

研究室紹介シリーズ

工学院大学 柳研究室

柳 宇

工学院大学 建築学部 建築学科

1. はじめに

このたび、「臨床環境医学」誌に本研究室紹介の機会を頂いた。筆者は光学顕微鏡を用いて落下塵の計数と粒径測定は最初の研究活動であった。近年、専ら諸環境中の微生物挙動の解明とその対策に関する研究を実施している。ここでは、この数年間で実施している代表的な研究内容を紹介する。

2. 外科手術時の室内浮遊粒子と細菌叢¹⁾

病院の手術室には、高度な清浄度が要求されるBRC (Biological clean room、バイオロジカルクリーンルーム) 手術室、それに次いで高度な清浄度が要求される一般手術室に大別される。表1にISOの空気清浄度クラス分けを示す。

在来の米国連邦規格 (Fed. Std.209E) のクラス100、1000、10000はISOのクラス5、6、7

表1 清浄度クラス分け ISO 14644-1 (2015)

ISOクラス (N)	粒径別上限濃度 (p/m ³) ^a					
	0.1 μm	0.2 μm	0.3 μm	0.5 μm	1 μm	5 μm
1	10 ^b	d	d	d	d	e
2	100	24 ^b	10 ^b	d	d	e
3	1 000	237	102	35 ^b	d	e
4	10 000	2 370	1 020	352	83 ^b	e
5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	d,e,f
6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
7	c	c	c	352 000	83 200	2930
8	c	c	c	3 520 000	832 000	29300
9g	c	c	c	35 200 000	8 320 000	293000

a 例えば、ISOクラス5の場合、0.3μmで示された10 200個の粒子は、このサイズと同じかそれ以上のすべての粒子を含んでいる。
 b これらの濃度は、分類のための大量の空気サンプルにつながる。連続したサンプリング手順が適用される場合がある。Annex Dを参照。
 c 表中のこの領域では、粒子濃度が非常に高いため、濃度規制は適用されない。
 d 低濃度の粒子に対するサンプリングと統計の限界により、分類は不適切である。
 e 低濃度の粒子と1 μm以上の粒子の両方に対するサンプル収集の制限により、サンプリングシステムでの潜在的な粒子の損失のために、この粒子径での分類は不適切である。
 f この粒子径をISOクラス5と関連付けて指定するために、マクロパーティクル記述子M1は、少なくとも1つの他の粒子径と適応して使用されるかもしれません (C.7参照)。
 g 本クラスは、作業中状態の場合のみ適用される。

に相当する。手術室におけるこれらの清浄度クラスは、非手術時 (静的な状態) であり、実際の手術時 (動的な状態) では、室内の浮遊粒子濃度が大きく超えることがある。

筆者らが同日に同じ手術室 (ISO クラス 6) で行われた内視鏡手術と開胸手術時の室内浮遊粒子と細菌叢の測定を行った。図1-2に内視鏡手術時と開胸手術時の手術室内の浮遊粒子濃度を示す。手術時に粒径別浮遊粒子濃度はISOクラス6を大きく超えていた。また、手術の種類によって浮遊粒子濃度が異なり、医療従事者における開胸手術中の浮遊粒子への曝露レベルは内視鏡手術中の4~27倍であった。設計段階で空清浄度が所定のクラスを満足したとしても、実際運用時は室内浮遊粒子濃度が遥かにそれを超えることが明らかになった。

