画像解析処理を利用した室内ダニの評価方法の確立とその展開

DEVELOPMENT OF A HOUSE DUST MITE EVALUATION SYSTEM
THROUGH IMAGE ANALYSIS AND ITS APPLICATION

山口 一*, 岡田 博**, 富岡 一之**, 竹内 啓五**

Makoto YAMAGUCHI, Hiroshi OKADA, Kazuyuki TOMIOKA
and Keigo TAKEUCHI

Today in Japan, with the homes built more air-tight and thermally insulated, they lack sufficient ventilation, causing higher humidity and increased condensation indoors. This type of environment fosters proliferation of mites, growth of fungi, and accumulation of house dust - all allergens - causing residents living in such homes to suffer from allergy.

This report discusses a newly developed system that allows engineering evaluation of the activity of mites in order to maintain comfort in the human living space of homes and control mites, or the major indoor allergen in Japanese homes. Using an image processing technology, the system directly observes mites with its built-in camera and analyzes the observed behavior of those tiny mites and evaluates through a computer-based image processing, thereby providing engineering analysis of the influence of mites on chemicals, building materials, utilities, indoor environment, and building structure. This mite image processing system is designed to obtain a correlation between the analysis results obtained from the image data of mites and their activity and perform quantitative evaluation of the activity. It provides quick evaluation related to mites in the home environment, such as effect of mite-killing or -repelling chemicals, effect of different levels of temperature and/or humidity on mites, and the biology of mites in the home environment.

Keywords: mite, house dust, allergy, image analysis, indoor air quality, sick house

ダニ, ハウスダスト, アレルギー, 画像解析, 室内空気質, シックハウス

1. はじめに

近年、省エネルギーや快適な温熱環境の追求から、日本の建物は、伝統的な通気性、通風性の高い建物から断熱・気密性の高いものへと変遷してきた。特に、建材の規格化や精度の高い施工技術は、居住・執務空間に高い気密性を確保させ、遮音・防音性、冷暖房のエネルギー効率などの優れた性能を施した。日本人は、1日の約80%を住宅やオフィスビルなどで過ごしており、高気密・高断熱化された構造物で適切な換気がされない場合、室内湿度の上昇、結露などの問題が生じ、ダニ・カビ・ハウスダストなどの室内生物汚染粒子および建材・開放型の暖房機器などから発生するホルムアルデヒドや揮発性有機化合物（VOCs, Volatile Organic Compounds）などによる問題が顕著化している^{1,4)}。上記由来の気管支喘息、気管支炎、過敏性肺炎、鼻炎、皮膚炎などのアレルギー疾患も年々増加する傾向にあり、実際に日本人の約1/3が何らかのアレルギーに悩まされているという¹⁾。

本報は、居住空間における快適性を維持し、日本における室内アレルギーの主な原因であるダニに対する制御を目的に、画像処理技術を応用し、ダニ活動度（ダニ数、ダニ活性など）を工学的に評価できるシステムを開発した。具体的には、CCDカメラにより肉眼では観察が困難であったダニを直接観察し、その挙動をコンピュータで画像解析によって分析・評価することで、薬剤、建材、設備、室内環境、建屋構造などのダニへの影響を工学的に分析するダニ画像処理システムを確立した。これはダニの活動状況をカメラにより画像で捉え、同画像情報より得た解析値とダニの活動度との相関を導

き、その活動の度合を定量的に評価する方法である。種々の薬剤や木材などにおける殺/防ダニ効果、種々の温湿度がダニの生態に及ぼす影響、および実際の居住環境でのダニ生息が簡易に評価ができるシステムである。

2. 画像処理の原理と応用

居住空間での主要なアレルギーの原因物質（アレルゲン）は、成虫で体長が数百 μm の透明な体色のヒョウヒダニ類（チリダニ科）である。これまで肉眼で観察することがほとんど不可能なこの種の生物を制御することは非常に困難であった^{5,6)}。我々は、CCDカメラにより観察したダニの活動映像を処理し、抽出された情報を時間的かつ空間的に平均化することによって、その行動分析および評価が可能になると考え、人の行動分析用に開発した手法の転用を検討した^{7,8)}。同方法は背景画像からの活動物体の抽出を基本原理とし、さらに活動領域を累積して評価を行う。これにより対象物体が何処にどの程度の時間滞留していたなどの行動特性を視覚的に分析することが可能である。また、計算はデジタル画像で行うため、滞留の程度や密度（個体数）の数値表現が可能である。計測対象は、移動（活動）することが前提となるが、ダニは、安定した状況で活動が活発で、その生命力が低下あるいは死滅するにつれ、活動するダニ数が少なくなるので、測定対象に成りうると考えた。

3. 実験材料ならびに実験方法

3.1 供試ダニと培養条件

* 清水建設技術研究所 主任研究員・理博
** 清水建設技術研究所 研究員

Senior Research Engineer, Institute of Technology, Shimizu Corporation, Ph.D.
Research Engineer, Institute of Technology, Shimizu Corporation

3.1.1 供試ダニ

我々が累代培養しているチリダニ (*Pyroglyphidae*) 科のヤケヒョウヒダニ (*Dermatophagoides pteronyssinus*, Dp) とコナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*, Df) を用いた (図1)。

3.1.2 供試培地

チリダニの純粋培養には、実験動物用飼料 (日本クレア) と乾燥酵母 (アサヒビール) を重量比で 1:1 に混合し、90℃で 30 分間乾燥した後、予め相対湿度 75%RH 前後に調整したインキュベータ内で 2、3 日養生したものをを用いた。培地は篩にかけることにより、各々の粒径を数百 μm とダニと同様な大きさとした。

3.1.3 ダニ数の測定

MBA (メチレンブルー寒天、Methylene Blue Agar) 法⁹⁾に準じ、ダニ培養物 20mg を、0.2%SDS (Sodium Dodecyl Sulfate、和光純薬) 溶液 1.0ml に混合し、この混和液全量を 3 ml MBA 溶液に流し込んだ後、チリダニ培養物をメチレンブルー入りの寒天で固定化し、実体顕微鏡下でその数を直接カウントした。

