原 著

真珠岩を特殊処理した油除去剤による ラット肺組織に対する線維増殖刺激性 に関する実験的研究

上 田 厚*, 上 田 忠 子*, 野 村 茂*

AN EXPERIMENTAL STUDY ON FIBROGENESITY OF THE OIL ABSORBANT PARTICLES MADE OF PERLITE EXPANDED

Atsushi UEDA†, Tadako UEDA† and Shigeru NOMURA†

We examined the tissue reaction of the oil absorbant particles made of perlite "expanded." Five milligrams of perlite dust suspended in 5% alcohol was infused intratracheally into lungs of rats, and 12 weeks after the injection tissues from the left lung of the rats were examined pathohistologically. Tissue hydroxyproline in the right lung of each rat was quantitatively determined.

The results are summerized as follows.

Twelve weeks after the injection, some of the alveolar ducts and alveoli were filled with particles of perlite duct, and the wall of these alveoli was thickened in which phagocytes and lymphocytes were observed. Giant cell granulomatous foci and infiltration of numerous mononuclear or rounded cells were found in the interstitium of the intraalveolar septa of the lung. In these foci fibroblast proliferation was observed, but the replacement to collagen fibers was not so strong. Glallet's cell proliferation was observed sporadically. The amount of tissue hydroxyproline was estimated to be 3.95 ± 0.59 mg (per dry weight) for the perlite group, 5.62 ± 0.94 mg for the quartz sands group and 6.38 ± 1.89 mg for the kaolin group.

The results suggest that the perticles of perlite "expanded" does not show so strong fibrogenesity to the lung tissue. However, the lung would have shown fibrosis slowly but steadily, if large quantity of particles of perlite had been deposited for a long time in the alveoli.

I. 結 言

真珠岩 (perlite) を特殊処理した油吸着剤 (perlite 製品) が、浮遊油、含油工場廃水などの油除去剤として用いられている。製品は、白色砂状の粉体で、Anderson¹⁾ その他の分析によれば、石英含量は少ないものの、けい酸含量が高く、ガラス質のため水に難溶、かつ、化学的にきわめて安定である。また、油吸着剤としての用途のほかに、絶縁体、ろ過剤、充填剤、土壌調整剤としても用いられており、産業界における需要はきわめて大きい。したがって、perlite 製品の生産量や使用量は、今後、増大してゆくものと推測されるが、前述のごとき物理化学的性状よりみて、このものの製造工程や現場での

使用に際し、粉じん吸入に伴う呼吸器病変の発生が予測される。わが国においては、いまだかかる症例の報告はないが、Cooper^{2,3)} は、米国における perlite 鉱業従業員を検診し、直接 perlite じんの吸入に起因するとみられる病変は確かめられなかったものの、少数ながらX線写真上にじん肺所見のみられる例を認め、今後なお継続的な観察が必要であることを報告している。かかる報告例に注目し、著者らは、perlite 製品の rat 肺組織に対する線維増殖刺激性の有無を経気管的注入実験法を用いて検索し、若干の知見を得たので報告する。

II. 実験材料および実験方法

試料は、吸油用として市販されている粉体で、その化学組成は Table 1 のごとく、流紋岩ときわめて類似である。このものを、200 mesh でふるい軽く乳鉢で研摩した「ふるい群」(Fig. 1a) と、ball-mill で4時間粉砕した「粉碎群」(Fig. 1b) に分類し、それぞれ、5%

