

石綿小体計測マニュアル

(第3版)

監修：神山宣彦、森永謙二、槇原康亮

独立行政法人 労働者健康安全機構
独立行政法人 環境再生保全機構

石綿小体計測マニュアル（第3版）出版によせて

この「石綿小体計測マニュアル（第3版）」は、2011（平成23）年10月発行の「石綿小体計測マニュアル（第2版）」を改訂したものです。

石綿ばく露によって発症したいわゆる「石綿肺がん」の認定には、原発性肺がんの画像・病理組織学的診断に加えて、胸膜プラークや線維化の有無などの臨床所見、あるいは石綿取扱い作業歴や居住歴、肺内石綿濃度などの知見が必要になります。

1997年1月にヘルシンキで開催された石綿関連疾患に関する国際会議の報告書（ヘルシンキ・クライテリア）は、わが国を含む諸外国の肺内石綿小体及び石綿繊維を計測した論文をとりまとめた結果を基に、石綿ばく露による肺がん発症リスクは、累積石綿ばく露量に相関し、「25～100繊維年」（＝25～100繊維/ml×年）で2倍になるという知見を示しました。ここで、年は1年間の労働時間を意味し、1日8時間、1週間5日、1年48週間の計1,920時間に相当します。「25繊維年」は、2.5繊維/mlの環境なら10年間、1繊維/mlなら25年間働いた場合に、「100繊維年」は、2.5繊維/mlなら40年間働いた場合に、それぞれ肺がん発症リスクが2倍になるという意味です。

そして、「25～100繊維年」の最小の「25繊維年」に相当する肺内石綿濃度は、石綿繊維計測において1g乾燥肺当たり長さ5 μ m以上の角閃石繊維が200万本、長さ1 μ m以上の角閃石繊維なら500万本に相当し、石綿小体計測では石綿小体5,000～15,000本/g（乾燥肺）に当たるとしました。また、気管支肺胞洗浄液（BALF）を用いた石綿小体計測では、BALF 1ml当たり5～15本の石綿小体に等しいとしました。

2006（平成18）年2月に厚生労働省の労働者災害補償保険法（以下「労災保険法」という。）の肺がん認定基準の改正と石綿による健康被害の救済に関する法律（以下「石綿救済法」という。）の制定が行われ、それらの中で「石綿肺がん」の「石綿による疾病の認定基準」（以下「認定基準」という。）もそれぞれ改正および制定されました。その経緯は、「石綿小体計測マニュアル（第2版）の出版に寄せて」に詳しく述べられています。「石綿肺がん」の認定基準に肺内石綿濃度の計測が追加できたのは、幸いわが国では1980年代後半から筆者らによって肺内石綿繊維や石綿小体の定量計測が行われていたために、その計測体制等が迅速に構築できたからでした。

その労災保険法に係る肺がん認定基準の改正では、それまでの「石綿肺がん」の認定基準を踏襲したうえで、上記の肺がん発症リスク2倍（＝25繊維年）の考え方に基づく認定基準が追加されました。これは、肺がんの原因は石綿以外にも多々あり、それらを医学的に判別できないことから、肺がん発症リスクを2倍以上に高める石綿ばく露があった場合に「石綿肺がん」とみなすものです。これによって、石綿取扱い作業歴が労働者時代に1年以上あれば、胸膜プラークの有無に拘わらず、1g乾燥肺あたり①石綿小体が5,000本以上、あるいは②石綿繊維が200万本以上（長さ5 μ m以上）又は500万本以上（長さ1 μ m以上）、あるいは③気管支肺胞洗浄液（BALF）1mlあたり石綿小体が5本以上、のいずれかが計測されれば「石綿肺がん」とされるようになりました。

一方、石綿救済法の救済給付における「石綿肺がん」の認定にも、労災保険法と同様に肺がん発症リスク2倍（=25繊維年）の考え方が取り入れられました。救済給付では石綿取扱い作業歴の確認ができないため、臨床所見として胸部X線像に胸膜プラークおよび線維化像（じん肺法第1型以上の不整形陰影）が認められるか、認められない場合は肺組織に労災保険法と同様の濃度の石綿小体あるいは石綿繊維が計測された場合に、「石綿肺がん」と認定されるようになりました。

更に2012（平成24）年3月の労災保険法の肺がん認定基準の一部改正で、いわゆる「広範囲胸膜プラーク」が認められれば、石綿ばく露作業歴が1年間以上あれば認定され、2013年6月には石綿ばく露作業歴が確定されなくても救済給付で認定されるようになりました。

このように、2006（平成18）年2月の労災保険法の改正と石綿救済法の制定によって「石綿肺がん」の判定に肺内石綿小体濃度の計測値が有効に使われるようになりました。実際の肺内石綿小体の計測は、主に独立行政法人労働者健康安全機構の労災病院等の臨床検査技師の方々が「石綿小体計測マニュアル」に記載された方法に従って実施してきました。また、計測の精度管理事業は、独立行政法人環境再生保全機構が労災病院等の全国12の施設の参加を得て毎年実施しています。

今回の計測マニュアルの改訂では、2006（平成18）年の石綿小体計測の開始以来、蓄積されてきた肺組織試料処理や計数についてのノウハウをできるだけ取り入れて、石綿小体計測の初心者にも分かりやすいマニュアルとなるよう努めました。また、従来の観察標本は、乾燥重量を秤量した乾燥肺組織試料を消化処理して作製したのですが、湿肺組織を消化処理して作製した観察標本も追加しました。この観察標本は顕微鏡下の観察視野が比較的きれいなことが多く、計測者の負担軽減が期待されます。

更に、位相差顕微鏡で見た石綿小体や疑似粒子を分析透過電子顕微鏡で見た比較写真を何組か掲載しました。こうした比較観察写真を予め見ておくことは、位相差顕微鏡による石綿小体の判定向上に繋がると期待されます。

今回、このような趣旨で改訂された「石綿小体計測マニュアル（第3版）」が労働者健康安全機構の開催する石綿小体講習会等で用いられて、標本作製方法や計数方法の詳細を習得した多くの計測者が信頼性の高い計測をされることを願っております。

令和5年1月31日

独立行政法人労働者健康安全機構
労働安全衛生総合研究所フェロー研究員
神山宣彦

第3版 編著者等

監 修

神山 宣彦	独立行政法人労働者健康安全機構	労働安全衛生総合研究所
森永 謙二	独立行政法人環境再生保全機構	石綿健康被害救済部
槇原 康亮	独立行政法人労働者健康安全機構	九州労災病院 病理診断科

執筆・編集

神山 宣彦	独立行政法人労働者健康安全機構	労働安全衛生総合研究所
槇原 康亮	独立行政法人労働者健康安全機構	九州労災病院 病理診断科
向井 春喜	独立行政法人労働者健康安全機構	神戸労災病院 中央検査部
田中 真理	独立行政法人労働者健康安全機構	和歌山労災病院 中央検査部

石綿小体計測マニュアル（第2版）出版に寄せて

この「石綿小体計測マニュアル（第2版）」は、平成20年3月に作成された「石綿小体計測マニュアル」を改訂したものです。

石綿による健康被害については、石綿にばく露されるような仕事が原因であれば労災保険制度やその他の災害補償制度がありますが、平成17年7月、(株)クボタ旧神崎工場周辺に職業的な石綿ばく露がないにもかかわらず中皮腫を発症した患者の存在が明らかになったことを受け、政府は、新たな法律（石綿による健康被害の救済に関する法律）を制定し（平成18年3月に施行）、労災補償等の対象とならない方々に対する救済給付として医療費等を支給するほか、時効によって労災保険法に基づく遺族補償給付の支給を受けられない遺族に対しても救済措置を講じることになりました。

この制度の実施に向け、厚生労働省と環境省は、平成17年11月に「石綿による健康被害に係る医学的判断に関する検討会」（座長：森永謙二）を設置し、救済の対象となる疾病の認定基準を検討しました。その検討結果は平成18年2月に取りまとめられましたが、石綿による肺がんの認定基準の一つとして、「乾燥肺重量1g当たり5,000本以上の石綿小体が認められること」が、上述の救済法並びに従来からの労災補償の制度とともに盛り込まれました。肺組織内の石綿小体は、過去のばく露を推測する上で重要な知見を提供するものですが、従来から、神山宣彦教授（当時、産業医学総合研究所）らが、乾燥肺重量1g当たりの石綿小体の計測結果を取りまとめて、“職業性石綿ばく露と石綿関連疾患－基礎知識と労災補償－”（三信図書、2002）で述べられています。石綿小体に係る上記の認定基準は、この神山教授らの報告等を参考にして定められたものですが、ベルギーやフランスで行われている方法とほぼ同様であり、ヘルシンキ・クライテリアにある基準値を求める方法にも合致しているものです。この計測の手順等は、既に「石綿ばく露労働者に発生した疾病の認定基準に関する検討会報告書」（平成15年8月26日）に“別添参考資料3”として、掲載し、周知を計っていました。

この新たな認定基準に肺内石綿小体計測値を採用したことを受けて、翌平成18年度厚生労働省委託研究「石綿による疾病に係る臨床・病理・疫学等に関する調査研究」（主任研究者：森永謙二）の研究の一部として、石綿小体計測の精度管理が行われるとともに、平成19年度の同調査研究においては、石綿小体として計測するものと計測しないものを写真化する作業を行い、調査研究報告書とは別に「石綿小体計測マニュアル」として取りまとめ、(独)労働者健康福祉機構から印刷・発行しました。前述の「石綿による健康被害に係る医学的判断に関する検討会」の報告書では“石綿小体、石綿繊維の計測に関する信頼性の高いデータを得るためには、一定の設備を備え、かつ、トレーニングを受けたスタッフのいる専門の施設で実施する必要がある。”と述べています。労災制度及び救済制度において石綿による肺がんの認定を行う上で、石綿小体の計測が必要になった場合は、この「石綿小体計測マニュアル」に示された、標準化された方法で実施する必要があります。

実際の肺内石綿小体の計測は、全国25の労災病院アスベスト疾患センターのうち、各ブ

ロック（北海道、東北、関東、中部、関西、中四国、九州）の拠点となる7か所のセンター（北海道中央労災病院、東北労災病院、横浜労災病院、旭労災病院、神戸労災病院、岡山労災病院、長崎労災病院）が中心となって行われています。

労働者健康福祉機構では、このマニュアルを教材として、平成18年度末から平成21年度（平成22年度は東日本大震災の影響を受けてやむをえず中止）まで、延べ60名以上の受講者を対象に研修を行ってきました。

一方、計測の精度管理のための事業は、平成18-19年度には、厚生労働省の研究の一部として、(独)労働安全衛生総合研究所が実施してきましたが、平成20年度からは、(独)環境再生保全機構が引き継いで実施しており、平成22年度においては、12の検査施設（北海道中央労災病院、東北労災病院、横浜労災病院、旭労災病院、神戸労災病院、岡山労災病院、九州労災病院、長崎労災病院、和歌山労災病院、山陰労災病院、山口宇部医療センター、中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター）の参加を得て行われています。

こうした精度管理事業を通じて、石綿小体の計測に係る留意点等をより明らかにすることができるとともに、精度管理事業に参画している施設における計測精度の均てん化がはかられました。

平成21-22年度には、我が国では経験例が余り多くなかった気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体計測について、環境省委託業務として「気管支肺胞洗浄液を用いた石綿小体計測技術の確立に関する調査業務」（代表研究者：神山宣彦）が行われ、「石綿小体計測マニュアル」（平成20年3月）に記載されたBALF中の石綿小体の計測方法をより一層充実した内容に改訂しました。（認定基準の一つとして「気管支肺胞洗浄液1ml当たり5本以上の石綿小体」があります。）

以上の精度管理事業や気管支肺胞洗浄液に係る調査業務の成果を受けて、「石綿小体計測マニュアル」の改訂を計画し、環境再生保全機構の平成23年度石綿小体精度管理事業第1回検討委員会において最終的な取りまとめを行いました。なお、これまでの「石綿小体計測マニュアル」の作成及び改訂の経緯や石綿による健康被害の補償・救済に係る石綿小体計測の実態等を踏まえ、この「石綿小体計測マニュアル（第2版）」は、環境再生保全機構と労働者健康福祉機構の共同で出版する運びとなりました。

このマニュアルが石綿小体計測に携わる方々に活用されることを期待します。

末筆になりましたが、この石綿小体計測マニュアル（第2版）」の出版にご協力いただいた関係各位にお礼申し上げます。

平成23年10月31日

独立行政法人環境再生保全機構 顧問医師 森永謙二

〔環境省中央環境審議会石綿健康被害判定小委員会 前委員長〕
〔独立行政法人労働者健康福祉機構石綿確定診断委員会 前委員長〕

第2版 編著者等

(所属等は平成23年10月当時)

監 修

神山 宣彦 東洋大学大学院 経済学研究科
森永 謙二 独立行政法人環境再生保全機構 石綿健康被害救済部

執 筆

神山 宣彦 東洋大学大学院 経済学研究科
篠原 也寸志 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 環境計測管理研究グループ
松本 省司 独立行政法人労働者健康福祉機構 神戸労災病院 検査科

協 力

安孫子 久男 独立行政法人労働者健康福祉機構 東北労災病院 検査科
市川 和昭 独立行政法人労働者健康福祉機構 和歌山労災病院 検査科
井手 一徳 独立行政法人労働者健康福祉機構 長崎労災病院 検査科
金澤 茂正 独立行政法人労働者健康福祉機構 九州労災病院 検査科
木下 陽介 独立行政法人労働者健康福祉機構 山陰労災病院 検査科
黒田 和彦 独立行政法人国立病院機構 山口宇部医療センター 臨床検査科
谷 清彦 独立行政法人労働者健康福祉機構 北海道中央労災病院 検査科
藤木 正昭 独立行政法人労働者健康福祉機構 岡山労災病院 検査科
水本 学 独立行政法人労働者健康福祉機構 横浜労災病院 検査科
山村 宗幸 独立行政法人労働者健康福祉機構 旭労災病院 検査科

第1版 編著者等

(所属等は平成20年3月当時)

監 修

神山 宣彦 東洋大学 経済学部 自然科学研究室
森永 謙二 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ

編 集

篠原 也寸志 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ

執 筆

篠原 也寸志 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ
赤木 裕子 独立行政法人労働者健康福祉機構 岡山労災病院 検査科
井手 一徳 独立行政法人労働者健康福祉機構 長崎労災病院 検査科
井上 修 独立行政法人労働者健康福祉機構 東北労災病院 検査科
内田 善一 独立行政法人労働者健康福祉機構 岩見沢労災病院 検査科
岡田 孝之 中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター
黒田 和彦 独立行政法人国立病院機構 山陽病院 臨床検査科
佐藤 義雄 独立行政法人労働者健康福祉機構 横浜労災病院 検査科
渋谷 秀美 山口県立総合医療センター
谷 清彦 独立行政法人労働者健康福祉機構 岩見沢労災病院 検査科
花井 高文 独立行政法人労働者健康福祉機構 九州労災病院 検査科
松本 省司 独立行政法人労働者健康福祉機構 神戸労災病院 検査科
本村 義則 独立行政法人労働者健康福祉機構 長崎労災病院 検査科
山田 憲一 中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター
山村 宗幸 独立行政法人労働者健康福祉機構 旭労災病院 検査科
高田 礼子 聖マリアンナ医科大学 予防医学教室

目 次

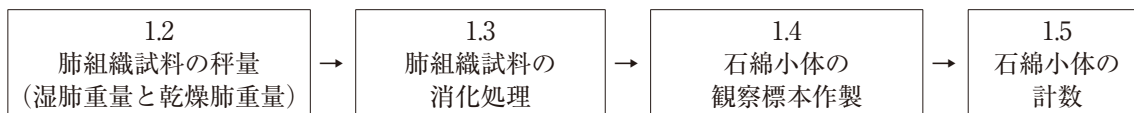
1. 肺組織中の石綿小体計測方法	1
1.1 計測に用いる肺組織	2
1.1.1 肺組織試料の種類	2
1.1.2 肺組織から計測用試料の採取（サンプリング）	3
1.2 肺組織試料の秤量方法	3
1.2.1 湿肺組織が2g以上の場合	5
1.2.2 湿肺組織が2g未満（0.5g以上）の場合	8
1.3 肺組織試料の消化処理方法	9
1.4 石綿小体の観察標本作製方法	12
1.5 石綿小体の計数方法	14
2. 気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体計測方法	18
2.1 石綿小体計測のための気管支肺胞洗浄（BAL）法	18
2.2 BALF中の石綿小体計測の手順	20
3. 使用する顕微鏡、試薬、機器・器具類	24
3.1 位相差顕微鏡	24
3.2 試薬	25
3.3 機器・器具類	26

4. 石綿小体画像	29
4.1 位相差顕微鏡下の肺内石綿小体および疑似粒子の画像	30
4.1.1 石綿小体に計数する例	30
垂鈴状・数珠状・団子状の石綿小体	30
繊維が長くタンパク体で覆われた石綿小体	35
タンパク体で繊維が広く覆われた石綿小体	38
繊維が屈曲した石綿小体	40
少量のタンパク体に覆われた石綿小体	42
短繊維に数個のタンパク体を伴う石綿小体	44
夾雑物に埋もれて確認しにくい石綿小体	45
複数の繊維からなる石綿小体	46
配列などを加味して石綿小体と判断できる例	47
コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体	49
繊維の確認から石綿小体と判断できる例	50
4.1.2 石綿小体に計数しない例	52
石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質	52
他の粒子が重なる例	55
4.1.3 分取量の違いによる標本作製例	56
4.2 BALF中の石綿小体の例	58
4.3 位相差顕微鏡と分析透過電子顕微鏡の両方で見た 石綿小体と疑似粒子の比較画像	60
 (別添) フローチャート	 64

1. 肺組織中の石綿小体計測方法

石綿ばく露を受けた人の肺組織中に残留している石綿は、その一部がフェリチンやヘモシデリンなどの鉄タンパク質に被覆されて光学顕微鏡でも見える大きさの異形粒子になる。それらは石綿小体と呼ばれて、石綿ばく露を示す証拠の一つとなっている。

