

- 4) 中村安季、吉野博、吉田真理子、池田耕一、野崎淳夫、角田和彦、北條祥子、吉野秀明、長谷川兼一、石川哲：シックハウスにおける室内空気室と居住者の健康状況に関する調査研究（その 13）—60 軒の住宅に関する統計的解析—、日本建築学会大会学術講演梗概集、pp.893 - p p.894, 2007
- 5) 吉田真理子、吉野博、中村安季、池田耕一、野崎淳夫、角田和彦、北條祥子、吉野秀明、長谷川兼一、石川哲：シックハウスにおける室内空気室と居住者の健康状況に関する調査研究（その 14）—秋田県における 2006 年度室内環境調査結果—、日本建築学会大会学術講演梗概集、pp.895 - p p.896, 2007
- 6) 中村安季、吉野博、吉田真理子、池田耕一、野崎淳夫、角田和彦、北條祥子、吉野秀明、天野健太郎、石川哲：シックハウスにおける居住環境と居住者の健康に関する調査研究、空気調和・衛生工学会大会学術講演論文集、pp.465 - p p.468, 2007
- 7) Sachiko Hojo, Hiroaki Kumano, Satoshi Ishikawa, Mikio Miyata, and Kou Sakabe : Indoor air contaminants as the most common onset factor of multiple chemical sensitivity in Japan , Proceeding I of the 6th International Conference on Indoor Air Quality, Ventilation & Energy Conservation in Building, pp.563- p p.568, 2007
- 8) A.Nakamura, H. Yoshino, M. Yoshida, K. Ikeda, A. Nozaki, K. Kakuta, S. Hojo, S. Ishikawa : Field survey and statistics analysis on IAQ, building performance and occupant' s health of 60 houses in Japan , Proceeding I of the 6th International Conference on Indoor Air Quality, Ventilation & Energy Conservation in Building, pp.535- p p.540, 2007
- 9) 吉田真理子、吉野博、中村安季、池田耕一、野崎淳夫、角田和彦、北條祥子、吉野秀明、天野健太郎、石川哲：居住者の在室時間を考慮した化学物質濃度の健康への影響に関する統計的解析、第 16 回室内環境学会総会講演集、pp.148 - p p.149, 2007

参考文献

- 1) Miller CS, Prihoda TJ : The Environmental Exposure and Sensitivity Inventory (EESI): a standardized approach for measuring chemical intolerances for research and clinical applications. Toxicol Ind Health 15(3-4): 370-385, 1999
- 2) Miller CS, Prihoda TJ: A controlled comparison of symptoms and chemical intolerances reported by Gulf War veterans, implant recipients, and persons with multiple chemical sensitivity. Toxicol Ind Health 15(3-4):386-397, 1999
- 3) 石川哲、宮田幹夫：化学物質過敏症—診断基準・診断に必要な検査法—アレルギー 6 : 990-99, 1998
- 4) Hojo S, Kumano H, et al: Application of Quick Environment Exposure Sensitivity Inventory (QEESI[©]) for Japanese population: study of reliability and validity of the questionnaire. Toxicol Ind Health 19(2-6):41-49, 2003
- 5) Hojo S, Yoshino H, et al: Use of QEESI[©] questionnaire for a screening study in Japan. Toxicol Ind Health 21(5-6):113-124 , 2005
- 6) Hojo S, Ishikawa S, et al: Clinical characteristics of physician - diagnosed patients with multiple chemical sensitivity in Japan. Int J Hyg. Environ Health (in press)
- 7) 石川哲、宮田幹夫、他：化学物質過敏症診断基準について、日本医事新報 No.3857, 25-9, 1998

- 8) [Anonymous.] Consensus on Multiple Chemical Sensitivity. Multiple chemical sensitivity: a 1999 consensus. Arch Environ Health 54(3):147-149, 1999
- 9) Caccappolo E, Kipen H, Kelly-McNeil K, Knasko S, Hamer RM, Natelson B, et al. 2000. Odor perception: multiple chemical sensitivities, chronic fatigue and asthma. J Occup Environ Med 42(6):629-638.
- 10) Doty RL. 1994. Olfaction and multiple chemical sensitivity. Toxicol Ind Health 10(4-5):359-368.
- 11) Dalton P, Hummel T. 2000. Chemosensory function and response in idiopathic environmental intolerance. Occup Med 15(3):539-556.
- 12) Graveling RA, Pilkington A, George JP, Butler MP, Tannahill SN. 1999. A review of multiple chemical sensitivity. Occup Environ Med 56(2):73-85.
- 13) 北條祥子、石川 哲他：日本の化学物質過敏症患者の臨床的特徴—性別、年齢、発症要因、アレルギー疾患、自覚症状、他覚的臨床検査結果— 臨床環境医学、第 16(2)、104-116, 2007.

表 1. QEEESI問診票の 5 つの尺度 (Quick Environment Exposure Sensitivity Inventory)

Q1 化学物質不耐性	Q3 症状	Q5 日常生活の障害の程度
q1_1 車の排気ガス q1_2 タバコの煙 q1_3 殺虫剤・除草剤 q1_4 ガソリン臭 q1_5 ペンキシンナー q1_6 消毒剤・クリーナー q1_7 香料 q1_8 コールタール・アスファルト q1_9 化粧品類 q1_10 新車・室内装飾品臭	q3_1 筋肉・関節 q3_2 粘膜・呼吸器 q3_3 心臓・胸部 q3_4 腹部・消化器 q3_5 思考能力 q3_6 情緒 q3_7 神経・感覚 q3_8 頭部 q3_9 皮膚 q3_10 泌尿性器	q5_1 食事 q5_2 仕事・学校 q5_3 新家具・調度品 q5_4 衣類 q5_5 旅行・ドライブ q5_6 化粧品・防臭剤 q5_7 社会活動 q5_8 趣味 q5_9 家族関係 q5_10 家事
Q2 その他の物質不耐性	Q4 マスキング	
q2_1 水道カルキ臭 q2_2 特定食物 q2_3 習慣性食物 q2_4 食後の不快感 q2_5 カフェイン摂取反応 q2_6 カフェイン中毒反応 q2_7 アルコール q2_8 皮膚接触品 q2_9 医薬品 q2_10 生物学的アレルギー	q4_1 喫煙 q4_2 飲酒 q4_3 カフェイン摂取 q4_4 香料入り化粧品使用 q4_5 殺虫防カビ使用 q4_6 仕事・趣味の化学物質使用 q4_7 受動喫煙 q4_8 開放型燃焼器使用 q4_9 柔軟剤使用 q4_10 服薬	<p>■ Q1, Q2, Q3, Q5 ⇒ 各項目0~10点 (合計100点満点)</p> <p>■ Q4 マスキング ⇒ Yes / No 形式 (合計10点満点)</p>

