

課題名	R F - 0 7 2 黄砂バイオエアロゾルの越境的健康被害調査のためのサンプリング・同定		
課題代表者名	小林史尚（金沢大学理工研究域自然システム学系・准教授）		
研究期間	平成19-20年度	合計予算額	20,285千円（うち20年度 11,185千円） ※上記の合計予算額には、間接経費4,681千円を含む
研究体制	<p>研究体制</p> <p>(1) 中国（敦煌）と日本（金沢）における黄砂バイオエアロゾルのサンプリングに関する研究（金沢大学、熊本県立大学）</p> <p>(2) 黄砂バイオエアロゾルの分離培養・同定・分類に関する研究（金沢大学）</p> <p>(3) メタゲノム法を用いた黄砂バイオエアロゾルの生物情報学的研究（金沢大学）</p> <p>(4) 黄砂バイオエアロゾルの健康被害に関する研究（金沢大学、神戸大学）</p> <p>(5) 黄砂バイオエアロゾル長距離輸送の中間地点（韓国）におけるサンプリング・同定に関する研究（金沢大学、Chungbuk National University）</p>		
研究概要	<p>研究概要</p> <p>1. 序（研究背景等）</p> <p>黄砂は、地球環境に重要な寄与をする現象として、これまで大規模な研究プロジェクトによってその影響評価が行われている（Intergovernmental Panel on Climate Change, Third Assessment Report, 2001；環境省黄砂問題検討会報告書, 2005；Nakano T, et al. <i>Atmos Environ</i>, 2005）。バイオエアロゾル（大気中に浮遊する生物粒子：花粉、微生物、ウイルスなど）は、伝染病の感染経路、生物兵器、バイオテロ、花粉症など、ヒトの健康に及ぼす影響に関連してその拡散過程が問題視され、特に欧米の一部の国では、生物学・医学領域の研究者によって研究が盛んに行われ始めている（Grinshpun SA and Clark JM. <i>J Aerosol Sci</i>, 2005）。近年、大気中のバイオエアロゾルが（直接的・間接的に）放射収支にどのような影響を及ぼすか、国際的な学術雑誌上においてNew Directionとして紹介され（Ariya P A and Amyot M. <i>Atmos Environ</i>, 2004）、大気エアロゾル・気象学の一つの分野として提案された。同じ大気を介して拡散する黄砂と生物粒子（黄砂バイオエアロゾル）の存在が提唱されているものの、まだ明らかになっていない（岩坂泰信著、黄砂その謎を追う、紀伊国屋書店、2006；Holmes H, <i>The Secret Life of Dust: From the Cosmos to the Kitchen Counter, the Big Consequences of Little Things</i>, John Wiley &amp; Sons Inc, 2003）。</p> <p>一方、韓国や中国においては「黄砂の健康被害」として大きな社会的問題となっており、主として疫学的手法による研究が盛んに行われている（Kwon H-J et al. <i>Environ. Res.</i>, 2002）。日本においてはあまり社会的問題とはなっていないが、最近黄砂の健康被害における研究が展開されている（Ichinose T, et al. <i>Environ Toxicol Phamacol</i>, 2005）。</p> <p>黄砂バイオエアロゾルの長距離輸送について調査するためには、黄砂の発源地域、輸送中及び降下地域におけるバイオエアロゾルについて、また輸送中におけるバイオエアロゾルの状況（黄砂鉱物粒子に付着した形態か単独に浮遊しているかなど）を検討しなければならない。しかしながら、国際的にみてもKelloggとGriffinがサハラ砂漠のエアロゾルとバイオエアロゾルについて報告しているのみで（C.A. Kellogg, D. W. Griffin: <i>TRENDS in Ecology and Evolution</i>, 21, 638-644, 2006）、黄砂バイオエアロゾルに関する報告は全く無いといっている。</p> <p>そこで本研究では、黄砂発生源地域である中国敦煌市と黄砂降下地域である日本の石川県金沢市・石川県珠洲市・熊本県天草市ならびに中間地点である韓国Cheongju市における大気混合層あるいは移行層のバイオエアロゾルの採取を行い、分離培養・メタゲノム・DGGE・DAPI分析を行い、黄砂バイオエアロゾルの採集・解析と健康影響の可能性について検討した。</p> <p>2. 研究目的</p> <p>本研究の最終的な目的は、黄砂バイオエアロゾルの長距離輸送による微生物の飛来の実相調査と病原性微生物飛来による健康被害の可能性を検討することにある。</p> <p>実相調査においては、黄砂発源地域の中国敦煌市、降下地域の日本石川県金沢市・石川県珠洲市・熊本県天草市、長距離輸送の中間地点である韓国Cheongju市において係留気球を用いた大気混合層および移行層の黄砂バイオエアロゾルを直接的に採集し、分離培養同定・メタゲノム・DGGE・DAPI・プロテオミクス分析を通じて多角的に黄砂バイオエアロゾルを分析・解析した。</p> <p>健康被害の可能性調査においては、実相調査において発見された微生物リストの中から食中毒やアレルギー性疾患などの健康被害の可能性のある菌株を抽出した。抽出結果を元に沈着地域における統計的調査を行うとともに、サンプリングした黄砂バイオエアロゾルのDNAテンプレートを用いた毒素遺伝子のハイブリダイゼーション分析から、健康被害の可能性について検討した。</p>		

