

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K06688

研究課題名(和文) SPM、PM2.5中微生物濃度とエンドトキシン量に基づく曝露リスクの推定

研究課題名(英文) Estimating exposure risk based on microbial concentrations and endotoxin levels in SPM and PM2.5

研究代表者

石松 維世 (Ishimatsu, Sumiyo)

産業医科大学・産業保健学部・准教授

研究者番号：40289591

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)：2つの室内と屋外においてPM2.5、SPM10、総粉じん中の浮遊細菌数濃度(cells/m³)とエンドトキシン(ET)濃度(EU/m³)を測定した。それぞれの粒子の両濃度の相関性は4月～9月と10月～3月で傾向が異なったことから、浮遊細菌叢は季節で異なると推察された。ET濃度結果より、8時間曝露による成人男性(呼吸量12.0L/min、PM2.5沈着率53%)の肺内ET沈着量を推定したところ、黄砂が飛来したときでも、両室内での推算値は動物実験で肺の炎症が増強された投与量を下回り、屋外でもほとんど超過していなかった。これより、室内のPM2.5中ET濃度の健康への影響は高くないと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

黄砂やPM2.5と付着する細菌およびエンドトキシン(ET)が、黄砂やPM2.5がもたらす肺の炎症等を増強するとされるが、細菌濃度とET濃度を同時に測定したデータはほとんどない。これらを2年間にわたり同時に測定して、測定データから健康影響を推察した。その結果、屋外と室内においてPM2.5に含まれるETに8時間曝露されたとしても推定沈着量は低く、健康への影響は高くないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The airborne bacterial concentration (cells/m³) and endotoxin (ET) concentration (EU/m³) in PM2.5, SPM10 and total dust were measured in two rooms and outdoor. Since the correlations between the both concentrations of each airborne particle were different between April-September and October-March, it was inferred that the airborne bacterial flora was different depending on the season. From the ET concentration results, we estimated the ET lung deposition dose of an adult male (respiratory volume 12.0 L/min, PM2.5 deposition rate 53%) after 8-hour exposure. As a result, even when yellow sand flew in, the estimated values in both rooms were below the dose in which lung inflammation was enhanced in animal experiments, and almost never exceeded even outdoors. Therefore, in these rooms, it was considered that the inhalation of PM2.5 including ET had a low effect on health.

研究分野：作業環境管理学

キーワード：エンドトキシン濃度 浮遊微生物濃度 PM2.5 SPM10 総粉じん

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大気中だけでなく、室内においても SPM_{10} と $PM_{2.5}$ の健康影響が懸念されている。大気中では SPM_{10} 、 $PM_{2.5}$ そのものの生体影響に加え、これらに付着する化学物質による生体影響の増強が研究されてきている。多くの特定建築物では、事務所衛生基準規則や建築物衛生法の浮遊粉じん濃度基準 (0.15 mg/m^3) を超過することはまれであるが[1]、事務所ビルでは、室内 $PM_{2.5}$ 濃度は屋外 $PM_{2.5}$ 濃度に影響される傾向がある[2]。

一方、ろ過捕集 - DNA 染色法による細菌や真菌濃度は、衝突法 - 培養法より 10 ~ 100 倍程度高く[3]、ろ過捕集 - DNA 染色法により培養できない微生物を含む健康へのリスクが捉えられる。また、大気中の黄砂や $PM_{2.5}$ とグラム陰性細菌細胞壁成分である LPS (エンドトキシン、以下 ET) が共存すると、肺の炎症やアレルギー症状の増悪を引き起こすという報告がある[4-7]。しかし、 SPM_{10} や $PM_{2.5}$ 中の微生物濃度と ET 量との関連性や季節変動などは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、ろ過捕集 DNA 染色法により、屋内外の総粉じん、 SPM_{10} 、 $PM_{2.5}$ 中の細菌数濃度 (cells/m³) と ET 濃度を測定し、粒子別に浮遊細菌数濃度と ET 濃度との関連性と経時的変動を調べる。また、これらのデータから、ヒトが吸入する ET 量を推算し、既往の黄砂や $PM_{2.5}$ 粒子と ET である LPS による炎症誘発研究データをもとに、浮遊粒子中 ET の吸入による健康へのリスクを考えることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 捕集方法

