金属ヒュームの肺内沈着に関する研究

第3報 多分散不整形ヒュームのラット肺内への沈着率

Lung Retention of Metallic Fumes

III. Lung Retention Rate of Polydispersed Irregular Fumes in a Lung of Rats

労働衛生研究所

本 間 克 典

Katsunori Homma

National Institute of Industrial Health, Kawasaki

Several kinds of polydispersed irregular metallic fumes, which were generated from antimony, cadmium and lead chloride by the high frequency electric furnace type fume generator, were inhaled by SPF male rats of Sprague-Dawley strain in a head-only exposure chamber for 90 min in order to study the effect of particle size, biological activity and solubility of these fumes on the lung retention rate in rats.

Results obtained from the inhalation experiment were as follows.

1) Effect of particle size on the relative lung retention rate (R_L) was the same as that obtained from the inhalation of monodispersed spheric metallic fume. Furthermore, the following relationship was found to exist between R_L and aerodynamic mass median diameter (AMD or D_a): $R_L = K \cdot D_a^{-n}$.

2) The index number of lung retention (n) of 1.34 in antimony fume was larger than that in lead or tellurium fume. This means that dependency on particle size was greatest in lung retention of antimony fume.

3) R_L of cadmium having irritant effect on lung was of about the same value as that of lead fume which was inert.

4) R_L of lead chloride which dissolve to an enormous volume in water was of the same value as that of lead fume which dose not dissolve in water.

As a result of a series of metallic fume inhalation experiments, the author could recognize that the lung retention rate of metallic fume not only depended upon particle size but also influenced by the biological activity of each metallic fume.

1. 緒 言

今までに行なわれたエアロゾル粒子の肺内沈着に関する研究成果からみると、肺内沈着率におよぼす粒径依存性を考える場合、エアロゾルの粒度分布を一応対数正規分布と見做し、質量空気動力学的中央径(AMDと略記する)を用いて行なうのが、最も合理的であるとされている。

ところで、著者が単分散球形の金属ヒュームをラットに吸入させ、肺内に沈着した金属ヒュームの質量を測定して求めた相対沈着率では¹⁾、比重の異なる鉛とテルルとでAMD基準の同一粒径をもって比較すると、両者の値

は一致せず、大きな差異があることを認めた。このように単分散で球形という理想状態のエアロゾルでさえ、AMD基準の肺内沈着率が等しい値を取り得ないならば、労働環境中に発生し、浮遊する多分散不整形の金属ヒュームの場合、はたして、AMDをもとにして肺内沈着率を評価してよいものか判断することができない。そこで、多分散不整形金属ヒュームの肺内沈着率におよぼす粒径依存性を調べるとともに、肺内沈着率を変動させる粒径以外の物理化学的性質、例えば、粒子のもつ生体に対する刺激性や溶解性が肺内沈着率にどの程度影響を与えるものかを検討するために、アンチモン、カドミウムおよび塩化鉛の多分散不整形ヒュームを高周波加熱式ヒュー

ム発生装置を用いて発生し、ラットに吸入させて肺内相対沈着率を測定した。

2. 実験方法

2.1. 吸入実験装置および吸入方法

吸入装置は第1報²⁾に記載した方式のものとはほぼ同じ構成であるが、ただヒューム暴露用チャンバーの排気部に取りつけられているフィルタとトイレットファンとをはずし、それらの代りに、Fig.1 に示されるようなアンダーセンサンプラーと吸引ポンプとを取りつけた。そのような改造を行なった理由は、本実験で多分散不整形のヒュームを用いるため、粒径評価方法として、第2報¹⁾の単分散球形ヒュームの場合に採用した電子顕微鏡法で個数基準の中位径 (CMD と略記する) を測定し、これをもとにして AMD を求めることが困難なので、別の方法を採用しなければならなかった。ところで、多孔ノズル式カスケードインパクトのアンダーセンサンプラーを用いると AMD が容易に、しかも精度高く測定できることが確められている³⁻⁶⁾ので、このアンダーセンサンプラーを吸入チャンバー内のヒュームの粒度分布測定に用いるとともに、動物に吸入されずにチャンバー内に残る大部分のヒュームの除去装置として用いることが、きわめて効果的であると考えたからである。ただ、アンダー

