

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26630264

研究課題名(和文) 反応・拡散・走化性系モデルによる室内環境微生物の増殖現象予測

研究課題名(英文) Numerical Morphological Analysis of Fungal Growth based on Reaction-Diffusion-Chemotaxis Model

研究代表者

伊藤 一秀 (Ito, Kazuhide)

九州大学・総合理工学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20329220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：室内環境中で観察される真菌(カビ)の増殖現象を反応・拡散・走化性系の数値モデルを用いて定式化した上で、モデルパラメータの同定と、一般室内環境中での増殖現象予測に適用するための数値解析手法を開発した。特に、壁面上での2次元的な真菌増殖現象を形態的に再現する数値モデルを提案した上で、培地上での真菌増殖現象の詳細実験を行い、提案する数値モデルのモデルパラメータの同定を行った。最終的に、室内環境中の流れ場、温度場、湿度場予測の数値シミュレーションモデルに、真菌胞子の濃度分布予測モデル、壁面沈着モデルを統合した上で、壁面上での真菌増殖現象を定量的・形態的に予測可能な一連の数値予測手法を整理した。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to develop a numerical, reaction-diffusion-chemotaxis based model that predicted fungal colony formation by taking into account the influence of nutrients, moisture (water activity), temperature, and the surface characteristics of building materials.. First, the results of fundamental experiments that measure the growth responses of colony size on culture media under various environmental conditions were conducted. Second, the mathematical models that reproduce colony formation on the medium and the numerical simulation intended for the experimental conditions were summarized. Fitting of the model coefficients was performed using the data of the fundamental experiments, and sensitivity analysis was executed. Finally, fungal growth on wall surfaces under high humidity environment was also discussed by proposed numerical model.

研究分野：建築環境工学

キーワード：反応拡散系モデル 計算流体力学 真菌 増殖現象

1. 研究開始当初の背景

室内環境中での温湿度変動等を考慮した真菌(カビ)増殖予測に関する研究は既に長い歴史と蓄積があり、様々な研究報告例が存在する。我が国では夏期に高温多湿となり室内環境中での真菌汚染問題が顕在化しやすいため、特に実験・実測を中心とした良質の研究成果が多く蓄積されている。しかしながら、室内環境設計段階で適用可能な真菌増殖リスク評価モデル・健康影響評価モデルの開発や、室内環境中での真菌増殖を定量的・形態的に数値シミュレーションを用いて詳細かつ高精度に予測する手法の開発に関する報告例は非常に少ない。室内環境中の真菌のみに限定せず、一般環境中での各種微生物の増殖現象予測モデルとのカテゴリーで俯瞰すると、国内での研究事例としては、高温多湿気候下に存在する遺跡を対象として藻類の成長モデルの提案例があり、藻類群の増殖速度が藻類濃度に比例するマルサスモデルをベースとして、マルサス定数部分を含水率と日射量により補正するモデルとなっている。遺跡上での藻類繁殖状況を良く再現することが報告されている。また、木造外皮における木材腐朽菌を対象とした耐久性評価を目的として木材腐朽予測モデルが検討された事例もあり、水分収支を考慮した解析手法を提案している。これらの微生物増殖予測モデルは、屋外の遺跡表面での藻類、もしくは建物外皮を対象としたもので、特に室内環境での増殖現象を対象としたものではない。

室内環境に着目した場合、既往研究の中で代表的な真菌予測モデルはドイツの IBP (Fraunhofer Institute for Building Physics)で開発された WUFI-Bio3)であり、非定常熱水分同時移動解析と連成して真菌発芽と菌糸成長の予測を行うことが可能とされている。WUFI-Bio では、真菌胞子を一定の含水率を有するレイヤー(層)と仮定し、胞子内の含水率変化を解析することで胞子発芽を判定し、その後の菌糸成長として温湿度条件に依存した増殖速度を与える2段階のモデル化となっている。

建材表面での真菌増殖予測に関する既存の予測モデルは1次元を仮定するものが過半であり、室内壁面上での2次元(形態的)な増殖現象や建材内部への菌糸成長を含めた3次元的な増殖現象予測を可能とする数理モデルは存在しない。室内環境設計上は、現実の室内環境中で起こりうる2次元、3次元の真菌増殖現象を精度良く、且つ既存の室内環境シミュレーションの枠組みに統合可能な数理モデルとして開発することが強く期待されており、この点に対して、反応拡散系モデルによる形態学的な真菌増殖モデルの提案を行うことが本研究のモチベーションである。