本章は、石綿ばく露レベルの評価を目的にした位相差顕微鏡*による人肺組織中の石綿小体の定量計数方法を示すものである。方法は、1.2 肺組織試料の秤量方法、1.3 肺組織試料の消化処理方法、1.4 石綿小体の観察標本作製方法、および1.5 石綿小体の計数方法から成る。



石綿小体計測に位相差顕微鏡を用いる理由は次のようである。

顕微鏡では微小物体を通過した光が対物レンズで直接光と回折光に別れ、像面で再び結像する。位相差顕微鏡は、物体の厚さや屈折率の差で生じる位相差（直接光と回折光の進む遅れの差）を明暗の差（コントラスト）に変えて像を見やすくした顕微鏡である。透明化したメンブランフィルター上の石綿等の繊維や粒子は、通常の顕微鏡ではコントラストが低く見え難いが、位相差顕微鏡ではコントラストが強調されて解像力の高いコントラストの良い像が得られる。そのため、位相差顕微鏡は石綿繊維の計測に広く用いられており、石綿小体計測においても中心石綿繊維の確認など判定・計数に有効に用いられる。

また、位相差像の下記の様な特徴も石綿小体の観察に有利である。

- ①粒子等の像の周辺にハロ（明暗の縁取り）がでる。
- ②石綿小体のようにやや大きめの粒子は、白色光の下で色分散により光学的に色付いて見え観察しやすくなる。生物顕微鏡では茶色系の単色で見えるのみである。

1.1 計測に用いる肺組織

1.1.1 肺組織試料の種類

検査可能な検体：非腫瘍部肺組織

最適な検体 湿肺重量 2g以上

最低限必要な検体 湿肺重量 0.5g以上

検査不可能な検体

- ・腫瘍部の肺組織、リンパ節、胸膜
- ・湿肺重量0.5g未満の非腫瘍部肺組織
- ・TBLB、クライオバイオプシーなどの生検による微量検体
- ・未染の薄切標本やHE染色標本(スライド)
- ・塗抹標本(細胞診)

(1) 肺組織

人の石綿ばく露レベルの評価を行うための石綿小体の計測用には、非腫瘍部の一定量以上の肺実質組織を用いる。

肺実質以外の腫瘍部*やリンパ節、胸膜、胸膜プラークなどの組織に存在する石綿小体に関しては、肺実質と同等の評価法がまだ確立されていないので、本石綿小体計測法には用いない。

*腫瘍部の組織は、非腫瘍部の肺組織に比べて石綿小体および石綿繊維が一般に少ない。

また、次のような試料も、石綿小体計測には不適である。

- 経気管支肺生検 (TBLB) やクライオバイオプシー (TBLC) 等で得られた微量の組織
微量のため、石綿小体の定量計測用の組織消化処理ができない。
- 病理診断用の未染の薄切標本ならびにHE染色標本 (スライド)
スライド上の薄切標本では、石綿小体の定量計測用の組織消化処理が行えない。
ただし、HE染色標本を数枚観察したとき、各標本に石綿小体が容易に確認できる場合は、高濃度の石綿ばく露が示唆され、有意に高い石綿ばく露があったと評価ができる場合がある。そうした場合には、労災保険法及び石綿救済法 (救済給付) の認定基準を参照のこと。なお、鉄タンパク質等の確認には、Berlin blue染色や無染色標本作製も有用である。
- 塗抹標本 (胸水細胞診、喀痰)
定量的石綿小体計測が行える標本の作製が難しく、かつ評価の基準がないため。

(2) 肺組織の保存形態

- 1) ホルマリン浸漬：肺組織を中性緩衝ホルマリン*で固定し、ホルマリン浸漬したもの。

*中性緩衝ホルマリン：通常ホルマリンはpH4前後の酸性溶液であるため、組織中のクリソタイルがホルマリンによって次第に溶解する可能性がある。それを避けるために、リン酸緩衝液でpH7.4~7.6程度に調節された中性緩衝ホルマリンを固定液に用いることが望ましい。

- 2) パラフィン包埋ブロック：ホルマリン固定肺組織をパラフィン包埋したもの。

本石綿小体計測には、非腫瘍部肺組織を4cm²程度に切出しされたホルマリン浸漬検体あるいはパラフィン包埋ブロックが必要となる。パラフィン包埋ブロックでは、2個以上必要となる場合が多い。

脱パラフィン後の湿肺重量が0.5g未満の場合、小体計測値の誤差が大きくなるため、パラフィン包埋ブロックを追加し、一定量以上の肺組織を用いることが望ましい*。

脱パラフィン処理前にHE染色標本作製し、非腫瘍部肺実質部であることを確認し、腫瘍部が含まれている場合にはトリミングして腫瘍部は除外しておく必要がある。

脱パラフィン処理後の操作は、ホルマリン浸漬組織と同様に扱う。

*追加検体がない場合には、参考値となるものの、微量検体の扱いには、注意が必要であり、計測に熟練した技師のいる施設での計測が望まれる。

1.1.2 肺組織から計測用試料の採取（サンプリング）

(1) 剖検肺

剖検時に、左右、上葉あるいは下葉の末梢側から、炎症性変化の乏しい領域から非腫瘍部肺組織を3~4g程度採取することが望ましい。可能であれば、左右両側が望ましいが、片側のみでも可能である。剖検肺組織から計測用試料を採取する時には、腫瘍等の病変部を含まないように採取することが重要である。

(2) 手術切除肺

腫瘍部を含まない肺組織で、できるだけ下部の末梢組織から3~4g程度採取する。

(3) 肺試料の保存状態

上記、(1)か(2)の肺組織は、通常、ホルマリン浸漬あるいはパラフィン包埋ブロックの状態提供される。

1.2 肺組織試料の秤量方法

本石綿小体計測で求める肺内石綿小体濃度は、肺組織の乾燥肺1gあたりの石綿小体数で表わされる。そのため、計測に使用する肺組織試料の重量を正確に秤量することが重要である。

計測用肺試料は、ホルマリン浸漬あるいはパラフィン包埋ブロックの形で提供される。一般に、ホルマリン浸漬検体の場合は、湿肺組織2g以上が得られることが多い。一方、パラフィン包埋ブロック試料の場合は、比較的少量であり、2g未満の場合が多い。計測用に提供されたこれらの肺組織試料を下記の(1)及び(2)に従い、湿肺組織の重量が2gあるか否かによって、次の1.2.1あるいは1.2.2のどちらの肺組織秤量方法を選択するかが重要である*。

通常、使用できる計測用試料の量が多ければ1.2.1の秤量方法を選び、少なければ1.2.2の秤量方法を選ぶことが推奨される。もちろん、計測用試料が多い場合でも、少ない場合の1.2.2の秤量方法を選択することはできる。その逆、つまり少ない計測用試料の場合に多い試料の場合に可能な1.2.1の秤量方法を選ぶことは推奨されない。

*肺組織を秤量した後の肺組織消化方法等の標本作製操作は、肺組織秤量方法に関係なく同一である。ただ、1.2.1の多い組織試料を秤量に使用した方法は、加熱されていない湿肺組織をその後の組織消化処理に用いるが、1.2.2の少ない組織試料の方は、乾燥肺重量を秤量した加熱試料を組織消化処理に用いるという違いがある。

これら両方法で作製した各観察標本の計数結果間には統計的有意差がないことが確認されている。前者(1.2.1)の観察標本は、比較的きれいな視野が多く計測者間の誤差も少なく、計数しやすいため、前者(1.2.1)の方法がより推奨される。

(1) 肺試料の水への置換

① ホルマリン浸漬検体の場合

精製水を適量入れた100mlビーカーを3個用意し、その1つに組織を入れて、約10分間静置する。組織を取り出し、次のビーカーに移し、同じく約10分間静置した後、3番目のビーカーに移し、約10分間静置する。取り出して置換操作を終了する。置換を流水で行わないのは、組織から石綿小体が流出するのを避ける意味がある。

② パラフィン包埋ブロックの場合

脱パラフィン処理は、キシレン浸漬*と、その後エタノールによるキシレン除去、水への置換（上記（ホルマリン浸漬検体）に準ずる）の順に進める。

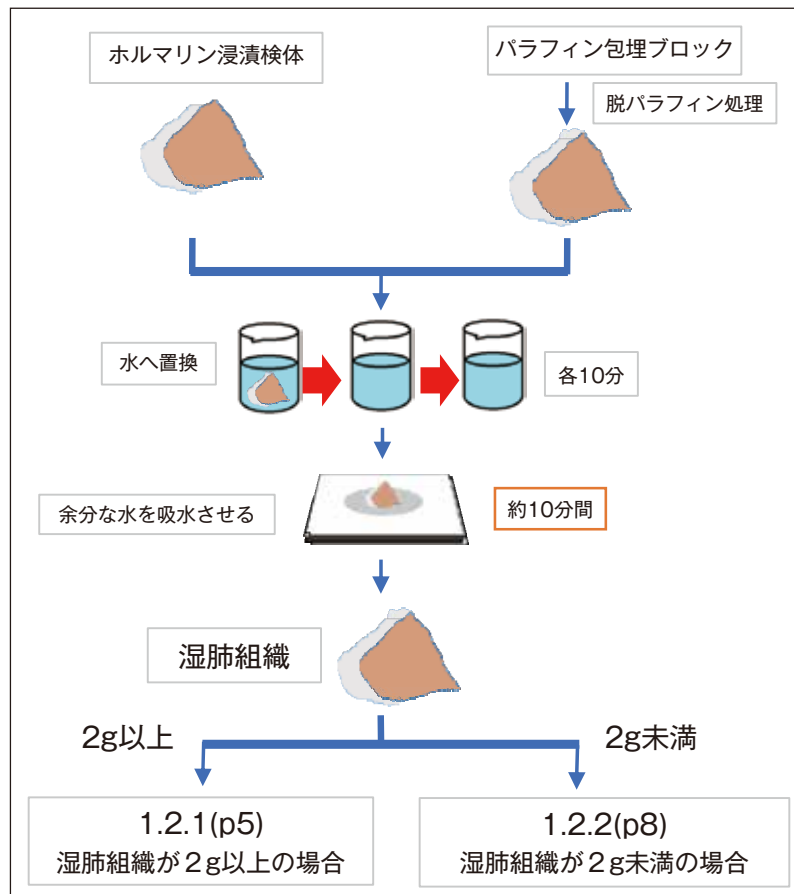
*キシレン浸漬

- キシレン浸漬は合計24時間以上かける。
- キシレン浸漬は、1検体につき150ml以上で3回以上のキシレン交換を行う。
- 最初のキシレン浸漬液には大量のパラフィンが溶出するため、3時間程度で交換することが望ましい。24時間で3回以上交換することが推奨される。
- キシレンの浸透を進める上で、スターラーや振盪機を用いるのも良い。

(2) 湿肺組織の秤量

水に置換した肺組織は、複数枚のろ紙やペーパータオル等の吸水性の高いものに載せ、約10分間放置して余分な水を吸水させる。この吸水後の肺組織を湿肺組織とする。湿肺組織を電子天秤で秤量（精秤）し、2g以上の有無により1.2.1あるいは1.2.2の手順に進む。

図1 肺試料の脱ホルマリン及び脱パラフィン後～水置換～湿肺組織の処理方法



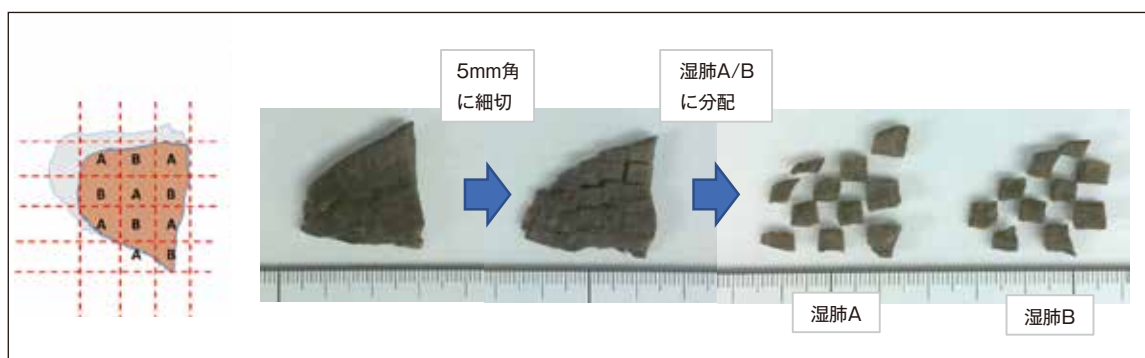
1.2.1 湿肺組織が2g以上の場合

この秤量方法は、湿肺組織が2g以上得られる場合に用いられる。通常、この量の肺試料が得られるのはホルマリン浸漬検体が多いが、パラフィン包埋ブロックでも複数のブロックを用いてこの試料量が得られれば適用できる。

なお、湿肺組織が2g未満しか得られない場合は、1.2.2の「湿肺組織が2g未満の場合の肺試料秤量方法」に従って進める。

- ① 湿肺組織を概ね1g程度の2個に分ける。1つは石綿小体計測標本作製に、他方は湿重量と乾燥重量の比率計測に用いる。そのために、まず湿肺組織を約5mm大の格子状に偶数個に切り分ける。それらの隣接しない組織同士を合わせて2組に分け、それぞれ湿肺A、湿肺Bとする（図2を参照）。湿肺Aと湿肺Bの各組織試料量は概ね等量にする。

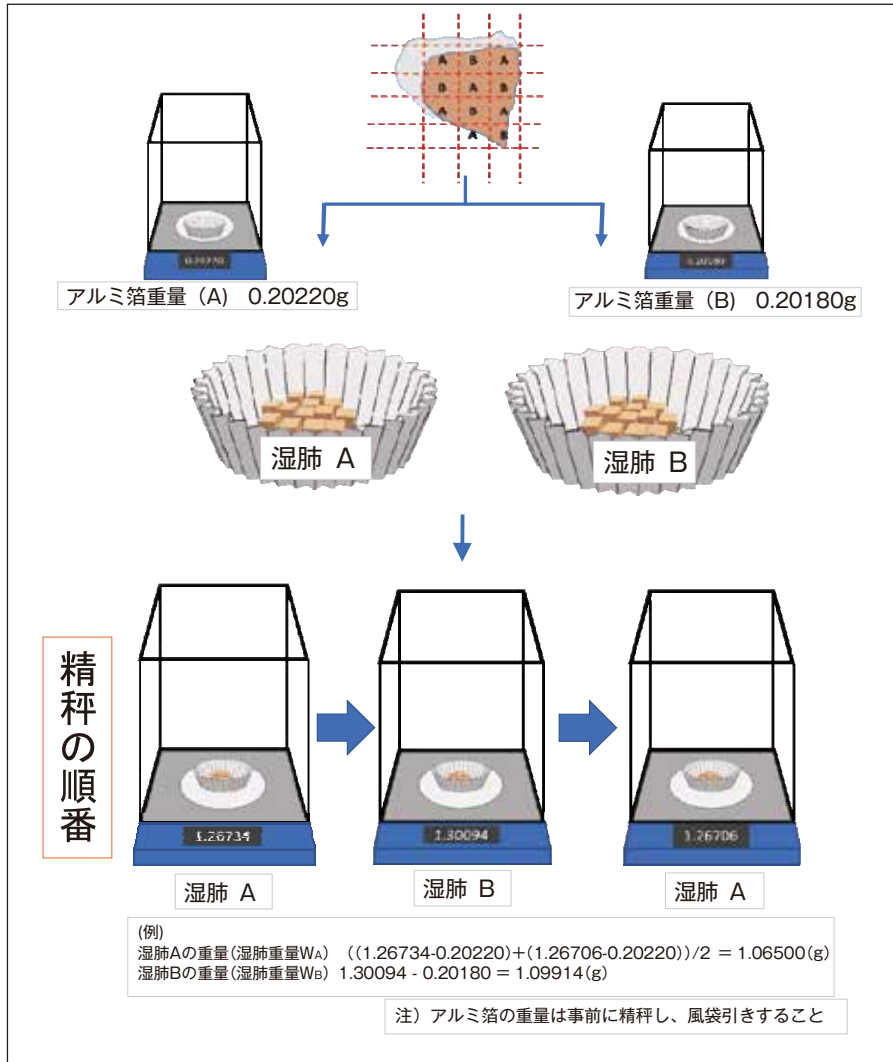
図2 湿肺組織の分割例



- ② ①で分けた2組の肺組織試料（湿肺Aと湿肺B）の各重量を精秤し、それぞれ湿肺重量 W_A と湿肺重量 W_B として記録する。また、湿肺A、Bのアルミ箔カップは、予め秤量しておき、その重量（A）、（B）を記録しておく。

これらの湿肺Aと湿肺Bの秤量においては、両湿肺の含水状態をできるだけ同様に保つことが重要である。実際の秤量においては、秤量中に湿肺重量が刻々と減少して行くが、一定になるまで待たずに、素早く読み取り記録する。その際、湿肺A→湿肺B→湿肺Aの順に等時間隔で秤量して、湿肺Aの2度の秤量値の平均値を湿肺Aの湿肺重量 W_A とする。これによって、湿肺Aと湿肺Bを同時に秤量したとする。

図3 分割後の肺組織試料、湿肺Aと湿肺Bの精秤方法



- ③ 2組の肺組織試料のうち湿肺Aは、精秤後、そのまま次の組織消化処理に回す。その手順は、湿肺Aを遠沈管に入れ、次亜塩素酸系消化液（クリーン99 K-200[®]）*を適量加え、一定時間静置するものだが、この組織消化手順は1.3で詳述する。

*市販の入手可能な次亜塩素酸系薬液の中で、クリーン99 K-200[®]が最も組織消化に優れている。以下の記述は、次亜塩素酸系消化液（クリーン99K-200[®]）とするが、他の薬液でも同等の性能が確認されれば、使用は可能と考えられる。

