STUDIES OF HYPERSENSITIVITY WITH MOLD IN ALLERGIC DISEASES OF RESPIRATORY TRACT

TAKAHARU SHIMIZU, M.D.

*Section of Oto-Rhino-Laryngology, Sagami National Hospital, Research Center of
Rheumatology & Allergology, Kanagawa (Director: Shioda, M.D.)*

The significance of the mold as an allergen in the allergic diseases of the respiratory tract was studied. The air-borne mold was surveyed for the past five years. The results of the skin test performed on 4510 cases with the respiratory allergic disease were also analyzed. The allergic condition of respiratory tract was generally, divided into two types, upper respiratory type (nasal allergy) and lower respiratory type (bronchial asthma).

The IgE concentrations and IgE antibody levels in the sera of 20 cases of each two types were titrated with RIST and RAST. Those levels were compared between each allergen and between each disease type. The results were as follows;

- 1) Using the slide glass method, ten kinds of the mold spores were identified by the air-borne mold spores survey. The kinds of mold detected were changed every year. However, *Alternaria* and *Epicoccum* were observed abundantly every year. The amount of the spores varied seasonally and showed two peaks in early summer and fall. The spores diminished in winter remarkably.
- 2) The kinds of mold identified with culture plate method also changed every year. The seasonal peak of the amounts of the mold was not always similar to those with slide glass method.
- 3) The mold, with which the immediate reaction of the skin test was highly positive, were *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Alternaria*. And the skin test with *Candida* and *Trichophyton* showed positive delayed reaction frequently.
- 4) Not only IgE concentrations, but also IgE antibody levels of the sera, were higher in the lower respiratory type than in the upper respiratory type.
- 5) It is suggested that the sensitive organs with mold are selected with the size of the spores. And almost all kinds of the mold, except *Alternaria*, are considered to be more significant allergen for the allergic diseases of the lower respiratory tract (bronchial asthma) than of the upper one (nasal allergy).

A 81—0448—70869

気道アレルギーにおける真菌過敏性の検討

国立相模原病院リュウマチ・アレルギー研究部耳鼻科

清水 章 治

はじめに

近年、免疫学やアレルギー学の研究に深い関心が集まり、気道アレルギー疾患患者の漸増と相まって、日常診療のうちにもアレルギー性疾患の診断ならびに治療は欠

かせないものとして次第に普遍化し、浸透してきている。

気道アレルギー疾患において室内塵や花粉類とならんで真菌類が重要なアレルゲンとして実証されてから50余

年を経過したが¹⁾、今日に至っても真菌アレルギーの実態はほかの2種の抗原に比較すると、まだ十分解明されていない点が多い

真菌によるアレルギー性疾患としてI型の即時型反応のみならず、*Aspergillus fumigatus* によるⅢ型（アレルギー性気管支肺アスペルギルス症が報告され²⁾、他方、過敏性肺臓炎も真菌によって惹起されたⅢ型反応の1つであることが知られるに至った³⁾。Ⅳ型の細胞免疫反応による遅延型反応が気道アレルギーの発症に関与しているか否かはまだ議論も多いが、*Candida albicans* や *Aspergillus fumigatus* が皮膚反応、吸入誘発反応やマクロファージ遊走テストなどの結果からⅣ型反応に関与しているとも指摘され⁴⁾、真菌によるアレルギー反応は複雑、多岐にわたり、一層理解しにくいとの印象を与えている。

そこでわが国における真菌アレルギーの実態を解明するために、空中真菌相の検索と多数の気道アレルギー患者の皮膚テストにより、各種の真菌アレルギーの感作頻度を調査し、さらに疾患を上気道型と下気道型のアレルギーに大別して、それぞれの臨床所見を分析した。そして特に重要な真菌アレルギーについて RAST により IgE 抗体の測定を行って両群間の感作の相違点を比較検討した。その結果二・三の知見が得られたので報告する。

研究対象ならびに方法

1. 空中真菌の調査

空中に浮遊し飛散している真菌胞子を対象とし、1972年から1976年までの5年間観測を行った。検索の方法は既報⁵⁾の standard pollen sampling device を用いてスライドグラス 1cm² 上に落下した真菌胞子の種類と数を顕鏡し、同定した。なお観測は国立相模原病院5階屋上(地上19.5m)に設置された捕集器により、前記と同じ期間続けた。そして観測された胞子数を各月ごとに平均した。

一方、Mehrich の修正培地 (malt extract 5g, KH₂PO₄ 1g, peptone 1g, dextrose 15g, sodium chloride 75g, agar 15g, 蒸留水を加えて 1l とする。) を内径 8.5 cm のペトリ皿に流して作製した培養平板プレートを、雨天を除いた隔日の午前9時に捕集台と同一の場所に設置し、12分間空中に露出させた後、7~14日間ふらん器中で培養し、生えた真菌集落の総数を観察した。そして月別の集落総数をその月の観測日数で割って1日平均のコロニー数とした。

2. 皮内反応検査

対象は1972年から1976年の5年間に国立相模原病院アレルギーセンターを受診した15才から85才までの成人の気道アレルギー患者4,510例(男2,162例, 女2,348例, 平均年齢37.17±13.76才)である。これら症例に主要な真菌アレルギーエキスをより皮内反応検査を行い、その成績を集計した。

気道アレルギー患者の内訳は鼻アレルギーを主徴とする者、743例(男305例, 女438例, 平均年齢33.16±10.44才)、気管支喘息を主徴とする者、3,767例(男1,846例, 女1,921例, 平均年齢38.03±13.86才)である。