表 2. QEESI[®]の 40 質問項目の単変数ロジスティック回帰分析

説明変数		B	有意確率	Exp (B)
Q1 化学物質不耐性	q1_1 車の排気ガス	0.28	0.0000	1.322
	q1_2 タバコの煙	0.28	0.0000	1.327
	q1_3 殺虫剤・除草剤	0.35	0.0000	1.424
	q1_4 ガソリン臭	0.31	0.0000	1.364
	q1_5 ペンキシナー	0.36	0.0000	1.431
	q1_6 消毒剤・クリーナー	0.41	0.0000	1.512
	q1_7 香料	0.41	0.0000	1.513
	q1_8 コールタール・アスファルト	0.27	0.0000	1.316
	q1_9 化粧品類	0.45	0.0000	1.563
	q1_10 新車・室内装飾品臭	0.44	0.0000	1.559
	q1合計	0.05	0.0000	1.054
Q2 その他の物質不耐性	q2_1 水道カルキ臭	0.16	0.0028	1.168
	q2_2 特定食物	0.14	0.0026	1.147
	q2_3 習慣性食物	0.12	0.2633	1.128
	q2_4 食後の不快感	0.28	0.0074	1.329
	q2_5 カフェイン摂取反応	0.38	0.0000	1.461
	q2_6 カフェイン中毒反応	-0.53	0.0262	0.590
	q2_7 アルコール	0.12	0.0025	1.129
	q2_8 皮膚接触品	0.18	0.0000	1.194
	q2_9 医薬品	0.26	0.0000	1.303
	q2_10 生物学的アレルゲン	0.15	0.0001	1.158
	q2合計	0.07	0.0000	1.072
Q3 症状	q3_1 筋肉・関節	0.46	0.0000	1.591
	q3_2 結膜・粘膜	0.64	0.0000	1.895
	q3_3 心臓・胸部	0.63	0.0000	1.873
	q3_4 腹部・消化器	0.45	0.0000	1.563
	q3_5 思考能力	0.67	0.0000	1.952
	q3_6 情緒	0.55	0.0000	1.729
	q3_7 神経・感覚	0.61	0.0000	1.838
	q3_8 頭部	0.60	0.0000	1.819
	q3_9 皮膚	0.38	0.0000	1.465
	q3_10 泌尿性器	0.45	0.0000	1.561
	q3合計	0.14	0.0000	1.149
Q5 日常生活の障害の程度	q5_1 食事	0.63	0.0000	1.873
	q5_2 仕事・学校	1.01	0.0000	2.734
	q5_3 新家具・調度品	0.71	0.0000	2.031
	q5_4 衣類	0.41	0.0000	1.514
	q5_5 旅行・ドライブ	0.44	0.0000	1.548
	q5_6 化粧品・防臭剤	0.53	0.0000	1.694
	q5_7 社会活動	0.97	0.0000	2.629
	q5_8 趣味	0.84	0.0000	2.314
	q5_9 家族関係	0.58	0.0000	1.785
	q5_10 家事	0.62	0.0000	1.863
	q5合計	0.17	0.0000	1.183

表 3. 常時曝露化学物質のロジスティック回帰分析

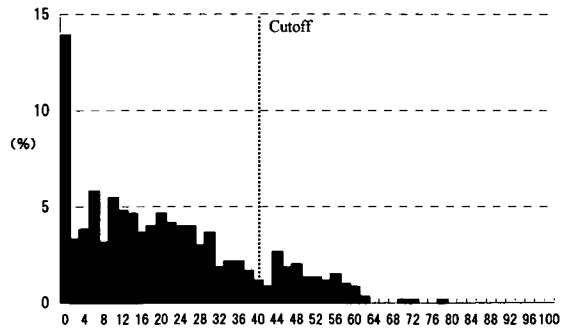
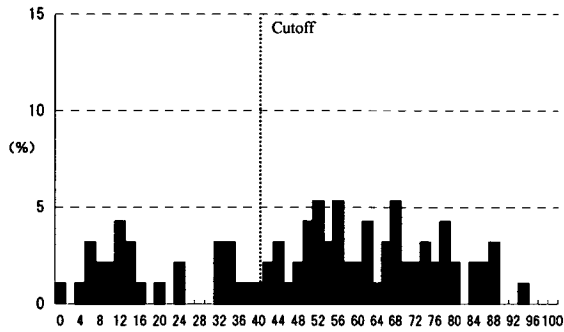
説明変数	有意確率	Exp (B)	Exp(B)の95.0%信頼区間			
			下限	上限		
マスク q4_6 仕事・趣味の化学物質使用	0.000	15.000	8.189	27.475	} オッズ比 1以上	
	q4_5 殺虫防カビ剤使用	0.000	4.725	2.866		7.789
	q4_10 服薬	0.000	3.356	1.908		5.900
	q4_8 開放型燃焼器使用	0.289	1.286	0.808		2.046
	q4_4 香料入り化粧品使用	0.055	0.618	0.378	1.010	} オッズ比 1以下
	q4_7 受動喫煙	0.021	0.573	0.357	0.921	
	q4_1 喫煙	0.032	0.426	0.195	0.931	
	q4_9 柔軟剤使用	0.000	0.360	0.221	0.587	
	q4_2 飲酒	0.000	0.361	0.224	0.582	
	q4_3 カフェイン摂取	0.000	0.261	0.158	0.430	
	q4合計	0.365	1.061	0.933	1.207	

Exp (B):オッズ比

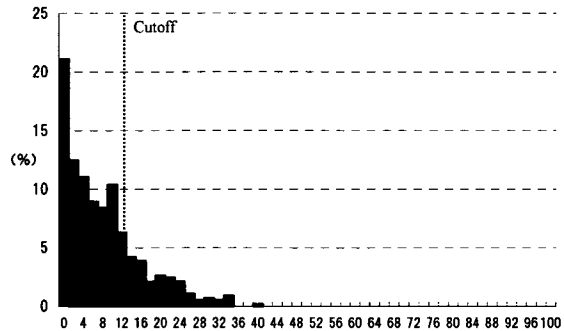
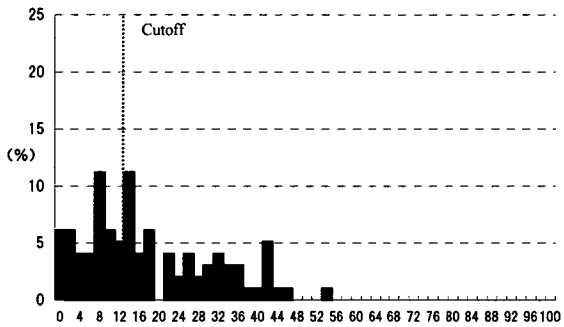
MCS・SHS患者群

対照群

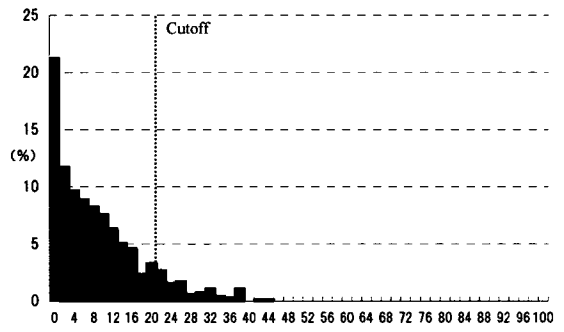
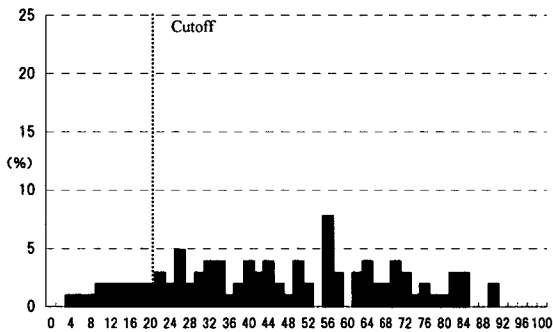
Q1 化学物質不耐性



Q2 その他の物質不耐性



Q3 症状



Q5 日常生活の障害の程度

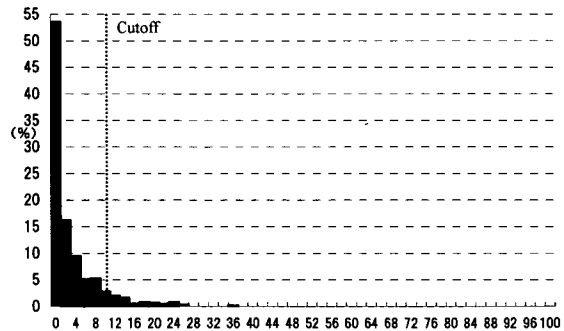
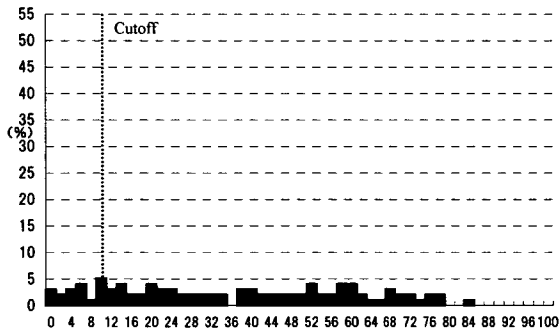
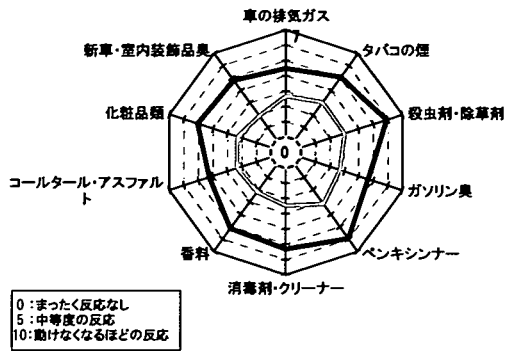
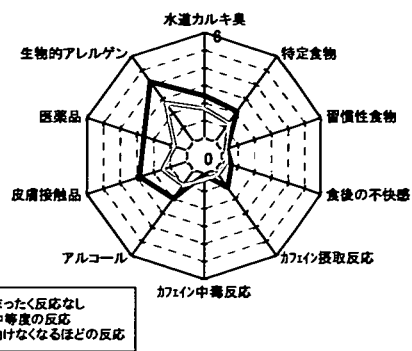