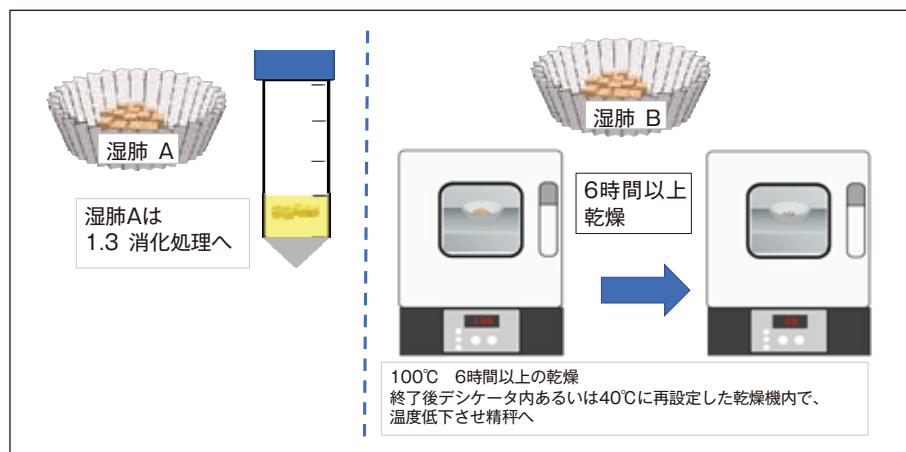
- ④ 一方の湿肺Bは、アルミ箔カップに載せたまま、100℃の乾燥機に入れて、6時間以上乾燥させる。

乾燥後、乾燥機から取り出しデシケータの中で常温に戻してから精秤し、その乾燥重量（d）を記録する。デシケータがない場合、乾燥機の温度設定が可能であれば、設定温度を40℃程度に下げ、乾燥機内が設定温度に下がったことを確認し、精秤を行う。温度設定ができない場合には、検体を乾燥機内に入れた状態で、電源をきり、扉を開けずに自然に温度が40℃程度に下がる2時間程度放置し、その後精秤する。

図4 乾燥機内で乾燥中の肺組織試料の状態



図5 湿肺Aと湿肺Bの精秤後の工程

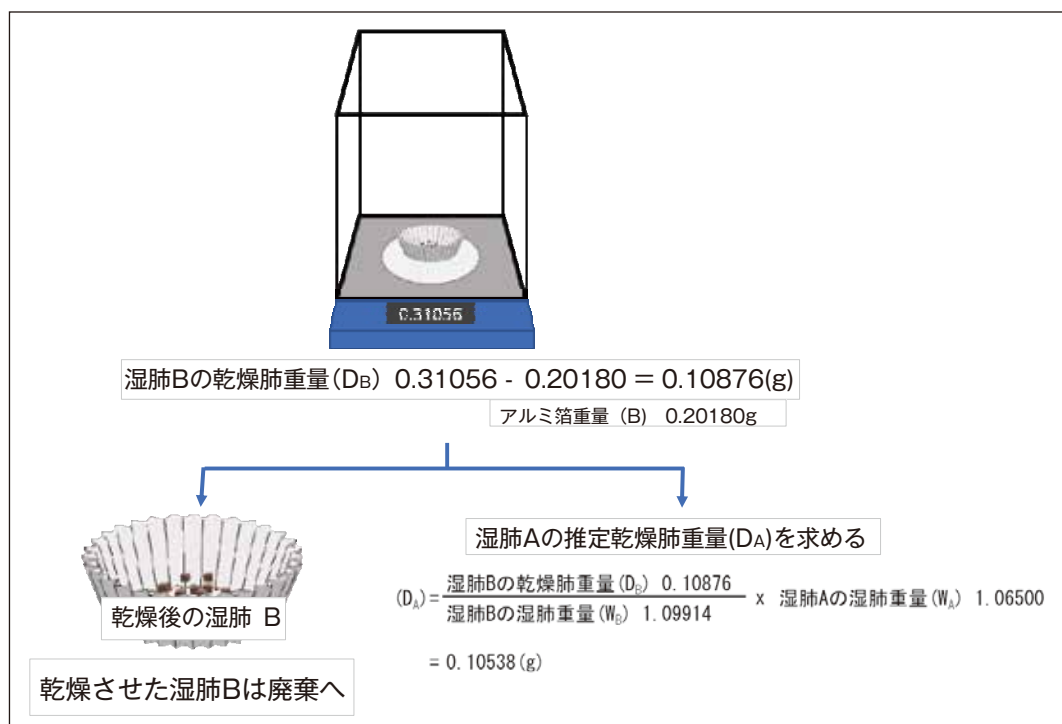


- ⑤ 重量 (d) から予め秤量してあったアルミ箔カップの重量 (B) を差し引いた (d - B) が湿肺Bの乾燥肺重量 (D_B) となる。湿肺Bの湿肺重量 (W_B) と乾燥肺重量 (D_B) の比率から、秤量してない湿肺Aの乾燥肺重量 (D_A) を計算で求める。
- そのために、湿肺Bの乾燥肺重量 (D_B) / 湿肺Bの湿肺重量 (W_B) = Rを求め、その比率Rを湿肺Aの湿肺重量 (W_A) に乗じれば、それが湿肺Aの乾燥肺重量 (D_A) となる。
- この湿肺Aの乾燥肺重量 (D_A) を求める計算式を次に示す。

$$\text{湿肺Aの乾燥肺重量 } (D_A) = \frac{\text{湿肺Bの乾燥肺重量 } (D_B)}{\text{湿肺Bの湿肺重量 } (W_B)} \times \text{湿肺Aの湿肺重量 } W_A$$

湿肺Bの乾燥肺重量 (D_B) を精秤後の乾燥肺試料は石綿小体計測終了後廃棄する。

図6 湿肺Aと湿肺Bの乾燥肺重量の求め方

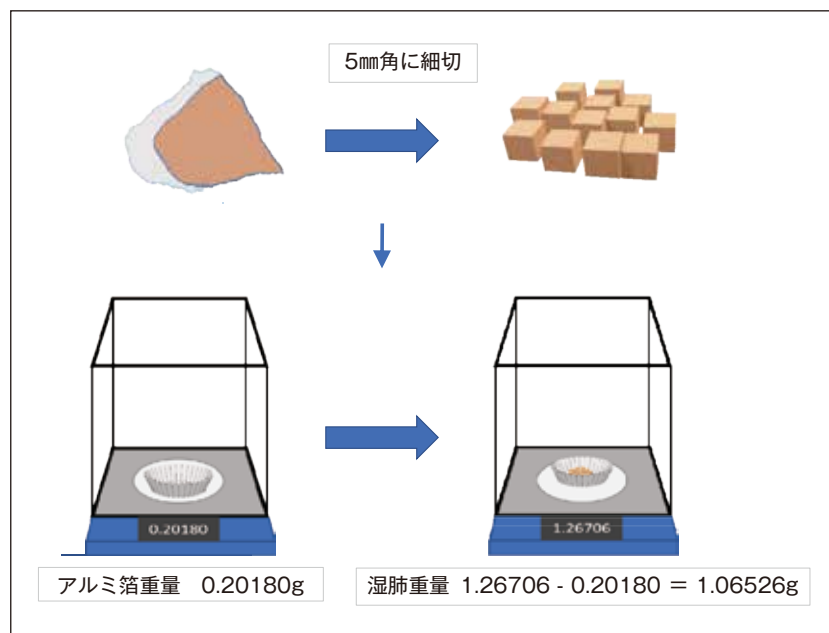


1.2.2 湿肺組織が2g未満（0.5g以上）の場合

この場合は、主にパラフィン包埋ブロック検体が該当することが多い。パラフィン包埋ブロックは、腫瘍部等を除外し、脱パラフィン処理をして用いる（参照1.2 肺組織試料の秤量方法参照）。その場合、湿肺組織の重量は、通常1g未満の少量となることが多い。なお、ホルマリン浸漬検体が少量しかない場合にも本処理方法は適用できる。

- ① 水に置換した状態の湿肺組織を約5mm大の格子状に細切り、電子天秤にて秤量して、湿肺重量を求める。この場合、この湿肺重量は参考値程度であるので、上記の1.2.1の場合ほど素早く精秤する必要はない。

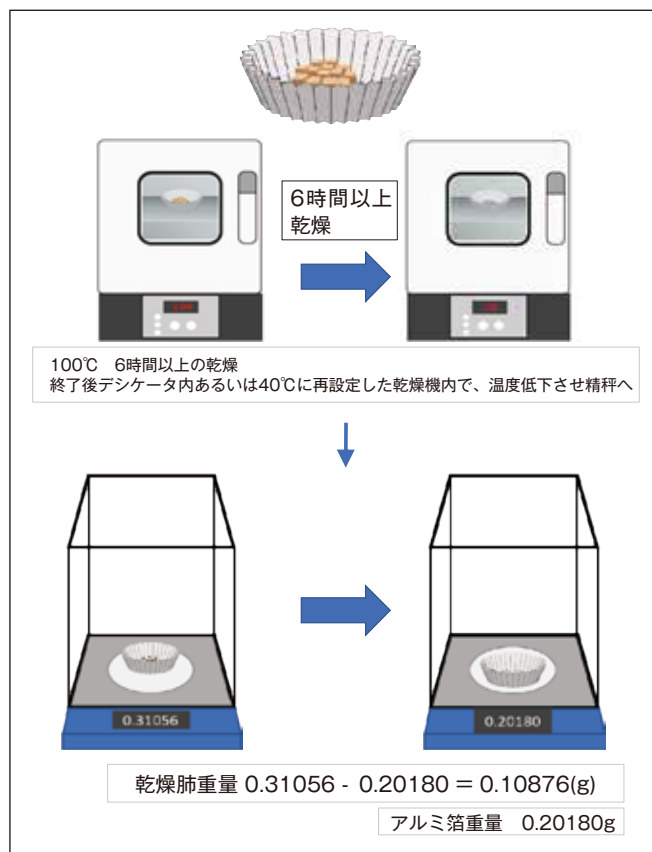
図7 湿肺組織（2g未満）の精秤方法



- ② 湿肺重量を秤量後、その肺試料を100℃の乾燥機中に入れて6時間以上乾燥させる。乾燥後、乾燥機から取り出しデシケータの中で常温に戻してから精秤し、その乾燥肺重量を記録する。デシケータがない場合、乾燥機の温度設定が可能であれば、設定温度を40℃程度に下げ、乾燥機内が設定温度に下がったことを確認し、精秤を行う。温度設定ができない場合には、検体を乾燥機内に入れた状態で、電源をきり、扉を開けずに自然に温度が40℃程度に下がる2時間程度放置し、その後精秤する。
精秤後の乾燥肺組織は、下記の1.3の肺組織試料の消化処理方法に供する。

* 乾燥肺重量精秤後、乾燥肺組織を全て遠沈管に入れる際、アルミ箔内に乾燥肺組織の取り残しが無いように注意する。もしアルミ箔に汚れが目立つようであれば、そのアルミ箔を精秤し、先に精秤したアルミ箔の重量と比較し差異がある場合、乾燥肺重量の計算には後者を用いる。

図8 湿肺組織（2g未満）の乾燥～精秤方法

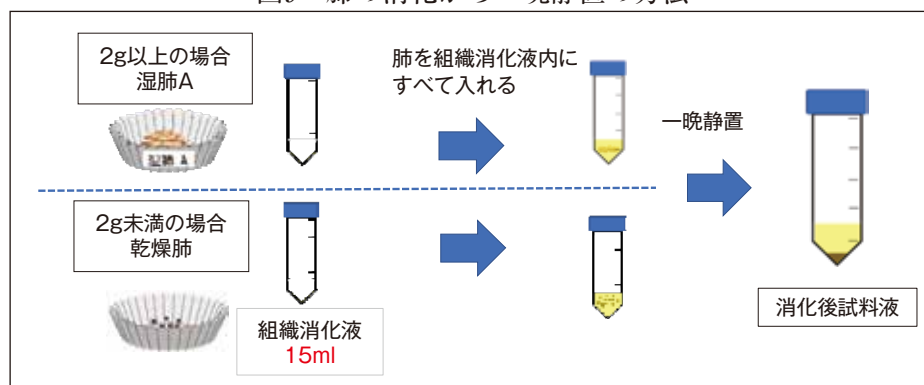


1.3 肺組織試料の消化処理方法

- ① 1.2.1の秤量後の湿肺試料（1g程度）又は1.2.2の秤量後の乾燥肺試料（0.1g程度）のいずれかの肺組織を50ml遠沈管に入れる。その遠沈管に次亜塩素酸系消化液（クリーン99K-200[®]）*約15mlを加え室温あるいは60℃程度までの温度で一晩静置する。内容物は自然沈降したままとする。

*組織消化処理液の使用量は、組織が溶解しうる最低限の量が望ましい。しかし、組織消化が不十分であれば適当な観察標本の作製が困難となる。今回のマニュアルでは、検討結果により初期消化に使用する溶液量を15mlとした。

図9 肺の消化から一晩静置の方法



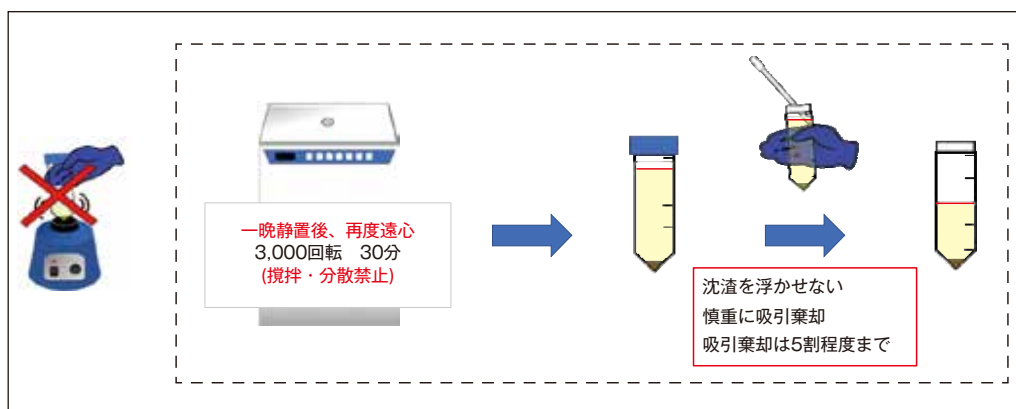
- ② 消化後の液を試験管ミキサーなどで簡単に攪拌して消化されたことを確認後、精製水を満たし、遠心分離機にかけ3,000回転/分で30分間遠沈し、そのまま一晚静置する。

図10 攪拌から遠心の方法



- ③ 翌日、溶液を攪拌させることなく、再度遠沈（3,000回転/分で30分間）し、上清を5割程度棄却する。上清の棄却は、溶液を懸濁させずにスポイト等で上清を静かに吸引して、沈殿物およびその付近の溶液を乱さないように慎重に行う。

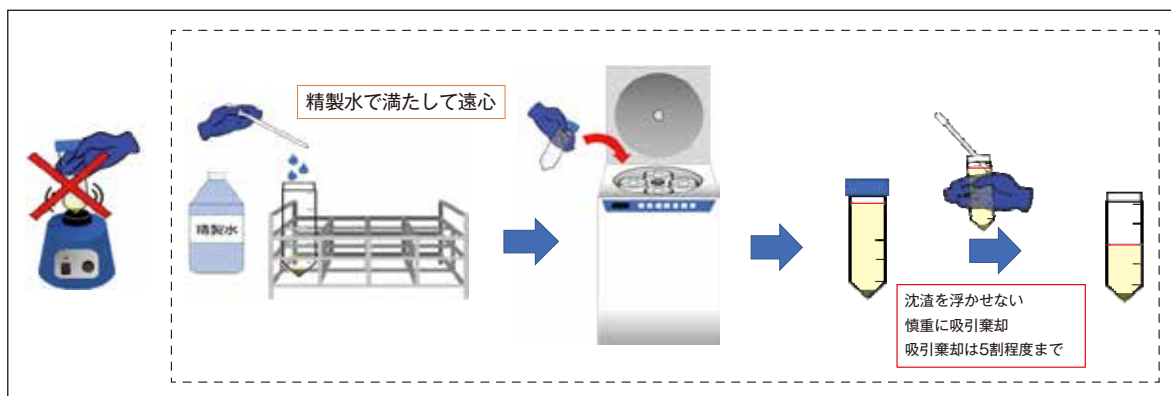
図11 一晚静置後、遠心から上清棄却の方法



- ④ さらに③の検体に試験管ミキサーによる分散操作を行わず、蒸留水を満水にし、3,000回転/分で30分間遠沈し、上清を半分程度棄却する。この洗浄操作をさらにもう一度繰り返す、計2回実施する。

* 洗浄操作中の試験管ミキサーによる分散行為は繊維消失につながる可能性があり避けること。遠心洗浄操作に関して、遠心後速やかに上清の棄却を行うが、その際の目安は遠沈管の5割程度にとどめる。吸引速度は遅ければ遅いほど良い。また、遠心後、棄却操作を始めるまでに10分以上経過した場合は、3,000回転/分で30分間の再遠心を行う（石綿小体及び石綿繊維の再浮遊を避けるため）。

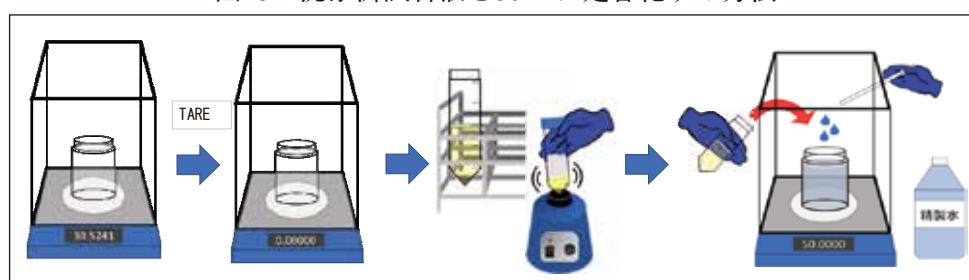
図12 消化処理液の洗浄操作方法



- ⑤ 洗浄後、試験管ミキサーや超音波洗浄機を用いて均一な溶液になるまで分散操作を行う。超音波洗浄機の使用は30秒以内／1回が望ましい。長時間の超音波洗浄機の使用は石綿小体からタンパク体が脱落するおそれがあるので控える。
- ⑥ 上清棄却後の残液をゆっくりと転倒混和し、50ml定容化ガラス瓶の容器へ移す。
この移す操作は、残液を移した後の遠沈管に少量の精製水を入れ、転倒混和や試験管ミキサーにかけて、管内を洗浄し、洗浄液を定容化容器へ移す。この操作を繰り返し、50mlに定容化*する。これを石綿小体あるいは石綿繊維計測用の定容化原液として保管する。

