技術論文

小動物用放射性エアロゾル吸入実験装置の開発とその基礎特性

山田裕司^{*1}, 久保田善久^{*1}, 小泉 彰^{*1}, 松岡 理^{*1}

(1989年9月1日受理)

Design of Radioactive Aerosol Exposure System for Small Rodents
and Its Basic CharacteristicsYuji YAMADA,^{*1} Yoshihisa KUBOTA,^{*1} Akira KOIZUMI^{*1}
and Osamu MATSUOKA^{*1}

Radioactive aerosol exposure system for small rodents was developed, and its basic characteristics were investigated from the viewpoint of aerosol engineering on inhalation toxicology. The system has three nebulizers which liquid is feeded with syringe pump. Aerosol concentration within the exposure chamber is controlled by changing the speed of liquid feeding, and it is automatically maintained by switching one of nebulizers on the base of aerosol monitoring data from a high sensitivity photometer. Correspondingly, the air pressure and the air flow rate are controlled for keeping constant exposure. For acute exposure, animals are hold in specially designed containers, and only their noses are exposed. During exposure, the container also works as whole-body plethysmograph box and is enable us to measure animal's respiratory function.

KEY WORDS : radioactive aerosol, aerosol exposure system, inhalation toxicology, nebulizer, exposure chamber

I はじめに

空气中に浮遊している粒子状の放射性物質, つまり放射性エアロゾルを吸入摂取してしまった場合に生ずる内部被ばく影響は, プルトニウムのようなアルファ線を放出する核種のとき, とくに大きな問題となる。このため, 日本を含め世界各国で放射性エアロゾルの吸入毒性研究用にいろいろなタイプの吸入実験装置が開発された^{1~4)}。ところが, 従来の研究は, 肺沈着量とその生物効果との関係の解明というような粒子沈着後に主眼が置かれて, 沈着以前, たとえば, そのときの生体の呼吸生理状態などについては, 少なくとも実験的にはあまり関心がもた

れず, 吸入摂取時の呼吸に関する情報はほとんど得られていないのが実状である。しかし, 呼吸は, エアロゾル粒子径とともに, 吸入エアロゾルの気道内沈着部位, 沈着量を規定する重要なパラメータであり, 生体影響評価の上で欠くことができない。エアロゾル粒子径というパラメータについては, すでに, 米国ラベレス吸入毒性研究所などにおいて吸入エアロゾルの単分散化技術が確立され⁵⁾, その成果が得られつつある。一方, 呼吸については, いまだ十分にその実験手技が確立されていないようである。このため, 放医研では, まず, 第1段階として, ラット, マウスなどの小動物用に対して, 吸入投与中においてもその呼吸測定が可能なタイプの吸入実験装置の開発を試みた。本報告では, この小動物用の実験装置について, その概要・特徴を示すとともに, 曝露装置としての基礎特性について報告する。

^{*1} 放射線医学総合研究所内部被ばく研究部; 千葉市穴川4-9-1 (〒260)
Division of Comparative Radiotoxicology, National Institute of Radiological Sciences; 4-9-1, Anagawa, Chiba 260, Japan.

Fig. 1 Side view of radioactive exposure system.

Fig. 2 Schematic diagram of radioactive exposure system.

II 実験装置の概要および特徴

本装置は、プルトニウムをエアロゾル粒子化し、これを動物に吸入投与するという吸入毒性研究用の実験装置である。同時に、本装置は、プルトニウムをエアロゾル状態という空気汚染を起こしやすい形態で使用する核燃料物質取扱装置でもある。このため、装置を設計するにあたり、つぎに示すような条件を設定した。

(1) 吸入実験装置としての条件

- ① 初期肺沈着量評価精度を向上させるため、動物体表面汚染を防止すること
- ② 吸入投与中の動物の呼吸を個体別に監視、測定できること
- ③ 曝露条件を一定に維持、再現できること

(2) 安全確保のための条件

- ① 空気汚染に対する対策を講じること
- ② 重要機器の故障対策
- ③ 異常監視、警報システム

上記の設計条件にしたがって開発された小動物用放射性エアロゾル吸入実験装置の概略を Fig. 1 に示す。制御部を除く装置本体部は、グローブボックスとよばれる密閉容器内に設置されている。本体部は、大きく分けて、①溶液状あるいは懸濁液状の試料物質を霧吹き型ネブライザでエアロゾル粒子化するエアロゾル発生部、②これを高温加熱処理により酸化物エアロゾルに変える加熱酸化部、③エアロゾル濃度を一定に調節維持するコントロール機能をもった濃度調節部、④動物（最大 20 匹）にエアロゾルを鼻部曝露する吸入チャンバ部、⑤排出エアロゾルをフィルタ処理する排気処理部、で構成されている。実験装置の運転制御は、ガラス窓越しの隣室から遠隔操作される。また、曝露エアロゾル濃度、吸入チャンバ内換気流量、同圧力など各種の実験条件パラメータは、実時間で表示されると同時にマイクロコンピュータ内に保存される。実験装置のフローシートを Fig. 2 に示す。

