

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10427

研究課題名（和文）室内環境における真菌およびダニの増殖関連性に関する研究

研究課題名（英文）Research on the relevance between fungal growth and mite population

研究代表者

渡辺 麻衣子（Watanabe, Maiko）

国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部・室長

研究者番号：00432013

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：住環境中の真菌やダニが異常増殖した場合、居住者にアレルギーや感染症等の健康危害が発生するリスクがある。それらは住宅内外の気温、相対湿度、断熱等住宅の性能、居住者の清掃頻度等住まい方に影響を受け、増減すると考えられているが、加えて、互いの増殖に寄与し合っている可能性がある。そこで、実住環境から採取したハウスダスト中の真菌・ダニアレルゲンの分布調査、および実験室内での真菌とダニの共培養実験を行い真菌とダニの増殖関連性について検討し、さらに真菌やダニが増殖しやすい住環境要因について考察した。その結果、特定の真菌とダニの増殖関連性、および住宅性能や建材に関連した因子と真菌やダニ増殖の関連性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果から、真菌とダニの増殖関連性および住宅に関連した因子と真菌やダニ増殖の関連性の一部を示すことができた。住環境の真菌・ダニそれぞれの増殖要因について言及した研究は多いが、住環境における両者の増殖の関連性については検討が進んでおらず、エビデンスはほとんど得られていない。真菌やダニは、日本人の居住空間に普遍的に分布する生物だが、様々な要因によって容易に増殖し、居住者の健康に大きな影響を与えることは多くの研究によって支持されている。住まいのダニと真菌の共増殖に関するエビデンスを得た意義は大きく、住環境衛生において有益な情報が得られ、居住者のQOLの向上が期待できる。

研究成果の概要（英文）： Fungal and mite overgrowth in the living environment poses a risk of health hazards, such as allergies and infectious diseases, to the occupants. They are thought to increase or decrease as a result of indoor and outdoor temperature, relative humidity, house performance such as insulation, cleaning frequency by the residents, and other factors. Furthermore, they may also contribute to each other's growth. Therefore, we investigated the distribution of fungi and mite allergens in house dust collected from living environments. We also conducted co-culture experiments of fungi and mites in the laboratory to explore the relationship between fungal and mite growth, as well as the factors in the living environment that promote the growth of fungi and mites.

The results indicated a correlation between certain fungi and mite growth, as well as between factors associated with house performance and/or building materials and fungal and mite growth.

研究分野：衛生微生物学

キーワード：住宅室内環境 真菌 ダニアレルゲン 酵母

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

室内に分布する居住者の健康に大きく影響する生物学的な要因として、真菌とダニの汚染が挙げられる。室内で真菌が増殖した場合に、居住者は、アレルギー、感染症、マイコトキシンや有機揮発性化学物質等の二次代謝産物による中毒症のリスクにさらされる。室内での真菌増殖の典型的な例として、申請者らが過去に実施した東日本大震災被災地の応急仮設住宅における真菌汚染に関する調査では、四季の全ての時期および部屋で、一般住宅の室内空気真菌濃度の推奨上限値(空気1m<sup>3</sup>あたり1,000孢子以下)の100倍以上もの高い真菌数を示す世帯が複数確認され、さらに年間を通じて、一般住宅と比較して非常に高い傾向にあることが示され、真菌汚染が進行していることが明らかとなった。仮設住宅は一般住宅と比較して断熱や換気性能は低く、結露が非常に生じやすい建築構造になっていることが、真菌の異常増殖の原因の一つとして考えられた。一方で、ダニも、数多くある環境に分布するアレルゲンの中で最も重要なアレルゲンの一つである。アレルゲンとしてはヒョウヒダニに着目する必要がある、このダニは室内では寝具をはじめとした布製品に多く分布している。ヒョウヒダニの虫体自体がアレルゲンとなっているほか、糞など排泄物にもアレルゲンが含まれており、死骸や糞が乾燥して粉碎した小片は空気から吸引暴露されやすい状態となる。特に日本の住宅においてダニアレルゲンが増加しやすい例として、過去の研究において、日本や欧米諸国の室内塵中のヒョウヒダニアレルゲン汚染量を調査したところ、日本においては調査した住宅のうち98.3%からヒョウヒダニアレルゲンが検出され、汚染濃度は欧米諸国の10倍以上であったとの報告がある。さらに、日本においては気管支喘息患者のうち約7割がダニアレルゲンに感作されているとの報告がある。日本人の健康に大きな影響を与えていると言える。

