

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00579

研究課題名(和文) 大気バイオエアロゾルの粒径分布に着目した動態解明とモニタリングに関する研究

研究課題名(英文) Atmospheric bioaerosol dynamics and their monitoring focusing on particle size distribution

研究代表者

田中 大祐 (Tanaka, Daisuke)

富山大学・学術研究部理学系・教授

研究者番号：40360804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：大気中におけるバイオエアロゾル(細菌や真菌など)の粒径別の種組成と存在量を、分子生物学的手法で明らかにするとともに、検出された菌種による影響を評価することを本研究の目的とした。横浜市ではヒトの皮膚常在細菌が多かったが、富山市では土壌や植物に関連する細菌が多く認められた。また、粒径1.1 μmの閾値で細菌群集構造、多様性、全細菌密度が異なる傾向が見られた。興味深いことに、レジオネラ症の原因となるレジオネラ属菌が、2.1 μmを超える粗大粒子側で主に検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バイオエアロゾルの種組成と存在量について、2種類の粒径別サンプラーを組み合わせることで詳細に解析することから、新たな学術的知見を創出した。粒径により検出される微生物種に違いが認められ、バイオエアロゾル中の代表的な病原体であるレジオネラ属菌も検出された。本菌による罹患率が富山県は全国でも特に高いので、学術的意義に加え公衆衛生上の価値も高い。本研究の結果は、屋外のエアロゾルにおける細菌群集の組成、多様性、粒径に関する特性と、ヒトの健康への潜在的な影響を評価する基盤となる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the size-related characteristics of species composition and abundance of bioaerosols (bacteria, fungi, etc.) in the atmosphere using molecular biology techniques and to evaluate the influence of detected microbial species. We found a high abundance of human skin-associated bacteria in Yokohama City. Whereas, a high abundance of bacteria associated with soil and plants was observed in Toyama City. Furthermore, our data revealed a shift in the bacterial community structure, diversity, and abundance of total bacteria at a threshold of 1.1-μm diameter. Interestingly, we observed that *Legionella* spp., the causal agents of legionellosis in humans, were mainly detected in >2.1 μm coarse particles.

研究分野：環境影響評価

キーワード：バイオエアロゾル モニタリング 粒径 微生物 動態

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大気中には、細菌、真菌、花粉などの生物粒子（バイオエアロゾル）が存在し、ヒトの健康、生態系、農業などに影響を及ぼすことが懸念されている。バイオエアロゾルについて、国内では東アジアの砂漠から発生する黄砂に付着して飛来する微生物の影響が懸念され、いくつかのグループが研究を進めてきている。最近では、家畜舎や南極昭和基地におけるバイオエアロゾルや、各種測定法など、バイオエアロゾルの研究に広がりが見られる。国外では大気中の微生物のサンプリング方法、解析方法（培養法、分子生物学的手法）、存在量、多様性、時空間的動態、発生源（例えば、海洋、陸地、農地、森林、砂漠）などに興味を持たれている。ところで、近年、化石燃料の燃焼に伴って発生するPM2.5（粒径2.5 μm以下の微小粒子）が大きな問題となっていることから、エアロゾルの粒径別化学組成について、国内外で多くの研究者が研究を進めている。しかし、バイオエアロゾルの粒径別組成（微生物の種組成）について、国外では近年研究が着手されているが、国内ではほとんど研究が報告されていない。

### 2. 研究の目的

2種類の粒径別サンプラーを用いて捕集した大気試料について分子生物学的手法で解析し、大気中微生物について粒径別の種組成と存在量や、時空間的動態を把握するとともに、ヒトの健康などへの影響を評価することを当該研究の目的とした。そこで、以下の3つのサブテーマについて取組んだ。

- (1) 日本のほぼ中央で日本海側に位置する富山市と、太平洋側で首都圏に位置する横浜市に定点を設けて、アンダーセンエアサンプラーで9段階の粒径別に大気試料を捕集する。各試料に含まれる細菌や真菌などの微生物を、分子生物学的手法で解析し、バイオエアロゾルの粒径と微生物の種組成や存在量との関係や、地域性を明らかにする。
- (2) 富山市と横浜市に定点を設けて、日本の環境基準であるPM2.5とSPM（粒径10 μm以下の粗大粒子）を毎週捕集し、分子生物学的手法で解析した上で、大気中微生物の種組成や存在量と化学成分や気象条件との関連性や、地域性について知見を得る。
- (3) 上記のサブテーマ(1)と(2)で得られた大気中微生物の種組成と存在量のデータについて、検出された微生物種がヒトの健康、生態系、農業などへ及ぼす影響を評価する。最終的に大気バイオエアロゾルのモニタリング手法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