図1. SHS・MCS患者と対照群の下位尺度別合計得点の頻度分布

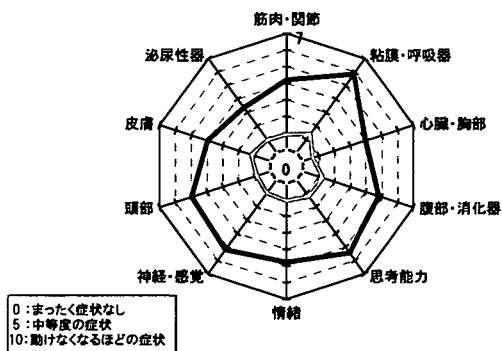
a. Q1 化学物質不耐性



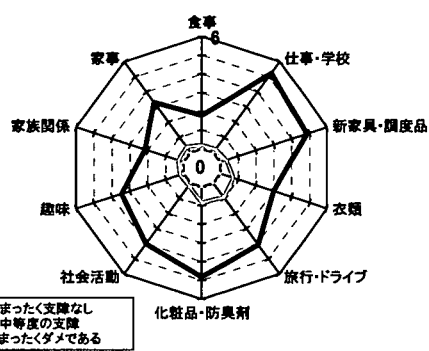
b. Q2 その他の物質不耐性



c. Q3 症状



d. Q5 日常生活の障害の程度

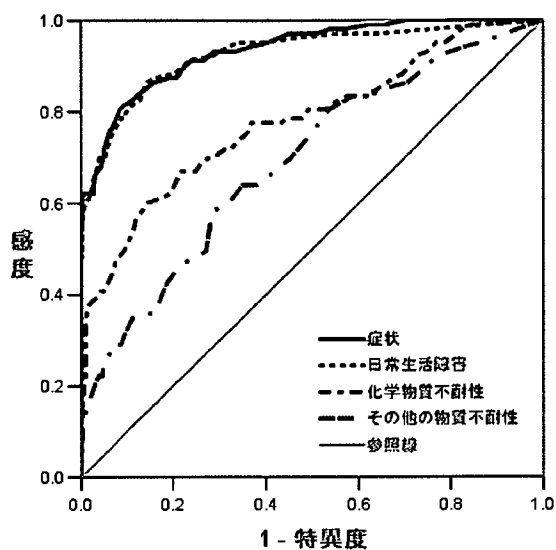


* Q3 順番通り

— MCS
--- Control

図2. SHS・MCS・患者と対照群の下位尺度別レーダーチャート

***: P<0.001 ** : p<0.01 * : p<0.5



Cutoff Point	Cutoff Point	Sensitivity	Specificity	ROC under area
Q1 化学物質不耐性	40	73.4%	69.6%	0.779
Q2 その他の物質不耐性	12	64.1%	64.4%	0.692
Q3 症状	20	84.8%	84.0%	0.935
Q5 日常生活の障害	10	84.8%	85.7%	0.928

図3. 4下位尺度の受信者動作性曲線 (ROC曲線)

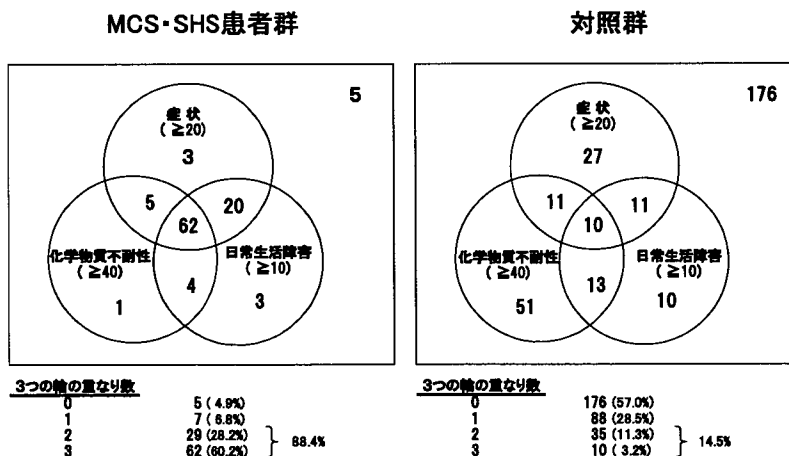
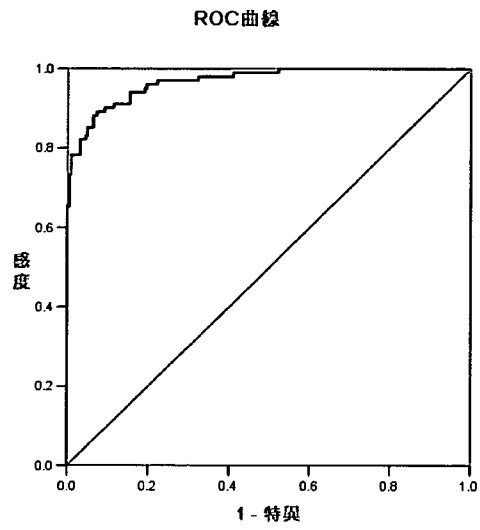


図4. SHS・MCS患者と対照群のカットオフ値による分類



	B	有意差	Exp (B)	Exp(B)の95.0%信頼区間	
				下限	上限
Q1 合計 by 1以上項目	0.028	0.000	1.028	1.013	1.044
Q1 合計 by 1以下項目	-0.016	0.001	0.984	0.975	0.993
Q3 症状	0.102	0.000	1.107	1.063	1.153
Q5 日常生活障害	0.084	0.000	1.087	1.038	1.138

図5. マスキング尺度を考慮した多変量ロジスティック回帰分析

シックハウス症候群の室内環境における発生メカニズムの解明と防止対策技術の検討

MVOC 発生量測定方法の検討と発生特性

分担研究者 池田 耕一 国立保健医療科学院 部長
研究協力者 柳 宇 国立保健医療科学院 室長
研究協力者 鍵 直樹 国立保健医療科学院 主任研究官

研究要旨

本研究では、室内における VOC の発生源として新たに注目されている微生物由来揮発性有機化合物(Microbial Volatile Organic Compounds: MVOC)の発生機構について、生育環境による真菌の成長過程と MVOC の発生量との関係を明らかにすることを目的とした。室内環境中における MVOC の対象物質の選定及び発生量測定方法について、文献調査を行った。また、MVOC 小形チャンバー法の適用性について検討を行い、実際に培地に真菌を生育させ、発生する VOCs の測定を行った。ここでは、真菌種類による発生物質の違い、培地に単体を培養した場合と混合した場合による違いについて検討することとした。

結果として、菌糸の成長段階では、Acetaldehyde 及び 3-methyl-1-butanol が検出された。また、胞子の成長と共に 1-Octen-3-ol, 2-Octanone, 3-Octanol などの物質が検出された。*Aspergillus niger* は、2-methyl-1-Propanol 及び 3-methyl-1-Butanol が 3 日目にピークを持った。いずれも、各真菌の色づく段階と一致し、成長が止まると MVOC の発生もなくなる傾向となった。