2. 研究の目的

上述の研究背景のもと、本研究では室内環

境中に存在する真菌類の増殖現象を再現する数理モデルを定式化した上で、基礎実験結果を基にしたモデルパラメータ同定と、CFDを中心とした既存の室内環境シミュレーションへの統合までを目指す。2014年から2015年までの2年間で、反応・拡散系モデルをベースとした真菌増殖予測モデルを構築し、各項の感度解析を実施する。その上で、雰囲気温湿度、養分を変化させた真菌コロニー形成に関する基礎実験結果を対象として、提案する反応・拡散系モデルのモデルパラメータ同定を行う。最終的に、CFDによる室内流れ場、温度場、湿度場解析とLagrange粒子追跡法による真菌胞子の輸送解析、壁面沈着分布解析手法と、本研究で提案する真菌増殖モデルの統合解析法を提案し、モデル室内を対象とした解析を実施するところまでを目標とした。

3. 研究の方法

本研究は以下の3段階で推進した

(1) 菌増殖を対象とした非線形反応・拡散モデルの概要

真菌コロニーの増殖現象は、一般にはシグモイド型の関数で表現されることが多く、個体群密度が低い場合には、指数関数的に増殖する。一方で、S.J. Pirtは肉眼でサイズの確認が可能な細菌コロニーの増殖を調査し、コロニー直径 d と時間経過 t の間には指数関数的な増殖関係ではなく直線関係が成立すると指摘している。これは、十分な養分量が確保されている場でのコロニー成長がコロニー周辺部分のみの増殖で生じており、コロニー中心部での増殖現象は無視できるとの仮定に基づく。このPirtのモデル化とMimura et alの定式化を参考に、真菌増殖現象を再現する数理モデルを構築する。

(仮定1) 真菌による増殖現象は、活性があり増殖活動の盛んな真菌群 u と、その後活性度が低下し静かな状態になっている真菌群 v (例えば胞子や分生子との想定することも可能)とに区別し、前者が後者を生成・生産しながら拡散移動すると仮定する。

(仮定2) 真菌増殖現象は反応-拡散(Reaction-Diffusion)モデルをベースに記述する。活性度の高い真菌群の拡散係数 D_c は真菌の個体群密度 u に依存するLogistic型を採用する。真菌の反応生成項(正の生産項)は個体群密度と養分量の他、温度、湿度(水分量)等の関数とし、一定の割合で不活性化する反応生成項(負の生産項)を有するとする。

(仮定3) 不活性真菌に関しては、死滅や移動を考慮せず、活性の高い真菌より生成された反応生成量がそのまま蓄積すると仮定する。

以上の仮定をもとに、真菌増殖モデルを以下の連立偏微分方程式にて表現する。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (D_c \nabla u) + \theta f(u, n) - a(u, n)u - \gamma u \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = a(u, n)u \quad (2)$$

$$D_c = \sigma_1' \cdot d_1 u \left(1 - \frac{u}{d_2} \right) \cdot n \quad (3)$$

$$f(u, n) = \sigma_2 \left(\frac{f_1 n}{1 + f_2 n} \right) \cdot u \quad (4)$$

$$a(u, n) = \sigma_3 \cdot \frac{1}{\left(1 + \frac{u}{a_1} \right) \cdot \left(1 + \frac{n}{a_2} \right)} \quad (5)$$

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D_n \nabla^2 n - f(u, n) \quad (6)$$

u は活性度が高く増殖現象に寄与する真菌群密度, v は活性度が低くその場で蓄積する真菌群密度を示す。(1)式の右辺第一項はランダムな真菌群移動を示す拡散項, 右辺第二項は真菌密度や養分, その他の環境因子による反応生成項, 右辺第三項は真菌密度 u に依存する不活性真菌群 v への変換項であり, (2)式の右辺第一項で示された不活性真菌群 v の反応生成項となる。右辺第四項は活性真菌の消失(死亡)項を示す。また n は養分濃度を示し, (6)式で記述する。(3)式で示す拡散項は真菌増殖の温湿度依存性を表現するため, $D_c(u, n, T, \phi) = D_c \times \zeta(T, \phi)$ のように様な温度 T ならびに相対湿度 ϕ をパラメータとする関数を導入する。(4)式は真菌による養分消費を示すモデル関数であり, 養分消費量に対して一定の割合 θ にて真菌成長(増殖)に寄与すると仮定した反応生成項であり, Michaelis-Menten 式にて記述する。(5)式は活性真菌群 u から不活性真菌群 v への変換項であり, Mimura らの定式化を参考にして決定した。

