

福井県衛生環境研究センターにおける花粉飛散数調査方法の詳細

高岡大・花粉情報提供システム推進チーム

Details of Survey Method of Pollen Scattering Number in Fukui Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

Dai TAKAOKA, Pollen Reporting System Promotion Team

1. はじめに

スギ花粉による花粉症が学会で初めて報告されてから半世紀以上が経過し、当時の厚生省や環境庁をはじめとして、国を挙げて対策が講じられてきた。しかしながら、現在でも花粉症の有病者数は多く、2008年時点の福井県におけるスギ花粉症有病率は21.6%（全国平均26.5%）と報告^{1,2)}されている。また、全国の花粉症に係る医療費は年間で数千億円にものぼるともいわれており、金銭面でも社会的損失は大きく、当センターが花粉情報を発信し、県民の花粉症に関する意識を啓発する意義は大きい。

当センターでは、2007年から飛散シーズン中にスギおよびヒノキ花粉を測定し、その結果をホームページに掲載して情報提供を行ってきた。測定に当たっては、職員6名からなる花粉情報提供システム推進チームで対応してきたが、測定者間の誤差および異動等による人員交代の影響を極力小さくすることを目的として、当センターの測定手法の詳細を本報にまとめるものである。また、他分析機関の参考となれば幸いである。

2. 手法および使用機材類

2. 1 花粉採取法

2. 1. 1 代表的な採取法（捕集器）の紹介

(1) ダーラム型

1946年にアメリカのダーラム (Durham) が考案したもので、国際的にも標準装置として広く用いられており、当センターの採取法もこれに当たる（図1）。基本原理は、空气中に漂う花粉に対して動的干渉をせず、スライドガラス上に自然落下した浮遊粒子を採取するものである。

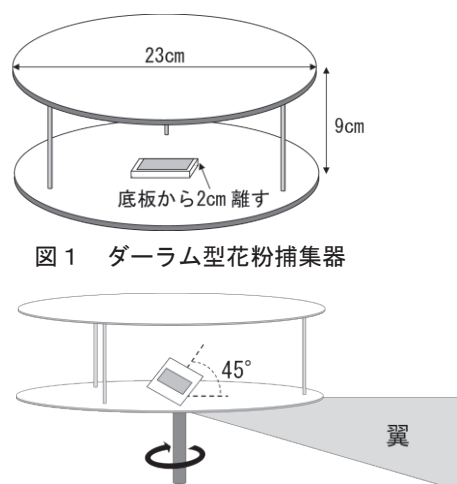


図1 ダーラム型花粉捕集器

図2 IS式ロータリー型花粉捕集器

(2) IS式ロータリー型

ダーラム型の捕集効率を向上させた改良型で、底板に円周方向への可変機構と翼を加えることで、風上に対して常に同一の角度を保持することができる。また、スライドガラスを保持する台座にも45°の傾斜が設けられ、水平方向の気流に対する投影面積が大きくなっている。

(3) バーカード型

IS式ロータリー型と同様に翼を持ち、風向に合わせて回転するが、空気の取り込み方式と捕集媒体が大きく異なる。前述の2手法は捕集媒体を自然空气中に晒していたのに対し、バーカード型はポンプで一定量を連続的に吸引し、粘着テープで捕集する方式である。

また、粘着テープは2mm/時ずつ回転するドラムに巻かれており、連続して複数日の測定が可能であることも特徴として挙げられる。

(4) 自動測定器（KH3000（株大和製作所））

ポンプによる吸引機構を持ち、捕集だけでなく花粉飛散量の計数も行うことができる（図3）。環境省の花粉観測システム「はなこさん³⁾」では当該機器を採用しており、全国各地に設置して飛散量データを収集している。

チューブ状の吸入口は、ダーラム型と同様の2枚の円板に挟まれたスペース（サイズはダーラム型とやや異なる）に突き出る形となっており、雨や雪の流入は防がれている。また、計数を行う機構は光学式で、半導体レーザーを光源とした光散乱により28~35μmの球形粒子を検知することができる。ただし、スギとヒノキの判別ができない点と、大きさが一致すれば花粉以外の球形粒子もカウントされてしまう点に注意が必要である。

