

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：30109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00568

研究課題名(和文) 大気汚染物質がバイオエアロゾルの感染力に及ぼす影響評価と疾病予防に向けた研究

研究課題名(英文) Impact assessment for air pollutants affecting infectivity of bioaerosols and disease prevention

研究代表者

能田 淳 (Noda, Jun)

酪農学園大学・獣医学群・准教授

研究者番号：70551670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：バクテリアやウイルスなどを含むバイオエアロゾルと煤の相互作用メカニズムの解明が感染症などによる健康被害を最小限に抑えるための一助になると考え本研究を推進した。対象とする環境中の汚染物質としては炭化水素の不完全燃焼から排出される黒煙(煤)を対象物質とし、オゾンバイオエアロゾルへのストレス因子として、大気環境中での挙動を対流式反応チャンバーにてシミュレーション実験した。その結果、バイオエアロゾルが煤と混在した場合はオゾンによるストレスを軽減している傾向が見受けられた。有機物質を多く含んでいる、煤や畜舎内環境粒子がバイオエアロゾルの活性保持にどのような影響を及ぼすか検証を行うことができた。

研究成果の概要(英文)：This work tried to understand the mechanism and linkage between soot particles and bioaerosols, which containing bacteria or virus, to minimize an adverse health effect associated with airborne infectious diseases. We have targeted the soot as a model air pollutant, which often generated from incomplete combustion of various fuels, and ozone as environmental stress factor to measure the effect on the viability of bacteria in a simulation reaction chamber. From the result, the soot and bacteria co-existing condition showed less influence of ozone stress. Furthermore, we have demonstrated that examination of soot and/or other organic compounds to contribute to maintaining the viability of airborne bacteria.

研究分野：大気科学

キーワード：大気化学 バイオエアロゾル 環境衛生 家畜衛生 呼吸器疾患

### 1. 研究開始当初の背景

近年、川崎病、非結核性好酸菌などの疾病の増加傾向が危惧されており、明確な原因の究明によるこれら疾病問題に対応するための研究が展開されている。申請者らは大気環境中の変化、特に大気汚染の増加がこれら疾病問題と関係しているのではないかという仮説の基、実験室レベルでの検証を行っている。この仮説に至った背景としては、先行研究にて(24年度採択の挑戦的萌芽研究)バクテリアと石巻由来ヘドロ粒子との混在はバクテリアとゴビ砂漠由来粒子との混在条件より有意に生存が保持される結果が本研究室の対流式反応チャンバーにて得られている(論文投稿中)。これらの粒子の化学組成解析から、石巻由来ヘドロはゴビ砂漠由来粒子より有機物質を多く含んでいたことより、有機物質は何らかの作用でバクテリアの生存に寄与しているのではないかと考えた。そこで大気環境中に存在する有機物質である煤に焦点をあて、煤とバイオエアロゾルの関係を検証することに意義があると考えた。これまでに、北京市街地での大気汚染とバイオエアロゾルを併せて測定した結果から、PM<sub>2.5</sub> とバイオエアロゾルの濃度には正の相関が見られたとの報告があり、大気汚染がバイオエアロゾルの存在に一助したことが示唆されていることも着想の背景である。

### 2. 研究の目的

大気汚染物質が及ぼす様々な健康への影響についての研究は重要である。その中でも、バイオエアロゾルと煤の相互作用メカニズムの解明は感染症などによる健康被害を最小限に抑えるためには不可欠である。煤などの大気汚染物質の修飾を受けたバイオエアロゾルは、紫外線などのストレス要因による不活化を妨げているか否かについて検証を行っていくことを目的とする。バクテリアやウイルスなどの微生物由来成分を含むバイ

オエアロゾルが浮遊粒子状物質として大気中に浮遊する際、大気汚染物質の存在が何らかの理由でこれら微生物の生存、保護に寄与していると考え、汚染物質を含むサブミクロンサイズのエアロゾルにて微生物の不活化への影響を検証することを目的とした。対象とする環境中の汚染物質としては炭化水素の不完全燃焼から排出される黒煙(煤)を対象物質として、これらが付着したエアロゾルの中の微生物相における不活化への影響を対流式反応チャンバーにてシュミレーション実験を行う。これより、大気汚染物質(煤)の存在がバイオエアロゾルに及ぼす影響の把握、感染予防対策のための情報収集と提供を目的とした。

