

表.1.1. 抗酸菌の居住環境中材料からの検出

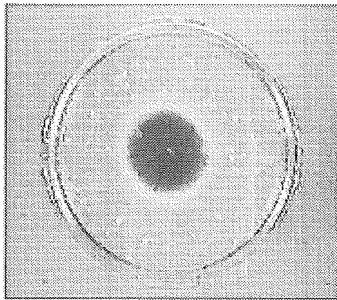
Locality	Place	Biological material collected	No. of samples		Identification by 16S rRNA
			Examined	Positive	
Floor	Bathroom	Floor scraping	10	5	<i>M.gordonae</i> (2), <i>M.fortuitum</i> , <i>M.abcessus</i> , <i>M.neoaerum</i>
Outfall	Bathroom	Shower biofilm	10	6	<i>M.mucogenicum</i> , <i>M.gordonae</i> (2), <i>M.mageritense</i> , <i>M.neoaerum</i> , Mycobacteria spp..
Extractor fan	Bathroom	Dust from fan	10	3	<i>M.neoaerum</i> (2), <i>M.gordonae</i>
Outfall	Kitchen	Washing biofilm	10	5	<i>M.mucogenicum</i> , <i>M.vaccae</i> , Mycobacteria spp. <i>M.obuense</i> , <i>M.gordonae</i>
Outfall	Washbowl	biofilm	10	4	<i>M.mucogenicum</i> , <i>M.gordonae</i> , Mycobacteria spp(2).
Air conditioner	Living room	Dust from air conditioner	10	1	<i>M.gordonae</i>
Dust of sweeper	Whole house	Dust from vacuum cleaner 1 month old	10	0	
Air	Living room	Floating bacteria	10	0*	
Total(%)			80(100%)	24(30%)	

図. 1. ミリポア・エアー・テスターを用いた空中浮遊菌の採取

A)

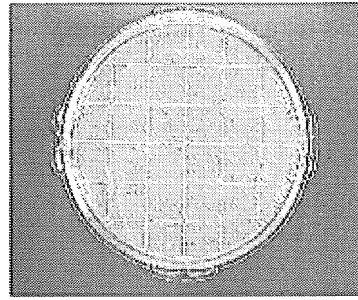


B)



居間

C)



風呂場

ミリポア・エアー・テスター(A)、1000L中の浮遊菌を37℃フラン器に2晩置き、居間空气中より分取されたコロニー(B)および浴室空气中より分取されたコロニー(C)から各数コロニー取り、チール・ネルゼン染色後16S rRNAによる塩基配列から菌種を同定した。

厚生労働科学研究費補助金（健康総合科学研究事業）
分担研究報告書

ダニアレルギー患者の居住環境等の背景因子に関する検討

分担研究者 秋山一男（国立相模原病院臨床研究センター センター長）

研究要旨

わが国は世界の中でも有数のダニ汚染地域で、ダニがわが国におけるアトピー型気管支喘息の最大の原因アレルゲンである。ダニによる汚染の実態を明らかにするための室内環境調査に有用な簡易モニタリング手法を開発した。医療用粘着テープで寝具表面、皮膚表面から試料を採取する方法（テープ法）は、サンプリングが簡便であるのみならず、その測定値は室内空気中アレルゲン濃度と有意に相関して、曝露の指標として有用である可能性が示された。さらに、室内ダニアレルゲン量のモニタリング、室内温湿度の測定、住宅構造と生活様式に関するアンケート調査を実施して、それらのデータの解析から、ダニの増殖に関わる主要な室内環境要因の解明を試みた。

研究協力者

安枝浩、齋藤明美、轡田和子、西岡謙二（国立相模原病院臨床研究センター）

A. 研究目的

わが国は世界の中でも有数のヒョウヒダニ（以下ダニ）汚染地域である。ダニによる室内環境の汚染の実態を明らかにするためには、大規模な疫学的調査を実施する必要がある。室内環境がダニのアレルゲンにどれだけ汚染されているのかの評価は、室内の床や寝具から室内塵試料を集めて、その中の菌数やアレルゲン量を測定するというのが一般的である。しかし、この方法では家庭内に掃除機を持ち込んで室内塵を採取する必要がある。より簡単に試料を採取できる方法の開発を目的として、医療用粘着テープを寝具表面、あるいはヒトの皮膚表面に貼付してアレルゲン測定用の試料を採取する方法、すなわちテープ法について検討した。さらに、テープ法による寝具表面、就寝者皮膚表面のダニアレルゲン量と、寝室内空気中の1日平均ダニアレルゲン濃度を測定して、テープ法での測定値が、曝露の指標として有用であるかどうかについて検討した。

ダニによる室内環境汚染の低減化を図るためには、室内におけるヒョウヒダニの増殖に関わる、あるいは増殖の抑制に関わる主要な要因を明らかにする必要がある。どのような要因がダニの増殖に最も大きく影響を及ぼすのかを解明することを

目的として、ボランティアの家庭を対象にして、ダニアレルゲンによる汚染のレベル、室内温湿度の継続的な測定、住宅構造、生活様式に関するアンケート調査を実施した。

B. 方法

大きさ 6 x 7 cm のテープ（テガダームトランスペアレントドレッシング 1625WJ, 3M）を敷きフタンの上面に3枚、あるいは左右の肘窩に各1枚を貼付して試料を採取した。テープによる試料の採取後、敷きフタから2分間かけてハンドクリーナー（ナショナル HC-V11, 松下電器）で専用の小型紙パック（PHC-PA2）に塵を採取した。また、空気試料は、被験者の寝室において、2.5 L/min の流速で直径 2.5 cm のガラス繊維濾紙上に 24 時間吸引捕集した。

寝具表面、皮膚表面から試料を採取したテープ、および空気試料を採取したガラス繊維濾紙は、2 ml の ELISA 用緩衝液にて室温、4 時間抽出し、抽出液中のヤケヒョウヒダニ由来の Der p 1 とコナヒョウヒダニ由来の Der f 1 をそれぞれ高感度蛍光 ELISA で測定した。Der p 1 と Der f 1 の合計量を Der 1 量として、テープ法の場合には1平方メートルあたりの Der 1 量 (ng/m²) で、空気試料の場合には空気1立方メートルあたりの Der 1 量 (pg/m³) で表した。ハンドクリーナーで採取した寝具塵は秤量後、ELISA 用緩衝液にて 1:100 (W/V) の濃度で室温、4 時間抽出して、抽出液中

の Der p 1 と Der f 1 を比色法 ELISA で測定した。Der p 1 と Der f 1 の合計量を Der 1 量として、室内塵 1 グラムあたりの Der 1 量 ($\mu\text{g/g dust}$) で表した。

寝室内の温湿度は床から約 1 メートルの高さの場所に測定機 (SK-L200TH, 佐藤計量器製作所) を設置して、30 分間隔で測定、記録した。

アンケートは家屋 (構造, 築年数, 階), 居間, 寝室 (広さ, 床材の種類, カーペット, ソファ, カーテン, 空気清浄機の有無, 掃除頻度), フトン (素材, 使用年数, 掃除頻度, シーツ洗濯, 丸洗いの履歴, 防ダニ加工, 防ダニカバーの有無) ペット (種類, 飼育場所, 飼育歴) などの調査項目について実施した。

C. 結果

1. テープ法によるダニアレルゲンの検出, および従来の掃除機法との関係

テープ法で採取した試料中のダニアレルゲン量の測定に用いた Der p 1/Der f 1 の高感度蛍光 ELISA の検出感度が 1 pg/ml , テープからアレルゲンを抽出する液量が 2 ml , テープ 1 枚の面積が 42 cm^2 であることから, テープ法による寝具表面 Der 1 量の検出下限は 0.5 ng/m^2 ($0.001\text{ ng/ml} \times 2\text{ ml} \div 0.0042\text{ m}^2 = 0.47\text{ ng/m}^2$) であった。

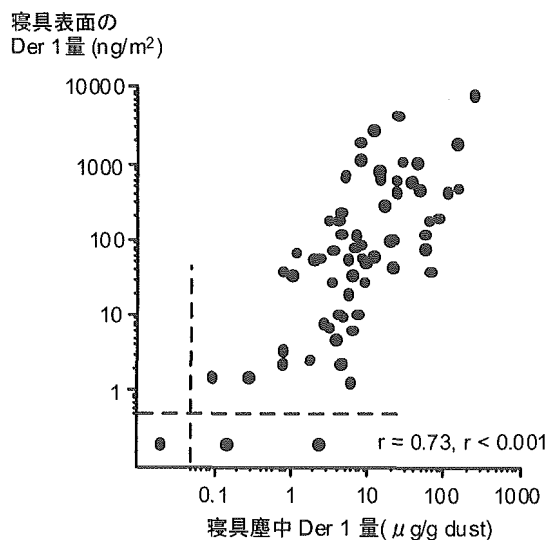


図 1 寝具表面 Der 1 量と寝具塵中 Der 1 量の関係

テープ法による寝具表面 Der 1 量と従来法による寝具塵中 Der 1 量との関係を図 1 に示した。テープ法によってもほぼ全例の寝具からダニアレルゲンが検出され, 寝具表面と寝具塵中の Der 1 量の間には良好な相関が認められた ($r = 0.73, p < 0.001$)。図 2 にテープ法による寝具表面 Der 1 量と就寝者の皮膚表面 Der 1 量との関係を示した。対象は図 1 とは異なるが, 寝具表面と皮膚表面の Der 1 量の間にも $r = 0.72, p < 0.001$ という高い相関関係がみられた。