### 3. 研究の方法及び結果

#### (1) 中国（敦煌）と日本（金沢）における黄砂バイオエアロゾルのサンプリングに関する研究

本サブテーマでは、黄砂発生源と黄砂降下地域の上空における黄砂バイオエアロゾルの直接採集とバイオエアロゾルサンプラーおよび係留気球などのサンプリング手法の開発を行った。

黄砂バイオエアロゾルの直接採集に関しては、黄砂発源地域である中国敦煌市において2006年8月、2007年8月、2008年10月の3回行った。黄砂降下地域においては、日本石川県金沢市で2007年3月、石川県珠洲市で2008年5月、熊本県天草市で2008年12月と計3回行った。中国の敦煌市は、タクラマカン砂漠東端に位置しており、タクラマカン砂漠の北・西・南は4,000 m級の山並みが連なり、山谷風によって舞い上がった砂塵が偏西風に乗って、この敦煌市の上空を噴出し口として流れ出し、黄砂発源地域の観測場所として適している。降下地域の日本のサンプリング地点は海岸線に近く、日本国土の影響が少なく、金沢市・珠洲市においては日本海、天草市においては東シナ海を渡ってきた黄砂を直接サンプリングできるので選定した。

黄砂バイオエアロゾルの自由対流圏におけるサンプリング手法（係留気球及びサンプラー）を現有的ものを改良することによって開発した。現在まで係留気球を用いた黄砂鉱物粒子サンプリングでは、インパクターを用いてきた。インパクターとは、慣性衝突を利用して採集する装置のことで、粒子の大きさを分けて捕集できるので粉体工学分野など広範囲で用いられている。この場合、流速がかなり速いため、捕集板に衝突する際のエネルギーにより、鉱物粒子の場合は硬いので問題はないが、生物粒子の場合は軟らかいので破壊され死滅することが日本の地上で行った予備実験でわかった。そこで、本研究ではフィルターを用いた方法を採用した。このフィルターは空気を滅菌（浮遊している生物粒子を全て捕集してガスを無菌にする）するために用いる滅菌フィルター（孔径0.2  $\mu\text{m}$ ）のものを用いた。黄砂鉱物粒子のサンプリングは、吸引時間約5分で行ってきた。黄砂バイオエアロゾルの場合、それまで全くと言っていいほど知見がなかったので、吸引時間が約2時間のサンプリングまで可能にする必要があった。そこでサンプラーに搭載している吸引ポンプ稼動用のバッテリーをアルカリ電池からリチウム電池にした。黄砂鉱物粒子のサンプリングと黄砂バイオエアロゾルのサンプリングにおいてもっとも異なるのがコンタミネーション（雑菌汚染）の防止である。サンプリング装置のセッティングから捕集、分析まで目的の高度に浮遊している生物粒子以外のものでフィルターに付着しないようにしなければならない。サンプラー内のチューブ、フィルターホルダーやメンブレンフィルターは蒸気滅菌可能なものを選択し、搭載できるようサンプラーを改良した。チューブなどはあらかじめ滅菌処理をして、サンプラーへのセッティングの際はクリーンベンチあるいは滅菌バックを用いて行った。また、サンプラーの吸引口にシャッターを設けた。目的の高度に達するまではシャッターを閉じて、バイオエアロゾルのコンタミネーションを防止する。目的の高度に達すると遠隔操作にてシャッターを開け吸引ポンプを稼動させてサンプリングを開始する。サンプリング時間の設定はサンプラー内の電子部品によってプログラミングされており、サンプリング終了とともに吸引ポンプが停止し、シャッターが閉じ、その後係留気球を降下させている際のコンタミネーションを完全に防止している。以上のような種々のサンプリング手法の改良は、試作機の実験も含め主に日本（金沢大学）における地上で行われた予備実験から創意工夫されたものである。さらに、平成20年度においては、サンプラーの軽量化・効率化のために、吸引ポンプをダイアフラム型からロータリー型に変更し、流速が14 L/minから23 L/minまで増加させることに成功した。また、フィルターユニットを変更し、低圧力損失で吸引できるようになった。さらに、バッテリーも容量を増加させ、以上3点の改良から、1時間あたり0.5  $\text{m}^3$ の捕集容量であったものを約0.8  $\text{m}^3$ まで増加することができた。係留気球の浮揚時間は、風などの種々の条件から1時間がほぼ限界であるため、この改良は黄砂バイオエアロゾルの直接採集および分析の発展に大きく寄与することができた。多角的な生物分析の精度向上のためには、複数の分析用サンプルを同時刻・同高度で採取する必要がある。係留気球のヘリウム容積増加（これまでの12  $\text{m}^3$ から18  $\text{m}^3$ ）、すなわち浮力の増加は、2個のサンプラー搭載を可能にし、生物分析の精度向上をもたらした。