3.2 画像撮影および処理

3.2.1 画像解析処理システム

図1に示した画像解析処理システムを使用した。マクロレンズ (OVM-120Z、OLYMPUS) を通して CCD カラーカメラで撮影した検体 (ダニ活動の様子) の映像は、一旦ビデオテープレコーダ (VTR (S-VHS VIDEO CASSETTE RECORDER HR-X3SPT、VICTOR)) に記録した。CCD カラーカメラを接続しているビデオマイクロスコープ (OVM1000N、OLYMPUS) の各種設定を予め検討し、本研究に最適な条件に調整した。検体の映像は、VTR から AD コンバータを介して画像処理装置 (PIP9000、ADS) に入力した。画像処理装置はパソコン (PC9821、NEC) により制御され各種の処理を実施した。なお画像は、512 × 480 画素、256 階調である。

3.2.2 画像処理

画像からダニの数を安定に導く方法を検討した。画像の分析は、背景画像の推定および入力画像と背景画像の差分抽出を基本に行う^{7,8)}。この処理によりダニの運動により変動が引き起こされた領域を抽出することができる。この領域の面積はダニの数に応じて変化すると仮定できる。しかし、ダニの運動と培地の運動とが複雑に連動するため、この領域の面積は時間的に揺らぎを生じる。そこで抽出した差分画像に二値化を施し、これに続く画像に対しても繰り返し、

図1 画像解析処理システム (左上写真: ヤケヒョウヒダニ)

これらを累積することにより累積画像を作成した。累積を行うことにより、抽出領域の安定化ならびに単発的なノイズ信号の相対的低下が期待できる。差分・累積処理は画素単位で行い、抽出があった画素に対し1を加算する。そして最終的に累積画像上の画素の値の合計値を累積値として、ダニの数を評価するための指標と考えた。

背景画像自体はダニの運動により変化が予測されるため、適当な時間間隔で更新する必要がある。そこで今回の処理においては、背景の推定は 20 秒間サンプリングした画像の加算平均を利用し、差分抽出・累積処理に 40 秒間を設定し、これらを 1 サイクル処理と考え、3 サイクル処理を行うこととした。背景画像は 20 秒間に 64 枚の画像を入力し、それらの加算平均により推定した。累積処理は 0.5 秒間隔で行い、全計測を通じ 240 回の累積を行った。なお、これらの時間設定は、実際の映像を事前に分析し、安定な抽出が可能となる時間を実験的に求めたものである。

3.3 防ダニ試験

3.3.1 薬剤試験

50ml 容プラスチック製遠沈管 (CORNING、IWAKI GLASS) に、希釈飼料としてチリダニの純粋培養用培地を入れ、これに所定濃度となるように、薬剤 (粒状のものは乳鉢ですり潰す) を添加した。希釈飼料と薬剤を均一に混合させるために、小型回転培養器 (ローテーター RT-50、TAITEC) にこの遠沈管をセットし、回転速度約 30r/min で一昼夜連続運転して培地と薬剤を混合させた。

薬剤無添加のコントロールとしてチリダニの純粋培養用培地を用いて同時に試験した。サンプル瓶は 5ml 容培養瓶 (口径 13mm) を使用し、濃度調整した薬剤入り培地および約 1ヶ月間培養した活動度の高い供試ダニ培養物を計量スプーンすりきり一杯 (550mg) ずつ分注し、混合の後、紙栓で封をした。

このサンプルを温度 25℃、相対湿度 75%RH 前後に調整した恒温槽 (インキュベーター (冷凍機付) MIR-553 SANYO) に入れ、定期的にダニ活動度を撮影するとともに目視観察した。また、ダニ挙動によるデータのばらつきを考慮に入れ、実験は原則として 5 連の系にて実施した。

防ダニ性能は、以下に示した本論文の独自式によりダニ阻害率 (%) を算出して、目視の結果と併せて各薬剤の効果を評価した。

ダニ阻害率 (%) = $100 - (\text{試験体の換算ダニ数} \div \text{コントロールの換算ダニ数}) \times 100$ (*画像処理で導いたダニ数)

3.3.2 木材試験

前もってチップ化した試験木材を、小型粉砕器 (SCM-40 型 柴田科学器械(株)) にて、2 分間粉砕した。粉砕した木材は種類によって、臭い、粉砕片形状などが明らかに異なる。50ml 容プラスチック製遠沈管に、上述のチリダニ用培地と粉砕した木材を添加し (v/v)、小型回転培養器 (ローテーター RT-50) にて、回転速度を約 30r/min に設定して、一昼夜連続運転し、培地と混合させた。

調整した木材の分注、ダニ培養物の分注、試験体の培養などのその他の作業については、3.3.1 薬剤試験と同様に実施した。

3.4 各種湿度条件におけるダニの培養

3.4.1 所定湿度におけるダニ培養容器

5ml 容ガラス製培養瓶に紙栓で封をしたものを使用した。

3.4.2 温湿度の調整

温度は、ダニ培養容器を収納した試験槽を恒温槽 (3.3.1 に記述)

内に静置して25℃に保持した。また、ダニ培養容器を収納した試験槽内の湿度は、塩類飽和溶液調湿法(常圧下)¹⁰⁾により調整した。この方法は、試料の吸放湿による湿度の変化が少なく、容器全体の温度の変化に対しての相対湿度の変化が僅かであるという利点があった。

3.4.3 温湿度のモニタリング

所定の温湿度に試験槽内が保持されていることを確認するため、各試験槽内に温湿度センサー(CHS-ATSおよびCHS-APS、TDK)を設置し、バッファアンプ(BUFFER AMP、スギヤマゲン)を通してデータロガー(打点式ハイブリッド記録計AA030-NGN、チノー)に出力してモニタリングした。