住まいのダニと真菌の増殖のための好適条件は重複する点が多い。研究代表者らが過去に実施した、東日本大震災後の環境変化による小児アレルギー疾患に対して、環境整備介入が喘息の管理に有用であるかを検証する研究において、室内環境中で真菌の増殖が著しいことが確認されたと同時に、ダニアレルゲンが増加していることが明らかとなった。さらに、ダニと真菌の生態的特徴を考慮して、それぞれの増殖に関連性があるとの説がある。これに関連した報告として、いくつかのダニは食菌性であること、ダニは体表に真菌を付着させて移動し増殖を促進する可能性があること、ケナガコナダニにおいて真菌種に関する嗜好性が実験によって確認されたこと、などがある。しかしこれまで、住環境の真菌・ダニ類それぞれ単独での増殖要因について検討した研究は多いが、主な住宅汚染アレルゲンであるヒョウヒダニと真菌の増殖関連性について検討した研究はほとんどなく、情報は非常に少ない。

以上のことから、真菌やダニは、日本人の居住空間に普遍的に分布する生物だが、様々な要因によって容易に増殖し、居住者の健康に大きな影響を与えるとと言える。しかし特に住まいのダニ増殖の要因については明らかになっていないことが多く、住まいのダニと真菌の共増殖に関するエビデンスを得る必要性がある。

### 2. 研究の目的

異なる真菌種に対するヒョウヒダニの嗜好性を確認する目的で、実験室内での真菌とヒョウヒダニの共培養試験を実施した。また、住環境から採取したハウスダスト中の真菌量・ダニアレルゲン量の分布調査を行い、住環境における真菌とダニの増殖関連性、および真菌やダニが増殖しやすい住環境要因についての検討を行った。

### 3. 研究の方法

#### 1) 真菌およびヒョウヒダニの共培養試験

JIS L1920「繊維製品の防ダニ性能試験方法」で定める「侵入阻止法」に変更を加え、実施した。標準布(JIS L0803 綿 3-1号)をガラス製小シャーレ内に敷き、その中央に2種のカビ(*Aspergillus fumigatus* および *Cladosporium halotolerans*) または2種の酵母(*Candida albicans* および *Malassezia furfur*) いずれかの凍結乾燥菌体粉末0.05gを置き、試験区とした。陰性対照区として綿布のみ、陽性対照区としてダニ類飼育の際の飼料として一般的に用いるクッキング用乾燥ビール酵母粉末0.05gを用いた。これをガラス製大シャーレ中央に設置し、小シャーレ周囲にヤケヒョウヒダニ約10,000頭分に相当する量の接種用ダニ培地をばら撒いた。なお接種用ダニ培地は、試験開始前に、乾燥ビール酵母粉末を主体として適度な培養期間が経過したダニ飼育培地1gあたりの生存ダニ数(頭数/g)をあらかじめ計測したものであり、ダニ約10,000頭分のダニ培地供試量を算出して用いた。この装置を暗条件で26℃・24時間静置した。その後、小シャーレ内に集積したダニ数を計数した。これらの試験を3回繰り返し実施した。試験区÷陽性対照区の比を求め、各真菌種に対するヒョウヒダニの嗜好性を評価した。

#### 2) 真菌やダニが増殖しやすい住環境要因の検討

改正建築物省エネ法に規定された断熱地域区分6に建設された戸建住宅の延べ20軒から、掃除機を用いて寝室床ハウスダストを採取して重量を計測し、供試した。各ハウスダストサンプル中の真菌叢調査およびダニアレルゲン濃度計測を実施した。同一のハウスダスト検体に対して、