*定容化操作：使用する50mlガラス瓶を予め電子天秤に載せ、風袋引き設定（例：TARE）することにより組織消化後の洗浄済試料液をその50mlガラス瓶に入れて、電子天秤に載せた状態で精製水を追加しながら正確に50gになるように微調整する。これで、内容量が50mlに定容化できる。もし、50gを超えてしまったときは、その値を記録しておき、その重さを比重1でmlに換算した容量を以降の分取時に用いる。

図13 洗浄済試料液を50mlに定容化する方法



1.4 石綿小体の観察標本作製方法

肺組織を消化処理して作製した定容化原液から石綿小体計数用の観察標本を作製する方法を示す。

- ① 肺組織消化済みの50ml定容化ガラス瓶の定容化原液からピペットで必要量（1～5ml）*を分取して、新たな遠沈管に入れる。その際には、定容化原液を十分に混和しておくこと。

*分取量の設定について

50ml定容液から何ml分取して観察標本を作製するかを決定する。分取量が多くなれば下限値は減少し、より精度の高い観察標本となるが標本中の夾雑物が多くなり観察しづらい標本となることがある。しかし、下限値を低く保つことが必要になる場合があるので、その際は、フィルターを複数枚に分けて濾過するなど、観察フィルター枚数を増やす工夫が必要である。（計算の実例 例2 応用編参照）

- ② それに精製水を加えて30～40ml程度にして、試験管ミキサーでよく懸濁させた後、3,000回転/分で30分間遠沈する。
- ③ 上清を5割程度棄却し、再度精製水を加えて30～40ml程度にして、試験管ミキサーで懸濁させた後、3,000回転/分で30分間遠沈する。この洗浄操作で残渣中の消化液、特に界面活性剤を除去できる。洗浄操作において、泡立ちが強い場合には、この操作を繰り返し、洗浄する。
- ④ ③の遠沈操作後、遠沈管に精製水を加えて懸濁液として、石綿小体計測用のメンブランフィルターにろ過捕集する。吸引ろ過装置でろ過する際、コニカルビーカーやろ過装置の容器内に付着した試料が完全になくなるまで充分洗浄して吸引すること。ろ過後のメンブランフィルターはシャーレに保管するが、そのとき残渣物捕集面を上にして室温あるいは60℃程度までの温度で乾燥させる。スライドガラスにフィルターを載せる時は試料ろ過面を下向きにして、アセトン蒸気発生装置（Quick Fix[®]）を使用して透明化処理を行う。装置下部のアセトン蒸気吹き出し口の直下にフィルターを載せたスライドガラスを挿入し、アセトン200～300μlをゆっくりと注入し、アセトン蒸気を吹付ける。アセトンで透明化した状態でそのまま長く放置すると、フィルターの剥離がおこり透明性が悪くなることがあるので、あまり時間をおかずに次のトリアセチンやエンテランニューなどの封入剤を2～3滴使用しカバーガラスをかける操作を行う。
- ⑤ 原則フィルター1枚の計測が必要であり、フィルターを半切し計測することも可能であり、その際には標本を2枚に分けて作製し、その両方を計測する。

図14 定容化原液



図15 吸引ろ過器具一式



図16 フィルター設置部 (拡大)



図17 吸引ろ過前後フィルター(左:前、右:後)



図18 フィルターの乾燥



図19 アセトン蒸気発生装置



図20 ろ過捕集面を下においたフィルター



図21 左：透明化前、右：透明化後のフィルター



図22 分取多量例のフィルター



図23 分取少量例のフィルター



*もし界面活性剤の影響による白色斑点などが見られる場合は、洗浄操作を3回、4回と増やし、より適切な標本作製を行うようにする。

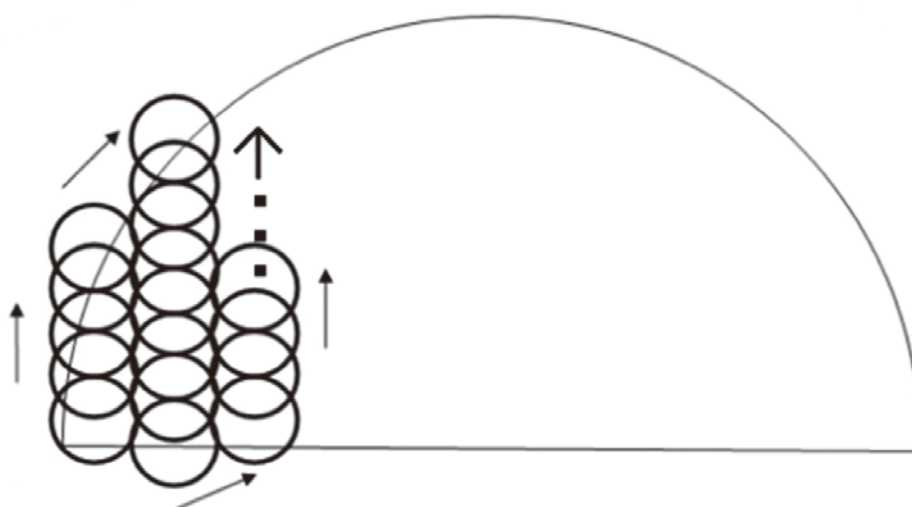
1.5 石綿小体の計数方法

観察標本中に存在する石綿小体（AB）を位相差顕微鏡により計数する。石綿様繊維状物質の共存が目立つ場合には、その旨（例：背景に繊維状物質を容易に認める）記載する。

- ① 位相差顕微鏡（接眼10倍、対物40倍）を用いて観察標本中のABを計数する。フィルターの全面（原則としてフィルター1枚の全面、1枚を半切したフィルター（1/2枚）では各々の全面）を、フィルターを連続的に移動させて観察*し、ABを計数する。その時のAB数を記録する。夾雑物やABが多い場合には、フィルター1枚あたりの分取量を減らし、複数枚作製し計数しやすい視野確保ならびに下限値を低く保つことが望ましい（検出下限値の目安はP15（注）検出下限値参照）。

*視野移動の方法：視野移動は、上下または左右の、計数者が観察しやすい方向を選び、連続して移動させる。フィルター全面を計数する場合は大円を1/2ずらしながら、隣の視野へ移動する。下図（図7）に視野（大円）移動の例を示す。

図24 半切フィルター上の視野移動の方法



- ② 乾燥重量、分取率、AB数のデータを次式に代入して、乾燥肺1g当たりのAB濃度を計算する。

計算方法

$$C_{AB} = \frac{N_{AB}}{F \times W_L}$$

$$DL = \frac{1}{F \times W_L}$$

C_{AB} = 石綿小体 (AB) 濃度 (本/g 乾燥肺)

N_{AB} = 計数したAB数 (本)

F = 分取率 (試料液分取率と計数面積比から求める。計算例を参照のこと)

W_L = 肺試料量 (乾燥重量; g)

DL = 検出下限値 (Detection Limit: DL値) (本/g 乾燥肺)

* 石綿小体の計数：原則としてフィルター1枚の全面を計数する。1枚を半切したフィルター (1/2枚) では各々の全面を計数した値を合算する。

(注) 検出下限値：2桁 (100本/g乾燥肺 未満) となるように分取量を調整する
石綿小体濃度が10,000本/g 乾燥肺を超えるような高濃度の場合には、3桁も許容される。

計算の実例

例1) 湿肺組織が2g以上の場合【1.2.1】

肺Aを計測標本試料とする。肺Bは実質乾燥重量を求めるために使用する。

肺A検体を50mlに定容化し、そこから4ml分取しフィルターに濾過した。フィルター濾過面積の直径は18mmであった。フィルターの全面を観察し、75本の石綿小体が検出された。肺Aと肺Bの精秤結果は下表の通りである。

精秤結果 単位 (g)			
肺Aの湿重量	肺Aの推定乾燥重量	肺Bの湿重量	肺Bの実質乾燥重量
1.22521(W_A)	*計算にて算出(D_A)	1.14483(W_B)	0.15912(D_B)

- ◆ 推定乾燥肺重量(D_A)の計算【1.2.1 ⑤】 推定乾燥肺重量の計算式を参照。
肺Bの実質乾燥重量が判明した段階で、肺Aの推定乾燥重量を算出する。

$$0.15912(D_B) / 1.14483(W_B) \times 1.22521(W_A) = 0.17029g(D_A)$$

$$\text{肺Aの推定乾燥重量} = 0.17029g$$

- ◆ 分取率の計算

分取率：溶液分取率 × 計数面積比

溶液分取率：分取量 / 50

計数面積比：計数面積（試料面積中の観察した面積） / 試料面積（フィルター濾過面積）

本例では、分取量4ml、フィルター濾過面積の直径は18mm

$$\text{溶液分取率} = 4 / 50 = 0.08$$

$$\text{計数面積比} = (9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$$

$$\text{分取率} = 0.08 \times 1 = 0.08$$

- ◆ 検出下限値(DL)の計算【1.5 ②】 計算方法参照

検出下限値とは…

観察標本中の石綿小体1本を肺組織1gに換算した際、何本に相当するかを表す値。

$$\text{検出下限値(DL)} = 1 / (0.08 \times 0.17029) = 73(\text{本/g 乾燥肺})$$

- ◆ 石綿小体濃度の計算【1.5 ②】 計算方法参照

$$\text{肺Aの石綿小体濃度} = 75 / (0.08 \times 0.17029) = 5,505(\text{本/g 乾燥肺})$$

例2) 応用編 (複数枚のフィルターを作製した場合)

例1の肺A検体50ml定容液から、1ml分取しフィルターに濾過した。これを計4枚作製し、各々フィルター全面を観察した。各々を計数した結果、20本、18本、24本、19本となった。精秤結果は例1を参照。

◆ 分取率の計算 (分取量1mlのフィルター4枚*)

$$\text{溶液分取率} = 1/50 = 0.02$$

$$\text{計数面積比} = (9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$$

$$\text{分取率} = (0.02 \times 1) + (0.02 \times 1) + (0.02 \times 1) + (0.02 \times 1) = 0.08$$

※分取量4mlのフィルター1枚と分取率は同等となり、検出下限値も等しくなる。

◆ 検出下限値 (DL) の計算

$$\text{検出下限値 (DL)} = 1 / (0.08 \times 0.17029) = 73 (\text{本/g 乾燥肺})$$

◆ 石綿小体濃度の計算

標本の計数結果を合算する。

$$\text{計数石綿小体本数の合計} = 20 + 18 + 24 + 19 = 81 \text{本}$$

$$\text{肺Aの石綿小体濃度} = 81 / (0.08 \times 0.17029) = 5,946 \text{本/g 乾燥肺}$$

例3) 湿肺組織が2g未満の場合 【1.2.2】

肺検体を50mlに定容化し、そこから5ml分取しフィルターに濾過した。フィルター濾過面積の直径は18mmであった。フィルターの全面を観察し、81本の石綿小体が検出された。肺の精秤結果は下表の通りである。

精秤結果		単位 (g)
湿肺重量	乾燥肺重量	分取量 (ml)
1.22521	0.11012	5

◆ 分取率の計算

$$\text{溶液分取率} = 5/50 = 0.1$$

$$\text{計数面積比} = (9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$$

$$\text{分取率} = 0.1 \times 1 = 0.1$$

◆ 検出下限値 (DL) の計算 【1.5 ②】 計算方法参照

$$\text{検出下限値 (DL)} = 1 / (0.1 \times 0.11012) = 91 (\text{本/g 乾燥肺})$$

◆ 石綿小体濃度の計算 【1.5 ②】 計算方法参照

$$\text{石綿小体濃度} = 81 / (0.1 \times 0.11012) = 7,356 (\text{本/g 乾燥肺})$$

2. 気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体計測方法

2.1 石綿小体計測のための気管支肺胞洗浄（BAL）法

1. BALはわが国で標準的とされている方法¹⁾に従い、気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取する。原則、中葉舌区を無菌生理食塩水50mLで3回洗浄し、分割して回収する（1～3分画）。BALFの各分画を別々に解析している施設では、3分画は混和せず、第2分画から20mLを石綿小体計測用検体として提出する。BALFの各分画を混和して解析している施設では、3分画の混和液から原則20mLを石綿小体計測用検体として提出する。解析には原則20mlを使用することを原則とするが、再検や保存を考慮する場合は、最低10mlの使用でもよい。

1) 井上義一、他（2008）BAL法の手技：気管支肺胞洗浄〔BAL〕法の手引き、p8-10、日本呼吸器学会びまん性肺疾患学術部会厚生労働省難治性疾患克服研究事業びまん性肺疾患調査研究班、克誠堂出版。
2. 肺がん症例でも原則中葉舌区でBALを行う。ただし、中葉舌区に肺がんがある場合、肺がんのない側でBALを実施する。
3. 回収したBALFは通常2層の無菌ガーゼを通し粘液等を除去するが、石綿小体計測用の検体は、原則ガーゼを通さずに（ガーゼを通す前に分取し）提出する。
4. BALFの回収率が25%以下（回収液で38ml以下）の場合は、更に50mlで4回目の洗浄を行い、1～3回目のBALFと混和したものを提出可とする。提出検体は、原則20ml、解析のために最低必要量は10mlである。4回の洗浄でも回収率が25%を下回った場合は（200ml注入し回収液の含量が50ml以下）、そのBALFは末梢気道および肺胞領域の洗浄が不十分であると考えられ、石綿小体計測結果は、有意な個数の石綿小体が検出された場合のみ判定材料として利用するに留める。もし検出されなかった場合は不適検体による参考値として扱い、判定を行わない。
5. 石綿小体計測のためのBALF検体（原則20ml）は、原則50mL遠沈管で提出する。また、BAL法実施にあたっては、患者の個人データを整理するために下記のような表（次ページ「石綿小体計測用BAL個人票」参照）を作成する。提出時に可能な限り患者情報に加え、添付のBAL情報（洗浄部位、回収率、細胞数、細胞分類）を記載する。
6. 石綿小体計測に使用した検体以外の検体は、必要に応じてガーゼを通し、診療用のBAL検体として、総細胞数、細胞分画を行い、さらに細胞診、リンパ球表面マーカー等の解析も必要に応じて加える（約20～30ml必要である）。
7. 経気管支肺生検（TBLB）や経気管支生検（TBB）を行う場合は、BALを行った後、TBLB、TBBを行うこと。

石綿小体計測用BAL個人票						(No. _____)	
施設名 ()				提出医/主治医名 ()			
患者番号		年齢	歳	性別			
患者背景	肺癌 ・ 石綿肺 ・ 胸膜プラーク ・ びまん性胸膜肥厚 その他 ()						
喫煙歴	現在喫煙している ・ 喫煙歴有り ・ 喫煙歴無し					(本数/日 年間)	
石綿吸入に係る職業歴等	(職種、居住歴等のできるだけ詳しい記述)						
BAL検査日	年	月	日	BAL実施に係る特記事項 ※分画数など			
BAL洗浄部位	右 ・ 左 S ()	提出液	第2分画、50ml×3混和、 その他 ()				
注入量	()ml	回収量	()ml				
細胞数 (濃度) 施行した場合記入		() × 10 ⁵ /ml					
細胞分画 (施行した場合 可能であれば 記入)	マクロファージ	() %	リンパ球	() %			
	好中球	() %	好酸球	() %			
	その他	() %					
	CD4/8	() %					

2.2 BALF中の石綿小体計測の手順

BALFから石綿小体（AB）濃度を計測するためには、下記の標本作製手順と計測方法に従って行い、最終的にBALF 1ml当たりの石綿小体数で表現する。

気管支鏡観察および気管支肺胞洗浄（BAL）施行



①気管支肺胞洗浄液（BALF）採取

原則として、各分画を別々に解析している施設では第2分画を20ml、混和している施設では混和液から20mlを使用する。



②消化処理

BALFを入れた遠沈管に15mlの次亜塩素酸系消化液（クリーン99K-200[®]）を加え室温あるいは60℃程度までの温度で一晩静置する。



③定容化

遠沈3,000回転／分を30分間行い、上清を5割程度棄却し、沈渣に精製水を加え攪拌。この操作を3回行い、最後の沈渣を5割程度棄却後、沈渣に精製水を加えてよく分散し、ガラス製バイアル瓶に移して50mLに定容化する。定容化は、試料溶液の重量を測定して求める。



④分取

検出下限値が0.25以下になるよう、定容液50mLから10ml以上を分取する。
※検出下限値については、次ページの「検出下限値換算表」を参照する。



⑤吸引ろ過・乾燥

メンブランフィルターに吸引濾過し、乾燥させる。



⑥計数標本作製

乾燥後、ろ過面を下向きにしてスライドガラス上に置き、アセトン蒸気発生装置（Quick Fix[®]）によりアセトン蒸気を噴霧して接着・透明化し、エンテランニューまたはトリアセチンで封入し、カバーガラスを載せ計測用の標本とする。



⑦計測

位相差顕微鏡（接眼×10、対物×40）でフィルター全面の石綿小体を計測する。



石綿小体濃度（石綿小体数/ml）を計算する。

BALF 1mlあたりの石綿小体濃度の計算式（フィルター全面計測の場合）

$$C_{AB} = \frac{N_{AB}}{F \times M_{BALF}}$$

- C_{AB} = 石綿小体濃度（石綿小体数/ml）
 N_{AB} = 計測された石綿小体数
 F = 50mL定容液からの溶液分取率
 M_{BALF} = 分析に使用したBALF量（原則20ml）