(2) 非線形反応・拡散モデルのモデルパラメータ同定

前述の反応拡散系モデルを基礎とする真菌増殖モデルのモデルパラメータは, PDA 培地上での真菌増殖現象を対象とした基礎実験結果を再現するよう, 試行錯誤的に決定した。

真菌が孢子状態にて存在する場合, その孢子濃度は個数濃度(気中濃度の場合 spores/m³, 表面濃度の場合 spores/m² 等の次元)にて表現されるが, 一般に孢子個数濃度の計測は容易ではなく, 現実的には培地上に捕集・培養し, コロニー形成後のコロニー数をカウントすることで cfu/m³, cfu/m² 等の次元で表現することが多い。建材表面にて真菌増殖する現象に着目した場合, その面的な増殖現象を表現する場合には何らかの真菌密度を用いる必要があるが, 実際には菌糸, 分生子, 分生子柄等が複雑に混在することでコロニー形成されるため, 一元的かつ汎用的な次元は存在し無い。そのため本研究では建材表面における仮想的な真菌密度(初期濃度で無次元化した真菌密度)を仮定し, 活性があり増殖活動の盛んな真菌群密度 u [-]と, その後に活性度が低下し静かな状態になっている真菌群密度 v [-]を解析に用いることとした。また, 養分濃

度 n も仮想的に無次元濃度とした。

真菌増殖速度を決定する重要なパラメータである拡散係数(3)式は, Logistic 式の定数部分を真菌個体数密度の増加に伴う抑制効果が小さいと推察されるコロニー形成の初期段階のデータを対象として決定した。その他, 養分消費項や高活性 - 低活性変換項中のモデルパラメータは Mimura らの値を参考に, コロニー形成実験の時間依存性のある程度再現するように試行錯誤的に決定した。

4. 研究成果

本研究では, 培地上でのコロニー形成実験結果と対応する境界条件で実施した数値解析を比較することで, 2次元面上での真菌増殖の形態予測がある程度可能となることを確認した。その結果の一例を図1に示す。

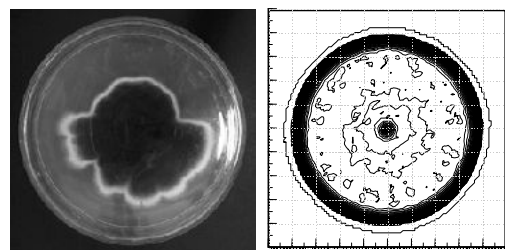


図1 PDA 培地上での真菌コロニー形成 (左: 実験, 右: 数値解析結果)

この結果を踏まえて, 高湿度環境が出現する住宅内空間の代表として浴室環境をモデル化して応用解析を実施した。解析対象として「建築学会標準問題モデル」の住戸モデルに対応する一般的な浴室を想定した。浴室モデルの概略形状を図2に示す。

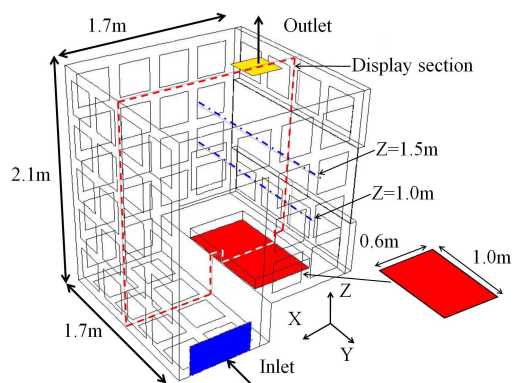


図2 解析対象とする浴室空間モデル

浴室入り口ドア下部に第3種機械換気の流入開口を設置し, 浴槽上部の天井面に排気口を設定する。浴槽には43のお湯が張られている状態を仮定し, 界面に一定温度を与えると共に水温に対応した飽和水蒸気圧を与える。浴室壁面は300mm×300mmサイズのタイルと幅100mmの目地(モルタル)の2種類の建材より仕上げられていると想定する。浴槽側壁面の一部には窓面に相当する壁面部分も設定する。

