

Ⅲ－１ 生活環境中の汚染物質の存在状況の把握に関する研究

代表者：松下秀鶴

Ⅲ－１－(1) 生活環境空気中の粒子状汚染物質等のキャラクタリゼーションと汚染実態の把握に関する研究

1 研究従事者

- 松下秀鶴（静岡県環境衛生科学研究所）
- 後藤純雄（国立公衆衛生院）
- 根津豊彦（(財)日本環境衛生センター）
- 松村年郎（国立医薬品食品衛生研究所）
- 松本 寛（北海道環境科学研究センター）

2 平成 11 年度の研究目的

本研究の目的は、慢性閉塞性肺疾患に影響を及ぼすおそれのある生活環境空気中の浮遊粒子状汚染物質のキャラクタリゼーションに係る測定法の開発と、得られた手法等を駆使した汚染実態の把握にある。本研究の最終年度にあたる平成 11 年度においては、前年度までの研究成果をもとに次の研究を行った。

1) 環境大気中の浮遊粒子状物質の粒径別組成、性状等の実態把握

前年度に引き続き、札幌、東京及び川崎で一般環境及び沿道大気（札幌）中の浮遊粒子をハイボリューム・アンダーセンサンプラーにより粒径別に採取し、これら同一試料中に含まれる代表的な汚染物質（多環芳香族炭化水素、ニトロアレーン、有機リン化合物、重金属類、変異原性）を全研究班員が協力して測定し、その結果を総合評価する。

2) 一般家庭の室内・室外空気中の浮遊粒子の粒径分布ならびにそれらに含まれる有害成分の解明

前年度までに開発した２種類の低騒音カスケードインパクターを用いて、各班員が独自に一般家庭の室内・室外の浮遊粒子を３段階に分級捕集し、それらに含まれる上記有害成分群の１つを測定し、解析・評価する。

3) 疫学調査が行われた地域での SPM、PM2.5 及び重金属類等の調査

過去に慢性閉塞性肺疾患に係る疫学調査が行われた地域から４地域を選び、その大気汚染監視測定局に PM2.5（50%カットオフ粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下の微小粒子）濃度と SPM（粒径 $10\mu\text{m}$ 以下の粒子）濃度との比較を行う。これと同時に、PM2.5 試料を採取し、そこに含まれる重金属類等の測定を行い総合解析・評価を行う。

3 平成 11 年度の研究の対象及び方法

1) 研究対象

一般環境大気、道路沿道及び一般家庭等の室内・室外空気中の浮遊粒子とそこに含まれる有害物質を研究対象とする。すなわち、上記環境空気中の浮遊粒子をカスケードインパクター方式の分級サンプラーを用いて、粒径別に捕集し、浮遊粒子の粒径分布を求めると共に、これら浮遊粒子に含まれる

代表的な有害成分、すなわち、多環芳香族炭化水素（PAH）、ニトロアレーン、有機リン化合物、重金属類及び変異原性を測定し、総合評価を行う。

このほか、過去に疫学調査が行われた4地域でPM_{2.5}、SPM及びPM_{2.5}に含まれる重金属類等を測定する。

2) 研究方法

(1) 環境大気中の浮遊粒子状物質の粒径別組成、性状等の実態把握

前年度に引き続き、札幌、東京及び川崎の一般環境大気と札幌の道路沿道大気から浮遊粒子状物質をハイボリューム・アンダーセンサンプラーで5段階の粒径に分けて捕集し、これらに含まれるPAH、ニトロアレーン、有機リン化合物、重金属類及び変異原性を測定し、浮遊粒子と各種有害成分の粒径分布や存在実態等を明らかにする。なお、浮遊粒子のサンプリングは東京では4月、7月、11月の3回、札幌と川崎では11～12月に各1回行われた。サンプリングは各回とも連続する1週間行った。なお、このサンプリングにおいて1.1μm以下の浮遊粒子を捕集するバックアップフィルターは毎日取り換え、その他の粒径の浮遊粒子はフィルターを取りかえることなく連続捕集した。フィルターには石英繊維フィルターを用いた。

(2) 一般家庭の室内・室外浮遊粒子に関する調査研究

前年度までに開発した低騒音型のカスケードインパクト方式分級サンプラー(25L/min)をニトロアレーンと重金属類の測定担当の班員に、低騒音PCI(Personal Cascade Impact)サンプラー(3L/min)をPAH、有機リン化合物及び変異原性の測定担当の班員に配布し、各班員の居住地域等で一般家庭の室内・室外空気中の浮遊粒子を3段階(10μm以上、2.5～10μm、2.5μm以下)に分級捕集し、これらに含まれる有害成分を測定し、室内と室外の汚染状況、粒径分布等を明らかにする。

(3) 疫学調査が行われた地域におけるSPM、PM_{2.5}及び重金属類の調査

過去に慢性閉塞性肺疾患に係る疫学調査が行われた6地域のうち、4地域（茨城県高萩市、千葉県君津市、東京都杉並区、大阪府富田林市）の大気汚染監視測定局にPM_{2.5}連続測定装置（TEOM）を設置して1年間連続測定を行い、この値と大気汚染監視測定局のSPM測定値との関係を明らかにすると共に、TEOM付属装置から得たPM_{2.5}試料を用いて重金属類、イオン成分及び炭素成分を測定し、測定地域の汚染状況の解明に努める。

4 平成11年度の研究成果

1) 環境大気中の浮遊粒子状物質の粒径別組成、性状等の実態把握

札幌、東京及び川崎の環境大気と札幌の道路沿道大気（商業地域）に含まれる浮遊粒子をハイボリューム・アンダーセンサンプラーを用いて5段階（7.0μm以上、3.3～7.0μm、2.0～3.3μm、1.1～2.0μm、1.1μm以下）に分級捕集し、得られた試料を6等分して各班員に配布し、各自分担の有害成分の分析を行った。得られた結果の概要は次の通りである。

a) 浮遊粒子濃度

札幌2地点（1999年12月6～13日）、東京（1999年11月5日～12日）、川崎（1999年11月25日～12月2日）の各地点で得た全浮遊粒子の一週間平均濃度は、川崎（76.8μg/m³）、東京（67.6μg/m³）、札幌商業地区（49.8μg/m³）、札幌住宅地区（32.8μg/m³）の順であり、昨年度に比べて札幌

地区の2地点、特に商業地区の値が低かった。

また、 $2.0\mu\text{m}$ 以下の浮遊粒子濃度の全浮遊粒子濃度に対する割合は東京 66.5%、札幌（商業地区）62.5%、札幌（住宅地区）59.7%、川崎 57.1%と比較的類似の値を与えること、これらの値は全般に昨年より高く、特に札幌（商業地区）の値は 44.7%から 62.5%と大幅に高くなることを認めた。この原因については気象条件をふくめて検討する予定である。いずれにせよ、肺深部への沈着率の高い $2\mu\text{m}$ 以下の微小粒子が全浮遊粒子の 57%～66%を占めていたという事実はリスク評価の観点から貴重な知見といえる。

b) 多環芳香族炭化水素 (PAH)