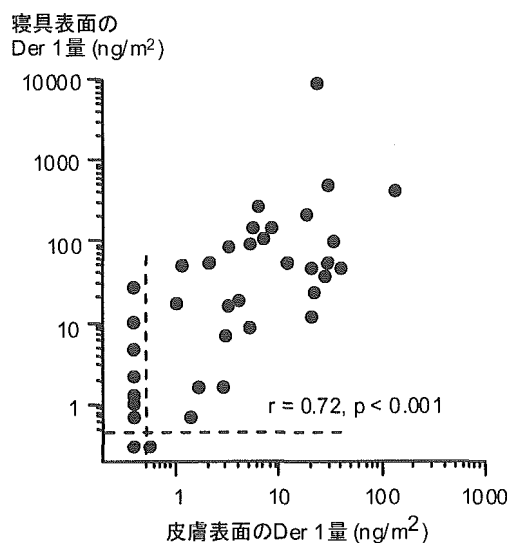


図 2 寝具表面 Der 1 量と皮膚表面 Der 1 量の関係

2. 寝具表面, 皮膚表面 Der 1 量と寝室内空气中 Der 1 濃度との関係

寝室内で 24 時間エアサンプリングを行い, 1 日平均の室内空气中 Der 1 濃度を求めて, その濃度と寝具表面, および就寝者の皮膚表面 Der 1 量との関係を検討した。図 3 に空气中濃度と寝具表面 Der 1 量との関係を, 図 4 に空气中濃度と皮膚表面 Der 1 量との関係を示した。テープ法で採取した寝具表面, および就寝者の皮膚表面ダニアレルゲン量はいずれも, 寝室室内空气中のダニアレルゲン濃度と有意に相関した。

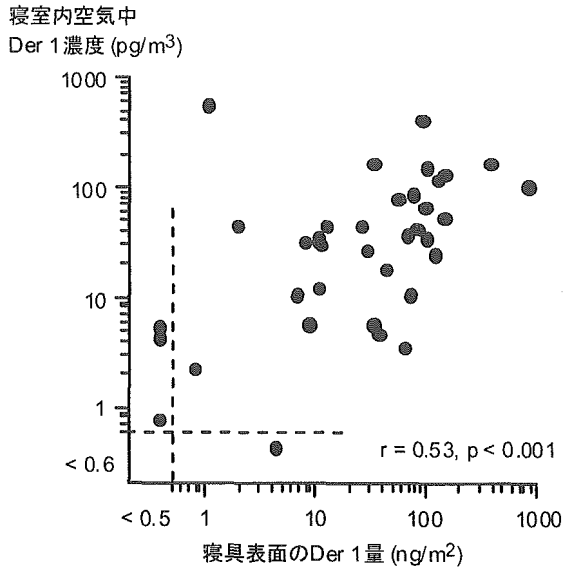


図3 寝室空気中 Der 1 濃度と寝具表面 Der 1 量の関係

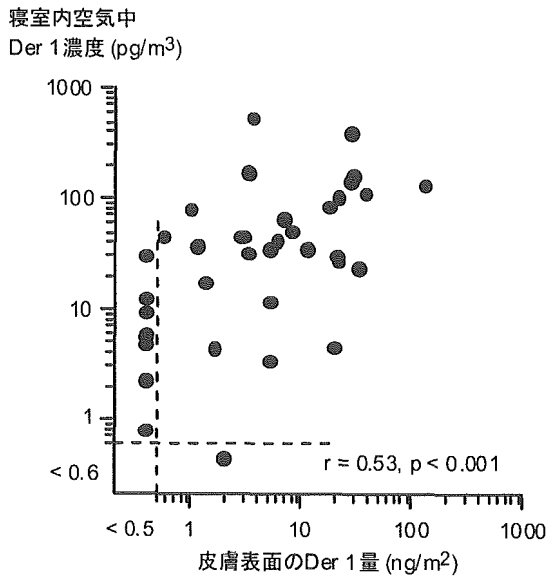


図4 寝室空気中 Der 1 濃度と皮膚表面 Der 1 量の関係

3. ヒョウヒダニの増殖に関わる室内環境要因の解析

一般家庭の室内環境においてどのような要因がダニの増殖に最も影響を及ぼすのかを明らかにする目的で、一般家庭の寝室内でダニアレルゲン量、温湿度の測定を継続して実施した。予備調査として、相模原市の2家庭での寝室内温湿度を1年間にわたって測定した。2家庭のダニによる室内汚

染はわが国の平均的なレベルにあり、1年を通して大きな変動はなかった。1日平均の気温、相対湿度の月別推移を室外の温湿度（神奈川県農林水産情報センターのデータ）とともに図5に示した。2家庭ともにはほぼ同じパターンで推移したが、開放型暖房器具を使用している家庭Bでは、暖房期間中の相対湿度が高値を示した。いずれにしても、わが国の気象条件では一般家庭室内の月平均相対湿度は、冬期でも50%を下回することはほとんどなく、開放型暖房器具を使用していれば年間を通してほぼ60%以上で推移した。

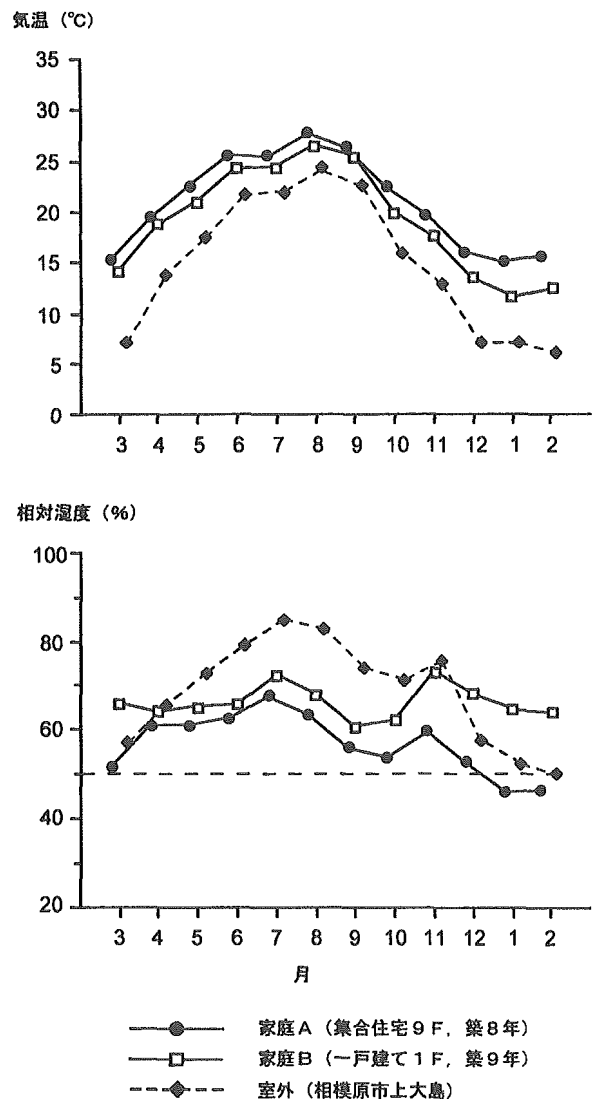


図4 相模原市の2家庭における月平均気温（上）相対湿度（下）の推移（室外温湿度は神奈川県農林水産情報センターのデータ）

D. 考察

アレルギー疾患，特に気管支喘息の病態に環境アレルゲンがどのようにかかわっているのかを検証するためには，汚染のレベルを正しく反映するアレルゲンモニタリングシステムが必須である。さらに，このようなモニタリングシステムは方法が簡便で試料の処理能力に優れているということも必要条件となる。すなわち，正確で，かつ簡便な室内環境アレルゲン測定システムの開発が望まれている。室内環境アレルゲンとして最も重要なものは室内塵中に生息する2種類のヒョウヒダニ，ヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニである。ダニによる室内環境汚染を評価する測定システムとしては，室内塵中のヤケヒョウヒダニとコナヒョウヒダニの主要アレルゲンである Der p 1 と Der f 1 を合計した量，すなわち Der 1 量を免疫化学的に測定するという方法が世界的な標準になっている。

新たにテープ法を開発したことによって，寝具表面，ヒトの皮膚表面のダニアレルゲン量を直接評価することが可能になった。テープ法の最大の特長は，従来の掃除機法よりもサンプリングがきわめて簡単に行えるということである。しかし，テープ法で採取されるアレルゲン量は超微量であるため，高感度の測定法が必須になる。Der p 1/Der f 1 は検出感度が 1 pg/ml の高感度蛍光 ELISA を確立しているため，ほとんどの検体から検出下限値以上のダニアレルゲンを検出することができ，図1に示したように，寝具塵中から Der 1 が検出された 64 家庭の中で，寝具表面から Der 1 が検出されなかったのはわずか2例のみであった。

テープ法による寝具表面 Der 1 量は，寝具塵中の Der 1 量（図1），および就寝者皮膚表面の Der 1 量（図2）のいずれともきわめて良好な相関関係が得られ，本法での測定値が汚染の指標として有用であることが裏付けられた。さらに，特筆すべきことは，テープ法での測定値と寝室内空気中のダニアレルゲン濃度との間にも有意な相関関係がみられたことである（図3，4）。このことは，煩雑なエアサンプリングを行わなくても，テープ法で簡単にダニアレルゲン曝露のレベルを推定できるということを示唆している。テープ法はこれからのアレルゲン曝露の評価や実態調査においてきわめて有用なツールになることが期待される。