そのとき、当該計数において1個の石綿小体が計測されたときの石綿小体濃度を計算し、検出下限値（Detection Limit：DL値）として示しておく。

検出下限値換算表

フィルター全面を計測した場合の検出下限値（本/ml）

		分析に使用したBALF量(ml)					
		10	15	20	25	30	40
50 ml 定容化 溶液から の分取量 (ml)	5	1.00	0.67	0.50	0.40	0.33	0.25
	10	0.50	0.33	0.25	0.20	0.17	0.13
	15	0.33	0.22	0.17	0.13	0.11	0.08
	20	0.25	0.17	0.13	0.10	0.08	0.06
	25	0.20	0.13	0.10	0.08	0.07	0.05
	30	0.17	0.11	0.08	0.07	0.06	0.04
	35	0.14	0.10	0.07	0.06	0.05	0.04
	40	0.13	0.08	0.06	0.05	0.04	0.03
	45	0.11	0.07	0.06	0.04	0.04	0.03
	50	0.10	0.07	0.05	0.04	0.03	0.03

次に気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体計測法の手順をより詳細に述べておく。

1. 気管支肺胞洗浄液（BALF）採取

気管支肺胞洗浄（BAL）にて得られた液（BALF）を回収する。通常、無菌生理食塩水50mLを3回注入し、それぞれ回収し、第1分画、第2分画、第3分画とし、検査試料として用いる。その際、回収率も記載しておく。石綿小体計測以外にも検査に用いる場合が多いため、第1、第3分画は他の検査に使用し、第2分画を石綿小体計測用に使用することが望ましい。注入量の合計が150ml以下の場合はその量と回収量も記録する。第2分画から電子天秤を用いて遠沈管に20ml（比重を1として20mg）を正確に採取する。第2分画が20mlに満たない場合には、第2分画に第3分画を加え、合計20mlとして用いる。それでも不足している場合は、第1分画、第4分画の順に追加し、測定試料とする。

2. 消化処理

次亜塩素酸系消化液（クリーン99 K-200[®]）を消化液として用いる。消化液を15ml加え、室温あるいは60℃程度までの温度で一晩静置して組織成分を完全に消化する。

3. 定容化

遠心分離機で3,000回転／分で30分間遠沈する。上清を5割程度棄却した遠心管に精製水を加えて試験管ミキサー等を用いて軽く攪拌処理を行う。なお、超音波洗浄機の使用は30秒／1回以内に収める。この操作を3回繰り返して沈殿物を洗浄する。この洗浄操作においては、遠心分離機が停止してから時間をあまりおかずにスポイト等を用いて上清を棄却することが重要である。この時、管底の沈殿物を乱さないように急激な吸引を避けて、5割程度の上清棄却にすることにより、試料の損失を防ぐ。遠心管を傾斜させて上清を排出することは避ける。洗浄が終了後、懸濁液を50mlスクリーキャップ付ガラスバイアル瓶に移し、正確に50mlに定容化する。定容化は、電子天秤を用いてガラスバイアル瓶の風袋重量を精秤し、試料懸濁液を入れ液重量が50gになるまで精製水を加え精秤する。比重を1として容量に換算する。

4. 分取

通常、ガラスバイアル瓶中の定容化原液を超音波洗浄機や試験管ミキサーを用いてよく攪拌して均質な懸濁液にしてから、精密ピペットにて10mlをコニカルビーカーに分取する。このときの使用分取量は患者のばく露レベルや測定施設の計数の都合等で統一することは難しいが、10mlを基準に増減すると良い。この方法で定容化原液約40mlが残量となる。残渣液を用いて電子顕微鏡によるBALF中の石綿繊維の計測や石綿繊維の種類の分析も可能である。

5. 吸引ろ過・乾燥

吸引ろ過装置でろ過する際、コニカルビーカーやろ過装置の容器内に付着した試料が完全になくなるまで充分洗浄して吸引すること。また、ろ過後のメンブランフィルターはシャーレに保管するが、そのとき残渣物捕集面を上にして室温あるいは60℃程度までの温度で乾燥させる。

乾燥が不十分だと、透明化の時に白濁の原因となり計測不能となるので十分な乾燥に留意する。

6. 計測標本作製

スライドガラスにフィルターを載せるとき試料ろ過面を下向きにして、アセトン蒸気発生装置（Quick Fix[®]）を使用して透明化処理を行う。装置下部のアセトン蒸気吹き出し口の直下にフィルターを載せたスライドガラスを挿入し、アセトン200～300μlをゆっくりと注入し、アセトン蒸気を吹付ける。アセトンで透明化した状態でそのまま長く放置すると、フィルターの剥離がおこり透明性が悪くなることがあるので、あまり時間をおかずに次のトリアセチンやエンテランニューなどの封入剤を2～3滴々下しカバーガラスをかける操作を行う。

原則フィルター1枚の計測が必要であり、フィルターを半切し計測することも可能であり、その際には標本を2枚に分けて作製し、その両方を計測する。

7. 計測

カバーガラスで封入後、位相差顕微鏡で石綿小体を計測する。計測方法は組織試料の場合と同様である。この手順と条件（定容液からの分取量10ml）で測定すると、検出下限値が0.25本/mlとなる。

計 算 例

BALF 20mlを処理して50mlに定容化し、そこから10mlを分取してフィルターにろ過した。フィルターの試料濾過面積の直径は18mmであった。フィルターの全面を観察し、22本の石綿小体が検出された。

試料BALF量(ml)	分取量(ml)	計数小体数(本)
20	10	22

◆ 分取率の計算

$$\text{溶液分取率} = 10 / 50 = 0.2$$

$$\text{計数面積比} = (9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$$

$$\text{分取率} = 0.2 \times 1 = 0.2$$

◆ 検出下限値 (DL) の計算

$$\text{検出下限値 (DL)} = 1 / (0.2 \times 20) = 0.25 (\text{本/ml})$$

◆ 石綿小体濃度の計算

$$\text{石綿小体濃度} = 22 / (0.20 \times 20) = 5.50 (\text{本/ml})$$

3. 使用する顕微鏡、試薬、機器・器具類

3.1 位相差顕微鏡 (P1参照)

位相差顕微鏡の仕様は、JIS A1481（建材製品中のアスベスト含有率測定方法）に示される次のような性能を持つものとする。（図25）

- 透過照明光源（ハロゲン100W以上）を備え、コンデンサは、位相差対物レンズに対応するリング絞りが組み込まれているもの。
- ステージ（載物台）は、JISR3703（顕微鏡用スライドガラス）に規定するスライドガラス（標準形）が1枚以上装着でき、その全面を移動観察できるもの。
- 対物レンズは、位相差対物レンズで10倍、40倍を備えているもの。
- レボルバは、上記の対物レンズが同時に装着できるもの。
- 接眼レンズは、10倍又は15倍を備えたもの。

なお、これらの仕様に加えて、通常の生物用対物レンズ40倍を装着すれば、位相差板をオープンとした状態で観察した時に、試料中の繊維の確認が容易となる場合がある。

位相差顕微鏡では光りすぎて繊維の確認が困難な場合や紛らわしい場合に、次のようにすると繊維の有無が確認しやすい場合がある。

- ① 通常の位相差対物レンズ40倍で観察する場合の位相差用ターレットPh2を、0の明視野用中空穴とする。
- ② 対物レンズを生物用レンズ（例えばPlanApo）40倍に切り替える。
- ③ 光量はそのままで、位相差用ターレットコンデンサを下げ、眩しくない状態とする。
- ④ この状態で微動ハンドルを動かし焦点を変えて観察する。この時、繊維であれば透明な棒状の立体として見える。

その他、付属装置として、写真撮影装置を装着していることが望ましい。また、位相差顕微鏡の調整方法は、取扱説明書ならびに、次の文献を参考にするとよい。

- 1) 環境省水・大気環境局大気環境課 アスベストモニタリングマニュアル（第4.2版）
- 2) (社)日本作業環境測定協会（2022）作業環境測定ガイドブック1 [鉍物性じん・石綿・RCF] の測定の実務

図25 デジタルカメラを装着した位相差顕微鏡



3.2 試薬

試薬類（トリアセチン、その他の封入剤を除く）、蒸留水は、石綿小体分析用に専用で使用し、他の検査検体からの汚染が生じることを避ける。可能であれば、使用前に $0.45\mu\text{m}$ （または $0.8\mu\text{m}$ ）のメンブランフィルターでろ過して使用することが望ましい。試薬類の写真を図26に示す。

- 組織消化液

次亜塩素酸系消化液（クリーン99 K-200[®]）中の濃度の高い次亜塩素酸ナトリウムは開栓すると次第に濃度が低下するので、開栓後は密栓できる容器に取り分け、冷蔵庫等で低温保管することが望ましい。

- アセトン、キシレン、エタノール 特級または1級試薬。

- トリアセチン、その他の封入剤

トリアセチンは屈折率1.434の液体で、位相差顕微鏡によるアスベスト計数標本作製に一般的に用いられる。この他に使用可能な封入剤として、屈折率が1.5かそれ以下であることが明示されている、エンテランニュー（メルク製品）などがある。これらを使用すれば標本を長期間保管できる利点がある。使用する場合は、あらかじめトリアセチン封入標本と比較して、顕微鏡下での繊維の視認性に差が無いことを確かめておくことが望ましい。

図26 試薬類（左：クリーン 99 K-200[®]、中：トリアセチン、右：エンテランニュー）



3.3 機器・器具類

石綿小体の計数標本の作製には、次のような機器・器具類を必要とする。また、脱パラフィン処理等でキシレンを使用する際には、ドラフトなどの局所排気設備が必要である。

- 電子天秤（図27）
試料の秤量、定容化に使用できる、100g～0.01mgが秤量可能な機種。
- 定温乾燥機（図28）
試料の乾燥、消化処理が行える、40～110℃の温度設定が可能な、定温乾燥機。
- 遠心分離機（図29）
50ml遠沈管が使用でき、3,000回転／分以上の回転数が得られるもの。
- 超音波洗浄機、試験管ミキサー
遠沈管、ガラス瓶内の沈殿を分散させることができるもの。超音波洗浄機による分散が困難な場合には、試験管ミキサーなどを使用してもよい。
- アセトン蒸気発生装置
アセスト分析用に市販されている、QuickFix[®]を使用する。
- アスピレーター
吸引ろ過で使用する。圧力調節器が付属した、電動の吸引装置が好ましい。
- 計数カウンタ
石綿小体の計数に使用する、1~5連の数取器
- フィルターカット器具
マイクロトーム替刃、スカルペルなど。
- ピンセット
歯科用ピンセットなど、メンブランフィルターの取り扱いに便利なもの。
- 秤量皿
試料の秤量、乾燥に使用する、110℃までの耐熱性を持つ皿。アルミカップでもよい。

図27 電子天秤



図28 定温乾燥機



図29 遠心分離機



- ガラス瓶
検液を保管するために密栓できる、スクリーバイアル等の50ml容器。
- コニカルビーカー
分取した検液を希釈する、容量50~100mlのもの。
- 全量ピペット各種または必要な容量をカバーするピペッターとチップ
検液の分取に使用する。
- 注射器シリンジまたはマイクロピペッターとチップ
アセトン注入に使用する。
- 吸引ろ過装置
25mmフィルター用のファンネル、ベース、クランプのセットに、吸引びん（500ml~1L）を組み合わせたもの
- メンブランフィルター（図30）
直径25mm、孔径0.8 μ m（または0.45 μ m）の混合セルロースメンブランフィルター。
- スライドガラス
JIS規格を満たす、標準形（26×76mm）のもの。
- カバーガラス
JIS規格を満たす、サイズが24×32mm程度のもの。
- シャーレ
メンブランフィルターが保管できる、ペトリディッシュなどの蓋付透明容器。
- 定性ろ紙
肺試料の余分な水を吸水させる際に使用する。

図30 メンブランフィルター



4. 石綿小体画像

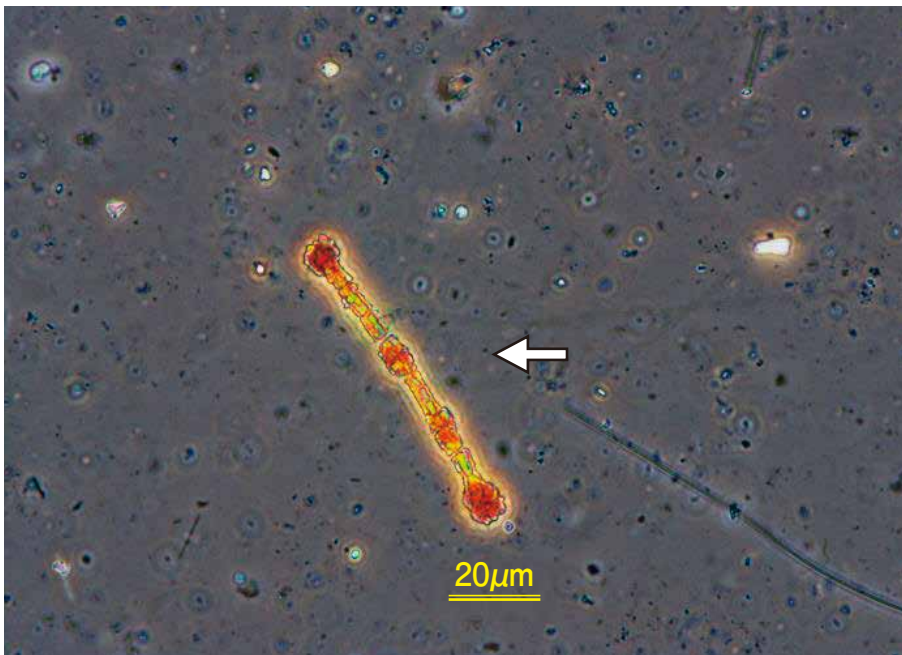
4.1	位相差顕微鏡下の肺内石綿小体および疑似粒子の画像	30
4.1.1	石綿小体に計数する例	30
	亜鈴状・数珠状・団子状の石綿小体	30
	繊維が長くタンパク体で覆われた石綿小体	35
	タンパク体で繊維が広く覆われた石綿小体	38
	繊維が屈曲した石綿小体	40
	少量のタンパク体に覆われた石綿小体	42
	短繊維に数個のタンパク体を伴う石綿小体	44
	夾雑物に埋もれて確認しにくい石綿小体	45
	複数の繊維からなる石綿小体	46
	配列などを加味して石綿小体と判断できる例	47
	コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体	49
	繊維の確認から石綿小体と判断できる例	50
4.1.2	石綿小体に計数しない例	52
	石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質	52
	他の粒子が重なる例	55
4.1.3	分取量の違いによる標本作製例	56
4.2	BALF中の石綿小体の例	58
4.3	位相差顕微鏡と分析透過電子顕微鏡の両方で見た石綿小体と疑似粒子の比較画像	60