すべての試料から 17 種類の PAH が検出・定量された。この中には 9 種類の発がん性物質 [クリセソ、ベンゾ(a)アントラセン、ベンゾ(b)フルオランテン、ベンゾ(k)フルオランテン、ベンゾ(a)ピレン、インデノ(1,2,3-cd)ピレン、ジベンゾ(a,h)アントラセン、ピセン及びジベンゾ(a,e)ピレン] と 4 種類の発がん性促進作用を示す PAH [フルオランテン、ピレン、ベンゾ(e)ピレン、ベンゾ(ghi)ペリレン] が含まれていた。

11 月～12 月に測定した代表的発がん性物質ベンゾ(a)ピレン (BaP) の濃度は、川崎 $1.93\text{ng}/\text{m}^3$ 、東京 $1.55\text{ng}/\text{m}^3$ 、札幌（商業地区） $0.83\text{ng}/\text{m}^3$ 、札幌（住宅地区） $0.51\text{ng}/\text{m}^3$ と全浮遊粒子濃度と同一順位であった。なお、東京では 11 月のほか、4 月、7 月にも測定されているが、BaP 濃度は 4 月 $0.52\text{ng}/\text{m}^3$ 、7 月 $0.65\text{ng}/\text{m}^3$ と 11 月の半分以下の値であった。

本調査で得た BaP 濃度は石炭燃焼が主力で、公害対策も十分でなかった時代に比べて驚くほど低い。

図 1 は PAH の粒径分布の一例として、東京と川崎の場合を示したものである。測定したすべての PAH は粒径の小さな微小粒子に含まれることが判る。札幌の商業地区と住宅地区でも同様であった。例えば、粒径 $2.0\mu\text{m}$ 以下の微小粒子に含まれる BaP の全 BaP 量に対する割合は、札幌（商業地区）94.0%、札幌（住宅地区）92.3%、東京 91.9%、川崎 86.2%であった。これらの事実は大気中の PAH はすべて、肺深部沈着率の高い微小粒子に含まれていることを示している。

c) ニトロアレーン

本調査では 1-ニトロピレン (1-NP) と 3 種類のジニトロピレン (1,3-、1,6-及び 1,8-DNP) の 4 種の測定を行った。これらは、いずれも強い変異原性を示し、ディーゼル排出ガスの変異原性の主因とされている。11 月～12 月における 1-NP 濃度は札幌（商業地区） $174\text{pg}/\text{m}^3$ 、札幌（住宅地区） $103\text{pg}/\text{m}^3$ 、川崎 $97\text{pg}/\text{m}^3$ 、東京 $87\text{pg}/\text{m}^3$ と昨年と同様、札幌の商業地区（道路端）の値が最も高かった。

一方、DNP の濃度は 1-NP よりかなり低く、1,3-DNP で $0.78\text{pg}/\text{m}^3$ （川崎）～ $0.34\text{pg}/\text{m}^3$ （札幌住宅地区）、1,6-DNP で $0.54\text{pg}/\text{m}^3$ （札幌商業地区）～ $0.17\text{pg}/\text{m}^3$ （東京）、1,8-DNP で $0.54\text{pg}/\text{m}^3$ （札幌商業地区）～ $0.36\text{pg}/\text{m}^3$ （東京）の範囲にあることを認めた。全体として、道路端で採取した札幌・商業地区の試料が最も高いニトロアレーン濃度を示したのは、当該物質の主要発生源がディーゼル車排出ガスであることを強く示唆している。

ニトロアレーンも PAH と同様、微小粒子に多く存在し、 $2.0\mu\text{m}$ 以下の微小粒子に含まれるニトロアレーンの全体に対する割合は 1-NP で 87.8%（札幌住宅地区）～94.3%（東京）、1,3-DNP で 84.5%（札幌住宅地区）～90.6%（川崎）、1,6-DNP で 77.1%（東京）～92.1%（川崎）、1,8-DNP で 82.9%（札幌商業地区）～91.9%（札幌住宅地区）の範囲にあった。これらの事実は、ニトロアレーンも肺深部に沈着しやすい微小粒子に多く含まれることを示している。なお、大気中ニトロアレーンの濃度は PAH 濃度よりかなり低いが、大気浮遊粒子の変異原性に対する寄与は高いと考えられている。参考のため、図 2 に粒径別浮遊粒子 1 g 当りのニトロアレーン含量を示しておく。

d) 有機リン化合物及び変異原性

ハイボリューム・アンダーセンサンプラーで得た大気浮遊粒子共通試料から、有機リン化合物として、Tributyl phosphate (TBP)、Tris(2-Chloroethyl)phosphate (TCEP)、Tris(β -chloroisopropyl)phosphate (TCIPP)、Tris(2-butoxyethyl)phosphate (TBEP)、Tris(2-ethylhexyl)phosphate (TEHP) 及び Tricresyl phosphate (TCP) の6種のリン酸エステルを検出・定量した。これらのうち TBP の濃度が最も高く、11月～12月試料では東京 9.7 ng/m³、川崎と札幌2地区で 16～17 ng/m³であった。また、TBP 濃度は夏期に高いことを東京試料で認めた。これら有機リン化合物は、PAH やニトロアレーンと同様、その殆どは微小粒子中に存在することも認めた。

図3は共通浮遊粒子試料に対する変異原性を、サルモネラ YG1024 菌株を用い、S9Mix 無添加条件下で micro suspension 法で測定した結果の一例を示したものである。ここで、Sapporo 1及び2試料とはそれぞれ、札幌の商業地区及び住宅地区で採取した試料を指している。図3から変異原性の強さは川崎、東京、札幌商業地区、札幌住宅地区の順となることが判る。この順位は大気浮遊粒子濃度及び PAH 濃度の順と軌を一にしている。また、図3で判るように変異原性の大部分はバックアップフィルターに捕集された 1.1 μ m 以下の微小粒子中に含まれていた。

e) 重金属類

ハイボリューム・アンダーセンサンプラーで捕集された共通試料中の重金属類元素 39 種類を ICP-MS で測定した。その結果、重金属元素の濃度は一般に川崎>東京>北海道の順に高いこと、クロム、ニッケル、ヒ素、セレン、カドミウム、鉛など発生源が主として工業生産活動によると考えられているものは川崎が最も高い濃度を示し、東京がこれに次ぐ濃度を示す場合が多かった。これらの重金属元素のうち、クロムとニッケルを除く元素は 1.1 μ m 以下の微小粒子に多く含まれていた。また、土壌起源の元素とされているナトリウム、マグネシウム、アルミニウム、カルシウム及びスカンジウムは北海道商業地区で高い濃度を示した。これらは、粒径 5.7 μ m 以上の粗大粒子に多く存在していた。重金属元素等の粒径分布調査結果の一例として、図4に川崎と札幌商業地区の結果を示しておく。今後さらに測定を重ねることにより、粒径分布を含む重金属汚染の地域特性が明らかになるものと思われる。