大気試料は、富山市の富山大学理学部棟の屋上（標高23 m）と横浜市の建物の屋上（標高約20 m）にて、アンダーセンエアサンプラーを用いて9段階の分級捕集（分級範囲：0.43～11.0 μm）を行った。また、PM2.5サンプリング装置を用いてPM2.5とSPMも捕集した。同日の大気測定データ（PM2.5質量濃度、SPM質量濃度、風向、風速、イオン成分、無機元素成分、炭素成分など）をムラタ計測器サービスや富山県環境科学センターに協力して頂いて得た。

各大気試料からDNAを抽出し、リアルタイムPCR法を用いた全細菌と全真菌の定量を行った。また、高速シーケンサー（Illumina MiSeq）を用いたメタゲノム解析で、細菌の16S rRNA遺伝子と真核生物の18S rRNA遺伝子を標的とする微生物群集構造を解析した。リアルタイムPCRや高速シーケンサーで得られた大気中微生物のデータと、化学成分や気象条件との関連性を、統計解析ソフトRを用いた多変量解析で調べた。また、検出した微生物種がヒトの健康、生態系、農業などへ及ぼす影響を文献等を参考に評価した。さらに、大気中微生物の発生源や輸送経路も推測するために、NOAA HYSPLITモデルを用いて後方流跡線解析を行い、サンプリング時の気塊の履歴を調べた。

### 4. 研究成果

日本のほぼ中央で日本海側に位置する富山市と、太平洋側で首都圏に位置する横浜市に定点を設けて、アンダーセンエアサンプラーを用いて9段階に分級捕集した。次に、試料に含まれる細菌や真菌などの微生物について、分子生物学的手法で存在量と微生物群集構造を解析し、それらの地域や粒径による差の把握を目指した。まず2016年8月～10月に捕集した試料について、高速シーケンサーを用いた細菌群集構造を解析した結果、門レベルではProteobacteria門、Actinobacteria門、Firmicutes門が優占していた。属レベルでは、横浜市で*Propionibacterium*属、*Staphylococcus*属、*Corynebacterium*属などヒトの皮膚常在細菌の割合が高かったのに対し、富山市では*Methylobacterium*属や*Sphingomonas*属などの土壌や植物に関連する細菌が多く認められた（図1）。さらに、粒径1.1 μmの閾値で細菌群集構造、多様性、全細菌密度が異なる傾向が見られた。興味深いことに、レジオネラ症の原因となるレジオネラ属菌は、2.1 μmを超える粗大粒子側で主に検出された（図2）。

PM2.5サンプリング装置を用い、日本の環境基準であるPM2.5とSPMを捕集した。2016年8月～12月に捕集した試料について、リアルタイムPCRを用いた全細菌と全真菌の定量を検討した結果、大気中の細菌と真菌はいずれも微小なPM2.5より粗大なSPMに多く存在していた。さらに、高速シーケンサーを用いた細菌群集構造解析を行ったところ、門レベルではProteobacteria門、Actinobacteria門、Firmicutes門が優占していた。また、地域や粒径によ

って細菌群集構造に差異が認められた。以上の結果は、屋外のアエロゾルにおける細菌群集の組成、多様性、粒径に関する特性と、ヒトの健康への潜在的な影響を評価する基盤となる。