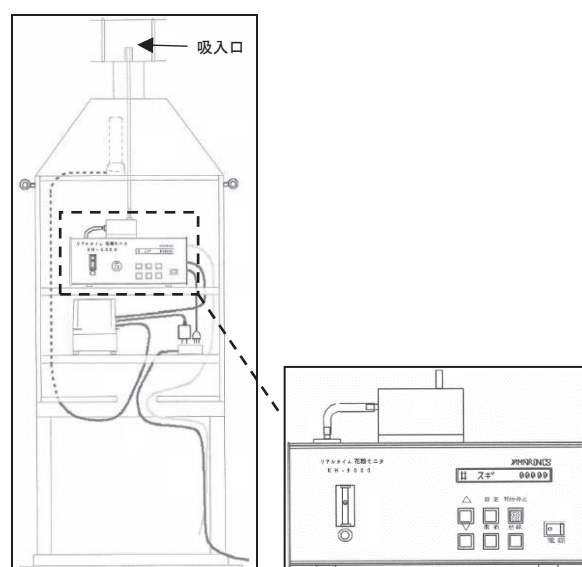


図3 自動測定器 KH3000（左：全体図 右：装置本体）
（花粉モニタ現地作業マニュアル⁴⁾より引用）

2. 1. 2 採取場所

所在地：福井県福井市原目町 39-4

設置場所：福井県衛生環境研究センター 屋上

2. 1. 3 測定期間および時間

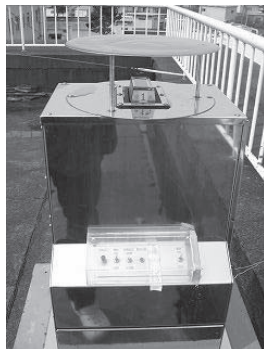
測定期間：1月下旬頃～飛散終了まで

測定時間：24時間（午前9時～翌日の午前9時まで）

2. 1. 4 使用機材および試薬類

（1）採取工程

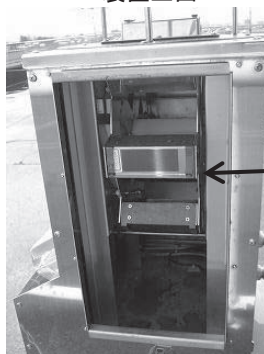
- ・花粉キャッチャー（株式会社 咲電機製作所）（図4）
- ・スライドガラス（松浪硝子工業株式会社）
Size：26×76mm Thickness：1.0～1.2mm 格子線
- ・ワセリン（富士フィルム和光純薬株式会社）白色，高純度品
- ・スライドガラスケース



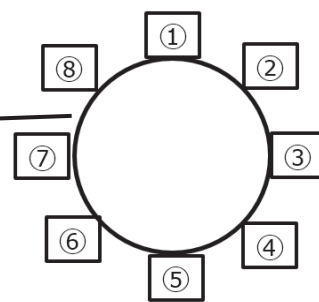
装置正面



操作スイッチ



装置側面



装置内の観覧車状ホルダー

図4 花粉キャッチャー

（2）染色工程

- ・染色ゼラチン（調製方法等の詳細は後述する。）
- ・カバーガラス（武藤化学株式会社）

Size：18×18mm Thickness：0.12～0.17mm

- ・アルコールランプ
- ・スパーテル
- ・ピンセット

（3）計数工程

- ・光学顕微鏡 OLYMPUS BX41（オリンパス光学工業株式会社）
- ・手動カウンター

（4）染色ゼラチンの調製

- ・0.1%ゲシチアナバイオレット R エタノール溶液（富士フィルム和光純薬株式会社）
- ・25%グルタルアルデヒド（同上）
- ・グリセリン（同上）
- ・フェノール（同上）
- ・300ml コニカルビーカー
- ・プラスチックシャーレ

3. 実施詳細

3. 1 採取工程

3. 1. 1 スライドガラスの準備

- ・スライドガラスの格子線を目安として表裏を判別する。
なお、格子線が引かれている側が表である。
- ・スライドガラス表面にラベルを貼り、日付を記入する。
- ・スライドガラス表面の格子部全面に指で摩擦感がなくなるまでワセリンを均一に塗布する。ワセリン量は多すぎると顕微鏡観察時の視認性が悪くなり、逆に少なすぎると一度吸着した花粉が再飛散（脱離）しやすくなるため、適量となるようにする。
- ・スライドガラスを専用ケースに入れて運搬する。

3. 1. 2 捕集器の準備

[初日のみ]

- ・「電源スイッチ」を「ON」にし、「時間設定」を「24時間」にする。
- ・続く作業工程は以下のとおり。

[前日および翌日が平日の場合]

