

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 26 日現在

機関番号：82602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870871

研究課題名(和文)ハウスダスト中エンドトキシン濃度とアレルギー有症率に関する研究

研究課題名(英文)Study on Endotoxin Concentration in House Dust and Allergy Symptoms

研究代表者

金 勲(KIM, Hoon)

国立保健医療科学院・その他部局等・主任研究官

研究者番号：00454033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では生物由来汚染要素であるエンドトキシンのダスト中濃度測定及びアンケート調査を通じて建築室内環境要素とアレルギー症との関係を調べた。

ハウスダスト中ET濃度は数百から30,000EU/g以上まで幅広く定量され、室内環境における一般的な濃度は数千EU/gであった。また、ダスト収集の季節によるET濃度の違いがうかがわれた。ダスト中濃度とアレルギー有症住宅との相関分析からは負の相関傾向が見られたが、その相関に有意差は認められなかった。原因として、家族構成員にアレルギー症を持っている人が居る場合は、掃除や換気に気を付け、より清潔な環境を心がけていることが推察された。

研究成果の概要(英文)：Endotoxin (ET) has been ascribed as allergen on the hygiene hypothesis (Strachan DP, 1989). Medium-term goal of this study is to ascertain the effect of endotoxin on allergic occupants. 67 detached houses were investigated by conducting questionnaire, collecting house dust and sampling indoor air.

As a result, ET concentrations (CET) in house dust were determined in a wide range from about 250 to 35,000EU/g (mean 7,405±6,885), and showed several thousand EU/g as the typical value. Significant correlation between allergic symptoms and CET was not observed statistically, and bronchial problems like asthma produced the same result. Meanwhile, allergic individuals were likely to be more at the houses with lower CET, and it was thought to be causally related to family members' recognition and efforts to improve the indoor environment by cleaning and ventilating etc. A seasonal difference of CET was observed as showing those in summer and interim season were higher than in winter.

研究分野：室内空気環境、化学汚染、換気

キーワード：エンドトキシン アレルギー ハウスダスト 住宅

1. 研究開始当初の背景

喘息・皮膚炎・目鼻の異常で代表されるアレルギー有症者の増加は個人の生活の質の低下と社会活動に支障をもたらす。更に、労働生産性の低下、医療費増加による社会損失と社会費用を増大させる。

アレルギー症は先進国病と呼ばれるほど生活が豊かになるにつれ増加する傾向を示す。平成 15 年国民生活基礎調査「文献 1)」では全国 4 万人以上を対象にした調査結果から約 36% がアレルギー様症状があり、厚生労働アレルギー疾患対策報告書「文献 2)」では全人口の約 2 人に 1 人が何らかのアレルギー疾患に罹患していることを示している。その中でも気管支喘息は小児・成人共に急増しており、特に小児喘息はここ 20 年で 3 倍近く急増している「文献 3)」。

アレルギー症増加の原因としては諸説があるが、その中でもよく知られているのは衛生仮説「文献 4)」である。衛生仮説は乳幼児期にある程度の汚染因子に曝露された子供は自然に免疫調節能力をつけ、病気やアレルギーなどの疾患になりにくくなるが、最近のアレルギー症増加は生活環境が綺麗になりすぎて免疫調節能力をつける機会が少なくなり免疫系の過剰反応であるアレルギー症になりやすいという説である。

そのアレルギーとして微生物(陰性グラム群生物)の細胞壁成分であり、細胞壁の破壊(死骸)により放出されるエンドトキシンが注目され、アレルギー症に関係している可能性を示唆する研究が報告されている「文献 5)-10)」。

エンドトキシンは水、空気などあらゆる環境に存在し、致死性ショック、発熱を引き起こすことがあることから医療・医薬・食品分野では測定が行われてきているが、居住環境に存在するエンドトキシンに関する研究は数少ない。