総粉じん、 SPM_{10} 、 $PM_{2.5}$ のろ過捕集には、 $0.8 \mu\text{m}$ 孔径セルロース混合アセテートメンブランフィルター (ADVANTEC、以下 MF) を使用し、サンプラーは以下のものを使用した。

総粉じん捕集には、 $\phi 47 \text{ mm}$ の MF を装着したオープンフェイスホルダー (吸引流量: 20 L/min)、 SPM_{10} と $PM_{2.5}$ は、ともに $PM_{10/2.5}$ 用個人サンプラー (NWPS-35H、柴田科学) を使用した (吸引流量: 2.5 L/min)。 $PM_{10/2.5}$ 用個人サンプラーの模式図を図 1 に示す。 $PM_{2.5}$ は、衝突部 b にガラス繊維フィルター (T60A20、柴田科学) を装着し、衝突部 a および b で分級される過部 c のフィルター ($\phi 35 \text{ mm}$ の MF) に捕集されたものを試料とした。 SPM_{10} 捕集では、衝突部 b のガラス繊維フィルターを MF ($\phi 25 \text{ mm}$) に変更し、衝突部 b の MF とろ過部 c の MF への捕集を合わせたものを SPM_{10} 試料とした。

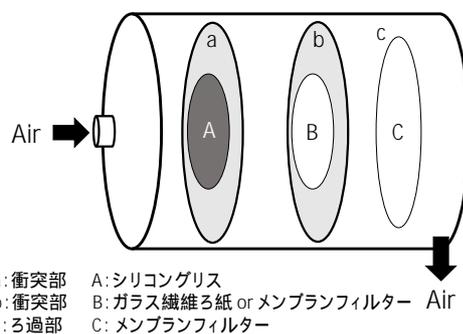


図 1 $PM_{10/2.5}$ 用個人サンプラー模式図

(2) 対象

九州北部の K 市にある某大学の講座会議室、実習室および屋外において、2017 年 10 月から 2019 年 9 月に 4 週間毎 (2017 年度および 2019 年度) または 2 週間毎 (2018 年度) に総粉じん、 SPM_{10} 、 $PM_{2.5}$ を捕集した。講座会議室は第 2 種換気、実習室は第 1 種換気設備が設置されており、外気は各階毎にプレフィルターを介して導入されていた。

(3) 浮遊微生物濃度および ET 濃度測定

ろ過捕集後、各サンプラーの MF からそれぞれの粒子回収に適した量のリン酸緩衝生理食塩水 (富士フィルム和光) に粒子を回収した。これらの回収液を $0.2 \mu\text{m}$ 孔径黒色ポリカーボネートフィルター ($\phi 25 \text{ mm}$ 、ADVANTEC) でろ過し、臭化エチジウムで微生物を染色したのち落射型蛍光顕微鏡 (BX50、オリンパス) で 100 視野中の細菌を計数して、浮遊細菌数濃度 (cells/m³) を算出した。

ET は、それぞれの回収液 $200 \mu\text{L}$ をリムルス ES- シングルテスト (富士フィルム和光) とトキシノメーター ET-mini (富士フィルム和光) を用いて 120 分までのゲル化時間を測定した。検量線より回収液中の ET 濃度 (EU/mL) を求め (定量下限値 0.003 EU/mL)、この ET 濃度と回収液量、吸引空気量から、各粒子中の ET 濃度 (EU/m³) を算出した。また、リムルス ES- シングルテストに付属する標準試料から、ET 濃度 (EU/m³) を LPS 濃度 (ng/m³) に換算した。

4. 研究成果

2017 年 10 月 ~ 2019 年 9 月の 2 年間の測定において、浮遊細菌と ET は、室内外を問わずいずれの粒子からも検出された。しかし、 SPM_{10} や $PM_{2.5}$ 中 ET 濃度は、第 1 種機械換気である実習室では第 2 種機械換気である講座会議室よりも検出下限値未満であることが多く、使用頻度の過多と換気設備の形式による差が認められた。

(1) 年間変動

<浮遊細菌数濃度> 総粉じん中細菌数濃度は、2 つの室内では $1000 \sim$ 数 10000 cells/m^3 、屋外では $1000 \sim$ 数 100000 cells/m^3 の範囲で推移した。また、 SPM_{10} および $PM_{2.5}$ 中細菌数濃