本解析では、浴室内の流れ場、温度場、湿度場を CFD を中心とした連成解析にて算出し、その定常流れ場を用いて Lagrange 法により真菌胞子をモデル化した粒子輸送と壁面沈着分布を解析する。その後、浴室壁面に対する真菌胞子の不均一沈着量分布を初期条件として、反応拡散系モデルを用いた真菌増殖解析を実施する。壁体内の熱水分移動と室内気流の時間スケールが大きく異なることを鑑み、壁体内の熱水分同時移動解析を CFD 解析とは独立して実施することで真菌増殖モデルの入力条件とする簡便法を採用した。

解析結果の一例として、真菌胞子を仮定した粒子の流跡線を図 3 に示す。本解析では浴室天井面に設置した換気扇による第三種機械換気を想定し、浴室の入り口ドア下部から真菌胞子を含む空気が流入する条件となっている。

加えて、浴室壁面に衝突して沈着した真菌胞子の壁面分布の解析結果を図 4 に示す。

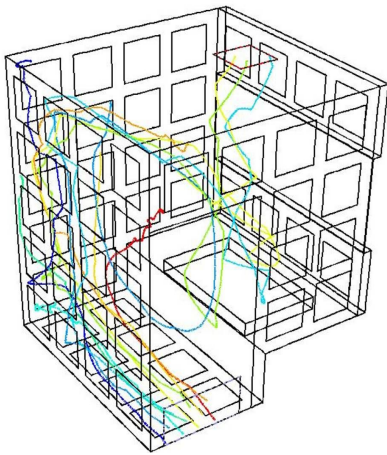


図 3 真菌胞子を仮定した粒子の流跡線

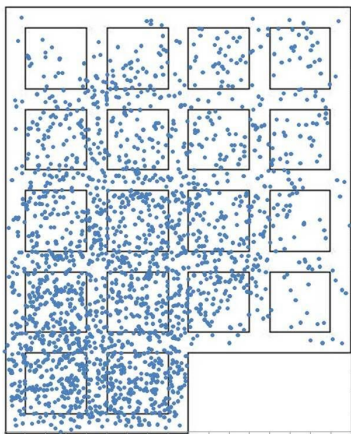


図 4 真菌胞子の沈着量分布

図 4 に示した浴室壁面上の真菌胞子沈着量分布を初期条件として、壁面上での増殖現象を解析した結果の一例を図 5 に示す。本解析では、真菌増殖に直接寄与する有効養分 n にて真菌増殖の建材種依存性を表現するため、タイル部分の初期有効養分 n はゼロ、目地部分の初期有効養分 n を 1 とし解析を實

施した。そのため、タイル部分では全く真菌が増殖せず、目地部分でのみ真菌が増殖している。図 5 は胞子沈着後から 24 時間後、48 時間後、72 時間後の増殖結果を示している。

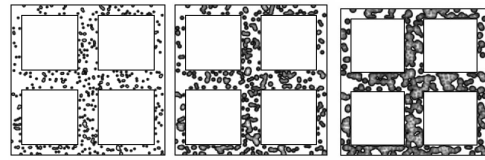


図 5 反応拡散モデルによる真菌増殖($u+v$)予測結果

この解析結果は、高湿度となりうる浴室空間を対象として流れ場、温度場ならびに湿度場の連成解析を行うと共に、浮遊真菌胞子をモデル化した球形粒子の Lagrange 追跡を行うことで、壁面沈着量分布の予測が可能となること、さらに粒子沈着位置を真菌増殖発生源とした真菌増殖の形態解析が可能となること、をデモンストレーションする一例であるが、この解析結果そのものは対応する実験や実測で検証されていない。この点は今後の課題である。

また、真菌胞子に代表されるバイオエアロゾルが生物の粘膜上皮に沈着した場合の増殖現象に関して、追加で検討を行った。粘膜上皮での増殖と他の組織、臓器への輸送は次式で示す反応拡散系モデルを記述可能である。(上式が(7)式、下が(8)式)

$$\frac{\partial C_t}{\partial t} = -\frac{V_{max1}C_t}{K_{m1} + C_t} - K_f \cdot C_t - K_b \cdot C_t + D_t \frac{\partial^2 C_t}{\partial x^2}$$

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -K_f \cdot C_b - K_b \cdot C_b - (Q_b / V_b) \cdot C_b + D_b \frac{\partial^2 C_b}{\partial x^2}$$