⇒は石綿小体、→は石綿小体に計測しない、粒子状、繊維状物質を示す。

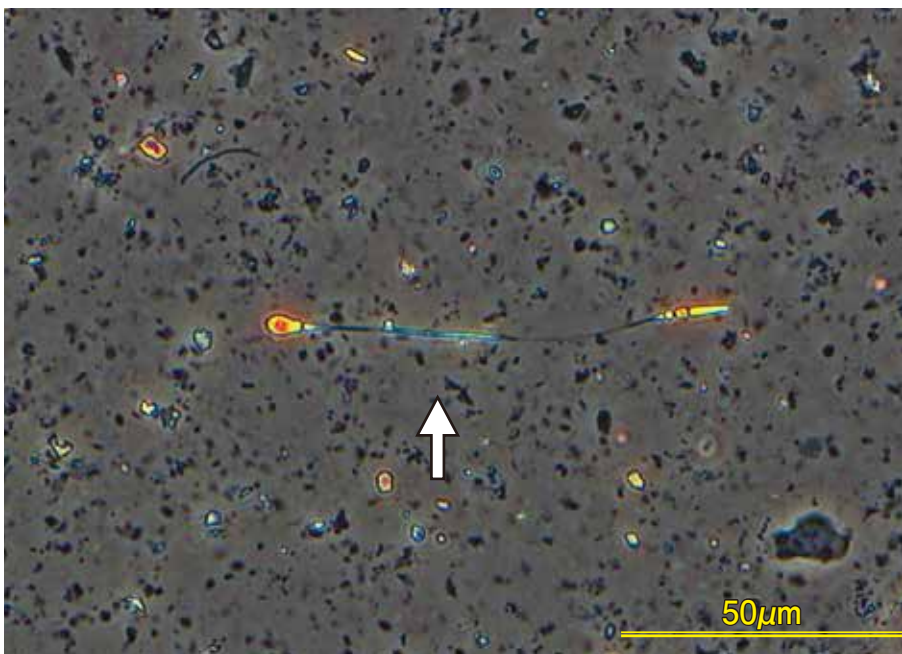
4.1 位相差顕微鏡下の肺内石綿小体および疑似粒子の画像

4.1.1 石綿小体に計数する例

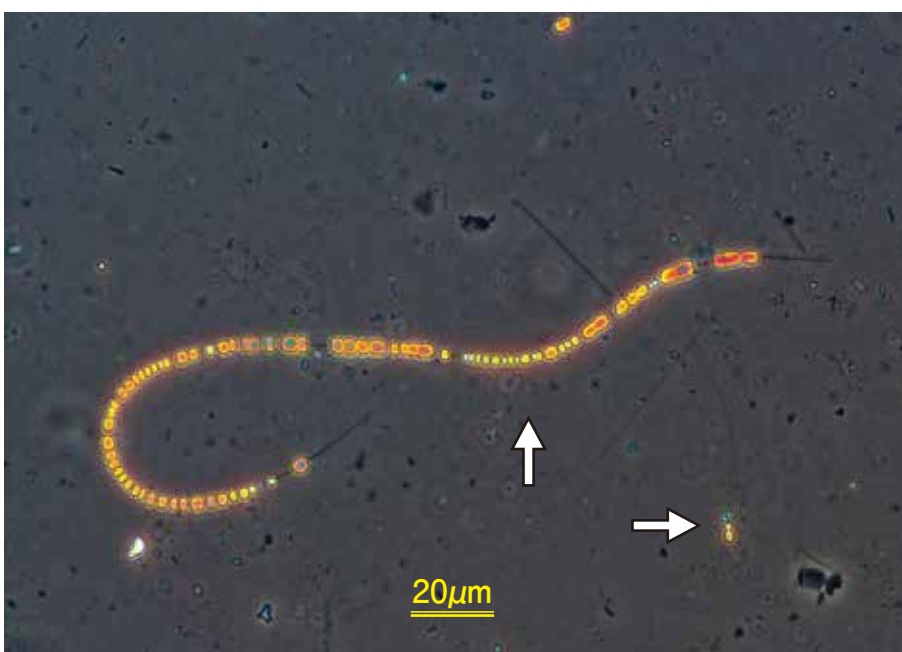
亜鈴状・数珠状・団子状
の石綿小体



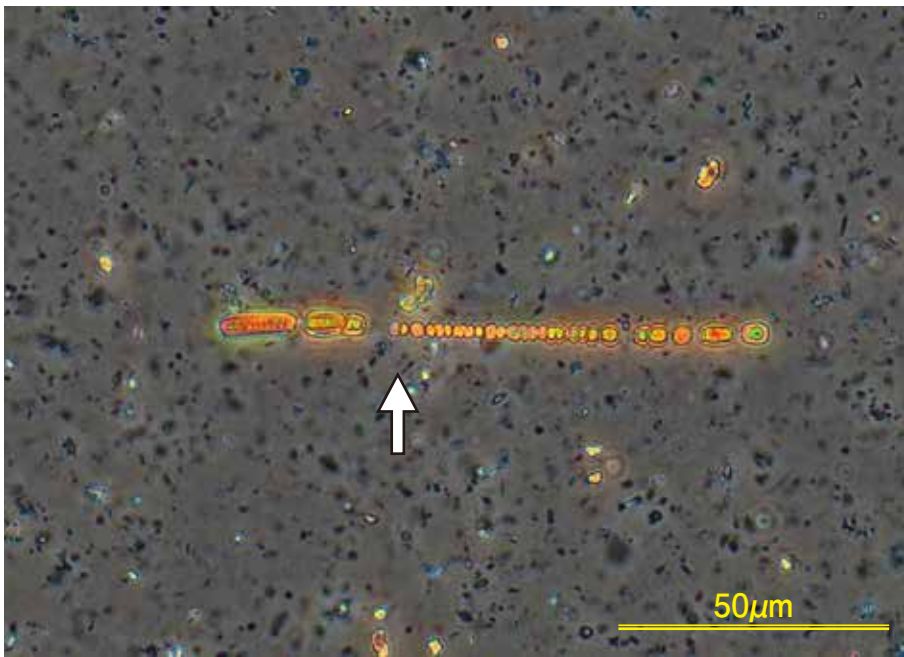
1 典型的な石綿小体



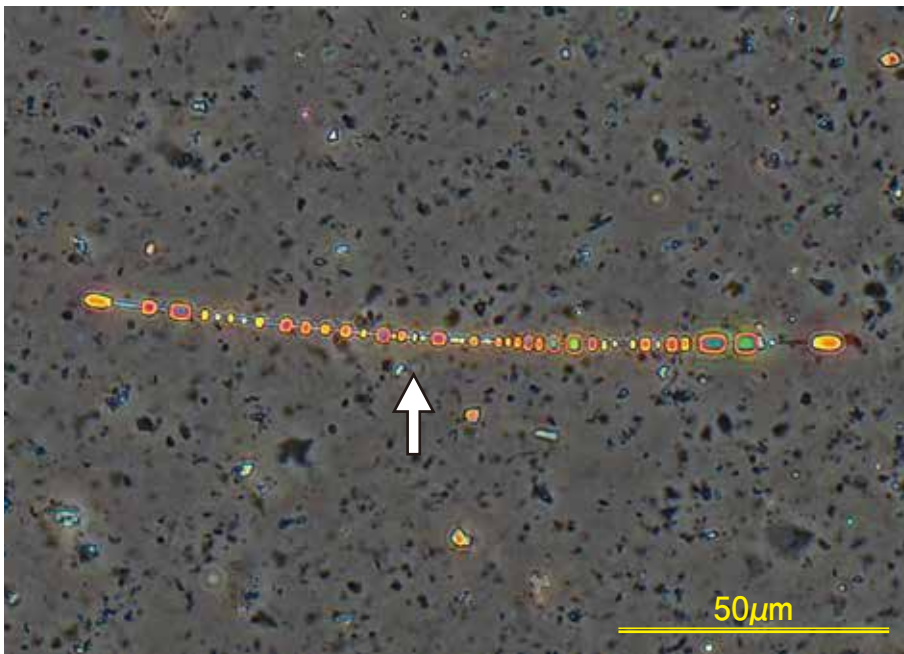
2 亜鈴状の石綿小体



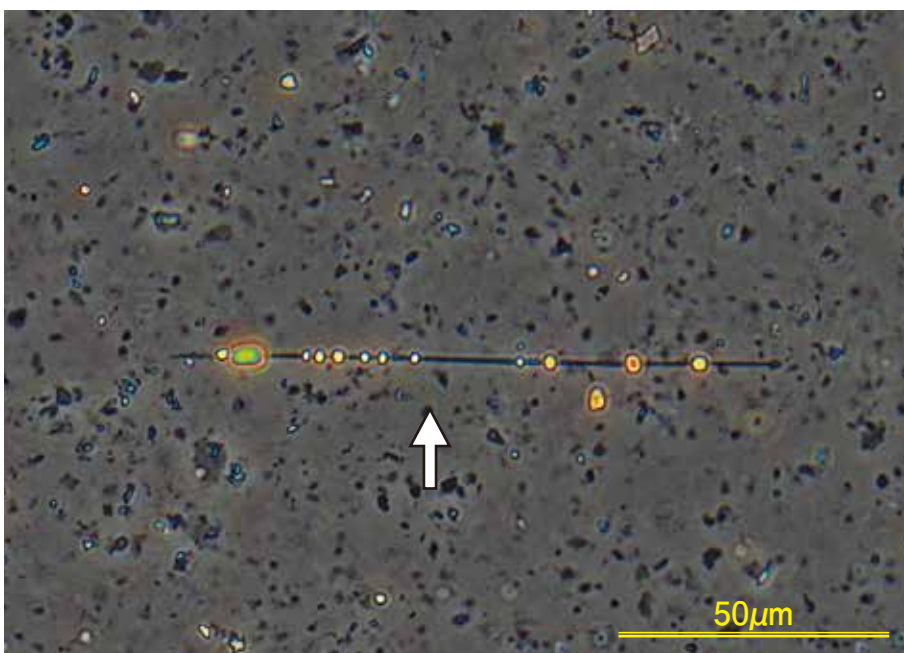
3 数珠状の長い石綿小体



4 数珠状の石綿小体



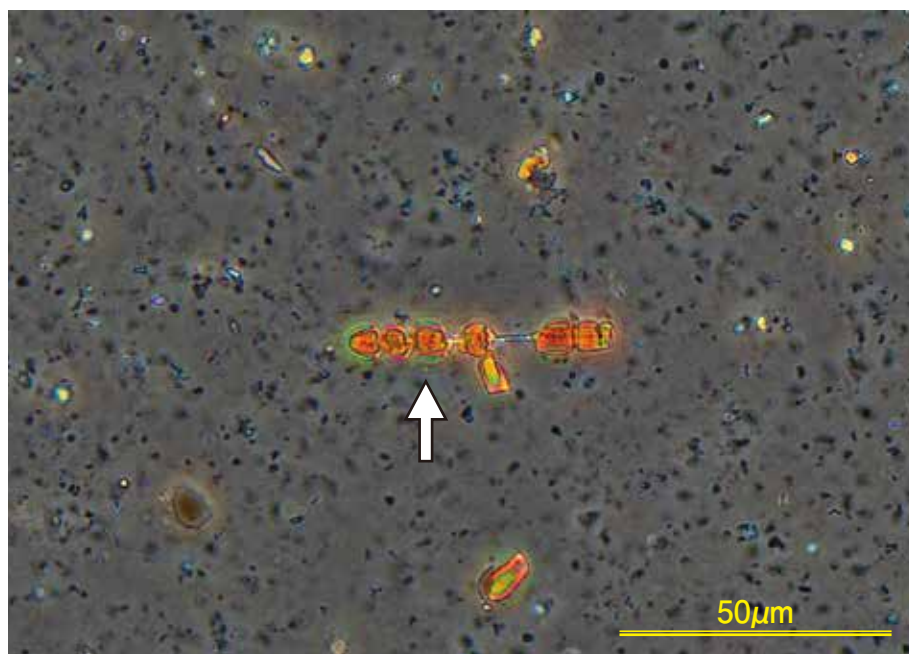
5 数珠状の石綿小体



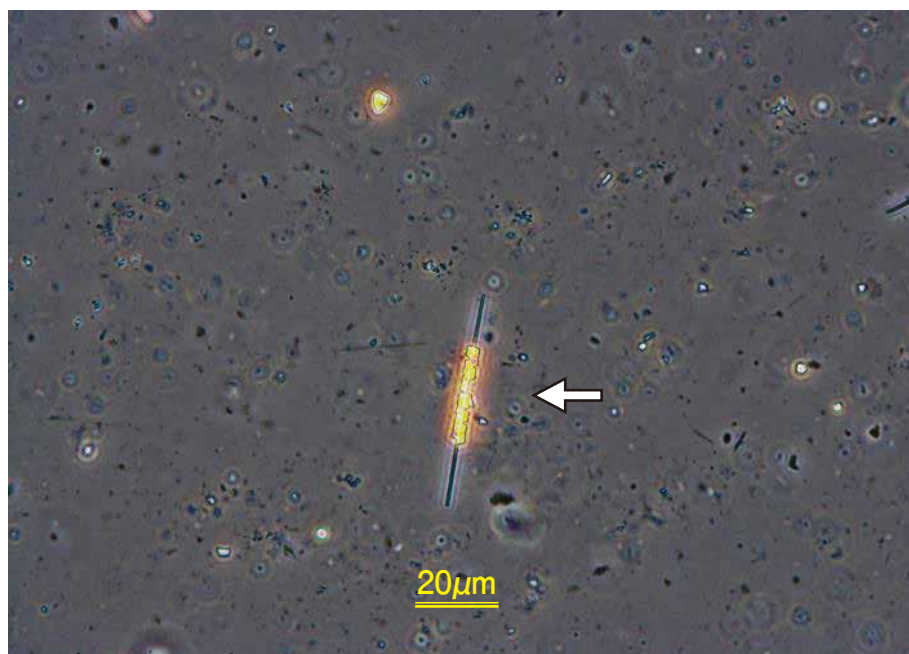
6 繊維の長い石綿小体

4.1.1 石綿小体に計数する例

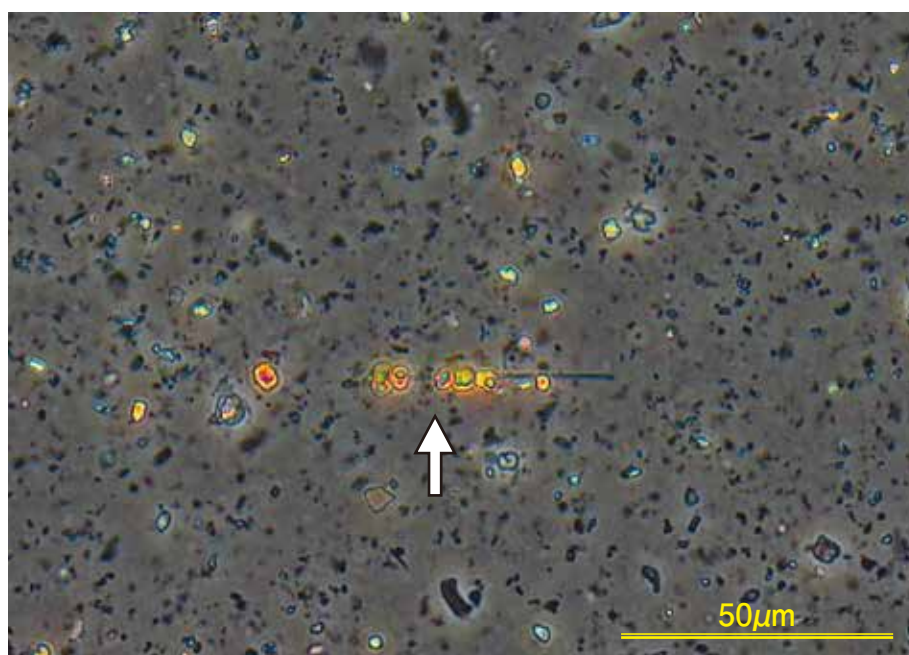
垂鈴状・数珠状・団子状の石綿小体



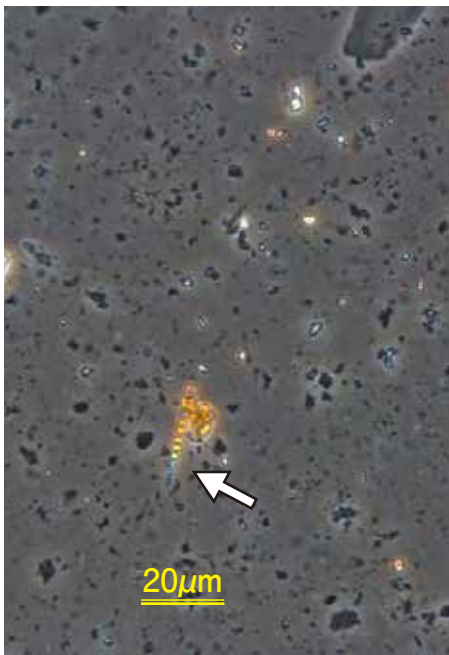
7 団子状の石綿小体



8 ややタンパク体が不整な
団子状の石綿小体

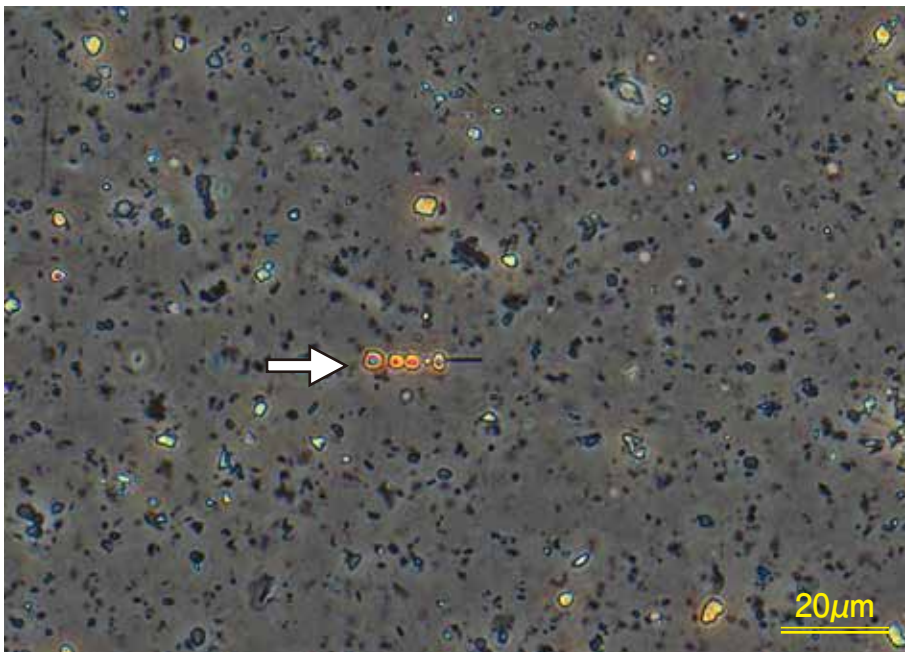