表1に、使用した15種の真菌アレルギーの真菌学的分類、種類、製造施設ならびに各胞子の大きさを示した。

表1 皮内反応検査に用いた真菌アレルギー

真菌分類	種	製造施設	胞子の大きさ(μ)
藻菌類	<i>Mucor</i>	H	5~10
子囊菌類	<i>Aspergillus</i>	T	3~4
	<i>Penicillium</i>	T	2~3
不完全菌類	<i>Alternaria</i>	T	35-90×9-14
	<i>Epicoccum</i>	H	20~25
	<i>Macrosporium</i>	H	14-18×20-24
	<i>Cephalothecium</i>	H	8~16
	<i>Cladosporium</i>	T	4~18
	<i>Sepedonium</i>	H	8~11
	<i>Botrytis</i>	H	2-12×3-10
	<i>Trichophyton</i>	S	3~6
	<i>Fusarium</i>	H	2-4×3-6
	<i>Pullularia</i>	H	2~6
	<i>Candida</i>	T	5~5
	<i>Cephalosporium</i>	H	2~4

註: H……Hollister-stier 社製

T……鳥居薬品製

S……自家製(国立相模原病院)

皮内反応検査にはすべて10,000倍の粗抗原エキスを用了。即時型皮内反応の陽性判定基準は石崎の分類⁶⁾に従った。遅延型反応は24時間後にツベルクリン判定基準⁷⁾に基づいて硬結、発赤により判定した。

一方、真菌アレルギー以外の遅延型反応と対比する目的で10倍液の多価細菌ワクチンであるBroncasma Berna(扶桑薬品)とPPD精製ツベルクリン・タンパク(Hollister-stier 社)を用いて皮内反応検査を行った。

3. IgE 抗体の測定

鼻アレルギーを主徴とする上気道型アレルギー 20例（男12例，女8例，平均年齢 33.35 ± 12.76 才）と気管支喘息を主徴とする下気道型アレルギー 20例（男11例，女9例，平均年齢 34.00 ± 13.48 才）を対象とし，即時型皮膚反応の陽性率のとくに高い6種の真菌アレルギー，すなわち *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* について RIST により血清 IgE 濃度を，また paper disc を用いた RAST により，それぞれの抗原に対する血清中の IgE 抗体量を測定した。

RAST に必要な anti-IgE I²⁵ は Phadebas RAST kit に添付の材料を用いた。paper disc を担体とした RAST は Ceska⁸⁾ の方法に準じて行った。皮内反応に用いた既述の6種の真菌粗抗原エキスの100倍液を pH 8.0 の硼酸緩衝生理食塩水で24時間透析してグリセリンを除いた後，CNBr で活性化して作製した直径5mmの円形 paper disc（東洋濾紙 No. 6）に化学的に結合させた。抗原との結合，洗滌および患者血清との混和・保温，洗滌の条件はすべて宮本ら⁹⁾ の方法に従った。そして paper disc と結合した放射能は Aloka Autowell gammer counter で1分間測定した。

なお RAST score は kit 添付の対照血清 A, B, C, D に対する count 比と比較して0～4まで5段階に分類した（表2）。

表2 RAST score の判定基準

判 定	皮内反応 (即時型)	RAST count 比	RAST score
陰 性	発赤 0～9mm	対照血清D以下	0
疑 陽 性	10～19mm	C～D	1
陽 性	20～29mm	B～C	2
中等度陽性	30～39mm	A～B	3
強 陽 性	40mm以上	A以上	4

4. ゲル内免疫拡散法

前記症例の血清を Ouchterlony 法で，6種の重要真菌抗原に対する沈降抗体の有無について検討した。

真菌抽出エキ스는非特異的にヒトの CRP を沈降させる物質が含まれており，通常の寒天ゲルを用いると CRP の高い患者血清で非特異的沈降線を生じることがあるので¹⁰⁾，McI Ivaine 液（0.1M citric acid 18ml, 0.2M disodium hydrogenphosphate 82ml, sodium azide 0.2g）と3% Agarose（Behringwerke）を等量加えて作製し

た寒天ゲルを用いて，ゲル内沈降反応を行った。寒天中央の穴（内径 8mm）に患者血清を入れ，周辺の穴（内径 5mm）に *Candida*, *Aspergillus*, *Trichochyton*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* の6種の抗原を 2mg/ml の濃度に加え，3日後に沈降線の有無を判定した。

結 果

1. 空中真菌の調査成績

a. スライドグラス法による成績

スライドグラス法により同定しえた屋外での空中飛散真菌胞子は10種で，*Aspergillus* や *Penicillium* など胞子に特徴が少なく，しかも光顕レベルでは識別困難な微小真菌は不明として集計した。

表3に前記5年間の真菌の種類と胞子数を年平均値で示す。量的には *Alternaria*, *Epicoccum*, *Stemphylium*（あるいは *Pleospora*）, *Fusarium* がことに多く認められ，しかも各胞子の飛散量の年次的変動が著明であった。

表3 年平均真菌胞子数（スライドグラス法）

飛 散 真 菌 の 種 類	M±SD(個/cm ² /年)
<i>Alternaria</i>	500.8±183.8
<i>Epicoccum</i>	164.4± 33.0
<i>Stemphylium</i> or <i>Pleospora</i>	153.8±114.2
<i>Fusarium</i>	144.2± 78.2
<i>Sepedonium</i>	90.2± 30.4
<i>Cladosporium</i>	88.4± 27.0
<i>Rust</i>	70.4± 35.7
<i>Helminthosporium</i>	51.8± 33.0
<i>Curvularia</i>	38.4± 25.1
<i>Papularia</i>	8.2± 15.7
不 明	306.2± 68.5
計	1700.6±365.7

