



アスベストの有無を簡単に検知できるタブレット顕微鏡

(広島大学) 黒田 章夫

アスベスト(石綿)は、セメント板やスレート、吹き付け材、配管の保温材など、さまざまな建材に使用されてきた。しかし、アスベストは肺がんや中皮腫を引き起こすことが分かり、我が国では2006年にアスベストの製造・輸入・使用が全面禁止された。アスベストの使用が全面禁止になったとはいえ、問題が終わった訳ではない。なぜなら日本の古い建物には、アスベストを1%以上含む建材が約4000万トン残されている¹⁾。これらの建材が劣化によりむき出しになれば、空気中にアスベストが飛散する可能性が高まる。最近の報道によると、電車の高架下のアスベスト含有建材が劣化し、電車が通る振動でアスベストが飛散していたことが指摘されている。また国土交通省によると、鉄筋コンクリートの建物約280万棟でアスベストが使われた可能性があるという。これらの古い建物の解体は、2030年頃ピークを迎えるとされており、もし解体現場や瓦礫処理の際のアスベスト曝露が起これば、今後数十年先までもアスベスト起因性のがん発症の問題を抱えることになる。

アメリカでは、アスベストを放置すると懲罰的損害賠償の対象になる。懲罰的損害賠償とは、加害者の行為が強い非難に値すると認められる場合に、将来の同様の行為を抑止する目的で、実際の賠償に上乗せして支払いを命じる賠償のことをいう。日本ではこの賠償は認められていないことからどうしても問題が先送りされる傾向がある。また、アスベストの検査は電子顕微鏡による分析まで含めると非常にコストがかかることから、特に民間レベルのアスベスト検査は普及しているとは言い難い。実際、これまでも解体工事に対する規制があったが、アスベストが飛散する事例やアスベスト使用の有無の事前調査が不十分である事例が多く見られた。そこで、大気汚染防止法の一部を改正する法律が2013年6月に公布された。この改正により、解体など工事の受注者は、建材中のアスベスト使用の有無について事前に調査することが義務付けられるようになったが、解体中のアスベスト漏洩を常にモニタリングするまでには至っていない。

アスベストの判定は、それが建材などにまとまって存在する場合X線分析装置や偏光顕微鏡によって行えるが、飛散アスベストのように繊維が細く分散している場合は難しい。また、アスベストと区別のつきにくいよう

な安全なアスベスト代替繊維が開発されたことも、皮肉にも判定を難しくしている。飛散アスベスト検査の公定法では、空気中に浮遊するアスベストを捕集したフィルターを用い、位相差顕微鏡と電子顕微鏡で検出する。位相差顕微鏡によって大気1Lあたり総繊維数が1本以上であれば、電子顕微鏡下で元素分析を行ってアスベストであるかどうかを判定することになっている(アスベストの代替繊維と区別するため)²⁾。しかし、一回の検査で数百本の繊維の元素分析を一本一本行うのは非常に時間とコストがかかる。また、電子顕微鏡を有する分析機関がアスベストの飛散現場と離れていることが多いため、輸送などを含めると検査に一週間近くかかることがあり、日常的なモニタリング方法とはなり得ない。アスベストに関しては、「知らぬが仏」では済まされるはずもなく、このままでは国民の安全を守れるとは言い難い。アスベスト飛散防止には、公定法とは別に、迅速で簡便なアスベスト検出方法が必要とされていた²⁾。

アスベスト蛍光試薬の開発

筆者らは、自然界のタンパク質や人工的なペプチドライブラリーから無機物質に特異的に結合するものを見つけ出し、さらに特異性を高めるような改変技術を駆使して、無機物質に対して選択的な蛍光試薬の開発を行ってきた。その一つとして、アスベストに特異的に結合するタンパク質を作りだした。筆者らの知る限り、無機固体の検査にバイオ技術を応用した例はない。具体的には、細胞の中の多種類のタンパク質とアスベストを混合し、遠心によって沈殿させた。界面活性剤や塩を含む緩衝液で洗浄後、なおもアスベストに結合しているタンパク質をアスベスト結合タンパク質とした。アスベストは大きく分けて、白石綿が属する蛇紋石アスベストと、青石綿、茶石綿などが属する角閃石アスベストの2種類存在する。最初、白石綿に特異的に結合するタンパク質をすぐに見つけることができた。しかし角閃石アスベストに結合するものは、どれも特異性に問題があった(他の無機繊維とも結合してしまう)。そこで、ある角閃石アスベスト結合タンパク質をもとに、結合する領域を極限まで限定することで特異性の高いペプチドを見いだした。しかし、特異性が向上したものの、結合力が低下してしま



うという問題が生じた。そこで、そのペプチドをストレプトアビジン上に4分子提示する(結合サイトを増やす)ことで、特異性を保持したまま結合力が飛躍的に向上したプローブを創出できた³⁾。

蛍光顕微鏡によるアスベスト検出

大気中に浮遊するアスベストは、ニトロセルロースフィルターを用いて捕集する。そのフィルター上に、蛍光物質で修飾したアスベスト結合タンパク質を含む蛍光試薬を数滴垂らした後、緩衝液で余分な蛍光試薬を洗い流す数分の作業で前処理は完了する。このフィルターをスライドガラスに移して蛍光顕微鏡で観察する(バイオ蛍光法、図1)。その結果、位相差顕微鏡では非常に見えにくい繊維も蛍光でははっきり観察できた。バイオ蛍光法は、光っているアスベスト繊維を数えればいいので、電子顕微鏡に比べて非常に迅速な検査方法となった。電子顕微鏡によるX線分析を含むアスベスト検査の公定法では、数日から1週間を要する。一方、バイオ蛍光法では、大気捕集フィルターがあれば、約1時間でアスベストが計測できるので、迅速で簡便なアスベスト検出方法となった。