わが国のごく一般的な家庭の室内の温湿度を通

年的に測定したところ，月平均の相対湿度が 50% を下回することはほとんどなく，開放型暖房器具を使っていれば，通年的に 60%以上で推移していた。ヒョウヒダニを純培養した場合，増殖に最も影響を及ぼすのは温湿度，特に湿度である。気温 25°C，相対湿度 75%で最もよく増殖し，相対湿度 50%以下では増殖は完全に停止するといわれている。実際，1年を通して換気だけで室内の相対湿度を 50%以下に維持することができる北欧やアルプス高地などでは，一般家庭室内のダニ汚染のレベルはきわめて低値である。また，わが国のような温暖，湿潤な気候の地域においても，家屋全体の湿度を制御できる強力な除湿機を設置して通年的に湿度を 50%以下に維持すれば，ダニの増殖は停止して汚染のレベルも徐々に低下することが示されている。しかし，このような家屋全体を完全にエアコンディショニングするという方法をわが国の一般家屋に適用することは現実的ではなく，室内相対湿度を 50%以下に維持するという方法でダニの増殖を制御することは，わが国においてはまず不可能である。これまでのさまざまな調査において，相模原周辺においてもきわめて稀ではあるが，汚染のレベルが著しく低い家庭が見いだされている。今後はこれらの家庭を対象にして，汚染のレベルと室内の温湿度の推移，生活様式，住宅構造などについての調査を行い，何故汚染のレベルが低く維持されているのか，その要因を明らかにしていく計画である。

E. 結論

ダニによる室内環境の汚染の実態を明らかにするための室内環境調査に有用な簡易モニタリング手法を開発した。医療用粘着テープで寝具表面，皮膚表面から試料を採取する方法（テープ法）は，サンプリングが簡便であるのみならず，その測定値は室内空气中アレルゲン濃度と有意に相関して，曝露の指標として有用である可能性が示された。ダニの増殖に関わる，あるいは増殖の抑制に関わる主要な室内環境要因を特定するためには，汚染のレベルが著しく低い家庭を対象にして室内環境の実態調査を実施する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・ Yasueda H, Saito A, Nishioka K, Kutsuwada K, Akiyama K: Measurement of *Dermatophagoides* mite allergens on bedding and human skin surfaces. Clin Exp Allergy 33: 1654-1658, 2003.

2. 学会発表

- ・ 齋藤明美, 轡田和子, 安枝浩, 秋山一男, 岡田千春, 高橋清: テープ法による生活環境中アレルギー量の評価. 第 15 回日本アレルギー学会 春季臨床大会 2003.5.12. 横浜.
- ・ 秋山一男: 気管支喘息の原因としての吸入アレルギーと空气中ダニアレルギー濃度測定の意義. シンポジウム「粒子状物質の健康影響」. 第 12 回日本臨床環境医学会総会 2003.6.20 東京.
- ・ 西岡謙二, 齋藤明美, 山田節, 齋藤博久, 秋山一男, 安枝浩: アトピー性皮膚炎乳幼児の皮膚表面ダニアレルギー量. 第 53 回日本アレルギー学会総会 2003.10.23. 岐阜.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

平成15年度厚生労働省科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
居住環境に基づく感染性疾患とその管理に関する研究
分担研究報告書

黒色真菌 *Stachybotrys chartarum* の病原性に関する研究

分担研究者 亀井克彦 千葉大学真菌医学研究センター教授

研究要旨

近年米国で住居環境における *Stachybotrys chartarum* と特発性乳児肺ヘモジデローシス (AIPH) との関係が議論されている。そこで本菌が AIPH を含めたヒトの健康に及ぼす影響について、基礎的検討を行った。また、昨年度に引き続き文献的検討も行った。その結果、1) 本菌培養上清、および本菌孢子洗浄液中にさまざまな生物学的活性が見られること、2) 本菌孢子はヒト好中球の殺菌能に対し抵抗性を有すること、3) 本菌孢子はマウス肺内に1週間以上生存し得ること、4) 本菌を気道内に投与することにより、肺胞出血は軽度にとどまるものの、肺内には著しい炎症および肉芽腫形成が見られること、などが明らかとなった。また、文献的検討からは、欧米を中心に精力的な研究が続けられているものの、肺胞出血の形成にいたる信頼できる研究は見られなかった。本菌と AIPH との因果関係がいまだ明らかではないが、本菌がわが国の一般家庭にもしばしば見られる真菌であること、さらに、本菌の吸入により激しい炎症が惹起されることを考えると、AIPH との関係の有無にかかわらず、環境内における本菌の存在が、種々の肺疾患と結びついている可能性が考えられ、詳細な研究の必要性が示唆された。

B. 研究方法

(特) *Stachybotrys chartarum* の病原性に関する実験及びその結果

A. 研究目的

Stachybotrys chartarum とは黒色真菌の1種であり、わが国にも一般家庭を含め広く見られる。本菌種には生物学的活性の強い mycotoxin を産生するものが存在することが知られており、動物では本菌に汚染された餌によるスタキボトリス中毒症が広く知られている。しかし、ヒトに対する病原性に関しては明らかでない点が多く、これまでは健康に対する影響の少ない真菌と見なされて来た。これに対し、本菌種が近年、特発性乳児肺ヘモジデローシス (acute idiopathic pulmonary hemorrhage/ hemosiderosis in infants: AIPH) の原因ではないかという疫学調査が米国で発表されたことより、AIPH の原因菌としての本菌種が大きな問題となり、米国、北欧を中心として盛んに研究されるようになったものの、未だ結論は得られていない。また、我が国における本菌種による健康被害の実態も明らかとなっていない。そこで本菌種と AIPH をはじめとするヒトの疾患との関係につき検討を行なった。

1) *Stachybotrys chartarum* の病原性に関する検討

a) 最高発育温度

菌株

中国および日本の土壌、腐木、住居などから分離された15株を用いた(中国株: IFM41781、41782、41783、41784、41785、41787、41788、41789、41790 日本株: TSY0014、0046、0103、0480、0518、0913)。これらをポテトデキストロース寒天 (PDA) スラントにて培養し、最高発育温度を確認した。

b) 培養上清および孢子洗浄液の細胞傷害性についての検討

・培養上清および孢子洗浄液: RPMI 1640 にて 5×10^5 /ml に調整した *S. chartarum* の孢子を 37°C で 1、3、5、7、14 日間にわたり CO₂ インキュベーター内で培養し、これをフィルター滅菌 (0.22 μm) して培養上清を作成した。また、25°C で 4 週間培養した *S. chartarum* を RPMI 1640 で洗浄して孢子を回収する際、回収した液を滅菌フィルターにてろ過液を作成し、孢子洗浄液として用いた。

・マクロファージおよび好中球: マウス

(BALB/c、8 週齢、オス) の腹腔から型通りに

マクロファージを回収し、マウス腹腔マクロファージとして用いた。また健常人末梢血から MONO-POLY で好中球を分離した。96 穴マイクロプレートにこれらの白血球 (2×10^4 cells/well) と *S. chartarum* の培養上清または孢子洗浄液を 1、5、10、30、50% 加え、さらに FBS を 10% になるように添加して 37°C CO₂ インキュベーター内で 48 時間培養し、マクロファージおよび好中球の形態変化を倒立顕微鏡にて経時的に観察した。

c) 好中球による孢子的な貪食能、殺菌能についての検討

96 穴マイクロプレートに好中球の浮遊液 (10×10^4 cells/well) と *S. chartarum* の孢子を加え、自家血清を 10% になるように添加して 37°C CO₂ インキュベーター内で培養し、15、30、60、90 分後に等量の 10% ホルマリンで固定して貪食能および 3、6 時間後の殺菌能を調べた。なお、E/T 比は貪食能においては 1/5、殺菌能においては 10/1 に設定した。また、*S. chartarum* との比較を行うために *Aspergillus fumigatus* (IFM 49896) の孢子を用いて同様の検討を行った。

d) マウスモデルにおける組織傷害性の検討

マウス：ddY、3 週齢、SPF、オスを用いた。*S. chartarum* の投与：前処置としてマウスに対し、day -1 に hydrocortisone (150 mg/kg) および cyclophosphamide (80 mg/kg) 投与した。さらに day 0 に hydrocortisone (150 mg/kg) を投与し、引き続き麻酔下に *S. chartarum* (TSY0518) の孢子+孢子洗浄液 (1×10^6 個/匹、20 μ l)、孢子洗浄液のみ (20 μ l/匹)、RPMI 1640 に懸濁した孢子 (1×10^6 個/匹、20 μ l) を経気道的に投与した。マウスを経時的に観察するとともに、1、3、7 日後にマウスを麻酔下に屠殺し、摘出した片肺を 10% ホルマリンで固定して病理組織学的検討に供した。さらに残りの肺をホモジナイズして PDA プレート上にて培養し、菌糸の発育の有無を検討した。対照群として、同様の前処置の後、RPMI 1640 (20 μ l/匹) を接種したマウスを用いた。

e) 孢子洗浄液に含まれる細胞傷害性成分の分析

S. chartarum (TSY0518) を PDA スラントで 4 週間、25°C で培養した。これを RPMI 1640 で

洗浄し、滅菌フィルターにて滅菌し、孢子洗浄液を作製した。この孢子洗浄液 50 ml に対して等量のクロロホルムを混合し、よく攪拌後、静置し、上層の水層および下層のクロロホルム層をそれぞれ回収した。同様の操作を 3 回繰り返した後、エヴァポレーターにより各分画中のクロロホルムを除去し、RPMI 1640 で当初の濃度に調整し、おのおのをクロロホルム層および水層として以下の実験に供した。マウス (BALB/c、8 週齢、オス) の腹腔からマクロファージを回収し、RPMI 1640 にて調整した。これを 96 穴マイクロプレートに加え (2×10^4 cells/well)、これにクロロホルム画分または水層を 10、30%、さらに FBS を 10% になるように添加して、37°C CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養し、経時的にマクロファージの形態変化を倒立顕微鏡にて観察した。

