

- 1 生活環境中の粒子状物質等による個人暴露量測定手法の開発に関する研究

代表者：松下秀鶴

1. 研究従事者

- 松下秀鶴（静岡県環境衛生科学研究所） 雨谷敬史（静岡県立大学）
- 遠藤 治（国立保健医療科学院） 小野光広（日本品質保証機構）
- 高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所） 新田裕史（国立環境研究所）
- 安枝 浩（国立相模原病院）

2. 平成 14 年度の研究目的

近年、生活環境中の粒子状物質、特に粒径 2.5 μm 以下の大気浮遊微粒子（PM_{2.5}）の呼吸・循環器系への影響に大きな社会的関心が、国内的にも国際的にも寄せられつつある。しかし、我が国における生活環境空気中の PM_{2.5} の存在実態や、それに含まれる各種有害成分の定量的存在実態には不明な点が多く、暴露アセスメントを精度よく行う際の障害となっている。また、空気中のアレルゲン粒子の実態解明はアレルギー対策の基礎資料として極めて重要である。そこで、第 5 期研究の第 3 年度にあたる本年度は、昨年度までに得られた研究成果の上に立って、次の研究を行うことを目的とする。

1) PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発ならびにガス状有害成分のパッシブサンプラーによる個人暴露簡易計測法の開発

新たな PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発に関しては、昨年度までの検討結果に基づいて試作した個人サンプラーを現場調査に適用して個人サンプラーの問題点、改良点を明らかにする。また、当該サンプラー等の騒音周波数特性等も詳細に計測し、これらの結果を基に PM_{2.5} 個人暴露計測に適した新しいサンプラーを試作する。

また、パッシブサンプラーによるガス状有害成分の個人暴露簡易計測法としては、気道刺激性の強いアルデヒド類の高感度簡易分析法の検討を行う。

2) 空気などに含まれるアレルゲンのサンプリング、高感度計測法の開発とその信頼性の検討

ふとんや体の表面に存在するアレルゲンを簡易にサンプリングする方法として新たに安枝班員が開発したテガダーム法の信頼性、有効性を東京及び静岡での環境調査を通じて行う。

また、昨年度に引き続き真菌を免疫化学的に高感度検出する手法の開発とその環境調査への適用を試みると共に、PCI サンプラーによる気中浮遊真菌の捕集法の信頼性の検討などを行う。Real Time PCR による真菌 DNA の定量的検出法の検討も行う。

3) 環境大気や室内空気の汚染実態調査及び個人暴露調査

汚染実態調査及び個人暴露調査は東京と静岡で行う。すなわち、室内と室外の浮遊粒子の粒径分布調査は、PCI サンプラー等を用いて行い、PM_{2.5} 個人暴露調査は試作した個人サンプラーを用いて行う。また、これらの調査で捕集された浮遊粒子に含まれる主要な癌・変異原物質である多環芳香族炭化水素の測定を行う。

この調査と同時に、アクティブサンプラーによるアルデヒド類の捕集、パッシブサンプラーによるベンゼン及びその誘導体、揮発性有機ハロゲン化合物の捕集を行い、高感度多成分分析によりガス状有害汚染物質への汚染ならびに暴露実態を明らかにする。

3. 平成 14 年度の研究の対象及び方法

1) 研究対象

環境媒体：一般環境大気、一般家庭の室内・室外空気、個人暴露

化学物質、アレルゲン等：PM_{2.5} 及び各種粒径の浮遊粒子、多環芳香族炭化水素（PAH）
アルデヒド類、ベンゼン及びそのアルキル誘導体、揮発性有機ハロゲン化合物、アレルゲンとしてダニアレルゲン、ネコアレルゲン及び代表的 4 属の真菌（アスペルギルス、ペニシリウム、クラドスポリウム、アルテルナリア）

1) 研究方法

(1) PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発ならびにガス状有害成分のパッシブサンプラーによる個人暴露簡易計測法の開発

・PM_{2.5} の個人暴露計測手法の開発（主担：松下、分担：小野、雨谷、遠藤）

個人の携帯に適し、かつ正確に PM_{2.5}（粒径 2.5 μm 以下の浮遊粒子）を捕集しうるサンプリング法を開発するために、昨年度までの検討結果の上にメーカーと協力して個人サンプラーを試作し、それを班員に配布して個人暴露調査に用いた。そして当該調査における問題点、改良点を整理し、さらに試作したサンプラーの騒音周波数特性などを詳細に検討し、これらの結果を基に、より小型かつ低騒音で長時間個人暴露計測に適したサンプラーを試作し、その性能を調べる。

・アルデヒドの個人暴露計測法の開発（主担：松下）

気道刺激性の強い揮発性アルデヒドへの個人暴露計測用サンプラーとしてはパッシブサンプラーが望ましい。しかし、現在、パッシブサンプラーによって計測可能なアルデヒドはホルムアルデヒドとアセトアルデヒドのみである。そこで本研究ではパッシブサンプラーによって捕集されたアルデヒドを多成分分析しうるようにアルデヒドの簡易高感度分析法の開発を行う。

(2) 空気などに含まれるアレルゲンのサンプリング、高感度計測法の開発とその信頼性の検討

・テガダームを用いるダニ・ネコアレルゲン汚染実態計測法の開発と信頼性の検討

（主担：安枝、分担：雨谷、小野、遠藤）

安枝班員により、ふとんや枕などの寝具、顔や内腕などに付着したダニ、ネコアレルゲンをテガダームで捕集し、蛍光・ELISA 法で計測する方法が開発された。本法はサンプリングが極めて容易であり、かつアレルゲンによる汚染状況を単位面積当たりのアレルゲン量として表示出来る利点がある。そこで、本簡易計測法の信頼性、有効性を検討するために、雨谷班員は静岡、遠藤、小野両班員は東京で寝具や頬などからアレルゲンをテガダームで採取すると同時に、気中アレルゲンを PCI サンプラー等で捕集し、それらの試料を、採取条件が判らないようにして安枝班員に送付し、アレルゲン測定後、サンプリング条件を開示して相互に解析、評価しあうことにより信頼性と有効性の検討を行う。

・室内外空気中の真菌細胞外多糖体（EPS）濃度の経月変動（主担：安枝）

アスペルギルス、ペニシリウム、クラドスポリウム、アルテルナリア、カンジダのうち、体内常在菌であるカンジダを除く 4 属の真菌を対象とした。試料からの EPS の抽出はガラスビーズ法が有効であることが判明したので、この方法による抽出液中の各属 EPS を蛍光 ELISA で定量することとした。また、気中 EPS の経月変動は 2002 年 5 月～2003 年 2 月に亘って、サンプリングした室内浮遊粒子試料及び室外浮遊粒子試料について行う。

・真菌 DNA の Real Time PCR による定量的検出法についての検討（主担：安枝）

広範囲の病原性真菌を検出するために開発された 18S ribosomal DNA 中の 470bp を増幅する系を用いて定量的検出法の検討を行う。

・生活環境中の真菌細胞汚性評価手法の開発など（主担：高鳥）

ハウスダストより分離された真菌 41 菌種について、Hyeong らの方法に従い、真菌の生細胞と死細胞に対し蛍光色素 FDA (Fluorescein diacetate) と PI (Propidium iodide) の二重染色法による細胞活性（生・死）の解析を行った。次に、この方法をハウスダスト抽出液に適用して真菌細胞の活性評価を試みる。

このほか、真菌のリアルタイム粒径分布測定に関する基礎研究として、環境中から分離した真菌 2 属 5 菌株の胞子について、Aerodynamic Particle Sizer（吸引流量 50/min、流速 1.1m/sec）で得た粒径分布と顕微鏡測定による粒径分布の比較検討を行う。

（３）環境大気や室内空気の汚染実態調査及び個人暴露調査

・環境大気調査（静岡県立大学・静岡県環境衛生科学研究所）

環境大気調査は静岡市の中心部をほぼ 1km メッシュに区分けし、各メッシュ毎に 1 地点、合計 31 地点での浮遊粒子の 3 段階分級サンプリングを 2002 年 2 月から 2003 年 1 月にかけて、月 1 回行い、浮遊粒子の粒径分布とその経月変動を調べると共に、それらの試料に含まれる PAH の分析を行った。なお、本調査での分級サンプリングは PCI サンプラーを用い 30/min の流量で 3 段階に分級した試料をテフロン繊維フィルターに捕集した。1 回の捕集時間は 24 時間であった。なお、PAH の分析は ⑤ に記述する方法で行った。

・浮遊粒子及び PAH に関する調査（主担：雨谷、遠藤、小野、協力：房家、大浦）

東京都内・近郊（東京 1 = 保健医療科学院担当、東京 2 = 日本品質保証機構担当）及び静岡市内（静岡県立大学担当）在住の被験者を対象として個人暴露試料及び室内外の浮遊粒子試料を採取した。個人暴露 PM_{2.5} は携帯型個人サンプラー（1.50/min）を、室内外空気 PM は PCI サンプラー（2.50/min）をそれぞれ用いてテフロンバインダーろ紙に 24 時間捕集した。なお、PCI サンプラーでは PM_{2.5} のほか、10 μm 以上、2.5 ~ 10 μm の浮遊粒子も捕集した。

東京 1 では、1 家庭 1 名の被験者を対象とし、2002 年 10 ~ 12 月に 14 名の被験者に対して個人暴露調査を行うと同時に自宅（屋外、寝室、居間、台所など）及び職場の室内外でサンプリングを行った。

東京 2 では、1 家庭 2 名ずつ（原則として夫婦）を対象とし、2002 年 10 ~ 11 月に 21 家庭 42 名の被験者に対して個人暴露調査と同時に自宅（屋外、寝室、居間、台所など）でサンプリングを行った。なお 3 ヶ所ある職場では、サンプリング実施期間を通してそれぞれ 1 回ずつ室内外のサンプリングも行った。

静岡では、1 家庭 1 ~ 2 名を対象とし、2002 年 8 ~ 10 月に 25 家庭 35 名の被験者に対して個人暴露と並行して自宅（屋外、寝室、居間、台所など）及び職場室内でサンプリングを行った。

捕集した試料に含まれる浮遊粒子の量は試料捕集前後のテフロンバインダーろ紙重量の差より求めた。重量測定は、マイクロ天秤を用い、ろ紙の静電気除去につとめると共に、振動など測定誤差要因を出来るだけ排除しながら行った。捕集試料中の PAH の測定は粒径 2.5 μm 以下の粒子、PM_{2.5} に対して行った。この測定はジクロロメタン超音波抽出→前段濃縮・クリーンアップカラム付 HPLC/分光蛍光法により行った。測定対象 PAH は下記 27 物質とした。