A 研究目的

空気汚染物質に関する問題の 1 つに微生物によるものが挙げられる。微生物自体による室内空気質への影響は、喘息、アレルギーを起こすことがある。更に、増殖と代謝の副産物として、アルコール類、ケトン類などの揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds, VOCs) を発生するものがあると報告されていた^{1,2)} (微生物由来揮発性有機化合物 (Microbial VOC; MVOC))。室内における微生物は、栄養源とある程度の湿度があれば容易に発生する。近年の住宅は、建物自体の断熱性、気密性が向上し、換気、湿度、局所的な温熱環境の条件によって、壁、天井、収納を始めとして、高温多湿の気象条件を有する日本においては、地下空間なども微生物が増殖しやすい場所となる。また、空気調和設備は温湿度調整及び室内空気質の維持に使用されるが、エアフィルタやダクトなどの不適切な維持管理によっては、真菌・細菌などの微生物汚染が進行し、室内への浮遊微生物汚染の原因ともなる。同様に MVOC についても、微生物の増殖と共にその発生が起こるとすれば、微生物汚染だけではなく、ガス状物質

の室内濃度上昇の原因ともなり、共に室内空気質へ悪影響を及ぼすことになる。

近年、既往の研究^{3,4)}では、真菌から発生するの MVOC の測定を行っているものを始め、真菌の成長過程と発生物質^{5,6)}について、環境中の湿度の違いによる違い⁷⁾についてなどが報告されている。しかしながら、生育環境による、例えば微生物の栄養源即ち培地による発生物質の違い、真菌の共存状態における発生形態などについて検討したものは少ない。

本研究では、室内における VOC の発生源として新たに注目されている MVOC の発生機構について、生育環境による真菌の成長過程と MVOC の発生量との関係を明らかにすることを目的とした。まず、室内環境中における MVOC の対象物質の選定及び発生量測定方法について、文献調査を行った。また、MVOC 小形チャンバー法の適用性について検討を行い、実際に培地に真菌を生育させ、発生する VOCs の測定を行った。ここでは、真菌種類による発生物質の違い、培地に単体を培養した場合と混合した場合による違いについて検討することとした。

B 研究方法

B-1. MVOC の文献調査

住宅における微生物と VOCs に関する実態調査、MVOC の発生試験を行っている文献について、室内環境分野を中心に既往の研究の調査を行った。

文献調査で必要な項目として、MVOC とされる化学物質の種類に関する知見がある。これにより、対象とする化学物質を特定することで、分析条件を決定することができ、また住宅等の実態調査においては MVOC の存在により、室内環境中の微生物の存在を確認するためにも有効な指標となる。また、微生物から発生する VOCs の測定方法に関する調査も行った。それぞれの特徴を把握することにより、本研究での発生試験の参考とするものである。

B-2. 真菌からの MVOC の測定

1) 対象とする真菌及び栄養源

本研究では、室内に存在する真菌の中から、*Cladosporium Sp.*, *Penicillium Sp.*, *Aspergillus niger* を対象とした。それぞれの真菌を 3 枚の PDA 培地にスパイラルプレーターによりそれぞれ培地一面に塗抹した。また、混合試料については、上記の菌濃度の 1/3 を混合したものを同様に培地に塗抹した。

2) MVOC の測定方法

本研究では真菌の生育過程毎における MVOC 発生量を求めるために、ステンレス製の小形チャンバー(20 L)を用いた。表 1 に示すようにチャンバー内の測定条件は、チャンバー内の湿度を 70~90% に保ち、温度を 25°C に設定した(図 1)。チャンバー内の空気は活性炭を通して清浄化されたもので、流量は 0.167 L/min とした。チャンバー内に上記の試験体を各 3 枚ずつ設置した。測定期間は 14 日間で、定期的に Tenax 捕集剤と DNPH カートリッジを用いて、Tenax は 60 分間で 10 L、DNPH では 90 分で 15 L を捕集し、GC/MS 及び HPLC を用いて定性・定量を行った。

3) 真菌観察方法

真菌の生育状態については、上記捕集後、チャンバーから培地を取り出し、デジタルカメラ及び実態顕微鏡により外観の記録を行った。

表 1 測定条件の概要

チャンバー容積	20 L	
温度条件	25°C	
湿度条件	70~90%Rh	
清浄空気流量	0.167 L/min	
測定期間	14 日間	
捕集流量	Tenax:10 L	DNPH:15 L
捕集時間	Tenax:60 min	DNPH:90 min

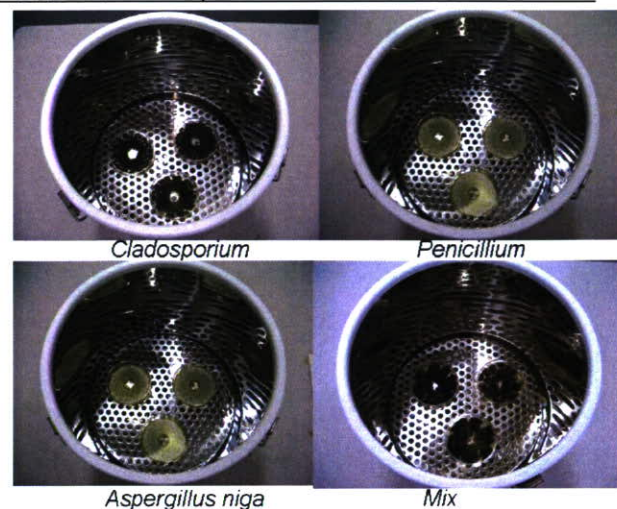


図 1 チャンバー内部での試料の設置状況

C 研究結果

C-1. MVOC の文献調査

付表 1 に各真菌から発生する VOC の文献調査結果を示す。文献によっては、真菌個々から発生する VOCs、室内にある真菌全般から発生する物質についての情報があつた。

主な発生物質として、表 2 に示されている物質が挙げられる。主に 1-octen-3-ol, 2-octen-1-ol, 2-Methyl-1-butanol などのアルコール類, 2-Hexanone, 2-Heptanone, octanone などのケトン類, 3-Methylfron などに加え、アルデヒド類, アルカン類など多岐にわたる。

また、付表 2 には、住宅の実測結果として、高湿度の住宅、真菌などの微生物汚染に曝されている住宅と対照住宅の各 VOCs で優位に異なる物質を挙げたものである。微生物汚染のある住宅について、表 2 に掲載した物質が存在することが確認されている。

これらの物質名について、実際の室内の測定を行うことにより、室内環境中の微生物の存在を確認するためにも有効な指標となるものと考えられる。

真菌からの MVOC の測定方法の概要を付表 3 に示す。培地上及び建材上で生育させた真菌について、20~500mL 程度のバイアル及びガラスフラスコを用いたもの、1L から 24L 程度のガラスチャンバーを用いたもの、アンダーセンサンプラーを応用したもの、20L 小形チャンバーを用いたものなどがあった。バイアルなど小さな容器を密封してその空気を捕集するには、SPME(Solid Phase Microextraction)を用いて、いわゆるヘッドスペース法で気相部分の分析を行っている。この方法は、システム的には他の手法を流用できるので簡便であるが、発生量としては規定が難しい。また、図2に示すようなアンダーセンサンプラーを応用した方法^{3,7)}、気流制御型小形チャンバーを用いた方法⁸⁾などがあった。アンダーセンサンプラーを用いた方法は、培地を各段に設置し、清浄空気を流通させることとなるが、多段とすることで結果的に発生物質を濃縮することが可能であるものの、表面気流が速いために、培地上の真菌への影響が考えられる。また、気流制御型小形チャンバーでは、建材上で発生した真菌により、適切な気流状態で MVOC の発生量を規定することが可能であるが、建材などの平面部材などが対象であり、培地での試験には向かない。

