

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

興行場における衛生的な環境確保のための研究
映画館の映画上映中の浮遊と落下粒子状物質の実態調査

研究分担者 柳 宇 工学院大学 建築学部 教授

研究要旨

2023年夏期に4D映画13上演、2D映画10上映の計23の映画上映中における落下細菌・真菌と粒径別浮遊微粒子濃度、映画上映後の床面付着細菌・真菌と4D映画館のミスト噴出口表面の付着細菌叢の測定と解析を行った。本研究で得られた主な結果は次に示す通りである。① 4D映画上映中の浮遊粒子濃度の上昇はエフェクトによるものである。全体的に2Dより4Dの $<1\mu\text{m}$ と $>1\mu\text{m}$ の浮遊粒子濃度が有意に高かった。② 落下細菌については、夏期が冬期と同様に2D上映中より4D上映中の方が有意に多かった。③ 落下真菌については、1時間の曝露でも数cfuしか検出されなかった。また、1時間の曝露で落下細菌は0~60cfuしか検出されていないことから、従来の10分間の曝露では映画館内の浮遊細菌と浮遊真菌濃度の評価は難しい。④ 湿潤環境を好む細菌と真菌がミストの噴出口表面と床面から優位的に検出されたことから、ミストの給水システムが何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究では、映画上映中の浮遊と落下粒子状物質の実態を把握するために、4D映画と2D映画上映時間帯の粒径別浮遊微粒子、落下細菌と落下真菌、上映前後の浮遊細菌と浮遊真菌、床面とミスト噴出口表面の付着細菌と付着真菌の測定を行った。

昨年度では、2022年11月（冬期）の浮遊粒子と生菌の測定結果について報告した。ここでは、2023年の8月と9月（夏期）に実施した同様な浮遊粒子、生菌、菌叢の測定結果について報告する。

B. 研究方法

B1. 浮遊粒子と生菌

2023年8月23日に東京都内にある映画館D、9月23日に千葉県内にある映画館E、29日東京都内にある映画館Cを対象に測定を行った。測定当日各映画館上映別の鑑賞者数を表1~表3に示す。

表1 映画館Cの席数と鑑賞者数

	ID	上映状況	鑑賞者数
鑑賞人数 (測定員数)	C1	4D 上映1	36
		4D 上映2	26
		2D 上映3	27
		2D 上映4	23
		4D 上映5	34
	C2-1	2D 上映1	34
	C2-2	2D 上映2	71
	C2-3	2D 上映3	58

表2 映画館Dの席数と鑑賞者数

	ID	上映状況	鑑賞者数
鑑賞人数 (測定員数)	D1	4D 上映1	11
		4D 上映2	36
		4D 上映3	24
		4D 上映4	17
		4D 上映5	16
	D2-1	2D 上映1	41
	D2-2	2D 上映2	19
	D2-3	2D 上映3	27

表 3 映画館 E の席数と鑑賞者数

	ID	上映状況	鑑賞者数
鑑賞人数 (測定員数)	E1	4D 上映1	9
		4D 上映2	46
		4D 上映3	96
		4D 上映4	34
		4D 上映5	62
	E2-1	2D 上映1	25
	E2-2	2D 上映2	51
	E2-3	2D 上映3	24

浮遊粒子、細菌（落下細菌、付着細菌、浮遊細菌）と真菌（落下真菌、付着真菌、浮遊真菌）の測定方法や微生物の培養方法などは昨年と同様であった。

B2. 細菌叢と真菌叢

B2.1. DNA 抽出

付着菌のサンプルを採取した後、綿棒をストマッカー（MiniMix 100 P CC Interscience）で処理し、3 mL の DNA フリー水とサンプル溶液 2 mL を合わせ、ストマッカーBiomaster 装置で DNA を抽出した。その後、処理したサンプルをストマッカーバッグから取り出し、1.5 mL 試験管に入れ、4 °C、3000 rpm で 30 分間遠心分離（KUBO-TA5911）して細菌を抽出した。NucleoSpin®Tissue キット（740952、MACHERY-NAGEL）を用い、ボルテックスミキサーで処理液を混合することにより、DNA を精製した。

B2.2. DNA の増幅と塩基配列の決定

各サンプルについて、細菌は 16S リボソーム RNA（rRNA）遺伝子の可変領域 4（V4）、真菌は ITS2 領域の解析を行った。

B2.3. DNA の塩基配列と解析

DNA の品質は Agilent 2200 TapeStation を用いて確認し、解析に必要な品質と量の核酸濃度を含むすべてのサンプルを解析した。生成した配列ライブラリーを結合し、再増幅した PCR 産物を AMPure XP ビーズ（ビーズ量比 1 : 1）で精製し、配列ライブラリーの品質を向上させた。データ解析は QIIME（Ver.1.9.0、Silva 132 Database）を用いて行った。

B3. 統計解析方法

本研究では、4D 映画館と 2D 映画館の粒子径別浮遊粒子濃度および生菌（落下細菌・付着細菌・浮遊細菌；落下真菌・付着真菌・浮遊真菌）の違いについて、統計ソフト SPSS Statistics Ver29 を用いたマン・ホイットニーの U 検定を行った。データは中央値および四分位範囲、平均値で表示した。統計的に有意水準を $p < 0.05$ とした。β 多様性は、重み付け UniFrac 距離を用いた主座標分析（PCoA）により示す。なお、各サンプルの菌叢を比較するために、重み付けの UniFrac 距離行列を算出した。