Fluoranthene	Pyrene	1-Methylpyrene
Benzo[b]fluorene	Benzo[a]fluorene	Chrysene
Triphenylene	Benz[a]anthracene	<i>p</i> -Terphenyl
Perylene	Benzo[a]pyrene	Benzo[e]pyrene
Benzo[b]fluoranthene	Benzo[j]fluoranthene	Benzo[k]fluoranthene
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	Benzo[ghi]perylene	Benzo[b]chrysene
Picene	Dibenz[a,c]anthracene	Dibenz[a,h]anthracene
Coronene	Dibenzo[a,e]pyrene	

・ガス状有害汚染物質に関する調査（主担：雨谷、小野、遠藤）

本調査ではアルデヒド、ベンゼン及びそのアルキル誘導体、揮発性有機ハロゲン化合物を対象にした。すなわち、に示した浮遊粒子の室内外汚染実態調査時にこれらガス状有害汚染物質を捕集し、分離分析に供した。ここで、アルデヒドは Sep-Pak XPoSure カートリッジ（ウォータース製）を用いるアクティブサンプリング法（0.2□/min、24hr）により捕集し、ジクロロメタンで抽出後、アセトニトリルに溶媒転換して、HPLC/吸光光度法で分離分析した。ベンゼン及びそのアルキル誘導体と有機ハロゲン化合物は活性炭を充填したパッシブサンプラー（パッシブチューブ、柴田科学製）で捕集した。捕集した化合物は蒸留した二硫化炭素で振とう抽出し、ベンゼン及びその誘導体は GC/MS で、有機ハロゲン化合物は GC/ECD で測定した。

このほか、暴露量評価にあたって必要な対象者数やデータ数に関する解析を、疫学研究における暴露評価とリスク評価・管理における暴露評価とに分けて目的別に行った。また、暴露評価に関する最近の国内外の研究動向についても調べた（主担：新田）。

4．平成 14 年度の研究成果

1) PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発ならびにガス状有害成分のパッシブサンプラーによる個人暴露簡易計測法の開発

(1) PM_{2.5} の個人暴露計測法の開発

我々は低騒音のカスケードインパクター（25□/min、以下 CI サンプラーという）とパーソナルカスケードインパクター（3□/min、以下 PCI サンプラーという）をメーカーと協同して開発し、環境大気や室内・室外空気中の浮遊粒子の 3 段階（10 μm 以上、2.5～10 μm、2.5 μm 以下）分級捕集に適用して、浮遊粒子やそれに含まれる PAH 等の粒径分布等を明らかにしてきた。

一方、我々は空気質を異にする室内・室外環境で日常生活を営んでいる。したがって、日常生活に伴う浮遊微粒子や粒子状有害成分への暴露実態をより正確に求めるためには、各人がサンプラーを 1～数日間携帯して浮遊粒子を捕集する必要がある。

このためのサンプラーの性能としては、小型、軽量、低騒音、優れた装着性、操作の簡易性、24 時間又はそれ以上の連続サンプリング、優れた正確性と再現性および経済性が要求される。しかし、これらの諸条件を満たす個人サンプラーは開発されていない。

我々は上記諸条件を満たす個人サンプラーの開発を種々試みた結果、小型、軽量（450g）で、騒音も室内調査に最もよく用いられる Σ300 型より若干高いが、吸着カバーをつければ

使用の可能性が高いと思われるサンプラーの試作に昨年度末、成功した。そこでこのサンプラーを複数台試作し、その性能をチェックし、問題点（特に電池容量）についての一応の解決をみたのち、静岡と東京での調査に供した。その結果、我慢すれば一日中携帯出来るが、吸音カバーは操作性を低下させ、かつ騒音は依然として気になること、吸音カバーよりショックアブソーバーのついたカバンの方が操作性、騒音低下に優れていること、さらには静置操作時は 25 時間以上稼動可能な電池が個人携帯時にはその約半分程度の時間しか作動しないことなどを認めた。

このような結果から、個人サンプラーは基本的に見直す必要があると判断され、サンプラーの騒音周波数特性とそれに及ぼす外的要因（遮音・吸音材やオリフィス等）の影響を詳細に調べた。その結果 本サンプラーはマスフローセンサーを装着しているのでフィルターホルダーに付属させてある流速制御用のオリフィスは不要であり、またサンプラー内のバルブを全開にして使用してもよい。このオリフィス撤去により約 10dB 騒音が低下し、バルブの全開によって 1.5dB 程度騒音が低下することを認めた。 カバンやタッパーなどの遮音・吸音材は 2.5kHz 以上の周波数の音を低減させるので、敏感な可聴周波数領域の騒音低減に役立っている。しかし、500Hz～2.5kHz 領域の音の低減には役立っていないとの知見を得た。そこで、これらの知見をもとに、ポンプ周辺に吸音材を充填する従来の騒音対策のほかに、 軽量金属製のケースを用いる遮音、 排気口そのものをなくして排気音の発生を抑える、 ポンプからの振動音が伝わりにくい構造とする騒音対策をとることとした。

また、サンプラーをポンプ部と電源部に分け、電源部には充実した電子基板・表示部を操填し、流量調整や複数回のサンプリング記録の保持が可能となるようにし、サンプリングの操作性と経済性を向上させることにつとめた。アルカリ乾電池に代えて充電可能な二次電池を使用するようにしたことも経済性の向上に寄与している。遮音に軽金属製のケースを用いたため重量が約 100 g 増大したが、サンプラーを 2 つに分割したので、重量増加による問題はそれ程起こらないのではないと思われる。

表 1 . サンプラーから 50cm 離れた位置の騒音

種類	流量 ($\square$ /分)	ストローク (mm)	騒音 (dB)
新個人サンプラー	1.5	1.2	35.18
新個人サンプラー	1.5	0.9	25.70
新個人サンプラー	2.5	0.9	31.29
$\Sigma 3$ サンプラー	1.5	1.2	48.72
$\Sigma 3$ サンプラー + カバン	1.5	1.2	43.49
$\Sigma 3$ サンプラー + タッパー	1.5	1.2	37.82
$\Sigma 30$ サンプラー	0.5	-	43.57
$\Sigma 300$ サンプラー	1.5	-	41.72
$\Sigma 300$ サンプラー	2.5	-	53.78
$\Sigma 500$ サンプラー	2.5	-	47.21

暗騒音：18.39dB

このようにして試作した新しい個人サンプラーの騒音を測定し、昨年度試作して本年度調査に用いた個人サンプラー（Σ3 サンプラー）、市販のガス状物質捕集用サンプラー（Σ30 サンプラー）および室内汚染の調査等によく用いられている Σ300 サンプラーと Σ500 サンプラーの騒音と比較した。その結果を表1に示す。新しく試作した個人サンプラーはサンプラーから50cmの地点で25.7～35.2dBと他のサンプラーより著しく低い値を示すことが判る。本測定時の暗騒音は18.4dBであったから、サンプラーそのものからの騒音は7.3～16.8dBにすぎない。また、この新個人サンプラーの騒音は最もきびしい騒音基準、すなわち、AA地域（療養施設が集中して設置される地域などくに静穏を要する地域）の夜間に対する基準（35dB以下）にほぼ近いが、これをクリアしている。したがって、個人暴露調査でよく問題になる就寝中のサンプリングについても、新サンプラーをタッパー等の遮音箱に入れてさらに低騒音化することによりクリア出来ると考えられる。今後、本サンプラーを複数試作し、実地試験により、その有効性、実用性を確認したいと考えている。

（2）アルデヒドの個人暴露計測性の開発

気道刺激性の強いアルデヒドへの個人暴露計測としてはパッシブサンプラーによる捕集とそれにつづく分離分析が望ましい。しかしながら、現在パッシブサンプラーで確実に測定出来るアルデヒドはホルムアルデヒドのみで、一部の試料からアセトアルデヒドが測定できる現状にある。これは、アクティブサンプラーを用いる計測法では7種類は測定しうることと大きく異なる。そこで、本研究ではパッシブサンプラーで捕集した試料をより高感度かつ簡便に分離分析する方法を種々検討した。

その結果、パッシブサンプラーを24時間、室内に静置し、これに捕集されたアルデヒド類をジクロロメタンで抽出し、30 μlのDMSOを添加したのち窒素吹きかけによりジクロロメタンを揮散させ、アセトニトリル200 μlを加えて溶解し、さらに水170 μlを加えたものを試料液とする。これを200 μl HPLCに注入し、アセトニトリル-水（1:1v/v）で5分間流したのち、次の30分間、1%/minでアセトニトリル濃度を上昇させると、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、（プロピルアルデヒド+アクロレイン）、イソブチルアルデヒド、パレルアルデヒド、ヘキサナールなどを分離分析しうることを認めた。また、本法とアクティブサンプラーによる分離分析法とを併用した結果、両者の捕集量間の相関は極めて良好であった。今後、分析カラムや移動相組成についてさらなる検討を加え、パッシブサンプラーでもさらに多種のアルデヒドの計測が可能となるようにしたいと考えている。なお、本法で用いたカラムはWakosil-DNPH（4.6×250mm）で、カラム温度は40℃、移動相の流速は1.0ml/min、検出器はUV検出器（360nm）であった。

2）空気などに含まれるアレルゲンのサンプリング・高感度計測法の開発とその信頼性の検討

（1）医療用粘着テープ（テガダーム）を用いるダニ、ネコアレルゲン汚染実態計測法の開発と信頼性の検討

安枝班員は創傷の被覆に用いる医療用粘着テープ（商品名：テガダーム）が寝具の表面や皮膚に付着したアレルゲンの採取に有効であり、これと先に開発した蛍光ELISA法とを併用すれば極めて容易に寝室や体表のアレルゲンによる汚染実態を把握しうることを示した。そこで、本法の実用性、有効性を検証するために、テガダームを用いたアレルゲン調査を静岡と東京（2研究機関）で行った。すなわち、テガダームを安枝班員から送付してもらい、8～12月に行ったPM_{2.5}やガス状有害物質についての調査時に、アレルゲンの調査も行った。なお、寝具等サンプリング位置などサンプリング計画の概要を松下が示し、各班員が捕集したサンプルには番号のみをつけて、どの様な捕集試料かアレルゲン計測者には判らないよう

にし、すべての測定終了後、サンプリング試料と番号の関係を知らせて解析を行った。試料の数は、空気浮遊粒子試料 162、テガダーム試料 763、合計 925 試料であった。現在、測定結果の解析中であるが、現在までに得られた結果の概要は次の通りである。

