

[原著]

Texas 州 Galveston 市における Juniper (ネズミサシ属) の 体積法による空中花粉調査

—Pan American Aerobiology Association による調査方法, 算定法の紹介と

当施設 (福岡市) の調査結果との比較検討—

¹⁾ 国立病院機構福岡病院臨床研究部

²⁾ University of Texas Medical Branch, Division of Pediatrics, Child Health Research Center

³⁾ 日本アレルギー協会九州支部

岸川禮子¹⁾²⁾ 堀内照美²⁾ 戸川彰久²⁾ 近藤康人²⁾

P. Janzy²⁾ R. Goldblum²⁾ E. Brooks²⁾ 児塔栄子¹⁾³⁾

下田照文¹⁾ 庄司俊輔¹⁾ 西間三馨¹⁾³⁾

テキサス州ガルベストン市における冬のシーダーアレルギー症状の原因花粉を明らかにする目的で Pan American Aerobiology Association (PAAA) プロトコールとその one single longitudinal 算定法を用いて体積法 (Burkard 型花粉捕集器) による Juniper (ネズミサシ属) の空中花粉調査を行った結果, 12 月から 1 月にかけて mountain cedar (MC), 1 月半ばから 2 月にかけて eastern red cedar (ERC) が捕集された。MC はガルベストンに植生がなく, 北西部の花粉源から long distance transport (LDT) により飛来してくるのが明らかになった。今後の MC 花粉捕集数と風力・風向ベクトルの相関関係を検討する。また福岡市で同様の方法によるスギ・ヒノキ科花粉数は 24 時間のメリネックス[®] テープ上の全ての捕集数 ($R^2=0.921, p=0.0001$) と重力法の Durham 捕集器による 2002 年 ($R^2=0.489, p=0.0001$), 2003 年 ($R^2=0.948, p=0.0001$) の日毎捕集数と有意な正の相関関係が得られた。今回パイロット研究だが, さらに検討を重ね, PAAA プロトコールによるわが国の体積法花粉調査普及の可能性を明らかにする。

Key words : Burkard sampler — Japanese cedar — Juniper — mountain cedar —
PAAA protocol

緒 言

スギ科・ヒノキ科植物は抗原性を有し, 世界的に植

生が広いためアレルギー疾患の増悪因子として重要である。日本では国民の 3 分の 1 が何らかのアレルギー症状を有し, スギ花粉症罹患率は上昇し続けて成人から小児へと有症者の年齢層がひろがっている。花粉症は原因が明らかなのによくない疾患のひとつである。そのなかで空中花粉飛散状況は予防・治療に役に立つ情報として一般的であるが, 空中花粉測定方法は 1970 年代から重力法の Durham 型花粉捕集器が普及しており, 関東地方を中心に数百カ所で空中スギ・ヒノキ科花粉が調査されて医療情報に利用されている現今である。しかし, 花粉症の歴史が長い欧米諸国では体積法が普及しており, これほどスギ花粉症患者が多く, 国をあげて対策をとっているわが国のデータと比

Received : December 22, 2003

Accepted : April 6, 2004

Abbreviations : **ERC** eastern red cedar ; **JC** Japanese cedar ; **LDT** long distance transport ; **MC** mountain cedar ; **PAAA** Pan American Aerobiology Association ; **UTMB** University of Texas Medical Branch

岸川禮子 : 国立病院機構福岡病院臨床研究部 [福岡市南区屋形原 4-39-1]

E-mail : kishi@mfukuoka2.hosp.go.jp

較困難な現状がある。現在体積法（主に Burkard 型花粉捕集器、英国）による花粉調査は大学や国立衛生研究所の一部で行われているのみで、スギ花粉の多さからカウントの煩雑さのためか Burkard 型に移行するのが困難であった。今やスギ花粉自動計測器が出現し、ヒトの手を煩わさず花粉カウントができるようになりはじめているが、学術的にはまだ Burkard 型の調査成績が必要だと考えられる。今回米国 Texas 州、Galveston 市の Texas 大学 Medical Branch (UTMB) で空中花粉調査とくに Juniper を Pan American Aerobiology Association プロトコル (PAAA プロトコル)¹⁾を用いて調査する機会を得たのでその花粉算定法を含めて調査結果を報告する。さらに国立病院機構福岡病院（福岡市）における同一方法による調査結果と重力法の調査結果とを比較検討した。