度は、室内は数 100 ~ 5000 cells/m³、屋外は数 100 ~ 数 10000 cells/m³であった。屋外の総粉じん中細菌数濃度は、6 月頃から 11 月頃までは低下する傾向がみられたが、11 月以降 4 月頃までは 10000 cells/m³ を超えることも多く、高い傾向であった。これは、測定場所である K 市が北部九州の日本海側に位置しており、黄砂の影響を受けていることに関連すると考えられる。2 月 ~ 4 月の黄砂の飛来が増える時期には、気象庁からの黄砂飛来予報が出ていないときでも、土壌粒子に付着した細菌の塊が増えていたことから、浮遊細菌数濃度の上昇は黄砂の影響が大きいと考える。

<ET 濃度> ET 濃度は、実習室での SPM₁₀ と PM_{2.5} 中の濃度が低く、定量下限値以下または検出されないことが多かった。そのため、ゲル化があったが定量下限値未満であったものには定量下限値を代入して変動を見たところ、総粉じん中 ET 濃度は、屋外は 0.1 ~ 1.2 EU/m³、講座会議室は 0.2 EU/m³ 以下、実習室では 0.1 EU/m³ 前後で変動していた。SPM₁₀ は、屋外は 0.01 ~ 0.5 EU/m³、講座会議室は 0.01 ~ 0.1 EU/m³、実習室は 0.03 EU/m³ 前後で推移していた。PM_{2.5} では、屋外は 0.01 ~ 0.2 EU/m³、講座会議室は 2018 年 4 月に 0.2 を超えることがあったが、概ね 0.01 ~ 0.15 EU/m³、実習室は 0.05 EU/m³ 未満で推移した。また、測定年が異なっても、どの粒子も年間変動の傾向は似ていた。これらより、室内の利用状況に大きな変化がなければ、各粒子中の ET 濃度の年間推移は大きく変化しないことが示唆された。また、年間の濃度範囲より、粒子中の ET のほとんどは吸入性粒子ではない SPM₁₀ より大きな粒子に含まれていることが推察された。

<I/O 比> 両室内の粒子別 ET 濃度の平均 I/O 比は 0.1 ~ 0.6 程度であり、室内の ET 発生源はほとんどないと考えられた。

(2) 各粒子中の ET 濃度

総粉じんに対する SPM₁₀ および PM_{2.5} 中の ET 濃度について、2018 年度の場所別データを図 2 ~ 4 に示す。結果は、4 月 ~ 9 月と 10 月 ~ 翌年 3 月までを分けて示した。

屋外の総粉じん中 ET 濃度を除き、場所や粒子種類にかかわらず、10 月 ~ 3 月の ET 濃度値は 4 月 ~ 9 月より低かった。講座会議室では総粉じんと SPM₁₀、PM_{2.5} 中 ET 濃度に正の相関傾向

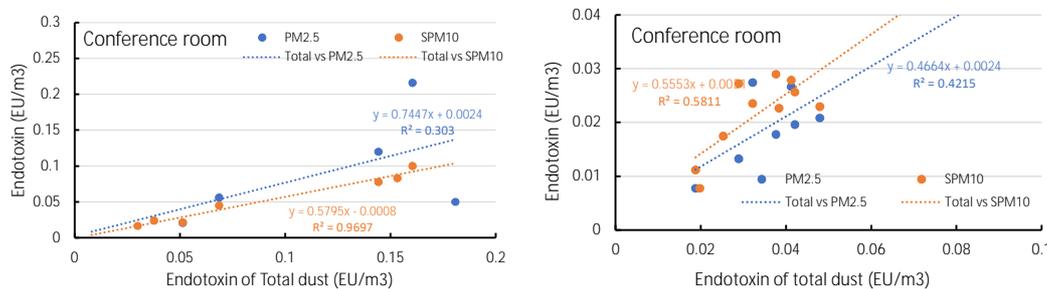


図 2 総粉じん中 ET 濃度と SPM₁₀、PM_{2.5} 中 ET 濃度 (左 4-9 月、右 10-3 月)