センサンプラーの吸引空気流量が 1 cfm (約 28.3 l/min) と少いことが、動物の吸入時間中の換気を不十分にするのではないかと懸念された。そこで、吸入開始より終了までの間の、吸入チャンバー内のアンモニアガス濃度を北川式ガス検知管で測定したところ、平均 0.2 ppm で、しかも吸入時間の経過によって濃度の増加がほとんど認められなかった。したがって、吸入時の動物の飼育環境は悪化しないことが確められたので、この方式で行なっても前報¹⁾での肺内相対沈着率と大きく食い違うことがないものと判断された。

なお、ヒュームの吸入時間は90分間とし、チャンバー内の濃度の測定および管理は、前報に記載したのと全く同じ方式によった。

2.2 実験動物

Sprague-Dawley 系の雄、生後9週齢の体重が260～290 g の範囲のラットを、6匹1群としてヒュームを吸入させた。

2.3 ヒューム

吸入に用いたヒュームは金属アンチモンと金属カドミウム、および塩化鉛の3種である。これらヒュームは高周波加熱式ヒューム発生装置にて、キャリアガス流量を 3 l/min で流し、多分散状態にして発生させ、濃度調節バルブを経て吸入チャンバーへ供給した。

Fig. 1 Brock diagram of polydispersed irregular fume inhalation apparatus

Fig. 2 Electronmicrographs of polydispersed irregular fumes used for inhalation experiment

アンチモンとカドミウムは大阪アサヒメタル製の純度99.999%以上の金属材料を、また塩化鉛は和光純薬製の特級品を原料として使用した。

吸入させた各種ヒュームの形態は、吸入チャンバーのサンプリングノズルに接続した電動インパクトの捕集部に、コロジオン膜を張った電顕用シートメッシュを固定し、そのメッシュ上にヒュームを捕集して、電子顕微鏡により観察した。それらヒュームの形態を Fig. 2 に示す。

これらの粒度分布は、吸入チャンバー内のヒュームを吸入開始より終了までの90分間、アンダーセンサンプラーの7段の分級ステージと最終段のガラス繊維濾紙に捕集し、各段に捕集されたヒュームの質量をマイクロ天秤を用いて測定することにより、直接的にAMDと幾何標準偏差(σ_g と記す)とを求めた。その結果、いずれのヒュームも σ_g が1.7前後の分散状態で吸入されていることが判明した。

2.4 ヒュームのラット肺内沈着量の測定

90分間のヒューム吸入後、直ちにラットをエチルエーテル麻酔にて殺し、気管の下部より肺を切り離して取り出し、秤量後、それぞれ1匹ずつを50 ml 用キルダールフラスコに移し、精密分析用硝酸（和光純薬製、濃度60~62%）と過酸化水素水（三菱瓦斯化学製、濃度30%）とを用い、第2報¹⁾に記載したのと同じ湿式灰化法により、臓器を完全に灰化し、肺内に沈着したアンチモン、

カドミウムおよび塩化鉛を原子吸光分析法で測定できる試料とした。なお、それらの回収率については、第2報¹⁾で行なったと同じ方法でしるべ、測定誤差の範囲内で大部分が回収されていることを確認している。

測定に用いた原子吸光分光分析装置は日立製207型で、測定波長はアンチモンが217.6 nm、カドミウムが228.8 nm、鉛が283.3 nmである。原子化用焰はアセチレン-空気系を用いた。検量線作製用に使用したアンチモン、カドミウムおよび鉛の標準溶液は、和光純薬製原子吸光分析用1,000 ppm溶液を原液とし、これを純水にて希釈して作った。

2.5 肺内相対沈着率の算出法

前法²⁾で採用した方式を本実験にも適用し、ラットの呼吸量を100 ml/minとして算出した肺内相対沈着率によって比較する方法をとった。

3. 実験結果

アンチモンヒュームの肺内相対沈着率は、AMD 0.36 μ m, 0.77 μ m および 1.1 μ m の3種類について求め、Table 1 に示した。アンチモンヒュームのラット肺内への粒度別相対沈着率を、AMDをパラメータとしてみると、単分散鉛およびテルルヒュームの場合と同様、両者の間に一定の法則性が存在しているのが認められた。ただ同一粒径での肺内相対沈着率を、鉛あるいはテルルの値と比べてみると、例えば、AMD 1.0 μ m では、鉛