#### (2) 黄砂バイオエアロゾルの分離培養・同定・分類に関する研究

2006年8月に敦煌市上空にて採集した（サブテーマ1と連携）サンプルを分離培養法によって単離し、16S rDNAあるいは18S rDNAの部分塩基配列を用いた帰属分類群の推定を実施した。その結果、中国敦煌地上700 mからは*Cladosporium* sp.と*Aspergillus* sp.、100 mからは*Rhodosporidium sphaerocarum*と*Bacillus cereus*、10 mからは*Bacillus cereus*、*Candida parapsilosis*、*Pantoea agglomerans*、*Enterobacter endosymbiont*、砂からは*Bacillus subtilis*、*Bacillus atrophaeus*、*Bacillus licheniformis*などが単離された。日本金沢上空500 mにおいては*Pycnorus* sp.、2 mにおいては*Pseudomonas* sp.、*Microbacterium* sp.、*Stenotrophomonas* sp.などが単離された。

2007年および2008年に各地にて採取したフィルターサンプル（サブテーマ1と連携）のエアロゾ

ル粒子をTrypticase-soy-broth (TS) 液体培地に懸濁させ、懸濁液を、塩分(NaCl)濃度0%, 3%, 10%及び20%のTS液体培地に接種した後、8日間培養し、微生物生長量を確認した。生長の見られた培養に含まれる細菌種を同定するため、PCR-DGGE解析を施行した。まず、培養からフェノール・クロロホルム処理を用いて抽出したゲノムDNAを鋳型として、DGGE用プライマーを用いたPCR法により16S rDNAを増幅した。このPCR増幅産物を、DNA変性剤(尿素)で濃度勾配をつけたポリアクリルアミドゲル上に電気泳動した後、ゲル上に展開したバンドパターンを確認した。バンドに含まれる核酸の塩基配列を用いて、微生物培養に含まれる細菌群の種組成を系統分類学的に解析した。敦煌市および珠洲市の上空及び地上で捕集したエアロゾル試料を、塩分(NaCl)濃度0%, 3%, 10%及び20%に変えたTS液体培地で培養したところ、いずれの塩分濃度の培地においても微生物の増殖し、生残が認められた。PCR-DGGE解析では、細菌の種数を示すバンドがゲル上に複数見られ、大気中には数種類の細菌が存在することが分かった。敦煌市で得られたバンドに含まれる遺伝子配列を解析すると、上空地上の細菌はともにグラム陽性の*Bacillus*属あるいは*Staphylococcus*属の細菌群であり、上空地上でのバイオエアロゾルが垂直に入り混じり、上空地上で同一の細菌種が生息していると判断できた。一方、塩分濃度20%の培地でも生息できる細菌の系統タイプは、*Staphylococcus*属に属した。*Staphylococcus*属は、好塩細菌種を多く含む属であり、大気中でよく検出されるため、敦煌市の大気エアロゾル中で生残していると考えられる。一方、珠洲市のバイオエアロゾル試料でも、上空と地上で細菌種組成が概ね一致し、核酸塩基配列は*Bacillus*属の*B. subtilis*グループの細菌群と近縁となった。

2007年の黄砂発生源中国敦煌市にて採取した上空の黄砂粒子のDAPI染色を行った。DAPIとは、4,6-diamidino-2-phenylindoleのことで、DNAに特異的に結合し、蛍光を発する試薬であり、染色後、落射型蛍光顕微鏡で観察したところ、黄砂粒子は、青白く見え、直径5~10  $\mu\text{m}$ 程度の粒子状であった。一方、黄砂粒子表面に青く蛍光を発する粒子も確認され、直径0.5~1  $\mu\text{m}$ 程度であった。これらは、微生物粒子であると判断でき、黄砂発生源において黄砂粒子に細菌が付着していることが明らかになった。

### (3) メタゲノム法を用いた黄砂バイオエアロゾルの生物情報学的研究

本サブテーマでは、直接ゲノム法によって、サンプリングした黄砂バイオエアロゾル(サブテーマ1と連携)の生物情報学的解析を行った。本方法はサブテーマ2と異なり、フィルターに採集されたバイオエアロゾルから、培養過程を経ずに直接DNA抽出しrDNA配列解析により、生物種を同定するものである。本方法の利点は、分離培養法では環境微生物の約1%しか分離・同定できないのに対し、DNAを直接解析するので培養できない微生物をも解析できることである。フィルターに溶菌酵素を反応させ、DNAを抽出、精製し、このDNAを鋳型として16Sおよび18S rDNAのユニバーサルプライマーを用いたPCR法により各rDNAを増幅した。このrDNAをクローニング後、DNA配列解析を行い、得られた各rDNA配列をDNAデータベースで相同性検索し、帰属分類群の推定を行った。