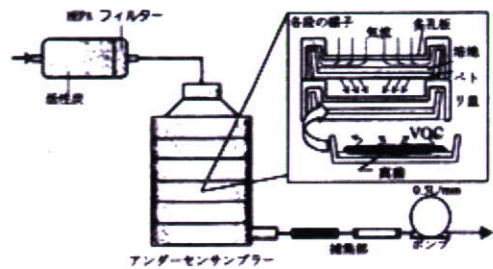
各方法に一長一短があるものの、本研究では JIS A 1901 に記載している小形チャンバー法の 20L 小形チャンバーを用いて行うこととした。発生量の少ないものに対しては不利ではあるが、真菌への気流の影響が少ないこと、温湿度制御が比較的簡便なこと、一般環境に近いこと、培地や建材などからの MVOC の測定もできることなどが有利な点として挙げられる。

C-2. 真菌からの MVOC の測定

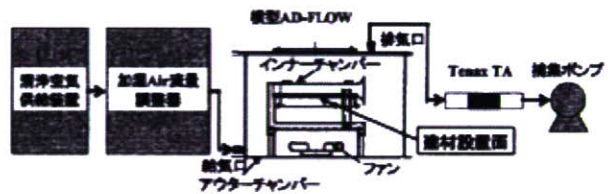
図3に各真菌の成長の様子について示す。いずれも2日目までは菌糸の成長が認められ、その後 *Penicillium Sp.* 及び *Aspergillus niger* については3日目以降、*Cladosporium Sp.* は4日目以降から孢子の色づきが確認された。また、*Penicillium Sp.* については9日目以降に更に青く色づいた。混合試料については、*Aspergillus niger* の成長が支配的で、*Cladosporium Sp.* 及び *Penicillium Sp.* の割合は少なかった。

表2 既往の研究による MVOC の物質名

種類	物質名
Alcohols	Ethanol, 1-Butanol, 1-pentanol, 2-pentanol, 1-hexanol, 2-propanol, 3-octanol, 2-ethyl-1-hexanol, 2-methyl-1-butanol, 3-Methyl-1-Butanol, 1-Octen-3-ol, 2-octen-1-ol
Ketones	Acetone, 2-Butanone, 2-Heptanone, 2-Pentanone, 3-Octanone, 4-methyl-2-pentanone, Methyl Isobutyl Ketone,
Furans	2-methylfuran, 3-methylfuran
Alkanes	2-Methyl-butane, Heptane, Isoprene
Limo, pinene	Limonene, Pinene
Aldehydes	Acetaldehyde, Benzaldehyde, Formaldehyde
Acids	Acetic acid, Hexanoic acid
Benzenes	Acetophenone, Benzene, Butylated hydroxytoluene, Styrene, Xylenes, Phenol
Sulfides	Dimethyl disulfide, Dimethyl disulfide, Dimethyl tetrasulfide, Dimethyl trisulfide, dimethyldisulfide,

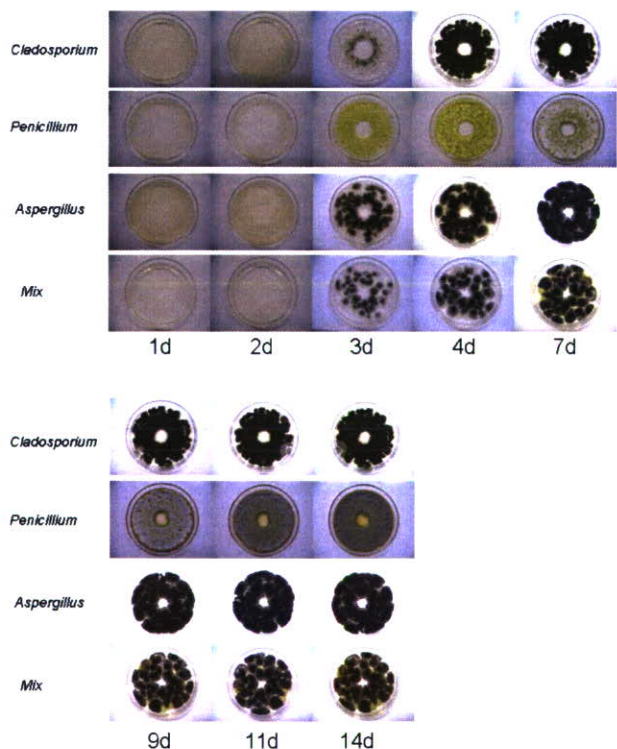


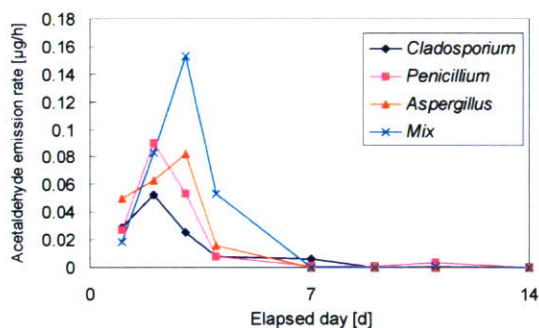
a) アンダーセンサンプラを応用した方法



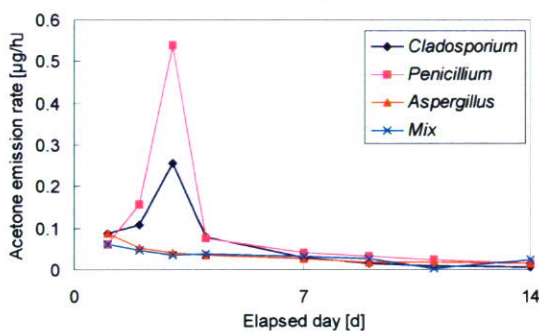
b) 気流制御型チャンバーを応用した方法

図2 MVOC 発生量の測定方法





a) Acetaldehyde



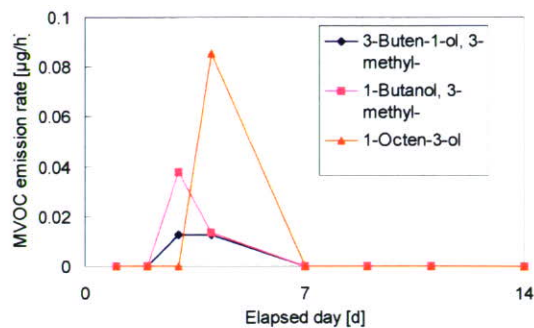
b) Acetone

図4 真菌別のアセトアルデヒドの発生速度

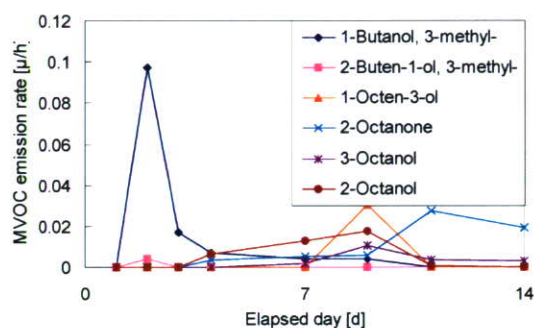
3.2 MVOC の発生量の変化

図4に各真菌より発生した Acetaldehyde 及び Acetone の経時変化を示す。Acetaldehyde については、各真菌とも2,3日目にピークを持ち、7日目以降は検出されなかった。また、Acetone については、*Cladosporium Sp.*及び*Penicillium Sp.*で3日目にピークを有し、以後減衰した。2日目はどの真菌も胞子が色づいておらず、目には見難い菌糸の成長段階でも VOC が発生していることが明らかとなった。