3.4.4 画像解析値(累積値)の統計処理

ダニの活動(挙動)を撮影して得られた画像処理の生データである画像解析値(累積値)は、供試ダニの条件の標準化の困難さと撮影感度の高さに起因する画像処理サイドのノイズを解消するために、統計処理によるデータの補正を実施した。同条件で得られたデータをトンプソン¹¹⁾の棄却検定における一定信頼区間で検定した。検定統計量 $T(x_k)$ が自由度 $N-2$ の t 分布に従うとし、 $T(x_k)$ の絶対値を基準にとび離れたデータとして棄却した。さらに、検定通過後のデータから平均($\bar{x}$)、標本分散(s^2)および t 分布の表より自由度 $N-1$ の t 分布の $\alpha/2$ パーセント点を求め、正規母集団近似における一定信頼区間を求めた。

4. 実験結果ならびに考察

4.1 ダニ数と画像解析値(累積値)

人の行動分析用に開発した画像処理手法は、本研究の対象生物であるダニの評価にも適用が可能であると考えられた¹²⁾。ここでは、ダニの活動を捉えた映像を処理して求めた画像解析値および撮影に供したサンプルのダニ数との間の相関関係を実験的に導いた。2ヶ月間培養した Dp および Df の培養物(30,000~40,000匹/1g培養物)を新鮮な培地で段階的に希釈し、培地中に含まれるダニ数を調整した。またNegative Control(0匹/1g培養物)として、新鮮な培地を用いた。CCDカラーカメラで上部よりダニの活動を撮影し、その映像を画像解析処理した。実験は、ダニ数を調整した試料を5ml容培

図2 処理画像

養瓶に分注し、撮影および画像解析処理を実施した(3.3参照)。

4.1.1 画像解析値

画像解析値はダニの観測画像において、ダニの存在する領域を連続して抽出し、その面積を評価した値である。抽出された領域の面積は、観測領域内のダニの数に応じて変化すると考えらるが、ダニの運動が培地などにより埋もれた場合など、時間的且つ空間的に変動することを考慮し、各時点での面積を累積し、最終的に得られた累積面積を利用する。今回の計測においては、さらに評価値を無次元化する意味で、累積回数での除算(時間平均化)、および領域面積での除算(空間的平均化)を行い、最終的評価値とした。図2に、累積の状態を、累積画像平面を俯瞰するように立体的に表現した画像を示した。高さ方向は各画素に累積された累積の値を表している(3.2.2参照)。累積の値が高いほど高くかつ白く示している。ダニ数が多いほど全体的に累積の値が多くなっている様子がわかる。

4.1.2 ダニ数と画像解析値(累積値)の相関

測定したダニ数と画像解析値の関係は、3次多項式近似によってその相関性が確認された(図3,4)。画像解析値とダニ数の相関は R^2 値で、 Dp では0.9867、 Df では0.9558と非常に高い相関性を示した。これは、ダニのみの活動を画像として取り込むのではなく、全体のダニの活動を培地の動きと連動させ、培地を担体(キャリアー)として機能させたことによって(3.1.2参照)、サンプル毎の条件が均一化したものであると考えられる。測定したダニ数と画像解析値の3次多項式の関係は、培養瓶中のダニ数の密度増加によるダニ相互間の影響や、画像解析する対象がダニの動きだけでなく、連動する培地を含めて解析しているからと考えられる。バックグラウンドノイズについては、ダニが不活性で0匹のサンプルを処理しても、得られる画像解析値は0とはならず、 Dp では1,000のオーダーとなった。画像解析値を0に近づけるには、処理上の走査線のレベルなどを操

図3 ダニ(Dp)と画像解析値との相関

図4 ダニ(Df)と画像解析値との相関

表1 薬剤の防ダニ性能評価

培養時間 薬剤	濃度 (W/W%)	1週間 阻害率 (%)	2週間 阻害率 (%)	4週間 阻害率 (%)
安息香酸	1	-21.4	3.4	28.8
	10	96.4	101.0	99.8
サリチル酸	1	50.1	96.2	83.3
	10	67.9	100.8	99.8
p-ジクロロベンゼン	1	-59.6	-91.0	9.8
	10	100.6	100.4	100.2
デヒドロ酢酸	1	101.1	99.8	100.1
	10	101.5	100.5	100.1
ナフタレン	1	101.0	100.8	97.5
	10	101.7	101.0	100.3
p-クロロ安息香酸	1	-40.5	-62.5	-7.9
	10	-39.0	-25.8	57.5
ほう酸	1	-3.0	24.3	44.1
	10	41.5	95.3	99.0
ヒノキチオール	1	83.0	92.0	96.5
	10	99.5	98.3	99.0

作、即ち画像認識ハードおよびソフトの改良によってある程度可能になると考えられた。しかし、この検討は逆に感度の低下を伴う危険性を孕んでいるため、非効率的であると判断した。*Df*でも同様な結果となり問題ないと判断した。さらに、画像処理時に影響を受けると考えられるダニ挙動の撮影条件（色温度、自動感度、明度およびランプ電圧）についても、一定値に設定してロットなどによる画像解析値の変化を極力抑えることで、バックグラウンドノイズの影響を、最終的には無視できると考えた¹³⁾。

4.2 代表的防虫剤での防ダニ性能評価

ここでは既往研究にてその効果が明らかにされている防虫剤を含む代表的な薬剤を選定し、画像処理適用の有効性を確認することとした。供試ダニには、実際の使用を想定して、薬剤に対し抵抗性が高いとされている *Dp* を用いた¹⁴⁾。

表1に防ダニ試験結果を示す。主に、芳香族系の薬剤を実験に供した。芳香族系などの薬剤については、最も防ダニ性に優れたものはナフタレンおよびデヒドロ酢酸で、効果が確認された。p-ジクロロベンゼンおよび安息香酸については高濃度側（10%）で効果が確認された。さらに、サリチル酸では低濃度側（1%）で効果を示したが、顕著な防ダニ効果は2週間後であった。p-クロロ安息香酸については効果が確認できなかった。また、ほう酸については、1%では4週間後に若干の効果が確認され、10%では1週間後に若干のダニ阻害が、2週間後からは強力な防ダニ性能が確認された。ヒノキチオールについては、1%でも1週間後から著しい防ダニ性能を発揮していた。