9 団子状の石綿小体像

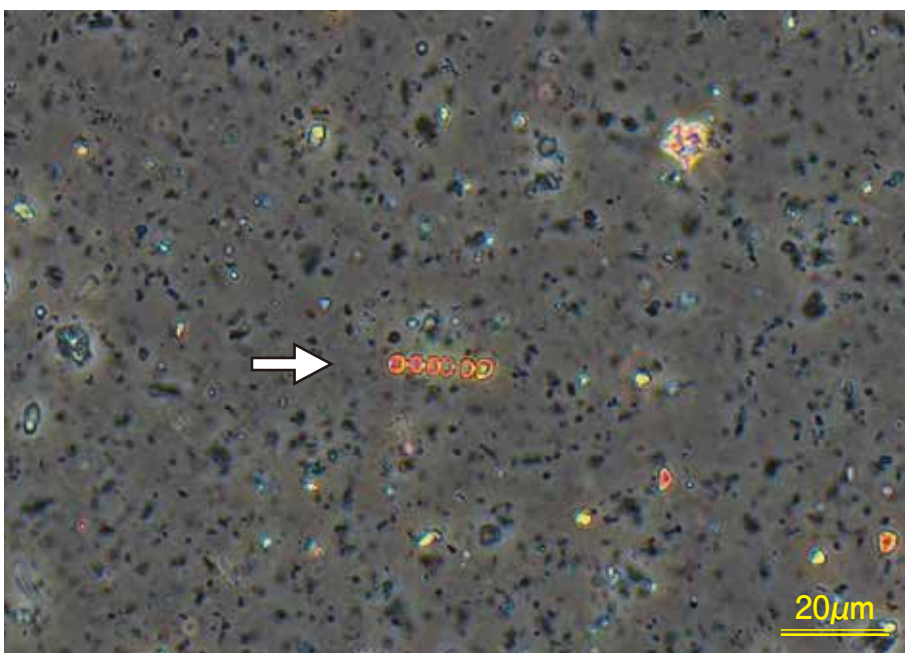


10 団子状の石綿小体

位相差顕微鏡像（左）と
生物顕微鏡像（右）で比較



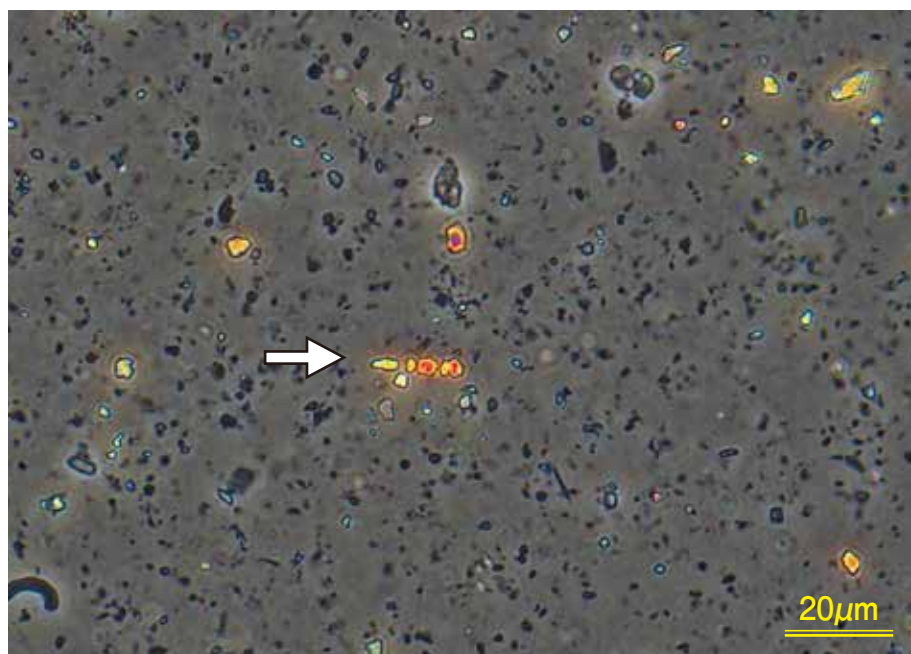
11 団子状の石綿小体



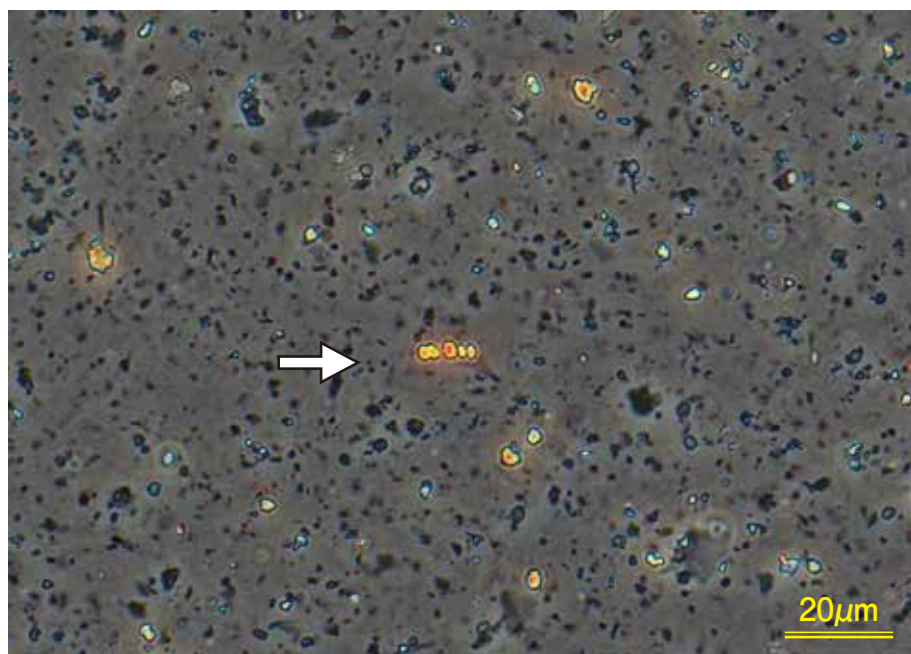
12 団子状の石綿小体

4.1.1 石綿小体に計数する例

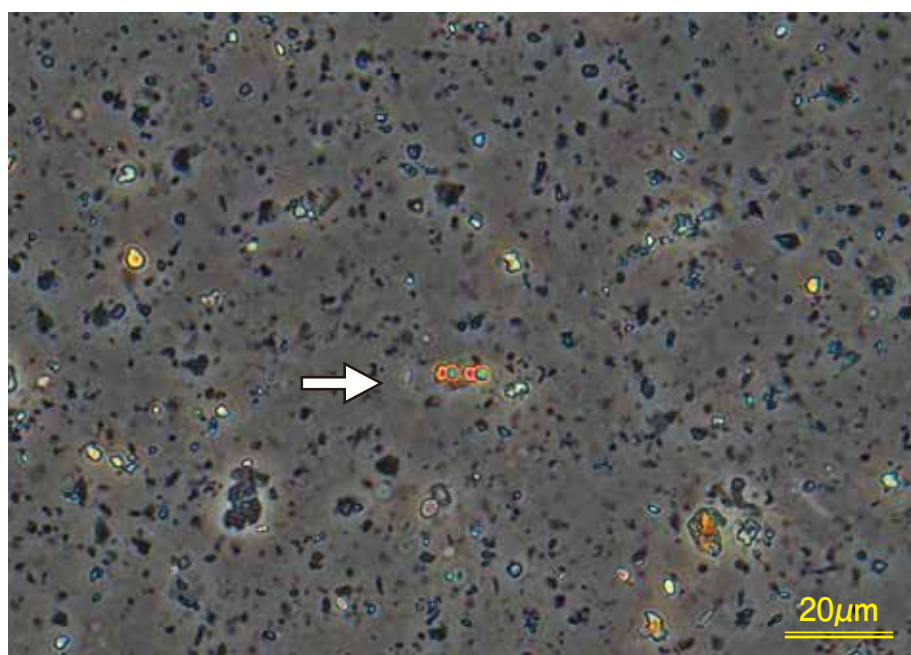
垂鈴状・数珠状・団子状の石綿小体



13 団子状の石綿小体

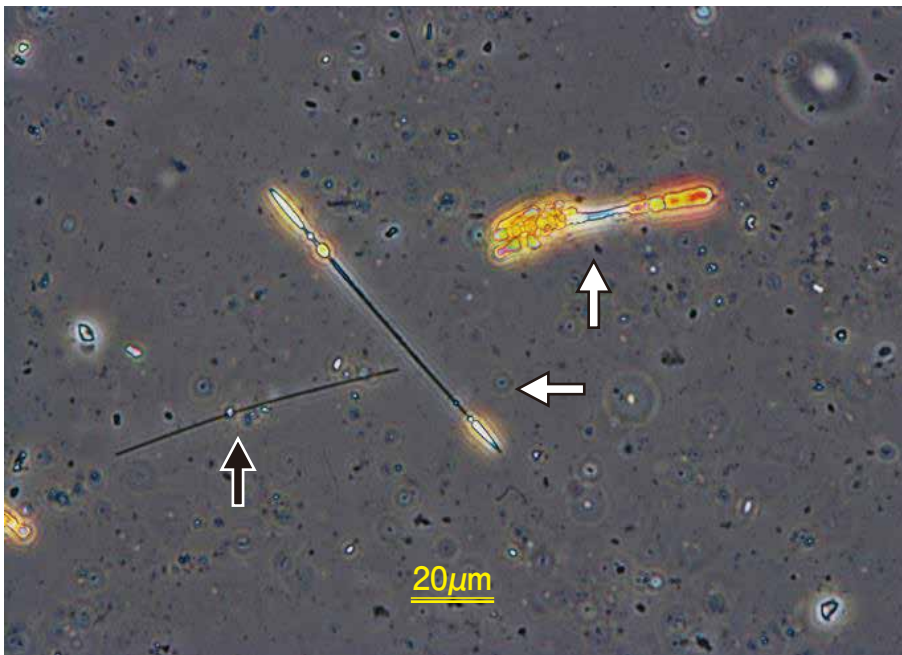


14 団子状の小さい石綿小体



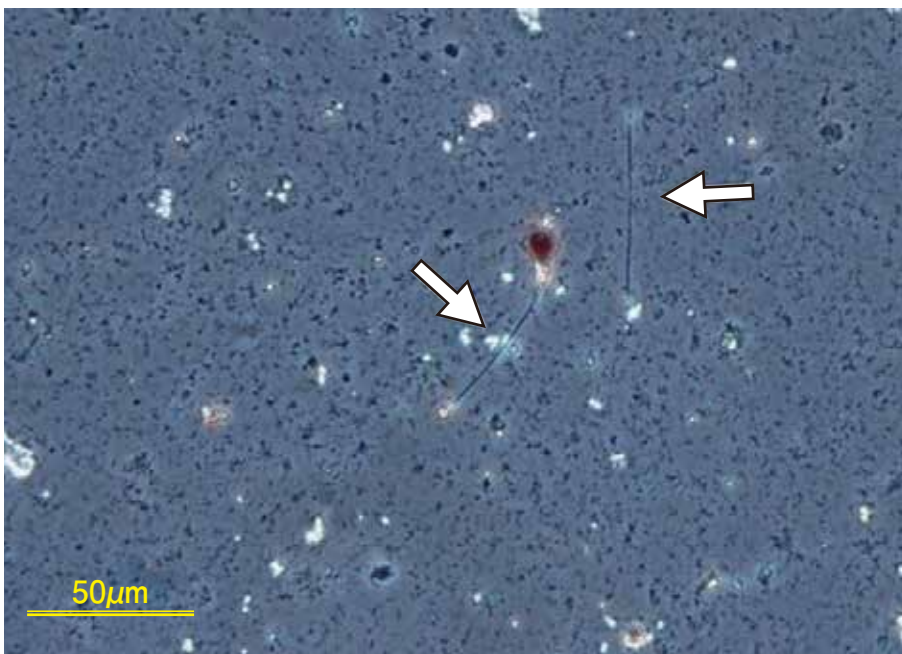
15 団子状の小さい石綿小体

垂鈴状・数珠状・団子状の石綿小体／繊維が長くタンパク体で覆われた石綿小体



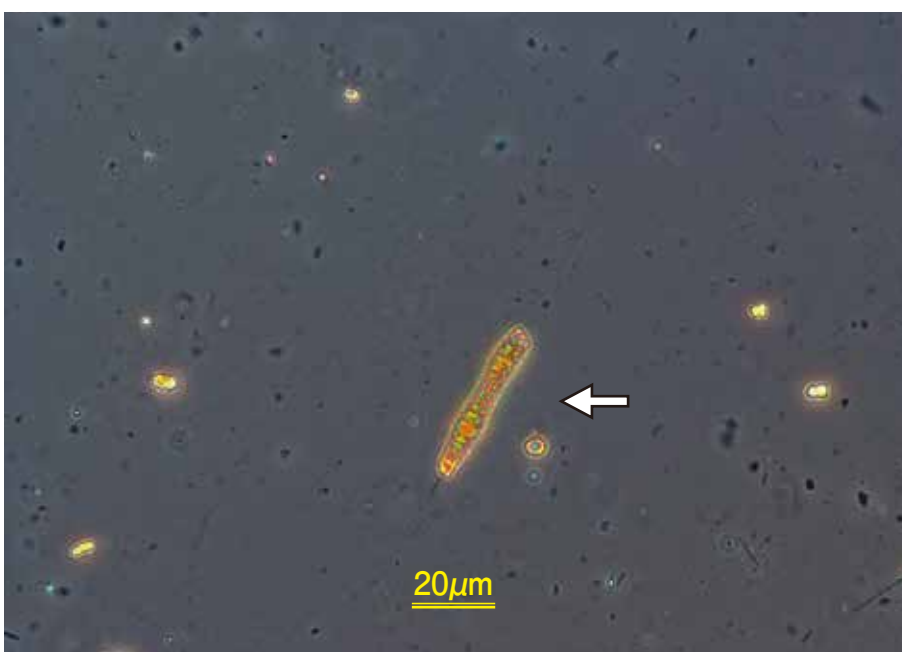
16 実際の計測实例

右側の石綿小体は、片方が歪であるが、タンパク体の全体的な被覆を認める



17 実際の計測实例

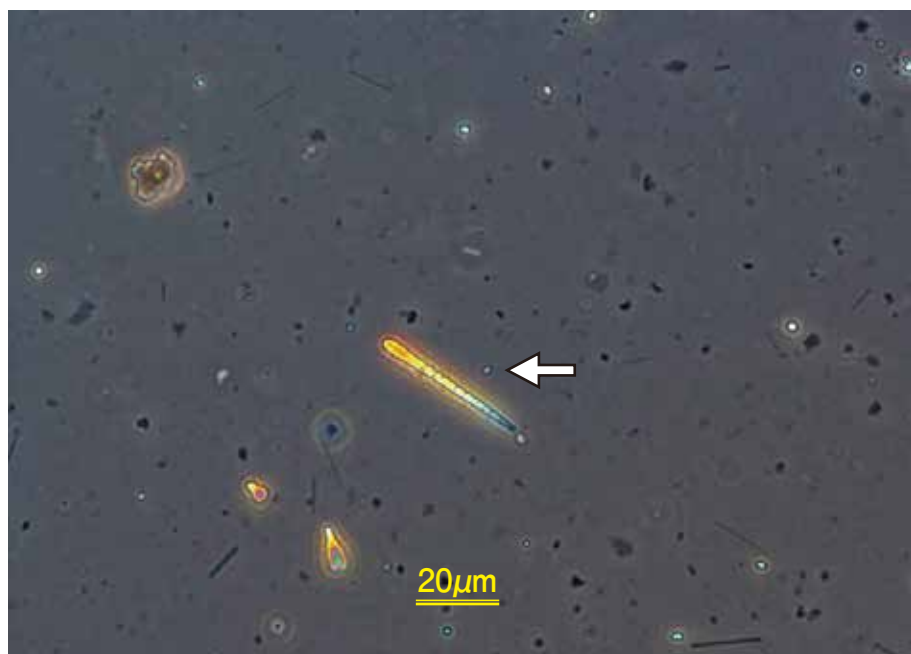
繊維の両端にタンパク体のコーティングが確認できる
繊維が長くタンパク体で覆われた石綿小体