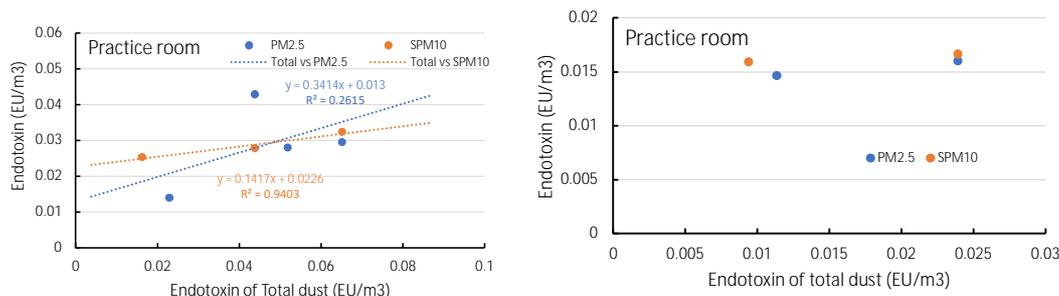


図 3 総粉じん中 ET 濃度と SPM₁₀、PM_{2.5} 中 ET 濃度 (左 4-9 月、右 10-3 月)

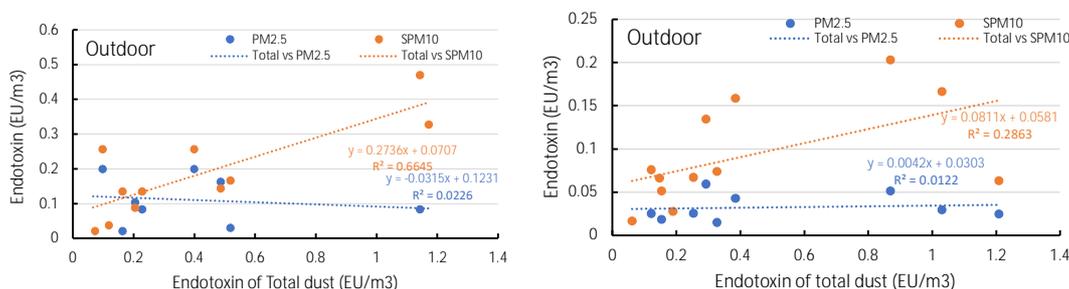


図 4 総粉じん中 ET 濃度と SPM₁₀、PM_{2.5} 中 ET 濃度 (左 4-9 月、右 10-3 月)

が見られたが、屋外ではその傾向は小さく、PM_{2.5}には相関性はなかった。実習室はデータが少なく相関性は不明であった。

総粉じんにはSPM₁₀とPM_{2.5}が含まれるが、ET濃度におけるこれらの相関性が低いということは、時期によりSPM₁₀とPM_{2.5}の割合に変動があること、それぞれの粒子に含まれるET量に変化があることが考えられる。ET量の変化は、細菌叢の変化を示すと考えられ、ETをグラム陰性菌の指標と考えれば、細菌叢の大まかな変化を捉えられる可能性が認められた。また、PM_{2.5}中ET濃度の傾向が講座会議室と屋外で異なっていたが、これは外気がプレフィルターを介して室内へ取り込まれているため、室内の総粉じんの粒径分布が屋外とは異なっているためと考えられた。

(3) 浮遊細菌数濃度とET濃度

2018年度に測定した粒子別の浮遊細菌数濃度とET濃度との関連性について、場所別に図5~7に示す。結果は、4月~9月と10月~翌年3月までを分けて示した。

浮遊細菌数濃度とET濃度間の相関傾向は季節によって異なり、また場所によっても異なることが認められた。ET濃度が定量下限値未満でデータが欠如しているところもあるが、季節による傾向の違いが顕著なのは屋外の総粉じんであった。屋外では、4月~9月では総粉じん中の細菌濃度とET濃度に正の相関が認められたが、10月~3月では相関性が認められず、細菌数濃度の増加にET濃度は追従していなかった。しかし、SPM₁₀では菌数濃度とET濃度の範囲も相関係数もほぼ同じであった(4月~9月:r=0.77、10月~3月:r=0.73)。このことから、SPM₁₀より大きな粒子に含まれる細菌叢が時期により異なっていることが示唆され、10月~3月では菌数濃度が高くてもLPSを持つグラム陰性細菌が少ないと考えられた。一方、両室内では菌数濃度とET濃度の関連性は屋外ほどの明確な違いはなかった。