・テガダームは 6cm × 7cm の矩形粘着テープである。試料採取時にテープを台紙からはがして寝具等の捕集対象物に押しつけ、直ちに剥がしたのち、再びテープを台紙の元の位置につけてから清浄な袋又は箱に収納し、調査終了後、安枝班員のところに郵送してアレルギーの測定を行った。このような手軽なサンプリングでダニアレルゲン (Der 1) などを十分測定出来ることを認めた。

・ネコアレルゲン (Fel d 1) は通常の家では検出されなかったが、ネコを飼育している家庭では全家庭とも、寝具および空気中から比較的高濃度に検出された。

・トラベルブランクは静岡試料では検出下限以下のものが多数をしめ、一部検出されたブランクの値も試料の値に較べて著しく低かった。東京試料のトラベルブランクでは 55 試料中 18 試料が検出下限以下で 27 試料から Der 1 が検出された。しかし、その値はかなり低く寝具等の値の 1/10 ~ 1/100 である場合が多かった。これらの事実は本法のブランクは低く、実用上問題はないことを示唆している。

・起床直後の頬 (鼻に近い両側) と内腕両側部 (肘の裏側) に附着したダニアレルゲンは、頬部の方が高い場合が多かった。

・頬および内腕に附着しているアレルギーの量は就寝直前より起床直後の方が高い場合が多く、逆に枕に附着するアレルギー量は就寝直前の方が高い場合が多かった。

・寝具に附着するアレルギーの量は場所によって変動する可能性がある。そこで、掛け布団の表側と裏側、および敷き布団の表側それぞれについて、図 1 に示す 5 ヶ所でサンプリングし、ダニアレルゲン量の変動を調べた。この調査は約 10 家庭について行ったが、同じ布団でもサンプリング位置により数倍から数十倍も異なる場合があることを認めた。

そこで、各寝具について得られた 5 つの値の平均値を真値と仮定し、どのようなサンプリングをすれば真値に近い値が得られるかを検討した。検討結果の一部を表 2 に示す。

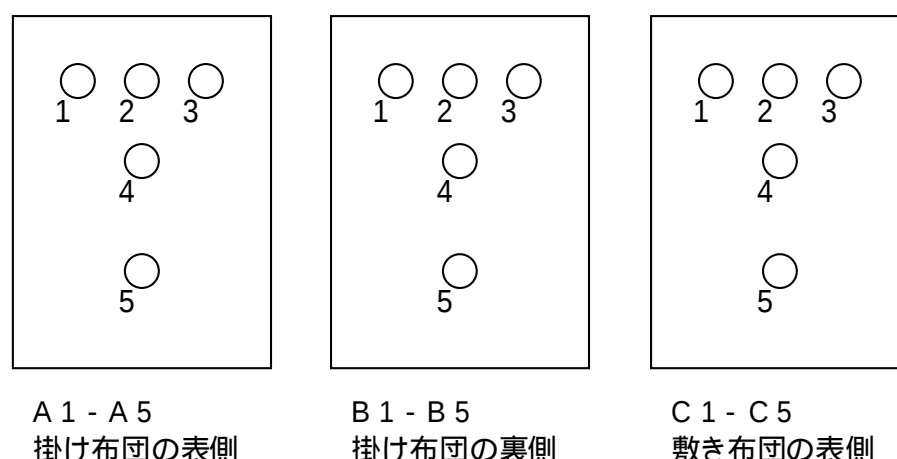


図 1 テガダームによる寝具表面のアレルゲンの採取位置

この表から布団の表面のアレルゲンを一つの場所からサンプリングする場合は図 1 の “ 2 ” の位置がよいが、標準偏差が大きい難点があること、2 つの地点からサンプリングするとす

れば、“1 と 3”の位置が“2 と 4”の位置がアレルギーの測定値も真の値に近く、標準偏差も比較的小さいので、2 つの地点でサンプリングし、これらを合わせたものを一つの試料とし、アレルギーの測定を行えばよいのではないかと思われた。この事をより明らかにするにはさらに多くの家庭でいろいろな季節に測定することが望ましいと考える。

・寝室の浮遊粒子に含まれるアレルギーを PCI サンプラーを用いて 3 段の粒径に捕集し、各粒径に含まれるアレルギー (Der 1、Fel d 1) の全体に対する割合を調べた結果、図 2 に示すごとく Der 1、Fel d 1 とともに $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上 $>2.5\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ $>2.5\text{ }\mu\text{m}$ 以下の順にアレルギーは多く含まれ、ダニアレルギーとネコアレルギーの分布に相異を認めなかった。また、図 3 に示すごとく、Der 1 を高濃度群 (n=8) と低濃度群 (n=18) に分けてそれらの粒径分布を調べたが、両群間に相異を認めなかった。これらの結果からダニとネコのアレルギーは肺深部に侵入・沈着しやすい PM_{2.5} 中にも浮遊アレルギーの 10 数%が含まれていることが判った。

・寝室内の浮遊粒子に含まれるアレルギー量と各種寝具に附着したアレルギー量との間の相関を調べた。その結果を表 3 に示す。気中アレルギー量は、掛け布団の表と裏および敷き布団の表から得た試料のアレルギー量と危険率 0.01 以下で有意の相関を示し、頬、枕又は内腕部に附着したアレルギー量とは危険率 0.05 以下又は 0.001 以下で有意の相関を示すことが判かる。また、掛け布団の表と裏、敷き布団の表、枕、頬、内腕部の各アレルギー量の相互間には凡て危険率 0.001 以下で有意の相関がみられた。これらの諸調査事実、テガダームサンプリング法は現場調査に適しており、アレルギー汚染実態の解明に役立つツールであることを強く示唆している。

表 2 寝具中のダニアレルギーのサンプリング方法の検討

ダニアレルギー (Der 1)		
サンプリング位置	各布団の全測定平均値に対する 各測定値の割合の平均値 (%)	標準偏差
敷き布団 (表) 2	100%	67%
敷き布団 (表) 1 + 3	83%	34%
敷き布団 (表) 2 + 4	105%	44%
敷き布団 (表) 2 + 5	111%	31%
掛け布団 (表) 2	100%	82%
掛け布団 (表) 1 + 3	97%	44%
掛け布団 (表) 2 + 4	101%	44%
掛け布団 (表) 2 + 5	101%	62%
掛け布団 (裏) 2	85%	44%
掛け布団 (裏) 1 + 3	97%	38%
掛け布団 (裏) 2 + 4	95%	40%
掛け布団 (裏) 2 + 5	101%	28%

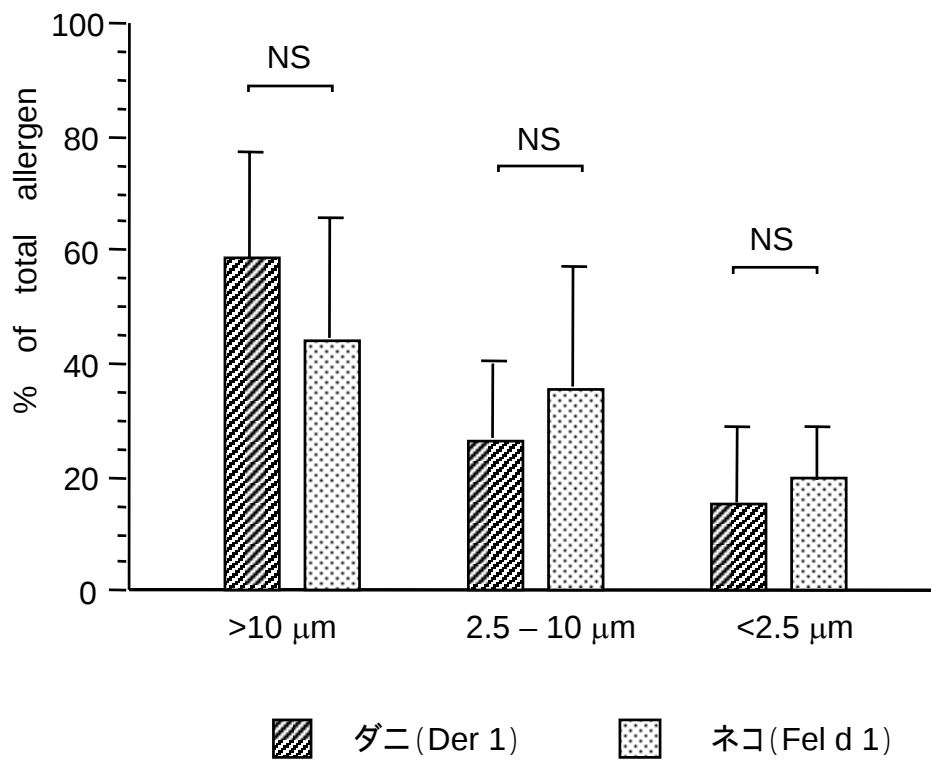


図2 寝室空気中のダニとネコアレルゲン粒子の粒径分布の比較
対象は Der 1 が $10\text{pg}/\text{m}^3$ 以上の 26 家庭、Fel d 1 が $100\text{pg}/\text{m}^3$ 以上の 4 家庭