さらに月別にわけて季節的変動についてみると，図1にみられるように，空中飛散真菌総数では6月と9月に2峰性の飛散ピークが認められ，冬期には著しく減少している。10種の真菌胞子数を月別にみると（図2），*Alternaria*（6月と8月），*Epicoccum*（6月と10月），*Cladosporium*（6月と9月）に，季節的に明らかな2峰性のピークが認められた。そして *Rust*（8月と11月），*Helminthosporium*（7月と9月）で，わずかに増加する2峰がみられた。*Sepedonium*（8月），*Stemphylium*

(*Pleospora* を含む—9月)と *Fusarium* (9月) で1峰性のピークがみられ、それに *Papularia* (7月) と *Curvularia* (8月) でわずかに増加の傾向が認められた。

図1 月別にみた空中飛散真菌総数(スライドグラス法)

b. 培養法による成績

5年間の月別の1日平均集落株数を図3に示した。しかし今回の研究では培養法による種類の同定までは行えなかった。

季節的にみると5月と10月に2峰性のピークがみら

れ、スライドグラス法による月別胞子総数の成績と比較すると、幾分飛散ピークにずれが認められ、量的には12月や1月に至ってもなお著しい減少がみられず、7月とほぼ等しい真菌集落数が認められた。

図3 月別にみた空中飛散真菌集落総数(培養法)

2. 皮内反応検査成績

a 即時型反応の成績

鼻アレルギーあるいは気管支喘息の気道アレルギー患者4,510例に行った主要真菌アレルゲンによる皮内反応検査成績を表4に示した。

即時型反応でとくに陽性率の高い真菌をその順にあげると、*Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Penicilium*,

図2 空中飛散真菌の季節的変動(スライドグラス法)

表4 即時型皮内反応検査成績

真菌アレルゲン	対象患者数	陽 性 率
Candida	4,510	54.9%
Aspergillus	4,510	24.7
Trichophyton	2,964	16.3
Penicillium	4,510	15.0
Cladosporium	4,510	13.1
Alternaria	4,510	12.2
Cephalosporium	4,510	4.2
Sepedonium	2,496	3.9
Macrosporium	1,766	3.3
Epicoecum	1,766	3.2
Cephalothecium	3,780	3.0
Mucor	2,964	2.9
Fusarium	1,819	2.3
Botrytis	2,964	2.0
Pullularia	1,766	1.8

Cladosporium, Alternaria の6種で表1に示したように多くは不全菌類や子囊菌類に属する。

これらの一部は病原性真菌としてヒトに作用するが、このほか非病原性の空中真菌、生体に腐生的に常在する雑菌にも高い陽性率が認められた。病原性、人体腐生性真菌の代表である Candida は54.9%と過半数の患者に陽性の結果が得られた。

つぎに鼻アレルギーを主徴とする上気道型アレルギー患者のなかから200例(男78例, 女122例, 平均年齢31.69±11.35才)と気管支喘息を主徴とする下気道型アレルギー患者から200例(男83例, 女117例, 平均年齢39.29±12.73才)を無作為に抽出し、その皮内反応の陽性率を病型別に比較したところ、いずれの真菌エキスを対しても下気道型で陽性率が高かった(表5)。

さらに上および下気道型の陽性率を χ^2 検定により比較した結果、Trichophyton, Penicillium, Botrytis の3種で有意差($P < 0.05$)が認められた。これらはいずれも2~10 μ の微小真菌であった。

重要真菌6種による皮内反応陽性率の季節的消長についてまとめてみると(図4), Aspergillus は6月と8月に顕著な2峰性のピークがみられ、Alternaria (6月と8月)ではスライドグラス法で観測された胞子の飛散ピークと全く一致した2峰のピークが認められた。Cladosporium も2月と9月に2峰性のピークがみられたが胞子飛散のピークとは一致しなかった。このほか Penicil-

表5 病型別即時型皮内反応陽性率

種 類	上 気 道 (200例)	下 気 道 (200例)
Candida	46.5%	54.5%
Aspergillus	22.5	24.0
Trichophyton*	14.0	21.5
Alternaria	9.5	10.5
Cladosporium	6.0	10.0
Penicillium*	3.5	9.5
Mucor	2.0	3.0
Botrytis*	0.5	3.5
Fusarium	1.5	2.0
Cephalosporium	1.5	1.5
Cephalothecium	1.0	2.0

*.....有意差あり ($P < 0.05$)

図4 重要真菌エキスの皮内反応陽性率の季節的変動(気道アレルギー400例)

ium や Trichophyton はともに8月に陽性率が最高となり、Candida は3月と12月を除くと多峰性を示し、1年を通じて高率に陽性を示した。

同様に重要真菌アレルゲンによる陽性率の変動と空中真菌調査結果とを年次的に比較すると(図5), スライドグラス法, 培養法ともに総真菌数の減少はみられないに

もかわらず、皮内反応の陽性率は6種とも年々減少する傾向がみられた。

図5 皮内反応陽性率ならびに空中真菌の年次の変動

b. 遅延型反応

無作為に抽出した上気道型アレルギー患者100例(男35例, 女65例, 平均年齢 30.77 ± 11.30 才)と下気道型アレルギー患者100例(男45例, 女55例, 平均年齢 36.74 ± 14.58 才)の遅延型皮内反応陽性率では(表6), 人体寄生性, 深在性真菌であるCandidaとTrichophytonがPPDやBacteria製剤であるBroncasma Bernaとならんで高い陽性率を示したが, 病型別にはいずれのアレルゲンについても有意差は認められなかった。

3. RASTによるIgE抗体の測定

上および下気道型アレルギーで重要真菌6種のうち, 半数以上の真菌アレルゲンエキスを同時に陽性を示した各20例ずつ計40例の血清IgE抗体をRASTにより測定した。