タブレット蛍光顕微鏡の開発

バイオ蛍光法は元素分析をせずにアスベストを特定できるため、現場でのアスベスト検査方法として期待された。しかし、本方法を普及させるにはもう一つ課題があった。それは、分析装置である蛍光顕微鏡は主にバイオ研究用に開発されてきたものであるため、解体現場に持ち込めるような正立型の蛍光顕微鏡がなかったことである。過酷な解体現場での検査を普及させる場合、どうしても頑丈で、携帯型の蛍光顕微鏡の開発が必要であった。

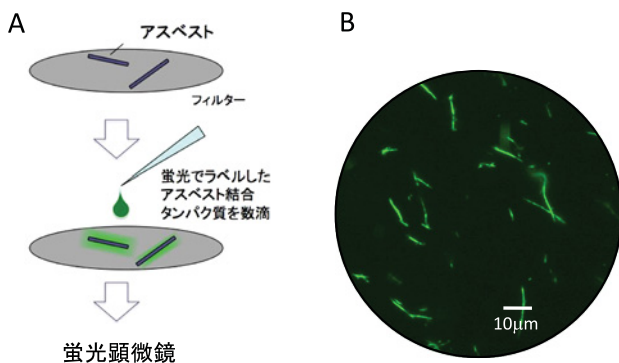


図1. バイオ蛍光法による大気中アスベスト検出。(A) 大気を通してアスベストを捕集したフィルター(Φ45 mm, あるいはΦ25 mmのニトロセルロースフィルター)に、蛍光で修飾したアスベスト結合タンパク質を滴下し、蛍光顕微鏡で観察する(数分の作業)。(B) アスベスト(クリソタイル)の蛍光画像。

そのため、励起光の青色LED、励起フィルター、ダイクロイックミラー、蛍光フィルターから構成される蛍光顕微鏡の光路を露出させずに、一つの箱に入れ込んだ。また、明るい野外での使用を考えると、通常の蛍光顕微鏡では遮光環境が必要になる。そこで、iPad[®]のカメラと光路を直接接続してiPad[®]のモニターに映し出すことにより、外部環境の明るさは気にしなくともよくなった(図2)。モバイルバッテリーで動作可能な携帯型蛍光顕微鏡(iPad[®]蛍光顕微鏡、現在シリコンバイオ社から製品名iFMで発売されている)が完成した。この携帯型の蛍光顕微鏡の倍率は約300倍で、iPad[®]のディスプレイの拡大を使えば約1000倍で観察できた。0.7 µmの分解能で解析でき、十分にアスベストを検出することができた。また、アスベストが映し出された画像はiPad[®]の通信機能により、離れた分析室でもリアルタイムで観察することができる。これによって、現場に熟練者がいなくとも、離れた検査室に画像を送ることで、判定のサポートができると考えられた。あるいは、ホストコンピュータでアスベストを自動で解析、計測して、結果をレポートすることも可能と考えられた(すでに我々は画像ソフトを改良して自動のアスベスト計測ソフトを開発している)。バイオ蛍光法は蛍光試薬が必要であるが、電子顕微鏡に較べると格段に安価な蛍光顕微鏡(100万円以下)で、大気浮遊アスベストの有無を、現場でいち早く調べることを可能にした。

バイオ蛍光法と現在の公定法である電子顕微鏡法との相関性を検証した。実際の大气捕集フィルター36サンプルについて比較した結果、両方法による測定は非常に



図2. 蛍光試薬セット(A)と携帯型蛍光顕微鏡(B, C)。携帯型蛍光顕微鏡のZ軸の調整はiPad[®]横のつまみで調整する。X、Y軸の調整はボックス下のつまみで調整する。画面上の倍率は約300倍で、iPad[®]の画面の拡大により約1000倍まで拡大できる。携帯型蛍光顕微鏡を利用している様子は、シリコンバイオ社のホームページで公開されている(<http://www.siliconbio.co.jp>)。平成28年度環境賞環境大臣賞受賞。



高い相関性を示すことが分かった(相関係数 $r = 0.99$). すなわち, 蛍光法によるアスベスト検査法は公定法と相関するといえる. バイオ蛍光法は, 環境省アスベストモニタリングマニュアル第4.0版に掲載されているが²⁾, 公定法となっているわけではない. 公定法とするためには, 各省が主催する第三者委員会で従来法との相関を認めてもらう必要がある. 具体的には, 同様の相関データを取れるような事業者が複数存在することが要求される. これには, 講習会などを行って技術を広める地道な作業が必要になるだけでなく, たとえ少量であっても安定的に試薬を供給しなければならない. 残念ながら, 社会的意義だけで付き合ってくれる企業はあまりない. 公定法にならなければビジネスとしては成り立たないのので, 自ら奮闘努力するしかない. 技術を世に出すために, プロジェクトバイオはまだ終わらない.

謝 辞

携帯型蛍光顕微鏡開発には, オプトサイエンス社の高橋達也氏に大変お世話になりました. 蛍光試薬開発と実用化には広島大学の石田丈典博士, 西村智基氏, 池田真楠氏, シリコンバイオ社の関口潔氏が深く関わりました.

iPad[®]は, 米国および他の国々で登録されたApple Inc.の商標です.

文 献

- 1) 日本石綿協会: 石綿含有建築材料廃棄物量の予測量調査結果報告書, p. 15 (2003).
- 2) 環境省: アスベストモニタリングマニュアル第4.0版 (2010).
- 3) Ishida, T. *et al.*: *PLos ONE*, **8**, e76231 (2013).