C. 研究結果

C1. 粒径別浮遊粒子濃度

昨年度の報告書に、エフェクトによる浮遊粒子濃度上昇が確認されたことを述べている。ここでは、夏期の測定結果について述べる。

図 1 と図 2 に夏期における 4D と 2D 映画上映中の粒径別浮遊粒子濃度を示す。D 映画館の $> 1\mu\text{m}$ においては、4D スクリーンと 2D スクリーンの間に有意な差が認められなかった。それを除いた全ての画館では、2D 映画より 4D 映画の $< 1\mu\text{m}$ と $> 1\mu\text{m}$ の浮遊粒子濃度が有意に高かった。

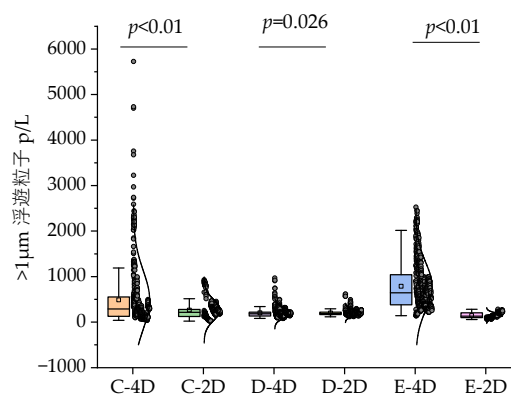


図 1 4D と 2D の浮遊粒子濃度の比較 ($< 1\mu\text{m}$)

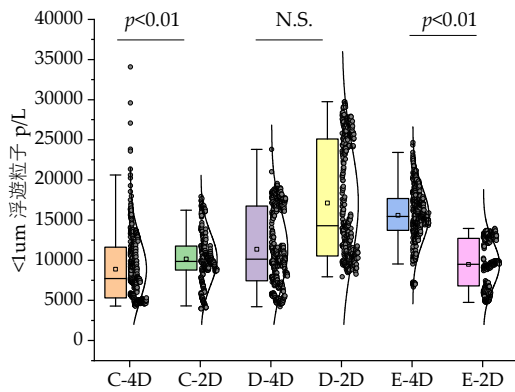


図2 4Dと2Dの浮遊粒子濃度の比較 (>1 μm)

C2. 生菌 (細菌)

C2.1. 落下細菌

図3に夏期に測定した落下細菌の結果を示す。図3には四等分値と平均値のほか、測定値の分布、検定の結果を併せて示す。

冬期と同様に映画上映中の2Dスクリーンより4Dスクリーンの落下菌数は有意に多かった。

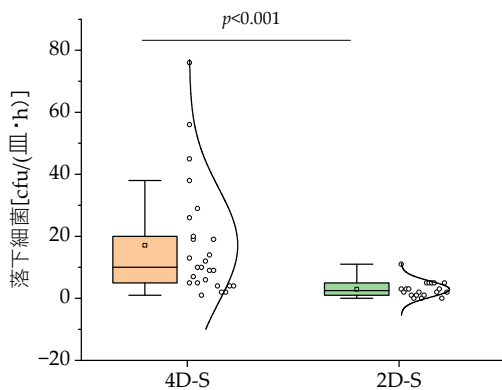


図3 4Dと2Dの落下細菌数の比較

C2.2. 付着細菌

図4に夏期に測定した付着細菌の結果を示す。23 cm^2 は付着真菌採取用粘着テープの面積である。冬期では4Dスクリーンより2Dスクリーンの方が有意に多かったが、夏期では4Dスクリー

ンと2Dスクリーンの付着細菌数の間に有意な差が認められなかった。

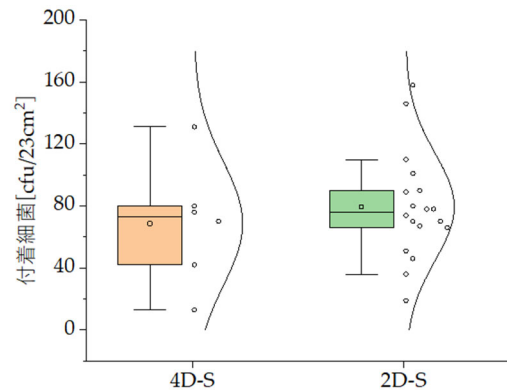


図4 4Dと2Dの付着細菌数の比較

C2.3. 浮遊細菌

昨年と同様に、浮遊細菌については映画上映中に測定ができなかったため、上映入れ替えの時間帯に測定を行った。従って、その結果は上映中の室内浮遊細菌濃度を表すものではなく、測定時に人の出入りの影響(人数とそのアクティビティー)を受けると考えられる。

図5に夏期に測定した浮遊細菌濃度の結果を示す。昨年の冬期では、4Dより2Dの浮遊細菌濃度が有意に高かったが、今年度の夏期ではその有意な差が認められなかった。細菌の主な発生源は在室者であるため、上記の結果は上映入れ替えの時間帯の出入りする人数とそのアクティビティーに関係するものと考えられる。

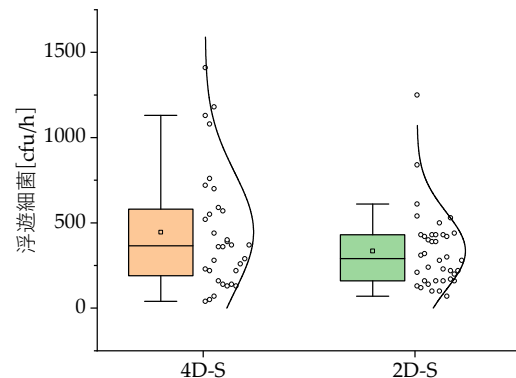


図5 4Dと2Dの浮遊細菌濃度の比較

C3. 生菌（真菌）

C3.1. 落下真菌

図6に夏期に測定した落下真菌の結果を示す。冬期と同様に夏期でも4Dスクリーンと2Dスクリーンの落下真菌の間に有意な差が認められなかった。落下真菌数は一桁であり、前述した落下細菌数より少なかった。細菌の主な発生源は在室者に対し、真菌の主な発生源は外気由来である。