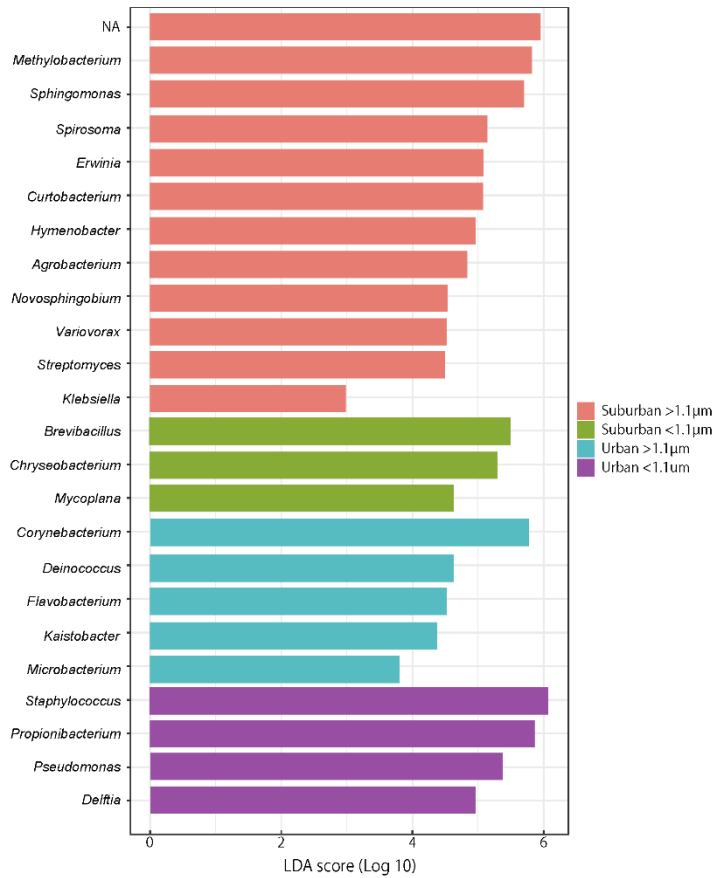


図1 .富山市(Suburban)と横浜市(Urban)で捕集した大気試料におけるLEfSe解析

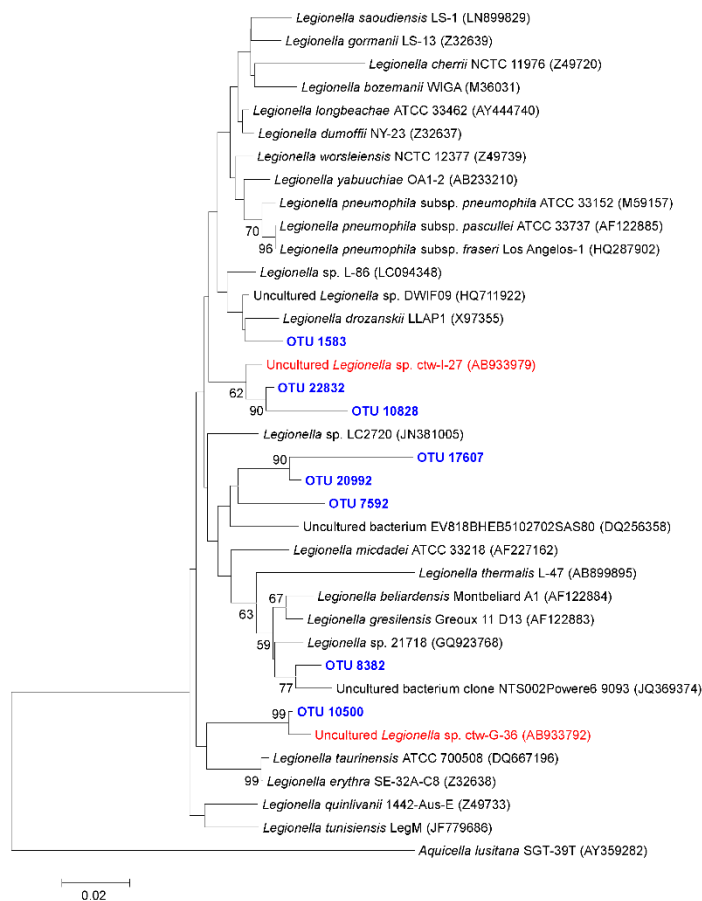


図2 .大気試料から高速シーケンサーを用いた細菌群集構造解析で検出されたレジオネラ属菌の16S rRNA 遺伝子塩基配列(OTU 1583 ~ 22832)を含む系統樹

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Daisuke Tanaka, Kei Sato, Motoshi Goto, So Fujiyoshi, Fumito Maruyama, Shunsuke Takato, Takamune Shimada, Akihiro Sakatoku, Kazuma Aoki, and Shogo Nakamura	4. 巻 7
2. 論文標題 Airborne Microbial Communities at High-Altitude and Suburban Sites in Toyama, Japan Suggest a New Perspective for Bioprospecting	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2019.00012	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 -