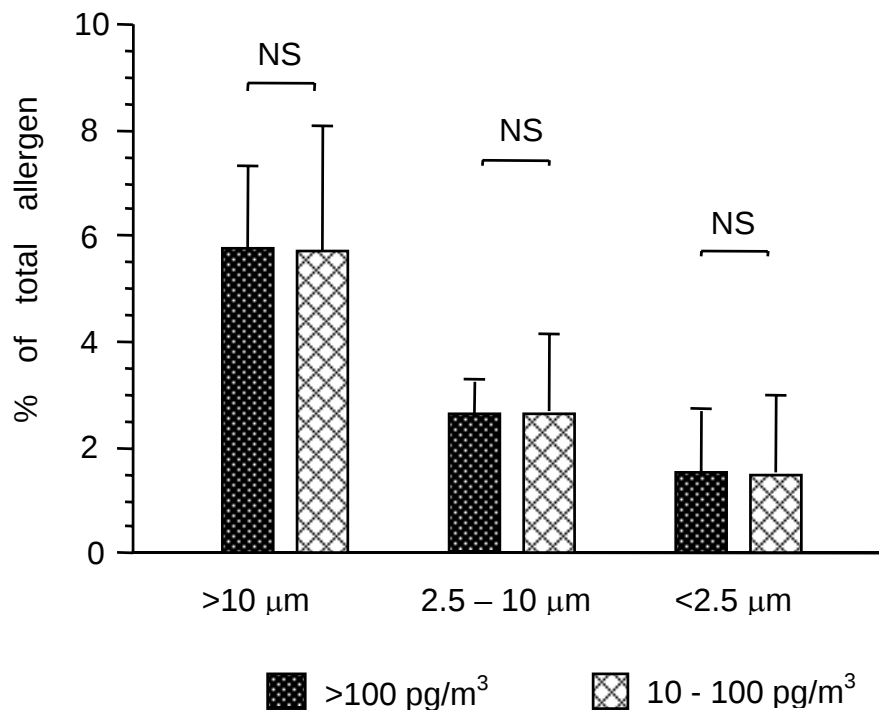


図3 寝室空気中に浮遊する Der 1 濃度が高濃度の群($n=8$)と低濃度の群($n=18$)の粒径分布の比較

表 3 寝室中の浮遊ダニアレルゲン濃度、寝具や体表面に附着したダニアレルゲン量及びこれらの間の相関係数

		空気中	掛け布団 表	掛け布団 裏	敷き布団 表	枕	頬	腕
	平均 (対数値)	1.4159	1.4927	1.3427	1.7130	1.3547	1.1652	0.5021
	標準偏差	0.6970	0.9408	0.9801	0.9359	0.8237	0.7868	0.6986
	幾何平均値	26.05	31.10	22.01	51.65	22.63	14.63	4.00
空気中	相関係数 r	-	0.4665	0.4279	0.4943	0.5257	0.3759	0.5339
	危険率		P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.001	P<0.05	P<0.001
掛け布団 表	相関係数 r		-	0.8384	0.7411	0.7116	0.7063	0.6716
	危険率			P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
掛け布団 裏	相関係数 r			-	0.7385	0.6995	0.7030	0.7148
	危険率				P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
敷き布団 表	相関係数 r				-	0.8221	0.6686	0.6321
	危険率					P<0.001	P<0.001	P<0.001
枕	相関係数 r					-	0.6656	0.6068
	危険率						P<0.001	P<0.001
頬	相関係数 r						-	0.6865
	危険率							P<0.001
腕								-

アレルゲン量の単位：pg/m³（空気中）、ng/m²（寝具及び皮膚）

（２）室内外の空気中の真菌細胞外多糖体(EPS)濃度の経月変動

2.5□/min で室内空気を 24 時間吸引してその中に含まれる真菌の EPS を“研究方法”の項で記した方法で抽出し、蛍光 ELISA で測定した結果、アスペルギルスとアルテルナリアについては夏に高く冬に低い季節変動が認められた。これはアルテルナリアで顕著であった。しかし、ペニシリウムとクラドスポリウムでは、その多くは検出下限以下であった。一方 25□/min で 12 時間室外空気中の真菌を 2002 年 5 月から 2003 年 2 月までサンプリングして EPS 濃度を測定し、この値から孢子数に換算したところ、図 4 の結果が得られた。

これらの調査の結果、室内真菌の EPS を測定するためには 20□/min 程度のサンプラーで半日又はそれ以上、真菌をサンプリングする必要がある。EPS 濃度としてはアルテルナリアが一番高く、ついでクラドスポリウム、ペニシリウム、アスペルギルスの順であった。しかし孢子数に換算するとアルテルナリアが一番少なく、他の 3 属の真菌孢子数はほぼ横並びであること、夏期におけるこれら 3 属の室外空気中孢子数は、数 100～数 1000 個/m³の範囲にあることを認めた。

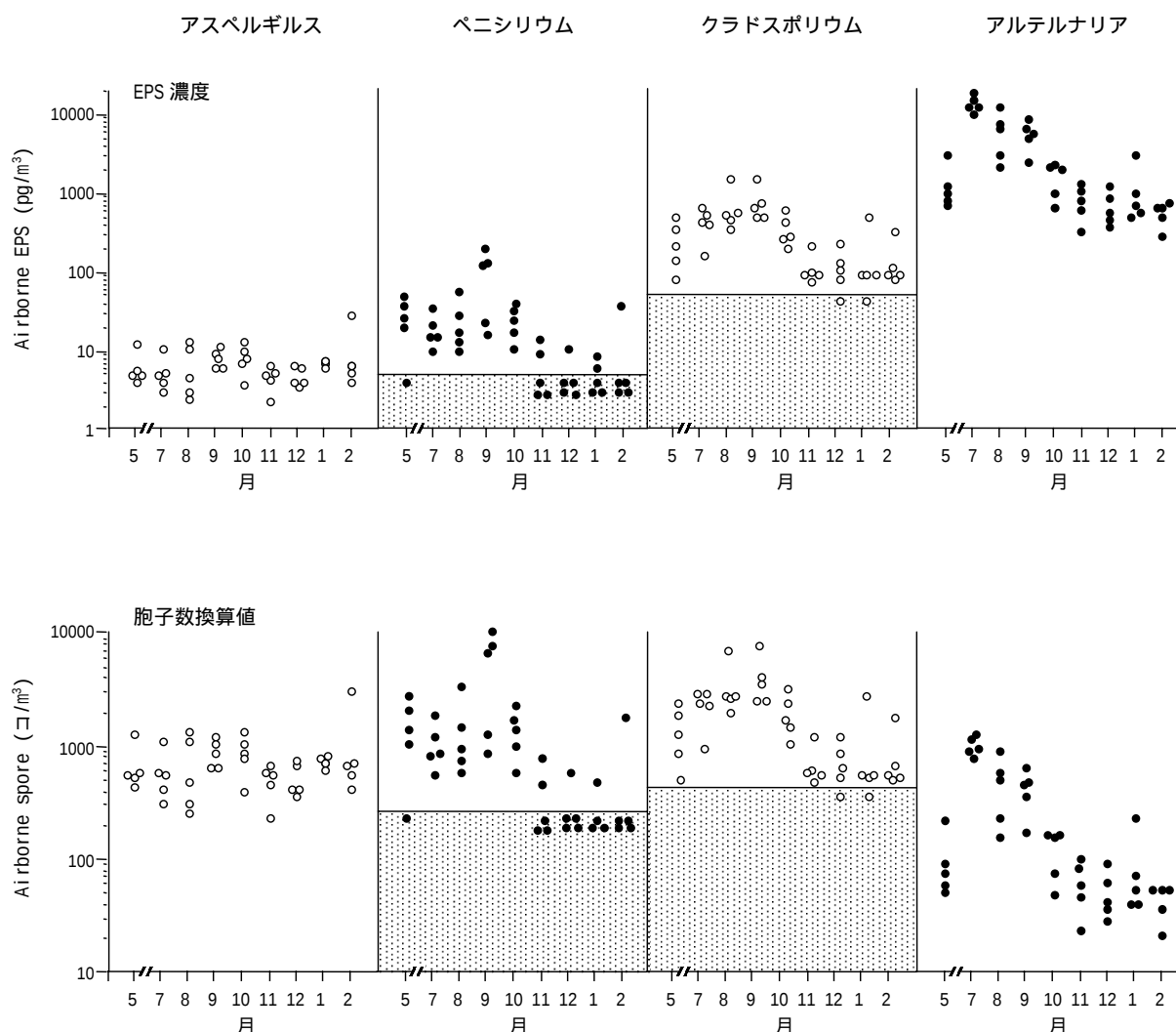


図4 2002年5月から2003年2月までの室外空气中真菌EPSの月別推移
 25 $\square$ /minの流量で12時間サンプリングをした(捕集空気量は18 m^3)。
 上段はEPS濃度の実測値、下段は孢子 10^6 個あたりのEPS量から計算した
 孢子数換算値。網掛けの部分は検出下限値以下の試料。

(3) 真菌、DNAのreal time PCRによる定量的検出法の試み

広範囲の病原性真菌を検出するために開発された、18S ribosomal DNA中の470bpを増幅する系(Einsel et al, 1997)について検討した。通常のPCRで増幅した*Aspergillus fumigatus*由来の470bpの増幅産物をスタンダードにした場合は 10^0 コピーから 10^8 コピーの範囲で良好な標準曲線が描けた。しかし、菌体、あるいは孢子から抽出したDNAをそのまま用いて増幅させた場合には、融解曲線分析、あるいは生成物のアガロース電気泳動において、目的物以外にさまざまな副生成物が検出され、コピー数の測定は不可能であった。

(4) 生活環境中の真菌細胞の活性評価手法の開発等

蛍光色素FDA(Fluorescein diacetate)とPI(Propidium iodide)を用いた二重染色法による真菌細胞の活性解析を試みた。まず、ハウスダストより分離された真菌41菌種をHyeongらの方法により調べた結果、ほとんどの菌種において生細胞ではFDAのみが良好に反応し、個々の細胞が緑色に強く発光することを認めた。また、加熱処理をした死細胞では細

胞の一部および全体に PI による赤色の発光を認めた。生細胞と死細胞を等量混合した細胞液では、緑色に発光する生細胞と赤色に発光する死細胞が数量的に等分布することを観察した。また、多細胞性孢子では FDI、PI の双方に発色する細胞も存在した。

次にこの二重染色法をハウスダスト中の真菌の活性判定に用いた結果、ハウスダスト中に存在する夾雑物からの非特異的な発光もみられたが、真菌細胞の二種の蛍光色素による明瞭な発光を認めた。これらの結果から、真菌の生き・死には二重染色法で判別出来ることが判った。

一方 *Aspergillus niger* 2 株、*Penicillium* sp. 3 株をポテトデキストロース寒天斜面培地で 25℃、7～10 時間培養後、胞子を 0.05% Tween80 液で回収・乾燥させた。この胞子を TSI 社の Model 3310 Aerodynamic Particle Sizer で測定した結果と光学顕微鏡で測定した結果を比較したところ、両測定値は比較的類似していた。この事実は本装置を用いれば真菌細胞の大きさとその分布を測定しうる可能性を秘めているということが出来る。

3) 環境大気や室内空気の汚染実態調査及び個人暴露調査

(1) 静岡市における環境大気調査

静岡市中心部をほぼ 1km メッシュに区切り、各メッシュ毎に 1 地点、合計 31 地点での浮遊粒子汚染実態調査を毎月 1 回、1 ヶ年間わたって行った。本調査では PCI サンプラーを用いて浮遊粒子を 10 μm 以上、2.5～10 μm および 2.5 μm 以下 (PM_{2.5}) に分けて捕集した。

表 4 は 2002 年 2 月から 2003 年 1 月にかけて毎月各地点で測定された濃度の幾何平均を示したものである。ここで幾何平均を用いたのは、環境大気中の汚染物質の濃度は一般に対数正規分布に従うことに基づいている。表 4 には PM_{2.5}、PM₁₀ 及び TSP の各月の平均濃度を示してあるが、この表から PM_{2.5} 月平均濃度の年間変動は約 2 倍程度にとどまり、PM_{2.5} の年間平均は 31.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であることが判る。