細菌について、16S rRNAの解析結果では各空気サンプル上位4属が *Streptococcus*、*Acineto-*

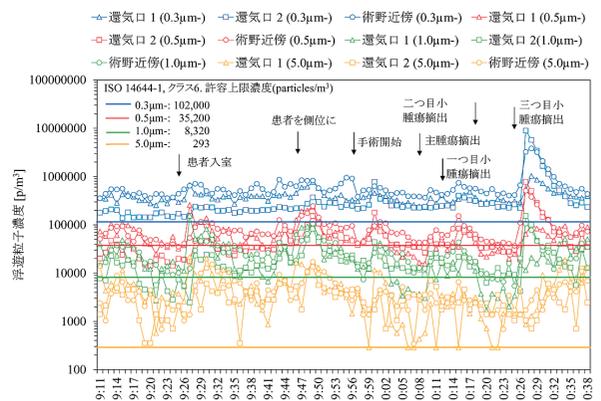


図1 内視鏡手術時の粒径別浮遊粒子濃度

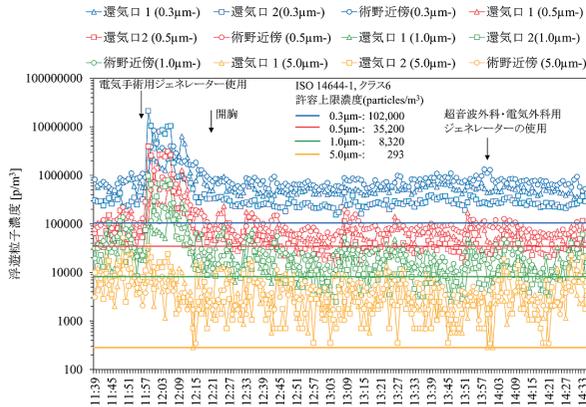


図2 開胸手術時の粒径別浮遊粒子濃度

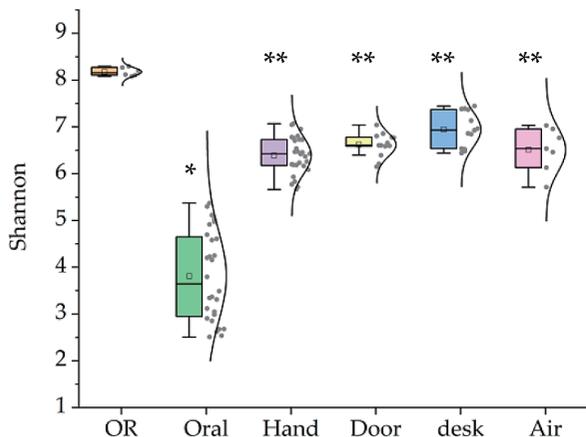


図3 Shannon 指数 (* $p=0.001$ 、** $p<0.001$)

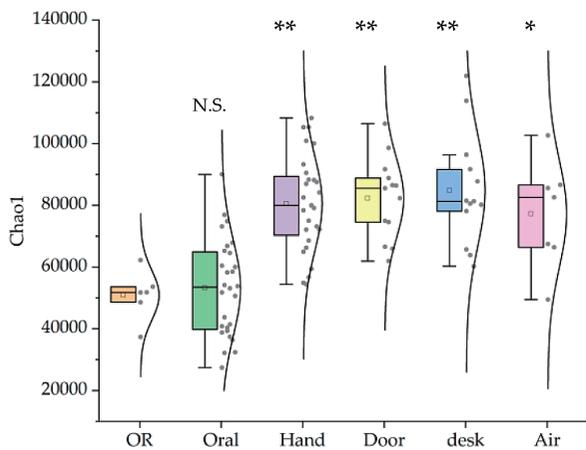


図4 Chao1 指数 (* $p<0.05$ 、** $p<0.001$)

bacter, *Neisseria*, *Staphylococcus* であり、何れもヒト由来の細菌であった。図3-4に上記手術時の手術室 (OR) 内細菌の α 多様性指標とはかの環境 (7大学の研究室)²⁾との比較を示す³⁾。

α 多様性を表す Shannon 指数と Chao1 指数においては、一般の人の手の表面などの細菌より、手術時に発生する細菌は豊かでその均等度も高く、希少な菌種が少なかった。

3. 真菌関連アレルギー性気道疾患患者宅エアコン内の細菌叢⁴⁾

筆者らは「真菌関連アレルギー性気道疾患における真菌生態・宿主応答機序の解明と発症・増悪・重症化予防法の開発」の研究を実施している。この研究は、アレルギー学研究者、真菌学研究者、細胞生物学研究者、建築・環境学研究者、臨床チーム、解析チームのコラボで実施している。

真菌関連アレルギー性気道疾患においては、環境要因も重要なファクターである。特に、エアコン内の微生物汚染が室内環境に大きな影響を及ぼす。真菌については、Shiraishi ら⁵⁾の論文を参照されたい。ここでは、細菌叢の解析結果について述べる。図5にルームエアコンの構成を示す。表2にエアコンのフィルタ表面付着細菌相対構成比上位10位のその下流側各パーツでの付着細菌ランク変化を示す。エアフィルタ表面の付着菌は、室内環境中の浮遊細菌の履歴を表す。フィルタ表面で検出された細菌の上位10属のうち、6属がグラム陰性 (*Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Acinetobacter*, *Methylobacterium*, *Enhydrobacter*, *Sphingomonas*)、4属がグラム陽性