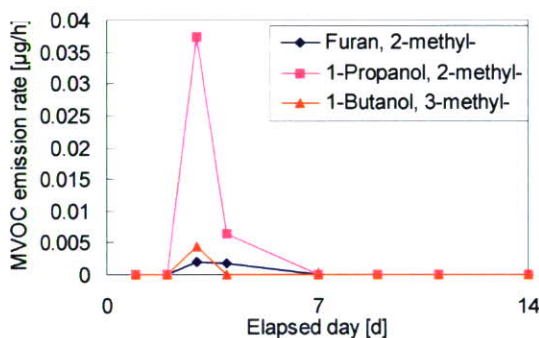
図5に各試料のその他の MVOC の発生量と経過日数の関係を示す。*Cladosporium Sp.*では、3-methyl-1-Butanol が3日に、1-Octen-3-ol が4日目にピークを持ち、*Penicillium Sp.*は、7日目以降に1-Octen-3-ol, 2-Octanone, 3-Octanol なども検出された。また、*Aspergillus niger* は、2-methyl-1-Propanol 及び3-methyl-1-Butanol が3日目にピークを持った。いずれも、各真菌の色づく段階と一致し、その後減衰する傾向であった。混合試料については、*Aspergillus niger* の発生物質が支配的となった。



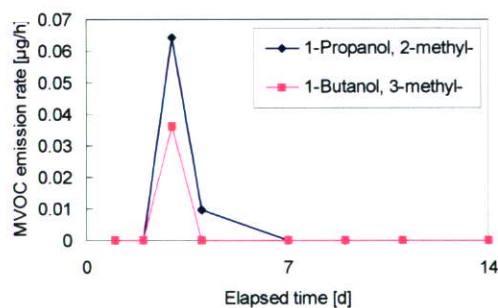
a) *Cladosporium Sp.*



b) *Penicillium Sp.*



c) *Aspergillus niger*



d) 混合試料

図5 各真菌と MVOC の発生量と経過日数

D 考察

MVOC の具体的な物質に関する文献調査による物質について、本方法によって検出することが可能であることが分かった。また、他の研究では、どの時点で MVOC として発生するかについて、

詳細な検討は行われていないが、本研究により、成長過程において多くの MVOC が発生し、その後色づいている状態であっても、成長が停止した段階では発生量は少なくなっていることが確認された。

既往の研究⁶⁾では、培地に1又は3点接種したところ、断続的に MVOC の発生が認められているが、これは培地表面に真菌が周囲に広がりながら成長しているため、長期に検出されたものと考えられる。今回の条件では、培地上で同時に成長していることから、成長が止まると MVOC の発生もなくなる傾向となった。よって、真菌からの MVOC の発生は、真菌の成長と大きく関係しており、成長が止まると MVOC の発生が減衰する傾向となった。

E 結論

真菌からの MVOC 発生量について、真菌の成長との関連を考慮に入れ、小形チャンバーを用いてその関係について把握することを目的として、以下の結果を得た。

- 1) 小形チャンバーを用いた方法により、培地上の真菌から発生する MVOC を測定することが可能であった。
- 2) 菌糸の成長段階では、Acetaldehyde 及び 3-methyl-1-butanol が検出された。また、胞子の成長と共に 1-Octen-3-ol, 2-Octanone, 3-Octanol などの物質が検出された。
- 3) *Aspergillus niger* は、2-methyl-1-Propanol 及び 3-methyl-1-Butanol が3日目にピークを持った。
- 4) いずれも、各真菌の色づく段階と一致し、成長が止まると MVOC の発生が減衰する傾向となった。

今後は、培地の種類を変えることにより栄養源の違いによる発生物質の変化、実建材上での成長と MVOC の発生について検討を行う。

F 健康危険情報

なし。

G 研究発表

なし。

H 知的財産権の出願・登録状況

なし。

参考文献

- 1) E. Kaminski et al.: Volatile flavor compounds produced by molds of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fungi imperfecti*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 24, 1974
- 2) T. Borjesson et al.: Volatile metabolites and other indicators of *Penicillium aurantiogriseum* growth on different substrates, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1990
- 3) 朴俊錫ほか：真菌由来揮発性有機化合物による空気調和機汚染に関する研究，日本建築学会計画系論文集，pp.43-48，2002
- 4) 朴俊錫，池田耕一：居住空間における真菌由来揮発性有機化合物による室内空気汚染に関する研究，日本建築学会計画系論文集，pp.61-66，2004
- 5) K. Fieldler et al.: Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 204, 111-121, 2001
- 6) 鍵直樹ほか：真菌の成長過程と MVOC 発生量の関係，日本建築学会学術講演梗概集，pp. 897-898，2006.9
- 7) 中村美咲ほか：室内環境中の微生物発育速度・MVOC 放散のモデリングと数値予測手法の開発（第5報）3種類の真菌を対象とした MVOC 放散フラックスの測定，空気調和・衛生工学会大会学術講演論文集，pp.2033-2036，2006
- 8) 弘瀬将光ほか，建材における真菌起源揮発性有機化合物(MVOC)の放散量の測定，日本建築学会学術講演梗概集，895-896，2006

付表1 各真菌から発生する VOC の文献調査結果

物質名	真菌名	文献
Ethanol	<i>Candida Albicans</i> <i>Fusarium Oxysporum</i> <i>Rhizopus Stronifer</i> <i>Trichosporon Cutaneum</i> <i>Eurotium herbariorum</i>	朴俊錫, 池田耕一, :日本建築学会計画系論文集:2002 水野優ほか, 日本建築学会大会学術講演梗概集:2005
2-Methyl-butane	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Cladosporium Sphaerospermum</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003
2-Butanone	<i>Alternaria Alternata</i> <i>Penicillium Sp</i> <i>Rhizopus Stronifer</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003
Ethylacetate	<i>Candida Albicans</i> <i>Fusarium Oxysporu</i> <i>Rhizopus Stronifer</i> <i>Trichospron Cutaneum</i> <i>Trichoderam Sp.</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003
2-Methyl-1-Propanol	<i>Alternaria Alternata</i> <i>Aspergillus Flavus</i> <i>Aspergillus Terres</i> <i>Candida Albicans</i> <i>Fusarium Oxysporum</i> <i>Penicillium Oxalicum</i> <i>Penicillium Sp</i> <i>Rhizopus Stronifer</i> <i>Trichospron Cutaneum</i> <i>Trichoderam Sp.</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003 K.Wilkins et al.: MVOC ANALYSIS FOR DETECTION OF MICROBIAL GROWTH IN BUILDINGS II. A NEW SAMPLING METHOD?: Indoor air 99 vol4:1999
1-Butanol	<i>Candida Albicans</i> <i>Rhizopus Stronifer</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003 C.W.Bayer et al.: FUNGAL METABOLIC BY-PRODUCTS AS A MEASURE OF BIOCIDES EFFECTIVENESS: Indoor air 99:1999
3-Methyl-1-Butanol 2-Methyl-1-Butanol	<i>Candida Albicans</i> <i>Fusarium Oxysporum</i> <i>Rhizopus Stronifer</i> <i>Trichospron Cutaneum</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫ほか, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003
1-Octen-3-ol	<i>Penicillium Oxalicum</i> <i>Eurotium herbariorum</i> <i>Aleternaeia alternate</i> <i>Aspergillus penicillioides</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 朴俊錫, J.Aerosol Res.,18:2003 水野優ほか, 日本建築学会大会学術講演梗概集:2005
Thujopsene	<i>Alternaria Alternata</i> <i>Trichospron Cutaneum</i>	朴俊錫, 池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002
2-Pentanone	Cl.属 P.属 A.属 Al.属 <i>Eurotium herbariorum</i>	朴俊錫ほか, :日本建築学会計画系論文集:2002 水野優ほか, :日本建築学会大会学術講演梗概集:2005
Methyl Isobutyl Ketone	Cl.属 P.属 A.属 Al.属	朴俊錫ほか, 日本建築学会計画系論文集:2002 C.W.Bayer et al.: FUNGAL METABOLIC BY-PRODUCTS AS A MEASURE OF BIOCIDES EFFECTIVENESS: Indoor air 99:1999
3-Octanone	<i>Aleternaeia alternate</i> <i>Aspergillus penicillioides</i>	水野優ほか, 日本建築学会大会学術講演梗概集:2005