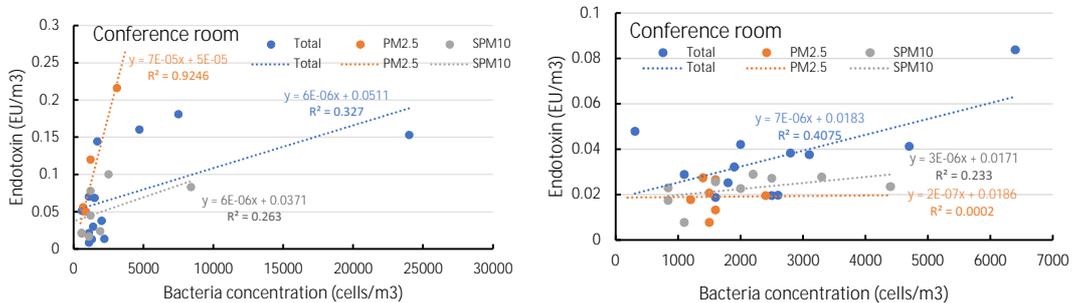


図5 浮遊細菌数濃度とET濃度(講座会議室、左4-9月、右10-3月)

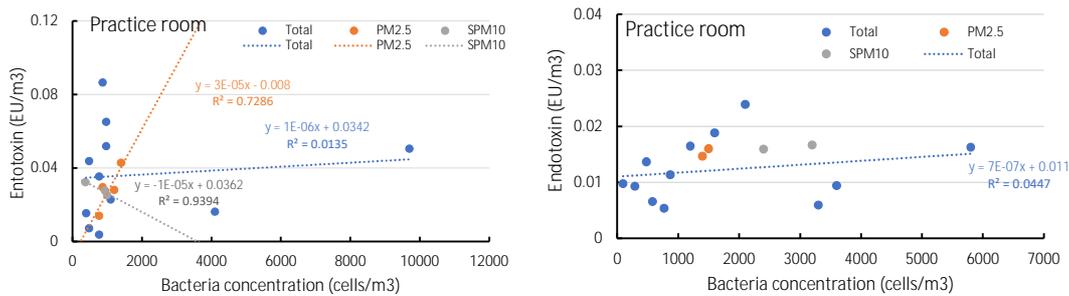


図6 浮遊細菌数濃度とET濃度(実習室、左4-9月、右10-3月)

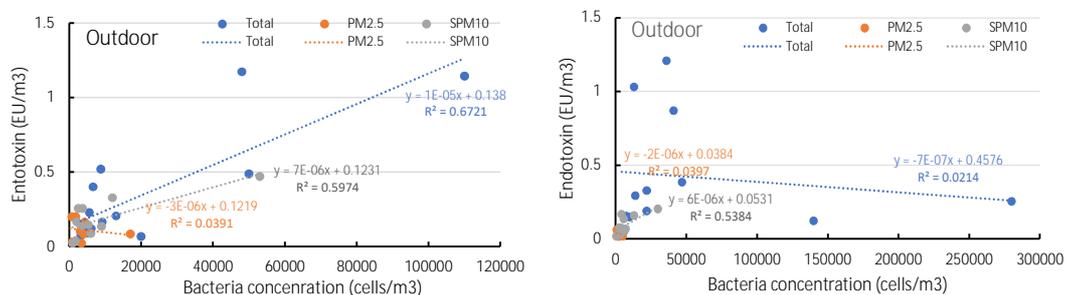


図7 浮遊細菌数濃度とET濃度(屋外、左4-9月、右10-3月)

(4) ETの曝露リスク

He et al [6]は、0.355 ng/mg dustのLPSを含むPM_{2.5}黄砂0.1 mg (0.0355 ng含有)を2週間ご

と計4回マウスに気管内投与し、LPSが多いPM_{2.5}黄砂が肺の炎症を増強させる可能性を示唆している。また、PM_{2.5}を多く含む大気粒子 (LPS 0.09 ng/mg dust) 0.1 mg (0.009 ng含有) を同様に2週間ごと計4回マウスに気管内投与し、LPS付着PM_{2.5}がアレルギー反応を増悪させる可能性があることを示唆している [7]。