C. 研究結果

a) 最高発育温度

いずれの菌株においても最高発育温度は 37°C であることが確認された。また、38°C では 2 週間で発育が確認されなかったが、これを 25°C にて培養する菌糸の発育が認められ開始し、菌が生存していることが確認された。

b) 培養上清および孢子洗浄液の細胞傷害性についての検討

マクロファージに培養上清を添加して培養すると、マクロファージは著しい紡錘形に変化することが確認された。また培養日数が長いほどこの変化は著明であった。また、孢子洗浄液では、低濃度においては培養上清と同様の変化が認められたが、高濃度 (30~50%) 添加すると、マクロファージは紡錘形への変化が進むとともに、24 時間以内に空胞形成が出現した。一部の株では、形成された空胞が次第に大型化し、曝露後 24 時間以内に細胞が崩壊した。この現象は TSY0518 株で特に著明であり、孢子洗浄液 1% 以上の添加で曝露後 24 時間以内にマクロファージが崩壊した (図 1)。好中球に孢子洗浄液を添加して培養すると、曝露後 2 時間程度から好中球は膨張し、細胞膜が菲薄化して崩壊に至った。

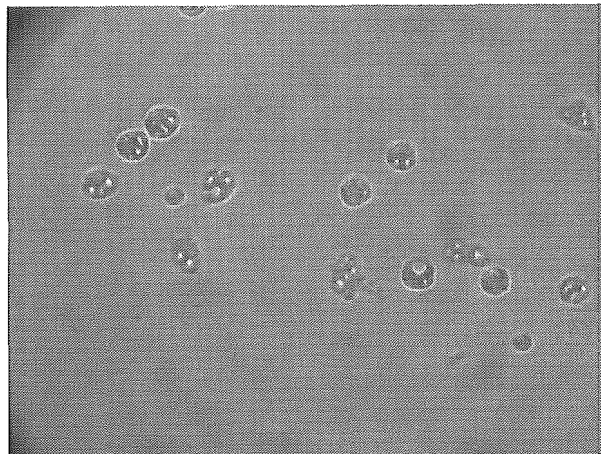
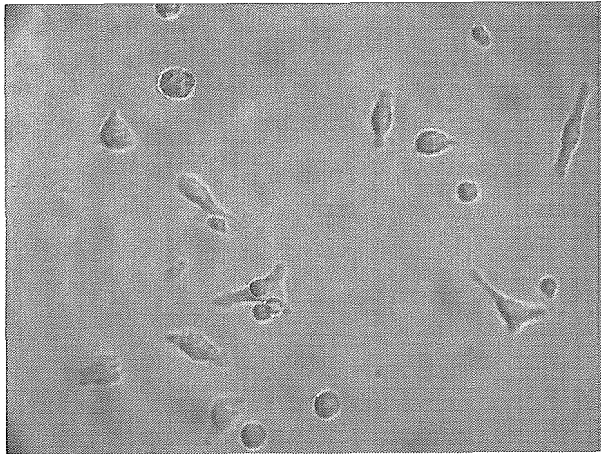


図1 : *S. chartarum* の孢子洗浄液の添加によるマウス腹腔マクロファージの変化。添加マクロファージでは、急速に空胞形成が生じ、やがて細胞の崩壊に至る
(上：コントロール、下：孢子洗浄液 10% 添加 3 時間後)

c) ヒト好中球による孢子の貪食能、殺菌能についての検討

S. chartarum の孢子に対して貪食能を示した好中球の割合 (%phagocytosis) は、培養開始後 60 分までに 70~80% 程度に達した。一方、*A. fumigatus* においては %phagocytosis は約 50% にとどまり、*S. chartarum* に比して好中球の貪食に対する抵抗性が認められた。一方、貪食能を示した好中球 1 個あたりが貪食する孢子数 (phagocytic index) では、*S. chartarum* が *A. fumigatus* よりも低値を示した。また、*S. chartarum* の孢子の生存率は、貪食開始後 6 時間で 60~80% 程度であり、好中球の殺菌能に対する抵抗性が認められた。

d) マウスモデルにおける組織傷害性の検討

マウスに経気道的に孢子洗浄液と孢子を注入すると、day 1 では、孢子を取り囲むように多形核白血球を中心とした細胞浸潤が認められた。また day 1、3、7 で肺胞上皮の傷害、細気管支粘膜の脱落がみられた。特に day 3 では、間質をも巻き込んだ著しい細胞浸潤が広範囲にみられた (図 2)。day 7 では細胞浸潤の中心はリンパ球となり、炎症の程度も次第に軽快していったが、まだ相当程度の炎症が残存していた。いずれの条件においても、菌糸は認められなかったが、孢子が持続的に存在していることが明瞭に確認された。一方、肺胞内への出血は、day 3 の一部のマウスに認められたのみであった。摘出肺の培養では、day 7 の肺から多数のコロニーの形成が認められ、孢子が生存を続けていることが確認された。

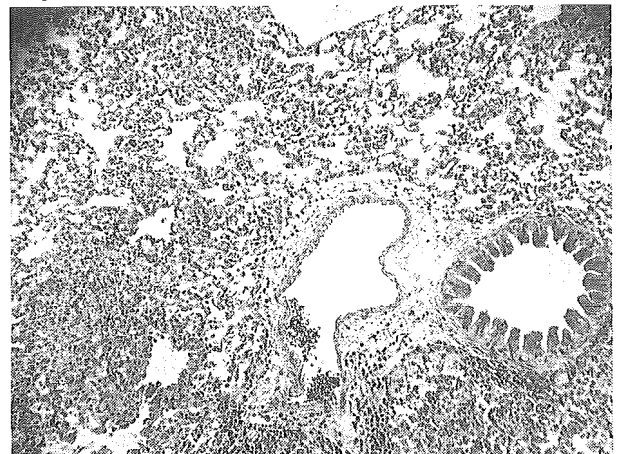


図 2 : *S. chartarum* 孢子注入後 3 日目のマウス肺組織。著しい細胞浸潤が広汎に認められる (HE 染色)

e) 孢子洗浄液に含まれる細胞傷害性成分の分析

マクロファージにクロロホルム画分を添加すると、孢子洗浄液添加時に見られたマクロファージの紡錘形への変形 (成長) は、クロロホルム画分および水層の両方に認められた。しかし、マクロファージの崩壊はクロロホルム画分添加系のみ認められ、細胞は培養開始後 24 時間までに崩壊した。水層を添加系では細胞の崩壊は見いだされなかった。

D. 考察

1) *S. chartarum* は 37°C で発育が見られまた 38°C 2 週間の培養でも、viability が残存し

ていた。これらの点より本菌はヒトに病原性を示す基本的な要件を有している可能性が考えられる。

2) 本菌にまつわる生物学的活性は、培養上清よりも孢子洗浄液において著しく、明確な細胞傷害性を有していた。本菌菌糸は、発育に伴って孢子の周囲に液体の貯留が認められるが、洗浄液にはこれらの物質が含まれていることが推測される。本菌菌糸が乾燥し孢子が飛散する時点では、これらの活性物質は孢子を coating するようにして孢子を覆うように存在しているものと推測され、環境内に浮遊する本菌孢子にも同様の活性が存在している可能性が強く示唆される。

3) *S. chartarum* の孢子の好中球の食食に対する抵抗性は *A. fumigatus* よりもわずかに弱いものの、全体としては抵抗性を示しており、孢子の肺内でのクリアランスは低いと推測される。これには、孢子が大型であることや、孢子の表面構造などが関与していると考えられる。

4) AIPH 患者の多くが救命されているため、病理学的所見を始め、AIPH 発症時における患者肺の病態に関する知見はきわめて乏しい。このため、我々の動物実験と実際のヒト AIPH 例との直接的な比較は困難であるが、今回の *S. chartarum* の気道内注入では、肺胞出血は限定的なものにとどまり、AIPH の臨床像に合致すると思われるような広範な肺胞出血を安定して得ることはできなかった。条件を変更して行った追加実験でも同様の所見であり、現時点において本菌と AIPH 発症との因果関係は明瞭となっていない。

しかし、今回の実験において本菌注入後、比較的長期間にわたり肺内に孢子が残存して激しい炎症が持続したという知見が得られた。この事実は実際の居住環境においても、本菌孢子の吸入によって肺に慢性炎症傷害が起こる可能性を示唆するものと考えられる。特に、居住環境において本菌が大量に発生すると住人は反復・慢性的な暴露にされられるものと考えられ、この場合、病変は今回の実験で得られた所見より、さらに慢性化、重篤化していく可能性が高い。