以下の微生物学的実験を実施した；①ハウスダスト希釈液の寒天平板塗抹培養法によるハウスダスト 1 g あたりの総真菌数および *Apergillus* 属・*Penicillium* 属・*Cladosporium* 属・酵母の群ごとの菌数、②ハウスダストサンプルから抽出した DNA をテンプレートとした次世代シーケンサー (NGS) を用いての rDNA-ITS1 領域を標的としたアンプリコンシーケンスによるハウスダスト中の真菌群集構造解析 (主な真菌の属の出現割合の検出)、③ELISA 法によるハウスダスト 1 g あたりのヒョウヒダニアレルゲン Der\_1 の含有量、以上の 3 項目のデータを実験的に取得した。さらに、居住者に対してアンケート調査を実施し、住宅の工法や換気等の設備、居住年数や使用している換気設備と頻度、寝室の掃除状況等の住まい方に関するさらに住宅の建築地域等の属性を記録した。以上の数的データを用いてロジスティック回帰分析を行い、室内環境における真菌およびダニの増殖の関連性、およびそれぞれの増殖に関わる住宅に関連した因子の特定を行った。

#### 4. 研究成果

##### 1) 真菌およびヒョウヒダニの共培養試験

ばら撒かれたヤケヒョウヒダニの中心に設置した真菌菌体に集積したダニ頭数の 3 回繰り返し試験の平均値と、陰性対照区に対する試験区の比率を図 1 に示した。この結果を比較すると、今回試験した真菌種の中では *M. furfur* において試験区/陰性対照区の比は 1.0 以上を示し

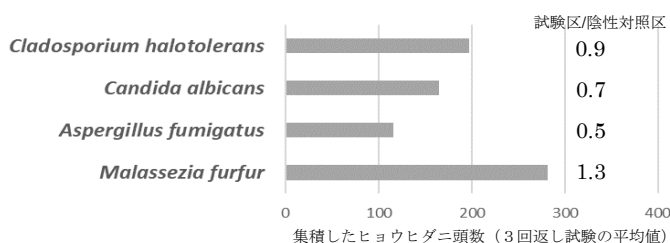


図 1. 4 真菌種とヤケヒョウヒダニ共培養試験結果の比較

(1.3)、*M. furfur* はヒョウヒダニに対して誘因効果を持つことが確認された。一方で、*A. fumigatus* の試験区/陰性対照区の比は今回試験した真菌種間で最も低く、忌避効果がある可能性が考えられた。以上のことから、真菌のヒョウヒダニに対する誘引性は種毎に異なることが明らかとなった。それぞれの真菌種が増殖している環境では、ヒョウヒダニも増殖しやすい可能性が考えられた。

##### 2) 真菌やダニが増殖しやすい住環境要因の検討

一般的な住宅室内での高出現真菌および病原真菌 7 真菌属のハウスダスト中の存在比率を指標としたクラスター分析を行い、その結果を図 1 に示した。全サンプルは、① *Aspergillus* 属高出現、② *Cladosporium* 属高出現、③ *Malassezia* 属高出現の 3 クラスターに分類された。この 3 クラスターのいずれに属するかを真菌叢タイプと表現し、目的変数とした。これに対して、ハウスダスト 1 g あたりの総真菌数、*Apergillus* 属・*Penicillium* 属・*Cladosporium* 属・酵母の群ごとの菌数、ハウスダスト 1 g あたりの Der\_1 量、ペットの飼育、掃除の頻度、住宅の換気設備、寝室床材、築年数を説明変数として、ロジスティック回帰分析を行った。また、ハウスダスト 1 g あたりの総真菌数を目的変数とし、これに対してハウスダスト 1 g あたりの Der\_1 量、ペットの飼育、掃除の頻度、住宅の換気設備、寝室床材、築年数を説明変数として、重回帰分析を行った。さらに、ハウスダスト 1 g あたりの Der\_1 量に対して、ハウスダスト 1 g あたりの総真菌数および *Apergillus* 属・*Penicillium* 属・*Cladosporium* 属・酵母の群ごとの菌数との間の相関分析を行った。