横井ら¹⁵⁾は、コナヒョウヒダニ (*Df*) およびケナガコナダニに対するナフタリン、p-ジクロロベンゼンおよびほう酸の増殖抑制効果を顕微鏡観察によるダニ培養物と薬剤を混和した方法により調べている。それによると、コナヒョウヒダニに対しては、ナフタリンは1%で、p-ジクロロベンゼンは0.5%で速効的な効果を示し、ほう酸は1%で長期的な増殖抑制効果を認めた。我々の実験においては、ヤケヒョウヒダニ (*Dp*) をターゲットとしており一概に比較はできないものの、ナフタレンの傾向は同じであったが、p-ジクロロベンゼンについては1%では4週間接触させても効果が現れず、10%にて1週目に阻害率100%となり比較的早期に効果が現れるなど異なる傾向を示した。ほう酸については1%では4週間後も防ダニ効果は

若干（阻害率44.1%）で、10%では2週間後に阻害率95.3%と高い防ダニ性を示し、*Dp*と比較し、*Df*の方が薬剤に感受性が高い傾向を示した。これは、その他の薬剤に関する既存の報告と一致した¹⁴⁾。

さらに、目視による観察結果と画像処理により算定した阻害率(%)の関係は、防ダニ試験法全般に見受けられる傾向として、阻害率90%以上においては、活動しているダニはほとんど観察されないか皆無で、その活動度（活性）も非常に衰弱していた。阻害率60～90%の範囲では活動しているダニの数が少ないかあるいは活動度がやや鈍化していた。一方、阻害率50%以下の範囲では目視での違いの判別は不可能だったため、ダニに対する微妙な効果の評価に、本手法の有効性が示唆されたと考えた。

また、他の薬剤については、有機リン系、ピレスロイド系、およびカーバメイト系など防ダニ性能を有する薬剤についても、本画像解析システムにより、顕著な薬効を観察している^{16,17)}（データ未提出）。今後、住居内で長期間生活するヒトへの影響を最小にしつつ、ダニばかりでなく、カビなどその他のアレルゲンへの対策が可能となる薬剤や天然剤などの選択・評価に対し、有効なツールとして役立つと考えられる。

4.3 無垢材での防ダニ性能評価

次に、建材の代表例として、無垢材の防ダニ性能を評価した。調査した22種の木材すべてについて1日間、1週間、1カ月間培養後のサンプルの画像解析を行い、画像解析値よりダニの活動度の検討を行った。各木材の解析結果を表2に示す。今回の測定では、サワラ、タイワンヒノキ、スギ、ベイヒ、レッドラワン、ヒバおよびヒノキの7種類について顕著な効果が認められた。

画像解析によると、最も早期に効果を示したのはサワラおよびベイヒであり、培養1週間で、ダニ検体のいないNegative Controlより若干高い画像解析値を示し、各々のダニ阻害率は99.5%と65.7%であった。2週間および4週間後には両者のサンプルは、ほとんど活性を示さなかった。実体顕微鏡での観察でも、1週間後、ダニはあまり元気がなく、活動しているダニは数匹程度であった。さらに、2週間および4週間後には、活動しているダニを発見することはほ

表2 無垢木材の防ダニ性能評価

No.	培養時間 木目ク材	1週間 阻害率 (%)	2週間 阻害率 (%)	4週間 阻害率 (%)
01	トドマツ	18.4	38.3	25.4
02	エゾマツ	41.2	26.5	18.5
03	カラマツ	42.7	-0.5	15.7
04	ラジアータパイン	63.4	40.5	13.0
05	アカマツ	79.4	55.8	50.2
06	サワラ	99.5	101.6	99.9
07	ホワイトラワン	-11.4	-24.8	36.4
08	ベイツガ	-9.4	-7.0	41.6
09	スプルス	-6.5	-25.9	30.9
10	ケヤキ	22.4	31.2	57.6
11	タイワンヒノキ	38.3	77.3	99.8
12	スギ	36.9	90.3	98.6
13	レッドラワン	51.9	56.8	94.0
14	アビトン	-9.5	26.4	31.6
15	ベヤマツ	63.8	54.9	23.2
16	チーク	7.6	22.8	23.2
17	ベイヒ	65.7	96.9	99.8
18	ブナ	-0.8	5.8	10.6
19	クリ	-27.6	5.8	35.2
20	ナラ	-3.9	-1.8	27.5
21	ヒバ	45.3	90.4	89.7
22	ヒノキ	32.3	82.7	88.8

とんどできなかった。サワラおよびベイヒに関しては、比較的速効性の強い殺ダニ性が確認された。

次に、タイワンヒノキおよびスギでは、1週間後に各々38.3%と36.9%、2週間後に各々77.3%と90.3%のダニ阻害率が確認され、4週間後にはNegative Controlとほとんど同じ画像解析値を示した。目視の場合、1週間後はダニ検体が元気に動き回っていたサンプルが、2週間後にはあまり元気がなくなり、4週間後には活動しているダニが数匹しか発見されなかった。タイワンヒノキおよびスギに関しては徐々にダニに影響を与え培養4週間で致死に達するものと考えられ、遅効性の殺ダニ性効果が確認された。

レッドラワンでは、1週間後に51.9%活性阻害、2週間後に56.8%活性阻害、4週間後には94.0%活性阻害となった。実体顕微鏡での観察でも、1週間後にはサンプルに元気がなく、2週間および4週間後には、その状態が継続していることを確認した。実際には、換算匹数平均値が1週間目91.4匹、2週間目170.4匹、4週間目に122.9匹となり、強い防ダニ効果はないものの、増殖抑制効果を有していることが確認された。また、アカマツおよびケヤキでも、若干のダニ活性阻害効果が認められた。