以上の方法により、敦煌上空には*Brevibacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Delftia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Rickenella fibula*, *Ceriporiopsis gilvescens*のDNAが黄砂エアロゾルとともに存在することが明らかとなった。

サブテーマ2の好塩細菌を除く分離培養結果と比較すると、高度800 m上空には細菌類のDNAは存在するが、分離培養・分析にはみつからなかった。分離培養の培地の種類など検討の余地は残るが、この結果は細菌類は800 m付近まで舞い上がることができるが死滅している可能性を示唆した。

### (4) 黄砂バイオエアロゾルの健康被害に関する研究

サンプリング・同定された黄砂バイオエアロゾル(サブテーマ1、2、3、5と連携)の情報学的検討を行い、黄砂バイオエアロゾルの健康被害の可能性を検討した。サブテーマ2(黄砂バイオエアロゾルの分離培養・同定)とサブテーマ3(黄砂バイオエアロゾルの生物情報学)の種々の結果から、人への健康被害影響が最も考えられる細菌として*Bacillus cereus*に注目した。*Bacillus cereus*は通性嫌気性細菌で、毒素を産生し食中毒の原因となる菌種がいる。*Bacillus cereus*(セレウス菌)による食中毒には、嘔吐型と下痢型があるが、日本におけるセレウス菌による食中毒のほとんどがセレウリド毒素による嘔吐型といわれている。黄砂バイオエアロゾルとして黄砂とともに日本に飛来して降下しているとすれば、黄砂観測に伴い嘔吐型の食中毒件数が増加していることが考えられる。そこで、黄砂観測日数と食中毒発生件数との間に疫学的に関係があるかどうか調査した。1999年から2004年までの各年について、厚生労働省が発表しているセレウス菌による食中毒発生件数と患者数および気象庁が発表している黄砂観測のべ日数を調べた。しかしながら、これらのセレウス菌による食中毒発生件数と黄砂観測のべ日数に有意な関連は認められなかった。そこで、同定された菌のセレウリド合成酵素(CRS)遺伝子に着目した。CRS遺伝子の一部を欠落しているセレウリド非産生株は、食中毒の発生と結びつかないことが知られている。そこで、同定された菌のCRS遺伝子の欠落の有無をPCR法で調べた。その結果、中国、日本でそれぞれ同定された菌のほと

んどがセレウリド非産生株であることが明らかになった。ただし、中国、日本ともに、一部でセレウリド産生株も検出されており、さらに多くの株の解析が必要である。その他、検出された微生物は、孢子・芽胞の形成能力をもつ細菌 (*Bacillus*属類、*Clostridium*属類)、カビ (*Cladosporium*属や*Aspergillus*属等)、担子菌 (*Phlebia*属等) であり、上空へ舞い上がり生存するのに孢子・芽胞の、紫外線や乾燥に耐性をもつ性質が必要とわかった。これらの細菌 (*Bacillus*属類、*Clostridium*属類) には、人への病原性を持つものが多く含まれており、今後さらに増加するサブテーマ1-3からの情報と、疑われる健康被害について検討する。また、特にカビ類は花粉症などのアレルギー症の原因になっていることが最近言われていることから、金沢におけるアレルギー症に関する疫学調査を独自に行い、その結果とサブテーマ2および3の黄砂バイオエアロゾル分析結果を比較検討することが必要である。

#### (5) 黄砂バイオエアロゾル長距離輸送の中間地点 (韓国) におけるサンプリング・同定に関する研究

2008年11月に黄砂長距離輸送の中間地点として韓国Cheongju市のChungbuk国立大学屋上にて、サブテーマ1で開発したバイオエアロゾルサンプラーを用いて黄砂バイオエアロゾルの採集を行った。このサンプルはサブテーマ2 (分離培養同定・DGGE・DAPI分析) やサブテーマ3 (メタゲノム分析) に試料提供し、本サブテーマにおいてはプロテオミクス分析を試みた。

プロテオミクス分析の初発段階として、黄砂中の微生物を採取 (中国敦煌市、韓国Cheongju市、日本天草市) ・分離培養し、ゲルベースプロテオーム分析システム・液体ベースタンパク分画二次元電気泳動・質量分析法を用いた同定を行った。通常のプロテオーム研究の目的は、存在している微生物群の類型を解析することであり、特定の微生物について分析することではない。有毒な細菌やウイルスの早期検出のために、タンパク分画システムを基礎とした高スループットプロテオミクスと質量分析法を検討した。微生物コミュニティから発現した混合タンパク分析 (メタプロテオーム) によって、生態系の微生物組成の機能性に関する種々の知見を得たが、特定の有毒な細菌やウイルスに関しては得られなかった。本研究のプロテオミクス分析手法の黄砂バイオエアロゾル研究への応用は、黄砂エアロゾル中の微生物を理解するための環境エアロゾル研究の発展に寄与するであろう。