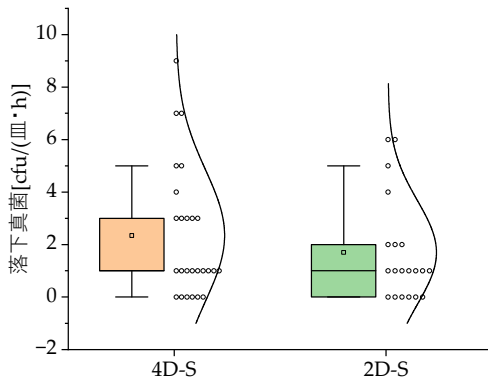


図6 4Dと2Dの落下真菌数の比較

C3.2. 付着真菌

図7に今年度夏期に測定した付着真菌の結果を示す。冬期と同様に夏期でも4Dスクリーンと2Dスクリーンの落下真菌の間に有意な差が認められなかった。

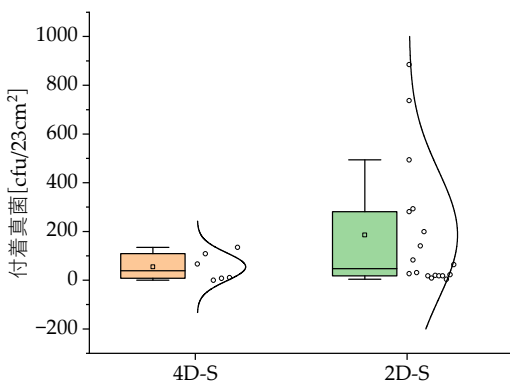


図7 4Dと2Dの付着真菌数の比較

C3.3 浮遊真菌

図8に今年度夏期測定した浮遊真菌濃度の結果を示す。昨年の冬期では、4Dスクリーンより2Dスクリーンの浮遊細菌濃度が有意に高かったが ($p<0.05$)、今年度の夏期ではその有意な差が認められなかった。

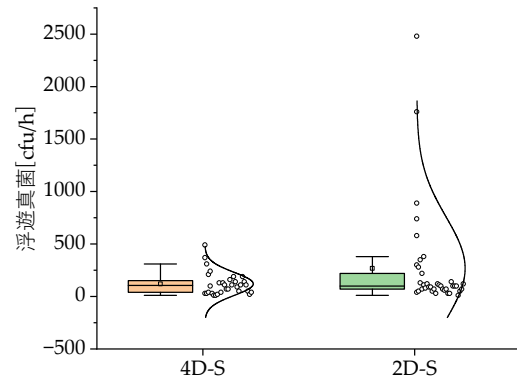


図8 4Dと2Dの浮遊真菌濃度の比較

C4. 菌叢解析

C4.1. 細菌叢

(1) 細菌門

図9と図10に4Dスクリーンと2Dスクリーンで検出された相対構成比トータルで1%以上の細菌門を示す。4Dでは、*Proteobacteria* 門（プロテオバクテリア門、グラム陰性細菌門、大腸菌や緑膿菌を含む）、*Firmicutes* 門（フィルミクテス門、グラム陽性細菌門、腸内細菌や皮膚常在菌、病原菌あるいはヨーグルトなどの発酵食品を通じて人間にも比較的なじみの深いグループである。）、*Actinobacteria* 門（アクチノバクテリア門、放線菌を含む）、*Bacteroidetes* 門（バクテロイデス門、グラム陰性の細菌グループ）、*Cyanobacteria* 門（シアノバクテリア門、藍色細菌）が優先的に検出された。これらの細菌門は大学の研究室¹⁾やオフィスビル²⁾などからも優先的に検出されている。2Dでは、上記の5門のほか、*Patescibacteria* 門が検出された。