ヒバは、今回青森と地域指定した検体を使用し、強力な防ダニ性を確認した。青森産でないヒバでは、4週間後に29%ダニ活性阻害と顕著な効果認められず、ヒノキについても、今回長野産で防ダニ性能を確認できたが、ヒバと同様に産地によっては、防ダニ性能を殆ど示さないものもあった。全てのヒノキあるいはヒバに、防ダニ効果はなく、同じ種類の木材でも、効能の違いを生じることが示唆され、産地の違い、心材と辺材の相違、木材のロットによる違い、試験方法の違いなど種々の理由が考えられた。

種々の植物精油(葉)はヒョウヒダニに対し行動抑制があり、ユーカリの強い抑制効果は、その主要構成成分に起因している¹⁸⁾。ダニを単に殺すだけでは、アレルギーの抗原性(アレルゲン性)の低減は得られにくい、薄荷油をコナヒョウヒダニに処理すると、抗原性が減弱することなどが報告されている¹⁹⁾。しかし、各々の試験された精油の濃度は、高濃度であり、そのままでは実際の使用は困難であると考えられる。すでに、サワラの樹皮成分には強い繁殖抑制効果が存在すること²⁰⁾、ヒノキ、スギ、ベイヒバなどの木材が、強い殺ダニ活性を持つことが報告されている²¹⁾。タイワンヒノキおよび青森ヒバなどについては天然抗菌物質であるヒノキチオールを多く含んだ木材であることが知られている²²⁾。4.2節「代表的防虫剤での防ダニ性能評価」において、ヒノキチオールの防ダニ性が確認されたが、今回の両木無垢材の防ダニ性についても主要な効果の一つがヒノキチオールによるものと考えられる。

図5 Dp 及ぼす湿度の影響 (初期ダニ数: 低)

薬剤や建材などの期待される効果として、生育抑制の他に、ダニへの忌避性もあるが、今回、この点についての検討はしなかった。本報で開発した画像処理解析システム(図1)は、ダニの移動の軌跡あるいは、その速度についても測定でき、ダニへの忌避性についての評価も可能である。

4.4 ダニの増殖ならびに活動に与える湿度の影響

ダニの形態学および生理学的特徴として、相対的に身体表面積が大きく、クチクラ層が未発達なため、体内の水分が失われやすい構造になっていることがわかっている。したがって、室内のダニを制御するには、湿度コントロールが重要である^{23,24)}。

既往の研究において、ダニの最適温度・湿度を考察した場合、そのほとんどがサーベイランスによる実際の建屋室内の実態調査からのデータからであった^{24,25)}。これらの場合、各々の建屋条件および居住空間の環境状況の差も考えられ、単純に温湿度のダニへの影響を把握することには問題があった。したがって、本報では、温度25℃における各種湿度条件を設定し、その雰囲気下でダニを培養し、ダニの増殖および活動にどのような影響を及ぼされるかを検討した。ラボスケール実験において、温湿度変化によるダニへの影響を把握することは、一定の環境を保った状況下でのダニの長期培養やダニの運動性および生物の誤差を鑑みた実験系の構築が必要となる。

尚、本報では、初期ダニ数を低く設定した場合と初期ダニ数を高く設定した場合の2ケースについて検討した。前者は、少数のダニが室内に侵入し増殖(ダニ数が増加)する場合を、後者は、既に室内でダニが増殖した場合を想定した。室内へのダニの侵入は、通勤・通学時など人と人が接触し伝搬する場合や風などによる室外からの飛来よと思われる²⁶⁾。

4.4.1 Dp におよぼす湿度の影響 (ダニ初期数が低い場合)

定期的に測定したダニの活動度を表す画像解析値から、4.1.1で求めた相関式を用いて、ダニ数に換算した結果を図5に示す。ここでは、累代培養した純粋 Dp 培養物を新鮮な培地で約10倍に希釈して、その活動度を経時的に測定した。即ち、12gの新鮮培地に Dp の2カ月培養物1.2gを添加し、この混合物550mgを5ml容培養瓶に添加して紙栓にて封をした。この2カ月培養物は、培養物1g当たり約30,000~40,000匹のダニが含まれ、累代培養に使用している系におけるダニ密度がほぼ最大に達していると考えられる。この測定では、61%RH以上の4種(61%RH、75%RH、83%RHおよび93%RH)の培養条件において Dp の増殖が観察された。この中でも特に増殖が促進され、高いダニ換算匹数を得たのは、75%RHおよび83%RHであり、25℃における Dp の至適湿度は、80%RH近傍にあると考えられた。また、93%RHにおいては、培養3週間目に培地内にカビの発

図6 Dp 及ぼす湿度の影響 (初期ダニ数: 高)

図7 Dfに及ぼす湿度の影響 (初期ダニ数: 低)

生が観察され、カビの増殖とダニの増殖が拮抗し、ダニの増殖は抑制される傾向にあった。このカビは、形態学的な特徴から *Aspergillus* 属と思われた。ここで、増殖数は多少抑えられるが、生存ダニ個体の活動は活発であった。52%RH以下の低湿度条件(36%RH、46%RHおよび52%RH)では、*Dp*は増殖せず、実験開始時の活動度が徐々に低下し、目視による観察では、3~5週間後には活動しているダニが全く存在しなくなった。さらに、83%RH以上の高湿度条件では、培地そのものが水分を吸着して団塊状になった。

4.4.2 *Dp* におよぼす湿度の影響 (ダニ初期数が高い場合)