#### 4. 考察

図1は、黄砂発生源地域である敦煌の上空 (地上700 m、海拔1,900 m) でサブテーマ1の係留気球とバイオエアロゾルサンプラーを用いて採取した黄砂をDAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) 染色したときの蛍光顕微鏡写真を示す。DAPIとは、微生物などのDNAに特異的に結合し、蛍光を発する試薬のことであり、蛍光点があれば微生物などのDNAが存在した証拠となりうる。図1のバックグラウンドには薄く大きな影が見えるが、これが黄砂粒子であり、蛍光している領域がDNAといえる。この結果より、DNAが黄砂粒子に付着して、海拔1,900 mまで舞い上がっていることがわかった。今まで黄砂とともにバイオエアロゾルが浮遊しているのではないかとはいわれていたものの、いまだかつて誰もその証拠を提示しておらず、この研究成果が世界でも初めてといえる。サブテーマ1による地上付近の雑菌汚染を防止したバイオエアロゾルサンプラーの開発と係留気球を用いた上空の直接サンプリングとサブテーマ2および3のバイオエアロゾル分析の共同作業の成果であり、本研究組織でなければこの成果は得られなかったといっている。この結果から、黄砂粒子に微生物が付着していることを確信でき、分離培養・同定、DGGE、直接ゲノム (メタゲノム) 解析を行うに至った。

表1は、本研究で見つかった黄砂バイオエアロゾルの抜粋を示す。サブテーマ1で開発した係留気球とバイオエアロゾルサンプラーを用いて、敦煌および金沢・珠洲の上空で同定された菌株である。現在、天草上空や韓国Chounjuでサンプリングした菌も含めて、分析・解析は引き続き行っており、今後も同定された菌株数は増加すると考えられる。

直接ゲノム (メタゲノム) 解析によって見つかった菌株の中で、*Delftia* sp.、*Pseudomonas* sp.、*Agrobacterium tumefaciens*などは、グラム陰性菌であり、これらの菌株は、分離培養・同定では単離されなかった。黄砂供給源であるタクラマカン砂漠の砂からも単離されず、発生源である敦煌市の地上10 m (屋上) から単離され、地上100 mでは単離されたものの急激に減少している。これらの結果は、グラム陰性菌は砂漠の砂にはあまり存在せず、地上にいるヒトや動物から浮遊している砂塵などに付着し、舞い上がるが、地上100 m以上においては紫外線強度、さらなる乾燥や温度の低下により死滅することがわかった。グラム陰性菌にはリポポリサッカライド (LPS) を多く含み、このLPSはアレルギー症状に関して影響を及ぼすことから、微生物としては死滅していても、黄砂

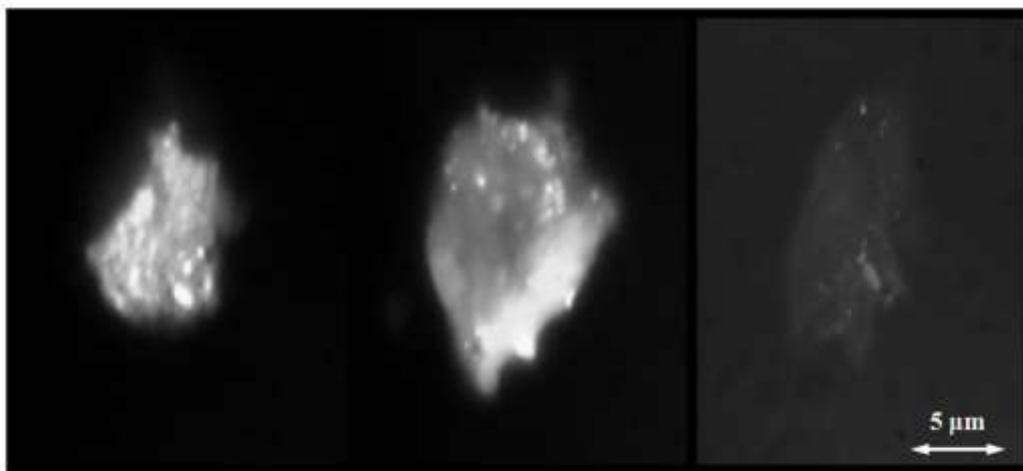
とともにヒトの体内に入り込むことによって何らかの健康影響を及ぼしている可能性が考えられる。また、直接ゲノム（メタゲノム）解析結果から、現在、微生物学の分野で注目されている「培養できない微生物（nonculturable/unculturable microorganism）」がみつかった。培養できない微生物とは、生きているが培養できない微生物、休眠状態、およびいまだ培養されたことのない微生物のことであり、慢性病または病原菌が見つからない病気、土壌・地下環境、深海、さらに水界系からみつまっているが、大気からみつかったという報告はほとんどない。この微生物に関しては、形態学、生理学、遺伝学、および生態学の種々の学問分野に波及し、慢性病などの医学の分野までおよんでおり、今後の種々の分野からの研究に期待される。