同様に、PM₁₀ の平均濃度は 28.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ から 73.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の変動を、TSP は 41.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ から 93.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の変動を与えた。年間幾何平均濃度は PM₁₀ で 49.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、TSP で 64.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。PM_{2.5} の TSP に対する割合 (PM_{2.5}/TSP) の変動は 40～56%、年平均 49.6% であり、PM_{2.5} の PM₁₀ に対する割合 (PM_{2.5}/PM₁₀) は月により 57～71% の変動を示し、その年平均は 64.3% であった。これらの結果から静岡市の PM_{2.5} や PM₁₀ による汚染は地域および季節を通じてそれほど大きく変動しないことがうかがえ、また PM_{2.5} の PM₁₀ や TSP に対する割合は本研究班で行った他の地域での結果などとほぼ一致することを認めた。

静岡市の環境大気調査で捕集した浮遊粒子中の多環芳香族炭化水素 (PAH) の分析を前段濃縮/HPLC/分光蛍光法で測定し、21 種の PAH を同定、定量した。図 5 はその結果の 1 例として 2002 年 11 月採取試料中の PAH の粒径分布を示したものである。表 4 において、PM_{2.5} の全浮遊粒子中の割合は約 50% であった。これに対して縮合 5 環系以上の PAH の 90% 以上は PM_{2.5} に含まれていることが判る。この事は PM_{2.5} に含まれる PAH 濃度はこれ以外の粗大粒子中の含量よりかなり高いことを示している。PM_{2.5} は肺深部への侵入・沈着率が粗大粒子より大きい。しかも測定した PAH 中にはベンゾ(a)ピレン (BaP) をはじめとして 10 種の発癌性物質、4 種の発癌促進物質が含まれていることにも留意すべきかと思う。

表4 静岡市の一般環境大気中の浮遊粒子の粒径別濃度平均

(2002年2月～2003年1月)

年 月	試料数	幾何平均 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)			PM _{2.5} /TSP	PM _{2.5} /PM ₁₀
		PM _{2.5}	PM ₁₀	TSP		
2002年2月	25	38.9	57.6	75.8	52%	67%
3月	25	40.5	61.0	74.0	56%	67%
4月	31	38.1	73.8	93.5	41%	52%
5月	29	30.1	42.8	55.1	55%	71%
6月	27	27.9	48.8	70.4	40%	57%
7月	29	34.6	54.0	72.2	49%	65%
8月	28	36.7	57.9	72.3	51%	64%
9月	30	36.2	52.9	69.2	53%	69%
10月	28	25.8	38.7	49.6	52%	67%
11月	31	18.7	28.7	41.0	47%	66%
12月	29	20.7	35.8	45.7	47%	60%
2003年1月	31	26.6	40.1	51.2	52%	67%
年間平均		31.2	49.3	64.2	49.6%	64.3%

(2) 室内外汚染と個人暴露に関する調査研究

静岡(25家庭35名:2002年8～10月)、東京1(14家庭14名:2002年10～12月)および東京2(21家庭42名:2002年10～12月)で行われた室内外空気汚染と個人暴露に関する調査は、お互いに調査方法を統一して行った。サンプリングに用いる器具も同種のものを用い、調査項目は浮遊粒子に関しては、個人暴露濃度(PM_{2.5}のみ)と室内外の浮遊粒子濃度(10 μm 以上、2.5～10 μm 、2.5 μm に3分画)を測定すると同時に、これら捕集試料中のPAHの分離分析を行った。ここで、捕集した粒子量の測定は、静岡試料は静岡県立大学で、東京1及び2試料は日本品質保証機構で行った。

また、本調査ではガス状有害成分の調査も行った。すなわち、アルデヒド類はアクティブサンプラーによる捕集→溶媒抽出→溶媒転換→HPLC(UV検出器)で分析し、ベンゼンとその誘導体及び揮発性有機ハロゲン化合物の分析はパッシブサンプラー(捕集剤:活性炭)→溶媒抽出→GC/ECD(有機ハロゲン化合物)又はGC/MS(ベンゼンとその誘導体)で行った。現在、これらのデータを総合解析中であるが、現在までに得られた主な知見は次の通りである。なお、本調査ではサンプリング期間における被検者の生活行動記録もアンケート形式で調べた。

・室内外の浮遊粒子の粒径分布

静岡市での室内外のPM_{2.5}は生活空間によりあまり変わらないことを認めた。例えばPM_{2.5}の各家庭に対する値の幾何平均は台所 17.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、居間 17.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、寝室 18.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、職場 16.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、屋外大気 17.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。これに対して個人暴露濃度は喫煙者が7名含まれることもあって 26.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高かった。

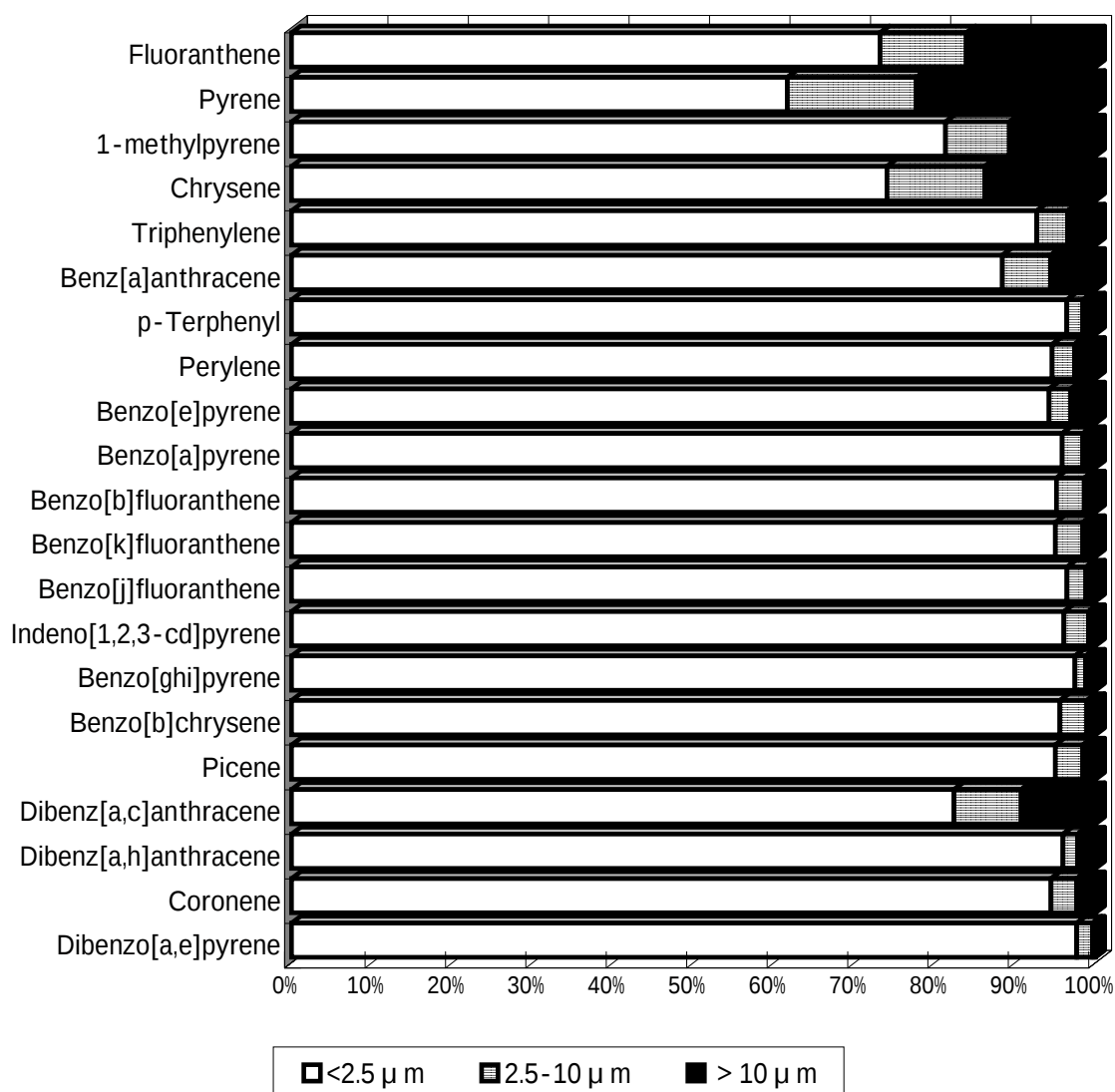


図5 静岡市環境大気中のPAHの粒径分布（静岡、2002年11月）

図6は東京1の調査で得られた結果の一部である。ここでは喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者別に、各個々人の個人暴露実測濃度、室内外の各空間の浮遊粒子濃度と各空間への滞在時間から算出した暴露推定濃度、および外気濃度が比較出来るようになっている。

この図から15本以上の喫煙では個人暴露濃度は明らかに暴露推定濃度より高いが、喫煙本数が少ない場合や受動喫煙、さらには非喫煙者の場合は外気濃度の方が一般に僅かながら高く、個人暴露濃度と推定濃度が比較的類似した値を示すことが判る。これと類似の結果が静岡でも得られている。なお、個人暴露濃度は喫煙本数が多ければ必ず高いという結果は得られていない。このことは、喫煙環境が個人暴露に影響を及ぼすことを示唆している。