材料と方法

空中花粉調査は PAAA プロトコルによる。1) 空中花粉捕集器設置：2002 年 10 月 17 日より体積法の Burkard 型捕集器を UTMB 外来棟の屋上に設置した。高さは地上 16 フィート（約 5m）である。2) ドラム交換：花粉捕集器のドラムにメリネックス[®]テープを貼付し表面にルブリシールまたはワセリンをうすく塗布した。さらにキムワイプでぬぐい、指紋ができる

程度の厚さに整えた。週に一度日中のほぼ 12 時にドラムを交換し、空中花粉を採集した。捕集器に内蔵された時計は 1 時間 2mm 回転し、1 週間で 1 回転する。ドラム交換時に時計のネジを十分にまく。3) 染色・マウント：ドラムからメリネックス[®]テープをはずしてカットブロックに載せ、1 日毎の長さ (48mm) に切り、さらに縦半分に切って半分は保存した（他の半分は免疫染色のため保存）。スライドガラスの一端に日付を記入し、半分に切ったテープを載せてスライド伸展器上に置く。染色は塩基性飽和フクシンを混合した glycerin jelly を温浴で溶解し、50mm のカバーガラスに 6～7 滴滴下してスライドガラス上のメリネックス[®]テープにかぶせて伸展器上で染色し、室温に戻して封入する。4) カウント (one single longitudinal traverse または 4 longitudinal traverse 算定法)：光学顕微鏡 400 倍（対物 40 倍、接眼 10 倍）で行う。メリネックス[®]テープのほぼ中央に近い縦の線を 400 倍でカウントする。または図 1 に示すように中央線 1 本または 4 本カウントして平均するが、今回縦半分を 2 本カウントしてその平均値を用いた。5) 換算（濃度転換）：1 日、1 m³ あたりの花粉濃度にする。捕集器の吸引口の幅は 14mm である。容積 (m³) = 分時吸引量 (流量) × 吸引時間 (暴露時間) である。吸引口の幅 = 14,000 μm, 流量 = 10 liters/分 = 0.01 m³/分, 暴露時間 24 時間 = 1440 分である。40 倍の対物レンズの直径 (幅) を 0.48mm = 480 μm として計算式を立てるとその容積は (480

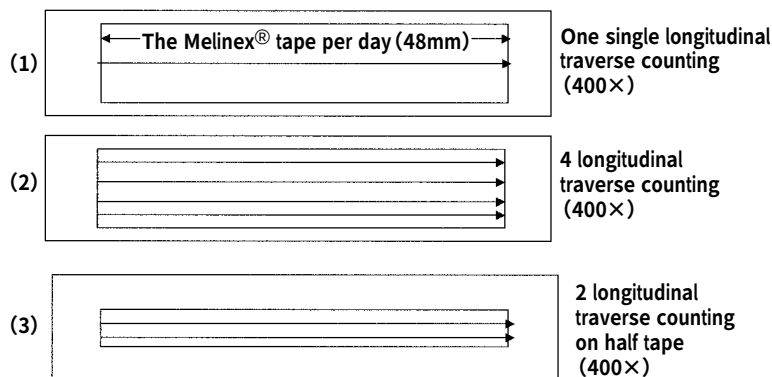


Fig. 1. PAAA protocol : One of the counting techniques.

In PAAA protocol there are two counting techniques. The one is this single or four longitudinal traverse counting technique and the other is 12 bi-hourly transverse traverse counting one. We used the modified 4 longitudinal traverse counting (3) at UTMB in Galveston, Texas and one single longitudinal traverse counting (1) technique was used at our hospital in Fukuoka, Japan.

