

機関番号：57501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20510167

研究課題名（和文）人工肺と組織細胞を用いた呼吸器・代謝系非動物実験による火災ガス毒性評価方法の確立

研究課題名（英文）Development of in vitro toxicity methods for fire combustion products by using an artificial lung and tissue cells

研究代表者

小西 忠司（KONISHI TADASHI）

大分工業高等専門学校・機械工学科・教授

研究者番号：00225468

研究成果の概要（和文）：ラットやマウスなどの動物実験の代替方法としてヒト肺胞基底上皮細胞 A549 による火災ガスの毒性評価方法を確立した。火災ガスの毒性評価システムは、火災ガス収集装置、暴露実験装置、毒性評価装置から構成される。ABS 樹脂実験では、初期細胞数 3×10^5 cells/ml から 5%CO₂ 環境下では 3 日後に 3×10^6 cells/ml に増加し、生存率は 95% であった。空気環境下では 3 日後に 1×10^6 cells/ml に増加し、生存率は 90% であった。火災ガス環境下では 3 日後に 5×10^4 cells/ml に減少し、生存率は 20% になった。

研究成果の概要（英文）：The toxic valuation method of the fire gas by the human alveolus basal epithelium cells A549 was established as an alternative method of animal experiments, such as rat and mouse. The toxic assessment system of fire gas consists of fire gas collection equipment, exposure equipment, and toxic evaluation equipment. In the ABS resin experiment, the number of initial cells; 3×10^5 cells/ml increased to 3×10^6 cells/ml after three-day fire gas exposure, and survival ratio was 95% under 5%-CO₂ environment. It increased to 1×10^6 cells/ml and survival ratio was 90% under atmospheric environment. It decreased to 5×10^4 cells/ml and survival ratio became 20% under fire gas environment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：火災物理，医工学

科研費の分科・細目：社会・安全システム科学，社会システム工学・安全システム

キーワード：火災ガス シアン化水素 毒性評価 非動物実験 ヒト肺胞基底上皮細胞 A549

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年，住宅の高気密高断熱化が普及しており，一端，火災が起きると低酸素濃度環境が形成される。その結果，居住者は，OA 機器に使用されるアクリル樹脂，ABS 樹脂，寝具や座布団に使用されるポリウレタンや新建材から発生した一酸化炭素，シアン化水素，塩化水素，ホルムアルデヒド，アンモニアな

ど多種多様の有毒ガスに暴露される(中毒百科 事例・病態・治療)。さらに，消火活動による鎮火後，消防職員が，くん焼燃焼によって発生した上述の有毒ガスに暴露される危険性がある。火災ガスの毒性評価は，従来までラットやマウスなどの動物実験をモデル火災建物あるいは燃焼装置を用いて行われてきた。しかし，昨今，欧州を中心に動物実

験を廃止もしくは最小限に抑制する世界的な動きがある（火災便覧第3版，第3章火災と生理・心理）。また，近年，大学でも，熱傷や中毒性ガスを動物に負荷する動物実験は，動物虐待として規制レベルが強化されている。

(2) 我が国において危惧されている阪神・淡路大震災級の大規模地震による火災，高齢化社会による住環境の変化，難燃性材料など新材料の使用等の社会環境の変化を考えると，非動物実験による毒性評価は，火災生成ガスが生体に与える影響を科学的に解明でき，社会安全上きわめて重要で，社会に与えるインパクトや貢献が期待できる研究であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は，気密性建築物火災等で起こる低酸素濃度環境で生成される火災ガスが，居住者や消防職員に与える生理的影響を人工心肺システムと組織細胞を用いて構築した呼吸器・代謝系の非動物実験において明確にし，気密性建築物火災における火災ガスの毒性評価を行い，消火活動，避難および建築物等の火災安全対策を提言することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 火災ガス収集装置と火災ガス暴露装置および毒性評価装置から構成される火災ガスの毒性評価システムを用いて火災ガスの毒性評価を行う。