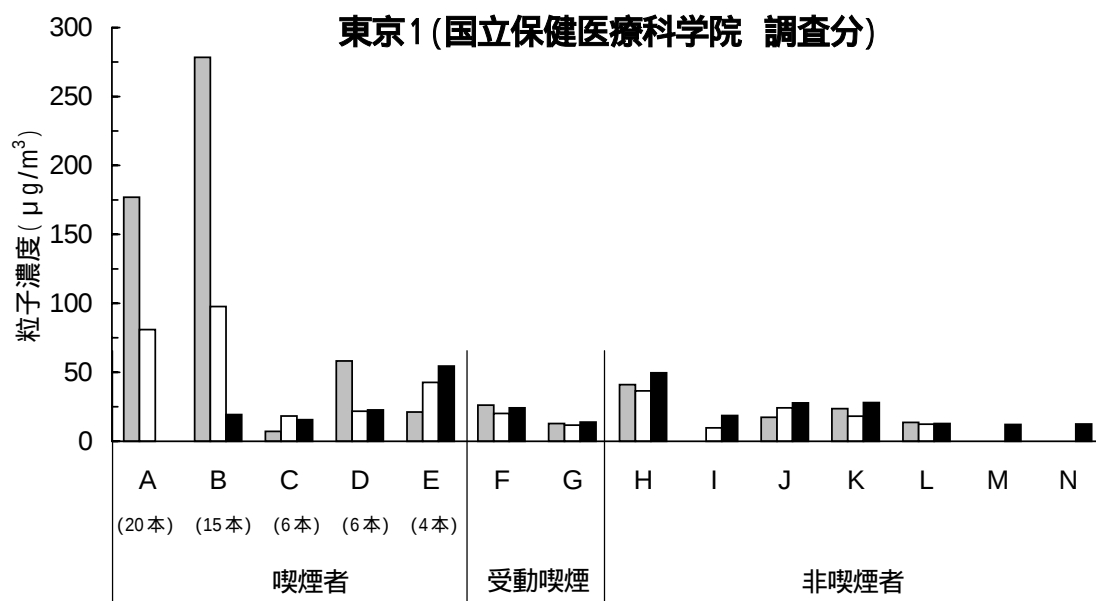


図6 浮遊粒子 (PM_{2.5}) の個人暴露実測濃度、推測濃度及び外気濃度

個人暴露実測濃度 推測濃度 (個人宅) 外気濃度
 ■ 個人暴露実測値 □ 推測値 ■ (個人宅) 外気濃度

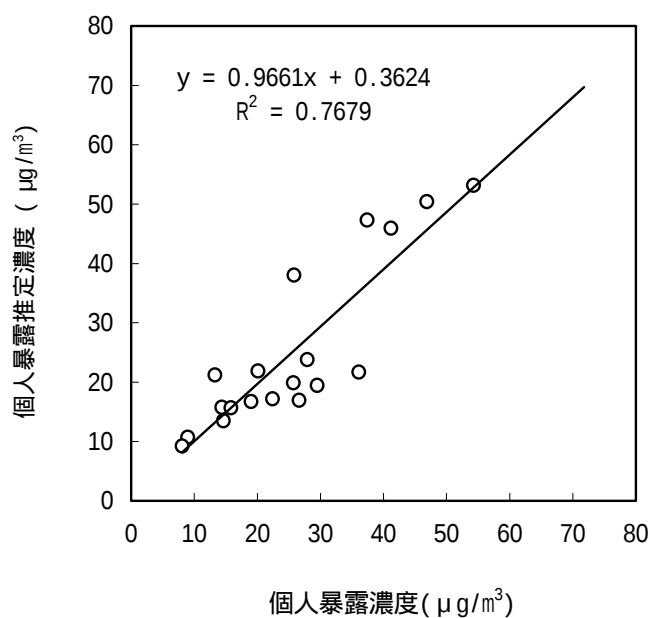


図7 受動喫煙者の PM_{2.5} 個人暴露濃度実測値と PM_{2.5} 個人暴露推定濃度との関係

図7は東京2調査で得られたデータのうち、受動喫煙者のPM_{2.5}個人暴露濃度とPM_{2.5}暴露推定濃度との関係を示したものである。かなり良好な関係が認められていることや、東京1や静岡との結果を合わせて考えると個人暴露濃度の推定は、少なくとも受動喫煙者と非喫煙者については、室内外の生活空間の粒子濃度と各室内での滞在期間とから比較的高い精度で行うことが出来るように思われる。

・浮遊粒子、特にPM_{2.5}中のPAH

浮遊粒子中のPAHはPM_{2.5}にその大部分が含まれていることを確認した。図8は浮遊粒子(PM_{2.5})に含まれているベンゾ(a)ピレン(BaP)の個人暴露実測濃度と、各種生活空間での濃度と滞在時間とから求めた暴露推定濃度及び外気の濃度を喫煙行動を考慮に入れて図示したものである。この図から図6の場合と同様、ある程度量以上の喫煙は個人暴露に大きな影響を及ぼすが、それ以外では個人暴露濃度は推定濃度や外気濃度に近いことが判かる。このことは個人暴露に対して外気PAHは大きな影響を与えることを強く示唆している。

・ガス状有害大気汚染物質

図9は個人暴露濃度の平均値と居間、寝室、台所、屋外及び職場における平均値とを、アルデヒド7種、それぞれについて図示したものである。これらの図から、7種のアルデヒドとも屋外の濃度に較べて、室内濃度及び個人暴露濃度がかなり高いことが判る。このことは、アルデヒドの主要発生源は室内にあることを示している。

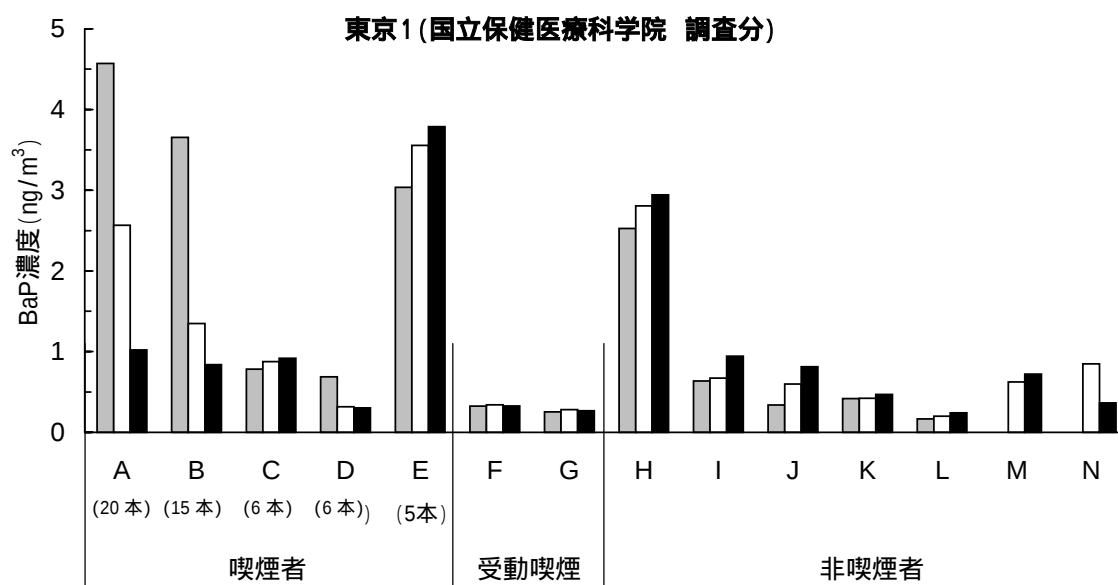


図8 粒子中BaPの個人暴露実測値、推測値及び外気濃度

■個人暴露実測濃度 □推測濃度 ■(個人宅)外気濃度

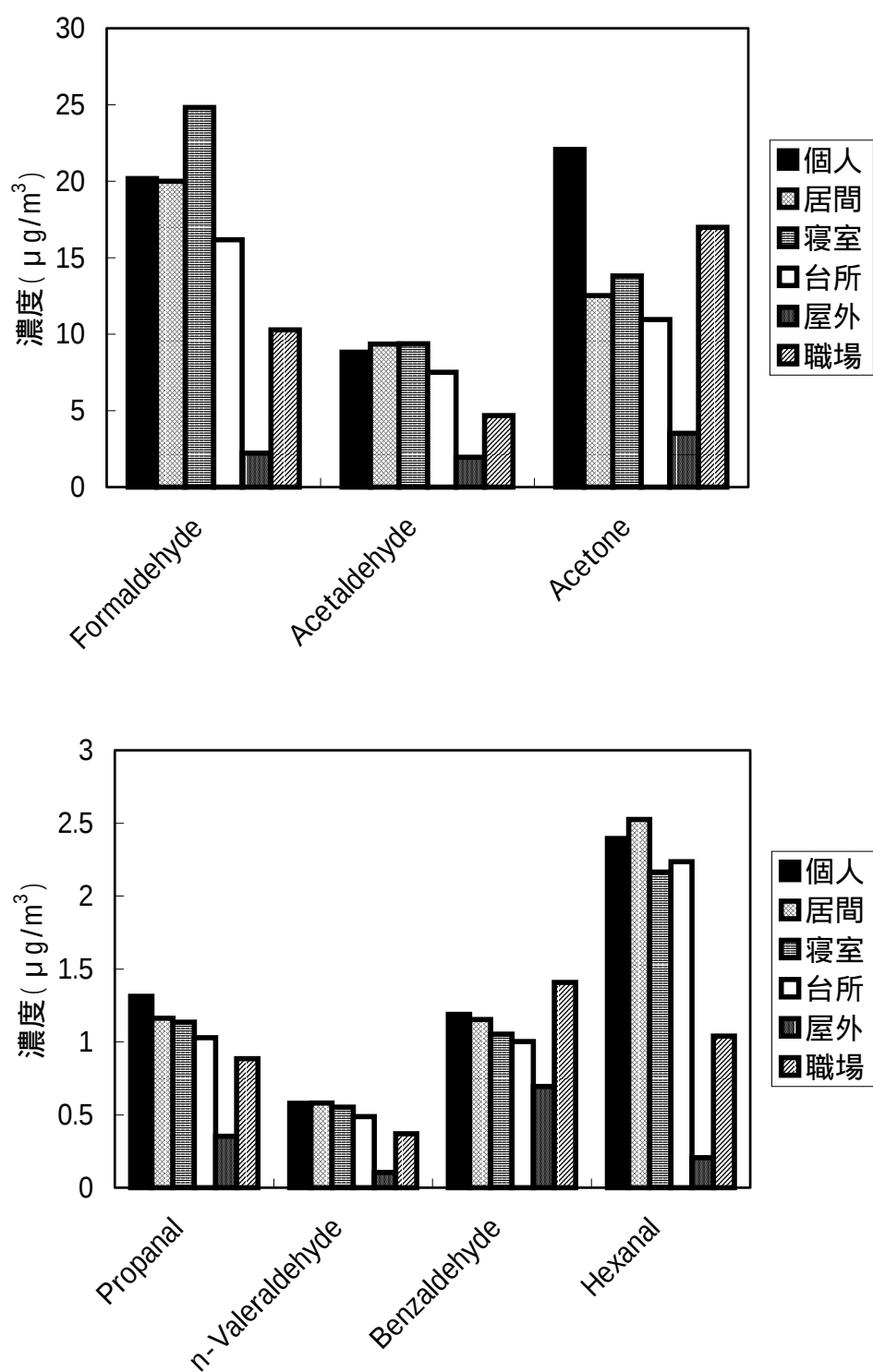


図9 アルデヒド7種に対する個人暴露濃度と居間、寝室、台所、屋外、職場の濃度
(静岡 2002 年 8 ~ 10 月)

