

平成 26 年度産官学連携事業 分担研究調査報告書

室内塵のダニアレルゲン検査法と測定結果について

衛生研究所 生体影響担当 佐藤秀美

目的

家庭の掃除機塵からヒョウヒダニの糞由来アレルゲンを測定し、埼玉県的一般家庭の住居内におけるダニアレルゲンの蓄積量と分布状況を調査する。また、安定した検査結果を得るため、室内塵のダニアレルゲン検査法についても検討する。

調査方法

(1) 検査方法の検討について

① 使用試薬及び機器

試薬は(株)ニチニチ製薬のダニアレルゲン測定用ELISAキットDerp1及びDerf1(以下キットとする)を使用した。測定機器はマイクロプレートリーダーコロナMTP-450Labを用いて、同社の処理ソフトKF500 for Windows(4係数Log-Log)を使用して結果を得た。測定波長は450nm、対象波長は630nmとした。

② 抽出方法

検体には、飼育中のヤケヒョウヒダニ *Dermatophagoides pteronyssinus* 及びコナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* の廃糞類を酵母に混和したもの、椅子や座布団の掃除機塵及び室内の塵等を使用し以下の方法で検討した。

塵からの抽出法

試料50mgをディスポチューブに入れ、キットの試薬希釈液を5.0ml(50mg未満の場合は10mg/ml相当の量)を加えた。速やかにボルテックスミキサーで十分混和した後、4℃の冷蔵室でローリングミキサーに3時間以上かけて攪拌した。攪拌後の懸濁液は3500rpm20分間の遠心操作後、上清0.5~1.0mlをサンプルチューブにとり、アレルゲン測定用の試料とした。抽出後の試料は-30℃で保存し、測定直前に水浴で解凍して測定に用いた。

③ 検討内容

ELISA測定法はキットの操作法指示書に基づいて実施した。キットの標準液を用いて、検量線の形状と検出範囲の評価を行い、抽出後の試料を用いて検査値の再現性等試薬精度を確認した。

Derp1とDerf1の交差試験は、キット添付のコントロール液及び各ヒョウヒダニの糞を用いて実施した。

抽出後の試料の凍結による影響の確認については、-30℃で凍結1か月後に解凍した際の検査値の差を確認した。

(2) 室内塵のダニアレルゲンの測定

① 調査時期と対象

平成26年10月10日~11月7日間、埼玉県的一般住宅20世帯を対象に、電気掃除機を使用して採取した塵196検体を対象とした。

住宅形態は20世帯中14世帯が木造住宅であった。

② ダニアレルゲンの測定方法

採取した家庭の掃除機塵は、大きなゴミは取り除いて残りを均等化してから、細塵のみ50mg(50mg未満は全量)を使用して抽出し測定した。

それぞれの測定結果から、塵1g中のアレルゲン量を計算してDerp1及びDerf1を求め、その合計した値をDer1とした。また、抽出遠沈物を顕微鏡してダニを計数した。

検査結果

(1) 検査法の検討結果

検量線より求められる試料液の検出限界値は0.5ng/mlであり、上限値は24ng/ml、上限値以上の高い試料は希釈する必要があった。Derp1とDerf1の交差試験の結果は0%と100%と良好だった。再現性試験は検量線の中央値(10ng/ml)で5.1%だった。凍結保存前の試料と解凍後の試料の検査値の差は5%以内であった。

(2) 室内塵のダニアレルゲン測定結果

① ダニアレルゲンDer1の濃度分布(図1)

塵1g中(以下同様)のDer1量は、1.1~2.0μgと10.1μg以上の検体が多く、二相性の分布を示した。Der1全数の中央値は2.3μgだった。Der1が2.1μg以上ある検体は106個で全体の54.1%、そのうち10.1μg以上と非常に高濃度の検体は41個で全体の20.9%だった。

② Derp1とDerf1の濃度分布(図2)

Derp1量は0.05未満~98.6μg、中央値は0.05μg未満だった。低値の検体が多く、検体数の約8割が0.5μg以下だった。Derf1量は、0.05未満~171.8μg、中央値は1.9μgだった。Derp1が0.05μg未満であってもDerf1が高い塵や、その逆の場合もあり、濃度がどちらかに偏っている塵がほとんどだった。

③ 住宅の形態による違い

住宅の形態による各アレルゲン値は、木造家屋では、Derp1の平均値は2.6μg、Derf1は6.6μgであり、マンション等の鉄筋コンクリート家屋のDerp1の平均値は0.3μg、

Derf1は5.5 μg であった。木造家屋の方が高い値で、それはDerp1において差が大きかった。特にこの傾向は寝具や畳の塵で認められた。

④ 採取場所別アレルゲン量・ダニ数の平均値(表1)

採取した場所別にアレルゲン量及びダニ数の各平均値を示した。塵1gあたりのDer1値は、寝具と椅子・ソファが高く、マットが低かった。床もDer1値が高い塵が多かった理由として、今回採取した場所の床では、フローリングの件数は少なく、絨毯敷き床も含まれているためと思われる。キッチンマットやタンス内側の塵は低値だった。なお、寝具とカーペットには100 μg 以上の高濃度の塵があった。