これらの患者のRASTによる血清中IgE値の平均は上気道型 1047.83 ± 1237.51 U/ml, 下気道型 1324.43 ± 1599.77 U/mlと両群とも高値を示したが, 下気道型で

表6 病型別遅延型皮内反応陽性率

種 類	上気道型 (100例)	下気道型 (100例)
PPD	62%	67%
Candida	66	63
Trichophyton	55	46
Broncasma Berna ($\times 10$)	43	48
Cladosporium	8	11
Aspergillus	8	10
Penicillium	8	8
Alternaria	4	5
Botrytis	0	2

とくに高い傾向にあった。

表2に示した基準に従って即時型皮内反応の強さとRAST scoreとの関係を6種の重要真菌アレルゲンについて検討してみると, 上気道型で相関係数 0.25 ($N=120$, $t=2.80$, $P<0.01$), 下気道型で相関係数 0.41 ($N=120$, $t=4.89$, $P<0.01$)と両群とも1%の危険率で有意に相関し, 真菌アレルゲンエキスの即時型皮内反応の強さは患者血清中のIgE抗体量とほぼ平行していることがわかった。

つぎに真菌アレルゲンによる即時型皮内反応陽性でRAST陽性(RAST score 2以上)を示した症例を病型ならびに抗原別に分類すると(表7), 明らかに下気道型アレルギー患者は上気道型に比べてRASTの陽性率が高く, Yatesの修正をおこなった適合度検定によるとCandida, Cladosporium, Penicilliumの3種に5%の

表7 抗原別 RAST 陽性率 (score による)

病 型	抗 原 別	皮内テスト陽性	RAST陽性	一致率	RAST陽性率
上気道型 (20例)	Aspergillus	18	3	25%	16.7%
	Candida	20	0	0	0
	Alternaria	16	4	40	25.0
	Cladosporium	14	0	30	0
	Penicillium	14	0	30	0
	Trichophyton	13	2	35	15.4
下気道型 (20例)	Aspergillus	20	9	45%	45.0%
	Candida	18	11	55	61.1
	Alternaria	19	8	45	42.1
	Cladosporium	19	4	25	21.1
	Penicillium	19	9	50	47.4
	Trichophyton	19	9	50	47.4

表 8 抗原別 RAST count 比

種類	病型	上気道型 M±SD(%)	下気道型 M±SD(%)	t 検 定
Aspergillus		3.89±3.03 (N=18)	11.04±9.52 (N=20)	t = 2.99 (P<0.01)
Candida		2.92±1.40 (N=20)	10.14±8.45 (N=18)	t = 3.68 (P<0.01)
Alternaria		5.96±7.08 (N=16)	8.21±6.88 (N=19)	t = 0.93 NS
Cladosporium		3.01±0.96 (N=14)	5.06±2.87 (N=19)	t = 2.57 (P<0.02)
Penicillium		3.20±1.85 (N=14)	8.73±6.27 (N=19)	t = 3.25 (P<0.01)
Trichophyton		3.15±1.93 (N=13)	6.54±3.86 (N=19)	t = 2.91 (P<0.01)

危険率で有意差が認められた。

さらに RAST count の平均百分率で 6 種の真菌アレルギー別に検定を行った成績を表 8 に示す count 比による群間比較を行ったところ、Alternaria を除く、他の 5 種はすべて下気道型で有意に高い IgE 抗体量が認められ、上気道よりもむしろ下気道で真菌アレルギーが発症しやすいことがわかった。

4. ゲル内免疫拡散法による成績

IgE 値ならびに IgE 抗体測定の対象とした 40 例の真菌過敏患者血清について検討したところ、2 例(上気道型 1 例、下気道型 1 例)が Candida に対してのみ、1 本の沈降線が会合して認められ、他の 5 種はすべて沈降抗体がみられなかった。

なお Candida に対する沈降反応陽性の 2 例はいずれも RAST score が 0 であり、IV 型のアレルギーが関与していることが示唆された。

考 案

真菌アレルギーはオランダの Van Leewen (1924) が Aspergillus, カナダの Cadhan (1924) が Wheat rust による気管支喘息症例を報告したのが初めとされている。Feinberg (1935) は真菌が花粉について重要なアレルギーと考え、空中生物学との関連を指摘し、Durham (1938) は米国内 63 ケ所で調査した空中真菌の地理的、季節的相違と対比して報告している。一方、英国では Hyde ら (1946) が広範囲に空中の真菌を調査している¹¹⁾。以後、今日まで世界各地域において空中真菌相の調査が行われている。

一般に空中真菌相は温度、湿度、気流、風速、天候などの地理的、気象条件の相違によって大きく影響されるので¹²⁾¹³⁾、真菌によるアレルギー性疾患の臨床的意義を理解するためには、それぞれの地域における空中真菌孢子の種類と多寡を観測し、把握しておくことが必要である。すなわち、真菌アレルギーの診断に用いるアレルギーエキスは当該地域にみられる空中真菌相の種類に従っ

て慎重に選択されなければならないし、治療効果の判定や予後についても季節的ならびに年次の変動を十分考慮した上で論じられるべきである。

1. 空中真菌の調査成績について

空中の真菌を調査する方法として、スライドグラス法および培養法が一般的であるが、このほかに衝突および回転アーム捕集器、惰速吸引捕集器、吸引衝突培養法を備えた Andersen 捕集器などが用いられている¹⁴⁾¹⁵⁾。後者の特殊な捕集器によるものは前の 2 方法に比べ、より正確な定量的捕集が可能であるが、かなり操作が複雑で、かつ専門的であるため¹⁶⁾、多くの報告はスライドグラス法または培養法によって調査が行われている。