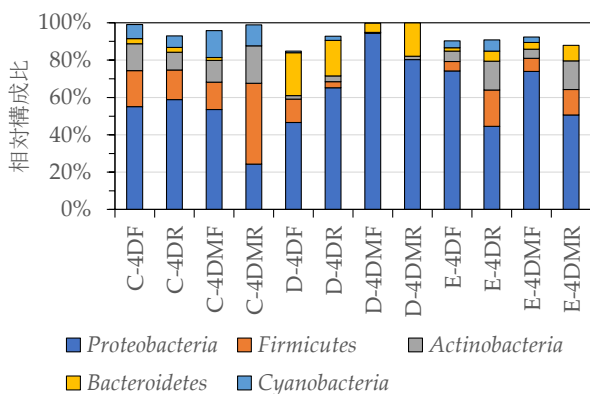


図 9 4D スクリーン 優占細菌門

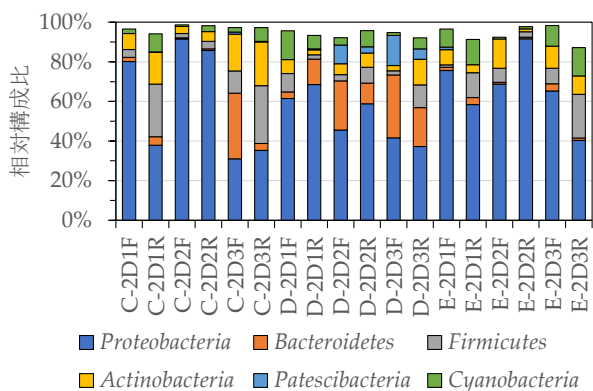


図 10 2D スクリーン 優占細菌門

(2) 細菌属

図 11 と図 12 に 4D 映画館と 2D 映画館の検出された相対構成比 1%以上の細菌属を示す。夏期では、上位 20 属のうち、冬期と同様に *Methylobacterium*、*Novosphingobium*、*Legionella*、*Bradyrhizobium* が検出されたほか、水環境に適している *Sphingomonas*、*Enhydrobacter*、*Paenibacillus*、*Brachybacterium* も優占属として検出された。冬期に最も高い相対構成比で検出された *Pseudomonas* は夏期での相対構成比が 0-1.7%であった。一方、夏期に最も優占的に検出されたのはバイオフィルムを形成する細菌 *Methylobacterium* であった。この細菌は浴室でよく検出されることが知られている。また、冬期と夏期ともに *Legionella* が優占的に検出されたが、同属で同定できた細菌種のうち、*L. pneumophila* が含まれていなかった。

4D スクリーンから検出された優占細菌 38 属のうち、2D スクリーンで優占種として検出されていないのは 16 属があり、そのうちの 11 属は水環境に生育が適しているものであった

(*Bdellovibrio*, *Brachybacterium*, *Brachymonas*, *Bradyrhizobium*, *Calothrix PCC-6303*, *Dermacoccus*, *Halomonas*, *Legionella*, *Phenylobacterium*, *Sphingobacterium*, *Thermomonas*)。

