾固した後、少量の酢酸エチルに溶解させ、この濃縮液をオクラトキシンA標準溶液と共に薄層プレート(Merck, Silica Gel 60, HPTLC plate 1.05631)に塗布し、トルエン：酢酸エチル：蟻酸(6：3：1)を溶媒として展開した。展開後風乾させ、アンモニアガスに暴露することによってオクラトキシンの蛍光強度を増加させて産生能の有無を判定した。

#### 4. 調査結果

##### 4.1 目視できるカビの発生状況と温湿度

- ①1F台所の床下の土台、柱、床板の裏に、白色・黄色・緑色のカビが発生していた。
- ②1F台所の床下に収納してあるキャンプ道具は、白色と黄色のカビに被われていた。

- ③1F台所の床下収納ボックスに収納されている缶詰の表面に、緑色のカビが発生していた。
- ④1F浴室&洗面所のタイル目地に、クロカビ(*Cladosporium* sp.)の発生が目立つ。
- ⑤2F和室の押し入れに収納されている電気コタツの脚に、黄色のカビが発生していた。
- ⑥1Fの台所の床下の温湿度は25℃・89%RHであった。
- ⑦1Fの温湿度は24~26℃・86~87%RHであった。
- ⑧2Fの温湿度は26~27℃・85~87%RHであった。

##### 4.2 浮遊真菌

採取した場所ごとの空中浮遊真菌数および分離真菌種をTable 1に示した。1立方メートル当たりの浮遊真菌数は床下(Floor bottom)が「13,270」と極めて多く、この上に位置する台所(Kitchen)は「1,193」、台所と隣接する居間(Living room)と洗面所(Wash room)はそれぞれ「1,245」と「900」

Table 1 List of airborne fungi isolated from an indoor location in Yokosuka, Kanagawa prefecture

Collection place	Number of airborne fungi (CFU/ m <sup>3</sup> & Standard deviation)	Species of isolates
1) Floor bottom	13,270 ± 50.30	<i>Arthriniun</i> sp. <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium corylophilum</i>
2) Kitchen (1F)	1,193 ± 24.7	<i>Alternaria alternata</i> <i>Arthriniun</i> sp. <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium corylophilum</i>
3) Living room (1F) (European-style)	1,245 ± 106.1	<i>Alternaria alternata</i> <i>Arthriniun</i> sp. <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium corylophilum</i>
4) Wash room (1F)	900	<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium corylophilum</i> <i>Rhodotorula rubra</i>
5) Bed room (2F)	540 ± 63.6	<i>Arthriniun</i> sp. <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium corylophilum</i>

\* Number of the airborne fungi calculated it from a real number of colony (CFU/ m<sup>3</sup> : colony forming unit)

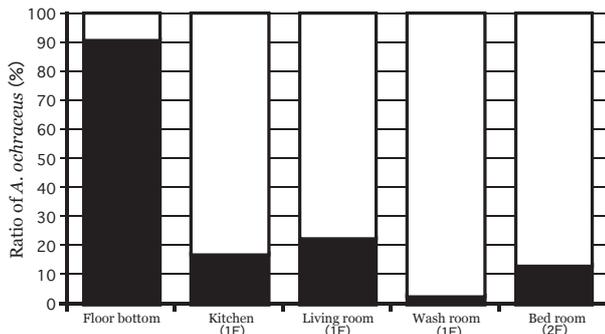


Fig.1 The ratio of *A. ochraceus* in the airborne fungi.  
 ■ : *A. ochraceus*, □ : fungi except it

であった。また、1Fの居間の上に位置する2Fの寝室 (Bed room) は「540」であった。空中浮遊真菌数のうち *A. ochraceus* の占める割合は床下が圧倒的に多く「91.1%」であり、台所「17%」、居間「22.7%」、洗面所「2.8%」であった。また、2Fの寝室は意外に多く「13.5%」であった (Fig.1)。分離された真菌の種類は4~5種であり、5カ所の採取場所ではほぼ同じ菌種であった。

本調査の証拠となるエアースンプラーで採取した平板培地の7日間培養後の写真と単離培養した *A. ochraceus* (巨大集落と光学顕微鏡像) をそれぞれFig.2とFig.3に示した。

### 4.3 付着真菌

付着真菌の分離種をTable 2に示した。*A. ochraceus* は床下の基礎コンクリート、床板の裏、基礎の木柱から分離されたが、1Fの他の箇所からは分離されなかった。しかしながら、2Fの和室の押し入れに収納されている電気炬燵の脚に目視で確認した黄色のカビは採取して培養した結果、*A. ochraceus* であった。

### 5. 考察

検査した住宅は床下にカビの発生が多く (13,270 CFU/m<sup>3</sup>)、ここを主たる発生源として居住空間である1Fの台所や居間、そして、2Fの寝室や和室の押し入れにまでカビの胞子が大量に浮遊したものと推察する。この住宅は、山 (丘陵地帯) の北側斜面に造成された住宅地の一戸建住宅であり、ひな壇状に住宅が立ち並ぶうちの一軒である。床下は北側が約150cmと高く、逆に南側が約50cmと低く、一見すると風通しが良さそうに見えたが、実際に潜ってみると高湿度状態であった。この一因として、山頂付近に降った雨水の床下での停滞が影響しているものと推察した。また、夏場の風向きが逆方向であることから居住空間の風通しが悪く、調査時の湿度は各部屋で85%RHを超えており、居住空間全体に