3-Octanol	<i>Eurotium herbariorum</i>	水野優ほか, :日本建築学会大会学術講演梗概集:2005
Dimethyl disulfide 4-methyl-2-pentanone Hexanal 2-heptanone+unknown Dimethyl trisulfide 2-ethylhexanol Hexanoic acid Dimethyl tetrasulfide		K.Wilkins et al.: MVOC ANALYSIS FOR DETECTION OF MICROBIAL GROWTH IN BUILDINGS II.A NEW SAMPLING METHOD?: Indoor air 99 vol4:1999
2-Ethyl-1-hexanol Acetaldehyde Acetic acid Acetone Acetophenone Benzaldehyde Benzene Butylated hydroxytoluene Formaldehyde Phenol Xylenes		C.W.Bayer et al.:FUNGAL METABOLIC BY-PRODUCTS AS A MEASURE OF BIOCIDES EFFECTIVENESS:Indor air 99:1999
1-octen-3-ol 2-octen-1-ol 3-methylfuran		D. Norbak et al., Indoor Air 5, 166-170, 1995
4-Allylanisole 2-Heptanone 3-Methyl-1-butanol 1-Octen-3-ol	<i>Penicillium brevicompactum</i>	J. Bjurman, et al., Indoor Air 7, 2-7, 1997
2-ethyl-1-hexanol 1-octen-3-ol 2-pentanone 2-hecanone 2-heptanone 3-octanoene 2-methyl furan	<i>Aspergillus versicolor</i>	P. Pasanen et al, Environ. Int. 23, 325-432, 1997
2-hecanone limonene 2-pentanone 1-octen-3-ol	Dust	A. Korpi et al., Int. Biodeterior Biodegradation 40, 19-27, 1997
3-methyl-1-butanol limonene acetone 3-methyl-2-butanol 1-octen-3-ol 1-hexanol	建材上の真菌	A. Kope et al., Appl. Environ. Microbiol 64, 2914-2919, 1998
2-propanol 2-methyl-1-propanol	<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Stachybotris chartarum</i> <i>Trichoderma viride</i>	K. Wilkins et al., Chemosphere 41, 437-446, 2000
Heptane Isoprene Octatrienes Styrene Phenols Anisoles	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus versicolor</i> 369 <i>Aspergillus versicolor</i> 995 <i>Aspergillus niger</i> 193 <i>Aspergillus ochraceus</i> 2399 <i>Fusarium solani</i> 40.1	K. Fiedler et al., Int J. Hyg. Environ. Health 204, 111-121, 2001

1-octen-3-ol 3-octanol geosmin aldehydes ketones esters β -myrcene β -farnesene dimethylsulfide dimethyldisulfide	<i>Mucor sp.</i> <i>Penicillium claviforme</i> <i>Penicillium expansum</i> 492 <i>Penicillium expansum</i> 298 <i>Trichoderma harzianum</i> 201	
2-pentanol 2-methyl-1-butanol 2-heptanone 1-octen-3-ol 3-octanone	<i>S. chartarum</i> , <i>A. penicillioides</i> <i>C. globusum</i>	L. Wady et al., J. Microbiological Methods 52, 325-332, 2003
2-methyl-1-propanol 3-methyl-1-butanol 2-methyl-1-butanol 3-octanol 1-octen-3-ol 1-hexanol 1-pentanol 2-methyl-isoborneol Geosmin Limonene Pinene 3-octanone 2-heptanone 2-pentanone 3-methylfuran Dimethyl disulfide	文献調査による	M. Kuske et al., Building & Environment 40, 824-831, 2005
2-pentanone (1) 2-heptanone (1) 2-heptanol (1) 1-octen-3-ol (1,2) 3-octanone (1,2) 3-octanol (1)	1) <i>Trichoderma Sp.</i> 2) <i>Aspergillus niger</i>	鍵直樹, 柳宇, 池田耕一ほか, 日本建築学会講演梗概集, 897-899, 2006
1-octen-3-ol (1,2,3) 2-butanone (3) 2-methyl-1-propanol (1,2,3) 3-octanone (1,2) 3-methyl-1-butanol (2,3)	1) <i>Aspergillus penicillioides</i> 2) <i>Aspergillus niger</i> 3) <i>Penicillium citrinum</i>	中村美咲, 水野優, 伊藤一秀, 空気調和・衛生工学会大会学術論文集, 2033-2036, 2006

付表2 室内空気の実測により対象とされた物質

測定対象物質	調査項目	文献
1-octen-3-ol, 2-octen-1-ol, 3-methylfuran	水性塗料を使用した住宅での実測	D. Norbak et al., Indoor Air 5, 166-170, 1995
3-Methylfuran, 3-Methylbutan-1-ol, 3-Methylbutan-2-ol, Pentan-2-ol, Hexan-3-ol, Heptan-2-one, Octan-3-one, Octan-3-ol, Oct-1-en-3-ol, Oct-2-en-1-ol, Geosmine, Dimethyl disulfide, Butan-1-ol, 2-Methylpropan-1-ol, ethyl	Moldy building の測定	B. Wessen et al., Analyst, 121, 1203-1205, 1999

isobutyrate, Thujopsene, Karveol, Terpeneol, Endoborneol, Fenchlone, Nonan-2-one, 2-Pentylfuran, 4-Methylheptan-3-one		
3-methylbutan-1-ol, heptan-2-one, hecane-2-one, octane-3-ol, pentan-2-ol, α -terpineol	住宅の実測より mold formation ありで有意に高い物質	K. Elke et al., Environ. Montl.,445-452, 1999
	湿潤住宅と対照住宅で検出確率を比較	A. Nisson et al., Indoor Air 14, 74-82, 2004
2-hexanone, 2-heptanone, 1-octen-3-ol, 3-octanone, methyl benzoate	文献調査により対象物質選定 室内 Dust を石膏ボードに植え付け	L. Wady, L.Larsson, Indoor Air 2005, 15 (Suppl 9), 27-32, 2005
n-Butanol, isobutanol, 1-Octen-3-ol, 3-Methylfran, 3-Methyl-1-butanol, 2-Pentanol, Dimethyl disulfide, 2-Hexanone, 2-Heptanone, 2-Methyl-1-butanol, Ethyl isobutyrate, Ethylisobutyrate, Ehyl-2-metylbutyrat, 2-Pentylfurab	航空機内の測定, 微生物濃度と MVOC 濃度を高湿度環境と対照群で解析	T. Lindgren, D. Norback, G. Wieslander, Indor Air 17, 204-210, 2007

付表3 微生物から発生する MVOC の測定方法の文献調査

使用チャンパー概要	対象材料	測定条件	文献
1 L ガラスチャンパー	表面に植菌した木質建材	相対湿度 100%	J. Bjurman, et al., Indoor Air 7, 2-7, 1997
24 L ガラスチャンパー	培地	—	A. Kopi et al., Appl. Environ. Microbiol 64, 2914-2919, 1998
1 L ガラスフラスコ	MEA 培地, カードボード, プラスターボード	—	K Wilkins et al., Chemsphere 41, 437-446, 2000
500mL フラスコ SPME ヘッドスペース法	MEA, YGC 培地	—	K Giedler et al., Int. J. Hyg. Environ. Health 204, 111-121, 2001
アンダーセンサンプラーを応用	アンダーセンサンプラーの格段に培地を配置	温度 25℃ 相対湿度 60%	朴俊錫・池田耕一, 日本建築学会計画系論文集:2002 水野優ほか, :日本建築学会大会学術講演梗概集:2005 中村美咲ほか, 空気調和・衛生工学会大会学術論文集, 2033-2036, 2006
20mL バイアル SPME ヘッドスペース法	DG18 建材 (2-4cm ² , 200-300mg)	—	L. Wady et al., J. Microbiological Methods 52, 325-332, 2003
SPME バイアル SPME ヘッドスペース法	MEA 培地	—	L. Wady, L.Larsson, Indoor Air 2005, 15 (Suppl 9), 27-32, 2005
チャンパー	10x10cm ² 建材	23±1℃	H. Schleichinger et al., Indoor Air, 15 (Suppl 9), 98-104, 2005
100mL ガラスバイアル SPME ヘッドスペース法	MEA 培地	—	J.M Scotter et al., J. Microbiological Methods 63, 127-134, 2005
気流制御型チャンパー AD-FLOW	塩ビクロス, 調湿建材 (147x147mm ²)	温度 28℃ 相対湿度 88%	弘瀬将光ほか, 日本建築学会学術講演梗概集, 895-896, 2006
ステンレス小形チャンパー 20L	PDA 培地	温度 25℃ 相対湿度 70-90%	鍵直樹, 柳宇, 池田耕一ほか, 日本建築学会講演梗概集, 897-899, 2006