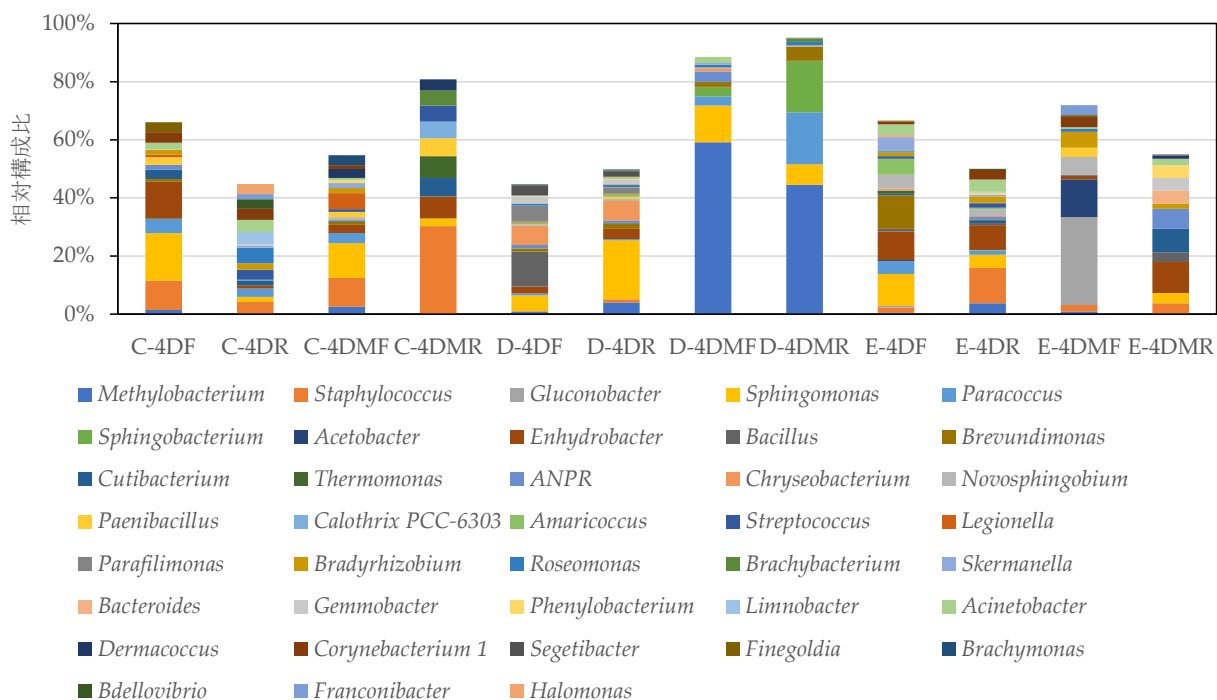


図 11 4D スクリーンの優占細菌属

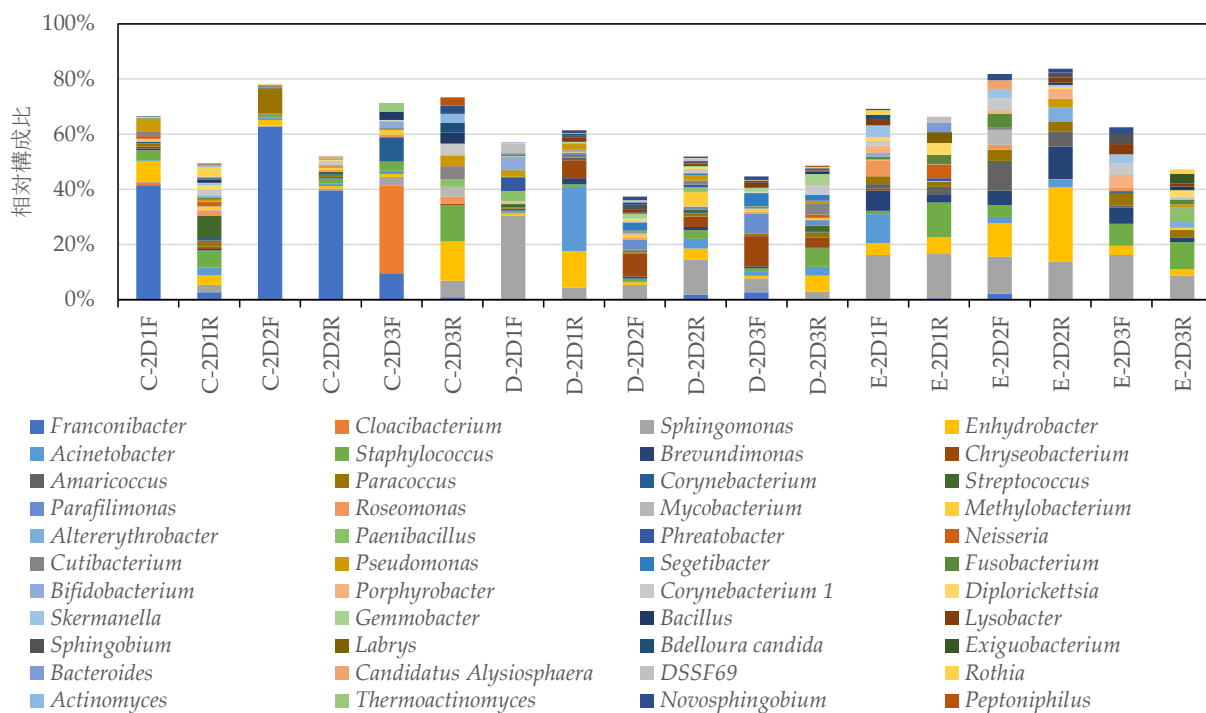


図 12 2D スクリーンの優占細菌属

(3) α 多様性

細菌の豊かさと均等性を表す Chao1、Observed species、Shannon 指数においては、4D スクリーンと 2D スクリーンの間に有意な差が認められなかった。一方、細菌の近縁性を表す PD whole tree においては、2D より 4D の方が有意に低かった (図 13)。すなわち、4D スクリーンには近縁細菌種が多かった。

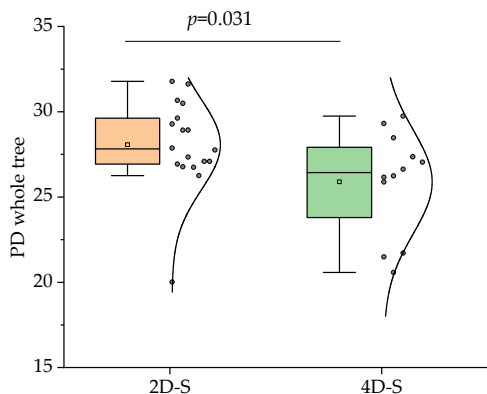


図 13 4D と 2D スクリーンの PD whole tree 指数

(4) β 多様性

図 14 に 4D スクリーンの主座標分析 (weighted) の結果を示す。映画館 C と D のそれぞれ前方と方向のミスト噴出口の付着細菌叢、D と E 映画館のそれぞれ床表面の付着細菌叢が類似している。この傾向は冬期も同様であった。

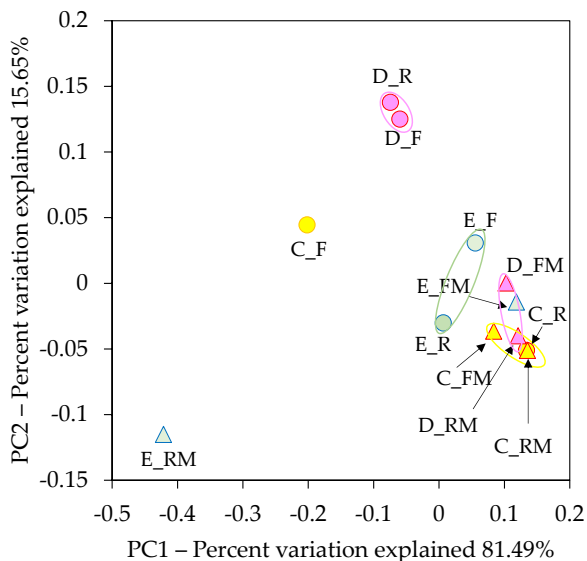


図 14 主座標分析の結果 (Weighted)

C4.2. 真菌叢

(1) 真菌門

図 15 と図 16 のそれぞれに 4D スクリーンと 2D スクリーンの優占真菌門を示す。これまで、子囊菌門 (*Ascomycota*) と担子菌門 (*Basidiomycota*) は全体の 60~70%以上検出されることが報告されている。E 映画館の 4D スクリーンの後方床表面 (E-4DR) と E 映画館 2D スクリーンの 1 回目上映の前方床面 (E-2D1F) で特定できなかった真菌門はそれぞれ 72%と 75%であった。他は担子菌門と子囊菌門を併せると全体の 60%以上であった。

