

9. 電子タバコにより発生した薬物含有エアロゾルの 生体影響に関する研究

○外館 史祥、岩橋 孝祐、熊坂 謙一（神奈川県衛生研究所）

【研究目的】

電子タバコを用いて乱用薬物を吸入する方法は海外だけでなく、国内でも確認され逮捕者も出ているなど、新たな乱用手段として社会的問題となっている。2019年の同地域保健福祉助成研究では、薬物含有の電子タバコ用リキッド（以下、e-リキッド）を用いて、電子タバコより発生した蒸気を捕集する薬物捕集方法を構築し、e-リキッドの組成（主成分のプロピレングリコールとグリセロール）に応じて、発生蒸気中の薬物量が異なることを明らかにした¹⁾。電子タバコより発生する蒸気は、粒径の異なる粒子が混在しているエアロゾルであり、肺へ到達・沈着することで循環血に吸収され全身作用を示す。そのエアロゾルの粒径別の薬物量は肺への到達度合いや沈着量に影響を与えるため、薬物の生体影響を予測する上で重要な因子であるが、その詳細は明らかでない。また、エアロゾル中の薬物の肺への到達・沈着は、単に粒径だけでなくe-リキッドの成分・組成等の要因も関係すると考えられる。そのため、薬物含有エアロゾルの粒径別の薬物量と肺への薬物沈着量との相関関係を示すことが、有害作用等を予測のために重要である。そこで本研究では、主成分であるプロピレングリコールとグリセロールの組成比を変化させた薬物含有e-リキッドを用い、発生させたエアロゾルの粒径別の薬物量について検討した。さらに、電子タバコより発生したエアロゾルの吸入による生体影響を評価する為、吸入曝露試験法を開発し、マウスへ曝露後の自発運動量の結果から、試験法の妥当性を評価した。

【研究の必要性】

一般に薬物の経肺吸入は、薬物の吸入経路として肺の表面積が小腸に匹敵することや、初回通過効果を回避可能であること等、少量で薬効を示し、かつその発現までの時間は早い。よって、乱用薬物を電子タバコにより吸入した場合、その有害作用は経口で摂取した時よりも強くなる。実際に海外では乱用薬物を含んだ電子タバコで吸入したことによる死亡事例も出ており大きな問題となっている。そのため、電子タバコによる薬物吸入に関する基盤的なデータを把握しておくことは、生体に対する有害作用を予測することにつながる。また、電子タバコによる乱用薬物の吸入に係る有害性の正確な情報について、行政や住民に周知することで、健康被害防止や薬物乱用防止の一助になると考えられる。

【研究計画】

1 試薬及び機器等

カフェインは富士フィルム和光純薬工業(株)製の試薬特級カフェイン、グリセロール及びプロピレングリコールは使用実態に則すため、それぞれ電子タバコ専門店から購入したベジタブルグリセロール(VG)及びプロピレングリコール(PG)製品を使用した。

薬物の分級には、SKC社製のSioutas Five-stage Cascade Impactor (以下、インパクター)を使用した。

2 実験動物

雄性ICRマウスを日本SLC(株)より4週齢時に購入し、5週齢まで実験室内で飼育した後、試験に用いた。なお、動物実験は事前に神奈川県衛生研究所動物実験環境安全管理部会の承認を得てから実施した。

3 試験方法

(1) エアロゾルの分級

検討にあたり、試験模擬的な薬物として、中枢神経の興奮作用を有するカフェインを用いた。

試験に用いた薬物含有e-リキッドは、PG/VG=30:70、VG/PG=50:50及びPG/VG=70:30(いずれも体積比)の3組成に対し、それぞれカフェインの濃度が1 mg/mLになるように溶解し、調製した。



図1 インパクター(左)とその分解図(右)
A~D: コレクタープレート、E: アウトレットプレート

エアロゾル分級装置は、電子タバコ、インパクター及び吸引ポンプの順にシリコンチューブで接続して構築した。電子タバコは、0.5Ωチタンコイルを用いて、温度管理機能モードでコイルの加熱温度を250℃、電力を40Wに設定した。薬物捕集に用いたインパクターは図1に示すとおりであり、5つのプレートから構成され、エアロゾルを2.5 μm以上、1.0-2.5 μm、1.0-0.5 μm、0.5-0.25 μm (A~D) 及び0.25 μm以下 (E) に分級可能である。A~Dのコレクタープレートにはそれぞれ0.5 μm孔径の、Eのアウトレットプレートには1.0 μm孔径の親水性PTFEメンブレンフィルターを用いた。吸引ポンプの吸引速度は9.0 L/分とした。模式的な吸入実験として、e-リキッドの蒸散は、電子タバコの加熱ボタンを1回あたり2秒間押し続けることとし(=1 puff)、吸入回数は1回ごと30秒間隔を開けて、合計3回とした。薬物を捕集後のコレクタープレートに用いたPTFEメンブレンフィルターにはそれぞれメタノールを1 mL、アウトレットプレートに用いたPTFEメンブレンフィルターにはメタノールを2 mL添加し、3分間超音