Table 2 List of adhesive fungi isolated from an indoor location in Yokosuka, Kanagawa prefecture

Collection place	Collection point	Species of isolates
1) Floor bottom	Base of concrete	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium corylophilum</i>
	Floor board	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium corylophilum</i>
	Base of wooden post	<i>Alternaria alternate</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium corylophilum</i>
2) Kitchen (1F)	Tableware basket	<i>Aureobacidium pullulans</i> <i>Rhodotorula rubra</i>
3) Living room (1F) (European-style)	Wall	<i>Arthrinium</i> sp.
4) Wash room (1F)	Shelf of shampoo	<i>Aspergillus niger</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Rhodotorula rubra</i>
5) Bed room (2F)	Bottom of a bed	<i>Alternaria alternate</i>
6) Japanese-room (2F)	Leg of an electric foot warmer	<i>Aspergillus ochraceus</i>



Fig.2 Colony of fungi sampled by an air sampler.  
 A : Floor bottom, B : Kitchen (1F), C : Living room (1F),  
 D : Bed room (2F) . Yellow colony is *A. ochraceus*.

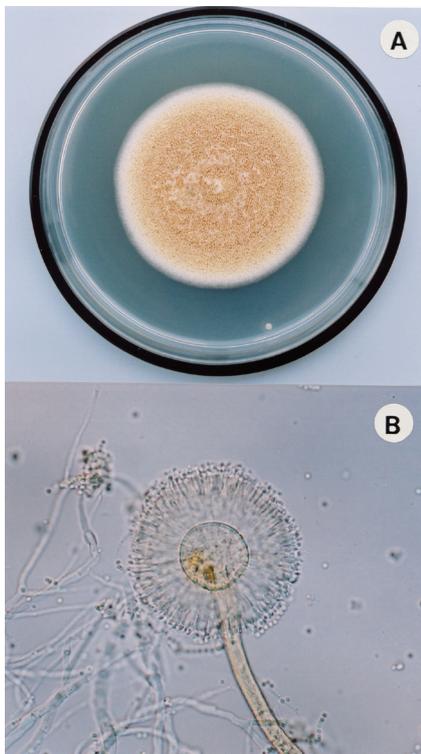


Fig.3 *A. ochraceus* isolated from an indoor location.  
 A : Colony, B : Light microphotograph ( × 100)



Fig.4 HPTLC plates showing analysis of the ochratoxin A.  
 The fluorescence intensity of the ochratoxin A was made to increase by exposing dried HPTLC plate to ammonia gas.  
 SOA : 10ng of standard the ochratoxin A ;  
 Ext : 1 $\mu$ l of an extract of *A. ochraceus* (isolated from the kitchen).

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（居住空間中）の浮遊真菌数について経験的に述べると、浮遊真菌数は500 CFU/m<sup>3</sup>以下の例が普通で、1,000 CFU/m<sup>3</sup>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/m<sup>3</sup>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。今回の測定では各居室の浮遊真菌数は2,000 CFU/m<sup>3</sup>を超える値ではなかったが、床下が10,000 CFU/m<sup>3</sup>を超える値であることから、居室を経時的に測定した場合には更に高い値を示す可能性が高い。

一般住宅の空中浮遊真菌の優占種が*A. ochraceus*であったという報告事例はこれまでに知られておらず、本報告は極めて稀な事例であると考えられる。また、台所から分離された株のオクラトキシンA産生能を検査した結果、強力な産生能を有することが判明したことは特筆すべきことである（Fig.4）。今回分離された*A. ochraceus*がこの住宅の床下で大量に繁殖した原因については定かではないが、居住者が台所の床下収納ボックスに乾燥食品等を貯蔵し、更に収納ボックスの下の床下スペースをキャンプ道具などの収納庫として利用していたことが*A. ochraceus*の菌株（孢子）を最初に持ち込んだ要因と考える。キャンプ道具の湿気を含んだ繊維などで繁殖した本菌が、少しずつ床下の木柱や床板へと繁殖の範囲を広げていったのではないだろうか。また、本菌はトウモロコシや小麦などの穀類の他、飼料、繊維、植物、土壌などから分離されるとの記載があることから<sup>10)</sup>、全く別のルートで（例えば、風によって運ばれ）床下内に侵入して繁殖した可能性もある。

オクラトキシンは*A. ochraceus*に属する分離株の毒性代謝物として1965年に発見され、この中で最も強力な毒性を示す塩素を含む代謝物がオクラトキシンAである。1969年にトウモロコシの自然汚染の事例が報告されて以来、次々と自然汚染例が報告されるようになり、世界的に重要視されるようになった<sup>11~13)</sup>。オクラトキシンAの毒性については1970年代より動物実験が行われ、腎毒性、催奇形性、免疫毒性、生殖毒性、神経毒性、発癌性、遺伝毒性などが報告されている<sup>14)</sup>。また、国際癌研究機関（IARC）は動物実験での発癌性をもとにオクラトキシンAを「ヒトに対して発癌危険性の可能性がある」とするグループ2Bに分類している<sup>15)</sup>。