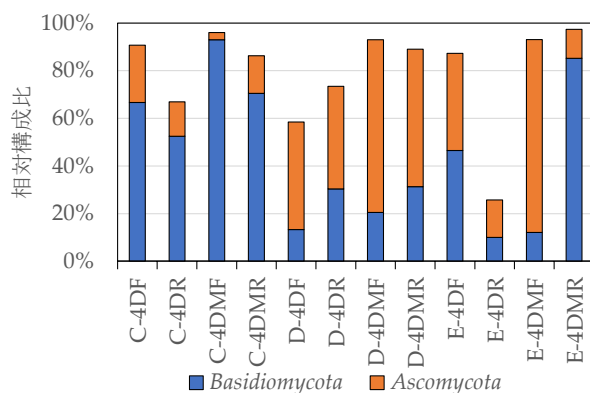


図 15 4D 映画館優占真菌門

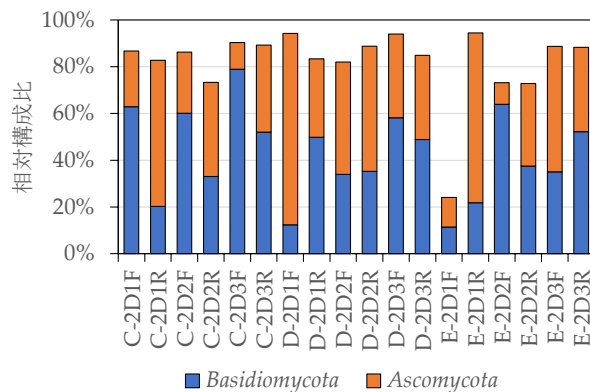


図 16 2D 映画館優占真菌門

(2) 真菌属

図 17 と図 18 に 4D スクリーンと 2D スクリーンの付着真菌属のうち相対構成比最大で 3%以上優占真菌属を示す。

ミストの噴出口表面においては、D 映画館 4D スクリーンの前列に *Cladosporium* (64.6%)、後列に後列に *Knufia* (46.9%) で最も高い優占率

で検出された。後列に *Cladosporium* (8.0%) も高い優占率で検出された。*Cladosporium* と *Knufia* は高湿環境に適している真菌である。また、*Knufia* が洗濯機内から検出されたことが報告されている。また、他の箇所から検出されず、E映画館4Dスクリーン前列のミスト噴出口表面から検出されたのは酵母の *Zygoascus* であった (4.1%)。

図17と図18に示す優占真菌属のうち、2Dスクリーンから検出されず、4Dスクリーンだけが検出された優占真菌は11属があり、そのうち7属は担子菌 (*Antrodiella*、*Cabalodontia*、*Hyphoderma*、*Lentinus*、*Strobilurus*、*Trechispora*、*Trichaptum*)、4属は子囊菌 (*Cladophialophora*、*Exophiala*、*Knufia*、*Zygoascus*) であった。この11属は何れも高湿環境に適している。