* 熊本大学医学部公衆衛生学教室
昭和52年12月19日受付

† Department of Public Health, Kumamoto University
Medical School

Received for publication, December 19, 1977

Table 1. Chemical composition of perlite expanded.*

SiO ₂	75.5%
Al ₂ O ₃	15.3
Fe ₂ O ₃	0.9
CaO	0.1
K ₂ O	4.0
Na ₂ O	3.5

* From the report of Mitsui Kinzoku Kogyo, Co. Ltd., Tokyo, 1973

alcohol 液で懸濁し, King ら⁴⁾の方法により, 1頭あたり 5 mg (1 ml) を経気管的に rat (Wister 系雄性, 12 週齢) 肺内へ注入した. 実験頭数は, 「ふるい群」が合計 14 頭 (1 週後解剖 4 頭, 4 週後 5 頭, 12 週後 5 頭), 「粉碎群」が 15 頭 (4 頭, 5 頭, 6 頭) であった. なお, 注入に際し, 1 頭あたり結晶 penicillin G カリウム 2,000 単位を混合し, 感染を予防した. 注入後 12 週まで飼育し, 屠殺・剖検後, 左肺を病理組織学的 (H. E. 染色, V. G. 染色) に検索し, 更に, 右肺につき, それぞれの試料における肺内 collagen 生成量を比較検討するために, 組織 hydroxyproline (以下 HOP) 量を測定した. HOP は, 生体の collagen の構成タンパクとして glycine に次いで含有量が多く, しかも, そこにのみ特異的に存在することが知られており, 組織, 尿中, 血中の HOP 量は, collagen 代謝に異常をきたす疾患, とくに, 線維増生性病変の診断や症度の判定にきわめて有用である. 定量にあたっては, Stacy ら⁵⁾の方法により,

乾燥細分化した右肺組織を 6 N-HCl で加水分解し, 中和後, Kivirikko and Prockop⁶⁾の方法により, 酸化した HOP を toluene で抽出し, 比色定量した.

対照として, 染土 (6 頭), 石英砂 (6 頭), kaolin (4 頭), 5% alcohol 液 (4 頭) を用いた. なお, 懸濁水として 5% alcohol 液を用いたのは, perlite が生食水などでは懸濁できないためである.

III. 実験成績

1. 病理組織学的所見

各群の病理組織学的所見をまとめ, Table 2 に示した. 染土群は, すでに述べたごとく⁷⁾, 肋膜面を透して帯青色の粉じん巣を散見するが, perlite 群では, 経時的に肺の硬度は増してゆくものの, 粉じん巣を透見する例はなかった.

組織学的には, 対照とした alcohol 群においても, phagocytes, lymphocytes, brown cells などの浸出による肺胞中隔の肥厚を認めるが, perlite 群では, brown cell の出現はみないものの, それに加うるに, 比較的粉じんの集簇した個所に, 単核および円形の細胞の浸潤による肉芽の形成がみられ, とくにふるい群では, 巨細胞性肉芽の形成も認められた. また, かかる肉芽組織では fibroblast の増殖も認められた (Fig. 2). Perlite 粉碎群も同様の所見をみるが, 増殖性変化の程度はふるい群に比しやや弱く, 粉じん注入後 12 週においても, 大量の粒子が取込まれた個所に肺胞壁の肥厚をきたす増殖性反応をみるものの, 染土や石英じんにおいてみられるごとき, 明瞭に他と境された粉じん巣を形成するまでには

Fig. 1a. "Sieved" sample for injection: perlite sieved at 200 mesh per 314 cm².

Fig. 1b. "Crushed" samples: perlite crushed by a ball-mill for 4 hours (the same magnification as in Fig. 1a).

