都市部の高所花粉計測法の開発および降水によるアレルゲンの溶出挙動 Air (pollen) sampling system for high places and allergen elution from rain in urban area

王 青躍 ^{1*}、仲村 慎一 ¹、襲 秀民 ¹、篠田 壽和 ² Qingyue Wang ^{1*}, Shinichi Nakamura ¹, Xiumin Gong ¹, Toshikazu Shinoda ²

¹ 埼玉大学大学院 理工学研究科
Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
² 篠田重機株式会社
Shinoda juki Co., Ltd

Abstract

In this study, we have collected Japanese cedar pollen from the roadside of two urban residential zones and a high place (about 35 m) of Saitama City during the pollination period in 2009. For the purpose of analyzing the airborne cedar pollen vertical distribution, I observed it both at roadside and 35m high place during the cedar pollen airborne period. Then, Japanese cedar pollen allergen was increased at sunny days after rainfall in atmosphere. We thought that there are more few pollen counts of the high altitude than road edge, but, the experiment result is showed that the pollen count of the high altitude is different from road edge for two days, and more than roadside. High affected possibility is thought about by this experiment result. Therefore, it is supposed that crustal particles (Kosa) and rainfall may be increased eluted rate of allergen contents and lead to release and transit them to fine particles. Fine particles were more suspended than coarse particle (such as pollen). Therefore, It will be thought that we need the vertical distribution investigation not only pollen counts but also allergen concentrations according to the altitude in future.

Key words: Japanese cedar pollen, Air sampling system, Allergen fine particles, High place, Crane, Kosa (yellow sand).

1. はじめに

現在、スギ花粉症の有病率は約16%に達すると推定されている¹⁾。空中に放出された花粉は無風状態では大部分が短時間の内に地上に落下すると考えられるが、風に乗った花粉は、高く舞い上がり、非常に遠方まで運ばれる。また、降雨後の晴れた日にはスギ花粉アレルゲンの多く²⁾は微小粒子³⁾として大気中に浮遊しているため、風の影響を強く受け、スギ花粉より飛散しやすくなる可能性⁴⁾がある。

そこで、本研究では、スギ花粉飛散期における道路端と高所で観測を行い、スギ花粉の飛散 挙動、主に垂直分布を把握するため、埼玉県内 の民間企業篠田重機株式会社と共同して、都市 部や住宅地域における上空花粉および関連物 質の計測技術の確立を目指し、クレーン・バードビジョンステージに設置可能な分析機器や計測手法とそのシステムを検討し、実用化しうる局所的な高所花粉計測システムを検討することを目的とした。また、降雨中のイオン成分変化によるアレルゲンの放出量の変化をモデル実験から予測することを試みた。

2. 実験方法

2.1. スギ花粉及びアレルゲン含有粒子の捕集

地点 : 埼玉大学近傍の県道 57 号の地上、並びに国道 463 号の地上 0 mまたは高所 35 m (高所作業車・クレーン・バードビジョンステージ(篠田重機株式会社の提供))にそれぞれ計測機器を設置し、Fig. 1~Fig. 2 に示すようにサンプリングを実施した。

サンプリング期間 :3月7日~3月8日

Corresponding author email: seiyo@mail.saitama-u.ac.jp

^{* 〒338-8570} さいたま市桜区下大久保255 電話:048-858-3733 FAX:048-858-9542



Fig 1. Various apparatus installed in the crane arm.



Fig 2. Air sampling system using the crane.

2.2. スギ花粉およびアレルゲン含有粒子の捕 集方法

①アンダーセンハイボリウムサンプラー (AH-600;以下 AHV)

AHV とは慣性衝突を利用して大気中の浮遊粒子状物質を人体の各呼吸器沈着部位に相当し、分級捕集する装置である。この装置の吸引流量は566 L/min である。捕集時間は1日当たり23時間とした。

②Durham 型花粉捕集器 (Durham; 個/cm²/23 h) 単位面積当たりの飛散花粉数を測定するために使用する装置である。花粉が重力沈降して 付着することにより捕集する。捕集時間は 1 日当たり 23 時間とした。

③花粉自動計測器(リアルタイム花粉モニター KH-3000-01(株式会社大和製作所)を用いて、飛 散花粉数の連続測定も行った。

④風速、風向、湿度、気圧、気温などの局所気 象条件について計測機器およびデータ記録装 置を用いて同時測定も行った。

2.3. 飛散花粉数の計測

Durham にて花粉を捕集したスライドガラスに花粉染色液を滴下し、 $18 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$ の面積のカバーガラスを被せて静置させた後(20 min)、光学顕微鏡にて染色された花粉を計数し、飛散花粉数($\text{Im}(\text{cm}^2/23 \text{ h})$ を算出した。

2.4. 走査型電子顕微鏡(以下、SEM) による 花粉形態の観察

スギ花粉粒と超純水または 1.7 M NaCl 水溶液を混合し、花粉溶液を調製した。3 時間経過後、花粉溶液をカーボンテープに散布し、乾燥させた。その後、金膜を蒸着させ、SEM で花粉粒の形態を観察した。