空中飛散花粉調査に一般的なスライドグラス法も真菌では孢子が小さく、軽いので強風や雨の影響を受けやすく、Aspergillus, Penicillium, Candida, Trichophyton など 5μ 以下の微小で、かつ重要な真菌孢子の同定が難しいなどの欠点がある。一方、Cladosporium は形態上の特徴が少ないが、ややこれらの真菌より大きく、孢子が塊としてみられることが多いので Alternaria と同様に同定はそれほど困難ではない。またスライドグラス法は操作が簡単で 24 時間の真菌相が空中に飛散する花粉の多寡と併行して観察できることや捕集用基剤として使われているワセリンが真菌を増殖させないので、長期に保存した標本をあとで見直せるなどの利点も多い¹⁷⁾。

一方、培養法は菌種の同定に適しているが、培養後すぐに観察しないと生えすぎて同定が不可能となったり、空中に暴露する時間が短いので(通常は 10 分前後)、調査する時間帯によって真菌の種類が偏りやすく、使用する培地によっては生えにくい真菌があるなどの欠点がある。

スライドグラス法と培養法の結果がかならずしも一致しなかったのは Shapiro¹⁸⁾も認めるところであり、前述したように方法や観測時間が全く異なるためと考えられる。

スライドグラス法や培養法から得られた成績によると *Alternaria*, *Cladosporium* を主要空中真菌としている報告が多く¹⁷⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾, 外国での調査も両者の比率がかならずしも一致していない。しかし、季節的な変動についてはほぼわれわれの成績と一致している。2番目に多く観察された *Epicoccum* については、カリホルニアで Shapiro¹⁹⁾, 本邦では降矢²⁰⁾が重要視している。また *Fusarium* は Dupont ら²³⁾によっても注目されている。量的にはスライドグラス法で観測した *Cladosporium* が諸家の報告¹⁷⁾¹⁹⁾²⁴⁾ほど多く認められなかったが、これは地域的な違いによるものと考えられた。

5年間にわたる調査から空中真菌数が年次的に著しく変動することが明らかになった。これは先に述べたようないくつかの気象条件が年毎に大きく変化するためと思われる。過去の報告では長期にわたる報告はきわめて少なく、Merksamer¹⁷⁾はスライドグラス法で7年間の成績を報告しているが、年次的な差については触れていない。降矢²⁰⁾は天候との関係で、雨の日には *Alternaria* が減るが、*Aspergillus* はかならずしも少なくならないので、前者は屋外性、後者は屋内性に由来するであろうと推論している。

また空中の真菌相は地域的にも、また同じ地域でも屋外、屋内で相違の大きいことが指摘されている¹⁹⁾²⁰⁾²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾²⁹⁾。最近、Solomon³⁰⁾は空調設備の一般家庭への普及が、とくに *Aspergillus* や *Penicillium* など屋内性真菌の増殖を招いたと警告している。

今回の調査ではスライドグラス法による同定と併行して培養法での菌種の同定まではできなかったが、とくに微小な空中真菌相の検索にはスライドグラス法と培養法とを併用してみておくことが必要であるとの結論を得た。

2. 真菌過敏性の検査成績について

a 対象

一般にアレルギー性疾患の罹患率には性差はないが、加齢により変動がみられるので、真菌アレルギーも当然この点を考慮しなければならない。本研究では15才以上の主として成人の気道アレルギー患者を対象とし、上および下気道型にわけて比較したところ、両群の平均年齢はともに30才代で、年齢的な偏りはみられなかった。

発症年齢と真菌類による即時型皮内反応との関係をみた高橋³¹⁾によれば、若年発症者にとくに高い陽性率がみられたという。一方、571例の小児気管支喘息を対象とした島貫³²⁾は *Candida* 31.8%, *Cladosporium* 14.5%,

Aspergillus 13.5%の成績を報告しており、*Candida* や *Aspergillus* などの微小真菌ではむしろ成人を対象としたわれわれの成績より低い陽性率を示している。また成人と異なり、小児では *Alternaria* や *Cladosporium* のような比較的大きな屋外性の飛散真菌胞子により高率に感作されていることは、後述するように鼻腔の広さと真菌胞子の大きさとの関連を論じてゆくうえで大変興味深い事実と思われる。

b. 即時型反応

即時型反応では *Candida* や *Trichophyton* のように人体腐生性病原性真菌で最も高く、ついで *Aspergillus*, *Penicillium* など主として屋内性の真菌に、さらに *Alternaria* や *Cladosporium* など主として屋外性の真菌の順に高い陽性率を示した。

Candida albicans は上気道にも腐生的に棲息し、増殖するといわれ³³⁾、抗生物質やステロイドの影響で深在性にも表在性にもヒトの常在性真菌として存在するので、気道アレルギーに占める役割は複雑である¹⁹⁾。*Candida* による皮膚テストの診断的な意義は少ないとする説もあるが³⁴⁾、一部の陽性者にとって気道における吸入性アレルゲンとなりうることは明らかである³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾。可部³⁸⁾³⁹⁾は *Candida* の菌体成分の多糖体分画には即時型反応を起こさせる抗原活性があることをヒトおよび免疫したモルモットの吸入テストで証明している。岸本⁴⁰⁾は *Candida* 抗原添加によるラットのマスト細胞脱顆粒試験(RMCD)により、脱顆粒マスト細胞率と皮内反応が明らかに相関することから、*Candida* はリアギンが関与する即時型反応を惹起させうることを強調している。