$\mu\text{m}/14,000\mu\text{m}) \times 0.01\text{m}^3/\text{min} \times 1440\text{min} = 0.4937\text{m}^3$ となる。したがって空中花粉濃度(捕集数)/ m^3 =花粉カウント数/0.4937として換算した。6) さらに当院屋上(地上約15m)に設置したBurkard型で採集したスギ花粉をPAAAプロトコルによる換算前の捕集数(one single longitudinal traverse 算定法)とメリネックス®テープ上全ての捕集数との相関関係を、また同じくPAAAプロトコルによるスギ・ヒノキ科花粉捕集数と当院屋上に設置した重力法によるDurham型捕集器で採集した結果をT検定を用いて比較検討した。

結 果

Fig. 2はJuniperの捕集結果である。横軸は10月17日からの日付、縦軸は花粉捕集数(濃度)/ m^3 を表している。11月頃よりJuniper花粉が捕集されはじめ、

12月半ばから1月はじめにかけてピークを示し、2月半ばに再びピークを示した。3月になるとごくわずかの花粉が捕集されたのみであった。Table 1は当施設でBurkard型で採集した平成14年2月1日から17日までのスギ花粉捕集数を1日分の全ての花粉数/14.4 m^3 とPAAAプロトコルで算定した花粉捕集数/0.4937 m^3 である。Fig. 3は両者関係をT検定で単純評価した結果をグラフに示した。横軸はPAAAプロトコルによるone single longitudinal traverse 算定法、縦軸はメリネックス®テープ上の全ての捕集数を表している。相関関係 $R^2=0.9212$, $p=0.0001$ と非常に有意な正の相関関係が得られた。Fig. 4は2002年、2003年の当施設における重力法Durham型による1 cm^2 あたりの捕集数と体積法のBurkard型によるPAAAプロトコルで花粉を算定した調査結果との比較である。上段は2002年 $R^2=0.489$, $p=0.0001$, 下段は2003年で $R^2=0.948$, $p=0.0001$ といずれも有意な正の相関関係を示した。

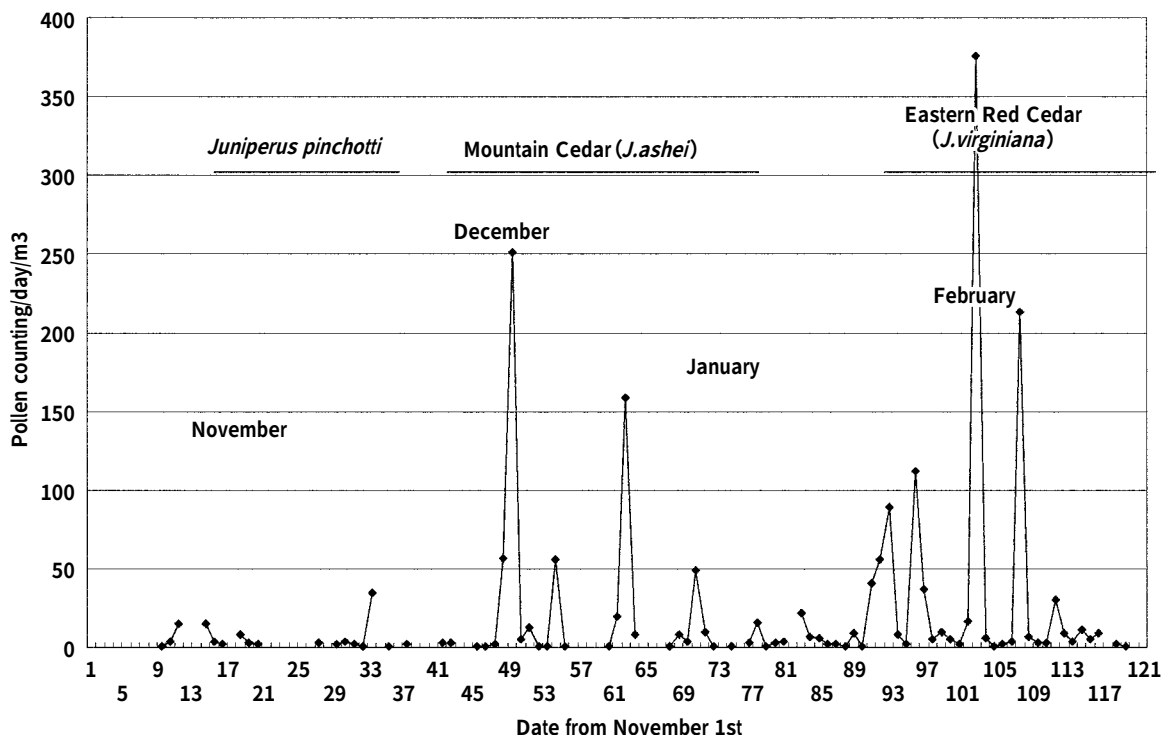
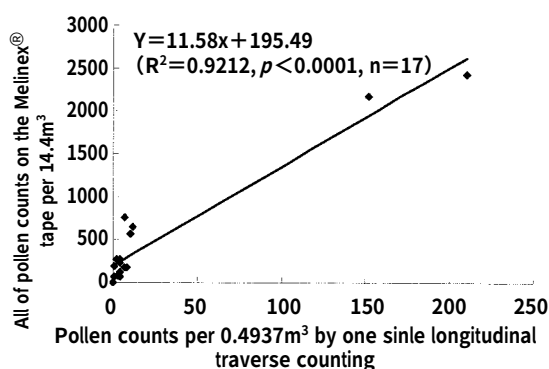