ダニ数では、塵1gあたりの数は寝具が高かった。塵1g中のチリダニ数は0~45000匹、平均1122匹と多かった。

⑤ 採取場所別ダニアレルゲン種別濃度(図3)

Derp1及びDerf1の割合は、ほとんどの場所でDerf1値が高かったが、個別にはDerp1が高値の塵もあった。

⑥ 寝具のアレルゲン濃度割合(図4)

寝具82検体のDer1をL1:2.0 μg 以下、L2:2.1~10.0 μg 、L3:10.1 μg 以上の濃度レベルに分けて割合を見てみると、敷布団では、L3の割合が35%と多く、掛布団では少なかった。

⑦ ダニアレルゲン量とチリダニ数(図5)

畳・床・椅子・クッション計54検体について、Der1とダニ数の分布図を示した。この図から、ダニ数は少ないにも関わらず、Der1の高い塵が11検体認められた。これらは畳・布製椅子座面等の洗浄不可能な場所から採取した塵であった。掃除などでダニが除去・殺虫されても、ダニアレルゲンはそのまま蓄積され易いためDer1は高値になると推定された。

考察・まとめ

使用したキットはヒョウヒダニ糞由来アレルゲンDerp1及びDerf1を測定する国産の試薬であるが、まだ実績が少ない。先発販売されているIndoor biotechnologies社のELISAキットと比べて固相プレートが用意されているため使用しやすく²⁾、特異性と再現性に優れていた。室内塵のDerf1の濃度分布は広いと高濃度の試料では希釈が必要となってくるが、10倍希釈液で測定することによりほとんどの塵の検査結果が得られるため、室内塵の測定に使用可能であると考えられた。

室内塵のダニアレルゲン量はPlatts-Mills, et³⁾の文献及び旧厚生省アレルギー総合研究事業(1998)の報告から、塵1g中2 μg 以上でダニ感作の危険性が高まり、10 μg 以上で喘息発作が起りやすいとされている。今回の一般家庭の室内塵の検査値から、Der1が10.1 μg 以上ある塵の数が全体数の約20%、2 μg 以上は全体の50%以上を占め、これは半数以上の家庭の塵に相当した。この結果から、埼玉県一般家庭の過半数は、住居内でダニアレルゲンに感作

され易い状況にあると推定された。

アレルゲンの違いについては、ヤケヒョウヒダニ糞由来のDerp1が木造家屋で高かった。このダニはコナヒョウヒダニよりも高温で繁殖するので、木造家屋では特に除湿対策が必要と考えられた。

採取した場所別にDer1量の平均値をみると、寝具の塵がDerf1, Derp1ともに高値だった。寝具をさらに種類別に分けてDer1量を比較すると、特に敷布団では、塵1gあたりのDer1量が10.1 μg 以上のL3レベルの家庭が35%あり、ダニ数も塵1gあたり10000個以上の高値の家庭が46%あった。調査対象者の大半の家庭では布団干しをしている。これらの結果から、布団干しは湿度の低減にはなるが、アレルゲンの除去及びダニを殺すことには不十分と考えられる。従って、寝具には、掃除機でのアレルゲン吸引除去⁴⁾、防ダニカバーの使用、水洗いによるアレルゲンの除去⁵⁾等、効果的なダニアレルゲン対策方法が必要と思われる。今後、調査をしていく必要があり、寝具のダニアレルゲン対策方法として、一般の人にわかりやすく情報提供をしていきたいと考える。

参考文献

- 1) 近藤正敏, ヒョウヒダニ主要抗原Derp1/Derf1量測定ELISAキットの開発, 機器・試薬 30(2), 2007
- 2) 竹田茂, 各種検査試薬を用いた室内ダニアレルゲン量の測定と測定値の比較. Indoor Environment, Vol. 1, No. 1, 1-9, 2008
- 3) Platts-Mills, et. : J Allergy Clin Immunol. 89 : 1046-1060, 1992
- 4) 名古屋市衛生センター, ダニアレルゲン量調査結果について. 第58回名古屋市公衆衛生研究発表会, 2012
- 5) 小濱美代子, 学校施設におけるダニアレルゲンの分布, アレルギーの臨床 30(14), 67-70, 2010