生きている微生物として考えられる分離培養・同定分析で黄砂発生源である敦煌上空でみつかった *Rhodospiridium sphaerocarum* は食物腐敗菌、*Bacillus cereus*（DGGE解析の金沢上空でも見つかった）の一種は食中毒原因菌、*Aspergillus* sp. の一種はアスペルギルス症の原因菌でありまたその一種は植物病原菌、*Bacillus pumilus* は植物病原菌とも言われており、種々のヒトの健康や植物すなわち農林業や生態系に影響を及ぼす可能性のある菌株がみつまっている。

分析方法は異なるが、黄砂発源地域である敦煌上空と降下地域である金沢・珠洲上空でみつかった *Bacillus cereus* の一種は食中毒原因菌であり、黄砂とともに長距離輸送している可能性が高いが、サブテーマ4「黄砂バイオエアロゾルの健康被害に関する研究」の実験結果から、春先に多くみられる食中毒にはほとんど関係がないことがわかった。

表1には挙げなかったがDGGE分析からみつかった細菌の核酸塩基配列は、植物および人に対する病原細菌として知られる *Bacillus pumilus* と100%の相同性を示した。また、*B. pumilus* は、西アフリカおよびカリブ海のバイオエアロゾルからも検出されており（D. W. Griffin, et al., *Aerobiologia*, 19, 143- 157（2003）、アフリカで発生する砂塵嵐によって移送される証拠が集まりつつある。従って、*B. pumilus* は、大気の移送によって世界中に分布しているコスモポリタンな細菌群であり、黄砂によって長距離輸送され、生物生態系及び人の健康へ影響を与えている可能性がある。また、黄砂発源地域である敦煌上空でみつかった *Aspergillus* は、韓国や台湾における黄砂イベント時の地上サンプルにもみつかっており（H.-G. Yeo and J.-H. Kim, *Atmospheric Environment*, 36, 5437-5442（2002）；P.-C. Wu, et al., *Atmospheric Environment* 38, 4879- 4886（2004）、黄砂とともに長距離輸送してきている可能性が高い。

### 2007年敦煌(地上700 m: 海拔1900 m)



DAPI染色した黄砂粒子の付着微生物の落射型蛍光顕微鏡写真  
DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) : DNAに特異的に結合し、蛍光を発する試薬

T.Maki, F.Kobayashi, M.Kakikawa, T.Higashi, et al.: Air Quality, Atmosphere and Health, DOI 10.1007/s11869-008-0016-9 (2008)

図1 黄砂発源地域である中国敦煌上空で採取した黄砂のDAPI染色写真

表1 本研究でみつかった黄砂バイオエアロゾル(抜粋)

## 1. 分離培養・同定:サブテーマ2

*Rhodosporidium sphaerocarpum* (敦煌: 1300 m)  
*Bacillus cereus* (敦煌: 1300 m)  
*Cladosporium* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Aspergillus* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Bacillus pumilus* (敦煌: 1900 m)  
*Pycnoporus* sp. (金沢・珠洲: 620 m)

## 2. DGGE分析:サブテーマ2

*Gracilibacillus* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Staphylococcus* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Amycolatopsis* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Kocuria* sp.(敦煌: 1900 m)  
*Aquatic bacterium*(金沢・珠洲: 720 m)  
*Nocardioides* sp. (金沢・珠洲: 720 m)  
*Bacillus cereus* (金沢・珠洲: 720 m)

## 3. 直接ゲノム(メタゲノム)解析:サブテーマ3

*Rickenella fibula* (敦煌: 2000 m)  
*Ceriporopsis gilvescens* (敦煌: 2000 m)  
*Brevibacillus* sp. (敦煌: 2000 m)  
*Staphylococcus* sp.(Uncultured) (敦煌: 2000 m)  
*Rhodococcus* sp. (敦煌: 2000 m)  
*Delftia* sp. (敦煌: 2000 m)  
*Pseudomonas* sp.(Uncultured) (敦煌: 2000 m)  
*Agrobacterium tumefaciens* (敦煌: 2000 m)  
*Pseudomonas* sp. (敦煌: 2000 m)

黄砂バイオエアロゾルとして上空でみつかった菌株の多くが、孢子・芽胞を形成する能力をもつ *Bacillus*属細菌、カビや担子菌などの菌株であり、微生物が舞い上がり長距離輸送するためにはこの孢子・芽胞が大きく関わっていることが考えられる。黄砂バイオエアロゾルの舞い上がりと沈着を含めた長距離輸送プロセスのメカニズム解明が今後の研究の焦点となるであろう。