また、エンドトキシンは 1~2 歳未満の乳幼児期曝露とその後の曝露がアレルギー罹患に正反対に働くと考えられている。例えば、乳幼児期期の曝露はアレルギー罹患を抑制するがその後の曝露はむしろ喘息、アトピー性皮膚炎などの症状を悪化させる。そのため、農村育ちやペットを飼っている家庭で育った子供はアレルギー症が少ないという内容である。しかし、明確な因果関係究明まではまだ研究が必要である。そのことから病理学分野においては研究が進められているが、住環境をターゲットにした建築分野からの研究例は殆ど存在しない。アレルギー症は遺伝的な問題もあるが、生活環境や生活習慣に起因することから、生活環境のどのような因子が大きく寄与しているのかを明らかにすることは罹患予防と症状改善の面で重要である。

2. 研究の目的

本研究は乳幼児期の汚染因子(非衛生的な環境)への曝露が成長・成人期におけるア

ルギー罹患に密接に関係しているという衛生仮説「文献 4)」に基づく。特にあらゆる環境中に存在するエンドトキシン(Endotoxin; 生物内毒素)は乳幼児期曝露とその後の曝露がアレルギー罹患に正反対に働く可能性が報告されている「文献 5)-10)」。

本研究の目的は、室内で居住者が常に接しているハウスダストに含まれている「エンドトキシンの濃度と居住者のアレルギー有症率」との関連性を調べることである。本研究では生物由来汚染要素であるエンドトキシンのダスト中濃度測定及びアンケート調査を通じて建築室内環境要素とアレルギー症との関係を調べた。

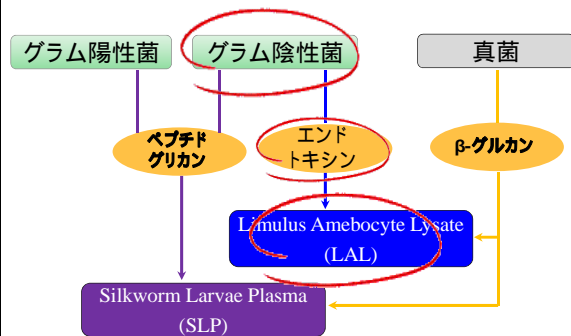


図 1 真菌・細菌の特異的試験

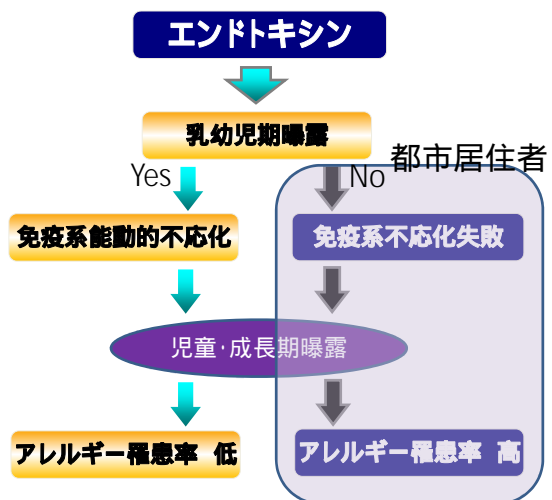


図 2 衛生仮説

3. 研究の方法

3.1 測定対象の選定とアンケート調査

調査対象は住居形態を問わず一般的な都市住居とする。個人的な手配に加え、本科学院と交流があり、なおアレルギー対策に関心の高い地域保健所や関連団体、大学生などに協力を求め 70~100 件以上を目標とした。乳幼児がいる家庭に限定せず居住者全員の健康状況と室内環境などをアンケート回答してもらった。家族構成員のアレルギー有症者有無による対照群のバランスが必要であるため、データの偏重が著しく現れた場合は調査対象の適宜選定を行うこととした。設問

は既往のアレルギー関連の赤澤ら「文献 11)」の厚生労働研究、健康増進住宅に関する吉野ら「文献 12)」の研究、日本アレルギー協会などで使われている内容を参考にし、回答負担の少ないものとした。