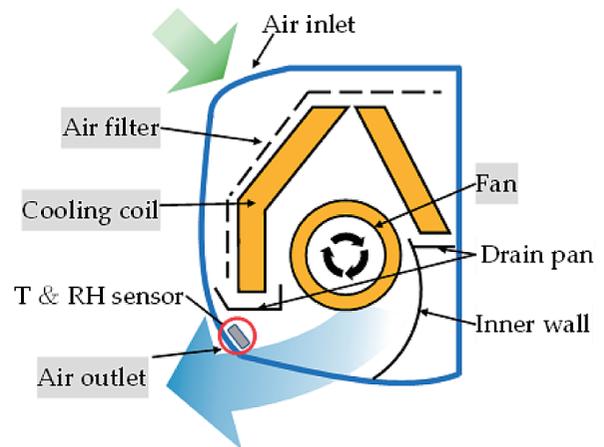


図5 ルームエアコンの構成

**表2 エアフィルタ付着菌上位10種の相対構成比
順位の変化**

	Air filter	Cooling coil	Fan	Air outlet
<i>Pseudomonas</i>	1 →	1 →	1 →	1
<i>Staphylococcus</i>	2 ↘	4 ↗	3 ↘	2
<i>Paracoccus</i>	3 ↘	8 ↗	7 ↘	3
<i>Corynebacterium</i>	4 ↘	6 →	6 ↘	5
<i>Acinetobacter</i>	5 →	5 →	5 ↘	4
<i>Streptococcus</i>	6 ↘	7 ↗	4 ↘	7
<i>Methylobacterium</i>	7 ↗	2 →	2 ↘	9
<i>Enhydrobacter</i>	8 ↘	9 ↘	16 ↘	12
<i>Sphingomonas</i>	9 ↗	3 ↘	17 ↘	11
<i>Actinotignum</i>	10 ↘	29 ↗	25 ↘	24

(*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Actinotignum*) であった。居住者の健康の観点からも、冷房シーズン前および冷房シーズン中のエアフィルタクリーニングは重要である。また、エアコン内部の定期的な洗浄も重要である。エアコンの洗浄によって、真菌の DNA 量が顕著に減少し⁵⁾、細菌の α 多様性も著しく減少した⁶⁾。

4. 4D 映画館上映中の室内浮遊粒子と細菌叢⁷⁾

2009年、韓国 CJ グループの CJ 4Dplex が韓国の劇場に 4DX を導入した。2019年9月現在、CJ 4Dplex は80以上の劇場との提携により、65カ国で678の 4DX 劇場を運営している。4D 映画に様々な効果を用いることで、観客は「見る」から「体験する」ことができる。李ら⁸⁾の各種エフェクトの頻度に関する調査結果によると、頻度の高いエフェクトの順番は、モーション (58.4%)、バイブレーション (21.6%)、風 (6.5%)、エアショット (フロント) (5.0%)、エアショット (サイド) (3.0%)、バックスイーパー (2.8%)、ウォーターショット (1.3%)、ストロボライト (0.7%)、香り、霧、レッグスイーパー (0.7%) となっている。

エフェクトによるダイナミックな演出ができる 4D 映画は、これまでの 2D 映画にない臨場感を得られるが、ミストなどの衛生管理が前提となっている。しかし、現状ではその実態が把握されていない。筆者らは 4D 映画館と 2D 映画館映画上

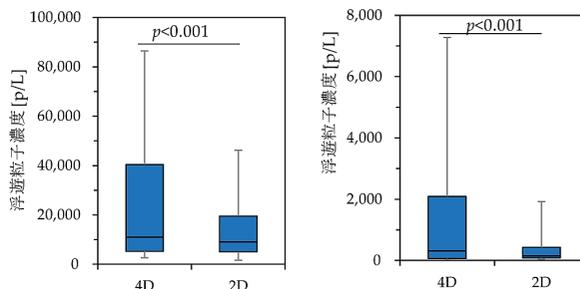


図6 4D (15スクリーン) と2D (9スクリーン) の映画上映中の浮遊粒子濃度の比較

(左: $< 1 \mu\text{m}$; 右: $> 1 \mu\text{m}$)

映中の浮遊粒子濃度の測定のほか、床面付着細菌、4D 映画館ミスト吹出口表面の付着細菌を採取し、その菌叢解析を行った。

図6に4Dと2D映画上映中の浮遊粒子濃度を示す。粒径を問わず、4D映画館上映中の浮遊粒子濃度は2Dより有意に高かった。 $< 1 \mu\text{m}$ の浮遊粒子濃度は、 $> 1 \mu\text{m}$ の浮遊粒子の濃度よりも1桁高かった。エフェクトによって発生した浮遊粒子のほとんどはサブミクロン粒子であった。

付着細菌叢については、 α 多様性分析の結果から、ミスト噴出口表面の付着細菌は豊富で、いくつかの希少種を含んでいた。4D映画館のミスト吹出口表面で発見された優占細菌属のほとんどは水環境に適した細菌であった (*Candidatus Prochlorlamydia*, *Neochlamydia*, *Serratia*, *Salmonella*, *Novosphingobium*, *Bradyrhizobium*, *Methylobacterium*)。さらに、主座標分析の結果では、水道水中のバクテリアは室内環境に影響を及ぼす可能性を示している。給水システムの衛生管理が重要である。