(2) 火災ガスの試験材料として，シアン化水素発生源であるポリウレタン，ポリアミド，ポリアクリロニトリル，ABS樹脂の4種，生分解性プラスチックのポリ乳酸で予備実験した結果，シアン化水素発生量の多いABS樹脂を選定した。火災ガスの暴露時間は3日間とした。

(3) ヒト肺胞基底上皮細胞 A549 を非動物実験の代替として用いた。火災ガス暴露前の細胞数および暴露後1，2，3日後の細胞数および死滅数を細胞カウンターにより計測した。

4. 研究成果

(1) ヒト肺胞基底上皮細胞 A549 を用いて非動物実験による火災ガスの毒性評価システムの製作を行った（図1）。本システムは，火災ガス収集装置，暴露実験装置，毒性評価装置から構成される。

(2) ABS樹脂火災ガス成分は， H_2 :0.06vol.%, O_2 :13.0vol.%, N_2 :82.0vol.%, CO_2 :6.0vol.% および HCN が含まれていた（表1）。また，共試ガスとして空気 (O_2 :21vol.%, N_2 :79vol.%) および細胞培養用ガス (CO_2 :3vol.%, O_2 :19vol.%, N_2 :78vol.%) を用いた。シアン化水素発生量をガスクロマトグラフ（フレイムサーミオニック検出器 FTD）

で測定したが，標準ガスが入手困難であったため絶対濃度測定は不可能であった。

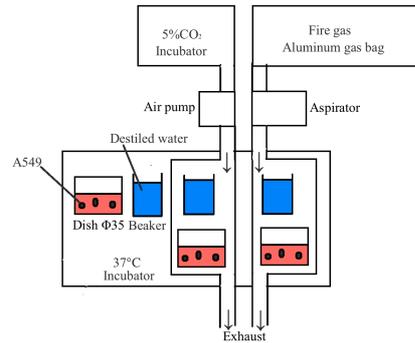


図1 火災ガスの毒性評価システム

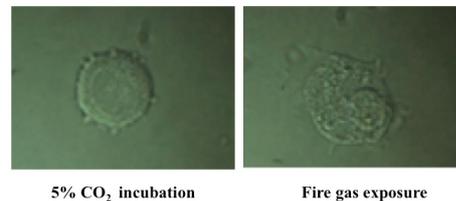


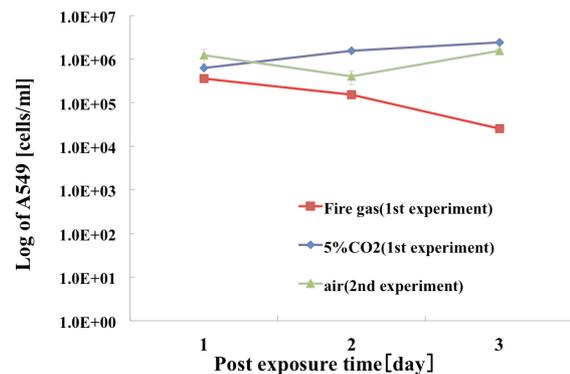
図2 火災ガスの暴露前後の A549

表1 ガス成分

	Fire gas	5%CO ₂	Air
H ₂	0.06	-	-
O ₂	13.0	19.0	21.0
N ₂	82.0	78.0	78.1
CO ₂	6.0	3.0	0.03
HCN	125*	-	-

* Relative value in analysis on gas chromatography

(3) 図3に示すように，初期細胞数 3×10^5 cells/ml から5%CO₂環境下では3日後に 3×10^6 cells/ml に増加し，生存率は95%であった。空気環境下では3日後に 1×10^6 cells/ml に増加し，生存率は90%であった。火災ガス環境下では3日後に 5×10^4 cells/ml に減少し，生存率は20%になった。



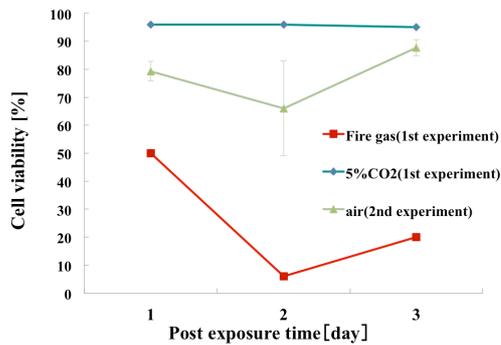


図3 火災ガスの暴露後のA549の
(a)増殖曲線, (b)生死率

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3件)