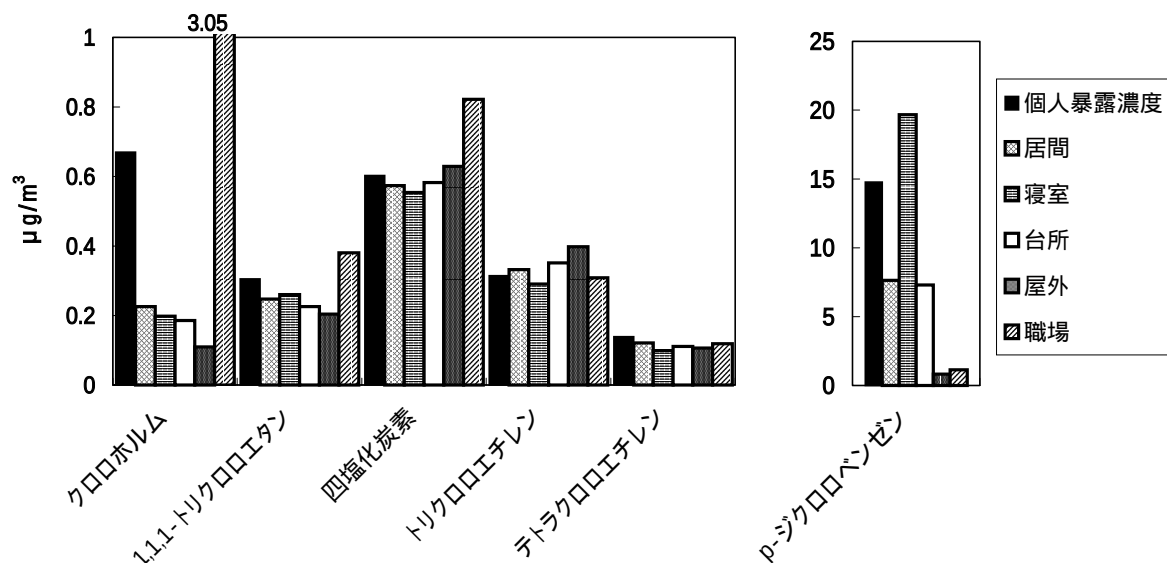


図 10 有機ハロゲン化合物の個人暴露濃度、室内外濃度の幾何平均値（静岡、2002 年 8～10 月）

図 10 は有機ハロゲン化合物 6 種について個人暴露濃度、室内（居間、寝室、台所、職場）濃度及び各家庭の屋外濃度を示したものである。クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン及び四塩化炭素では職場（化学実験室含む）の影響が大きく出ているが、トリクロロエチレンとテトラクロロエチレンでは室内と室外の濃度が相互に類似していること、p - ジクロロベンゼンに対する個人暴露には寝室の影響が大きいことなどが判る。この原因としては寝室には衣装タンスが置かれる場合が多く、その中に防虫剤として p - ジクロロベンゼンが用いられていることなどが考えられる。

このほか、暴露量評価に必要な対象者数、データ数についても理論的検討が加えられた。すなわち、疫学研究の場合、例えば大気汚染の高暴露地域のぜん息有症率が 10%、低暴露地域でのそれが 5%と想定される場合、有意水準 5%、検出力 90%でその差を統計的に検出できる標本数は約 600 と計算された。標本数の決定にはどの程度の影響の差を、どの位の確率で見出そうとするのか事前に決める必要がある。

一方、リスク評価・管理における暴露評価の場合、評価目的によって対象者やデータ数が異なり、統計学的な根拠のみに基づいて決めることは困難であるが、対象者数の目安としては最低で各群 20～30 人、制御できない変動要因（人の生活行動など）があり得ることを考慮に入れ、かつ相対誤差を 10%程度にするとすれば 100 人程度が目標となることなどを明らかにした。

5 . 考察

大気浮遊粒子の健康に及ぼす影響については古くから強い関心が持たれ、我が国では 1973 年 5 月、粒径 10 µm 以下の浮遊粒子状物質（SPM）に対して環境基準の設定がなされてから今日まで、多数の大気監視局で SPM が測定され続けている。また、固定、移動両発生源に対して種々の SPM 低減対策がとられつつあるものの、依然として大都市圏を中心に環境基準の達成率は低い現状にある。さらに、近年、米国を中心とする種々の疫学調査は、粒径 2.5 µm 以下の微小粒子、すなわち PM_{2.5} が健

康に大きな影響を与えることを示しており、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、微小浮遊粒子に対する知見は、SPM 又は PM₁₀ と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、微小浮遊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する手法を種々開発、検討し、これらを環境調査に適用して、日常生活を通じての暴露実態を定量的に把握する必要があるとされてきた。また、近年その重要度がますます増大しつつあるアレルギー対策の基礎として、空气中アレルギーの存在実態の定量は極めて重要であるが、感度や簡易さに欠けるうらみがあり、計測法の改良が強く望まれていた。

本研究班は上記の要望に応えるべく、PM_{2.5} 個人暴露サンプラーの開発、医療用粘着テープを用いるアレルギー汚染実態の簡易検索法の検討・評価のほか、開発した各種サンプラーや計測手法を駆使した環境汚染実態調査、個人暴露調査および個人暴露推定手法等についての研究を行った。以下、特に浮遊微粒子やアレルギーの汚染実態調査に関して本研究で得られた特筆すべき知見についてのべる。

その第 1 は極低騒音型で、その取り扱いも簡便で、しかも従来の調査よりも手間がかからない PM_{2.5} 個人サンプラーの開発である。試作したサンプラーの騒音はサンプラーから 50cm の位置で 25.7～35.2dB と従来低騒音サンプラーといわれ、評判のよかったサンプラーに対する値（41.7dB）より著しく低く、AA 地域（療養施設が集中して設置される地域など特に静穏を要する地域）の夜間の環境基準（35dB 以下）をほぼクリアしている。このようなサンプラーは世界中にない。今後、試作をかさね、より優れたサンプラーとし、個人暴露実態把握に貢献することが強く望まれる。

第 2 は医療用粘着テープ（テガダーム）を利用すれば、極めて容易に寝具および体の表面に附着したダニ・ネコアレルギーを定量的に捕集し、しかも汚染実態を単位面積当りのアレルギー量として示すことが出来ることがある。本法の精度管理の一環として行ったトラベルブランクは検出下限以下又はかなり低値であり採取試料のアレルギー測定に影響を及ぼすことはないことが判った。また、本法による寝具や体表のダニアレルギー附着量と室内空気中のダニアレルギー濃度との間には高い有意の相関が認められた。気中ネコ、ダニアレルギーには肺の深部にまで到達可能な 2.5 μm 以下の粒子にも含まれていることも明らかとなった。これらの諸知見は今後のアレルギーへの暴露調査や暴露評価に役立つものと考えられる。

第 3 の特筆すべき知見は東京 2 機関、静岡 1 機関で、従来、我が国でなされてきた室内外調査や個人暴露調査より大きな規模の調査がなされ、浮遊粒子の粒径分布、PM_{2.5} 個人暴露濃度、当該濃度の推定方法、さらには PAH の個人暴露濃度とそれに及ぼす環境因子、個人暴露濃度の推定に関して種々の知見が得られたこと、ガス状有害汚染物質（アルデヒド、ベンゼンとその誘導体、有機ハロゲン化合物）の室内外汚染実態や個人暴露濃度についても興味ある知見が得られたことは今後のリスク評価やリスク低減の基礎資料として有用と考えられる。

6．今後の課題

個人サンプラーに関しては、現在、試作品が出来、その騒音周波数特性を測定したところであるが、今後、本サンプラーの有効性をチェックするために 10 台程度を試作し、その有効性や実用性の確認を行う必要がある。

テガダームを用いるアレルギー計測法に関しては、さらに環境調査に適用して、その実用性、信頼性の確立や、寝具など大型の対象物からダニアレルギー等を正確にサンプリングするときのサンプリング法の確立、体のどの部位のサンプリングがアレルギー発症と相関が高いかなど、今後に残された課題は多い。

PM_{2.5}、PAH 等の個人暴露実態に関してはデータがかなり不足しているから、さらなる調査が強く望まれる。

7．社会的貢献

粒子状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急速に高まりつつある。特に、我が国では尼崎大気汚染公害訴訟第 1 審判決（平成 12 年 1 月 31 日）をはじめ、いくつかの裁判で SPM 汚染の健康被害への関与が指摘されており、また、ディーゼル排出粒子に対する自治体独自の規制策も東京都などで検討されたりしている。

このような事態を背景に環境省は同省内に設置された「ディーゼル排気微粒子リスク評価検討会」の平成 13 年度報告（平成 14 年 3 月 5 日）を受け、リスク評価の不確実性を踏まえつつも、予防原則の観点から、環境大気中のディーゼル排気粒子汚染の低減を図るべく、自動車単体規制の一層の強化および自動車 NO_x・PM 法の着実な施行を行うとともに、引き続き健康リスク評価のための調査研究を進めることとしている。

健康リスクの評価には暴露評価、すなわち問題とする物質（群）への暴露実態を正確、かつ、長期的に亘って計測し続け、それらの結果を総合的に解析する作業が不可欠である。

本研究は生活環境空気中の粒子状物質、特に健康影響と関係が深いとされる微小粒子（PM_{2.5}）のサンプリング、計測手法の開発や、それに含まれる各種有害成分の高感度分離分析法の開発、さらにはアレルゲンの高感度計測法や揮発性有害成分の捕集・計測法の開発に関して、数々の成果をおさめている。これらは今後、種々の生活環境の汚染実態の把握や暴露評価に役立つものと考えられる。

【3年間のまとめ】

本研究の目的は、近年急速に大きな関心が寄せられつつある生活環境空気中の浮遊微小粒子、特にPM_{2.5}とそれらに含まれる各種有害成分、ならびに室内環境を中心とするアレルゲンに対して、信頼性の高い個人暴露推定評価手法を確立することを最終目的とし、各種計測法の開発やその信頼性の検討、さらには各種生活環境空気中の浮遊粒子やそれに含まれる各種有害成分、アレルゲン等を調査し、これら有害成分の暴露評価や環境汚染対策の基礎資料とすることにある。以下平成12～14年度の3年間に得られた主な成果を述べることにする。

1) PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発ならびに粒子状・ガス状有害汚染物質の高感度簡易計測法に関する研究