Table 2. Pathological changes in rat lungs by intratracheal injection.*

Sort of dust		Perlite		Quartz	Sendo	Kaolin	5% Alcohol
		Sieved	Crushed				
Particle size (μm)		4.25×4.25	1.70×1.09	2.84×2.68	3.14×3.10	2.82×2.89	—
Number of test animals		5	6	8	4	4	4
Macroscopic findings of lung	Pleural adhesion	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
	Hemorrhage and hyperemia	($\pm$)	($\pm$)	($\pm$)	($\pm$)	($\pm$)	(—)
	Dust foci through pleura	($\pm$)	($\pm$)	(+~++)	(++)	(+)	(—)
Microscopic findings of lung	Dust retention	(+~++)	(+)	(+)	(++)	(+~++)	(—)
	Macrophage	(+)	(++)	(+)	(+~++)	(+~++)	($\pm$ ~+)
	Giant cell	(++)	($\pm$ ~+)	($\pm$)	($\pm$ ~+)	($\pm$ ~+)	(—)
	Fibroblast	($\pm$ ~+)	($\pm$)	(++)	(++)	(+)	($\pm$)
	Fibrosis	($\pm$)	(—~ $\pm$)	(+)	(+)	(+)	(—)
	Atelectasis	(++)	(+~+++)	(+++)	(+++)	(+~+++)	($\pm$ ~+)
	Changes of lung tissue						
	Emphysema	(+)	($\pm$ ~+)	(+)	(+)	($\pm$ ~+)	(—)
	Pneumonia	(+)	(+)	(+++)	(++)	(+)	(+)
	Abscess	(—)	(—)	(—)	(—)	(+)	(—)
	Changes of bronchus	(+~++)	(+)	(++)	(++)	(+)	($\pm$)
Findings of hilar lymph node		($\pm$)	($\pm$)	(+~++)	(++)	($\pm$)	(—)

* The result of 12 weeks after the injection

至らない(Fig. 3). また, perlite 両群とも, 細気管支の粘膜上皮の変化や血管壁の肥厚, 変性などの所見は肺野全般にみられた.

石英砂群 (Fig. 4), あるいは, 染土群 (Fig. 5) は比較的強い肺胞中隔の増殖性反応をみ, 血管壁の変化も強く, 粉じん巢は, fibroblast をはじめ増殖細胞が同心円状配列を示す傾向が強い. また, kaolin 群においても比較的強い増殖性反応がみられた (Fig. 6). ただし, 注入後3か月における膠原線維の増生は, いずれの実験群間においても著明な差異は認められなかった (V.G. 染色).

2. 右肺 HOP 量

各群の肺組織中の HOP 濃度は 1%~2% であったが, collagen 生成量として比較検討するために, それぞれ, 右肺乾燥重量に換算し総 HOP 量として示した.

HOP 量は, Fig. 7 のごとく, 経時的に上昇してゆくが, 注入後 12 週の総 HOP 量は, perlite 群が, ふるい群, $4.20 \pm 0.63 \text{ mg}$ ($14.7 \mu\text{g}/\text{mg}$), 粉碎群, $3.74 \pm 0.45 \text{ mg}$ ($17.0 \mu\text{g}/\text{mg}$), 両群の平均, $3.95 \pm 0.59 \text{ mg}$ (16.0

$\mu\text{g}/\text{mg}$) で, 石英群 ($5.62 \pm 0.94 \text{ mg}$) ($p < 0.01$, perlite 群平均に対する有意性), kaolin 群 ($0.38 \pm 1.89 \text{ mg}$) ($p < 0.01$), 染土群 ($4.21 \pm 0.37 \text{ mg}$) に比し低値, alcohol 群 ($3.33 \pm 0.50 \text{ mg}$) に比し高値を示した. なお, 無処置群の HOP 量は, $3.32 \pm 0.40 \text{ mg}$ であった.

かかる肺内変化を総合して, 各粉体の増殖刺激性の強さを比較検討すると, 石英砂群 > kaolin 群 > 染土群 > perlite ふるい群 = perlite 粉碎群 > alcohol 群の順となった.

IV. 考 察

Perlite はガラス質の流紋岩で, 黒曜石を核とした真珠構造を持つもろい岩石である. 吸油用として製品化されている粉体は, このものを加熱膨張させ, その表面を特殊処理して, 連続性の小気胞をもたせたもので, 吸着の原理は各粒子の毛細管現象にあるとされている. Perlite が産業界に広く用いられるようになってきたのは第二次大戦後のことであるが, その用途の広さよりみて, その需要は今後とも大きいものと思われる.