累代培養した純粋 *Dp* の2カ月培養物 (30,000~40,000 匹/g 培養物) をそのまま実験に供した。図6に定期的に測定したダニ活動度を表す画像解析値の統計処理後の結果を示す。この実験においては、75%RH以上の高湿度条件において、ダニ活動度が一定レベルに推移した。この中で、93%RHについては、4週間目にカビの発生が確認され、培地の団塊化と併せて5週間目に活動度が大幅に減少した。52%RH以下の低湿度条件では、ダニ活動度を表す画像解析値は直線的に減少し、4週間目に0近傍に達した。61%RHでは、ダニはその活動度を維持することが出来ず、緩やかに画像解析値が減少した。

4.4.3 湿度環境に対するダニの生態

Dp と同様に *Df* におよぼす湿度の影響を、ダニ初期数が低い場合 (図7) と高い場合 (図8) について調査した。結果は、殆ど *Dp* と同様であった。上記の4.4.1と4.4.2の結果とまとめると、*Dp* および *Df* の増殖抑制ならびに活動抑制に顕著な効果を示す湿度条件は、52%RH以下の低湿度条件で、これらの条件下においてはいずれのダニの活動度やダニ数も最終的に0になるか非常に低いレベルに維持された。また、増殖や活動パターンにダニ種間の相違が存在し、*Df* が *Dp* に比べて若干低湿度側を好み、耐乾性を有していることが示唆され、既往研究^{23,24)}と同様の結果を得た。

さらに、93%RH条件下においては、いずれの実験ロットにおいて

図8 Dfに及ぼす湿度の影響 (初期ダニ数: 高)

図9 ダニセンサー

も培養開始数週間で *Aspergillus* 属と思われるカビの発生が確認され、以降はダニとカビの増殖が拮抗し、結果としてダニ数の増加が抑制される傾向にあった。ダニとカビの関連については、ダニの消化管から種々のハウスダスト由来の有機物に混じって微生物の菌糸と孢子、細菌などが発見されているので、ダニがカビを食していることは間違いない。カビの存在がダニの増殖を増長するという説もあるが、過度のカビの生育は逆にマイナスの作用をするとの報告もある²⁷⁾。

4.5 ダニセンサーの開発

前節までの測定系は、試験瓶に検体を入れ画像解析するシステムであり、建材や木材などの検体は破壊して検討しなくてはならず、実際の建物での調査や建材・木材などの非破壊試験には不向きであった。したがって、上記の問題を解決するため、ダニセンサーの開発を実施した。ダニはカビと異なり、一箇所に固定して生息するわけではなく、始終移動し、適度な温湿度と餌となるハウスダストなどがなければ、生息できない。したがって、ダニセンサーを構築するためには、ダニを幽閉し餌を添加したユニットと、湿気を透過し、画像解析を実施するための透明な膜の使用が必須となる。

本報では、室内空間におけるダニアレルゲン抑制基盤手法として、環境要因である温湿度や室内空気質などの室内環境因子の制御を前提として、まず、チリダニの増殖ならびに活動にあたる温度と相対湿度の影響を、画像解析処理システム (図1) を利用して検討した。

4.5.1 ダニセンサーの構築

図9に示すような系のセンサーを考案した。厚さ20mmの亚克力ブロックに内径13mmの穴を開け、下部を200メッシュフィルターおよび和紙で覆い、供試ダニ培養物を添加した後、上部を透湿フィルムで封をした。ダニセンサーに用いた各部材は予め単体でダニに接触させ、殺ダニ性・ダニ忌避性がないことを確認済みのものを使用した。

Dp センサーの系における画像解析値とダニ数の相関について検討した。2カ月間培養した *Dp* を新鮮な培地でサンプル中のダニ数を調整し (4.4.1参照)、このダニ培養物1.0mlを先述のダニセンサーに分注し、透湿フィルムで封をして上部よりダニ活動の模様を撮影した。図10に画像解析値とダニ数をプロットし、3次多項式により近似した結果を示した。 $R^2=0.9846$ となり、高い相関性が確認された。*Df* センサーの系における画像解析値とダニ数の相関について、*Dp* センサーと同様に検討した。図11に画像解析値とダニ数をプロットし、3次多項式近似により求めた曲線と相関式を示した。この場合も、 $R^2=0.9846$ となり、高い相関性が確認された。

図10 ダニ数と画像解析値との相関 (Dp センサー)

4.5.2 ダニセンサーの耐久性

センサーの耐久性試験を検討した。2カ月間培養したDpの培養物を添加した、初期ダニ数が高いダニセンサーを温度25℃、湿度75%RH前後に調整した雰囲気下に静置し、定期的にダニ活動を撮影した。図12に1週間毎に実測したダニ活動度の画像解析値と上記で求めた相関式から換算した匹数の推移を示す。実験開始時、ダニセンサー内のダニの活動(画像解析値)は、4週(1カ月)まで徐々に減少したが、その後安定し14週(3.5カ月)までほぼ一定のレベルに保持された。その後、再び減少を始めたダニの活動(画像解析値)は、21週(5.25カ月)でかなり低いレベルまで低下した。ダニセンサーの寿命は、累代培養に用いている条件の雰囲気においては、2カ月培養ダニを添加した場合、画像解析データや目視観察の結果から14週(3.5カ月)と判断した。この寿命はダニセンサーを設置する環境の諸条件および添加ダニ培養物の増殖フェーズによって左右されるが、環境評価のためのデータ取得に必要な期間の使用には十分耐え得る可能性を確認できたと考える。同じ系でのDfセンサー、および初期ダニ数が高いDpおよびDfダニセンサー(4.4.1、4.4.3)についても同期間での耐久性を確認した。

4.5.3 ダニセンサーによるダニへの温湿度影響の評価

ダニセンサーを用いた、実際の建屋室内におけるダニの生息状況

図11 ダニ数と画像解析値との相関 (Df センサー)