Table 1 Characteristics of lung retention of several polydispersed fumes in rats

Fume	AMD 〔 μm 〕	σ_g	Concentration of metallic fume 〔 mg/m^3 〕	Body weight 〔g〕	Lung weight 〔g〕	Fume in lung 〔 μg 〕	Relative lung retention rate 〔%〕
Sb	0.36	1.67	23.5	263 $\pm$ 2.5	1.13 $\pm$ 0.07	23.9 $\pm$ 5.8	11.3 $\pm$ 2.7
	0.77	1.65	60.1	266 $\pm$ 7.3	1.22 $\pm$ 0.06	30.3 $\pm$ 15.8	6.7 $\pm$ 1.9
	1.1	1.71	129	263 $\pm$ 2.5	1.17 $\pm$ 0.07	31.0 $\pm$ 2.8	2.7 $\pm$ 0.24
Cd	1.0	1.78	21.4	277 $\pm$ 4.0	1.29 $\pm$ 0.07	31.4 $\pm$ 1.6	16.3 $\pm$ 0.81
	1.2	1.64	65.3	282 $\pm$ 4.8	1.33 $\pm$ 0.08	60.5 $\pm$ 5.7	10.3 $\pm$ 1.0
PbCl ₂	1.3	1.68	21.1	267 $\pm$ 4.7	1.19 $\pm$ 0.11	31.4 $\pm$ 2.3	16.5 $\pm$ 1.2

の約1/4, またテルルの約1/8に過ぎず, 極端に低い沈着率であることが判明した。

カドミウムヒュームについては, AMD 1.0 μm と 1.2 μm の2点で測定し, その結果を同じく Table 1 に示した。互いに接近した2点の AMD における肺内相対沈着率の値には若干の差異が認められる。しかし, 両者のグループ内変動と粒度分布を考慮して, 同じ AMD での単分散鉛ヒュームの沈着率と比較してみると, カドミウムヒュームの場合は, ほぼ同じ沈着率を与えることがわかった。

塩化鉛ヒュームは, 水に可溶性な粒子が肺内に吸入された場合に, 沈着率が同一粒径の金属ヒュームの示す値とどの程度異なるのかを調べる目的で用いたエアロゾルである。そこで, アンチモンやカドミウムの粒径と揃える意味で, AMD 1.3 μm のヒュームを発生させて, 肺内相対沈着率を求め, 同じく Table 1 に示した。この 16.5 $\pm$ 1.2% なる肺内相対沈着率は, 同じ AMD の単分散鉛ヒュームでの15.4%とほぼ同じ値であった。

4. 考 察

4.1 多分散ヒュームの肺内沈着率におよぼす粒度依存性

前方において, 鉛およびテルルの単分散球形ヒュームを用い, ラット肺内への相対沈着率におよぼす粒度依存性を, AMD をもとにして調べた結果, 肺内相対沈着率 (R_L) と AMD (D_a) との間に, 次式で示される関係が認められるとともに, ICRP⁷⁾ が提唱したエアロゾルの肺内沈着モデルも (1) 式をほぼ満足し, 沈着指数 (n) が鉛ヒュームでの0.72とほぼ一致した0.74であることが明らかになった。

$$R_L = K \cdot D_a^{-n} \quad \dots\dots\dots (1)$$

そこで, 次に, 労働環境において一般に見られる多分散不整形の金属ヒュームでも, (1) 式に従う粒度依存性をもって肺内沈着が行なわれるものかを確認するため, モデ

Fig. 3 Relationship between relative lung retention rate and aerodynamic diameter of monodispersed and polydispersed fumes

ルヒュームとして多分散不整形のアンチモンヒュームを発生し, 前報¹⁾と同条件でラットに吸入させて, 肺内相対沈着率を種々の AMD について測定し, 粒度依存性を調べたところ, Fig. 3 に示される結果となり, 多分散不整形ヒュームの場合も, AMD 基準で肺内相対沈着率を整理すると, 単分散球形ヒュームの場合に認められた関係式が同様に成立することが明らかにされた。

ところが, (1) 式での n の値は, 鉛と ICRP とでは一致したものの, テルルでは0.36と鉛の約1/2で, 肺内沈着における粒度依存性があまり大きくないという結果が得られた。また, 今回の実験に用いたアンチモンでは, 1.32で鉛の約2倍となり, 粒径がわずかでも変ると, 沈着率が大幅に変動するという結果になっている。

このように, 物質の種類によって沈着指数が異るとい

うことは、ヒューム粒子が肺内沈着する過程において、肺内という高温多湿の環境にさらされるため、それぞれ物質ごとに、物理化学的性質の変化する程度が異なることが予想され、それが原因となって沈着指数に差異を生ずるのか、それとも、ヒュームを構成する物質の有する生体への作用性の差が、このような結果をもたらすのか検討の要がある。