- ・午前9時に捕集済みのスライドガラスを回収し、新たなスライドガラスを設置する。

[前日が休日の場合]

- ・午前9時に「開始スイッチ」を「OFF」にする。
- ・「手動送りボタン」を押し、側面の開放部から捕集済みのスライドガラスを回収する。
- ・「電源スイッチ」を「OFF」にする。
- ・トップ位置になっているホルダーに新たなスライドガラスを設置する。

[翌日が休日の場合]

- ・「電源スイッチ」を「OFF」の状態にしてバッテリーを交換し、「電源スイッチ」を「ON」にする。
- ・午前9時に捕集済みのスライドガラスを回収する。
- ・側面の開放部から新たなスライドガラスを日付順になるようにホルダーに設置する。
- ・「手動送りボタン」を押し、当日の日付のスライドガラスをトップにする。
- ・「開始スイッチ」を「ON」にする。

3. 2 計数工程

3. 2. 1 花粉の染色

- ・染色ゼラチン適量（約7mm×7mm）をスパーテルで切り取り、カバーガラスの格子上に載せる。なお、載せる位置は、失敗した時のことを考えていずれかのサイドに寄せるとよい（図5）。

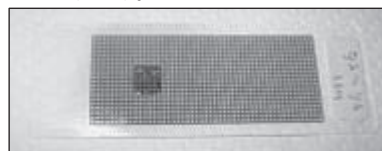


図5 染色ゼラチンの設置例

- ・一方の手にスライドガラスを持ち、他方の手でピンセットを使ってカバーガラスを摘まむ。
- ・アルコールランプの火で左右に動かしながらゆっくりと炙って染色ゼラチンを溶かす。この時、一気に温めると気泡が生じてしまうため注意する。
- ・固まった部分がなくなるまでゼラチンが溶けたら、カバーガラスを被せる。この時、検鏡した時に計数しやすいように、カバーガラスの一边と格子線を平行にセットするとよい。

- ・染色液がカバーガラスの内側全体に広がったことを確認し、およそ1時間静置する。

3. 2. 2 花粉の計数

- ・光学顕微鏡のステージにスライドガラスを設置し、対物レンズの倍率を10倍に合わせる（接眼レンズ10倍）。
- ・最初に視野をカバーガラスの角に合わせ、横に動かしながら計数する。端に着いたら格子2列分縦に移動し、反対端に向かって再度横に動かしながら計数する。なお、顕微鏡視野は格子約2.5列分あるが、視野端を基準として折り返すと、200倍拡大をした際などに計数ミスの原因となりやすいため、格子を基準とした方がよい。
- ・計数対象は、スギ花粉およびヒノキ花粉とする。なお、雨天時には水を吸い込み破裂しているケースがあるが、この場合は計数から除外する（図6）。

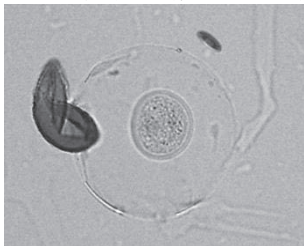


図6 破裂した花粉

- ・カバーガラス全面（18×18mm）の計数が完了したら、記入表に結果を記録する。
- ・ホームページ等でデータを公開する場合は、1cm²あたりに換算し、「多い」「少ない」などの指標は、（公財）日本アレルギー協会花粉情報標準化委員会が示す基準⁵⁾に従う。

3. 2. 3 花粉の種類の見分け方

[スギ花粉]

- ・球形、直径30μm前後
- ・パピラと呼ばれる鉤状の突出部がある。
- ・パピラが正面側に向いている場合は、一見するとヒノキ花粉のように見えるが、ピントを変えると判別できる。
- ・内容物がパピラ側に片寄って見える傾向にある。
- ・飛散期間は2月中旬～4月下旬、ピークは3月上旬～中旬

[ヒノキ花粉]

- ・球形、直径20～30μmでスギより小さい。
- ・内容物が中央に放射状（星型）に見える傾向がある。
- ・スギ花粉よりもやや薄く染まる。
- ・飛散期間は3月中旬～5月上旬、ピークは4月上旬