図12 Dpセンサーの画像解析値と換算ダニ数の経時変化

の調査法を確立するために、温度25℃における種々の相対湿度条件(36%、46%、52%、61%、75%、83%および93%RH)がダニにおよぼす影響について検討した。一例として、初期ダニ数が高い場合のDfダニセンサーの結果を示した(図13)。ダニセンサーでの結果は、4.4で実施した培養瓶での結果と同様な傾向を示した。DpおよびDfに顕著な影響を示す湿度条件は、約52%RH以下の低湿度条件で、これらの条件下においては、いずれのダニの活動度やダニ数も最終的に0になるか非常に低いレベルに維持された。さらに、約93%RH条件下においては、いずれの実験ロットにおいても培養開始数週間でもカビの発生が確認され、以降はダニとカビの増殖が拮抗し、結果としてダニ数が抑制される傾向にあった。また、増殖パターンにダニ種間の相違が存在し、DfがDpに比べて若干低湿度側を好み、耐乾性に優れていることが示唆され、4.4と同様の結果を得た。また、初期ダニ数が高い場合も同様な結果が得られた。

ダニ活動度などの応答に要する期間に対して、試験系の違いによる相違も存在した。ダニセンサーの系の方が試験瓶の系(4.4.1および4.4.4)と比較して数週間早く影響が出た。これは、両系の容量と透湿・換気程度の違いなどに起因すると考えられる。

また、本研究開発の対象生物であるチリダニを指標生物の観点から捉え、環境評価モニタリングとしてダニセンサーの応用も考えられる。ダニはその形態学的且つ生理学的特徴から、種々の環境条件によって活動度や増殖速度が影響を受けやすい。当然、IAQ (Indoor Air Quality) に関連するホルムアルデヒドやVOCsおよび他の温湿度要素に代表される環境因子などについてもその影響を受けることが予想される。さらに、このシステムは、ダニばかりでなくその他の微細な生物に対しても、応用が可能であろう。

図13 Dfセンサーを用いた湿度影響の経時変化

5. まとめ

現在まで、建材や薬剤のダニへの影響を調査するためには、培養したダニ（ヒョウヒダニあるいはコナダニなど）を所定のユニットに入れ、ダニの生死を観察する方法（ドライフィルム法、クリップ法や直接接合法など）、薬剤の忌避率を観察する方法（公衛研法、侵入阻止法、ガラス管法など）およびダニの通過性試験などの手法が報告されている²⁸⁻³⁰⁾。これらの方法は、ダニの取り扱いに熟知した研究者が、ダニ検体を一匹ずつ分離し、試験体のダニへの影響を、実体顕微鏡などを通して、直接その数をカウントしたり、昆虫針で個体を刺激して生死を判定するなど、専門的な技術および労力と時間を要し、汎用性のある方法ではなかった。本報で開発した手法は、基本的にダニ培養物を対象としているので、ダニと供試培地を分離する必要がなく、一時に多数のサンプルを処理することも可能になった。さらに、厳密な意味での生死判定はできないものの、ダニの増殖や活動を感度よく評価することができた。防ダニ試験や実際の室空間での適用が可能になったことを考え併せると、室内ダニの制御のための総合的な評価が可能になったといえる。

現在まで、都市計画、建物配置およびオフィス内配置などのヒトや自動車の動線分析に対して行ってきた画像解析を^{7,8)}、ダニのような小動物に対して行い、工学的な手法を駆使し、その行動分析を可能にした。この画像処理を利用したダニの評価手法は、今後、企画・設計、施工時の健康を配慮した建屋の建材、部材、設備、構工法などの開発あるいは選択への展開を可能とするものであり、ダニなどのアレルギー対策を施した健康配慮の建物構築のための第一段階であるが、健康配慮の建物の実現のための有力な技術であると考えられる。ダニ試験においては、 Df あるいは Dp のダニ種類、初期ダニ数の高低など実施する試験方法により、試験結果は本質的に異なるものではないが、全く一致した結果ではないと考えられる。したがって、本画像解析によるダニ試験においても、試験目的の明確化と実施する試験方法を充分理解した上で活用するべきである。

室内のダニを抑制するには、住まい手の健康や安全性、効果の持続性と経済性などを考慮し、換気などによる室内温湿度を制御し、さらに防ダニ薬剤や防ダニ建材との併用効果についても検討することが重要であろう。これについては、今回構築した測定・評価システムを応用すれば、困難なく必要な情報が把握できると考えられる。

一酸化炭素、二酸化炭素、ホルムアルデヒド、VOCsなどの室内空気汚染と比較し、ダニの発生は、特定の発生源はなく、人間が生活するかぎり、住宅のような一般的な建築物内では必ず起こり、強力な薬剤使用などによりダニを完全に死滅させることは、住まい手である人間にも悪影響を与えることが懸念される。したがって、ダニの抑制には、ダニを完全に防除するのではなく、アレルギー発生が生じないレベルに制御することが重要となる³¹⁾。したがって、ダニの増加・増殖をいかに適正に抑えるかという視点での研究開発をこれからも継続していく。

我々は、居住空間の快適性を維持し、主なアレルギーの原因であるヒョウヒダニ類（チリダニ科）のより効率的な制御および取り扱いを目的として、ダニ画像解析処理システムを構築した。その結果、以下に記す事項が明らかになった。