## 5. 本研究により得られた成果

## (1) 科学的意義

本研究の成果から、黄砂と挙動をともしする「黄砂バイオエアロゾル」が初めて確認された。黄砂発源地域である中国敦煌市上空でサンプリングされた黄砂粒子のDAPI染色による分析の結果、黄砂粒子に生物DNAが付着して上昇していることが明らかになった。さらに、黄砂発生源と降下地域において上空で採集した黄砂バイオエアロゾルの分離培養・メタゲノム・DGGEの分析結果から種々の微生物が浮遊していることがわかった。これらの菌株には、ヒトの健康に関与する可能性のある菌種も見つかり、健康被害の可能性を示唆することとなった。これらの成果は学術的評価も高く、学術論文誌上(成果発表状況参照)ばかりでなく、Asian Aerosol Conference、International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology、International Workshop on Sand/Duststorms and Associate Dustfall、AsiaOceania Geosciences Society、International Aerosol Symposium、International Global Atmospheric Chemistry International Conferenceなどの国際学会にて発表し、国際的にも好評を得ている。

特に、本研究の初発段階の結果をまとめた論文は、2008年度日本エアロゾル論文賞を受賞し(7. 成果発表状況(1)黄砂発源地におけるバイオエアロゾル拡散に関する研究: 図2参照)、学術的分野においても注目されている研究と言えらるとともに、黄砂バイオエアロゾル研究を学術的にも啓発することとなった。

## (2) 地球環境政策への貢献

現在の黄砂に関する環境政策では、黄砂鉱物粒子が及ぼす健康影響を考慮するのみであったが、本研究の成果から黄砂バイオエアロゾルの存在が明らかになり、そのバイオエアロゾルの中に健康影響を及ぼす可能性のある菌株、さらには農林水産業を始めとする産業に影響を及ぼす菌株が見つかったことから、新たなアプローチでの黄砂に関する環境政策や黄砂予報の必要性を訴えることとなった。社会的にも黄砂バイオエアロゾルの発見は注目される結果となり、以下に示すような種々のメディアによる報道から、本研究の黄砂バイオエアロゾルの研究成果を広報・普及することとなった。

- ・朝日新聞：2008年6月20日朝刊全国版一面および6月30日科学欄「黄砂はカビ・細菌の箱船」(図3参照)
- ・週刊文春(文藝春秋社)：2009年3月12日号p.46-49「黄砂アレルギー急増中」(図4参照)
- ・テレビ朝日：報道ステーション資料提供(2009年3月17日放映)
- ・フジテレビ：サキヨミLive(2009年4月19日放映)
- ・NHK教育：サイエンスゼロ(2009年5月30日放映)
- ・NHK：ニュース石川版(2008年5月7日放映)
- ・北陸朝日：ニュース石川版(2008年5月7日放映)
- ・熊本日日新聞：2009年4月25日朝刊社会面
- ・北國新聞：2008年5月8日石川版
- ・北陸中日新聞：2008年5月8日石川版
- ・朝日新聞：2008年5月8日石川版
- ・読売新聞：2008年5月8日石川版
- ・北陸中日新聞：2009年4月29日石川版

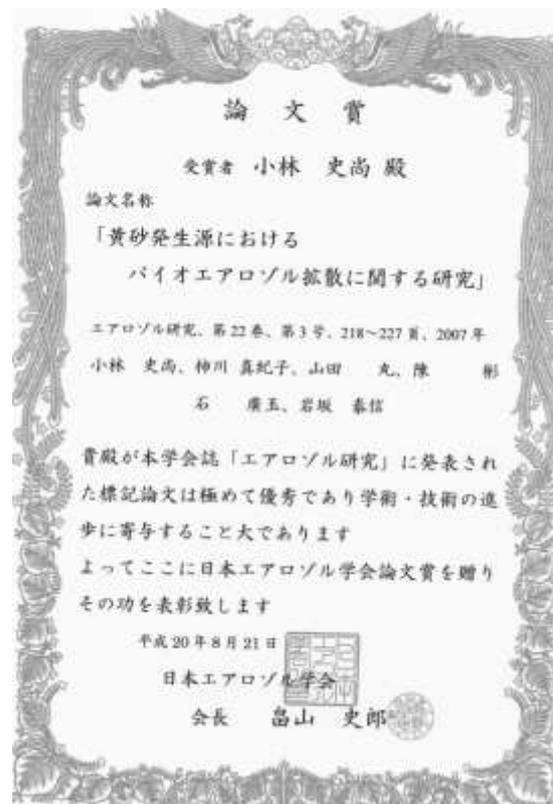


図2 論文賞受賞論文表紙(左)と賞状(右)



図3 朝日新聞記事(2008年6月20日朝刊)

# 花粉症より被害甚大 「黄砂アレルギー」

## 「喘息、内臓疾患」 急増中

専門家が警告する

推名 玲 吉中 由紀

日本でも広がる黄砂飛来地域

河は眠らない 間高健

付着物から大腸菌まで検出

日本でも広がる黄砂飛来地域

花粉症が本格化するシーズンが到来した。鼻水、くしゃみ、目のかゆみ、だが、それは単にアレルギー反応によるものではない。黄砂の飛来によるアレルギー反応は、喘息、内臓疾患、皮膚炎など、花粉症よりも被害甚大である。専門家が警告する「黄砂アレルギー」の急増が、日本でも広がる黄砂飛来地域に注目を集めている。