ここで、 $V_{max1}[\mu\text{g/L/s}]$ 及び $K_{m1}[\mu\text{g/L}]$ は脱水素酵素による代謝クリアランス、 K_f 及び K_b は一次反応速度定数 $[1/s]$ を示す。 Q 、 V 、 D はそれぞれ各粘膜組織における血流量 $[L/s]$ 、体積 $[m^3]$ 、拡散係数 $[m^2/s]$ を示し、添え字 t は tissue、添え字 b は blood を示す。

本研究では反応拡散系モデルによる微生物増殖現象予測の可能性を追求するため、以下に示す単純な二次元空間を仮定し、バイオエアロゾルが粘膜上皮に沈着した場合の反応拡散系モデルによる人体曝露濃度予測の可能性も検討した。

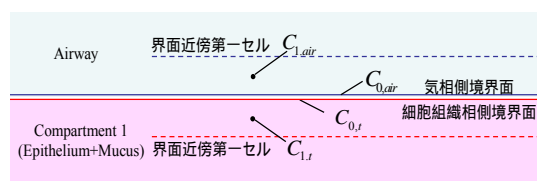


図 6 気相-粘膜上皮相の境界面

ここで、空気 - 壁面(ここでは粘膜上皮)境界面では(9)式を壁面条件として与える(フラックス保存)。

$$D_a \frac{\partial C_a}{\partial n} = D_t \frac{\partial C_t}{\partial n} \quad (9)$$

ここで、 n は境界面での法線方向座標を示す。また粘膜上皮内でのバイオエアロゾル濃度は気相濃度を用いて次式で与える。

$$C_t = P_{r,air} C_a \quad (10)$$

ここで、 $P_{r,air}$ は Partition Coefficient [m^3/m^3] と呼ばれ、気相濃度と粘膜上皮相濃度の分配を示す。吸着等温式と見なせば線型モデル (Henry モデル) に相当する。 C_t は粘膜上皮内でのバイオエアロゾル濃度 [$\mu g/m^3$] (ここでの m^3 は単位粘膜組織体積) を示す。

解析結果の一例を図 7 に示す。

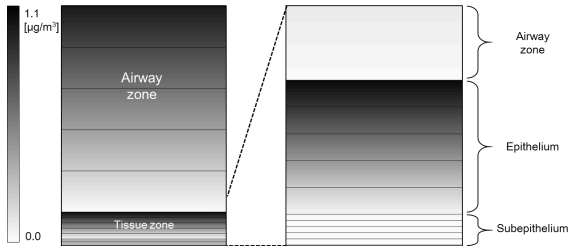


図 7 空気・粘膜上皮界面と上皮組織内でのバイオエアロゾル沈着に伴う濃度分布

この予備解析結果は、適切な境界条件とモデルパラメータが与えられれば、反応拡散系モデルにて生物の細胞組織上もしくは組織内での増殖予測を実行することが可能となることを示している。しかしながら、この予備解析結果も *in Vivo* もしくは *in Vitro* 実験結果にて精度検証されたものではない。この部分は今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- 1) Kazuhide Ito : Micro- and Macro-Scale Measurement of Fungal Growth under Various Temperature and Humidity Conditions : *Evergreen - Joint Journal of Novel Carbon Resource Sciences & Green Asia Strategy*, Volume 01, Issue 01, March 2014, pp32- 39 (査読有)

〔学会発表〕(計 4 件)

- 1) 光宗航基, 久我一喜, 山下真登, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サル・ヒトを対象とした上気道内対流熱伝達率解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2016.3.6, pp257-260, 琉球大学(沖縄) (査読無)
- 2) 光宗航基, 伊藤一秀: 齧歯類を対象とした数値気道モデル開発と鼻腔内流れ場・温度場の数値解析: 日本建築学会大会学術講演梗概集, 2015.9.6, D-2, pp763-764, 東海大学(東京) (査読無)
- 3) Kazuhide Ito, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Toshiki Matsuo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jeff Fowles, Kazukiyo Kumagai : Exposure Assessment to e-Cigarettes, : Part 3 Preliminary Numerical Prediction of Contaminant

Distributions in Human Respiratory Tract Models : Healthy Buildings America 2015, July 21th, Boulder, USA, pp464-469 (アブストラクト査読有)

- 4) 伊藤一秀: 経気道暴露を前提とした PBPK-CFD 手法による健康リスク予測に関する現状と展望: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2015.3.1, pp225-228, 熊本県立大学(熊本) (査読無)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

研究室ホームページ: (www.phe-kyudai.jp)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 一秀 (Ito Kazuhide)

九州大学・大学院総合理工学研究院・准教授

研究者番号: 20329220