5. おわりに

ここまで、本研究室近年の研究内容を紹介した。筆者が近年諸環境中のマイクロバイームに関する研究に取り組んでいる。

1953年に Watson と Crick が遺伝情報 (genetic information) の本体である DNA (Deoxyribose Nucleic Acids, デオキシリボ核酸) の二重らせん構造の解明、1977年にイギリス人 Sanger が DNA 塩基配列決定するためのサンガー法の開発、

1985年にアメリカ人 Mullis が PCR (polymerase chain reaction、ポリメラーゼ連鎖反応) 法の考案は現在この分野の研究に大きく貢献している。次世代のシーケンサー (NGS) の実用化によって、現在何でもシーケンシングできる時代になった。

建築環境では、2010年初頭から NGS による菌叢解析の結果が報告されている。今後、建築分野における菌叢実態の解明とその緩和策がますます重要となる。本報で紹介した本研究室の研究内容はその一助となれば幸いである。

謝辞

以上の研究は下記に示す科学研究費の助成によるものである。ここに記して謝意を表す。

1) 文部科学省

- ① 研究費助成事業基盤研究 (A) : 環境マイクロバイオームの動態計測に基づく集団感染機構の解明と制御 (課題番号 : 15H02277、研究代表者 : 加藤信介)
- ② 研究費助成事業挑戦的研究 (開拓) : 建築環境マイクロバイオームの実態把握による集団感染機構のモニタリング (課題番号 : 17H06216、研究代表者 : 加藤信介)
- ③ 研究費助成事業基盤研究 (A) : 空調システム中菌叢解析とそれに基づく室内環境改善策の提案 (課題番号 : 18H03808、研究代表者 : 柳 宇)
- ④ 研究費助成事業挑戦的研究 (萌芽) : 手術時におけるマイクロバイオームの実態把握による病原菌拡散機構の解明 (課題番号 : 20K21036、研究代表者 : 柳 宇)

2) 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

- ⑤ 日本医療研究開発機構研究費 : 真菌関連アレルギー性気道疾患の発症・増悪予防を目指した体内・体外環境の評価と制御 (課題 ID : 19090054、研究代表者 : 浅野浩一郎)
- ⑥ 日本医療研究開発機構研究費 : 真菌関連アレ

ルギー性気道疾患における真菌生態・宿主応答機序の解明と発症・増悪・重症化予防法の開発 (課題 ID : 22678260、研究代表者 : 浅野浩一郎)

3) 厚生労働省

- ⑦ 厚生労働科学研究費補助金 : 興行場における衛生的な環境確保のための研究 (課題番号 : 21LA1005、研究代表者 : 開原典子)

引用文献

- 1) Odagiri A., Yanagi U, Kato S. Comparison of Generation of Particles and Bacteria in Endoscopic Surgery and Thoracotomy. *Building and Environment*. **2021**; 193: 107664. <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2021.107664>.
- 2) Yanagi U, Kato S, Nagano H, Kazuhide Ito, Toshio Yamanaka, Yoshihisa Momoi, Hikaru Kobayashi and Hirofumi Hayama. Dispersion characteristics of oral microbial communities in a built environment. *Jpn Archit Rev*. **2022**; 00: 1-8. <https://doi.org/10.1002/2475-8876.12261>.
- 3) 柳 宇 : 内視鏡手術と開胸手術時の手術室内の細菌叢. 第 41 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会予稿集, 2024.4 (印刷中)
- 4) Watanabe K., Yanagi U, Shiraiishi Y., Harada K., Ogino F, Asano K. Bacterial Communities in Various Parts of Air-Conditioning Units in 17 Japanese Houses. *Microorganisms*. **2022**; 10, 2246. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112246>.
- 5) Shiraiishi Y., Harada K., Maeda C., Ogino F., Suzuki Y., Okada N., Tomomatsu K., Sekine Y., Yanagi U, Imanishi T., Oguma T., Asano K. A method to evaluate and eliminate fungal contamination in household air conditioners. *Indoor Air*. **2023**; Article ID 8984619. <https://doi.org/10.1155/2023/8984619>.
- 6) 渡邊健介, 柳 宇 : ルームエアコン洗浄前後における付着細菌の α 多様性の変化. 令和 5 年度空気調和・衛生工学会大会学術講演論文集, 29-32, 2023.
- 7) Yanagi U, Kaihara N., Simazaki D., Bekki K., Homma Y., Iba C., Asai A., Hayashi M. Bacterial Flora on Mist Outlet Surfaces in 4D Theaters and Suspended Particle Concentration Characteristics during 4D Movie Screenings. *Microorganisms* **2023**; 11, 1856. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071856>.
- 8) Lee, J.; Han, B.; Choi, S. Motion Effects Synthesis for 4D Films. *IEEE Trans. Vis. Comput. Graph*. **2016**; 22: 2300-2314. <https://doi.org/10.1109/TVCG.2015.2507591>