黄砂は、乾燥した土壌から巻き上げられた微細な粒子で、主に中国やモンゴルから日本列島に飛来する。黄砂の飛来は、花粉症と同様にアレルギー反応を引き起こす。しかし、黄砂には花粉よりも小さな粒子が含まれており、呼吸器だけでなく、皮膚や目にも被害を与える。また、黄砂には細菌やウイルスが付着していることがあり、付着物から大腸菌まで検出されている。黄砂の飛来によるアレルギー反応は、喘息、内臓疾患、皮膚炎など、花粉症よりも被害甚大である。専門家が警告する「黄砂アレルギー」の急増が、日本でも広がる黄砂飛来地域に注目を集めている。

# 大韓民国の物語

## 韓国の「国史」教科書を書き換えよ

李榮薫 永島広紀「訳」

韓国では「死亡率」が増加

でもいまだ未明

気管支喘息、肺炎などを発症

韓国国内で独裁を受けたベストセラーついに翻訳

親北朝鮮、反日の韓国の歴史はまちがっている。

文藝春秋

2009.3.12

2009.3.12

大韓民国の物語は、韓国の歴史を詳しく紹介する。韓国国内で独裁を受けたベストセラーついに翻訳。親北朝鮮、反日の韓国の歴史はまちがっている。文藝春秋

図4 週刊文春記事（2009年3月12日号）

## 6. 研究者略歴

課題代表者：小林史尚

1968年生まれ、金沢大学工学部卒業、博士（工学）、現在、金沢大学理工研究域自然システム学系准教授

主要参画研究者

(1) : 小林史尚 (同上)

(2) : 牧 輝弥

1973生まれ、京都大学農学部卒業、博士（農学）、現在、金沢大学理工研究域物質化学系准教授

(3) : 柿川真紀子

1972生まれ、富山大学工学部卒業、博士（工学）、現在、金沢大学環日本海域環境研究センター助教

(4) : 東 朋美

1973生まれ、金沢大学薬学部卒業、博士（医学）、現在、金沢大学医薬保健学域医学系助教

(5) : Kim Yang-Hoon

1974年生まれ、Chosun University卒業、Ph. Doctor、現在、Chungbuk National University Associate Professor

## 7. 成果発表状況（本研究課題に係る論文発表状況。）

## (1) 査読付き論文

- 1) 小林史尚, 柿川真紀子, 山田丸, 陳彬, 石廣玉, 岩坂泰信: エアロゾル研究, 22, 218-227 (2007)  
“黄砂発生源におけるバイオエアロゾル拡散に関する研究” : 2008年度日本エアロゾル学会論文賞受賞
- 2) N.-P. Hua, F. Kobayashi, Y. Iwasaka, G.-Y. Shi, T. Naganuma: *Aerobiologia*, 23, 291-298 (2007)  
“Detailed identification of desert-originated bacteria carried by Asian dust storms to Japan”
- 3) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, C. Hong, Y. Toubou, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka: *Journal of Ecotechnology Research*, 13, 309-313 (2008)  
“Ecophysiological analysis of halobacteria in bioaerosol”
- 4) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G.-Y. Shi, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : *Air Quality Atmosphere and Health*, 1, 81-89 (2008)  
“Phylogenetic diversity and vertical distribution of a halobacterial community in the atmosphere of an Asian dust (KOSA) source region, Dunhuang City”
- 5) M. Kakikawa, F. Kobayashi, T. Maki, M. Yamada, T. Higashi, B. Chen, G. Shi, C. Hong, Y. Tobo, Y. Iwasaka : *Air Quality Atmosphere and Health*, 1, 195-202 (2008)  
“Dustborne microorganisms in the atmosphere over Asian dust source region, Dunhuang”
- 6) Y. Iwasaka, G. Shi, M. Yamada, F. Kobayashi, M. Kakikawa, T. Maki, T. Naganuma, B. Chen, Y. Tobo, C. Hong : *Air Quality Atmosphere and Health*, 2, 29-38 (2009)  
“Mixture of Kosa (Asian Dust) and bioaerosols detected in the atmosphere over the Kosa particles source regions with Balloon-borne measurements: Possibility of long-range transport”
- 7) T. Maki, S. Susuki, F. Kobayashi, M. Kakikawa, M. Yamada, T. Higashi, A. Matsuki, C. Hong, Y. Tobo, H. Hasegawa, K. Ueda, Y. Iwasaka : *Journal of Ecotechnology Research*  
“Phylogenetic diversity and vertical distribution of a halobacterial community in the atmosphere of an Asian dust (KOSA) arrival region, Suzu City” (in press)