Fig. 2. The Juniper pollen calendar at UTMB in Galveston 2003.

We detected the Juniper pollen from November in Galveston and the first peak was due to Mountain Cedar from December to January and the second peak showed Eastern Red Cedar.

Table 1 The comparison to two types of Japanese Cedar pollen counting from Feb. 1st to 17th, 2002 in Fukuoka, Japan by Burkard sampler

	The all counting on the Melinex tape per day Pollen counts per 14.4 m ³	One single longitudinal traverse counting Pollen counts per 0.4937 m ³
Feb. 1st. 0.2	5	0
Feb. 2nd. 0.2	71	4
Feb. 3rd. 0.2	191	1
Feb. 4th. 0.2	180	7
Feb. 5th. 0.2	82	3
Feb. 6th. 0.2	568	10
Feb. 7th. 0.2	275	2
Feb. 8th. 0.2	752	7
Feb. 9th. 0.2	233	4
Feb. 10th. 0.2	174	8
Feb. 11th. 0.2	115	4
Feb. 12th. 0.2	77	3
Feb. 13th. 0.2	63	1
Feb. 14th. 0.2	274	4
Feb. 15th. 0.2	651	12
Feb. 16th. 0.2	2175	152
Feb. 17th. 0.2	2439	210

Fig. 3. The comparison to two types of Japanese Cedar pollen counting from Feb. 1st to 17th, 2002 in Fukuoka, Japan by Burkard sampler.

We compared the all of daily pollen count on the Melinex[®] tape per day, 14.4m³ with daily pollen count per 0.4937m³ using one single longitudinal traverse counting in the PAAA protocol. We found the significant positive correlation between them.

考 察

米国においてアレルギー疾患の罹患率は上昇し、その原因として grass, ragweed そして Juniper 花粉抗

原の存在は重要である²⁾。オクラホマ州で MC 花粉は長期観察された結果³⁾、漸増している現状がある。米国東南部における MC は冬季花粉症の原因となっている。米国では Juniper の植生のない地域に Juniper による花粉症が増悪することがわかった。long distance transport (LDT) と呼ばれ、抗原花粉が季節風により花粉源から遠くはなれた植生のない地域で花粉症を発症・増悪させる現象が認められている³⁾。Galveston では 12 月から 1 月半ばにかけてわが国のスギ花粉のように MC が、また 1 月下旬から 2 月にかけてわが国のヒノキ科花粉のように ERC が飛散する²⁾。これらはスギ花粉と共通抗原性を有し²⁾⁴⁾⁵⁾、とくに前者の MC は抗原性が強く冬のアレルギーの主要抗原である。Galveston にはほとんど植生がなく北西方向の Edward Plateau (エドワード丘陵地帯) から LDT 現象で Galveston でも MC 花粉が捕集されている。これらの調査結果を気象条件のパラメーター (平均風力、平均風向) との関係をもつ 3 次元の相関関係を評価した結果、風力・風向のベクトルと MC 花粉との間に正の相関関係が得られた⁴⁾。これらのベクトルから花粉飛散する予測する可能性が試みられようとしている。Galveston では Burkard 型で調査を開始したばかりであるが、今後の調査結果から風向・風力ベクトルと MC 花粉との関係がさらに明らかにされるであろう。