2) 一般家庭の室内・室外調査結果

本研究で開発した低騒音型の分級サンプラー2種 (25 L/min と 3 L/min) を用い、各研究班員が各自、一般家庭の室内と室外空気中の浮遊粒子を3段階 (10 μ m 以上、2.5～10 μ m、2.5 μ m 以下) に分級捕集し、それらに含まれている各班員分担の有害成分を測定した。得られた成果の概要は次の通りである。

a) 浮遊粒子濃度

浮遊粒子濃度は室内、室外試料とも一般に 2.5 μ m 以下>2.5～10 μ m>10 μ m 以上となることを夏期と冬期に行った富士地区の調査で認めた。例えば、夏期に 21 家庭で得た室内と室外の PM10 濃度と PM2.5 濃度の範囲及びそれらの平均濃度は、室内空気中の PM10 で 32.6～87.7 μ g/m³ (平均 56.0 μ g/m³)、PM2.5 で 14.4～71.1 μ g/m³ (平均 35.9 μ g/m³)、室外大気中の PM10 は 44.4～79.6 μ g/m³ (平均 59.8 μ g/m³)、PM2.5 で 21.2～47.7 μ g/m³ (平均 35.3 μ g/m³) となり、室内と室外の間に濃度の差を認めなかった。同様な結果を冬期の調査でも得ている。

また、PM2.5 の PM10 に対する割合は、夏期は室内空気中 42.9～81.3% (平均 63.7%)、室外大気中 40.9～75.0% (平均 59.0%) となり、冬期は室内で 33.3～81.8% (平均 66.9%)、室外で 55.0～89.3% (平均 69.7%) であった。これらのことから PM2.5 の PM10 に対する割合は室内と室外であまり変ら

ないと判断された。

同様に、札幌で行った冬期調査でも浮遊粒子濃度は室内、室外とも粒径が小さくなるにつれて高く、PM_{2.5} の PM₁₀ に対する割合は室内空気で 56～95%、室外大気で 45～73%であることを認めている。また、喫煙が行われている家庭の PM_{2.5} 濃度は室内＞室外であったのに対して、喫煙がなされていない家庭での室内外の濃度差は小さかった。

b) PAH とニトロアレーン

富士地区の調査において、一般家庭の室内、室外の空気浮遊粒子から 18 種の PAH が検出・定量され、それらの殆どが粒径 2.5 μm 以下の微小粒子中に含まれていること、PAH の平均濃度は室内と室外であまり変わらないことを認めた。例えば、PM_{2.5} に含まれる BaP 平均濃度は、夏期は室内で 0.35ng/m³、室外で 0.37ng/m³、冬期は室内で 0.77ng/m³、室外で 0.68ng/m³であった。

札幌では 4 種類の PAH の測定がなされ、これらの PAH は室内、室外試料とも、2.5 μm 以下の粒子に全 PAH 濃度の 90%以上も含まれていること、喫煙のあった家庭の PAH 室内濃度は室外濃度より高く、工業地域に近い家庭の PAH 濃度は室内、室外ともその他の地域より高いことを認めた。

札幌地区で測定された 4 種のニトロアレーンも、PAH と同様、室内、室外とも微小粒子に多く含まれ、2.5 μm 以下の粒子に全ニトロアレーンの 80%以上が含まれていることを認めている。

c) 有機リン化合物と変異原性

一般家庭における有機リン化合物の実態調査を、家屋の改築前後に行った。その結果、図 5 に示すように、改築により粒子状及びガス状の TBP、TCEP、TCIPP 等の濃度が高くなることが判った。また、部屋によっては TEHP 濃度が高くなることから、使用する建材や内装材等により室内に放散する化学物質が異なると推定された。そこで、ビニルクロスを密閉チャンバー内に置き、有機リン化合物の放散量を求めた。その結果、ビニルクロスから TBP、TCEP、TCIPP、TEHP、TBEP 及び TCP 等が放散されることを認めた。

変異原性試験も、札幌及び東京の一般家庭で得た浮遊粒子試料についてなされ、室内、室外試料とも 2.5 μm 以下の微小粒子に変異原の殆どが含まれていることを明らかにすると共に、室内空気の変異原性に及ぼす喫煙、調理及びストーブ暖房の影響についても考察を加えた。

d) 重金属類

神奈川県 8 家庭と東京 1 家庭につき、室内、室外試料のサンプリングを合計 20 回行い、得られた浮遊粒子試料中の重金属等を ICP-MS で分析した。その結果、

- ・ 室外大気の方が室内空気より高い濃度を示す傾向を示す。
- ・ 木造一戸建住宅と鉄筋集合住宅において、場所、高さ、喫煙、暖房、ペットの有無など、さまざまな条件下で測定を行ったが、これらによる特異的な相違は認められなかった。
- ・ 室内に発生源がない場合、室内の重金属類の濃度は屋外の影響を大きく受ける。
- ・ 粗大粒子に多く含まれるナトリウム、マグネシウム、アルミニウム、カルシウム、スカンジウム、マンガン、鉄、コバルト等は室外濃度の方が室内濃度より明らかに高い傾向にある。これに対して、微小粒子に多く含まれるカリウム、ひ素、セレン、カドミウム、鉛等の濃度は、室内と室外との間に殆ど相違を認めなかった。これは、微小粒子は粗大粒子より室内に侵入しやすく、また、空気中での滞留時間も長いことによると考えられる、等の成績が得られた。

3) 疫学調査が行われた地域における PM_{2.5} 等の調査結果

過去に慢性閉塞性肺疾患に関する疫学調査が行われた 6 地域のうち、4 地域（高萩市、杉並区、君

津市、富田林市)の大気汚染監視測定局に TEOM を設置し、平成 10 年 11 月 1 日から 1 年間、PM_{2.5} 濃度を連続測定し、各測定局で同時測定された SPM 濃度と比較する調査と、PM_{2.5} 粒子を月 4 回 (1 回の捕集期間は 7 日または 8 日) 石英繊維フィルターに捕集し、その中の金属成分 (30 元素程度)、イオン成分及び炭素成分を求める調査を行った。その結果、

- a) TEOM から得られた PM_{2.5} 濃度の年間平均値は杉並 28.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、君津 21.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、富田林 20.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、高萩 15.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の順となり、各地点とも春季に濃度が高くなる傾向がみられた。
- b) 各測定局の SPM 濃度と PM_{2.5} 濃度との間には図 6 に例示する如く、良好な相関が認められた。各月毎の SPM 濃度と PM_{2.5} 濃度の散布図を基に作成した回帰直線の勾配は、高萩 0.489~0.591 (平均 0.553)、君津 0.320~0.767 (平均 0.573)、富田林 0.478~0.724 (平均 0.573)、杉並 0.364~0.717 (平均 0.518) であり、杉並の平均値がやや小さいものの、その他の地区の平均値はほぼ一致している。これらの結果は過去の SPM 濃度から当時の PM_{2.5} 濃度を推定しうることを示唆している。なお、各調査地点とも夏期に回帰直線の勾配が小さくなる傾向を認めた。
- c) 石英繊維フィルター捕集試料から求めた PM_{2.5} の濃度は、a) に示した連続測定結果とほぼ同様、杉並 (32.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、富田林 (24.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、君津 (22.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高萩 (17.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) の順となるが、連続測定の値より 1~2 割程度高かった。この原因の一つとして、TEOM では PM_{2.5} 測定部の温度が 50°C に制御されているため、PM_{2.5} 粒子中の水分や半揮発性成分が蒸発することが考えられる。今後、PM_{2.5} 濃度の測定にあたってはこのような点も考慮に入れ、より正確な連続測定法を模索する必要がある。
- d) 重金属元素濃度の推移には明確な季節変動は認められなかった。また、調査地点別では、ナトリウム、バナジウム、ひ素が高萩で高く、鉄、マンガン、コバルト、アルミニウムが君津で他地点より高い値を示す場合が多いことなどを認めた。
- e) 陰イオンを当量割合でみると、杉並は NO_3^- の割合が高く、高萩と富田林は SO_4^{2-} の割合が高いことを認めた。
一方、陽イオンの当量割合に関しては、各調査地点とも NH_4^+ の割合が最も高く、 Mg^{2+} 及び Ca^{2+} の割合はその他の陽イオンより際立って低かった。これは、 NH_4^+ は主に人為起源で、微小粒子に多く含まれ、 Mg^{2+} と Ca^{2+} は土壌起源で、粗大粒子に存在する割合が高いためと推察される。
- f) 総炭素濃度は PM_{2.5} 濃度と同じ傾向を示し、杉並が最も高く、高萩が最も低かった。また、各調査地点とも明確な季節は認められなかった。このほか、杉並は他の地点より無機炭素の割合が高いことなどを認めた。