波処理した後、試料溶液とした。試料溶液は適宜希釈し、報告書¹⁾記載の分析条件のとおり、LC/PDA法で測定し、1 puffあたりの各フィルターのカフェイン捕集量（以下「カフェイン量」とする）を測定した。

(2) 吸入曝露試験法

試験に用いた薬物含有 e-リキッドは PG/VG=70:30 の組成に対しカフェインの濃度が 1 mg/mL、3 mg/mL、10 mg/mL になるようにそれぞれ調製した。またコントロールにはカフェイン不含有の PG/VG=70:30 を試験に用いた。

吸入曝露装置は、電子タバコ、吸入曝露ボックス及び吸引ポンプの順にシリコンチューブを用いて接続し構築した。電子タバコは (1) エアロゾルの分級と同じ設定とした。吸入曝露ボックス内の床には金属製のスノコを敷き、その上に十字仕切りを設置しマウス 1 匹ずつ合計 4 匹入るようにした。また、スノコの下に小型ファンを設置し、吸入曝露ボックス内でカフェイン含有エアロゾルを循環させた。吸引ポンプの吸引速度は 1.65 L/min に設定した。

吸引ポンプを引いた状態で電子タバコを 1 puff し、合計 5 puff カフェイン含有エアロゾルを発生させ、吸入曝露ボックス内に流入させた。5 puff の曝露後は、一定時間マウスにカフェイン含有エアロゾルを曝露した。曝露後は速やかに行動解析装置に入れ、マウスの自発運動量について 1 分ごと 10 分単位で 120 分間計測した。

【実施内容・結果】

1 エアロゾルの分級

エアロゾルの正確な分級のためには、インピンジャーの仕様方法に従って、ポンプの吸引速度を 9.0 L/min で一定に保つ必要がある。インパクターを用いてエアロゾルを捕集すると、アウトレットフィルターに詰まりが生じ、ポンプの吸引速度が低下するため正確な分級が出来なくなる。

また、詰まりを回避するため、捕集量を少なくした場合、機器分析で定量限界値以下となり、測定できない。そこで、フィルターによる詰まりを回避し、よりカフェイン捕集量を増やすために吸入回数について検討した。その結果、吸入回数が 4 puff 時に、ポンプの吸引速度が著しく低下したため、吸入回数は 3 puff に決定した。

3 組成の PG/VG 比の e-リキッドにおける粒径別のカフェイン量について比較した結果を図 2 に示した。PG/VG=30:70 及び PG/VG=50:50 では、カフェイン量は粒径が小さい

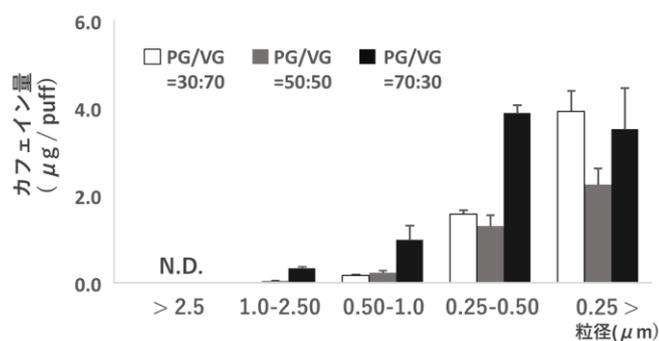


図 2 組成ごとの粒径別カフェイン量
(n = 4 または 5)

ほど多い傾向が認められた。また PG/VG=70:30 でも同様に、カフェイン量は粒径が小さいほど多い傾向が見られたが、0.25-0.50 μm と 0.25 μm 以下の粒径では同程度のカフェイン量であった。なお、2.5 μm 以上の粒径はどの組成も LC/PDA の定量限界値以下であった。

2 吸入曝露試験法

マウスにカフェイン含有エアロゾルを吸入させ、その後の自発運動量の変化を行動解析装置で測定し、曝露後 60 分までの結果を図 3 に示した。マウスの自発運動量はどの組成群も初めの 10 分間を最大とし、そこから 40 分まで減少傾向であった。また、初めの 10 分間では e-リキッド中のカフェイン濃度が高いほど自発運動量が高い傾向が見られた。