### 3. 研究の方法

対象となるバイオエアロゾルはバクテリア、ウイルスにて検証を行った。これらが大気汚染物質として煤やその他の大気汚染物質の修飾を受けた場合、微生物の不活化にどのような影響を及ぼすかについて異なる条件下で検証を行った。具体的には異なる温湿度、オゾン暴露などの諸条件の違いが不活化にどのように影響を及ぼすかについて検証を行った。実験には対流式反応チャンバーを主に使用し、異なるエアロゾルを混和、反応させた後、エアロゾルサンプラーにて採取し微生物のゲノムコピー数をリアルタイム PCR などで定量した。更に、培養細胞を用いた感染性ウイルス試験を萩原教授(ウイルス学)らで行った。

煤とオゾンの暴露実験には、煤が2次有機エアロゾルの生成に与える影響を研究されている Hallquist 教授(ヨーテボリ大学・大気科学)と共同で実験を行った。これまでのバクテリア(*E. Coli*, *M. bovis* など)による PBS との混合液噴霧実験から、粒径 3 μm 以下のエアロゾルは数時間安定した状態でチャンバー内を対流していることが確認されてお

り、これらの結果を基に実験を行った。具体的にはチャンバー内を HEPA フィルターにて  $0.2\ \mu\text{m}$  以上の粒子を除いた粒子フリーエアを数時間連続して導入し、チャンバー内のすべてのエアロゾルをほぼゼロに近い状態であることを光学式粒子カウンター (OPC) にて確認する。その後センターロックが閉じているチャンバー内にネブライザー、ダストジェネレーターを用いて試験エアロゾルをそれぞれの空間に導入する。数分後、OPC にて粒子数が安定的に浮遊している状態を確認後にセンターロックを開け、異なるエアロゾルを約 1 時間混和させてから、エアロゾルの捕集をカスケードインパクター (空気力学的粒  $0.25\sim 2.5\ \mu\text{m}$  をテフロンフィルターに捕集)、バイオサンプラー (PBS などの培地に直接捕集) の両方で行った。併せて 17L の小型チャンバーを作成し、感染性エアロゾルの噴霧実験を共同研究者である萩原教授が分子生物学的な手法であるリアルタイム PCR にてゲノム量の定量、セルラインを使用して細胞感染試験などを行った。バクテリアに関しては、連携研究者である樋口教授が分子生物学的な手法にて核酸の定量を行った。

煤の試験にはヨーテボリ大学 Hallquist 教授の協力を得て行った。煤などの大気汚染物質とバイオエアロゾルを混和した後にオゾンなどの 2 次的ストレスを与え、不活化プロセスの違いを定量した。煤とオゾンの生成システムに関しても、これらの装置を使用して既に多くの実験を行っている Hallquist 教授の協力を得た。

#### 4. 研究成果

エアロゾルサンプラーを駆使して、バイオエアロゾルの噴霧、捕集の実験系を確立することができた。それぞれの実験は、大気環境学会 (2016)、ウイルス学会 (2016)、大気ダスト学会 (2016) にて成果を発表することができた。また、最終年度 (2017) においては、

第 5 回大気エアロゾル公開シンポジウム-陸・植物・空-を開催することができ、本研究課題の成果として得られた知見を、大学関係者だけでなく、広く一般の方々にも聴いていただいた。

Bovine parainfluenza, Bovine herpes virus type 1 を個別に使用した実験では、牛血清アルブミンの存在下で感染性に違いが見られた。*Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) を使用した試験では、畜舎内で想定される環境粒子として、おがくず、粗飼料、濃厚飼料などを混在させての実験を行った結果、異なる環境粒子によって 1 時間後の増減に大きな違いが見られた。また、異なる湿度条件下でおがくずと *M. bovis* を混在させると、粒径  $0.25\ \mu\text{m}$  域ではコピー数が有意に減少するが  $1\ \mu\text{m}$  域では増加する現象が相対湿度 80% にて認められた。さらに、煤と *Escherichia coli*. (*E. coli*.) の混在試験の結果から、煤の存在はオゾンによるストレスを軽減している傾向が見受けられた。滞在期間が限られていたことや実験装置のトラブルなどで、実験回数に限られてしまったが、有意義な結果が得られた。

有機物質を多く含んでいる、煤や畜舎内環境粒子がバイオエアロゾルの活性保持にどのような影響を及ぼすか検証を行うことが出来る程度できた。しかし、当初計画していた紫外線の照射などのストレス試験を行うことは期間内にできなかった。また、有機物質の持つどのような要素がバイオエアロゾルの活性保持に影響するのかについてなど検証するまでには至らなかった。学会発表などを通して、鉱物学や材料工学などの専門家からご意見をいただく機会があり、バイオエアロゾルと有機物質の関係の検証を進めていくことの重要性を再認識した。

#### 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)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Minamoto, Y., K. Nakamura, M. Wang, K. Kawai, K. Ohara, J. Noda, E. Davaanyam, N. Sugimoto, and K. Kai, Large-Scale Dust Event in East Asia in May 2017: Dust Emission and Transport from Multiple Source Regions, *SOLA*, Vol. 14, 31-34, 2018.