4.2 ヒュームの生体作用が沈着率に及ぼす影響について

カドミウムヒュームは吸入された場合、肺に対して激しい局所刺激を与え、その結果肺水腫をひきおこすことはよく知られている。その作用性はきわめて強く、興⁸⁾らがカドミウムヒュームをラットに90分間吸入させ、その1時間後の肺胞内マクロファージを生理的食塩水で洗滌して取り出し、1匹当りの個数を測定してみると、正常値が 5×10^6 個前後であるのに対し、 5×10^5 個前後と約1/10に減少してしまつたと報告している。従って、このように生体作用の強いヒュームならば、肺内沈着率を低くさせるのではないかと考えて行なった実験の結果は、吉川ら⁹⁾がAMD 1.3 μm の金属カドミウムヒュームをラットに30分間暴露させて測定した肺内沈着率14.5%、またBarrettら¹⁰⁾の酸化カドミウムをラットに吸入させた際の肺内沈着率11%等と比較しても、値は大差なく、鉛ヒュームでの値とほぼ等しいものであった。従って、この結果からは、アンチモンヒュームのAMD 1.1 μm での肺内相対沈着率が2.7%という極端に低い値となることを説明し得ないものとなつてしまった。しかし、興⁸⁾がアンチモンヒュームについて、カドミウムで行なったのと同じ方法で、吸入後のマクロファージの個数の変化を調べた結果では、カドミウムの場合より減少率は更に大きく、1時間後のマクロファージの量は 1×10^5 個前後で、実に正常値の1/50にまで減少していた。このことから、アンチモンの生体作用強度はカドミウムより強いと考えられる。従って、肺内沈着におけるヒュームの生体作用性を検討するための実験として、著者がカドミウムを選んだことは適当とは言えず、更に生体作用の強いヒュームを選定し、吸入実験を行なう必要があると考えられた。

4.3 ヒュームの溶解性が沈着率に及ぼす影響について

アンチモンヒュームは若干ながら水に溶解する。その溶解度については、興¹¹⁾が幾何学的粒径0.17~0.25 μm (AMD 0.53 μm に対応)のものを、タイロッド氏液に分散させ、2時間後の値を測定し、89 $\mu\text{g}/\text{ml}$ なる

溶解度を得ている。

一般に、水に可溶性のエアロゾル粒子は肺に沈着した場合のクリアランスが早いといわれている¹²⁾。クリアランスが早ければ、本実験で用いている肺内沈着率の算出方式では、当然、沈着率を低く評価する。また、一方において、吸湿により粒子が成長したり¹³⁾、凝集したりして粒径が大きくなれば、エアロゾル粒子は細気管支や肺胞に到達する以前に上気道部に沈着し、肺内沈着率は低下する。

そこで、ヒュームのもつ溶解性が肺内沈着率にどの程度影響を与えるかを調べるため、20℃の純水に対し、9.9 mg/ml もの溶解度¹⁴⁾を有する塩化鉛よりヒュームを発生し、これをラットに吸入させて、肺内相対沈着率を測定した。その結果は、水にほとんど溶解しない鉛ヒューム¹¹⁾の肺内相対沈着率とほぼ同じ値であった。このことから、塩化鉛程度の溶解度のヒュームでは、90分間の吸入時間内で、クリアランスはほとんど問題にならず、また吸湿による粒子の成長あるいは凝集があったとしても、肺内沈着率に影響を与える程には至らないのではないかと考えられた。従って塩化鉛の約1/100しか溶解しないアンチモンヒュームにおいて、その溶解性がとくに肺内沈着率を極端に低くした原因とは考えられない。

以上、多分散不整形ヒュームの肺内沈着における粒度依存性を検討するために行なった実験結果から、若干の生体作用や水に溶解性を示すヒュームでも、肺内沈着率はAMD基準の粒度依存性にもとづいて規定されるとする見方が妥当であるように考えられた。しかし、なにぶんにも実績が少いので、更に実験を行ない、その結果にもとづいて結論を出したい。

また、アンチモンヒュームの場合に、きわめて低い肺内相対沈着率が与えられたことについては、その原因として、呼吸量の変化とか気道狭窄などをひきおこすヒュームを構成する物質の性質にもとづく強度の生体作用、あるいはそれ以外の未知の作用によるものと推察することができたものの、現時点において、その主たる要因を言及するまでに至らなかった。この点については今後の研究に待たざるを得ない。