1. T.Konishi, A.Nishizono, T.Yamashiro, M.Koide, Comparison of Legionella biofilm formations at three different temperatures in liquid flow, in static liquid and on agar plate., JSME-KSB Joint Issue (Journal of Biomechanical Science and Engineering), in press (2011)
2. T.Konishi, A.Narumi, Scale Model for Simulating Microorganism-derived Explosion in Biomass Storage Facility, Proceedings of Sixth International Symposium on Scale Modeling, CD-ROM 10 pages, 2009
3. H.Kikugawa, T.Konishi, K.Hirano, Scale Modeling of Air-dropped Water for Aerial Firefighting against Urban Fire, Proceedings of Sixth International Symposium on Scale Modeling, CD-ROM 8 pages, 2009

[学会発表] (計11件)

1. 長塚直樹, 齋藤洋徳, 鳴海明, 飯田泰広, 小原裕治, 小西忠司, 微生物が関与した廃棄物バイオマス燃料の火災・事故の危険性評価 (その1 水素産生試験による危険性評価), 平成22年度日本火災学会, pp. 90-91, (2010)
2. 小原裕治, 小西忠司, 他4名, 微生物が関与した廃棄物バイオマス燃料の火災・事故の危険性評価 (その2 メタゲノム解析による危険性評価), 平成22年度日本火災学会 pp. 92-93, (2010)
3. 小西忠司, 宮崎由李恵, 加藤悠人, 小原裕治, 肺腺癌培養細胞A549を用いた非動物実験による火災ガス毒性評価方法の確立, 平成22年度日本火災学会 pp. 404, (2010)
4. 小西忠司, 小原裕治, 齋藤洋徳, 鳴海明, メタゲノム解析による廃棄物バイオマス燃

料内微生物分布の解明, 熱工学コンファレンス 2010 pp. 111-112, (2010)

5. 齋藤洋徳, 鳴海明, 飯田泰広, 小原裕治, 小西忠司, 廃棄物バイオマス燃料の微生物発酵における水素生成過程, 熱工学コンファレンス 2010 pp. 109-110, (2010)

6. 長島巧, 鳴海明, 飯田泰広, 小西忠司, 木質系バイオマスからの等抽出方法に関する研究, 熱工学コンファレンス 2010 pp. 329-330, (2010)

7. 小西忠司, 山田健太郎, 小原裕治, 鳴海明, 廃棄物系バイオマスによる可燃性ガス発生危険度評価手法の構築 (ゴミ固形燃料のメタゲノム解析), 第22回バイオエンジニアリング講演会, p. 89 (2009)

8. 江口暁美, 鳴海明, 飯田泰広, 小西忠司, 植物細胞を用いた過冷却制御に関する研究, 第22回バイオエンジニアリング講演会, p. 103 (2009)

9. 小西忠司, 西園晃, Legionella pneumophila と自由生活アメーバ Acanthamoeba castellanii の寄生関係とバイオフィーム構造に与える温度依存的影響, 第22回バイオエンジニアリング講演会, p. 201 (2009)

10. 長塚直樹, 鳴海明, 飯田泰広, 小西忠司, ゴミ固形燃料からの水素生成に関する研究第一報:水素生成の最適条件および水素生成菌の同定, 第26回エネルギーシステム・経済・環境コンファレンス, 6-6, (2010)

11. 長島巧, 鳴海明, 飯田泰広, 小西忠司, 木材からのバイオエタノール生成に関する研究 (凍結処理導入による糖抽出への効果), 第26回エネルギーシステム・経済・環境コンファレンス, 27-4, (2010)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0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0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

http://www.oita-ct.ac.jp/jun/showcase/#showcase_01

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小西忠司 (KONISHI TADASHI)

大分工業高等専門学校・教授

研究者番号：00225468

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：