これらの浮遊粒子に関する諸知見は浮遊粒子のキャラクタリゼーションの基礎資料として重要である。

5 考察

生活環境空気中には 0.01 μm ~100 μm と広い範囲に渡る大小様々な粒子が浮遊しており、これらを日常生活を通じて吸入している。一方、大気浮遊粒子の健康に及ぼす影響については古くから多くの関心もたれ、我が国では 1973 年 5 月、10 μm 以下の浮遊粒子状物質 (SPM) に対して環境基準が設定され今日に及んでいる。さらに、近年の米国を中心とする疫学調査により、粒径 2.5 μm 以下の小さな粒子が健康に大きな影響を与えることが示され、これらの知見を基に、米国では 1997 年 7 月、PM_{2.5} に対する環境基準が追加設定された。しかし、微小粒子に関する知見は SPM 又は PM₁₀ に比べて米国においても少なく、我が国では著しく少ないため、微小浮遊粒子の健康影響評価にあた

っては、まず、微小粒子の濃度及び当該粒子に含まれる有害成分等の種類や組成を明らかにし、日常生活を通じての曝露実態を明らかにする必要があるとされている。

本研究はこのような要請に応えるために行われた。すなわち、平成9、10両年度において浮遊微粒子や有害成分の計測法の検討を行い、得られた方法を用いて本年度は、大気浮遊粒子のキャラクターゼーションに力を注いだ。すなわち、東京、川崎及び札幌（2地点）の計4地点で、ハイボリューム・アンダーセンサンプラーを用いて大気浮遊粒子を5段階に分級捕集し、そこに含まれる有害成分を全班員が協力して測定した結果、PAH17種、ニトロアレーン4種、有機リン化合物6種、重金属元素39種及び変異原性に関する知見を得た。この調査により PAH、ニトロアレーン、有機リン化合物及び変異原性の大部分は粒径 $2.0\mu\text{m}$ 以下の微小粒子に含まれることや、重金属類は元素の種類により微小粒子に含まれるもの、粗大粒子に含まれるもの、またはその中間のものに分れることなどを認めた。このように、同一の大気浮遊粒子試料について詳細な調査がなされた前例は、筆者の知る限りない。したがって、これらの知見は大気浮遊粒子のキャラクターゼーションの貴重な基礎資料といえる。

本研究班の研究成果として強調すべき第2の事項は、本研究で開発された低騒音分級サンプラー（ 25L/min と 3L/min ）を用いて一般家庭の室内、室外空気中の浮遊粒子を分級捕集し、室内外における粒子濃度や PAH 等の各種有害成分の存在状態を明らかにしたことである。特に、PM_{2.5} や PAH の平均濃度は室内空気と室外大気であまり変わらないという知見は、リスクアセスメントの一環としての曝露アセスメントを大気調査を中心に行っても構わないこと等を強く示唆している。

さらに、本研究班の第3の研究成果は、過去に疫学調査が行われた4地域の大気浮遊粒子濃度（PM_{2.5}）を1年間に亘って連続測定し、経日ないし経月変動や、PM_{2.5} 濃度と SPM 濃度との相関を調べ、過去の SPM 濃度から当時の PM_{2.5} 濃度を推定しうる可能性を示唆する結果を得たほか、PM_{2.5} に含まれる重金属元素やイオン成分、炭素成分に関する知見を得たことである。現在、測定が終了して日が浅いので十分解析されているとはいいいないが、今後、詳細な解析により、リスク評価、特に曝露評価に関して有益な知見が得られるものと考ええる。

6 今後の課題

本研究班の研究目的は、生活環境空気中の浮遊粒子ならびにそれに含まれる各種有害成分の高感度計測法の開発と、得られた計測法等を用いて浮遊粒子に含まれる有害成分の存在実態を粒径別に求め、曝露評価や浮遊粒子のキャラクターゼーションの基礎資料とすることにある。

このような視点のもとに室内計測にも使用可能な低騒音小型サンプラーや、PAH、ニトロアレーン、有機リン化合物、重金属元素及び変異原性の高感度計測手法の検討を行い、得られた計測法を種々の環境調査に適用して、幾多の見るべき成果を得た。

今後の課題としては、これら有害成分をさらに高感度、かつ簡便に測定しうる計測法の開発と規格化、及びそれらを用いた室内試料、室外試料及び個人サンプラー試料についての広汎な調査研究、得られた調査結果の総合解析が強く望まれる。このほか、ジニトロピレンやダイオキシン等、毒性はかなり強いが、その存在量は極めて少ないため、計測に多量の試料を要し、かつ分析に熟練と多大な日時と経費を要するものは、それらの濃度と密接な相関を有する前駆体等を簡易分析し、その結果から目的有害成分濃度を推定し、問題となると推定された地域等について目的有害成分の分析を重点に行うことが望ましい。このような目的に合致する手法の開発とその応用も必要である。

7 社会的貢献

有害大気汚染物質に対する社会的関心は、国内的にも国際的にも高まりつつある。特に、粒子状汚染物質問題は、米国が粒径 $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 以下の浮遊粒子に対する環境基準を追加設定したことや、SPM と健康被害との因果関係を容認した尼崎大気汚染公害訴訟第 1 審判決（平成 12 年 1 月 31 日）、さらには東京都がディーゼル車にディーゼル微粒子除去装置（DPF）の装着を義務付ける規制に関する条例の検討など、緊急を要する課題となりつつあるので、正確な汚染実態の把握をふまえた適切な対策が強く求められている。

本研究はこのような要請に応えるべく、浮遊粒子及びそれに含まれる有害成分（PAH、ニトロアレーン、有機リン化合物、重金属類及び変異原性）の高感度簡易計測法の確立を図り、かつ、これらの計測法を粒径別に採取した環境大気浮遊粒子試料や室内浮遊粒子試料に適用し、浮遊粒子のキャラクターゼーションや曝露評価に有益な種々の知見を得つつある。TEOM による PM_{2.5} 濃度の 1 年間の連続測定も我が国では例を見ない。これらの諸研究成果は、リスクアセスメントやリスク低減対策策定の基礎資料としても有用である。