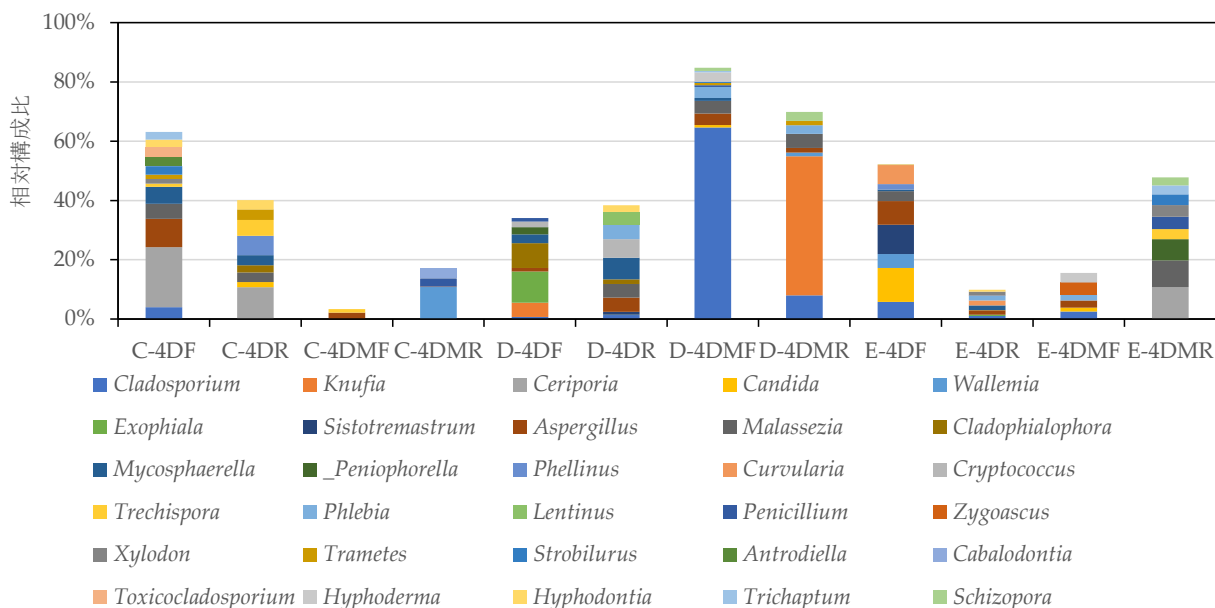


図17 4Dスクリーンの優占真菌属

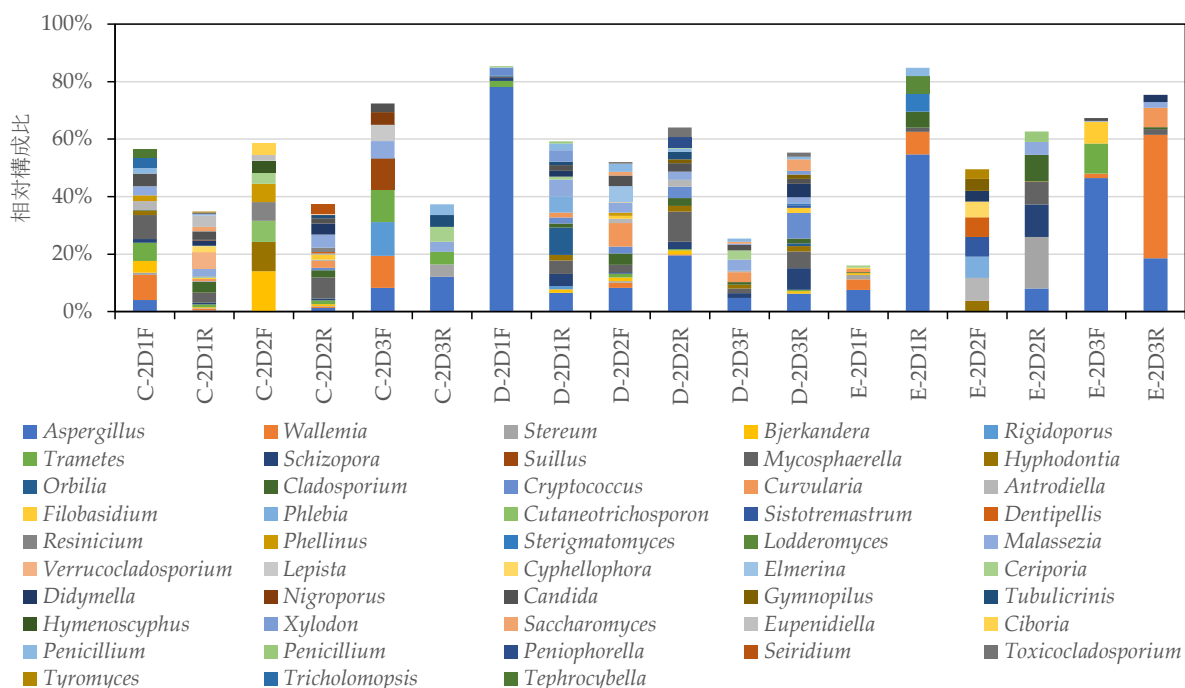


図18 2Dスクリーンの優占真菌属

(3) α 多様性

図 19 と図 20 に 4D スクリーンと 2D スクリーンにおける PD whole tree と Shannon 指数の比較を示す。2D スクリーンに比べ、4D スクリーンの細菌は近縁種が多く、豊かさと均等性が低かった。

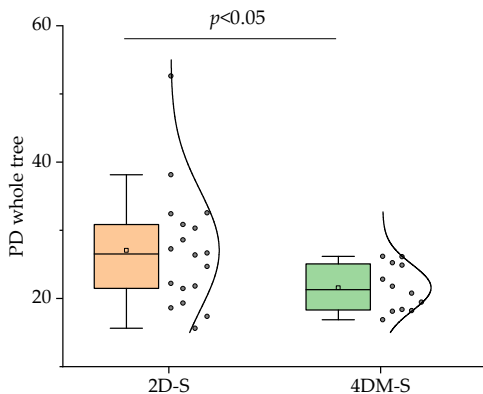


図 19 4D と 2D スクリーンの PD whole tree 指数

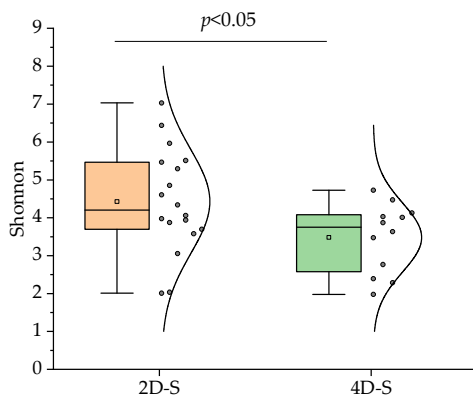


図 20 4D と 2D スクリーンの Shannon 指数

(4) β 多様性

図 21 に 4D スクリーンの主座標分析 (weighted) の結果を示す。C、D、E 映画館の 4D スクリーン前後例の床表面、前後列のミスト噴出口表面、C、E の前後列の床表面と噴出口表面、D 映画館の 4D スクリーンの後列の床表面とミスト噴出口表面の真菌叢が類似していることが分かった。

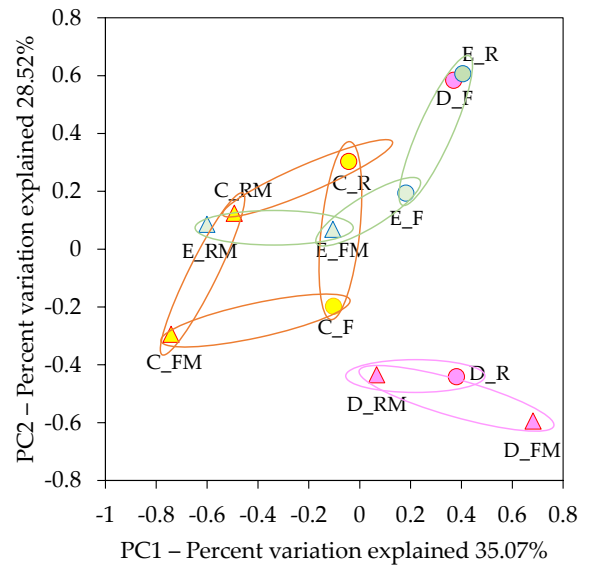


図 21 主座標分析の結果 (Weighted)

D. 考察

D1. 浮遊粒子

$< 1\mu\text{m}$ と $> 1\mu\text{m}$ の浮遊粒子濃度はともに、2D より 4D の方が有意に高かった。これは、エフェクト時に濃度の急な上昇、すなわち、浮遊粒子の発生があったためであると考えられる。

D2. 生菌

落下細菌と付着細菌については、夏期は冬期と同様に 2D スクリーンより 4D スクリーンの方が有意に多かった。上映中に浮遊細菌濃度の測定ができず、直接にエフェクトによる細菌の発生を確認することができなかったが、以上の浮遊粒子濃度の結果と併せて考えると、エフェクトにより粒子のみならず、浮遊細菌の発生もあったと推察される。

一方、付着真菌については冬期の 2D 映画館より夏期の 2D スクリーンが有意に多かったが、この傾向は冬期と異なっている。付着微生物は空中から落下する微生物のほか、床面清掃の状況に大きく影響を受ける。落下真菌については、1 時間の曝露で数 cfu しか検出されなかった。また、細菌と真菌とともに、落下菌数と付着菌数の多少において一致する傾向が見られなかった。