2.5. 表面プラズモン共鳴(SPR)⁵⁾を用いた規定 濃度及び塩成分変化によるアレルゲン溶 出量の調査

スギ花粉 (茨城県にて採取, 2008 年) 500 mg と KNO₃、NH₄NO₃、Ca (NO₃)₂ の各水溶液 (規定濃度=0.08, 0.15, 0.50, 1.50 N)、超純水または Cry j 1 抽出液 50 ml を混合した。Cry j 1 抽出液は Cry j 1 を効率よく抽出する溶液である。3時間後、混合液をガラスシリンジで採取し、1.2 μ m 孔径の酢酸セルロース膜フィルタ (ミニザルト)を用いて、花粉粒本体を除去した溶出液サンプルを作成した。その後、SPR 用緩衝液に溶媒を交換した。本研究では SPR 装置としてBIACORE J を用いた。Cry j 1 濃度定量には、抗 Cry j 1 モノクローナル抗体および精製スギ花粉抗原 Cry j 1 を用いて行った。

3. 実験結果

3.1. 種々の観測地点における花粉数測定結果

Fig. 3 は高所観測地点の真下である国道 463 号に置いた自動花粉モニターを用いて、計測し

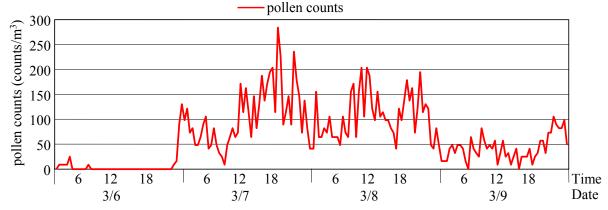


Fig. 3. Airborne pollen counts for route No.463 by KH-3000-01(2009.3.6~2009.3.9)

た花粉数である。2日間の気象データによると、 風向・風速の変動が高かったため、3月7日と 3月8日の2日間とも日飛散変動は大きかった。

Table 1. Airborne pollen counts (counts/cm²/23 h)

日時	県道 57	国道 463	国道463高所35 m
3/7	715	541	650
3/8	305	179	289

Table 1.を見ると、二日間とも高所 35 m の花 粉数は高所観測地点の地上 0 m である国道 463 号より多く、県道 57 号より少なかった。県道 57 号の自動車総数は国道 463 号より多いことから、交通量の影響の可能性があったため、県道 57 号の花粉数は多くなった。一方、大きな花粉源となるスギ林は存在していないにも関わらず、地上 0 m よりも高所の方の花粉数が多かったことから、都市部住宅地の花粉はほとんど遠隔地域から飛来したものと推定できる。

3月6日は大雨が降り(41.5 mm)、翌日は晴天になった。降雨後、空気がきれいになり、花粉が高所や遠距離まで飛散する可能性も考えられる。しかし、3月8日の花粉数は3ヵ所とも少なくなった。気象データによると、3月7日の平均風速は4.7 m/s であったが、3月8日の平均風速は2.2 m/s であった。そして、3月8日は晴天だったため、大気中の汚染物質やアレルゲン粒子の増加などが推測される。

3.2. 降雨による破裂現象の観察 (SEM)

破裂していない通常の花粉(A)と、模擬降雨に接触した際の花粉粒の形態変化を Fig. 4 に示す。(B) 超純水と花粉粒を混合した際の

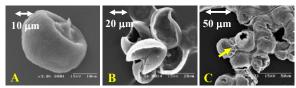


Fig. 4. Morphological change of pollen grain by a SEM.

Normal pollen grains (A) and contacted with ultrapure water (B) and NaCl solution (1.7 M) (C).

SEM の写真である。ほとんどの花粉粒が破裂し、花粉内部の組織が放出されているのが確認された。(C) は NaCl 濃度を高濃度 (1.7 M) にして花粉粒と混合した際の SEM の写真である。溶出した花粉細胞に覆われている花粉が多く見られた。また、矢印のように花粉外壁が壊れたような花粉粒も観察された。

3.3. 各模擬降雨中の花粉粒からの Cry j 1 溶出 量の観察

種々の模擬降雨中の Cry j 1 溶出濃度を Fig. 5 に示す。 Cry j 1 溶出濃度は $Ca(NO_3)_2$ を含む降雨の時に高くなった。超純水(0 mN)を含んだ模擬降雨では Cry j 1 はほとんど溶出しなかった。また、同じ塩成分同士では、規定濃度 $80\sim150$ mN の間の Cry j 1 溶出濃度に大きな変

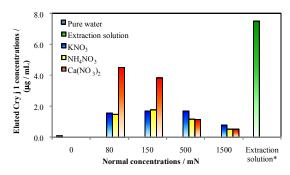


Fig. 5. Tendency of eluted Cry j 1 concentrations in various normal concentrations and salt components. These samples were filtered by filter of pore size 1.2 μm. *In this solution, Cry j 1 is eluted from pollen grain effectively.