健康情報としては家族構成員のアレルギー性疾患の有無、症状、程度、発症年齢など、室内環境因子としては居住形態、住宅構造、築齡、ペット有無、掃除回数、換気状況、冷暖房方式、ダンプネス、カビ臭などを設問した。

3.2 ハウスダストの採取

2 通りの採取法を用いた。掃除機の集塵袋に集まっているものを採集瓶の郵送によって収集する方法と、現地に赴いて掃除機の吸引口に採取フィルタを装着して捕集する方法である。現地捕集では約 1m² 面積を 1 分間採取した。関東圏住宅 (55 件) のハウスダストは掃除機の集塵袋に集まっているものから採取し、京都府住宅 (12 件、13 ヶ所) のダストは掃除機の吸引口にフィルタを装着して採取した。

3.3 前処理

ダストを計量し、ダスト重量の 250 倍の蒸留水 (注射用水; ET フリー水) を添加、ボルテックスミキサーで 90 秒間攪拌した。試料は冷蔵にて 3~6 時間静置させ、浮遊物が沈殿したら上澄み液を分注して必要希釈倍率 (一般的には 25,000 倍) まで段階的に希釈した。室内や機器表面で繁殖した微生物による ET は医薬品、飲用水などに比べ遙かに高い濃度水準にあるため、高倍率の希釈が必要となる。

3.4 エンドトキシン濃度分析

分析装置としては Toxinometer ET-5000 (和光純薬) 用いた。ライセート試薬と反応させたエンドトキシンのゲル化に伴う濁度変化をカイネティック比濁法で測定し、作成検量線に基づいて定量化する。

日本薬局方及び FDA 認証分析法にはゲル化法・比濁法・比色法の 3 つがあるが吸光比濁法は精度が高く定量しやすい利点があり、1~0.001EU/mL の広範囲・高感度で検出できるため環境中汚染程度を測定するのに適合している。また、ハウスダスト中エンドトキシン濃度は医薬品、飲用水などに比べ遙かに



図 3 トキシノメータ - 及び現場測定例

高い水準が予想されるため 1,000~10 万倍程度の希釈試料を用いた。エンドトキシン濃度測定結果は、分析に使用されたダスト量に対する検出量、溶媒量に対する検出量、採集床面積に対する検出量など様々な表現が存在するが、本研究ではダスト質量に対する検出濃度 (EU/g) として表す。

4. 研究成果

4.1 ハウスダスト中エンドトキシン濃度

表 1 に関東 55 件、京都 12 件 (13 ヶ所) から採取したハウスダストの濃度測定結果集計を、表 2 に濃度測定結果表を示す。

ダスト中 ET 濃度は約 250~35,000EU/g (平均 7,405±6,885) と幅広く分布しており、室内環境中では数千 EU/g が一般的であった。ダストの採取時期による違い (夏期・中間期 > 冬期) がうかがわれた。

図 4 には京都所在住宅におけるハウスダスト及び気中 ET 濃度の I/O 比を一緒に表した。ダスト濃度として F-002 は 30,000EU/g 以上、F-013 は 10,000EU/g を超えている。殆どの住宅は数千 EU/g 範囲でこれらが一般的なダスト中 ET 濃度であった。一方、数百 EU/g と顕著に低い住宅も 2 軒存在している。細菌は人間、土壌由来であり環境中にはどこにでも存在するため、濃度が高いだけでなく非常に低いことも問題があると考えている。これに関しては真菌濃度、化学物質濃度と比較しながら調べてゆく必要がある。

表 1 ハウスダスト中 ET 濃度の集計 [EU/g]

	Autumn (n=15)	Winter (n=7)	Spring (n=33)	Summer (n=13)	Total (n=68)
Max	35,381	10,775	21,702	30,902	35,381
3rd quantile	13,325	5,082	13,127	8,524	10,730
Mean ± SD	8,497±8,990	3,875±3,435	7,676±5,977	7,357±7,759	7,405±6,885
1st quantile	1,574	1,661	2,871	3,161	2,845
Min	497	263	570	255	255