この炎症の原因となっている物質は明らかでないが、孢子洗浄液の活性から、クロロホル

ム画分に含まれる細胞傷害性成分が何らかの関与をしている可能性が示唆される。

今後は、反復暴露による病理学的変化の確認、あるいは細胞傷害物質の解析などを進める予定である。

(「結論」以降は(特、監共通))

監文献的検討

A. 研究目的

Stachybotrys chartarum と AIPH を含む肺疾患との因果関係に関する研究の一端として文献学的検索を行った。

B. 研究方法

昨年度と同様に Mediline から下記の keyword により検索を行った。

C. 研究結果

Keywords

1 *Stachybotrys* : 45編 (2003年 38編、2004年 7編)

2 *Stachybotrys chartarum* : 22編 (17編、5編)

3 sickhouse + fungus : 8,807編 (8,127編、680編)

4 pulmonary hemorrhage : 484編 (427編、57編)

1および2の組み合わせ : 24編 (17編、7編)

1および3の組み合わせ : 42編 (38編、4編)

1および4の組み合わせ : 5編 (3編、2編)

2および3の組み合わせ : 19編 (17編、2編)

3および4の組み合わせ : 161編 (150編、11編)

1、2、3および4の組み合わせ : 6編 (5編、1編)

主要な論文

・Khan NN, Wilson BL.: An environmental assessment of mold concentrations and potential mycotoxin exposures in the greater Southeast Texas area. J Environ Sci Health Part A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2003;38(12):2759-72.

2001年のハリケーンに伴う洪水において、地域の家屋の環境を測定し、室内の真菌 (*S. chartarum* を含む) が増加することを定量的に示した。

・Gregory L, Pestka JJ, Dearborn DG, Rand TG: Localization of satratoxin-G in *Stachybotrys chartarum* spores and spore-impacted mouse lung using immunocytochemistry. *Toxicol Pathol.* 2004, 32(1):26-34.

Stachybotrys chartarum の主要な toxin と考えられている satratoxin G が、*S. chartarum* の孢子に局在し、さらに肺内に孢子を投与すると、この satratoxin G が、肺胞マクロファージに集中することを示した。

・Leino M, Makela M, Reijula K, Haahtela T, Mussalo-Rauhamaa H, Tuomi T, Hintikka EL, Alenius H :Intranasal exposure to a damp building mould, *Stachybotrys chartarum*, induces lung inflammation in mice by satratoxin-independent mechanisms. *Clin Exp Allergy.* 2003, (11):1603-10.
Satratoxin 産生性及び非産生性の *S. chartarum* を比較し、マウスにおける肺内サイトカインの誘導にほとんど差がない事を示した。

D. 考察

論文としてデータベース上に提出されているものの多くは、総説であった。新たに報告された研究論文では、AIPH の問題を含め、本菌の病原性については、ほとんどが未解決である。また、上記のように見解の異なる論文もしばしば見受けられる。

E. 結論 (特、監共通)

今回の検討では、本菌の投与により明らかな AIPH の発症は認められなかった。しかし、本菌孢子が強力な生物学的活性を有していること、また本菌孢子の気道内注入により激しい炎症が肺に生ずることが明らかとなり、居住環境内の本菌の吸入が重大な慢性肺疾患の原因となっている可能性が示唆された。本菌の存在はわが国の居住環境でも決して稀なものではないことを考慮し、AIPH を含め、本菌と疾患との関連性について解明を急ぐ必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

・落合恵理、亀井克彦ほか：*Stachybotrys chartarum* の白血球に対する細胞傷害性に関する検討. 真菌症フォーラム第5回学術集会プログラム、2004

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

居住環境中の真菌による疾患についての実態調査・研究

分担研究者 高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長

研究要旨

居住環境中の真菌量や分布の測定法は培養によって実施されているが、真菌の測定を簡易かつ迅速に実施できる方法があれば居住環境の真菌測定は比較的円滑に進む。そこで本研究の一つとして、真菌の迅速かつ簡易な手法の評価を二重蛍光染色法及び市販ファンギフローラ Y による蛍光測定の方法で検証した。

また本研究課題は、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握することが目的の一つである。これまで居住環境のうち、屋内・屋外の空気中における真菌の動態については国内国外問わず多くの報告がなされてきた。しかし感染性疾患と真菌との関わりからの観点から日和見感染性真菌の居住環境での分布を詳しく調査した報告はほとんどない。そこで本年度は、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境を中心にして真菌の分布を調査し、同環境は特異な真菌生態を有していることを報告した。

A. 研究目的

居住環境中の真菌量や分布の測定法は培養によって実施されているのが現状である。しかし、真菌の測定をなるべく簡易かつ迅速に実施できる方法があれば居住環境の真菌測定は比較的円滑に進むものと思われ、そうした手法の検討を進める必要がある。そこで本研究では、真菌の迅速かつ簡易な手法の検討をすることとした。

また本研究課題は、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握することが目的の一つである。これまで居住環境のうち、屋内・屋外の空気中における真菌の動態については国内国外問わず多くの報告がなされてきた。しかし感染性疾患と真菌との関わりからの観点からみると今日話題となる日和見感染性真菌の生態を把握することが需要である。現実として日和見感染性真菌の居住環境での分布を詳しく調査した報告はほとんどない。そこで本年度は、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境を中心にして真菌の分布を調査した。

B. 研究方法

1) 蛍光染色活性解析

ハウスダストより分離した真菌を対象として Hyeong らの方法に従い、真菌の生細胞と死細胞に対し蛍光色素 FDA、PI の二重染色法による細胞活性（生死）の解析を行った。生細胞と死細胞（調整後、100℃で10分間処理）を混合した細胞浮遊液 1ml を滅菌生理食塩水で5倍に希釈した後、5μg/ml（溶剤：DMSO）に調整し

た FDA および PI をそれぞれ終末濃度 5mM となるよう添加した。転倒混和の後、室温遮光下で15分間反応させ、蛍光顕微鏡（B 励起、波長：488nm）で観察した。

さらに市販となっているファンギフローラ Y（製造（株）バイオメイト）を用いた蛍光簡易測定法を実施した。本法は、A 液として対向染色液の変性ヘマトキシリンと B 液として蛍光染色液（pH7.2）を用いる方法である。A 液はあらかじめ試料中にある真菌以外の共染されやすい部分をマスキングするため、真菌自体染色する場合は使用しない。B 液中の蛍光染料は真菌の細胞壁を特異的に染色する多糖体親和性の蛍光色素でβ構造には染着するがα構造には染着しない性質を有している。染色時間は2分程度である。反応は鮮やかな黄緑色の蛍光を発生し、真菌以外の共染されやすい部分をマスキングするので真菌を容易に識別できる特異性を有している。落射光、透過光ともに真菌の局在場所を確認できる特徴もある。また退色や変色しない長期安定な蛍光試薬である。

ここでは、明らかにカビ汚染している目地材の汚染部分にテープ（テガダーム、3M）を貼付し、試料採取した。スライドグラスに B 液を滴下し、約 2cm×2cm に切ったテープを載せた。これを光学顕微鏡および蛍光顕微鏡で観察した。

2) 水系環境の真菌分布及び感染性疾患と関わりのある真菌の生息

調査対象：浴室、洗面所、トイレ、台所の各所からスタンプスプレード（日水、φ26mm）を用いてサンブ

リングした。この調査は1年を通して実施され、サンプリング総数は1,870点であった。

方法：スタンプスプレードを回収して25℃、7日間培養し、以後真菌数と同定を行った。

C. 研究結果

1) 蛍光染色活性

蛍光色素 FDA (Fluorescein diacetate), PI (Propidium iodide)を用いた二重染色による真菌細胞の活性解析を行った。ほとんどの菌種において、生細胞では FDA のみが良好に反応し、個々の細胞が緑色に強く発光し、また加熱処理をした死細胞では細胞の一部および全体に PI による赤色の発光のみを認めた(図1)。また、多細胞性胞子では FDA, PI の双方に発色する細胞も存在した。

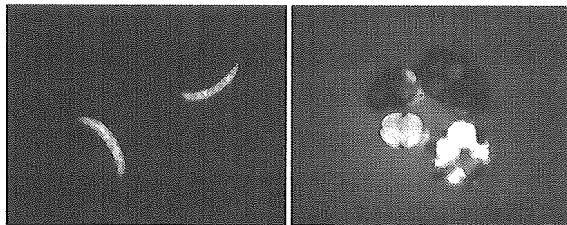


図1 蛍光法による真菌の生死細胞評価

次に、ファンギフローラ Y を用いて明らかにカビ汚染している目地材から汚染部分を取り真菌染色を試みた。その結果を図2に示した。左は顕像、右はファンギフローラ Y による染色像である。この結果からいえることは、顕像では明瞭とならない真菌が、ファンギフローラ Y 染色で明瞭な像として確認できた。真菌汚染菌体は、多くは菌糸であるが、胞子でもはっきりと染色された。今回の汚染真菌は同定されていないが、この形態から *Cladosporium* とみることが出来た。