Demura, Y., Hoshino, B., Baba, K., McCarthy, C., Sofue, Y., Kai, K., Purevsuren, T., Hagiwara, K., and Noda, J., Determining the Frequency of Dry Lake Bed Formation in Semi-Arid Mongolia From Satellite Data. *Land*, 6(4) 1-9, 2017.

Demura, Y., Hoshino, B., Sofue, Y., Kai, K., Purevsuren, T., Baba, K., Noda, J., Estimates of ground surface characteristics for outbreaks of the Asian Dust Storms in the sources region, *ProScience* Vol 3, 21-30, 2016.

能田 淳, バイオエアロゾルとPM2.5: 健康への影響についてクリーンテクノロジー, Vol. 26, No. 9, 36-40, 2016.

〔学会発表〕(計 8 件)

Noda, J., Saito, A., Nishi, K., Gondaira, S., Higuchi, H., Nagahata, H., Yokota, H., Distribution pattern of aerosolized *Mycoplasma bovis* with environmental aerosols under different humidity levels, Joint international Tropical Medicine Meeting, Bangkok, 2017.

Noda, J., Noguchi, I., Dashdondog, B., Nakaya, T., Hagiwara, K., Bioaerosol researches: Field and laboratory investigation, *1<sup>st</sup> JSPS Core to Core program international seminar for collaborative work to develop platform for zoonotic infectious diseases among Japan, Egypt and Asian countries, Kyoto prefectural University of medicine, Kyoto, Japan, 2016.*

Noda, J., Hagiwara, K., Hoshino, B., Baba, K., Yokotota, H., Erdenebadrakh, M., Kawai, K.,

Kai, K., Viability differences of Bioaerosols with Dusts from Mongolia and Japan, *3<sup>rd</sup> JSPS Core to Core program for Collaborative Research between Mongolia, China and Japan on Outbreaks of Asian dust and Environmental Regime Shift, Information and research institute of meteorology, hydrology and environment, Ulaanbaatar, Mongolia, 2016.*

Inoue. H., Noda, J., Hagiwara, K., Investigation of Bovine Parainfluenza Viral infectivity Level in Airborne Fine Particles, The 64th annual meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, Japan, 2016.

Noda, J., Hagiwara, K., Hoshino, B., Yokotota, H., Erdenebadrakh, M., Kawai, K., Kai, K., Viability Reduction of Bioaerosols with Presence of Environmental Dusts, *International Conference on Atmospheric dust, Taranto, Italy, 2016.*

Noda, J., Toyoda, A., Higuchi, H., Ngahata, H., and Yokota, H., Behavior of Airborne *Mycoplasma Bovis* with Different Dusts in Livestock Farming, *International Conference on Atmospheric dust, Taranto, Italy, 2016.*

Hoshino, B., Demura, Y., Sofue, Y., Kai, K., Purevsuren, T., Noda, J., Estimates of Ground Surface Characteristics for Outbreaks of the Asian Dust Storms in the Sources Region, *International Conference on Atmospheric dust, Taranto, Italy, 2016.*

Noda, J., Hagiwara, K., Hoshino, B., Baba, K., Noguchi, I., Dashdondog, B., Nakaya, T., Kawai, K., and Kai, K., Bioaerosol Investigations: Field Measurements and Laboratory Studies, *2<sup>nd</sup> JSPS Core to Core program seminar for Collaborative Research between Mongolia, China and Japan on Outbreaks of Asian dust and Environmental Regime Shift, Lanzhou University, Lanzhou China, 2015.*

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

能田 淳 (Noda Jun)  
酪農学園大学 獣医学群 准教授  
研究者番号：70551670

(2) 研究分担者

萩原 克郎 (Hagiwara Katsuro)  
酪農学園大学 獣医学群 教授  
研究者番号：50295896

(3) 連携研究者

樋口 豪紀 (Higuchi Hidetoshi)  
酪農学園大学 獣医学群 教授  
研究者番号：00305905

(4) 研究協力者

( )