本研究の2018年度のET濃度測定結果 (測定回数: 24) より、肺内へのPM_{2.5}沈着率を53% [8] として成人男性 (呼吸量12.0 L/min) の8時間曝露における肺内ET沈着量を推定したところ、0.009 ngを上回ったのは講座会議室3回、実習室2回、屋外10回であった。これらのうち0.0355 ngを超えた時は、講座会議室1回のみと屋外3回のみであった。測定前日または当日に黄砂が飛来したとき (2回) は、室内と屋外の8時間曝露推定値が0.009 ngを超えたが、0.0355 ngより小さかった。またPM_{2.5}中ET濃度が0.0355 ngより高い日と黄砂飛来日は一致していなかった。

マウスを使った動物実験データと直接比較はできないが、本結果では空気中のET濃度が高い日でもPM_{2.5}への8時間曝露で肺胞部に沈着するET量は動物実験での投与量より少ないと推定される。またこれらは、全量が一度に吸入沈着されてはいないということを考えると、PM_{2.5}に含まれるETの曝露による健康リスクは高くないと考えられる。さらに、多くの場合に室内のET濃度は低かったことから、継続して高い濃度で曝露されるという状況も少ないと思われる。

本研究結果より、ET濃度は黄砂やPM_{2.5}の飛来時に著しく高まることは少なく、屋外や室内に8時間滞在した際のPM_{2.5}の曝露に起因するET沈着量は、比較的小さいと考えられる。また粒子別ET濃度データより、ETの多くはSPM₁₀やPM_{2.5}ではなく、吸入性粒子ではない大きな粒子に含まれることが示唆されたことから、吸入によるETの生体への影響は大きなものではないと考えられた。

<引用文献>

1. 東賢一、建築室内環境に関連する症状とそのリスク要因、保健医療科学、63、2014、334-341
2. 鍵直樹、建築物の衛生と微生物制御 5 室内空気質、日本防菌防黴学会誌、44、2016、331-337
3. 石松維世ら、大学における用途の異なる室内の浮遊真菌および細菌濃度の長期変動と発生源、室内環境学会誌、19、2016、99-110
4. Ichinose T. et al, Effect of Asian sand dust, Arizona sand dust, amorphous silica and aluminum oxide on allergic inflammation in the murine lung, Inhalation Toxicology, 20, 2008, 685-694
5. 市瀬孝道、黄砂の呼吸器系への影響、医学のあゆみ、247: 689-693、2013
6. He M. et al, Effects of two Asian sand dusts transported from the dust source regions of Inner Mongolia and northeast China on murine lung eosinophilia, Toxicology and Applied Pharmacology, 272, 2013, 647-655
7. He M. et al, PM_{2.5}-rich dust collected from the air in Fukuoka, Kyushu, Japan, can exacerbate murine lung eosinophilia, 27, 2015, 287-299
8. 福津久美子、吸入による PM_{2.5} の体内取り込みについて考えること、エアロゾル研究、29、2014、200-205

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石松 維世
2. 発表標題 総粉じんおよびPM2.5中の細菌の菌数濃度とエンドトキシン濃度の変動
3. 学会等名 2018年度日本建築学会大会（東北）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石松 維世
2. 発表標題 室内外における総粉じんおよびPM2.5中微生物濃度の変動
3. 学会等名 平成30年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石松 維世、保利 一
2. 発表標題 総粉じんおよびPM2.5中細菌数濃度とエンドトキシン濃度の測定方法の検討
3. 学会等名 第91回日本産業衛生学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石松 維世、保利 一
2. 発表標題 室内外における総粉じん、SPM10、PM2.5中エンドトキシン濃度の変動
3. 学会等名 第92回日本産業衛生学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石松 維世
2. 発表標題 粒径の異なる粒子中細菌の菌数濃度、生菌数濃度とエンドトキシン濃度
3. 学会等名 2019年度日本建築学会大会（北陸）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石松 維世
2. 発表標題 器具素材がエンドトキシン濃度に与える影響
3. 学会等名 2019年室内環境学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石松 維世、保利 一
2. 発表標題 室内外における総粉じん、SPM10、PM2.5中エンドトキシン濃度の年間変動
3. 学会等名 第93回日本産業衛生学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石松 維世
2. 発表標題 粒径の異なる粒子中の細菌数濃度とエンドトキシン濃度
3. 学会等名 2020年度日本建築学会大会（関東）
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----