シックハウス症候群の診断・治療法及び具体的対応方策に関する研究
『有機リン剤の摘出家兎瞳孔平滑筋に対する作用と眼内移行』

分担研究者 石川 均 北里大学医療衛生学部視覚機能療法学 教授
協力研究者 石川 哲 北里研究所 顧問
眞下紀美代 北里大学医学部眼科
浅川 賢 北里大学大学院医療系研究科感覚・運動統御医科学群
視覚情報科学

研究要旨

シックハウス症候群の原因物質と考えられている有機リンは殺虫剤、農薬など我々の身近で使用されている。シックハウス症候群では瞳孔・調節異常、脳血流異常が出現するがそのメカニズムは明らかでない。今回我々は有機リンの作用を検討するため摘出白色、有色家兎瞳孔括約筋、散大筋の筋収縮（当尺性収縮）を記録しその影響を検討した。また有機リンを実際に家兎結膜下に注射しその前後で瞳孔径を計測した。

オーガンバス中に懸垂した家兎瞳孔括約筋はフィールド刺激により早い成分の収縮（コリナージック）とゆっくりした成分の収縮（Substance P-ergic）の2相性の収縮を示した。有機リン（DDVP）投与によりコリナージックな収縮は増強したが Substance P-ergic な収縮へ影響はなかった。さらに瞳孔散大筋はフィールド刺激により一過性の早い収縮が惹起されたが DDVP はその収縮には影響を及ぼさなかった。一方、結膜下に投与した DDVP（0.2mg）は瞳孔径に変化を及ぼさなかった。

以上の結果より DDVP は瞳孔括約筋においてアセチルコリンエステラーゼ抑制作用により収縮を増強させることが判明した。しかし実際に生体の結膜下注射では瞳孔の縮瞳は誘発されなかった。この結果は有機リンの眼内移行の低さ、眼球に存在する血管・網膜関門（バリア）、血管・房水関門機能、眼内での房水の流れ、色素への沈着、有機リンの性質（水溶性、脂溶性）などが関与しているものと考えられた。

今後、瞳孔、瞳孔反応もしくは調節を用いてのシックハウス症候群の診断には注意を要すると考えられた。

A. 研究目的

シックハウス症候群を引き起こす代表的なもののひとつである有機リンは殺虫剤、農薬など我々の身近で使用されている。シックハウス症候群では瞳孔・調節異常、脳血流異常が出現することが知られている^{1, 2)}。急性有機リン中毒では多くの場合、瞳孔は縮瞳することが知られているが、慢性中毒では瞳孔径はさまざまに一定せず、その詳細なメカニズムも解明されていない。有機リン中毒での瞳孔反応メカニズムを解明しシックハウス症候群の診断に役立て

るため昨年度、我々は摘出家兎瞳孔括約筋、毛様動脈を用い抗アセチルコリンエステラーゼ薬の作用を検討した。その結果、可逆性抗アセチルコリンエステラーゼ薬はフィールド刺激による瞳孔括約筋の収縮を増強させた。すなわち神経末端から放出されるアセチルコリンエステラーゼの分解を抑制し収縮を増強させたものと考えられる。一方、摘出毛様動脈標本はフィールド刺激による弛緩が一部は増強、一部は減弱した。

本年度、水溶性有機リン系薬物である DDVP

(ジクロロボス)を用い白色、有色家兎摘出瞳孔括約筋および摘出瞳孔散大筋を用い *in vitro* にてその作用を検討した。さらに DDVP を直接白色家兎結膜下に注射し瞳孔径の変化を測定したので合わせて報告する。

B. 研究方法

実験は北里大学医学部実験動物ガイドラインに沿って行った。白色雄性家兎(体重2~3 Kg)、有色雄性家兎(体重2~2.5Kg)を用いた。

(1) *In vivo* Experiment

家兎を固定器にて固定後、塩酸リドカイン(点眼キシロカイン®)4%を点眼。片眼の結膜下に DDVP (0.2mg/kg) を注射し、反対眼に同量の生理食塩水を注射(写真1)。注射直後、10分、30分、60分、180分後に瞳孔径を測定した。瞳孔を撮影し caliper の長さより瞳孔径を比例計算し算出した(写真2)。

(2) *In Vitro* Experiment

過剰量のペントバルビタールナトリウム(ネンブター®)を耳静脈から注射し屠殺後、眼球および球後組織を摘出。摘出した眼球は直ちに角膜を除去後、95%O₂、5%CO₂にて通気され37°Cに保温されたクレブス液(NaCl 94.8, KCl 4.7, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, Glucose 11.7 単位:mM)中に保存した。

瞳孔平滑筋条片作成

顕微鏡下で幅1~2mmのリング状瞳孔括約筋条片、幅2~3mmの散大筋条片を作成した(図1)。これらの標本の両端を絹糸で結び、一端を灌流槽に固定、他端を mechanotransducer (Nippon Korden CO、EF-601 G) に接続し、当尺性収縮記録法を用いて機械的反応を測定した(図2)。作製した筋条片は容量1.5mlのクレブス液で満たされた灌流槽に縦方向に設置した。灌流槽は常に酸素(95% O₂、5% CO₂)で通気し、37°Cに保温したクレブス液を持続的に(0.3 ml/sec)灌流した。瞳孔括約筋には100mg、瞳孔散大筋には50mgの初期張力を加え、矩形波パルス通電を灌流槽中の一對の塩化銀電極を通して行いフィールド刺激とした。用いた矩形波パ

ルスの強さは100V、パルス幅は0.1~0.8 msecで、20Hzで頻回刺激を行った。刺激間隔は通常5分に設定した。安定した収縮が得られることを確認した後、実験を開始した。結果は全く前処置を行わない状態で得られたフィールド刺激による収縮を100%として計算した。統計処理には Student's *t* test を用い $P < 0.05$ を有意とした。

C. 研究結果

(1) 瞳孔径計測

白色家兎生食注射眼(対象眼)の注射前平均瞳孔径は5.3mm、DDVP注射眼(注射眼)の平均瞳孔径は5.4mm、有色家兎のそれは両眼とも5.2mmであった。両眼の間に有意差はなく、すなわち左右の瞳孔不同はなかった。図3に注射後の瞳孔径の変化を示す。両眼とも注射前と比較し計測したすべての時点で瞳孔径の有意な変化は認められなかった。

(2) 瞳孔平滑筋

灌流槽中へ固定された瞳孔括約筋、散大筋条片は初期張力を与えた後、徐々に弛緩し平衡状態となった。括約筋は外因性に投与したカルバコールにて、散大筋はフェニレフリンにて用量依存的に収縮した(結果示さず)。さらに括約筋はフィールド刺激により一過性の早い収縮とそれに続くゆっくりとした収縮を、散大筋は一過性の早い収縮を示した(図4, 5)。これらのフィールド刺激による収縮はテトロドトキシン(TTX; 1μM)前投与により消失するため標本に残存する神経末端を刺激し神経伝達物質を放出させ収縮するものと考えられる。すなわちフィールド刺激により括約筋はアセチルコリン、散大筋はノルエピネフリンが放出され収縮が惹起されたものである。さらに詳細に検討すると括約筋において早い収縮はアトロピン(10μM)により抑制され、ゆっくりとした収縮は Substance P の拮抗薬である spantide (100nM) により抑制された(平成18年度報告)。ここに1μMのDDVP(有機リン)を投与すると一過性の早い収縮すなわちコリナージックな反応が徐々に増大した。増加量は白色家兎 176.6±3.7% (n=4)、有色家兎 158.2±1.5% (n=6) であった。収縮の増加量