8 3年間のまとめ

本研究班の研究は、①計測法の開発、②ハイボリューム・アンダーセンサンプラーにより得た大気共通試料中の有害成分の多角的検索、③一般家庭の室内、室外空気中の浮遊粉じんに含まれる有害成分の粒径別分布の検索及び、④過去に疫学調査が行われた地域における PM_{2.5}、SPM 及び PM_{2.5} 中の重金属成分等の測定に分けられる。以下、これらの分類に従って本研究班の 3 年間の成績を述べることにする。

1) 計測法の開発

計測法の開発は主に平成 9 年度と 10 年度に行った。すなわち、

- ・浮遊粒子の粒径別サンプリングシステムとして、低騒音型のカスケードインパクト方式の小型サンプラー 2 種（3 L/min と 25 L/min）を作成した。これらにより初めて室内中の浮遊粒子の粒径別測定が可能となった。
- ・PAH の高感度多成分同時分析法の開発に関しては新たに次の方法を開発した。大気浮遊粒子中の PAH 等を超音波抽出し、その濃縮物をアセトニトリルに再溶解し、前段濃縮・クリーンアップ機能付高速液体クロマトグラフ・分光蛍光検出・コンピュータシステムで分離分析すれば 1 時間程度で 20 種の PAH を自動分析しうることを見出した。検出下限も著しく低く、再現性も高いことを確認した。
- ・ニトロアレーンの高感度分析法の検討の結果、大気浮遊粒子中のニトロアレーン等の超音波抽出法による抽出→液・液分配による中性画分の分取→ニトロアレーンのアミノアレーンへの変換→抽出・濃縮→HPLC/化学発光検出法が有効であることを認めた。本法の定量下限は 1-NP で 13 fmol、1,3-DNP で 5.4 fmol、1,6-DNP で 1.3 fmol、1,8-DNP で 2.1 fmol と超高感度である。
- ・有機リン化合物の多成分分析法として次の方法を開発した。すなわち、まず、粒子状及びガス状の有機リン化合物を分別捕集しうる（石英繊維フィルター＋Empore disk C18 フィルター）サンプリング系（流量 10 L/min、24 時間サンプリング）を開発した。ついで、このサンプラーで捕集された有機リン化合物をアセトンで抽出し、ろ過・濃縮後、GC/FPD で分離分析する。本法により 10 種類のリン酸エステル系の有機リン化合物が容易に分離分析され、その定量下限は数 ng/m³ と高感度であるが、試料液大量導入装置を用いれば、さらに 30 倍以上も高感度となることを見出した。
- ・金属元素類の高感度分析法として ICP-MS 法を取り上げ、39 元素を高感度かつ精度よく測定するた

めの諸条件の詳細な検討を行い、規格化をはかった。

- ・変異原性試験の高感度化手法としてはサルモネラ菌 TM677 を用いる ultramicro forward mutation assay とサルモネラ菌 YG1024 を用いる microsuspension assay に関する検討を行い、共に大気や室内空気から得た浮遊粒子抽出物中の変異原性計測の高感度化に有用であることを認めた。

2) ハイボリューム・アンダーセンサンプラーによる大気共通試料中の有害成分の多角的検索 (H9、10、11 年度)

札幌の住宅地区と商業地区（道路端）、川崎及び東京の4ヶ所で毎年、11～12 月に大気浮遊粒子を5段階の粒径に別けて採取し、各試料を6乃至8等分に分割して各研究班員に配布し、PAH、ニトロアレーン、有機リン化合物、金属元素、変異原性を測定し、浮遊粒子に含まれるこれら有害物質の粒径分布等を明らかにした。また、初年度は第2小課題研究班によるダニ、ネコアレルギーや真菌の測定も行った。これらの計測の結果、検出・定量された16種(H11年度は17種)のPAH、4種のニトロアレーン及び変異原性の大部分は凡て粒径 2.0 μm 以下の微小粒子に含まれていることを認めた。このように共通試料を用いて有害成分を多角的に測定した例は極めて珍しい。

3) 一般家庭の室内・室外空気中の有害成分の粒径別分布の検索 (H10、11 年度)

本研究で開発した低騒音分級サンプラーを研究班員に配り、各班員在住地域の一般家庭の室内・室外空気浮遊粒子を3段階に分級して捕集し、それらに含まれる有害成分の分析を行った。その結果、各地区のPM2.5濃度の平均値は室内と室外であまり変わらないこと、ある地域のPM2.5平均濃度のPM10平均濃度に対する割合は、札幌（暖房期）とその他の地域とは若干異なるが、室内・室外ともに60～70%であることを認めた。また、PAH濃度の平均値は室内、室外でほぼ同一の値を示した。その他、ニトロアレーン、有機リン化合物、変異原性、重金属元素の調査においても濃度、粒径分布に興味ある知見が得られたほか、これらの発生源を示唆する結果も得られている。

我々は一日の大部分を室内で生活している。本調査で得られた成績は、健康影響評価、特に曝露アセスメントの基礎資料として重要かと思われる。

4) 過去に疫学調査が行われた地域のPM2.5等の調査 (H10、11 年度)

慢性閉塞性肺疾患に関する疫学調査が行われた4地域の大気汚染監視測定局にTEOMを設置し、平成10年11月から平成11年11月までの間、PM2.5を連続測定し、この値と同一測定局で得られたSPM濃度とを比較した結果、両者の間には極めて高い相関があり、両濃度間の回帰直線の勾配も比較的一定していることから、過去のSPM濃度から当時のPM2.5濃度を推定できる可能性が強く示唆された。

また、TEOMに付属装置をつけることにより得られたPM2.5粒子試料に関して粒子濃度、重金属元素（30種）、イオン成分及び炭素成分の測定を行った。これらも、大気浮遊粒子のキャラクタリゼーションの基礎資料として貴重である。

Ⅲ-1-(2) 生活環境空気中のアレルゲン計測手法と実態把握に関する研究

1 研究従事者

- 安枝 浩（国立相模原病院）
- 新田裕史（国立環境研究所）
- 高島浩介（国立医薬品食品衛生研究所）

2 平成 11 年度の研究目的

生活環境空気中には室内、室外を問わずヒトのアレルギー疾患の原因となるさまざまなアレルゲン粒子が浮遊している。これらの空中アレルゲン粒子の発生要因、濃度、およびその経時的変化、粒径分布等に関しては不明な点が非常に多い。アレルギー疾患の原因アレルゲンとしてわが国でとくに重要なものは、室内塵中のヒョウヒダニ、ペットとしてのネコ、スギ花粉、および真菌類である。本研究においては、これらのアレルゲン粒子の空中濃度を粒径別に計測できる手法を開発して、得られた手法を用いて空中アレルゲン粒子の発生要因や空中での動態を明らかにすることを目的とする。

3 年間の研究期間の最終年度となる平成 11 年度においては、これまでの 2 年間の研究成果をもとにして次の研究を行う。

①ダニ、ネコアレルゲン

日常生活のさまざまな局面における空中アレルゲンの粒径別濃度を測定することにより、ヒトの行動様式と空中アレルゲン粒子の動態との関係を解析する。

②真菌

一般家庭室内の同一地点で新規小型分級サンプラーによる連続サンプリングを行い、真菌種、および真菌数の 1 年間を通じた推移を検討する。

③スギ花粉

粒径が 30 μm のスギ花粉と 10 μm 以下の微粒子を確実に分級捕集できる装置を作成して、2000 年のスギ花粉飛散シーズンに微粒子分画に存在するスギ花粉アレルゲンの存在割合を定量的に評価する。