Fig. 2a. Giant cell granuloma in rat lung by injection of perlite "sieved" (four weeks after the injection). By H and E staining.

Fig. 2b. Similar findings as in Fig. 2a by perlite "sieved" but 12 weeks after injection. By H and E.

Fig. 3a. Dust foci and hypertrophy of muscles of blood vessel by perlite "crushed" (4 weeks). By H and E.

Fig. 3b. Dust foci and macrophage proliferation by perlite "crushed" (12 weeks). By H and E.

製品化された perlite は、前述のごとく、白色砂状の脆い粉体である。Anderson ら¹⁾の分析によれば、perlite は、75%のけい酸分を含む非結晶性の粉体で、遊離けい酸含量は、1~3%である。遊離けい酸含量については、そのほかに、McCrone Associates²⁾の分析成績があるが、その成績は、0.5~5.8%である。また、Cooper³⁾が個人的に得た知見では、まったく結晶性成分の認められない試料もあるようである。著者らが今回の実験に用いた perlite 製品の X 線回折成績は、Fig. 8 のごとくで、石英の反射はほとんどみられない。ところで、Vorwald は⁹⁾、9種の perlite を、guinea pig を用い、経気管的注入実験により、その増殖刺激性を詮索しているが、明らかな線維増殖性反応は認めていない。これらの知見を基礎に、ACGIH は¹⁰⁾、この粉体を、nuisance dust に分類し、その許容濃度を 10 mg/m³ としている。

今回の実験は、注入後3か月までの経過をみたもので

あり、Vorwald の実験に比し、注入量や試料とした製品が異なるが、彼の実験成績を追試し、わが国における perlite 製品の肺組織に対する刺激性を経気管的注入法をもって確かめんとしたものである。また、組織の HOP 量を測定し、比較的弱い線維形成能を示すと思われる粉体の組織変化をより定量的に観察することを試みた。注入にあたって試料を2群に分類したが、これは、できるだけ作業現場での様態に近い形状を得るために「ふるい群」($3.25 \times 3.23 \mu\text{m}$)を、注入粒子の粒径を一定に揃えるために「粉碎群」($1.49 \times 1.82 \mu\text{m}$)を用い、両者の反応の差を比較検討するためである。

いずれの実験群も、一般に難溶性の粉体の示す細胞増殖刺激性が認められ、肉芽腫の一部には fibroblast の増生もみられる。しかしながら、石英じんや染土じんに比し、膠原線維の増生は著しいものではなく、増殖細胞の同心状配列の傾向も弱く、組織 HOP 量は低値を示した。したがって、注入後3か月までの変化よりみて、

Fig. 4. Dust foci by quartz sands (12 weeks). By H and E.

Fig. 5. Dust foci and macrophage proliferation by sendo (12 weeks). By H and E.

Fig. 6. Dust foci by kaolin (12 weeks). By H and E.

Fig. 7. Content of hydroxyproline in lung tissue.

Fig. 8. X-ray diffraction of perlite expanded.

perlite 製品の rat 肺組織に対する線維増殖刺激性はそれほど強くないものと推測される。しかしながら、Vorwald のいうごとく、perlite じんを、non-fibrogenic dust,あるいは、innert dust と分類するよりも、このものが長期にわたり、とくに大量に、肺内に滞留する場合には、ILO 国際じん肺委員会¹¹⁾のいう“fibrogenic dust”が示すとき fibrosis を形成する可能性があるかと判断すべきであろう。とくに、perlite ふるい群は、粒径が比較的大で辺縁の鋭い粒子であるが、石川ら¹²⁾の実験成績よりみて、かかる状態では粉じんの肺内沈着率が高まり、気管支変化が増強する。しかも、perlite 製品はきわめて細かい粉体で、製造工程や現場での使用に際し、容易にかかる形状に変化しうるものと考えられる。