1. 著者名 Fujiyoshi, S., Tanaka, D., and Maruyama, F.	4. 巻 8
2. 論文標題 Transmission of Airborne Bacteria across Built Environments and Its Measurement Standards: A Review.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 2336
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2017.02336	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9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 後藤元志, 宮崎沙頼, 小山慎一, 喜多加代子, 藤吉奏, 酒徳昭宏, 加賀谷重浩, 中村省吾, 田中大祐
2. 発表標題 アンダーセンエアサンプラーを用いて分級捕集した大気試料における微生物群集の解析
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 So Fujiyoshi, Daisuke Tanaka, Fumito Maruyama
2. 発表標題 Bacterial Community Analysis by Metagenomic Approaches
3. 学会等名 Bioinformatics Meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 嶋田崇志, 上野菜々子, 佐野由実, 梅田知子, 小山慎一, 喜多加代子, 酒徳昭宏, 加賀谷重浩, 中村省吾, 田中大祐
2. 発表標題 富山市と横浜市で粒径別に採取した大気試料中の細菌・真菌密度
3. 学会等名 環境微生物系学会合同大会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daisuke Tanaka, So Fujiyoshi, Akihiro Sakatoku, Takamune Shimada, Motoshi Goto, Shinichi Koyama, Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, Masanori Watahiki, Yukako Tohsato, Shigehiro Kagaya, Fumito Maruyama, Shogo Nakamura
2. 発表標題 Characteristics of Bacterial Bioaerosols at Urban and Suburban Sites in Japan
3. 学会等名 The annual ASM Microbe 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中大祐
2. 発表標題 富山県の大気中におけるレジオネラ属菌の検出法の開発
3. 学会等名 第13回 令和元年度 富山第一銀行奨学財団研究助成セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumito Maruyama, So Fujiyoshi, Daisuke Tanaka
2. 発表標題 Bacterial bioaerosols at Yokohama and Toyama in Japan
3. 学会等名 ISME-LATIN AMERICA CONGRESS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 潘揚, 田中大祐, 中村省吾, 酒徳昭宏
2. 発表標題 多種類の食用油を分解できる細菌Cupriavidus sp. Pty-1株のキャラクタリゼーション
3. 学会等名 令和元年度日本水環境学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Tanaka, Akihiro Sakatoku, So Fujiyoshi, Jun Noda, Fumito Maruyama
2. 発表標題 Overview of this bioaerosol research with background knowledge
3. 学会等名 A SPECIAL RESEARCH PRESENTATION (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中大祐、藤吉奏、丸山史人、後藤元志、小山慎一、金谷潤一、磯部順子、綿引正則、酒徳昭宏、加賀谷重浩、中村省吾
2. 発表標題 アンダーセンエアサンプラーとIllumina MiSeqを用いた富山市と横浜市における細菌バイオエアロゾルの特徴
3. 学会等名 第13回大気バイオエアロゾルシンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>富山大学研究者総覧  <a href="http://evaweb.u-toyama.ac.jp/html/593_ja.html">http://evaweb.u-toyama.ac.jp/html/593_ja.html</a>          富山大学研究シーズ「大気環境におけるバイオエアロゾルの動態と影響の解析」  <a href="https://sanren.ctg.u-toyama.ac.jp/seeds_search/search/detail/138">https://sanren.ctg.u-toyama.ac.jp/seeds_search/search/detail/138</a></p>
--

## 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	酒徳 昭宏  (Sakatoku Akihiro)  (20713142)	富山大学・学術研究部理学系・講師    (13201)	
研究分担者	加賀谷 重浩  (Kagaya Shigehiro)  (50272894)	富山大学・学術研究部工学系・教授    (13201)	
研究分担者	藤吉 奏  (Fujiyoshi So)  (20805808)	京都大学・人間・環境学研究科・特定助教    (14301)	
研究協力者	小山 慎一  (Koyama Shinichi)		
連携研究者	田中 仁志  (Tanaka Hitoshi)  (40415378)	埼玉県環境科学国際センター・水環境担当・担当部長    (82405)	
連携研究者	米持 真一  (Yonemochi Shinichi)  (90415373)	埼玉県環境科学国際センター・大気環境担当・担当部長    (82405)	