④疫学的調査

新規小型分級サンプラーによる一般家庭室内外の粒子状物質の捕集を行い、その中の各種アレルゲン、真菌の測定を行って、アレルゲンの分布状況、およびその変動要因について多角的に検討する。

3 平成 11 年度の研究の対象および方法

①睡眠中の枕元で発生する空中ダニアレルゲン粒子の濃度、およびその粒径分布

2 軒の一般家庭（住居 A は鉄筋集合住宅、B は木造一戸建て）の寝室で、枕元に小型分級サンプラー（3 L/min）を設置して就寝直後から起床時まで（5-7 時間）サンプラーを運転した。これを 1999 年 7 月に 6 日間、2000 年 1 月に 7 日間連続して実施した。それぞれのサンプリングでサンプラーの各段のフィルターに捕集されたアレルゲンの濃度は、フィルターを 2 ml の ELISA 用緩衝液で抽出した後、一昨年度報告した高感度蛍光 ELISA 法で測定した。ダニアレルゲンは Der p 1 と Der f 1 を別々に測定した後、その合計量を Der 1 とした。

②室内空気中の真菌細胞数、および真菌種の月別推移に関する検討

一般家庭室内の同一地点（木造一戸建て家屋の居間）において小型分級サンプラー（3 L/min）による 24 時間のサンプリングを毎月 20 日前後に 7 日間連続して行って、真菌数と菌種の変動、および菌種と捕集される分画の関係を調べた。これを 1999 年 6 月に開始して 2000 年 5 月までの 1 年間の予定で実施中である。捕集した試料は培養法により真菌細胞数と菌種を調べた。すなわち、各フィルターの全量を一定量の精製水と十分に混和した後、その段階希釈液を用いて真菌培養した。培養は一般真菌用のポテト・デキストロース寒天培地で 25℃で 1 週間行い、生育したコロニーを計数して、菌種を同定した。

③スギ花粉

③-1 スギ花粉と微粒子を分級捕集する方法に関する検討

2 種類の異なった分級方式のサンプラーについて評価を行った。本研究班で開発された分級型サンプラー（25 L/min で 10 μm 以上、2.5-10 μm、2.5 μm 以下の 3 段階に分級）と多段型分粒装置付きサンプラー（柴田科学 C-20 型、20 L/min で 10 μm 以上の粒子を 100% カット）である。実験室内において、これらのサンプラーを規定の流速で運転中にその前方、あるいは上方から 10mg（約 10⁶ 個）のスギ花粉を散布してその一部をサンプラー内へ吸引させた。1 分後に運転を止め、分級型サンプラーの各ステージのフィルターに捕集された花粉、多段型分粒装置付きサンプラーの分粒装置を通過してフィルターに捕集された花粉を染色後顕微鏡下で計数した。多段型分粒装置付きサンプラーを用いた実験では分粒装置付きサンプラーと分粒装置の付いていないサンプラーを同時に並べて運転して、両方のサンプラーのフィルターに捕集された花粉数を比較した。

③-2 室外空気中のスギ花粉アレルゲン、Cry j 1 の測定

国立相模原病院の 5 階建て病棟屋上の Durham gravity sampler による常時花粉観測地点に、多段型分粒装置付きサンプラーと分粒装置の付いていないサンプラーの 2 台を並べて設置した。それぞれ 20 L/min の流量で室外空気をポリフロンフィルター（直径 55mm, Advantec）を通して吸引捕集した。フィルターの交換は花粉捕集器のスライドガラスの交換と同時刻の午前 9 時に行った。空気の捕集は平成 12 年 2 月 7 日に開始し、3 月 23 日現在も継続中である。サンプリング後のフィルターはハサミで 3/4 と 1/4 に 2 分割し、3/4 の部分は ELISA 用緩衝液で抽出した後、Cry j 1 の濃度を昨年度報告した高感度蛍光 ELISA 法で測定した。残りの 1/4 の部分は顕微鏡下でスギ花粉を同定、計数した。分粒装置付きフィルターに捕集された花粉数を A、分粒装置なしのフィルターに捕集された花粉数を B として、 $(A/B) \times 100$ を花粉のリークした割合（%）とした。

④一般家庭の室内、室外での PM₁₀、PM_{2.5}、および各種アレルゲン濃度の測定

千葉県柏市の一般家庭 10 世帯（約 300m 四方）で、平成 12 年 2 月 21 日に屋内（書斎、もしくは寝室）および屋外（ベランダなど）の 2 ヶ所で 24 時間の測定を実施した。小型分級型サンプラー（3 L/min）を用いて粒子の捕集を行い、捕集量は捕集前後にフィルターを恒温恒湿の部屋に 24 時間放置した後電子天秤（メトラー UM3）で測定したフィルターの総重量の差より求めた。さらに、フィルター上に捕集されたダニ、ネコ、スギ花粉アレルゲン（Der 1, Fel d 1, Cryj 1）の濃度は上記の高感度蛍光 ELISA 法で測定した。

4 平成 11 年度の成果

①睡眠中の枕元で発生する空中ダニアレルゲン粒子

ヒトが睡眠中に曝露を受ける枕元における空中ダニアレルゲンの粒径別濃度の測定を2軒の一般家庭で夏期と冬期に実施してその濃度を比較した。夏期の成績は、空中ダニアレルゲン(Der 1)の濃度の6日間の幾何平均値(とその範囲)が、住居Aでは、174(95 - 317) pg/m³、住居Bでは、589(262 - 1590) pg/m³であった。粒径別にみると、全体のおよそ1/3がPM_{2.5}分画に、2/3がPM₁₀分画に検出されていた。

一方、冬期には全く異なった結果が得られた。住居Aではサンプリングを行った7日間のうち、3日間の空中Der 1濃度は測定の検出限界(2 pg/m³)以下であり、残りの4日間も10 pg/m³以下と極めて低値であった。住居Bにおいても住居Aほどではないが、冬期の空中Der 1濃度は低値であった。図1に両住居の夏期と冬期の空中Der 1の総濃度を示した。夏期と冬期の空中Der 1濃度の幾何平均値には住居Aでは50倍、住居Bでも10倍の差がみられた。空中ダニアレルゲンの発生源である寝具のダニによる汚染の程度は、夏と冬では使用する寝具に違いがあるので一概には比較できないが、1年を通じて使用している敷きフuton、あるいはマットレスのDer 1量(μg/g dust)は、住居Aでは夏が164、冬が114 μg/g dustで、夏と冬で2倍の差はなく、住居Bでは夏が15.2、冬が35.3 μg/g dustとむしろ冬の方が高値であった。