(1) PM_{2.5} 個人暴露計測手法の開発

初年度は小型軽量で個人携帯に適したサンプラーをメーカーと協力して設計、試作した。小型ではあるものの騒音が大きかった。また、最初は2.5ℓ/minの流量で浮遊粒子を3段階(>10 μm、2.5～10 μm、2.5 μm<)に分級捕集する方式の検討を行ったが、24時間サンプリングでは、PM_{2.5}以外の試料について正確な濃度を求める事は困難であり、サンプリングヘッドもやや大きく、被験者の積極的協力は得にくいため、PM_{2.5}のみのサンプラー開発が現実的であると判断された。このほか、捕集した微量の浮遊粒子を精度よく定量するための簡便な静電気除去法を見出した。

第2年度は前年度の成果の上に、より低騒音型のPM_{2.5}用小型サンプラーを試作した(吸引流量1.5ℓ/min)。しかし、低騒音化対策の一環としてダイアフラムポンプのストローク数を長くしたために、アルカリ乾電池使用による連続稼働時間が10数時間と大幅に低下した。この対策として外部二次電池システムを導入することにした。

第3年度は前年度に試作したサンプラーを用いた環境調査を行い、サンプラーの問題点を洗い出し、サンプラーの構造の検討や騒音周波数特性等の測定結果をもとに、新しい発想にもとづくサンプラーの試作を行った結果、小型で極めて低騒音かつ長時間稼働にたえうる新しいサンプラーの試作に成功した。本サンプラーの有効性、実用性の検証は今後の大きな課題である。

(2) 室内空気中フタル酸エステル類の捕集・高感度分析法の開発

粒子状とガス蒸気状の両状態で存在するフタル酸エステル類をガラス繊維フィルターとカーボンディスクフィルターに分別捕集し、超音波抽出後、GC/MSで分離分析する方法を開発した。本法を室内外の汚染実態の調査に適用した結果、新築の室内に比較的高濃度に存在することなどを認めた。フタル酸エステルの中には内分泌かく乱作用の疑われている物質も含まれている。

(3) アルデヒドの簡易捕集、分離分析法の検討

気道粘膜刺激性の強いアルデヒドの捕集分離分析法として我々は先にアクティブサンプラー→HPLC・吸光光度法を開発した。今回はより簡便なサンプリング法としてパッシブサンプリング法を取り上げ、この方法で捕集した試料中のアルデヒド類を10種類程度、同時分析しうる方法の検討を行った。その結果、HPLCへの試料液大量導入システムを見出しつつあり、近い将来、アクティブサンプリングによる計測に準ずる高感度簡易計測法が出来上がるものと思われる。

2) 生活環境空気等に含まれるアレルゲンの高感度簡易計測法の開発

(1) 真菌 EPS の高感度測定法の開発とその応用

ダニやネコアレルゲンの高感度簡易計測法の開発に関しては第4期研究で行ったので第5期研究においては研究の焦点を真菌に絞った。すなわち、真菌のうち代表的な5属(アスペルギルス、ペニシリウム、アルテルナリア、クラドスポリウム及びカンジダ)を研究対象とし、これらが発生、放出する細胞外多糖体(EPS)に対するELISA測定システムの検討を行い、高感度計測法として蛍光ELISAを開発した。また、EPS、ELISAの属内、属間における交差反応性を精力的に調べた結果、アスペルギルスとペニシリウムのEPS・ELISAは互いに交差反応を示すことを認めた。しかし、残りのクラドスポリウム、アルテルナリア及びカンジダの3属は属間における交差反応性を示さず、属レベルの特異性が保たれていることから、環境中の上記3属の真菌の汚染レベルの評価にELISA法は有効と考えられた。本蛍光ELISA法は、高感度で検出下限がアスペルギルス3pg/□、アルテルナリア100pg/□、クラドスポリウム300pg/□、ペニシリウム30pg/□、カンジダ100pg/□と低い。しかし、PCIサンプラーで捕集した空気試料から真菌を検出するにはさらなる高感度化が必要であった。そこで、空気試料をガラスビーズ衝突法で処理して真菌胞子を破碎させてから抽出するとEPS量が大幅に増加することを認めた。この方法と蛍光ELISAとを組み合わせれば、空気中の4属の真菌(体内常在菌であるカンジダを除く)EPSをほぼ通年的に検出しうることを確認すると共に各EPS濃度の季節推移や室内と室外の濃度などに関して興味あるいくつかのデータを得た。

(2) 気中真菌のサンプリング方法、粒径分布測定および真菌の細胞活性評価法の検討

真菌アレルゲンの個人暴露測定手法を確立するための基礎資料を得るために、小型軽量のPCIサンプラー(3□/min)による7日間連続真菌サンプリング法の検討を行った。その結果、真菌数は10μm以上、2.5~10μm及び2.5μm以下の3分級フィルターに捕集され、特に10μm以上と2.5~10μmの両画分に多く存在した。また、真菌の種類とそれらが捕集される分級フィルターとの関係などから、PCIサンプリングにより真菌は適正に捕集しうると判断された。また、空気中から検出されている真菌アレルゲン捕集の一環としての細胞蛋白を解析した。真菌細胞の細胞壁及び全細胞に含まれる蛋白は菌種により大きく異なり、胞子と菌糸体でも大きな差を認めた。真菌の細胞活性を2重蛍光染色法により解析した結果、生細胞はFDAのみに良好に反応し、個々の生細胞は緑色に強く発光した。一方、死細胞では細胞の一部及び全体にPIによる赤色の発光のみを認めた。また、多細胞胞子ではFDA、PIの双方に発色する細胞も存在することを認めた。

(3) 医療用粘着テープを用いるダニ・ネコアレルゲン調査方法とその信頼性、実用性の検討

寝具や頬や内腕などに附着したダニアレルゲン(Der 1)やネコアレルゲン(Fe1 d 1)を簡便に採取する方法として、新たに医療用粘着テープ(テガダーム:6cm×7cm)を用いる方法を見出した。この方法の有効性を確かめるために、静岡と東京での環境調査に用い、採取試料の内容を伏せてアレルゲンを測定してもらった後、データを整理、解析する方式を採用した。種々検討の結果、本法によるトラベルブランクの値も低く、試料のアレルゲン測定値はそのまま使用して良いことが判った。本調査では様々な知見が得られたが、特筆すべきことは寝室の室内浮遊アレルゲンは主に10μm以上と2.5~10μmの粒子として存在するが、肺深部への侵入・沈着率の高い2.5μm以下のアレルゲン粒子も無視できない程度(全体の10数%)含まれていることが明らかになったことと、気中アレルゲン量と寝具や頬、腕に附着しているアレルゲン量とは有意の相関を示したということである。本粘着テープ法はサンプリングが極めて容易であるばかりでなく、アレルゲン汚染の程度を単位面積当たりのアレル

ゲン量として表示できる利点を有している。

3) 生活環境空気中の浮遊微小粒子ならびに粒子状・ガス状有害成分の実態調査

(1) 浮遊粒子の粒径分布調査

平成 12 年度は PCI サンプラーを含む種々のサンプラーを用いて、札幌、室蘭市、東京都及び清水市で調査を行い、平成 13 年度は PCI サンプラーを用いた調査を静岡市で行い、平成 14 年度は PCI サンプラー及び個人サンプラーを用いて静岡市と東京都で調査を行った。これらの調査結果はかなりよく一致しており、例えば PM_{2.5} / PM₁₀ の値は、暖房期における札幌・室蘭市の環境大気測定値を除くと、いずれの地域も室内、室外とも 65%前後と一致した値を示すことを認めた。この結果は PM₁₀ の値から PM_{2.5} を推定しうることを強く示唆している。

(2) 空気中の粒子状有害成分の実態調査

平成 12 年度から 14 年度までの間、PCI サンプラーなどで捕集された浮遊粒子中の PAH を測定した結果、5 環系以上の PAH の 90%以上は PM_{2.5} に含まれていることが判った。ロープレッシャー・アンダーセンサンプラーを用いて東京大気浮遊粒子を 0.06 μm 以下から 12.1 μm 以上に 13 段階に分級採取した試料中の PAH や変異原性の単位重量当たりの値は 0.06 ~ 0.13 μm 画分が最も高いことを認めた。

このほか、札幌市で 1974 年 12 月から今日まで大気浮遊粉じんを捕集し続け、冷凍保存された試料の一部を用いて、26 ヶ年に亘る 1-ニトロピレン (1-NP) と 3 種のジニトロピレン (1,3-, 1,6-, 1,5-DNP) 及びベンゾ(a)ピレン (BaP) を測定し、それらの結果を総合解析した。その結果、BaP 濃度は一般に冬期に高いが、1975 年から 90 年までの間、低減し続け、90 年以降は各季節とも 2ng/m³ 以下となっていること、これに対して、1-NP と DNP_s の大気濃度は一般に冬期に高く、気中濃度の年平均は 1975 年から 90 年代初めにかけてゆるやかな増大傾向を示したこと、さらには 1990 年代中頃から 2000 年にかけてニトロアレーン濃度は明らかな減少傾向を示すことなど、燃料転換やディーゼル車の増加、さらには軽油対策を含む各種ディーゼル対策等の推移と併せて考えると極めて興味深い結果が得られた。本調査は国際的にも貴重なものであり、今後、疫学における暴露評価などにも利用されるものと思われる。

(3) 個人暴露調査

本研究で試作した個人サンプラーを用いて東京、静岡で PM_{2.5} や PAH への暴露実態を明らかにすると共に、個人暴露量推定法の検討を行った。その結果、室内、室外及び職場の PM_{2.5} や PAH の汚染レベルとそれぞれの生活空間への滞在時間とを用いて個人暴露量を推定した値は個人暴露量実測値と近く、かつ有意の相関を示すことが、受動喫煙者と非喫煙者について明らかとなった。なお、喫煙者の個人暴露量は喫煙本数だけでなく、喫煙環境の影響を受けるので推定精度が低下するが、ヘビースモーカーの PM_{2.5} や BaP 暴露濃度は推定濃度よりかなり高くなることを認めた。

このほか、アルデヒド、ベンゼン及びそのアルキル誘導体、有機ハロゲン化合物への汚染実態等についても平成 14 年度に静岡、東京で調査し、暴露評価に資するデータを得た。

以上述べた如く、第 5 期本研究において、生活環境空気中の浮遊微粒子、特に PM_{2.5} の個人暴露サンプリング法や、粒子状とガス状のフタル酸エステルに対する分別捕集・高感度計測法、さらには各種アレルゲン (ダニ、ネコ、各種真菌アレルゲン) の簡易捕集・高感度計測法等について注目

すべき新しい方法の開発に成功した。また、これらの方法を含む種々の方法を駆使して、浮遊粒子やアレルギー等による環境汚染の実態や個人暴露に関する調査を行い、種々有益な知見を得た。これらの諸知見が環境汚染の評価や個人暴露評価に広く利用されることを心から切望する。