このなかで、設計に当たっての設計条件は次のように

具体化されている。まず、吸入実験装置としての条件、①に対しては、動物を個別ホルダで保定し、鼻先のみをエアロゾルに曝すという鼻部曝露方式を採用した。この方式の採用により、投与後の汚染動物取扱が容易になるというプラス面と同時に、曝露時間の制限というマイナス面も生じた。条件②に対しては、先の動物保定ホルダをそのまま whole-body plethysmograph ボックスとして利用し、吸入中動物の呼吸測定を可能とした。動物保定ホルダ、呼吸測定法については、すでに予備的検討⁶⁾がなされている方式を採用した。条件③に対しては、エアロゾル濃度、チャンバ内換気流量などに自動調節機能を設け、実験条件の一定化、再現性の向上を図った。

つぎに、実験の安全確保のための条件①に対しては、装置本体部をグローブボックス内に設置し、さらに、吸入チャンバ、エアロゾルチャンバ内をグローブボックス内負圧レベルより下げた。また、装置からの排気には ULPA と呼ばれる超高性能エアフィルタを2段設け、グローブボックス内の汚染レベルの低減化に努めた。条件②に対しては、装置排気ポンプに予備機を設け、自動バックアップ機構で故障時に対応させた。条件③に対しては、装置各所にセンサを設け、装置の運転データを常時得るとともに、許容範囲を越えた場合には警報を発するように設定した。

Ⅲ 装置特性試験

装置の特性試験項目としては、エアロゾル試料原液のネブライザへの供給速度依存性、エアロゾル濃度の安定性、チャンバへのエアロゾル充満・排出特性、エアロゾル濃度の吸入チャンバ内空間分布、濃度・流量・圧力など実験条件の自動制御機能特性、などの基礎的な装置特性について検討した。試験粒子としては、ポリスチレンラテックス粒子（放医研製，0.4 μm 径）を用いた。エアロゾル測定には、吸入実験装置に組み込まれたフォトメータタイプの光散乱型粉塵計（柴田科学，AP-638 型）に加え、さらにレーザ光散乱型粒子計測器（Particle Measuring Systems, U.S.A., Model LAS-X）を用いた。

(1) エアロゾル濃度の試料原液送液率依存性

シリンジポンプへ送るポリスチレンラテックス懸濁液の供給速度（以下、送液率と記す）のみを変化させ、吸入チャンバ、およびその前段にある濃度調節用のエアロゾルチャンバ内のエアロゾル濃度を調べたところ Fig. 3 に示すような結果を得た。両チャンバ内のエアロゾル濃度とも、送液率が大きくなるにしたがって、その濃度が上昇した。このときのエアロゾルチャンバ内濃度 C_A 、吸

Fig. 3 Dependency of aerosol concentrations on liquid feeding rate to nebulizers.

入チャンバ内濃度 C_E はそれぞれ次式で表された。

$$C_A = 400 \cdot \log(Q_L) + 730 \quad (1)$$

$$C_E = 245 \cdot \log(Q_L) + 445 \quad (2)$$

ここで、 Q_L は試料原液の送液率である。

送液率に対し、濃度は直線的には変化しなかった。しかし、両者は上式で与えられるように一定の関係であったことから、実験した送液率範囲は依然として濃度可変範囲内にあることが示された。また当然のことながら、吸入チャンバ内とエアロゾルチャンバ内の濃度の比は一定（本実験条件下では61%）に維持されていることも確認された。

(2) チャンバ内エアロゾル濃度の安定性

ネブライザへは、シリンジポンプにより試料原液が、一定流量で供給される。シリンジとネブライザとは、シリコンチューブで結ばれているが、その間には、電磁弁、切替コックなどがあり、試料原液中に気泡が混入しやすい。気泡が混入したままエアロゾル発生が行われた場合の例を Fig. 4 に示す。まず、最初に、濃度安定化のためのコントロール回路を切った状態で発生させると気泡のため濃度は大きく変動してしまうことがわかる。しかし、ここで、濃度コントロール回路を ON にすると吸入チャンバ内のエアロゾル濃度はきわめて安定になった。このとき、ネブライザの1台が濃度調整のため ON・OFF 自動切替運転するため、濃度調節部のエアロゾルチャンバ内のエアロゾル濃度は、ノコギリ刃状の脈動変化をしている。この脈動は、吸入チャンバへも伝播しているが、その大きさはほとんど無視できるほど小さくなっている。一方、吸入チャンバ内の空気流量、圧力などは、このような場合でも流量・圧力補償機能が働き一定に維持された。

(3) チャンバ内エアロゾルの充満・排出特性

ネブライザで発生させたエアロゾルは吸入チャンバに到達する前に、エアロゾルチャンバにおいて濃度・流量・圧力などが調整される。この後、吸入チャンバ中心軸

Fig. 4 Stability of aerosol concentrations.