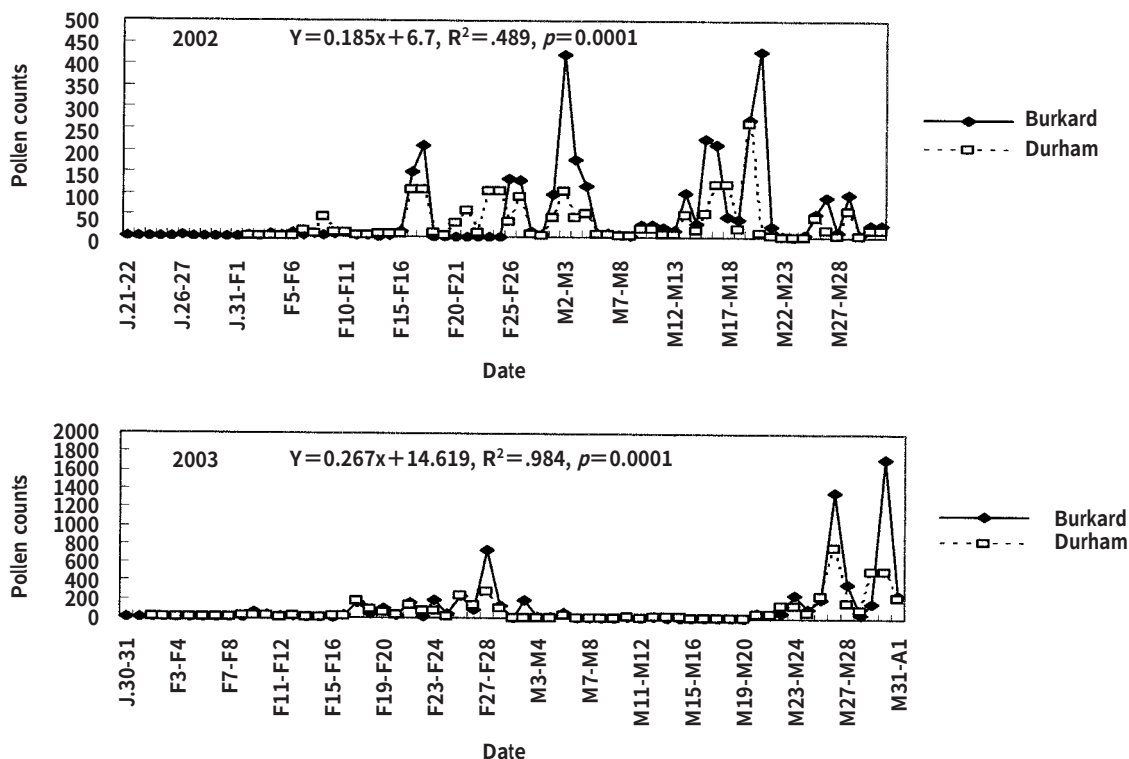


Fig. 4. The positive correlation between Burkard sampler's pollen counts and Durham's in Fukuoka, Japan.

The Burkard sampler's pollen counts show number per m^3 , Durham's, cm^2 . In 2003 the pollen disperse pattern was more simple than that in 2002. The coefficient in 2003 was higher than that in 2002.

う。

一方、わが国の花粉算定は欧米で古典的方法として現在ほとんど用いられていない重力法 Durham 型が普及した。操作が簡便で経済的であり、大量に飛散するスギ・ヒノキ花粉を比較的短時間で毎日算定できる利点がある。しかし、採集された花粉が雨に流されたり、強風でスライドガラスが破損するなど気象条件の影響が大きく、またスギ花粉飛散開始時期の捕集数と症状とが平行せず調査結果が鈍であることが指摘されるようになり、体積法の調査が望まれた。体積法は単位時間に一定量の空気を吸収し、気象条件の影響が少なく常に空中の花粉濃度を反映していると言われている。とくに Burkard 型は欧州では最も普及し、米国ではアレルギー学会がこの方法を推奨している。しかし、機器が高価で操作が1週間に1回のドラム交換をする(24時間毎のオプションがあるが、真菌孢子用である)