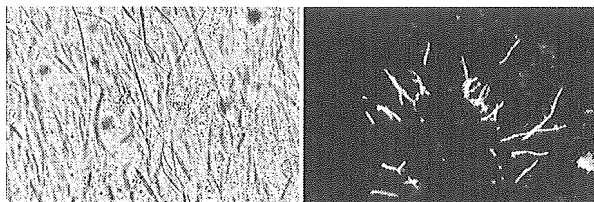


図2 ファンギフローラ Y による真菌の観察
左：顕像、右：蛍光顕像（左右同視野）

2) 水系環境の真菌分布及び感染性疾患と関わりのある真菌の生息

水系環境である浴室、洗面所、トイレ、台所の真菌についてその分布を把握するとともにその中から感染性疾患との関わりのある日和見感染性真菌を検索した。

水系環境器材から採取し真菌測定を行ったところ、浴室、洗面所、トイレ、台所ともに主要真菌のほとんどは、*Cladosporium*, *Rhodotorula* 及びその他の酵母が多くを占めていた。こうした真菌は、生態的にも水系を好む真菌であるが、どの程度の頻度で分布しているかこの調査から分かった。特に *Cladosporium* はほとんどの箇所で40%前後と高く汚染しているものといえた。また感染性真菌の出現は、黒色系真菌である *Aureobasidium*, *Alternaria*, *Cladosporium* などあるが、これらはすべて感染性の高い真菌に関連するとはいえない。

さらに、今までの調査から居住環境の真菌分布を調べた結果をまとめると表1のとおりである。この図は好湿性真菌、耐乾性真菌、好乾性真菌としてまとめたが、環境とその環境に占める真菌とは相関した。

D. 考察

環境に生息する真菌は、必ずしも発育性の高い種が多いとはいえない。中には不活化して死細胞として環境に存在している量がかかなり多くを占めることが想像される。その場合は明らかに培養では正確な数値が得られることはなく、培養法以外に頼らざるを得ない。そこで簡易で迅速に測定できる技術を確認することが重要である。ここでは蛍光染色法による測定技術を評価した。蛍光染色として FDA, PI ともに真菌に対して良好な染色性を示し細胞全体が強く発光した。すなわち、生細胞では細胞の代謝活性が高いことを示しており、また死細胞では活性の高い細胞を急速に細胞死させたため、細胞質中に蓄積した RNA と PI が結合し細胞全体が赤色に強く発光したと考えられる。一方、自然環境下に近似した状態を想定した長期放置真菌では FDA, PI ともに染色性や発光強度が低下する傾向にあった。また FDA, PI ともに染色されない細胞も認められた。本法のハウスダスト中の真菌への応用では夾雑物等による非特異的発光が認められたが、真菌細胞が明瞭に発色していることから本法の適用が可能であると考えられ、今後この研究を予定している。環境中に長期存在している真菌やハウスダスト中の真菌に対しては、真菌の形態および代謝に対する初歩的専門知識が必要ではあるが、本法の真菌細胞の活性解析への適用は可能であると思われる。

また同様に実施したファンギフローラ Y による蛍光染色法は、先の2重蛍光染色法をさらに改良して、真菌細胞のみを生死細胞に関わりなく検出する技術である。今方法は簡易でありかつ迅速に処理できることから、今後さらに検討してみる必要がある。また汚染真

表1 居住環境の真菌分布

	湿性環境										湿性or乾燥環境													
	浴室	洗面所	トイレ	台所	排水口	結露した壁	空中	ハウスダスト	押入れ	靴箱	居間	和室	畳	木材・繊維	ジュータン	衣類	エアコン	冷蔵庫	靴	皮革	紙・書籍	レンズ	フィルム	
好湿性真菌																								
<i>Trichoderma</i>					●									●	●									
<i>Rhizopus</i>					●																			
<i>Cladosporium</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
<i>Alternaria</i>	●	●	●			●	●	●	●													●		
<i>Fusarium</i>	●	●	●		●	●	●	●															●	
<i>Aureobasidium</i>	●	●	●		●	●	●	●							●	●		●						
<i>Geotrichum</i>	●				●																			
<i>Chaetomium</i>	●																							
耐乾性真菌																								
<i>Penicillium</i>	●	●	●	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
<i>Aspergillus</i>							●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
好乾性真菌																								
<i>Eurotium</i>								●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
<i>Asp. restrictus</i>								●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
<i>Wallemia</i>								●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

菌は、黒色系の *Cladosporium* であり、染色性の悪いとされる真菌でもこのような蛍光性を示したことから環境に生息する白色系、緑色系真菌にも応用が十分可能である。

次に、居住環境にみる真菌を特に水系に限って調査してみた。すなわち、水系環境は真菌にとって汚染するには都合の良い環境であり、しかも容易に汚染する場でもある。真菌の多くは水系に生息する種であり、中には感染性の強い仲間も存在している。そのため、水系での真菌は感染性を含めアレルギーの観点からも重視する環境性真菌である。水系にみる真菌で感染性の高い *Aureobasidium* は結果からも分かるように高頻度で検出した。また、さらに調査が進むと詳しく解析できるであろうが、西村等の成績にあるようにいわゆる黒色系真菌がある程度の割合で検出されるものといえ水系環境でも特定部位で検証する必要がある。

E. 結論

居住環境中の真菌量や分布の測定法は従来から培養によって実施されてきた。しかし、真菌の測定を簡易かつ迅速に実施できる方法があれば居住環境の真菌測定は比較的円滑に進む。そこで本研究の一つとして、真菌の迅速かつ簡易な手法の評価を二重蛍光染色法及び市販ファンギフローラ Y による蛍光測定から良好な結果が得られた。

また、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握した。感染性疾患と真菌との関わりからの観点から日和見感染性真菌の居住環境での分布を詳しく調査したところ、居住環境の中でも湿性な環境である水系環境は特異な真菌生態を有していることがわかつ

た。

F. 健康危険情報

平成 15 年度は、居住環境にみる真菌の検索を検討したところ、感染性に関わりのある真菌がみいだされ、こうした真菌の生息性をさらに把握する必要がある。ヒトの健康被害について真菌は居住環境で主にアレルギーとしての観点から捉えられるが、同環境でも水系環境は特に感染性の視点に立って調査する必要もある。今年度の報告からの情報をまとめると、真菌による被害はまだ明確になっていない部分も多々あるが、少なくとも健康被害の重要な要因となっており、こうした情報を詳細に検討するとともに、居住環境における真菌制御に関する研究を進める必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 土肥友恵, 田中辰明, 李憲俊, 相原真紀, 高鳥浩介 住環境由来真菌の建築資材等基質への付着および初期発育 防菌防黴 31(6): 319-322 (2003)
- 2) 高鳥浩介, 相原真紀 住環境と真菌アレルギー 健康創造研究会誌 2(1): 27-34 (2003)
- 3) 高鳥浩介, 相原真紀 家庭環境と防菌防黴, 防菌防黴 31: 663-667(2003)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金

分担研究「室内空気環境における微生物挙動のシミュレーション」報告書

分担研究者 藤井 修二 東京工業大学教授

研究グループ：諏訪好英（東京工業大学客員助教授）

西岡利晃（大阪市立大学教授）

鍵直樹（東京工業大学助手）

研究要旨

強制換気の居室モデルを対象としてCFDにより浮遊生物の微粒子挙動を解析した。微生物は単位密度球粒子(密度 1g/cm^3)として扱い、 $k-\epsilon$ 乱流モデルで解析した速度場を用いてラグランジュ法で追跡した。また室内の微粒子残存率を発生点および粒径ごとに集計し、気流分布や換気性能分布との関係を考察した。その結果、粒径 $10\mu\text{m}$ の大粒径粒子の挙動には重力沈降が支配的で、沈着によって室内に残存すること、粒径 $1\mu\text{m}$ 以下の粒子は気流に乗って移動しやすいが、換気状態が十分でないと室外に排出されにくいことなどがわかった。

A. 研究目的

室内微生物汚染としてSARS、インフルエンザを始めとするウイルス、結核菌などの細菌が顕在化している。しかし室内におけるこれら微生物汚染の挙動は十分に把握されておらず、研究の必要性が高まっている。

本研究では、強制換気を有する居室を対象に室内

における浮遊微生物の挙動を数値解析し、居室内での微生物の残存、除去特性を把握することを目的としている。図1に本研究の流れを示す。シミュレーション対象とするパラメータとして、微生物特性、空調・換気システム・室内環境条件・評価時間を考慮した解析手法などを取り上げること、本年度は、主として室内気流解析による評価

を取り上げることとした

B. 研究方法(解析条件)

B-1 微生物条件

浮遊微生物は、主に真菌、細菌、ウイルスに分類される。空気中における挙動については、現在文献等で調査中であるが、室内での挙動については物理的なものに限ることとし、密度 1g/cm^3 の球形粒子で対応することとした。