化はなかった。しかし、塩規定濃度 $150\sim1500$ mN に関しては、塩規定濃度に比例して、溶出濃度は減少した。今回の実験では模擬降雨中のカチオン (K^+, NH_4^+, Ca^{2+}) を変化させて、Cryj 1 の溶出量変化を見てきた。Cryj 1 抽出液はCryj 1 を効率よく溶出させるため、3 時間のスギ花粉との接触の最中に、192 rpm で容器を攪拌した。しかし、その他の模擬降雨では同様の操作は行わなかった。そのため、この操作が溶出濃度の増加要因の 1 つであると考えられる。日本では、スギ花粉の飛散期はアジア大陸からの黄砂の飛来期と重なる。そのため、黄砂が飛来した際の降雨には Ca^{2+} イオンが溶出し、より多くの Cryj 1 が微小粒経へ移行し、花粉症由来の喘息を引き起こす可能性が示唆された。

4. 考察

今回の調査では、都市部住宅地においては、 高所 35 m と地上 0 m の 2 点の垂直分布にて観 測を行ったが、大きな花粉源となるスギ林は存 在していないにも関わらず、地上 0 m と高所で 花粉数に大きな差がでることから、都市部住宅 地の花粉はほとんど遠隔地からの飛来したも のと考えられる。今後、必要に応じて、都市部 における高度別の花粉の垂直分布調査手法を 確立する必要があると考えられる。さらに、ス ギ花粉アレルゲンの分析を行い、その結果を踏 まえ、スギ花粉飛散状況について、実用化し得 る局所的な高所花粉計測システム(既存機器の 選定と組み合わせ、クレーン・バードビジョン ステージへの装着装置の開発、分析手法の開発 等)の構築を検討していく必要がある。

一方、降雨との接触実験においては、黄砂中の Ca^{2+} イオンは $CaNO_3$ や $CaSO_4$ として存在しているため、今後はアニオン成分における Cry j 1 溶出挙動の変化を調査する必要がある。また、 Ca^{2+} 濃度が 500 mN 以上になると溶出量の減少が起こることから、実際の黄砂飛来期の降雨中のイオン濃度を調査する必要がある。特に、黄砂粒子と汚染化学種の沈着や物理的・化学的修飾・毒性増強、花粉症罹患への黄砂と汚染化学種の複合影響 ^{6,7)}を解明する試みは重要であり、スギ花粉アレルゲン含有粒子状物質の影響評価、並びに花粉観測システムと花粉飛散に関する情報提供の充実 ⁸⁾は緊急で不可欠である。

5. 謝辞

本研究では、高所花粉計測について、篠田重機株式会社との共同研究のもとで実施しており、降水によるアレルゲンの溶出に関しては、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究(研究領域提案型)、課題番号:20120015(平成20~24年度)により実施されたものであり、ここに謝意を表します。

6. 参考文献

- [1] 西端慎一, 井上栄, 雑賀寿和, 佐橋紀男, 鈴木修二, 村山貢司, 横山敏孝, 斉藤洋三, 「東京都におけるスギ花粉有病率-東京 都花粉症対策検討委員会の平成 8 年度実 態調査から-」, アレルギー48 (6), 597~604 (1999).
- [2] 中村澄夫, 佐藤文孝, 中村紀雄, スギ花粉 アレルゲン Cry j 1 と Cry j 2 の発芽花粉に おける局在性, 日本花粉学会誌, 50, 15-22 (2004).
- [3] 栗原幸大,王青躍,桐生浩喜,坂本和彦, 三輪誠,内山巌雄,埼玉県都市部、道路端 および山間部におけるスギ花粉アレルゲ ン含有粒子状物質の飛散挙動に関する研 究,大気環境学会 42 (6),362-368 (2007).
- [4] 山形県衛生研究所,スギ花粉の予兆公表, 日本経済新聞 (2007年9月24日).
- [5] 高橋裕一,大橋武,表面プラズモン共鳴 (SPR)を利用した空中花粉アレルゲンの リアルタイム測定,アレルギー 51 (1), 24-29 (2002).
- [6] 前田裕二, 1999, スギと呼吸器症状, アレルギー・免疫, 6, 236-242.
- [7] 内山巖雄,熊江隆,荒川はつ子,神馬征峰, 横山栄二,NO2曝露によるスギ花粉アレル ギーへの影響,花粉アレルギーと大気汚 染 (兜真徳, 鈴木継実 編),篠原出版, 42-49 (1995).
- [8] 王青躍, 栗原幸大, 桐生浩希, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巌雄,スギ花粉飛散期における飛散花粉数およびアレルゲン含有微小粒子状物質の高濃度出現の時系列的挙動差異, エアロゾル研究, 23 (2),120-126 (2008).