②室内空気中の真菌細胞数、および真菌種の月別推移

小型分級サンプラーを用いて真菌生細胞数を経月的に測定して、真菌数の推移を検討した(図2)。真菌数は6月から11月にかけては多く、12月からの冬期には明らかに減少する傾向がみられた。この結果は、従来の落下法による成績と同じ傾向にあった。サンプラーの各分画に捕集された真菌数は、2.5-10 μmの分画がもっとも多く、全体の60%前後がこの分画に捕集された。この分画に多く検出された真菌種は細胞の大きさが5 μm前後の*Penicillium*と*Cladosporium*の2種であった。また、大きさが30 μm以上ある*Alternaria*は10 μm以上の分画に、逆に2から4 μmの*Trichoderma*は検出頻度は少ないが、2.5 μm以下の分画に捕集されていた(表1)。

③スギ花粉

③-1 スギ花粉と微粒子を分級捕集する方法に関する検討

2種類の分級型サンプラーを実験室内で運転して、一定量のスギ花粉をサンプラー内に吸入させ捕集された花粉数を調べるによりその分級能を評価した。3段式の分級型サンプラーで捕集面に無処理の石英フィルターを用いたときには、花粉は極めて奇妙な挙動をとった。サンプラー内へ吸引された花粉のおよそ半分がそれぞれ第1段(10 μm以上)のフィルターとバックアップフィルター(2.5 μm以下)に検出され、第2段(2.5-10 μm)のフィルターに検出される花粉は全体の0.5%にもみたなかった。すなわち、大きさが30 μmもあるスギ花粉の半数は本来捕集されるべき第1段、あるいは2.5 μm以上の粒子が捕集されるべき第2段に留まらず最下段まで落下していた。第1段と第2段のフィルターをグリセリンで含浸させた場合にはこのような現象は起こらず、サンプラー内へ吸引された花粉の98%以上は第1段から検出された。

一方、多段型分粒装置付きサンプラーの場合には、分粒装置付きサンプラーと分粒装置なしサンプラーを並べて同時運転したときに、分粒装置付きサンプラーのフィルターに捕集された花粉数は分粒装置なしサンプラーのフィルターに捕集された花粉数のおよそ0.2%であった。

③-2 室外空気中のスギ花粉アレルゲン、Cry j 1の測定

これまでに解析の終わった3月15日までの結果を示す。多段型分粒装置付きサンプラーを室外

で運転した場合には、実験室内での検討よりも全般的にリークする花粉の割合が多く、その程度は気象条件によって大きく影響を受けた。38 日間のサンプリングで、リークした花粉の割合が 10% を超えた日が 5 回あったが、いずれも 24 時間のサンプリング中に降雨があった日、もしくは強風が吹いた日であった。それ以外の降雨のない日、強風の吹かない日ではリークした割合はおおむね 1% 前後であった。

分粒装置付きサンプラーのフィルターに捕集された Cry j 1 量 ($10\text{ }\mu\text{m}$ 以下の分画の Cry j 1 量) は、分粒装置なしサンプラーのフィルターに捕集された Cry j 1 量 (全 Cry j 1 量) の 0.40% から 40.7% (平均 5.1%) であり、降雨、または強風により花粉のリークが多く認められた日には $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下の分画の Cry j 1 の割合も高かった (図 3-A)。そこで、分粒装置付きサンプラーのフィルターに捕集された Cry j 1 量のうち、リークした花粉由来の Cry j 1 量を花粉数から見積もってそれを除去するという補正を行ったところ、 $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下の微粒子分画の Cry j 1 量は全 Cry j 1 量の最大でも 12.2%、多くの場合は 0% から 2% であるという結果が得られた (図 3-B)。一方、分粒装置なしサンプラーによる捕集で得られた空中スギ花粉濃度、あるいは Cry j 1 濃度と、Durham gravity sampler による落下花粉数との間にはいずれも相関係数 0.95 以上の良好な相関が認められた。

④一般家庭の室内、室外での PM_{10} 、 $\text{PM}_{2.5}$ 、および各種アレルゲン濃度の測定

千葉県柏市の一般家庭 10 世帯での測定結果では、重量濃度は屋内、屋外ともに $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 以下の粒子、すなわち $\text{PM}_{2.5}$ が $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 以上の粒子濃度よりも高い傾向を示していた。屋内濃度と屋外濃度の違いは明確ではなく、今回の測定ではいずれの粒径分画においても屋内－屋外の相関ははっきりしなかった。

ダニアレルゲン、Der 1 の濃度は世帯間で大きな変動がみられた。最大の世帯で 446、最少の世帯で 2.5、10 軒の幾何平均値が 20.4 pg/m^3 であり、その多くは $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上の粒径分画に存在していた。ネコを飼育している 2 世帯で高濃度のネコアレルゲン、Fel d 1 (2560 と 397 pg/m^3) が検出され、他の非飼育世帯はいずれも 10 pg/m^3 以下であった。スギ花粉アレルゲン、Cry j 1 については屋外試料の $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上の分画に大部分が存在するが、それ以下の粒径分画でも検出された。その濃度は最大の世帯で 104、最少の世帯で 18.9、幾何平均値が 42.1 pg/m^3 であった。屋内試料中のスギアレルゲン濃度は屋外試料に比べて非常に低い、一部の世帯では検出されていた。

5 考察

本研究班では、わが国で重要なダニ、ネコ、スギ花粉の主要アレルゲンの定量のために、従来の方法よりも 10 倍から 100 倍高感度の蛍光 ELISA を開発して、小型分級サンプラーによるサンプリングとこの定量法を組み合わせることによって、室内、室外環境空气中アレルゲン粒子、および真菌細胞の解析を進めている。

室内のダニアレルゲンに関しては、睡眠中の枕元における空中濃度、すなわちヒトが睡眠中に曝露を受けるダニアレルゲン量が、夏と冬で 10 倍以上異なるという興味深い結果が得られた。発生源である寝具の汚染のレベルにはそれほどの季節変動は認められていないので、睡眠中のヒトの活動 (具体的には寝返りなど) の程度が空中濃度の変動に大きく関わっている可能性が考えられるが、今回はわずか 2 世帯での調査であり、さらに対象を増やしてその要因を明らかにしていく必要がある。また、疫学的調査においても室内ダニアレルゲンの 1 日平均濃度には世帯間で約 200 倍の変動

が認められた。これらの変動にも発生源の汚染のレベルとともにヒトの生活様式や行動様式が密接に関わっていると考えられ、高濃度の空中アレルゲンの発生要因となる行動様式を特定していくことが今後の課題である。ダニアレルゲンの粒径分布、とくに $PM_{2.5}$ の占める割合がどの程度なのかについては未だに再現性のあるデータが得られておらず、インパクターの特性など粒径別捕集装置の性能についてさらに検討する必要があると考えられた。

スギ花粉も小型分級サンプラーによる捕集では予測外の挙動をとり、現時点ではその理由が明らかにできていないため、今年度のスギ花粉飛散シーズンには分級方式の異なる多段型分粒装置付きサンプラーを用いて微粒子分画中のスギ花粉アレルゲンの解析を行った。その結果、 $10\mu m$ 以下の微粒子分画中の Cry j 1 は Cry j 1 総量の数%、あるいはそれ以下であり、大半の Cry j 1 は $30\mu m$ の花粉に保持されたまま浮遊しているということが明らかになった。イネ科花粉やシラカンバ花粉では、とくに降雨の後に大量の微粒子アレルゲンが発生して気管支喘息へ関与することが指摘されている。スギ花粉の場合には上気道、眼の症状が主で下気道の症状を引き起こすことは極めてまれであるが、そのことがアレルゲン粒子の粒径分布の面からも裏付けられた。