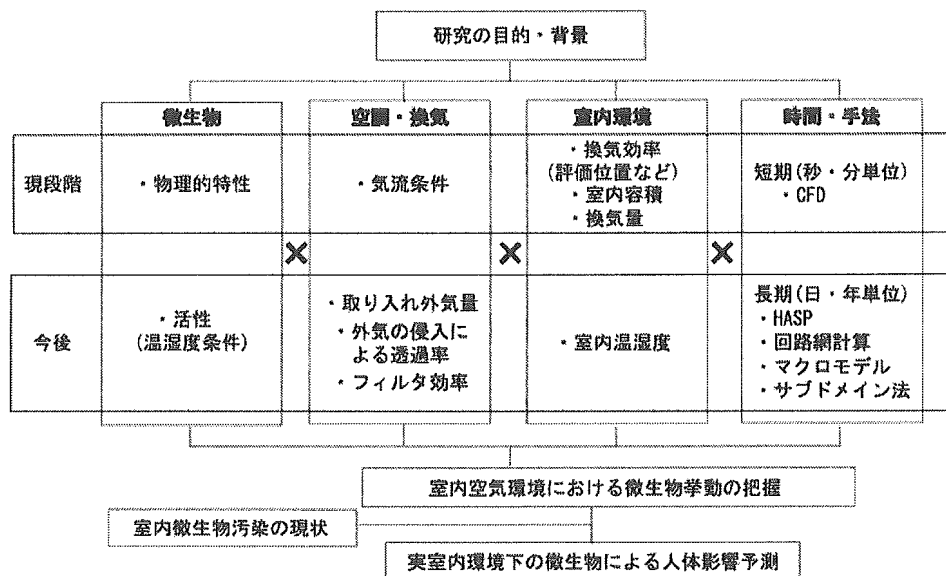


図1 研究の概要

表 1 代表的浮遊微生物

種類	主な微生物	症状	大きさ(μm)
真菌	<i>Malassezia furfur</i>	アトピー性皮膚炎	4
細菌	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	結核	1~4
	<i>Mycoplasma</i>	肺炎	0.4
Virus	<i>Measles Virus</i>	麻疹	0.25
	<i>SARS-CoV</i>	SARS(重症急性呼吸器症候群)	0.08~0.16
	<i>Influenza Virus</i>	風邪	0.08~0.16

対象とする微生物は多様であるが、微生物の大きさとしては、*Mycobacterium tuberculosis*(結核菌)が1~4、SARS-CoVが0.08~0.16 μm、Influenza virusが0.08~0.12 μmである。表1に代表的な浮遊微生物の粒径を示す。

B-2 CFD 解析条件

本研究では、气流状態、空気齢、空気余命分布を解析し、また室内の想定した発生源から微粒子を発生させ、ラグランジュ法による粒子追跡を行った。室内気流の解析には標準 k-ε 乱流モデルを用いた。

B-3 居室モデル

計算対象としたモデルは、図2に示す2700×3600×2800mmの居室と2700×1200×2800mmの廊下である。居室と廊下の間

のドア下部に200×900mmガラリ等を模擬した開口部を仮定した。廊下側の天井中央部に吸込口(換気扇:360×360mm)、居室の外気に面した壁に吸気口(360×360mm)を設置し、換気回数は改定建築基準法の規定に基づき0.5回/hとした。汚染粒子の発生源は、図2に示すように部屋の中央高さに6ヶ所とした。粒子の条件は粒径0.1 μm、1 μm、10 μmとした。

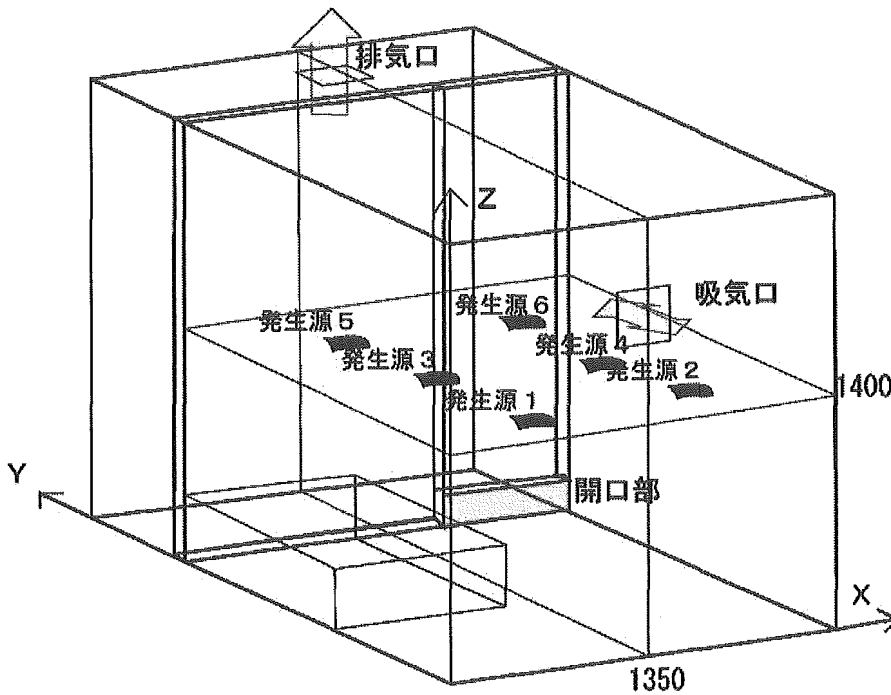


図 2 解析モデル

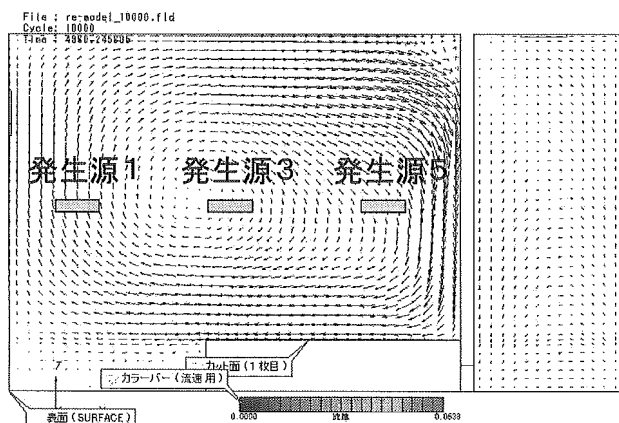
表 1 居室モデルの解析条件

流出条件	流速:0.04m/s(換気回数0.5回/h)
	排気口サイズ:360×360mm
	位置:(1350、4020、2780mm)
流入条件	自然流入流出
	吸気口サイズ:360×360mm
	位置:(1350、0、2180m)
格子条件	格子数:40×55×40=88000
	要素分割方法:等比分割

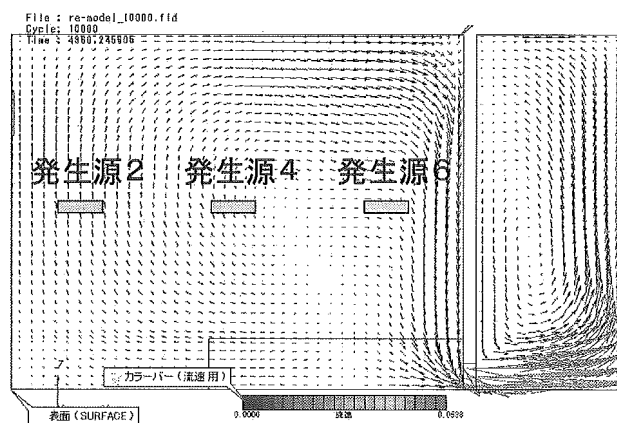
C. 研究結果(解析結果)

C-1 居室の気流性状

発生源(1, 3, 6)および発生源(2, 4, 6)を含むYZ断面における気流解析の結果を図3に示す。それぞれ吸気口から空気が部屋の反対側まで流れ込み、居室全体に大きな旋回領域が形成されている。また発生源(1, 3, 5)の近傍では、比較的強い流れを生じているのに対し、発生源(2, 4, 6)の近傍では空気の流れが弱く、ドア下部から空気が廊下部分へ流出している。

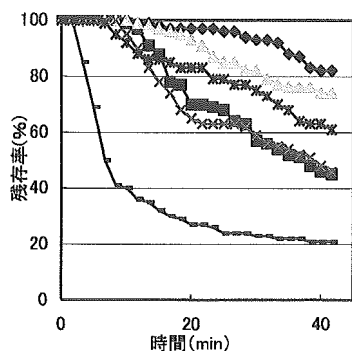


(1) 断面1 (発生源 1, 3, 5)

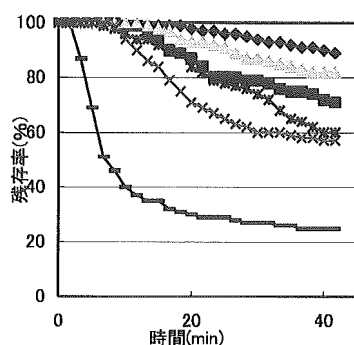


(2) 断面2 (発生源 2, 4, 6)