ことなど毎日の観察には適していない。壊れることは稀だと言われているが、実際には例外もあり、部品は外国製のため直ちに修理ができない事、大雨や強風の影響を少なからず受けて花粉が流されることもあり、決して理想的な最良の方法であると言えない面もある。わが国の Durham 型の普及はスギ花粉症対策にとっては適していると思われる。症状との関係も初捕集日(初観測日)などを設定することにより補正されていると考えられる、しかし、欧米との調査結果の比較検討など国際的な標準方法としてスギ・ヒノキ科花粉のみでなく通年的に空中花粉を学術的に把握する目的で必要性を感じている。

当院の Burkard 型による 2002 年 2 月 1 日～17 日までの PAAA プロトコールによる one single longitudinal 算定法の捕集数とメリネックス®テープ全てのスギ花粉捕集数との相関は非常に有意であった⁶⁾。1

回のみを検討で全てを論じることはいない。欧州では、算定法は longitudinal 2,3,4 traverse, 12 transverse traverse がよく用いられている⁷⁾。これらの算定法の他に無作為の3種類⁸⁾の算定法による花粉数の変動を検討し、12 transverse traverse⁹⁾が最もよいと結論されているものもあるが、明らかに一定の傾向はなく、花粉の種類¹⁰⁾や大きさによっても異なり、どの方法が最もよいかを決定するのは困難である。PAAA プロトコルではメリネックス[®]テープのほぼ中央の1行を400倍でカウントする one single longitudinal traverse, 4 longitudinal traverse そして2時間毎にメリネックス[®]テープの横線をカウントする 12 bi-hourly transverse traverse が示されている。今回、最も簡易な one single longitudinal traverse 算定法を用いた結果と重力法の Durham 型による 2002, 2003 年の 1cm² あたりの捕集数もまた有意な正の相関関係が得られた¹¹⁾。花粉飛散数が少ない 2003 年の相関係数が高かった。この重力方法による結果と PAAA プロトコルによる体積法の捕集数の比較検討はパイロット研究にすぎない。しかし、スギ・ヒノキ科花粉のみでなく既にイネ科やカバノキ科など他の種類の花粉についても同様な検討が行われ、有意な相関関係を得ている¹²⁾ことから、今後複数の施設で数年にわたり体積法と重力法の関係を明らかにしていく必要がある。その結果、地域別や花粉の種類別に異なるかもしれないが、過去の重力法の結果から体積法に匹敵する関係式を導くことができれば、今後もし体積法のみになっても過去のデータとの比較が可能であり、これらの検討はわが国の空中花粉調査上非常に重要であると考えられる。

この稿作成にあたり、ご指導・助言をいただいた Estelle Levetin (Tulsa 大学, Okulahoma 州)・Chi Duvan, microbiologist (Houston Dep. Health and Human Service), 佐橋紀男 (東邦大学)・三好教夫 (岡山理科大学)・岡 鐵雄 (岡薬局)・井手 武 (奈良医科大学)・大西信夫 (LCD アレルギー研究所), 高橋裕一 (山形県衛生研究所)・中村澄夫 (神奈川歯科大)・安枝 浩 (国立相模原病院)・滝沢竜太・遠藤周一郎 (CHRC, UTMB) の諸先生方に深謝します。