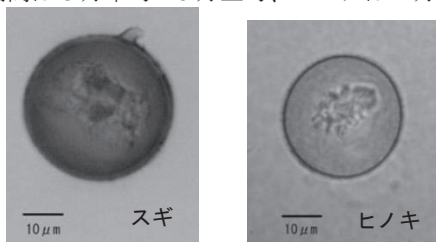


図7 スギ花粉およびヒノキ花粉の顕微鏡写真

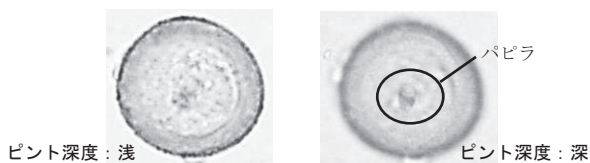


図8 パピラが正面向きのスギ花粉の顕微鏡写真

3. 3 染色ゼラチンの調製

- ・300ml コニカルビーカーに各試薬を次の用量で投入する。

試薬名	用量
0.1%ゲシチアナバイオレット R エタノール溶液	2～4ml
20%グルタルアルデヒド	10g
グリセリン	10g
フェノール	0.5g
蒸留水	35ml

- ・温浴で混合しながら完全に溶かす。
- ・シャーレ1枚につき10ml程度ずつ分注し、冷蔵庫で冷やして固める。

4. 測定結果

参考として、直近の測定期間（2019.1.28～4.30）の結果を示す。なお、本報の目的は測定手法の詳細をまとめることであるため、結果に対する考察は続報において述べる。

4. 1 飛散の概要

スギ花粉とヒノキ花粉の飛散の概要を次の表に示す。

表1 スギ花粉とヒノキ花粉の飛散の概要

	スギ花粉	ヒノキ花粉
飛散開始日	2/20	4/5
飛散終了日	4/16	4/30
1日最大飛散数 (日付) 個/cm ²	962.0 (3/9)	8.3 (4/5)
飛散総数	7344.2	56.9

4. 2 飛散数の経日変化

スギ花粉およびヒノキ花粉の飛散数の経日変化を次の図に示す。

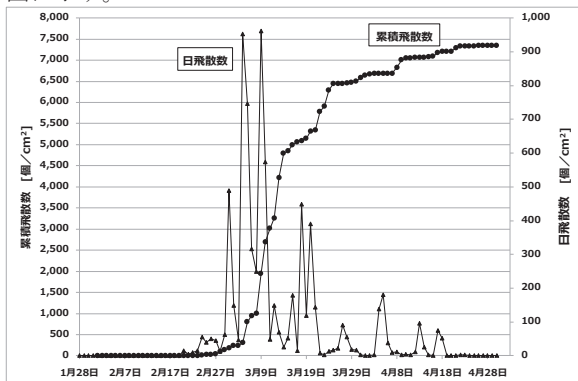


図9 スギ花粉飛散数の経日変化（2019.1.28～4.30）

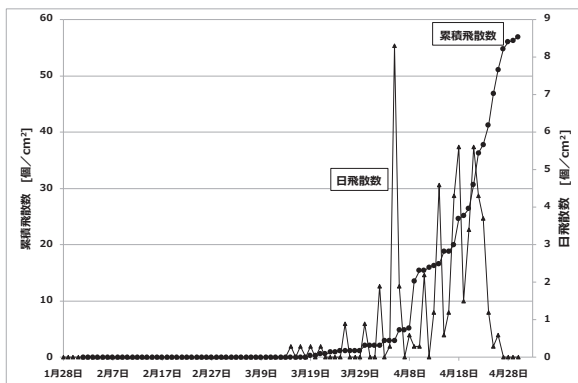


図10 ヒノキ花粉飛散数の経日変化（2019.1.28～4.30）

5. まとめ

本報では、福井県衛生環境研究センターのスギおよびヒノキ花粉飛散数の調査手法の詳細をまとめるとともに、2019年シーズンの花粉飛散状況を報告した。

参考文献

- 1) 馬場廣太郎：鼻アレルギーの全国疫学, PROGRESS IN MEDICINE, **28**, 2001-2012(2008)
- 2) 村山貢司：スギ花粉症有病率の地域差について, アレルギー, **59 (1)**, 47-54(2010)
- 3) 環境省：環境省花粉測定システム（はなこさん）, <http://kafun.taiki.go.jp/>
- 4) 一般財団法人日本気象協会/㈱大和製作所/環境省：花粉モニタ（KH-3000）現地作業マニュアル(2015)
- 5) 公益財団法人日本アレルギー協会：標準化委員会の合意事項(1994)