D3. 細菌叢と真菌叢

細菌叢の α 多様性の解析結果では、2D スクリーンに比べ、4D スクリーンの細菌の豊かさと均等性が低く、近縁種が多かった。また、4D スクリーンから優占的に検出された 38 属のうち、2D スクリーンで優占種として検出されていないのは 16 属があり、そのうちの 11 属は水環境に生育が適していることから、4D スクリーンの細菌叢が 2D スクリーンの細菌叢と異なり、ミストによる影響があったと考えられる。

β 多様性の解析結果では、4D スクリーン前後のミスト噴出口表面と床表面の菌叢が類似していることから、ミストから細菌の発生があったと考えられる。

真菌叢の α 多様性の解析結果では、冬期と同様に 2D より 4D スクリーンの真菌の豊かさと均等性が低く、近縁種が多かった。すなわち、4D スクリーンと 2D スクリーンの菌叢が異なる。このことは、細菌属の測定結果からも説明できる。すなわち、2D スクリーンから検出されず、4D スクリーンだけが検出された優占真菌は 11 属があり、そのうち 7 属は担子菌 (*Antrodiella*、*Cabalodontia*、*Hyphoderma*、*Lentinus*、*Strobilurus*、*Trechispora*、*Trichaptum*)、4 属は子囊菌 (*Cladophialophora*、*Exophiala*、*Knufia*、*Zygoascus*) であり、何れも高湿環境に適している。

β 多様性の解析結果では、4D スクリーンの前後のミスト噴出口表面と床表面の菌叢が類似していることから、ミストから真菌の発生があったと考えられる。

E. 結論

本研究より、下記の事柄が分かった。

- ① 4D 映画上映中の浮遊粒子濃度の上昇はエフェクトによるものである。全体的に 2D より 4D の $<1\mu\text{m}$ と $>1\mu\text{m}$ の浮遊粒子濃度が有意に高かった。
- ② 落下細菌については、夏期が冬期と同様に 2D 上映中より 4D 上映中の方が有意に多かった。

- ③ 落下真菌については、1 時間の曝露でも数 cfu しか検出されなかった。また、1 時間の曝露で落下細菌は 0~60 cfu しか検出されていないことから、従来の 10 分間の曝露では映画館内の浮遊細菌と浮遊真菌濃度の評価は難しい。
- ④ 湿潤環境を好む細菌と真菌がミストの噴出口表面と床面から優占的に検出されたことから、ミストの給水システムが何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yanagi, U; Kaihara, N.; Simazaki, D.; Bekki, K.; Homma, Y.; Iba, C.; Asai, A.; Hayashi, M. Bacterial Flora on Mist Outlet Surfaces in 4D Theaters and Suspended Particle Concentration Characteristics during 4D Movie Screenings. *Microorganisms* 2023, 11, 1856. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071856>

2. 学会発表

- 1) 浅井敦人、柳 宇、開原典子、本間義規、島崎大、戸次加奈江、伊庭千恵美、林基哉：映画館における室内空気質実態に関する査研究第 1 報 4D と 2D 映画館における生菌と浮遊微粒子の測定結果、2023 年日本建築学会大会学術講演梗概集、pp.1393-1394.
- 2) 柳 宇、開原典子、本間義規、島崎大、戸次加奈江、伊庭千恵美、浅井敦人、林基哉：映画館における室内空気質実態に関する査研究第 2 報 4D と 2D 映画館付着細菌叢の解析結果、2023 年日本建築学会大会学術講演梗概集、pp.1395-1396.
- 3) 開原典子、柳 宇、本間義規、島崎大、戸次加奈江、伊庭千恵美、林基哉：映画館における室内空気質実態に関する査研究 第 3 報 観覧場内の温湿度及び二酸化炭素濃度の測定、

2023 年日本建築学会大会学術講演梗概集、
pp1397-1398.

- 4) 浅井敦人、柳 宇、開原典子、本間義規、島崎大、戸次加奈江、伊庭千恵美、林基哉：冬期の 4D 映画館におけるミスト噴出口と床面の付着真菌叢、2023 年室内環境学会学術大会講演要旨集、pp.214-215.
- 5) 柳 宇、開原典子、本間義規、島崎大、戸次加奈江、伊庭千恵美、浅井敦人、林基哉：シアターにおける室内空気質実態に関する査研究 第 4 報 4D 映画館ミスト噴出口の付着細菌叢、2024 年日本建築学会大会学術講演梗概集（印刷中）。
- 6) 開原典子、柳 宇、開本間義規、島崎大、伊庭千恵美、戸次加奈江、林基哉：シアターにおける室内空気質実態に関する査研究 第 5 報 観覧場内における 4D 上映中の温湿度及び二酸化炭素濃度の測定 2024 年日本建築学会大会学術講演梗概集（印刷中）。

<参考文献>

- 1) Yanagi, U; Kato, S.; Nagano, H.; Ito, K.; Yamanaka, T.; Momoi, Y.; Kobayashi, H.; Hayama, H. Dispersion characteristics of oral microbial communities in a built environment. *Jpn Archit Rev.* **2022**; 5(2):225–232. <https://doi.org/10.1002/2475-8876.12261>.
- 2) 新村美月、柳 宇、鍵直樹、金 勲、畑中未来：クール・ヒートピットにおけるマイクロバイオームの実態解明 第 1 報：室内とピット内の細菌叢の比較。日本建築学会環境系論文集 **2020** ; 85 (770) : 259-266. <http://doi.org/10.3130/aije.85.259>.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

(このページは空白です)