5. 総 括

多分散不整形のアンチモンヒュームを発生し、ラットに90分間吸入させて、肺内相対沈着率(R_L)を測定し、粒度依存性を調べたところ、単分散球形ヒュームで認められたのと同様に、AMD(D_a)との間に $R_L = K \cdot D_a^{-n}$ なる関係が成立するのを見出した。しかし、沈着指数

(n) の値は1.34とすこぶる大きく、単分散鉛ヒュームの約2倍、同じくテルルヒュームの4倍で、肺内相対沈着率に及ぼす粒度依存性が大きいという結果が得られた。それだけに、粒径が大きくなると極端に沈着率は低くなり、AMD 3.0 μm での R_L の値は、実に1%に過ぎない。このような低い沈着率を与える原因として、ヒュームの有する生体作用と水溶性とを考慮し、モデルヒュームには肺に刺激性を示すカドミウムとかなりの溶解度をもつ塩化鉛とを当て、それぞれ肺内相対沈着率を測定した。その結果は、両者とも生体作用がほとんどなく、水にも溶けない単分散鉛ヒュームが示した肺内相対沈着率とほとんど変らない値を示した。この実験結果から、若干の生体作用や水溶性を有する多分散不整形ヒュームも単分散球形ヒュームと同様に、AMD 基準で肺内沈着率におよぼす粒度依存性を規定できるのではないかと考えられるに至った。しかし、アンチモンヒュームの場合の極端に低い肺内相対沈着率の出現については、それがいかなる原因によってもたらされたものであるかを明らかにすることができなかった。また、前報¹⁾でのテルルヒュームが、粒度依存性に乏しく、高い肺内相対沈着率を与えた原因も不明のままである。

稿を終るに当り、本研究の遂行に際し、終始御懇篤な示唆と御校閲を賜った、昭和大学医学部衛生学教室 小池重夫教授に深甚なる謝意を表します。また、実験に際し、御指導を賜った、当研究所 吉川博博士、河合清之博士に深謝致します。

文 献

- 1) 本間克典: 金属ヒュームの肺内沈着に関する研究, 第2報 単分散球形金属ヒュームのラット肺内への沈着率, 日衛誌, **30**, 632-638 (1976).
- 2) 本間克典: 金属ヒュームの肺内沈着に関する研究, 第1報 ラット用金属ヒューム吸入実験装置, 日衛誌, **30**, 323-330 (1975).
- 3) Andersen, A. A.: New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles, J. Bacteriol., **76**, 471-484 (1958).
- 4) Andersen, A. A.: A sampler for respiratory health hazard assessment, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., **27**, 160-165 (1966).
- 5) Flesch, J. P., Norris, C. H. and Nugent, A. E.: Calibrating particulate air samplers with monodisperse aerosols; Application to the Andersen cascade impactor, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., **28**, 507-516 (1967).
- 6) 本間克典: 大気汚染粒子状物質の粒度分布測定, 公害と対策, **9**, 833-842 (1973).
- 7) ICRP Committee II (Chairman: Morrow, P. E.): Deposition and retention models for internal dosimetry of the human respiratory tract, Health Phys., **12**, 173-207 (1966).
- 8) Koshi, K., Homma, K. and Sakabe, H.: Responses of alveolar macrophage to metallic fume, Ind. Health, **13**, 37-49 (1975).
- 9) 吉川博, 本間克典: ラットにおける金属カドミウムヒュームの吸入毒性, 産業医学, **16**, 212-215 (1974).
- 10) Barrett, H. M., Irwin, D. A. and Semmons, E.: Studies on the toxicity of inhaled cadmium, I. The acute toxicity of cadmium by inhalation, J. Ind. Hyg. Tox., **29**, 279-285 (1947).
- 11) Koshi, K., Homma, K., Kohyama, N. and Sakabe, H.: The solubility and the cellular toxicity of metallic fume, Ind. Health in press.
- 12) Hatch, T. F. and Gross, P.: "Pulmonary deposition and retention of inhaled aerosols" p. 74, Academic Press, New York and London (1964).
- 13) Dautreband, L. and Walkenhorst, W.: Deposition of NaCl microaerosols in the respiratory tract, Arch. Environ. Health, **3**, 411-419 (1961).
- 14) 日本化学会編 "化学便覧基礎編 I" p. 60, 丸善, 東京 (1965).

(受付 1976年1月13日)