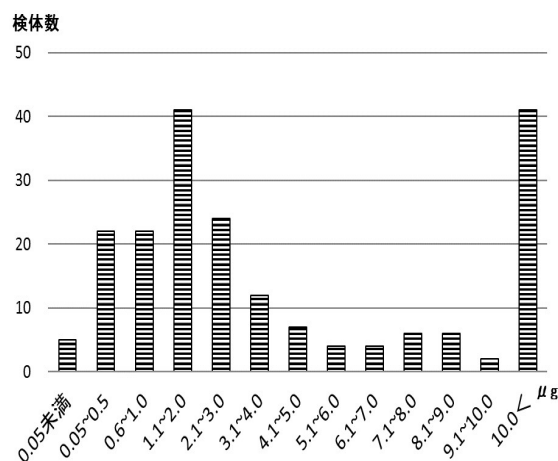


図1 Der 1の濃度分布

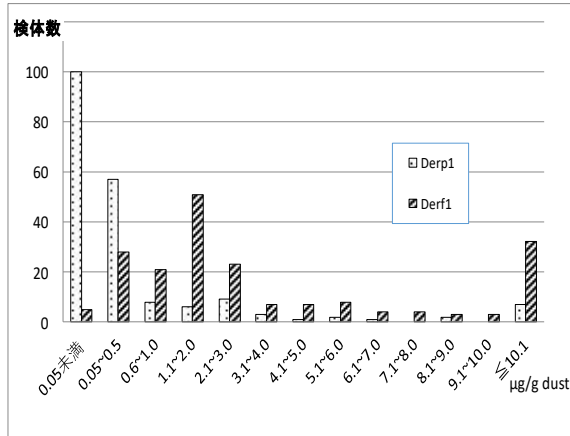


図2 Derp1とDerf1の濃度分布

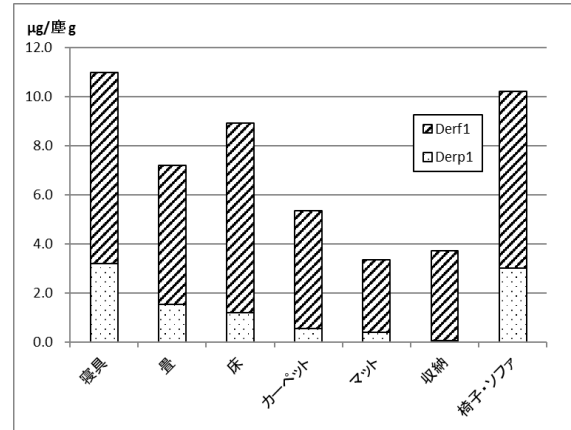


図3 採取場所別のDer1とDerf1量

表1 採塵場所別ダニアレルゲン量とダニ数の平均値

採塵場所	Der p1 (µg/g)	Der f1 (µg/g)	Der 1 (µg/g)	ダニ類 数(/m ²)	ダニ類 数(/g)	チリダニ 数(/m ²)	チリダニ 数(/g)	検体数
寝具	3.2	7.8	11.0	93	1781	90	1700	82
畳	1.5	5.7	7.2	183	859	148	715	26
床	1.2	7.7	8.9	241	745	237	724	12
カーペット	0.5	4.8	5.3	720	706	703	663	16
マット	0.4	2.9	3.4	884	621	871	597	27
収納	<0.05	3.7	3.7	271	1018	246	975	14
椅子・ソファ	3.0	7.2	10.2	271	1018	246	975	12
その他	0.1	12.9	13.0	96	456	82	420	7
MIN	<0.05	<0.05	<0.05	0	0	0	0	
MAX	98.6	171.8	171.8	12119	47000	12119	45000	
平均値	1.9	6.3	8.2	311	1193	299	1122	計196

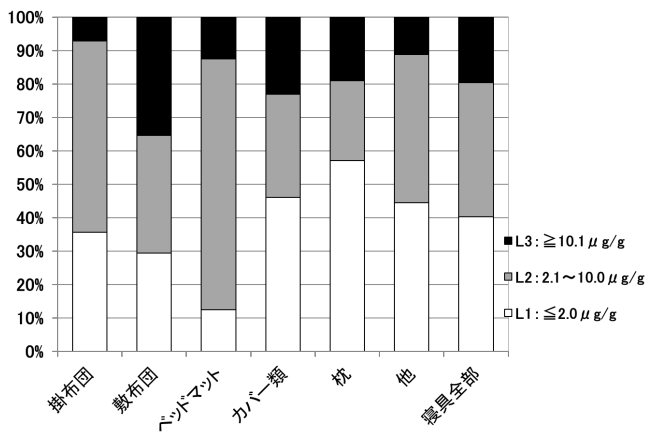


図4 寝具のDer1量レベル (n=82)

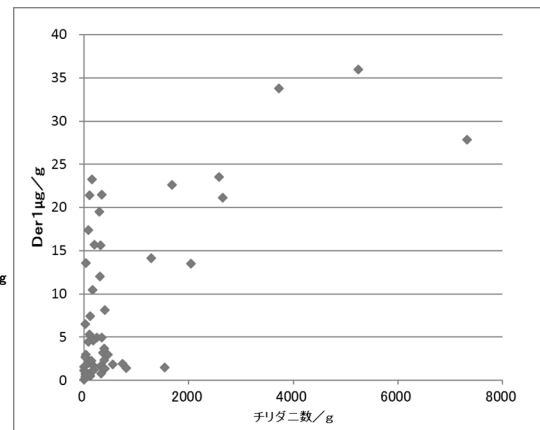


図5 Der1とチリダニ数(畳・床・椅子・ソファ)