文 献

- 1) Rogers, C., Muilenberg, M. and Levetin, E. : The Pan American Aerobiology Association Protocol Comprehensive Guidelines for the operation of Hirst-Type Suction Bioaerosol Sampler, The Pan American Aerobiology Association. (Webmaster @paaa.org)
- 2) Midoro-Horiuti, T., Goldblum, R. and Brooks, E. : Identification of mountain cedar in the genes for the pollen allergens of eastern red cedar (*Juniperus virginiana*). *Clin. Exp. Allergy* **31**, 771-778, 2001.
- 3) Levetin, E. : A long-term study of winter and early spring tree pollen in the Tursa, Okulahoma atmosphere. *Aerobiologia* **14**, 21-28, 1998.
- 4) Jantzi, P., Kishikawa, R., Midoro-Horiuti, T., Hochman, D. and Brooks, E. : Cedar pollen counts in Galveston, Texas, Associated with High Wind Speed from the west, The ACAAI annual meeting, Program Guide. New Orleans, p89, 2003.
- 5) 井手 武 : 花粉症を引き起こす物質—アレルギー—“新バイオサイエンスシリーズ, 花粉症の科学—話題のアレルギー病を探る—”(齋藤洋三・井出 武著), (株) 化学同人, 京都, pp43-66, 1994.
- 6) 岸川禮子, 戸川彰久, 近藤康人, Brook, E.G., 西間三馨, 他 : Texas 州 Galveston 地区の Mountain cedar 空中花粉調査—PAAA protocol による花粉算定—. *アレルギー* **52**, 362, 2003.
- 7) Carinanos, P., Emberlin, J., Galan, C. and Dominguez-Vilches, E. : Comparison of two pollen counting methods of slides from a hirst type volumetric trap. *Aerobiologia* **16**, 339-346, 2000.
- 8) Comotoi, P., Alcazar, P. and Neron, D. : Pollen counts statistics and its relevance to precision. *Aerobiologia* **15**, 19-28, 1999.
- 9) Kapyta, M. and Penttinen, A. : An evaluation of the microscopical counting methods of the tape in Hirst-Burkard pollen and spore trap. *Grana* **20**, 131-141, 1981.
- 10) Molina, R.T., Rodriguez, A.M. and Palacios, I.S. : Sampling in aerobiology. Differences between traverses along the length of the slide in hirst sporetraps. *Aerobiologia* **12**, 161-166, 1996.
- 11) 岸川禮子, 児塔栄子, 下田照文, 小田嶋博, 庄司俊輔, 他 : 日本列島空中花粉分布—2001. 7~2003. 6 (2年間)—. *アレルギー* **52**, 876, 2003.
- 12) 齋藤明美, 響田和子, 高島美奈子, 石井豊太, 安枝浩, 他 : 年間を通しての Durham 法と Burkard 法による花粉飛散数の比較検討. 日本花粉学会第 44 回大会講演要旨集, pp32, 2003.

JUNIPER POLLEN MONITORING BY BURKARD SAMPLER IN GALVESTON, TEXAS, USA
AND JAPANESE CEDAR POLLEN COUNTING IN FUKUOKA, JAPAN

—Introduction of Pan American Aerobiology Association Protocol Counting Technique—

Reiko Kishikawa¹⁾²⁾, Terumi M-Horiuti²⁾, Akihisa Togawa²⁾, Yasuto Kondoh²⁾, Paul D. Janzy²⁾,
Randal M. Goldblum²⁾, Eiko Kotoh¹⁾³⁾, Teruhumi Shimoda¹⁾, Shunsuke Shoji¹⁾
Sankei Nishima¹⁾³⁾ and Edward G. Brooks²⁾

¹⁾National Hospital Organization Fukuoka National Hospital Clinical Research Center

²⁾University of Texas Medical Branch, Division of Pediatrics, Child Health Research Center

³⁾Japanese Allergy Foundation Kyushu Branch

We have monitored Juniper pollen which caused winter allergy symptoms by Burkard sampler in Galveston, Texas. We identified and counted Juniper pollen grains by PAAA protocol which was a comprehensive guideline for the operation of Hirst-Type suction bioaerosol sampler, (original of Burkard sampler) in the USA.

In Galveston we were able to detect the Mountain Cedar (*Juniperus ashei*) pollen from December to of January, and Eastern Red Cedar (*Juniperus virginiana*) which has cross reactivity to MC from almost middle of January to February. There is no MC vegetation in Galveston. We found the pollen grains were transported from west at Edward Plateau in West Texas where it was thickly wooded.

Then, we tried to monitor Japanese Cedar (JC) pollen grains in Fukuoka, Japan according with the same method. We found the significant positive correlation between the pollen counts using one single longitudinal traverse counting technique in the PAAA protocol and the JC pollen counting on the whole of Melinex tape per 24 hours ($R^2=0.9212$, $p=0.0001$), and the gravitational method that is Durham sampler's pollen counting in 2002 ($R^2=0.489$, $p=0.0001$), and in 2003 ($R^2=0.948$, $p=0.0001$) respectively. We suggested that we can use the PAAA protocol for airborne pollen investigation in Japan by Burkard sampler.