4.2 ハウスダスト中 ET 濃度とアレルギー有症率との関係

ダスト中 ET の対数濃度とアレルギー症との関係について SAS-JMP 5.0.1 を用いて有意水準 5% で相関分析を行った。ET 濃度とアレルギー症には負の相関傾向が見られたが、その相関に有意差は認められなかった。負の相関の原因としては、家族構成員にアレルギー症を持っている人が居る場合は、掃除や換気に気を付け、より清潔な環境を心がけていることが推察される。アレルギーの個別症状と ET 濃度との関連性については今後詳細解析を行う予定である。

4.3 今後の展望

参考に水道水、ハウスダスト、空調機表面 ET 濃度の比較例を図 6 に示す。水道水中 ET 濃度は一桁台の濃度が多く、ダストや室内表面に比べ低いことは明らかである。

1 日程度使用しなかった蛇口から受けた水道水は 10~20EU/mL、使用し続けて綺麗な状態で 4EU/mL 程度であり、空気中 ET 濃度は 1EU/m³ 未満が多く全体的には低い場合によっては 10 EU/m³ を超える。それに比べ、ハウスダストは数百から 30,000EU/g 以上まで分布するが数千 EU/g 程度が一般的である。

拭き取りテストによる空調機部位の測定結果から、汚染されたコイルやドレンパンなどは数百万~数千万 EU/m² を超えることも

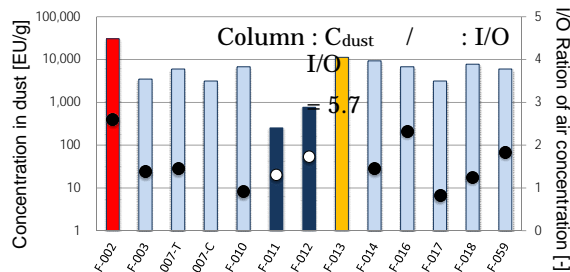
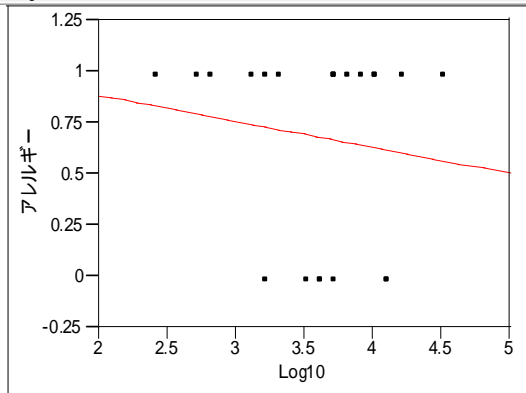


図 4 ハウスダスト及び気中 ET 濃度の I/O 比 (I/O 比はゼラチンフィルタによる結果)

Log10とアレルギーの二変量の関係



尺度化した推定値

項	尺度化した推定値	標準誤差	t 値	p 値(Prob>t)
切片	0.6818182	0.103134	6.61	<0.001
Log10	-0.133673	0.212511	-0.63	0.5365

図 5 二変量解析結果

表 2 ハウスダスト中 ET 濃度[EU/g]