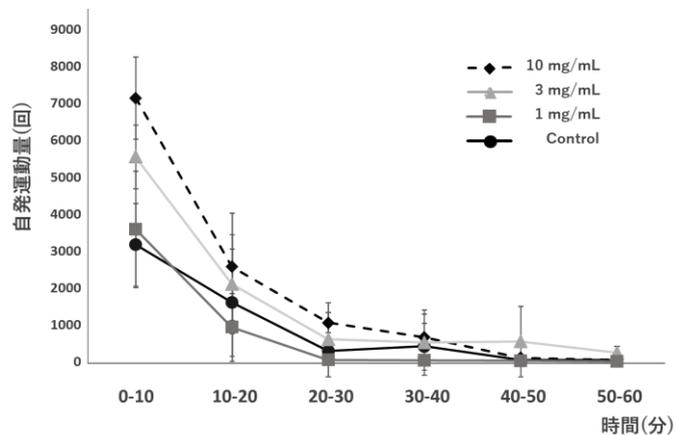


図 3 カフェイン曝露後の濃度別の自発運動量 (Control 群 ; $n=8$, caffeine 曝露群 ; $n=4$)

【考察と今後の課題】

薬物が全身作用を引き起こすには、肺深部の肺胞まで到達する必要がある。肺胞への到達は 0.1~0.5 μm 粒径の粒子が沈着しやすいとされ、0.1 μm 以下の粒子は吸入されても再び呼気とともに排泄されるもの²⁾や、ナノ粒子のような肺胞上皮細胞を通過しそのまま血流に移行し生体作用を示すものもある。本研究におけるエアロゾルの分級の結果、電子タバコから発生したエアロゾル中のカフェイン量は、どの組成も小さな粒径ほど多い傾向が見られた。特に PG/VG=70:30 の e-リキッドでは粒径 0.5 μm 以下のエアロゾルにカフェインが多く、かつ合計発生量も 3 組成中一番多いため、この組成から発生した薬物含有エアロゾルは肺胞に到達し血流に移行しやすく、生体に対する有害作用が強くなる可能性が示唆された。

次に、電子タバコを用いた吸入曝露試験法の開発について検討した。本研究では、濃度の異なるカフェイン含有 e-リキッドを調製し、電子タバコを用いてそれぞれ発生したカフェイン含有エアロゾルをマウスに吸入曝露させ自発運動量を測定した。カフェインは中枢神経の興奮作用を示す薬物であり、マウスへ投与することで自発運動量が増加することが明らかとされている。そのため、高濃度のカフェイン含有 e-リキッドほど、カフェイン含有エアロゾルを高量発生するため、それを吸入曝露させたマウスほど、自発運動量が多くなると想定される。そこで、カフェイン含有 e-リキッドの濃度とマウスの自発運動量の結果から、開発した吸入曝露試験法の妥当性について評価した。吸入曝露

の結果、吸入曝露後から 10 分間までは濃度依存的にマウスの自発運動量が上昇しており、その後も曝露後 40 分までは、低濃度と比較し高濃度で自発運動量が上昇している傾向が見られた。また、60 分以降の結果はどのマウスの群においても自発運動量に大きな変化は認められなかったためことから、曝露後 60 分までには、カフェインの中樞興奮作用は消失しているものと考えられた。以上のことから、本試験条件により、マウスにカフェイン含有エアロゾルが適切に曝露されており、開発した吸入曝露試験法は妥当であると考えられた。なお、薬物の種類によってマウスの自発運動量等の生体作用の強さに違いがあるため、e-リキッドで調製する薬物濃度や電子タバコの吸引回数等の曝露条件は、その都度条件検討が必要であると考えられる。

本研究では電子タバコによるカフェイン含有エアロゾルの粒径別薬物量を明らかにするとともに、吸入曝露試験法の開発をした。薬物を含有した電子タバコリキッドは多種類存在し、また、吸入に係る乱用薬物の薬物動態や生体影響の詳細については不明な点も多い。よって、引き続き電子タバコより発生した薬物含有エアロゾルの生体影響に関する基盤的研究を進めたい。

【参考文献】

- 1) 外館史祥, 岩橋孝祐, 熊坂謙一: 電子タバコによる乱用薬物の吸引成分の実態解明, 公益財団法人 大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成 助成実績 (2019)
- 2) 日本薬剤学会出版委員会 (編) 薬剤学実験法必携マニュアル I 物理薬剤学, 南江堂 (2014)

【経費使途明細】

使 途	金 額
・ 薬物分級実験用器具購入費 (フィルター、チューブ、インパクター部品等)	83,716 円
・ 吸入曝露試験用機器購入費 (卓上簡易ドラフト、曝露ボックス仕切り網等)	122,705 円
・ 動物麻酔用薬物購入費 (ドミツール等)	15,642 円
・ マウス購入費 (ICR 雄 4～5 週齢、計 104 匹)	73,832 円
・ 事務費 (振込手数料 7 回分)	4,950 円
合 計	300,845 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円