また paper disc による RAST を使った秋山⁴¹⁾の検索では皮内反応、誘発テストともよく相関がみられたとし、*Candida* 抗原の IgE によってひき起こされる反応に蛋白が関与していると推論している。現行の CNBr で処理した paper disc を担体とすると精製多糖体は結合しにくいとの報告⁴²⁾がある。しかし、paper disc による RAST を使ったわれわれの成績では上気道型ではすべて陰性、下気道型で61.1%の陽性率が得られ、疾患によって陽性率に明らかな相違がみられるので、paper disc を担体としても真菌に特異的な抗体量をほぼ満足できる程度に測定しようと考えられた。

またこれらの成績から、皮内反応の際には *Candida* は toxic に働いて非特異的に陽性に出やすいので、*Candida* による真菌性鼻アレルギーの診断は慎重に行われるべきであると考えられた。

トリコフィチン皮内反応は白癬菌の診断に皮膚科領域で広く用いられ、ことに深在性白癬で陽性率が高いといわれている⁴³⁾。油井ら⁴⁴⁾は白癬菌感染患者に高い頻度にてアトピー型の *Trichophyton* 過敏喘息がみられたと報告している。われわれの症例でも RAST により、上気道型で15.4%、下気道型で47.4%の陽性率が得られた。

Aspergillus については東ら⁴⁵⁾が *Aspergillus fumigatus* の抗原分析を行い、精製多糖体が即時型反応を起こすと報告している。同じく RAST の成績では上気道型で16.7%、下気道型で45.0%が陽性を示した。

Alternaria では皮内反応陽性率が空中真菌の多寡とよく一致した成績が得られたが、これは *Alternaria* が他の真菌類に比べてきわだって強い皮膚反応を示すという Lewis⁴⁶⁾ の報告をある意味で裏づけており、*Alternaria* は抗原性の強さや飛散量と臨床症状とが一致する点において花粉のそれと類似するところが多いと考えられる。*Alternaria* では上気道型で25.0%、下気道型で42.1%が RAST 陽性であった。

その他、*Cladosporium* や *Penicillium* では上気道型の20例がすべて RAST 陰性で、抗体量の面からみれば鼻アレルギーのアレルゲンとなる頻度はきわめて少ないと考えられた。

c 遅発型反応

皮内反応による遅延型反応では *Candida* と *Trichophyton* に上および下気道型でともに高い陽性率がみられた。

これらの菌が病原性真菌として真菌症を惹起することは広く知られているが、アレルゲンとして作用する際には即時型のみならずアルサス型、遅延型の反応をしばしば呈する。PPD や細菌の皮内反応の陽性率とほぼ一致することから、感染と何らかの深い関連があることが示唆される。先に述べた可部は *Candida* の抗原を分析して、蛋白分画あるいは末分画粗抗原が遅延型反応を起こすことをみている。一方、Pepys ら³⁾⁴⁷⁾は *Candida albicans* や *Aspergillus fumigatus* がⅢ型のアルサス反応にも関与していると報告している。

ゲル内免疫拡散法で検討した結果、2例が *Candida* にのみ沈降抗体が証明され、*Candida* による遅発型のアレルギーが存在する可能性が示された。

d. 病型別の成績

皮内反応、血清中の IgE 値および IgE 抗体量のいずれの成績で比較しても、明らかに上気道型よりも下気道型アレルギー患者がより強く真菌アレルゲンに感作され

ている成績が得られたが、これは中山ら⁴⁸⁾が内科、小児科、耳鼻科、皮膚科など6施設での真菌エキスを皮内反応検査を集計して得た成績とよく一致している。

RAST による抗体量の面からみると上気道型では *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichophyton* の順に、下気道型では *Candida*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* の順に真菌アレルゲンとして重要であることがわかった。

自然界にある10万種以上におよぶ真菌のなかで、アレルギー性疾患と関係あるものは20~30種に過ぎないとされている⁴⁹⁾。Bulmer⁵⁰⁾は多くの空中真菌の報告から *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pullularia*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* の15種および皮膚糸状菌皮膚疹の診断として *Microsporium*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*, *Candida* の4種を加え、重要真菌アレルゲンと指摘している。さらに最近では Giannini⁵¹⁾が空中真菌調査でほとんど検出されない孢子類でも吸入性アレルゲンとして無視できないものがあると報告している。

空中真菌調査で同定した10種の真菌のうち皮内反応検査に用いたのは5種に過ぎないが、孢子飛散量の多寡と陽性率とはかならずしも平行せず、真菌にもおそらく花粉と同様に、抗原性の強弱が存在するようと思われる。空中飛散量ならびに皮内反応の陽性率を月別にみてゆくと多くの真菌で6月と8~9月に2峰性のピークがみられることから、ことにこの時期を mold season と考え、真菌アレルゲンを十分考慮に入れてアレルゲンの診断にあたるべきであると考えられた。

一方、島貫ら¹⁵⁾は年齢別に皮内反応陽性率を調べた結果、6~7才で最も高く、年齢が長ずるに従い陽性率が低下したという。

これまでみてきたように病型や年齢によって気道における真菌過敏性に大きな相違がある事実から、アレルゲン物質の大きさによって発症臓器や好発年齢が選択されているのではないと思われる。平均して20μ前後の花粉尘粒では眼鼻症状を主徴とする花粉症が発症しやすい⁵²⁾、その反面いわゆる花粉喘息の発症頻度は少ない⁵³⁾。一般に10μ以上の粒子は100%上気道で除かれ、5μではおよそ80%が、さらに小粒子はそのまま肺に吸い込まれ、1~2μでは鼻腔で捕えられないといわれる⁵⁴⁾⁵⁵⁾。

真菌孢子の大きさはかならずしも一定ではないが、先

に示したように *Alternaria* を除くほとんどが 10μ 以下の胞子で、ことに重要真菌アレルゲンである *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Penicillium* など、多くは平均して 3μ ないしは 4μ 前後なので鼻腔で捕捉される機会がきわめて少ない