上部から螺旋を切るようにチャンバに入り、2重円筒間隙を通過する。吸入チャンバとしては、エアロゾル充満・排出が少しでも速い応答を示すことが望ましい。しかし、この速い応答とは、チャンバ内に濃度分布が存在することを意味する。したがって、よいチャンバとは、被験動物の鼻先空間で均一濃度を確保すると同時に速い応答性をもつことである。ここでは、まず、各チャンバへのエアロゾルの充満・排出特性について検討した。

エアロゾルチャンバ、吸入チャンバにおいて、エアロゾルが絶えず均一に分散していると仮定すると、エアロゾル濃度の変化は理論的にそれぞれ次式で表される。

$$dC_A/dt = C_0 - \lambda_A \cdot C_A \quad (3)$$

$$dC_E/dt = k_E \cdot \lambda_A \cdot C_A - \lambda_E \cdot C_E \quad (4)$$

ここで、

$$\lambda_A = Q_A/V_A$$

$$\lambda_E = Q_E/V_E$$

$$k_E = 1 - Q_B$$

t : 経過時間

C_0 : エアロゾル発生濃度

Q_A : エアロゾルチャンバ換気流量

Q_E : 吸入チャンバ換気流量

Q_B : 圧力バランス用空気流量

V_A : エアロゾルチャンバ内容積 (=22.8 l)

V_E : 吸入チャンバ内容積 (=22.3 l)

① エアロゾル充満の場合

式(3)、(4)を、 $t=0$ のとき、 $C_A=0$ 、 $C_E=0$ という初期条件下で解くことにより

$$C_A = C_0 \{1 - \exp(-\lambda_A \cdot t)\} / \lambda_A \quad (5)$$

$$C_E = k_E \cdot C_0 \{ \lambda_A \{1 - \exp(-\lambda_E \cdot t)\} - \lambda_E \{1 - \exp(-\lambda_A \cdot t)\} \} / \{ \lambda_E (\lambda_A - \lambda_E) \} \quad (6)$$

を得た。

② エアロゾル排出の場合 (エアロゾル発生停止時)

式(3)において右辺第1項 C_0 を削除し、式(4)と

もに、 $t=0$ のとき、 $C_A=C_{A0}$ 、 $C_E=C_{E0}$ という初期条件下で解くことにより

$$C_A = C_{A0} \cdot \exp(-\lambda_A \cdot t) \quad (7)$$

$$C_E = C_{E0} \{ \lambda_A \cdot \exp(-\lambda_E \cdot t) - \lambda_E \cdot \exp(-\lambda_A \cdot t) \} / (\lambda_A - \lambda_E) \quad (8)$$

を得た。

つぎに、チャンバへのエアロゾルの充満・排出特性について実験的に調べた結果を Fig. 5 に示す。試験粒子、測定器は前述の特性試験(2)と同じである。このときの各チャンバの換気流量はそれぞれ $Q_A=21$ l/min, $Q_E=15$ l/min であった。まず、チャンバへのエアロゾル充満特性であるが、エアロゾル発生開始とともにエアロゾルチャンバ内のエアロゾル濃度は急速に立ち上がり、約5分でほぼ飽和濃度に達した。また、これよりわずかに遅れて吸入チャンバ内の濃度も上昇し始め、エアロゾルチャンバと同じく約5分で濃度は安定した。一方、エアロゾル排出特性は、エアロゾル発生停止からおよそ1分間は緩やかに反応し、その後急速に濃度が低下するという充満時とは少し異なる特性を示した。この初期の反応の遅れの原因はネブライザとエアロゾルチャンバとの間の既発生エアロゾルの残留影響と考えられる。

また、図中の曲線は、先の理論式(5)~(8)を基に計算して得た濃度変化予測曲線である。ただし、エアロゾルチャンバの飽和濃度を100%とし、相対値で実験値と比較した。また、排出時においては、先に述べた反応の遅れに合わせるためエアロゾル発生停止時刻を実際よりも1分間遅らせ30分後とした。まず、チャンバ中でエアロゾルが均一に分散していると仮定して濃度変化を予測した場合、エアロゾルチャンバでは、実験値と予測値とはよく一致した。しかし、吸入チャンバにおいては、充満時、排出時ともに実験値のほうが速い応答を示し、吸入チャンバの有効内容積が幾何学的内容積と異なることが示唆された。そこで、この実験値から有効内容積を逆算したところ、充満時、排出時ともに有効内容積を幾

Fig. 5 Run-up and run-down in the exposure chamber.