		ダスト中 ET濃度 [EU/g]	空気中 ET濃度 [EU/m ³]	アレル ギー症	
冬期	S-01	5082	-	有	Max: 10775 Mean: 3875 Min: 263 S.D.: 3435
	S-02	263	-	有	
	S-03	4046	-	無し	
	S-04	3270	-	無し	
	S-05	10775	-	有	
	S-06	2030	-	有	
	S-07	1661	-	有	
秋期	T-01	4778	-	無し	Max: 35381 Mean: 8497 Min: 497 S.D.: 8990
	T-02	654	-	有	
	T-03	4012	-	無し	
	T-04	5231	-	有	
	T-05	1339	-	有	
	T-06	13325	-	無し	
	T-07	8105	-	有	
	T-08	1574	-	無し	
	T-09	4998	-	有	
	T-10	17018	-	有	
	T-11	10594	-	有	
	T-12	6629	-	有	
	T-13	13325	-	無し	
	T-14	35381	-	有	
	T-15	497	-	有	
夏期	F-002	30902	791	-	Max: 30902 Mean: 7357 Min: 255 S.D.: 7759
	F-003	3505	418	-	
	F-07 Tatami	5973	-	-	
	F-07 Carpet	3161	439	-	
	F-10	6780	276	-	
	F-11	255	398	-	
	F-12	776	527	-	
	F-13	11330	1739	-	
	F-14	9310	439	-	
	F-16	6780	708	-	
夏期	F-17	3161	248	-	Max: 21702 Mean: 7676 Min: 570 S.D.: 5977
	F-18	7737	379	-	
	F-59	5973	557	-	
	TY1504-01	5583	-	有	
	TY1504-02	7876	-	有	
	TY1504-03	3752	-	無し	
	TY1504-04	13786	-	有	
	TY1504-05	2350	-	無し	
	TY1504-06	14657	-	無し	
	TY1504-07	4865	-	有	
	TY1504-08	570	-	有	
	TY1504-09	6138	-	有	
	TY1504-10	3187	-	有	
	TY1504-11	1557	-	有	
	TY1504-12	2267	-	有	
	TY1504-13	14657	-	有	
	TY1504-14	2350	-	有	
	TY1504-15	18946	-	有	
	TY1504-16	12980	-	無し	
	TY1504-17	17736	-	有	
	TY1504-18	10900	-	無し	
	TY1504-19	21702	-	有	
	TY1504-20	6138	-	無し	
	TY1504-21	4507	-	有	
	TY1504-22	906	-	有	
	TY1504-23	5355	-	有	
	TY1504-24	4702	-	無し	
	TY1504-25	17967	-	有	
	TY1504-26	9537	-	有	
	TY1504-27	1222	-	無し	
	TY1504-28	13273	-	無し	
	TY1504-29	7058	-	有	
	TY1504-30	7780	-	有	
TY1504-31	3273	-	有		
TY1504-32	2924	-	有		
TY1504-33	2819	-	有		
全体	Max	35381	1739		
	Mean	7405	576		
	Min	255	248		
	S.D.	6885	399		

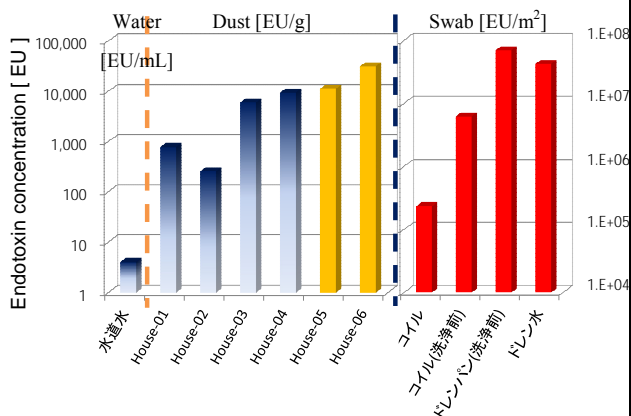


図6 水道水、ハウスダスト、空調機表面 ET 濃度の比較例

ある。このように ET 濃度からは汚染されやすい部位や掃除前後の汚染度合いが克明に現れる。

まだ試料数が十分ではないため明確な指標を示すことには至らないが、空気、水、ダスト、室内表面汚染など環境中 ET 濃度の目安となる範囲を示すことで、室内環境に問題がないかを判別できると考えられる。

ET は体内に直接摂取する場合はなるべく低い濃度が望ましいが、細菌はどこにでも存在するため必ずしも環境濃度が低いのが望ましいとは限らない。特に、薬剤、化学物質、カビなど、細菌の環境濃度に影響し得る他のリスク要素も多く存在する。