胞子の大きさや空中飛散量、皮内反応、RAST の成績などを考えあわせると、上気道型アレルギーで最も重要な真菌アレルゲンは *Alternaria* であり、このことは RAST count 比による群間比較の結果からも証明された。

本来、大気中物質のフィルターとしての働きをしている鼻腔で捕捉されない微小真菌胞子はさらに深部の気管支粘膜まで容易に到達し、比較的高い頻度で下気道アレルギーを発症させているものと考えられる。*Alternaria* による鼻アレルギーが学童期に発症率が高く、成人での発症率がきわめて低いという日常臨床的な事実も、あるいは単に鼻腔内の広さに基因しているのかも知れない。

ま と め

気道アレルギーにおける真菌アレルゲンの臨床的な意義を明らかにする目的で、1972年から1976年までの5年間、空中の真菌の実態を調査した。一方、4,510例の気道アレルギー患者について皮膚反応検査、血清中IgE値・IgE抗体量などについて検討し、以下の結論を得た。

1. スライドグラス法で同定しうる空中真菌胞子は種類が限られるが、*Alternaria*, *Epicoccum* などが最も多く観察された。季節的にみると初夏と秋に増加の傾向がみられ、冬期はほとんど飛散が認められなかった。一方、年次的には飛散量の変動が著しく、これは主として気象条件の相違に起因していると考えられた。

2. 培養法によっても年次的に変動が大きかったが、季節的には冬期にも比較的多く認められ、飛散のピークはスライドグラス法とかならずしも一致しなかった。

調査の方法により、結果に差があり、このため空中真菌の調査はスライドグラス法と培養法とを併用して観察する必要があると考えられた。

3. 皮内反応検査では、a 即時型に *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* の6種の真菌アレルゲンで高い陽性率を示し、気道アレルギーを上気道型と下気道型の2群に分けて比較すると、下気道型のアレルギーでより陽性率が高い結果が得られた。

年次的な皮内反応陽性率は空中真菌の量的減少がみられないにもかかわらず、各真菌アレルゲンとも年々減少

の傾向がみられた。b. 遅延型では *Candida*, *Trichophyton* の2種の人体寄生、深在性真菌による陽性率が高く、この2種の真菌アレルゲンはI型のみならず、IV型の反応をも示すことから感染型のアレルギーの意義も否定できない。

4. 真菌過敏患者の血清中IgE値は両気道型とも高値を示したが、下気道型でより高く、6種の重要真菌アレルゲンに対するIgE抗体量も *Alternaria* を除き、上気道型に比べ、下気道型で高い結果が得られた。

5. 真菌の胞子はその多くが上気道で捕捉されないぐらい微小なものであることから、真菌アレルゲンは臨床的な意味において下気道型アレルギーにより重要性があると考えられた。

文 献

- 1) Prince H.E., et al.: An up-to-date look at mold allergy. Ann. Allergy, 37; 18-25, 1976.
- 2) McCarthy D.S., et al.: Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Clin. Allergy, 1; 415-426, 1971.
- 3) Pepys J.: Pulmonary aspergillosis, farmer's lung, and related diseases. Immunological disease, 1; 693-713, Little, Brown and Co., Boston, 1971.
- 4) 可部順三郎：真菌（とくに遅延型）アレルギーと喘息。アレルギー、21; 511-522, 1972.
- 5) 清水章治：花粉症の研究(前編)。日耳鼻、77; 428-440, 1974.
- 6) 石崎 達：即時皮内反応、陽性判定基準を中心にして。アレルギー、12; 14-30, 1963.
- 7) 戸田忠雄：結核菌とBCG。南山堂、東京、1949.
- 8) Ceska M., et al.: Radioimmunosorbent assay of allergen. J. Allergy Clin. Immunol., 49; 1-9, 1972.
- 9) 宮本昭正、ほか：Paper disc を用いての Radial-lergosorbent test (RAST) に関する研究。アレルギー、22; 584-593, 1973.
- 10) 宮本昭正：カビ抗原の免疫学的な検討。アレルギー、21; 526-529, 1972.
- 11) Maunsell K.: Respiratory allergy to fungus spores. Progress in allergy, 4; 457-517, Little, Brown Co., Boston. 1955.
- 12) 太藤重夫、ほか：2, 3 皮膚疾患における大気中糸状菌の意義に関する研究。第2報。皮膚科紀要、56; 205-208, 1961.