1) 活動度（活性）の高いダニの映像を処理した画像解析値（累積値）とダニ数の間に高い相関性を見出した。画像解析値の利用は、ダ

ニに対する微妙な影響を評価できる感度よい客観的手法である。

2) 本画像処理システムで、種々の薬剤および木材に関し防ダニ性能を評価し、既往研究の比較から、その有用性を明らかにした。

3) 実際の室内を想定し、初期ダニ数が低い場合と高い場合における湿度の影響やダニ種間の違いを明らかにした。

4) 実際の室空間や非破壊試験が可能な、ダニセンサーによるダニ影響試験方法を確立し、その性能を評価した。

5) この画像解析処理システムは、室内のダニばかりでなく、多くの微生物の測定・評価にも応用が期待できる。

謝 辞

本報告は、通商産業省「生活価値創造住宅開発プロジェクト」の「健康配慮技術の研究・開発に関する研究」に関する研究成果の一部である。

参考文献

- 1) 高岡正敏, "ダニ室内塵の傾向とその対策", MEDICAMENT NEWS, No.1458, pp.16-17, 1994
- 2) 入江建久, "浮遊粉じんと生体環境", 空気調和・衛生工学, Vol. 72, No.5, pp.27-36, 1998
- 3) 田辺新一, "室内化学汚染", 講談社, 1998
- 4) 吉川翠, 阿部恵子, 小峯裕己, 松村年郎, "室内汚染とアレルギー", 井上書院, 1999
- 5) Okada, H., Yamaguchi, M., Minami, K., "Detection and Monitoring of Dust Mite", Proceedings of the 12th International Symposium on Contamination Control in Yokohama, pp.315-318, 1994
- 6) Yamaguchi, M., Okada, H., Tomioka, K., Minami, K., "Monitoring of Dust Mite", Proceedings of the 7th International Conference on Indoor Air Quality and Climate in Nagoya, pp.687-692, 1996
- 7) 竹内啓五, 長田耕治, "画像を利用した群集行動評価法に関する研究", 清水建設研究報告, Vol. 60, pp.123-131, 1994
- 8) 竹内啓五, 山口一, 岡田博, 富岡一之, "快適環境分析のための微小生物モニタに関する研究", 日本建築学会学術講演梗概集, pp.721-722, 1996
- 9) 高岡正敏, 山本徳栄, 浦辺研一, 中澤清明, 久米井見子, 中山秀夫, 桜井美佐, "室内塵からの簡便ダニ検査法について", 埼玉県衛生研究所報, No.1458, pp.64-69, 1990
- 10) 高分子と吸湿委員会, 高分子学会, "材料と水分ハンドブック (吸湿、防湿、調湿、乾燥)", 共立出版, 1968
- 11) 脇本和昌, 垂水共之, 田中豊, "パソコン統計解析ハンドブック I 基礎統計編", 共立出版, 1991
- 12) 山口一, 竹内啓五, 岡田博, 富岡一之, "画像処理によるダニアレルギー同定評価システムの開発", 空気調和・衛生工学会学術講演会講演論文集, pp.969-972, 1996
- 13) 山口一, 岡田博, 富岡一之, "ダニアレルギー画像処理システムの確立 I-画像処理システムのレベルアップ-", 日本建築学会学術講演梗概集, pp.709-710, 1997
- 14) 渡辺富士雄, 只木晋一, 高岡正敏, 石井正蔵, 森本功, "精油の揮発成分によるヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニおよびケナガコナダニに対する殺ダニ効果", 生薬学雑誌, Vol. 43, pp.163-168, 1989
- 15) 横井寛昭, 堀義宏, "コナヒョウヒダニおよびケナガコナダニに対するナフタリン、p-ジクロロベンゼンおよびホウ酸の増殖抑制効果", 名古屋市衛生研究所報, No.39, pp.27-29, 1993
- 16) 中島芳明, 今井長兵衛, 夏原由博, "室内塵性コナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* に対する fenitrothion, fenitrothion および permethrin の殺ダニ効力の実験室内評価", 生活衛生, No.34, pp.163-168, 1990
- 17) 林晃史, "新しい害虫防除のテクニック", 南山堂, 1995
- 18) 宮崎良文, 谷田貝光克, 高岡正敏, "室内塵性ダニの行動に及ぼす精油の影響", 日生気誌, Vol. 26, pp.105-108, 1989
- 19) 中野ユミ子, 吉田政弘, "薄荷油のダニ抗原性に及ぼす影響について", 環境管理技術, Vol. 9, pp.20-23, 1991
- 20) 近藤隆一郎, 屋我嗣良, 山田妙子, 佐藤敏弥, 谷田貝光克, "木材居住環境ハンドブック, におい編", pp.260-322, 岡野健他 8 名編集, 朝倉書院, 1995
- 21) 谷田貝光克, "森林が放出する生物活性物質", 日本環境動物昆虫学会, Vol. 5, pp.83-89, 1993
- 22) 岡部敏弘, 齊藤幸司, 大友良光, "木材成分ヒノキチオールと保存剤としての利用について", 月刊フードケミカル, No. 5, pp.40-46, 1990
- 23) 松本克彦, 岡本雅子, 和田芳武, "コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニの生活史におよぼす湿度の影響", 衛生動物, Vol.37, No.1, pp.79-90, 1986
- 24) 橋本知幸, 田中生男, 上村清, "コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニの出現パターンに及ぼす温湿度の影響", 衛生動物, Vol.44, No.3, pp.185-195, 1993
- 25) 高岡正敏, 藤本義典, "室内塵ダニ相と家屋の建築後年数 (および増改築) の関連性について", アレルギー, Vol. 34, pp.866-873, 1985
- 26) 吉川翠, 芦澤達, 山田雅士, "ダニ・カビ・結露", 井上書院, 1995
- 27) 森田和矢, 成隆光, 幸形聡, 山下雅司, 吉田政弘, "ダニの増殖におよぼす真菌の影響", 防菌防霉, Vol. 22, pp.545-548, 1994
- 28) 高橋正和, 正野俊夫, 梅原利之, "Pyridaben のクワタツメダニ、コナヒョウヒダニおよびケナガコナダニに対する殺ダニ効力ならびに増殖抑制効果", 衛生動物, Vol. 41, pp.257-260, 1990
- 29) 森田慎一, 谷田貝光克, 大平辰郎, "ヤクスキ土埋木へキサン抽出物の殺ダニと抗菌活性", 木材学会誌, Vol. 37, pp.352-357, 1991
- 30) 高橋正和, 正野俊夫, 梅原利之, "NC-194 のコナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニおよびケナガコナダニに対する増殖抑制効果", 衛生動物, Vol. 43, pp.121-123, 1992
- 31) 山口一, "快適と健康性、ダニ", 建築雑誌, Vol. 114, pp.28-29, 1999

(2000年7月4日原稿受理, 2001年2月23日採用決定)