真菌を小型分級サンプラーで捕集した場合には、花粉とは異なり真菌細胞の大きさを反映する分画にほぼ一致して捕集されていた。月別の推移に関しては、従来の落下法による成績を支持する結果が得られたが、今後はこれらの空中浮遊真菌の発生源と発生要因を少なくとも主要な菌種については菌種ごとに特定していく必要がある。

6 今後の課題

本研究班の任務は、空気中のアレルゲン粒子の信頼性の高い計測手法を開発し、その手法を利用して室内室外環境空気中のアレルゲン粒子、真菌細胞の粒径別濃度を測定して、その発生要因や空中における動態を明らかにすることにある。ダニ、ネコ、スギ花粉アレルゲンに関しては、新たに開発した蛍光 ELISA による高感度定量法を用いることによりローボリュームサンプラーによるサンプリングで十分に生活環境空気中のアレルゲンを検出することは可能となった。しかし、アレルゲンタンパクを含む粒子の分級型サンプラーによる捕集については、バウンスングなどいくつかの未解決の問題があり、空中アレルゲン粒子の粒径分布については明確な結論が得られていない。生活環境空気中のアレルゲン粒子を正確、かつ再現性よく分級捕集できる手法を確立することが当面の課題である。一方、真菌は現在のサンプリング手法で分級に関しては問題はないが、検出方法としての培養法には手技が繁雑であるという問題点、生細胞しか検出できないという問題点がある。他のアレルゲンと同様の免疫化学的定量法、あるいは生死細胞を識別できる蛍光色素法を導入する必要がある。

7 社会的貢献

わが国を含む先進諸国においてアレルギー疾患は増加の一途をたどっている。その原因について多方面から追求され、大気汚染物質や食生活の変化、感染症の激減などさまざまな可能性が想定されているが、I 型アレルギー反応による疾患の最大の原因因子はアレルゲンであり、アレルゲンへの曝露、および感作がなければ決して発症することはない。アレルギー疾患の原因の多くは吸入性のアレルゲンであり、生活環境空気中に浮遊するアレルゲン粒子を吸入することにより感作され、発症する。アレルギー疾患の発症に直接かわるこれらのアレルゲン粒子の発生要因、空中での動態を明らかにすることにより、その低減化策、あるいはアレルゲン曝露からの効率的な回避策を確

立てれば、アレルギー疾患の最も有効な感作、発症の予防策になりうるものと期待される。

8 3年間のまとめ

本研究班では、アレルゲン定量法の高感度化をはかり、その定量法と適切なエアースAMPLINGの手法を組み合わせることにより、生活環境空気中の粒子状物質、アレルゲン粒子、真菌細胞の動態をさまざまな角度から3年間にわたり解析してきた。

①アレルゲン定量法の高感度化

ダニの主要アレルゲン、Der p 1/Der f 1の定量法としてはモノクローナル抗体を用いるELISA (mAb-ELISA)が広く普及しており、その検出感度は1 ng/ml 前後である。mAb-ELISAは実用性、信頼性の高いアレルゲンの定量法であり、1 ng/ml という感度は室内塵中のダニアレルゲンを検出するという目的には十分である。しかしこの感度では空気中のダニアレルゲンは激しい発塵中でない限り検出できない。Der p 1/Der f 1のELISAの検出感度を高めるための条件を検討した結果、最適な抗体の組み合わせと酵素活性の検出に蛍光法を導入することにより、1 pg/ml という極めて高い測定感度を達成した。同様に、スギ花粉主要アレルゲン、Cry j 1も1 pg/ml、市販の抗体を用いるネコ主要アレルゲン、Fel d 1は10 pg/mlの測定感度を達成した。これらの高感度ELISAの開発により微量の空中アレルゲンの検出が可能になった、

②ハイボリューム・アンダーセンサンプラー試料中のダニ、ネコアレルゲン、真菌細胞

ハイボリューム・アンダーセンサンプラーで捕集した室外空気試料からダニアレルゲン、Der 1は数10から数100 fg/m³、ネコアレルゲン、Fel d 1は数 pg/m³の濃度で検出されたが、この濃度は室内空気中の濃度に比べてはるかに低く、曝露量としては問題にならないレベルであると結論された。一方、真菌もサンプラーのいずれの段のフィルターからも検出されたが、真菌細胞の実際の大きさとサンプラーの捕集された段の理論的粒径とは必ずしも一致せず、また大半が死細胞となっているため培養法で検出される真菌数は著しく少なかった。

③室内空気中に発生するダニ、ネコアレルゲン粒子の挙動の解析

日常生活におけるヒトの行動様式を想定したいくつかのモデル実験で発生する空中アレルゲン粒子の挙動を解析した。ダニに汚染された寝具中での模擬睡眠では、枕元の空中Der 1濃度は200-300 pg/m³のレベルで、その約4割がPM₁₀の微粒子分画に見いだされること、掃除、フタの上げ下ろしを想定した発塵実験によるアレルゲン粒子の減衰速度の解析では、ダニアレルゲン粒子、ネコアレルゲン粒子の粒径別減衰速度に相違があり、ネコアレルゲン粒子の方が長時間空中に滞留する傾向のあることを明らかにした。

④小型分級サンプラーによる室内空中真菌の測定

小型分級サンプラー(3 L/min)を用いれば、1週間の連続捕集でも真菌は死細胞にならず生細胞として検出可能であること、空中に多い*Cladosporium*や*Penicillium*など大きさが5 μm 前後の大きさの真菌は大半が2.5-10 μm の分画に捕集され、真菌細胞の実際の大きさとサンプラーの理論的粒径がほぼ一致することを明らかにした。さらに、この方法を用いて室内空中真菌数の年間での推移を検討したところ、夏に多く冬に少ないという従来の落下法での成績を追認する結果が得られた。

⑤室外空気中のスギ花粉アレルゲン

小型分級サンプラーによる捕集ではスギ花粉を正確に分級できないため、多段型分粒装置付きサンプラーでスギ花粉飛散シーズンに室外空気の捕集を行った。10 μm 以下の微粒子分画中に存在

する Cry j 1 は多く見積もっても Cry j 1 総量の数%であり、スギ花粉アレルゲンの大半は $30\text{ }\mu\text{m}$ の花粉に保持されたまま浮遊しているということが明らかになった。また、分粒装置のないサンプラーで捕集した試料中の Cry j 1 総濃度は、Durham gravity sampler による落下花粉数と良好な相関を示した。

⑥生活環境空気中の粒子状物質、アレルゲン粒子の疫学的調査

一般家庭の屋内ならびに屋外において小型分級サンプラーで捕集した試料の解析から、一般家庭の屋内においては PM_{10} に占める $\text{PM}_{2.5}$ 濃度は大きいこと、ダニ、ネコのアレルゲン量は $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上の分画に多いことを明らかにした。また、第2年度には高速道に近接する小学校での TEOM 設置測定局周辺での $\text{PM}_{2.5}$ および NO_2 測定を実施して、校舎内外での空間分布および日間変動傾向を明らかにした。