ところで、このものを ball-mill で粉砕すると、若干その物理化学的性質が変化するようで、この場合生食水への懸濁が可能となる。これについては更に詳細に追求しなければならないが、ふるい群と粉砕群では、その組織反応性に若干の違いがみられた。すなわち、ふるい群では、巨細胞が多数出現する例がみられるが、粉砕群ではかかる変化は例外的で、むしろ macrophage の出現が著しい。

更に、吸油の原理は、粒子の小気胞による毛細管現象を利用したものであるが、肺組織内でかかる吸着作用が働けば、それによる何らかの負荷が生体にかかるものと考えられる。

わが国におけるこのものの製造現場においては、perlite じん吸入によるじん肺の発生例は、まだ報告をみないが、かかる見地よりみて、防じん対策や健康管理対策を積極的に進めてゆく必要があろう。

V. ま と め

真珠岩 (perlite) を加熱処理した吸油用粉体に関し、rat 肺組織に対し経気管的注入実験を実施した。その結果、このものは、肺組織に対し、一般に難溶性の粉体が示す細胞増殖刺激性が認められ、とくに大量に肺内に取

込まれた場合、緩徐ながら fibrosis をきたす可能性のあることが示唆された。

今回の実験にあたり、懸濁液の作製、および、組織 HOP 量測定に関しご教示いただいた、産業医学総合研究所奥喜美子先生に深甚なる謝意を表します。また、病理学的検索にご協力いただいた熊本大学医学部佐藤和子先生に深く感謝いたします。

なお、この論文の要旨は、第 49 回日本産業医学会総会 (岡山 1976 年) にて報告した。

文 献

- 1) Anderson, F.G., Selvig, W.A., Baur, G.S., Colbassani, P.I. and Bank, W.: Composition of Perlite, Bureau of Mines Report of Investigations 5199, U.S. Bureau of Mines, Washington, DC, 1956.
- 2) Cooper, W.C.: Radiographic survey of perlite workers, J. Occup. Med., 17(5): 304—307, 1975.
- 3) Cooper, W.C.: Pulmonary function in perlite workers, J. Occup. Med., 18(11): 723—729, 1976.
- 4) King, E.J.: The action of flint of variable size; injected of constant weight and constant surface into the lungs of rats, Br. J. Ind. Med., 10: 76, 1953.
- 5) Stacy, B.D. and King, E.J.: Die Bestimmung von Kollagen im fibrotischen Gewebe, Die Staublungener Krankheiten, Bd. 3, 189—197, 1957.
- 6) Kivirikko, K.I., Laitinen, O. and Prokop, D.J.: Modifications of a specific assay for hydroxyprolin in urine, Anal. Biochem., 19: 249—255, 1967.
- 7) 上田 厚: 染土によるじん肺に関する実験的研究・その 1 (抄) 産業医学, 16(4): 374, 1974.
- 8) McCrone, W.C. Associates, Inc.: Determination of Free Silica in Perlite, Report to Mr. Frank M. Coda, Perlite Institute, Inc., Chicago, January 18, 1971.
- 9) Vorwald, A.J.: Perlite Dust Investigation, Final Report: The Effect of Inhaled Perlite Dust upon the Lungs of Normal Animals, to the Perlite Institute by the Saranac Laboratory of the Trudeau Foundation Saranac Lake, New York, March 12, 1953.
- 10) ACGIH: Documentation of the Threshold Limit Values, 1971.
- 11) Forth International Pneumoconiosis Conference,

Working Group on Definition of Pneumoconiosis,
September 27-October 2, Bucharest, 1971 (ILO,
Geneva, 1971).

12) 石川孝夫, 阿部 影: 粉じん粒度による組織反応の差
異について——動物実験成績の検討——, 労働科学, 44
(7): 372-386, 1968.

著者への通信先: 上田 厚, 〒860 熊本市本荘 2-2-1 熊本大学医学部公衆衛生学教室
Reprint requests to Department of Public Health, Kumamoto University Medical School,
2-1, Honjo 2-chome, Kumamoto, 860 Japan (A. Ueda)