このように、経口的にオクラトキシンAを摂取した場合の発癌性については動物実験によって明らかにされつつあるが、今回の事例のように居住者が空気中の*A. ochraceus*孢子を継続的に吸入することにより、どのような疾病を引き起こすかについては、臨床例が見当たらずよく解っていない。しかしながら、実際に居住者には鼻炎や就寝時の空咳などのアレルギー症状が出ており、「この住宅に入居してからアレルギー症状が顕れた」という居住者の証言を聞いている。居住者の免疫力が低下したような場合には、更に重篤な気管支や肺のアスペルギルス症を引き起こす危険性があるのではないだろうか。

*A. ochraceus*をはじめとする*Aspergillus*属のカビは、自然界に普遍的に分布する代表的なカビのグループであり、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める。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<sup>3)</sup>、アレルギー疾患との関わりは周知の事実である。亜熱帯化（温暖化）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の問題が今後更に注目されるのではないだろうか。

筆者はこれまでに、室内環境中からオクラトキシンAを産生する*A. ochraceus*株を分離した事例を2例ほど経験している。ひとつは1997年、豊橋市の会社事務所の空気清浄機フィルターより分離した株の例、もうひとつは2003年、軽井沢町の廃屋別荘の空気中から分離した株の例であり、いずれもオクラトキシンAの産生能を確認している。また、筆者は室内に発生する微小昆虫と微生物との関係を研究しており、一般住宅や公共施設で捕獲した微小甲虫のタバコシバンムシ（*Lasioderma serricorne*）と微小蛾のノシメマダラメイガ（*Plodia interpunctella*）から分離した*A. ochraceus*が強力なオクラトキシンAを産生することを日本衛生動物学会で報告している<sup>16, 17)</sup>。太田<sup>18)</sup>はハウスダスト中から*A. ochraceus*が検出されることを解説しているが、居住空間での分布は不明である。

以上の知見を踏まえ、「微生物除去および防止性能評価ワーキンググループ」の研究課題のひとつとして、居住空間における*A. ochraceus*の分布についても調査する予定である。

## 謝 辞

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。また、オクラトキシンの分析にご協力いただいた(財)マイコトキシン検査協会に感謝の意を表す。

## 文 献

- 1) 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).
- 2) M. Kanizawa and S. Suzuki: Induction of renal and hepatic tumors in mice by ochratoxin A, a mycotoxin. *Gann*, 69, 599-600 (1978).
- 3) 宇田川俊一, 鶴田理: かびと食物, 医歯薬出版, 東京, p.382 (1975).
- 4) 角田 廣, 辰野高司, 上野芳夫: マイコトキシン図説, 地人書館, 東京, p.198 (1979).
- 5) 川上裕司: キッチンカビマップ, ラボ, 88, 9-11 (1992).
- 6) 川上裕司: 餅のカビにご用心, ラボ, 99, 7-9 (1993).
- 7) M.A. Klich and J.I. Pitt : A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their telemorphs, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, North Ryde, Australia (1988).
- 8) J.I. Pitt : The genus *Penicillium* and its telemorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, England (1979).
- 9) J.I. Pitt and A.D. Hocking : *Fungi and Food Spoilage*, 2nd ed. pp. 413-414, Blackie Academic & Professional, London, England (1997).
- 10) 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).
- 11) 宮木高明, 山崎幹夫, 堀江義一, 宇田川俊一: 米に着生する有害糸状菌の検索と分布について, 食衛誌, 11, 373-380 (1970).
- 12) 高橋治男, 矢崎廣久: 千葉県産農家保有玄米における糸状菌分布, 千葉県衛研報, 10, 6-11 (1986).
- 13) 杉本貞三, 南澤正敏, 高野和子, 笹村靖子, 鶴田理: *Penicillium viridicatum* と *Aspergillus versicolor* による貯蔵米のオクラトキシンA, シトリニンおよびステリグマトシスチンの自然汚染について, 食衛誌, 18 : 176-181 (1977).
- 14) 中島正博: オクラトキシンA - その発癌性と汚染実態, マイコトキシン, 55, 139-148 (2005).
- 15) IARC : Some Naturally Occurring Substances: Some Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, 56, Lyon, IARC (1993).
- 16) 川上裕司, 清水一郎, 高橋治男: タバコシバンムシから分離された真菌類, 衛生動物, 53, 249-256 (2002).
- 17) 川上裕司, 春成常仁, 高橋治男, 岡野清志, 内田明彦: ノシメダラメイガから分離された真菌類, 衛生動物, 56 (第57回大会特集号), 75 (2005).
- 18) 太田利子: カビの生態講座8. 住環境におけるカビの生態(3) ハウスダスト-, 防菌防黴, 26, 521-525 (1998).