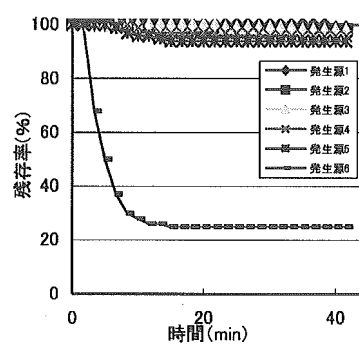
図3 気流ベクトル



粒径 0.1 μ m



粒径 1.0 μ m



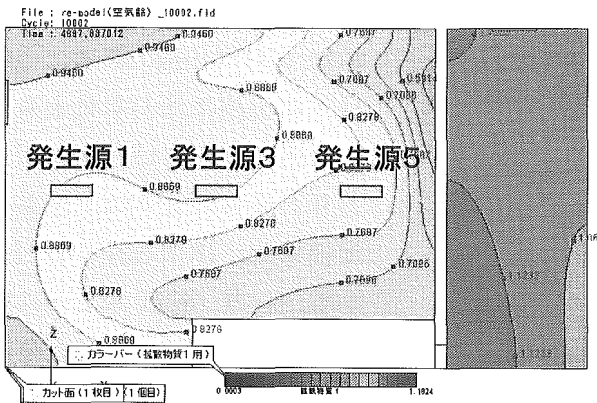
粒径 10.0 μ m

図4 粒径毎の残存率の変化

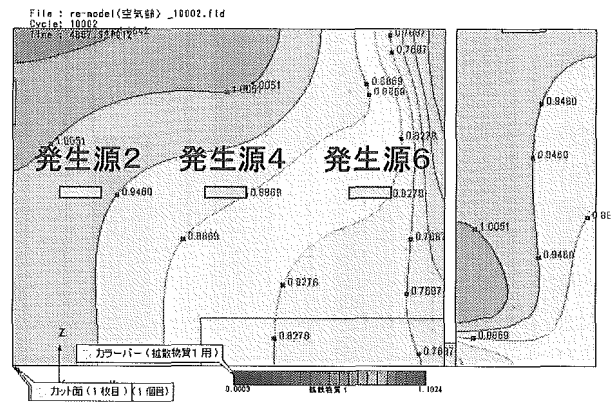
C-2 微粒子の挙動

気流解析によって得られた流れ場を用いて、微粒子のシミュレーションを行った。

図4に居室内における微粒子残存率の時間変化を示す。図では想定した粒径ごとに微粒子残存率を集計した。本解析では、空気中に浮遊するもの、表面沈着したものをすべて居室内に残存する粒子として集計している。このため粒径の大きな粒子ほど残存率が大きく、重力沈降や沈着により室内に残存する粒子個数が大きくなっている。また同



(1) 断面1 (発生源1, 3, 5)



(2) 断面2 (発生源2, 4, 6)

図5 空気齢

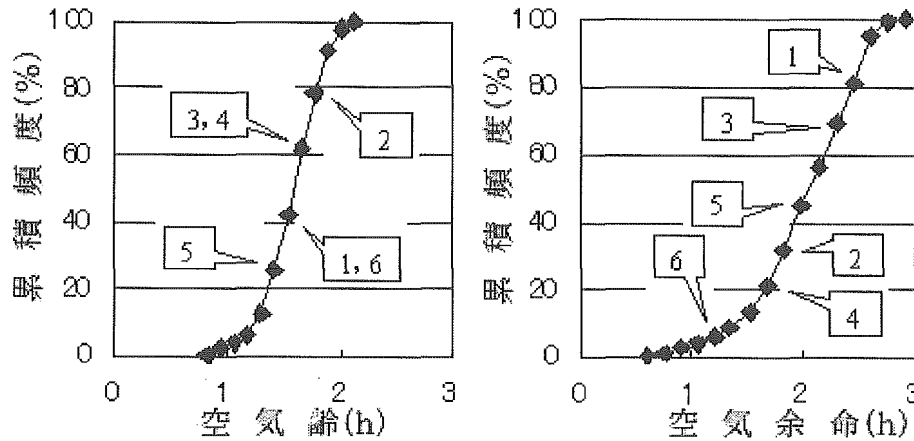


図6 空気齢と空気余命

わかる。またこの旋回流の影響で室内中央の発生源3, 4では空気齢が高くなるっており、換気されにくい状態となっていることがわかる。

空気齢の特性より吸気口から入った空気は、まず発生源5の位置に到達し、続いて発生源1, 6、発

一粒径の粒子でも発生源により減衰傾向が大きく異なる場合のあることもわかった。

D. 考察

D-1 居室の気流性状について

図5に発生源(1, 3, 6)および発生源(2, 4, 6)を含むYZ断面内の空気齢分布を、図6に空気齢の累積頻度および空気余命の累積頻度を示す。図3に示した気流分布と合わせて考察すると、居室内にはいずれの断面においても大きな旋回流を生じており、吸気口から流入した空気はまず発生源5の位置に到達し、続いて発生源1, 6、発生源3, 4の順に到達し、発生源2には最後に到達することが

わかる。またこの旋回流の影響で室内中央の発生源3, 4では空気齢が高くなるっており、換気されにくい状態となっていることがわかる。

D-2 微粒子の挙動について

図4では、粒子の発生開始から40分経過した時点でも発生源6の場合を除き粒径 $10\mu\text{m}$ の残存率が90%以上となった。先述したように、本解析では空気中に浮遊するものと、表面沈着したものを区別しておらず、すべて居室内に残存する粒子として集計している。大粒径粒子の残存率が大きな値を示すのは、重力沈降により沈着する粒子が多いことを示すものと考えられる。

一方、粒径 $1\mu\text{m}$ 以下の粒子についても初期10

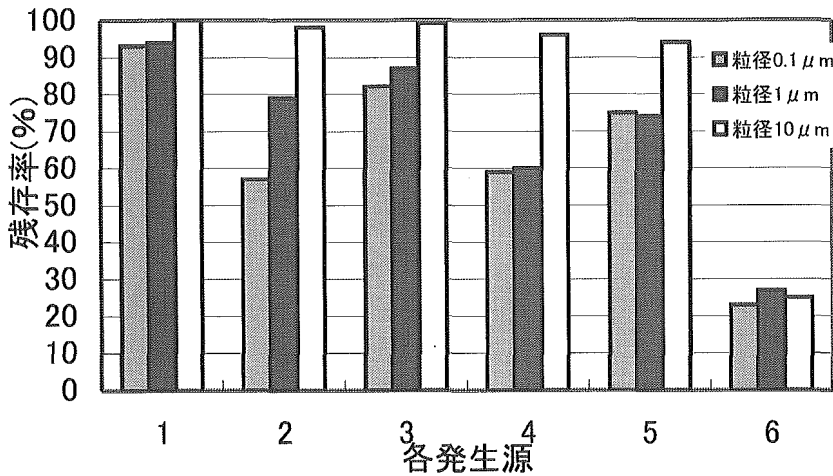


図7 30分後の粒子残存率

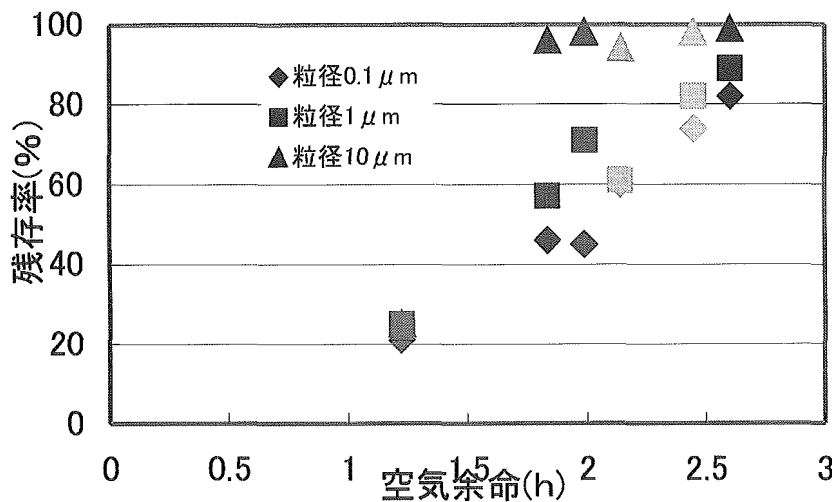


図8 空気余命と粒子残存率の関係

分程度までは、ほとんど室外に排出されず居室中に存在する上、40分経過後もかなりの数の粒子が室内に残存することがわかった。

図7に粒子発生30分後の残存率を示す。重力沈降速度や気流による影響の違いから、粒径により残存率には違いがあるが、それ以上に発生源位置の影響が大きいことがわかる。特に発生源1ではいずれの粒径についても残存率90%、最も残存率の小さい発生源6でも20%以上の粒子が室内に残存している。このことから、一般居室において発生した微粒子は、30分程度の換気時間で完全には除去されないと判断できる。

図8に各発生源近傍の空気余命と粒子の残存率の関係を示す。粒径0.1、1 μmの粒子については、発生源近傍の空気余命と粒子の残存率がよい相関を示しており、換気により粒子がある程度効果的に排出されることがわかる。一方、粒径10 μmの粒子は、発生源近傍の空気余命に関わらず高い残存率を示しており、換気によって除去されない重力沈降などがその挙動に支配的であることが推測される。*Malassezia furfur* や、一部の *Mycobacterium tuberculosis* は比較的大きな粒径であることから、このような微粒子に対しては換気以外の効果的な除去方法を考える必要があると考えられる。

E. 結論

E-1. 室内における浮遊生物の挙動について

強制換気を有する居室モデルを対象としてCFDにより浮遊生物の微粒子挙動を解析した。その

結果、以下の知見を得た。

- ・強制換気を有する居室内でも気流は均一ではなく、旋回流やよどみを生じる場合がある。これらのよどみ領域では空気齢が高くなり、十分な換気性能が確保できないため、発生した微粒子が室外に除去されにくい。
- ・粒径10 μm程度の大粒径粒子は、重力により床などの室内表面に沈着しやすく、残存しやすい。一方、粒径1 μm以下の粒子は気流により輸送されやすいが、室内の換気状況が十分でない場合には、かなりの数が室外に除去されず、残存する。解析したモデルでは発生開始後30分経過後でも、