何学的内容積の約1/3, つまり, $\lambda_E=0.673$ を2とすると図中の実線曲線のように実験値とよく一致することがわかった。有効内容積を直接知ることはできないが, 吸入チャンバの上下部の死腔を考慮するとこの値も十分に考えられる。

(4) 吸入チャンバ内エアロゾル濃度空間分布

多数匹の小動物に均一濃度のエアロゾルを吸入させるため, 2重円筒型の吸入チャンバの外円周上に, 20個の動物保定ホルダが2段に分けて配置されている。動物は, 保定ホルダから鼻のみを曝しエアロゾルを吸入する。ここでは, この動物の鼻先部分におけるエアロゾル濃度の空間分布を調べた。基準としたA点(吸入チャンバ中心軸に対してエアロゾルの流入方向との交差角度が0の点)とその他の点とを交互にレーザ光散乱型粒子計測器 LAS-X で測定した相対濃度を Fig. 6 に示す。この結果, 動物をセットする位置によって最大 20% 程度のばらつきが見られるものの, エアロゾルの流入方向にとくに依存することなく, おおむね均一な曝露ができることがわかった。

IV 放射性エアロゾル発生例

本装置を使用して発生させた放射性エアロゾルの1例として, ^{99m}Tc で標識された NaCl エアロゾルの発生例を示す。ネブライザ試料原液には, ^{99m}Tc ミルキングに用いた NaCl 溶液を使用した。このとき異なった粒子径のエアロゾルを発生させるため, 溶液濃度が 0.7% と 7% という2種類の NaCl 溶液を用いた。発生させた ^{99m}Tc -NaCl エアロゾルの空気力学的放射能基準粒度分布は, 濃度調節部のエアロゾルチャンバよりエアロゾルを10段のカスケードインパクト (California Measurements, U.S.A., Model PC-2) でサンプリング後, 各段

Fig. 6 Spatial distribution of aerosol in the exposure chamber.

Fig. 7 Size distribution of ^{99m}Tc -NaCl aerosol.

の捕集放射能を Ge 半導体検出器で 140 keV の γ 線計測をすることにより求めた。その結果, Fig. 7 に示すような粒度分布ヒストグラムを得た。対数正規分布を仮定して中央径 AMAD と幾何標準偏差 σ_g を算出したところ, NaCl 溶液濃度が 0.7% のとき, AMAD=0.66 μm , $\sigma_g=2.4$, 濃度が 7% のとき, AMAD=1.3 μm , $\sigma_g=2.3$ であった。発生エアロゾルの粒子径が試料原液の溶液濃度の立方根に依存することはすでに知られており, 本実験条件では, $2.2(=\sqrt[3]{7/0.7})$ 倍だけ粒子径が異なるはずである。これに対し, 本測定結果は $2.0(=1.3/0.66)$ 倍であり, 予測値とほぼ一致していた。この例で示されたように, ネブライザ試料原液が懸濁液ではなく溶液の場合には, その溶液濃度を変えることにより発生エアロゾルの粒子径を制御できることが本装置でも確認された。ただし, この方法による粒子径の可変範囲はあまり広くない。

V お わ り に

この報告では、小動物用放射性エアロゾル吸入実験装置の曝露装置としての基礎特性について報告した。しかし、これらの特性試験結果は、限られた試験項目、試験物質、試験条件における結果であり、条件が変われば特性も変化することが十分に予測される。したがって、実際に吸入実験を実施する場合には、その実験条件下において改めて装置の特性を確認した上で実験を行う必要があると考える。

ラテックス試験エアロゾル粒子の作製にあたり、日本大学生産工学部の新井孝昭講師にはその作製法のご指導をいただいた。また、同大学の森谷勇治、大野篤の両君には実際の作製作業でご助力を得た。ここに、深く感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) 渡辺征紀, 鈴木間左支; 原子力学会誌, **11**, 562 (1969).
- 2) A.P. WEHNER, D.K. CRAIG and B.O. STUART; *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **33**, 483 (1972).
- 3) O.G. RAABE, J.E. BENNICK, M.E. LIGHT, C.H. HOBBS, R.L. THOMAS and M.I. TILLERY; *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **26**, 264 (1973).
- 4) M. WALSH, J.N. PRITCHARD, A. BLACK, S.R. MOORES and A. MORGAN; *J. Aerosol Sci.*, **11**, 467 (1980).
- 5) P. KOTRAPPA, C.J. WILKINSON and H.A. BOYD; *Health Phys.*, **22**, 837 (1972).
- 6) 久保田善久, 山田裕司, 高橋千太郎, 松岡 理; *Exp. Anim.*, **33**, 535 (1984).