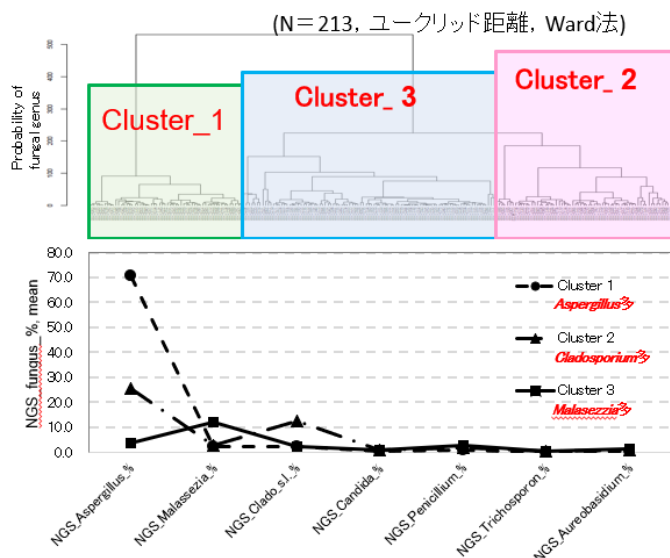


図 2. ハウスダスト中の 7 真菌属の出現割合を指標とした住宅サンプルのクラスター分析

その結果、住宅の換気設備を 24 時間換気とすること、および寝室床材が畳であることでは、寝室床ハウスダスト中の *Aspergillus* 属菌数が多い、または *Aspergillus* 属菌の割合が高い世帯となることとの有意な関連性が検出された。一方で、掃除の頻度やペットの飼育などの関連性は検出されず、住宅室内の真菌叢への影響要因としては、住まい方よりも住宅の性能や建材に関連した物理的特徴のほうが、比較的重要性が高いことが示唆された。*Aspergillus* 属菌は感染性およびアレルギー性呼吸器疾患の原因菌やハウスダスト中でのマイコトキシン産生菌として

最も重要な真菌であり、その存在比率が高くなることは居住者の健康リスクに影響が大きいと言え、本真菌が増殖しづらい住宅の条件を見出したことは居住者の QOL の向上につながるものと考えられた。

また、今回の分析では、ハウスダスト中の真菌各属の比率または真菌濃度と、Der\_1 濃度の間には有意な関連性は見られなかった。しかし今後は、真菌とヒョウヒダニの共培養試験から得られた *M. furfur* への嗜好傾向を実環境に当てはめ、分析条件を考慮しつつ実験データ取得方法を検討し、N 数を増やしての調査を継続する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 M. Watanabe, R. Konuma, K. Hasegawa, N. Kimura, N. Kobayashi, Y. Kamata, H. Yoshino, K. Takatori Y Hara-Kudo	4. 巻 29
2. 論文標題 An experimental verification of fungal overgrowth in temporary houses at the site of the Great East Japan Earthquake.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 J Microorganism Control	6. 最初と最後の頁 45-48
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4265/jmc.29.1_45	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡辺麻衣子、川上裕司、橋本一浩、小林直樹、小沼ルミ、長谷川兼一、鍵直樹、山崎朗子、工藤由起子、鎌田洋一、伊香賀俊治
2. 発表標題 住宅室内の真菌叢に影響を与える住宅・住まい方要因の解析
3. 学会等名 日本マイコトキシソ学会第90回学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 渡辺麻衣子
2. 発表標題 住宅の真菌叢の変遷～近年の住宅事情との関係
3. 学会等名 2023年室内環境学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡辺麻衣子、伊澤和輝、橋本一浩、小林直樹、小沼ルミ、長谷川兼一、鍵直樹、川上裕司、秋山泰、山崎朗子、工藤由起子、鎌田洋一、伊香賀俊治。
2. 発表標題 住宅床ハウスダストの真菌叢に影響を及ぼす住環境因子に関する研究
3. 学会等名 日本マイコトキシソ学会第 88 回学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡辺麻衣子、小林直樹、橋本一浩、小沼ルミ、川上裕司、伊澤和輝、長谷川兼一、鍵直樹、山崎朗子、工藤由起子、鎌田洋一、伊香賀俊治
2. 発表標題 住宅要因と室内の真菌・ダニ分布の関係性に関する研究
3. 学会等名 2021年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊澤和輝、山崎朗子、小林直樹、窪崎敦隆、鎌田洋一、長谷川兼一、工藤由起子、秋山泰、伊香賀俊治、渡辺麻衣子
2. 発表標題 ハウスダスト真菌叢解析と住環境比較
3. 学会等名 2021年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	秋山 泰  (Akiyama Yutaka)  (30243091)	東京工業大学・情報理工学院・教授   (12608)	
研究分担者	伊澤 和輝  (Izawa Kazuki)  (50803813)	東京工業大学・情報理工学院・研究員   (12608)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	橋本 一浩  (Hashimoto Kazuhiro)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	小林 直樹  (Kobayashi Naoki)		
研究協力者	小沼 ルミ  (Konuma Rumi)		
研究協力者	山崎 朗子  (Yamazaki Akio)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関