- 13) 高橋昭三, ほか: 空中真菌と気管支喘息. 真菌誌, 15; 3-10, 1974.
- 14) *Solomon W.R.*: Aeroallergens. A manual of clinical allergy, second edition, 326-436. W.B. Saunders Co., London, 1967.
- 15) *Southworth D.*: Introduction to the biology of airborne fungal spores. *Ann. Allergy*, 32; 1-22, 1974.
- 16) *Pandy S.M., et al.*: Diurnal periodicity in airborne fungal spores. *Ann. Allergy*, 39; 302-310, 1967.
- 17) *Merksamer D., et al.*: An evaluation of atmospheric mold spores as allergen in the New York metropolitan area; a seven-year study. *J. Allergy*, 29; 60-71, 1958.
- 18) *Shapiro R.S., et al.*: Airborne fungi in Los Angeles, California. *J. Allergy*, 36; 472-475, 1965.
- 19) *Durham O.C.*: Incidence of air-borne fungus spores. *J. Allergy*, 10; 40-49, 1938.
- 20) 降矢和夫, ほか: 相模原市における空中真菌の調査. アレルギー, 21; 457-465, 1972.
- 21) *Collins-Williams C., et al.*: Atmospheric mold counts in Tronto, Canada, 1971. *Ann. Allergy*, 31; 69-71, 1971.
- 22) *Finegold I.*: A two-year pollen and spore survey of Southeast Florida. *Ann. Allergy*, 35; 37-41, 1975.
- 23) *Dupont E.M., et al.*: A Survey of the airborne fungi in the Albuquerque, New Mexico, metropolitan area. *J. Allergy*, 39; 238-244, 1967.
- 24) *Collins-Williams C., et al.*: Atmospheric mold counts in Tronto, Canada. *J. Allergy*, 26; 468-470, 1955.
- 25) *Richards M., et al.*: Atmospheric mold spores in and out doors. *J. Allergy*, 25; 429-439, 1954.
- 26) *Long D.L., et al.*: Air spora of two contrasting ecological sites in Kansas. *J. Allergy*, 49; 255-266, 1972.
- 27) 朝田康夫: 自然界における真菌の分布消長, 空中真菌相について. 真菌と真菌症, 4; 129-135, 1963.
- 28) *Lumpkins E.D., et al.*: Airborne fungi survey. 1. Culture-plate survey of the home environment. *Ann. Allergy*, 31; 361-369, 1973.
- 29) *Lumpkins E.D., et al.*: Airborne fungi survey. 2. Culture plate survey of the home environment. *Ann. Allergy*, 36; 40-44, 1976.
- 30) *Solomon W.R.*: A volumetric study of winter fungus prevalence in the air of midwestern homes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 57; 45-55, 1976.
- 31) 高橋昭三, ほか: 真菌アレルギー 総合臨床, 12; 2209-2215, 1972.
- 32) 島貫金男, ほか: 小児期における真菌過敏喘息の臨床的研究. アレルギー, 19; 107-120, 1970.
- 33) 古内一郎: 上気道における *Candida* の分布とその免疫血清学的研究. 日耳鼻, 62; 2363-2374, 1959.
- 34) *Salvin S.B.*: Allergic reactions to pathogenic fungi. Textbook of immunopathology. 1; 323-336, Grune, Stratton, New York, 1968.
- 35) *Ikin I.H., et al.*: Bronchial hypersensitivity to extract of *Candida albicans*. *J. Allergy*, 37; 187-194, 1966.
- 36) *Kurimoto Y.*: Relationship among skin tests bronchial challenge and serology in house dust and *candida albicans* allergic asthma. *Ann. Allergy*, 35; 131-141, 1975.
- 37) 古内一郎: 真菌性鼻アレルギー アレルギー, 21; 469-476, 1972.
- 38) 可部順三郎, ほか: *Candida* 菌体成分による即時および遅延型反応. アレルギー, 19; 91-106, 1970.
- 39) *Kabe J., et al.*: Antigenicity of fractions from extracts of *candida albicans*. *J. Allergy*, 47; 59-75, 1971.
- 40) 岸本晃男: *Candida* hypersensitivity と reagin の相関についての in vitro テスト 真菌誌, 14; 13-19, 1973.
- 41) 秋山一男, ほか: 真菌アレルギーの RAST と臨床診断との相関について(抄). アレルギー, 26; 302-303, 1977.
- 42) 宮本昭正, ほか: Radioallergosorbent test(RAST)を用いての臨床的研究. アレルギー, 24; 448-454, 1975.
- 43) 樋口謙太郎, ほか: 皮膚真菌学. 真菌病学, 124-147, 金原出版, 東京, 1964.
- 44) 油井泰雄, ほか: Trichophyton 過敏喘息について(抄). アレルギー, 25; 337-338, 1976.
- 45) 東市郎, ほか: 真菌多糖体抗原. アレルギー, 21;

- 466-469, 1972.
- 46) *Lewis W.H., et al.*: Allergy epidermology in the St. Louis, Missouri, area. 1. Fungi. *Ann. Allergy*, 34; 374-383, 1975.
- 47) *Pepys J., et al.*: *Candida albicans* precipitins in respiratory disease in man. *J. Allergy*, 41; 305-318, 1968.
- 48) 中山喜弘：真菌抗原と皮膚反応，アレルギー，15；567-576，1966.
- 49) 信太隆夫：アレルギー性呼吸器疾患における抗原，医療，30；1044-1052，1976.
- 50) *Bulmer G.*: Fungi and fungus allergy. *Clinical immunology and allergy*, second edition, 351-577, Grune, Stratton, New York, 1969.
- 51) *Giannini E.H., et al.*: The allergenic significance of certain fungi: Rerely roported as allergens. *Ann. Allergy*, 35; 372-376, 1975.
- 52) 黒住静之，ほか：気道アレルギーにおける上気道・下気道調節機構に関する考察，アレルギー，21；441-456，1972.
- 53) 信太隆夫，ほか：花粉喘息の特徴，アレルギー，19；739-751，1970.
- 54) *Brown J.H., et al.*: Influence of particle size upon the retention of particule matter in human lung. *Am. J. Public Health*, 40; 450-458, 1950.
- 55) *Lichtenstein L.M., et al*: Pathogenesis of allergic rhinitis. *Immunological disease*, second edition, 825-839, Little, Brown, London, 1971.
-
- 稿を終るに臨み，御指導，御校閲をいただきました恩師沢木修二教授ならびに貴重なる御助言をいただきました本院アレルギー研究部信太隆夫内科医長，さらに真菌同定の御指導をいただいた降矢和夫博士，データの蒐集など御協力いただいたアレルギー研究部門の方々に深く感謝いたします。また RAST kit を提供して下さいました塩野義製薬に厚く御礼申し上げます。
- 本論文の要旨は1977年5月，第78回日本耳鼻咽喉科学会総会において口演した。
- (原稿受付 昭和53.1.27日)
- 別刷請求先 〒252 藤沢市亀井野1038-12 清水 章治