一方、ハウスダストや室内表面の高い ET 濃度は明らかに掃除や管理不足に起因するものであり、細菌汚染指標として十分活用できると考えられる。

4.4 まとめ

ハウスダスト中 ET 濃度は数百～3 万 EU/g 以上まで幅広く定量され、室内環境における一般的な濃度は数千 EU/g であった。また、ダスト収集の季節による ET 濃度の違いがうかがわれた。ダスト中濃度とアレルギー有症住宅との相関分析からは負の相関傾向が見られたが、その相関に有意差は認められなかった。原因として、家族構成員にアレルギー症を持っている人が居る場合は、掃除や換気に気を付け、より清潔な環境を心がけていることが推察された。

「参考文献」

- 厚生労働省. 平成 15 年保健福祉動向調査の概況. <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/hftyosa/hftyosa03/kekka1-1.html>
- 厚生労働省. アレルギー疾患対策報告書(素案). <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000016819-att/2r9852000001684w.pdf>
- 日経 BP. アレルギー疾患診断・治療ガイ

ドライン 2010 概要. 日経メディカルアペンデックス 2010;12:1-4

4) Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299:1259-60.

5) 斎藤博久. アレルギー疾患・喘息発症に関わるサイトカイン支配. *喘息* 2004;13(7):2-6.

6) von Mutius E, Braun-Fahrlander E, Schierl R, Riedler J, Ehlermann S, Maisch S, et al. Exposure to endotoxin or other bacterial components might protect against the development of atopy. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1230-4.

7) Ernst P, Cormier Y. Relative scarcity of asthma and atopy among rural adolescents raised on a farm. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1563-6.

8) Kilpelainen M, Terho E0, Helenius H, Koskenvuo M. Childhood farm environment and asthma and sensitization in young adulthood. *Allergy* 2002;57:1130-5.

9) Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Allergy and Endotoxin Study Team. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002;347:869-77.

10) Yeong-Ho Rha, Sun-Hee Choi. The effects of early allergen/endotoxin exposure on subsequent allergic airway inflammation to allergen in mouse model of asthma. *Korean Journal of Pediatrics* 2010; 53(4):418-87

11) 赤澤晃 他. アレルギー疾患の全国全年齢有症率および治療ガイドライン普及効果等免疫調査に基づく発症要因・医療体制評価に関する研究. 厚生労働科学研究報告書 2011.

12) 吉野博 他. 居住環境における健康維持増進に関する研究 その 37 居住環境と児童の健康障害との関連性に関する調査研究 (11) アレルギー性疾患と居住環境との関連についてのアンケート調査 (Phase2) によるダンプネスと健康影響の分析. 日本建築学会学術講演梗概集 2011;D-1:1167-68.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 4 件)

1) Hoon KIM, Eunsu LIM, U YANAGI, Naoki KAGI, Kenichi AZUMA, Haruki OSAWA and Motoya HAYASHI. Endotoxin Concentration in House Dust and Indoor Air in Japan. *Indoor Air* 2016, 2016.7. (発表決定)

2) 金勲、柳宇、鍵直樹、東賢一、Kim Eunsu、大澤元毅、林基哉. エンドトキシンの室内環境濃度. 日本建築学会学術大会、2016.9. (発表決定)

3) 金勲, 柳宇, 鍵直樹, 東賢一, イムウ

ンス, 林 基哉. 都市住宅におけるハウスダスト中エンドトキシン濃度の実態調査. 平成27年室内環境学会学術大会講演 要旨集. 2015.12; 沖縄. p.214-215.

4) 金勲, 大澤元毅, 鍵直樹, 柳宇, 東賢一. ハウスダスト中エンドトキシン濃度とアレルギーに関する研究 その1 ハウスダスト中エンドトキシンの分析条件. 日本建築学会大会学術講演梗概集. 2014.9. pp.875-876.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金 勲 (KIM, Hoon)

国立保健医療科学院・生活環境研究部・

主任研究官

研究者番号: 00454033