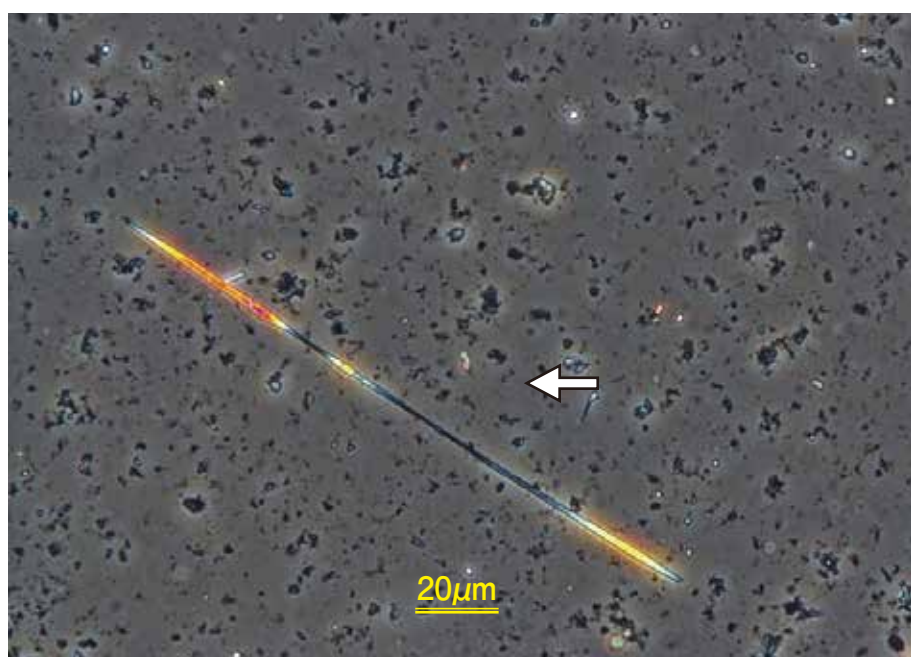
18

4.1.1 石綿小体に計数する例

繊維が長くタンパク体で覆われた石綿小体



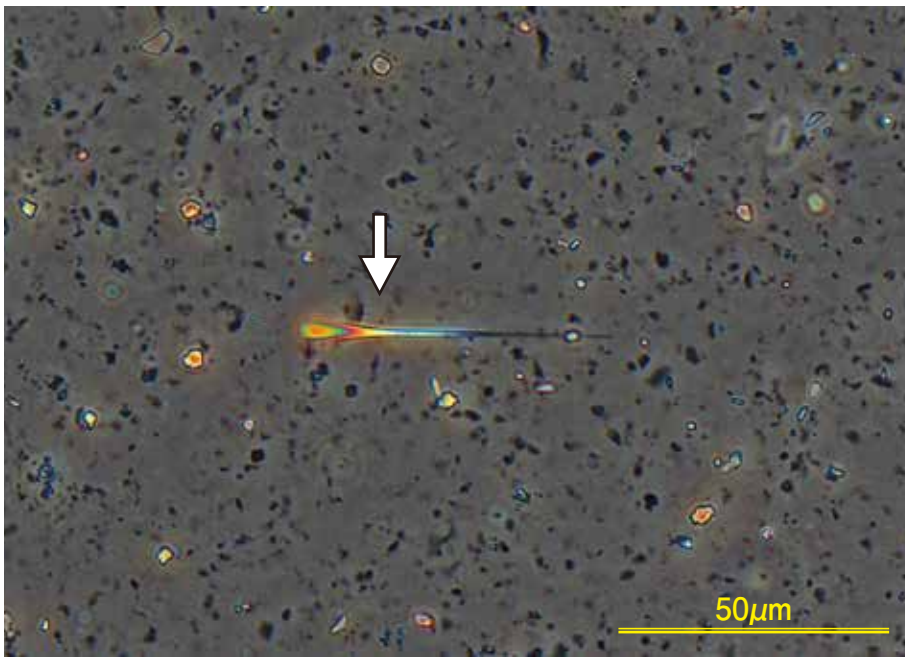
19



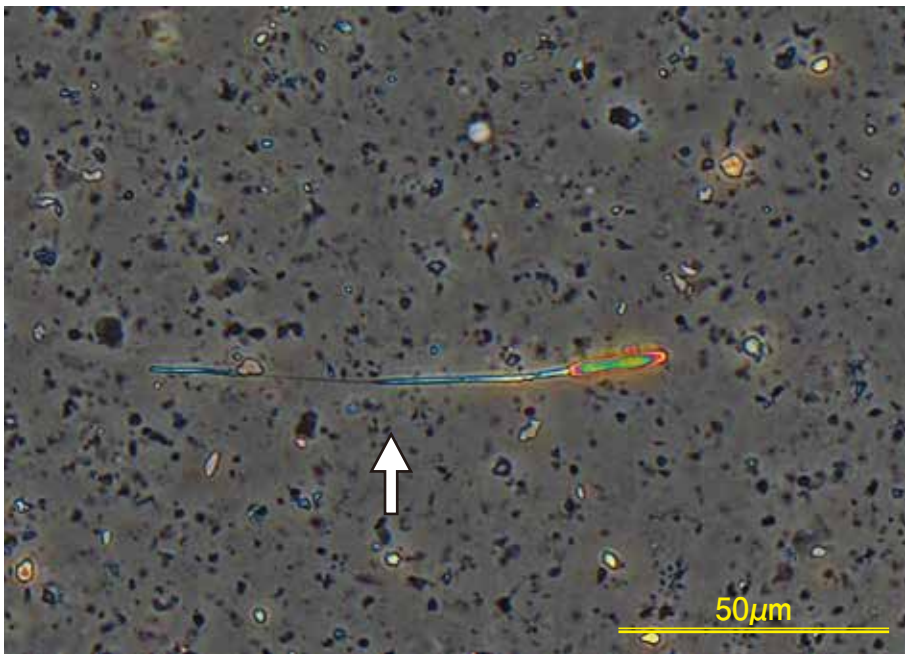
20



21 20と同一石綿小体の生物顕微鏡像

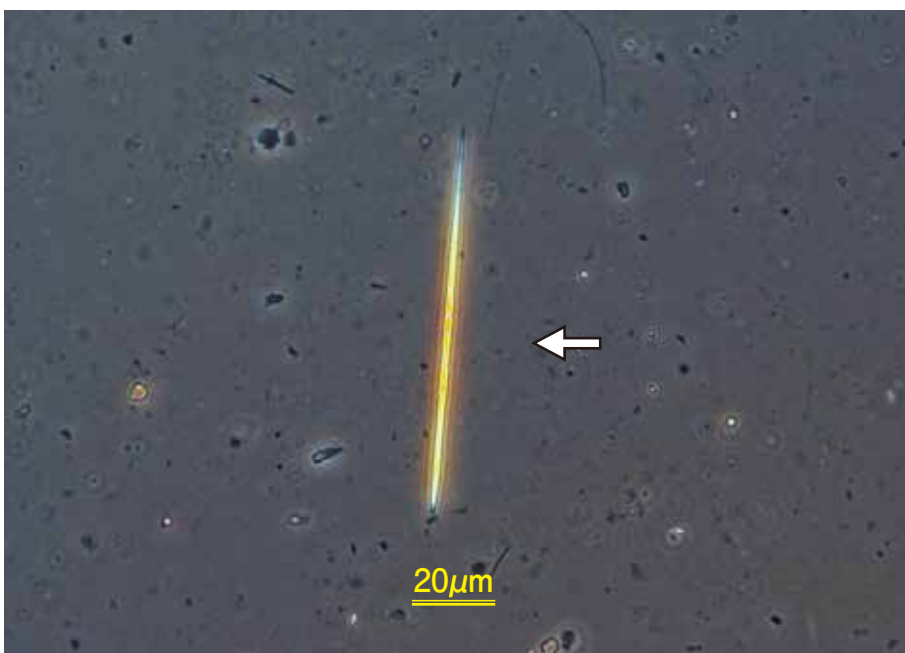


22



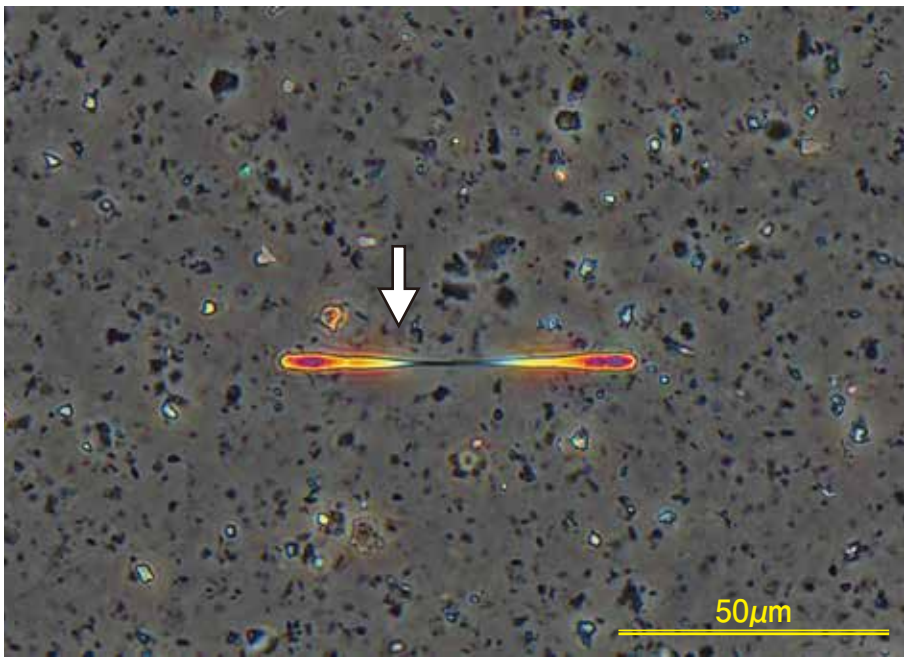
23

左側の一部は、タンパク体の被覆が非常に薄い

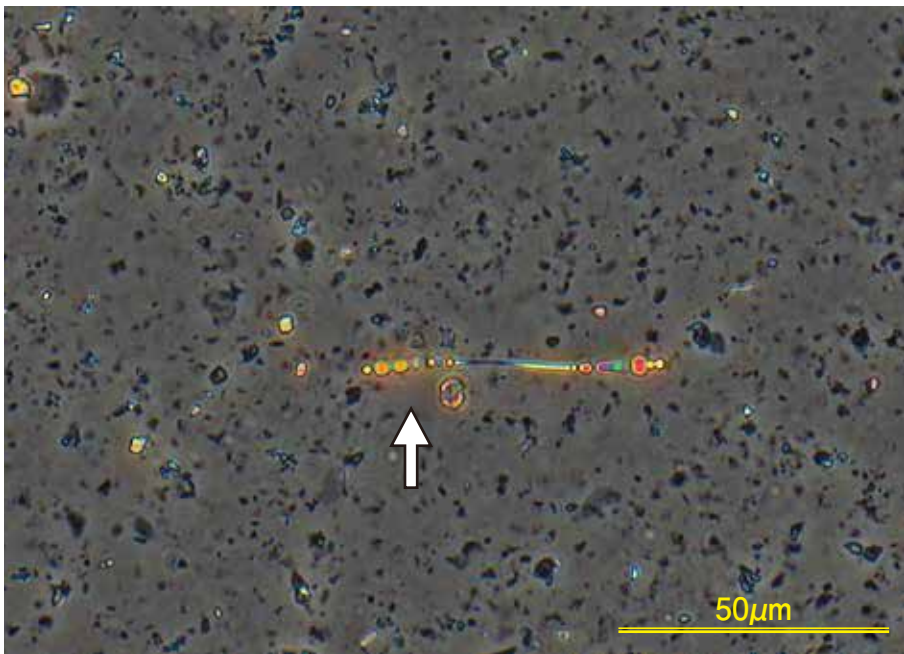


24

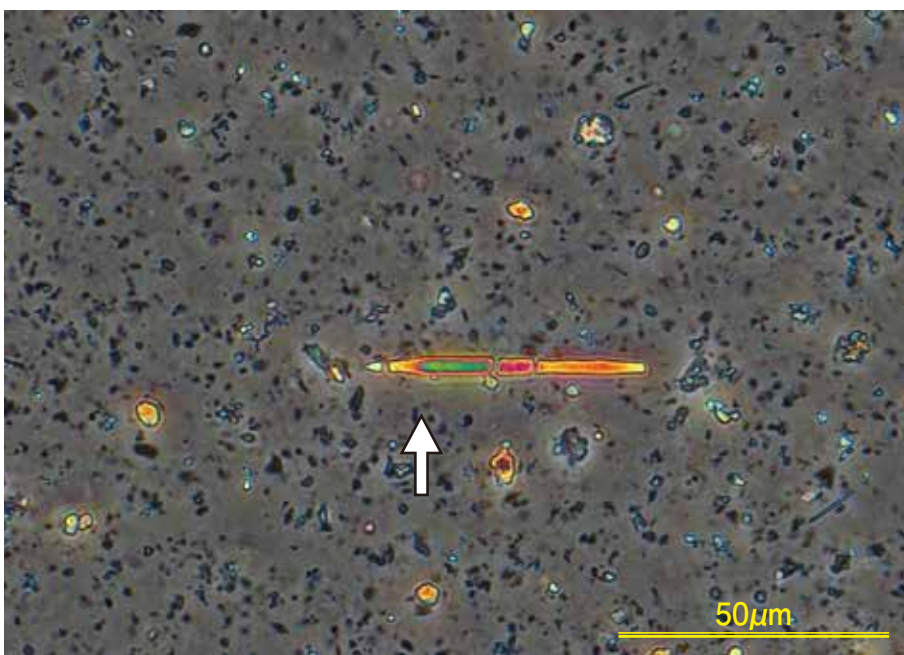
タンパク体で繊維が広く覆われた石綿小体



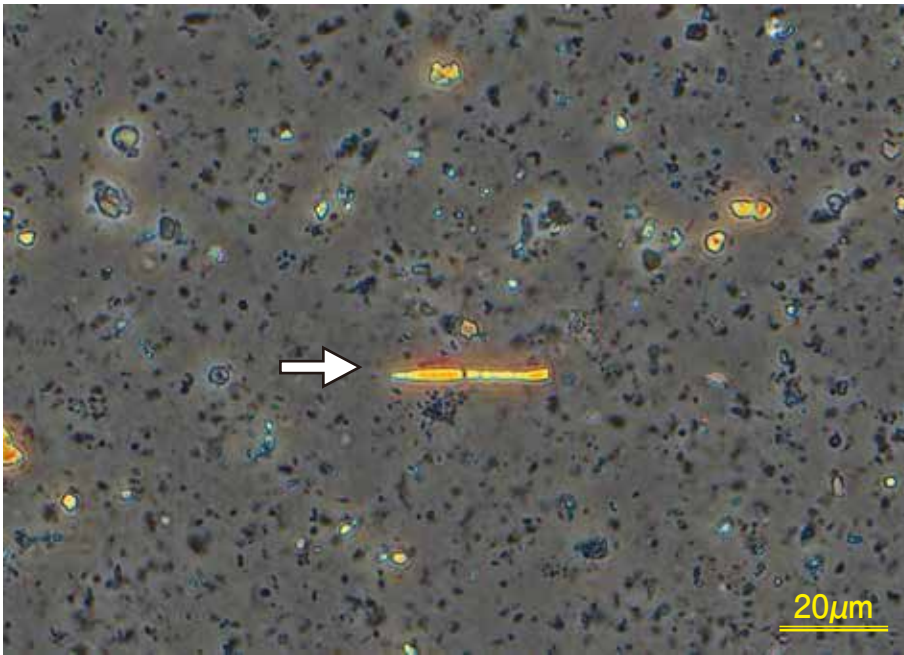
25



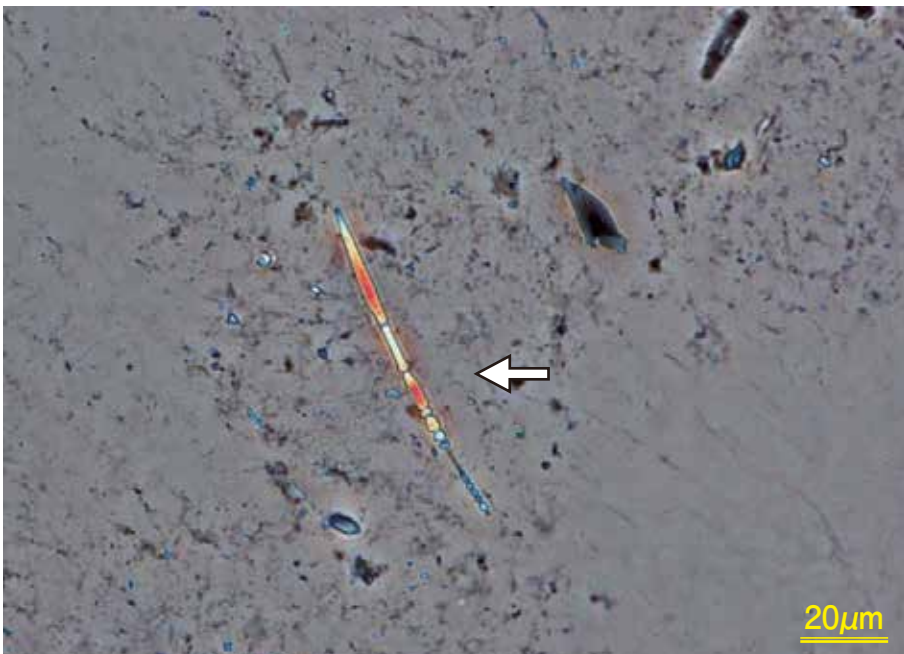
26



27



28

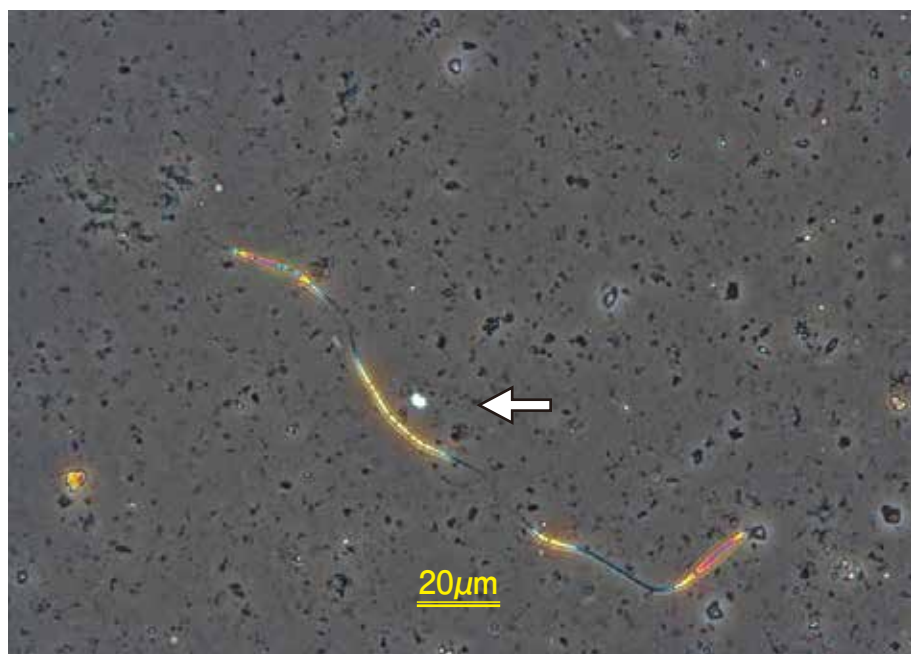


29



30 計測实例
石綿小体3本

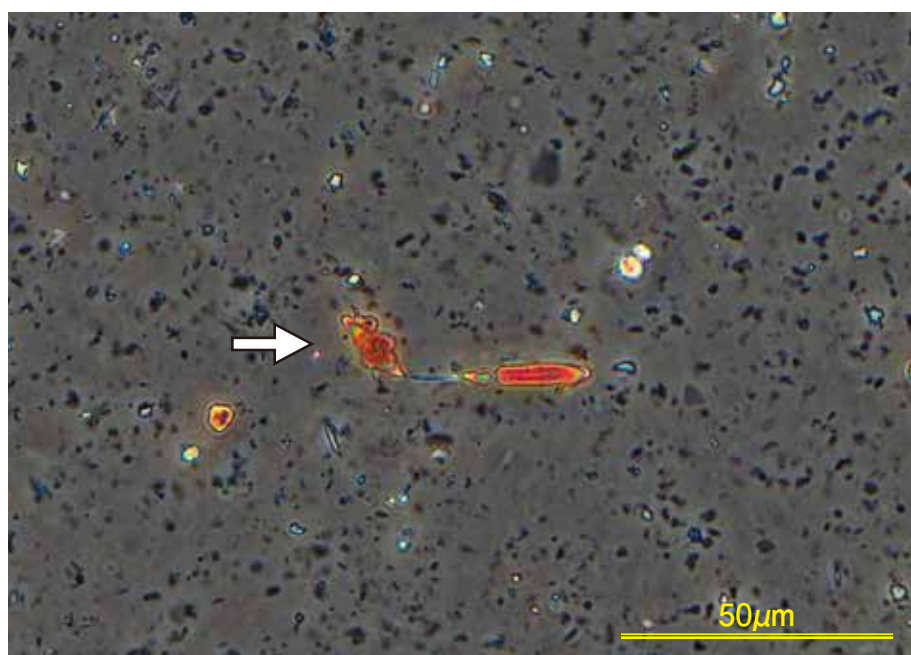
繊維が屈曲した石綿小体



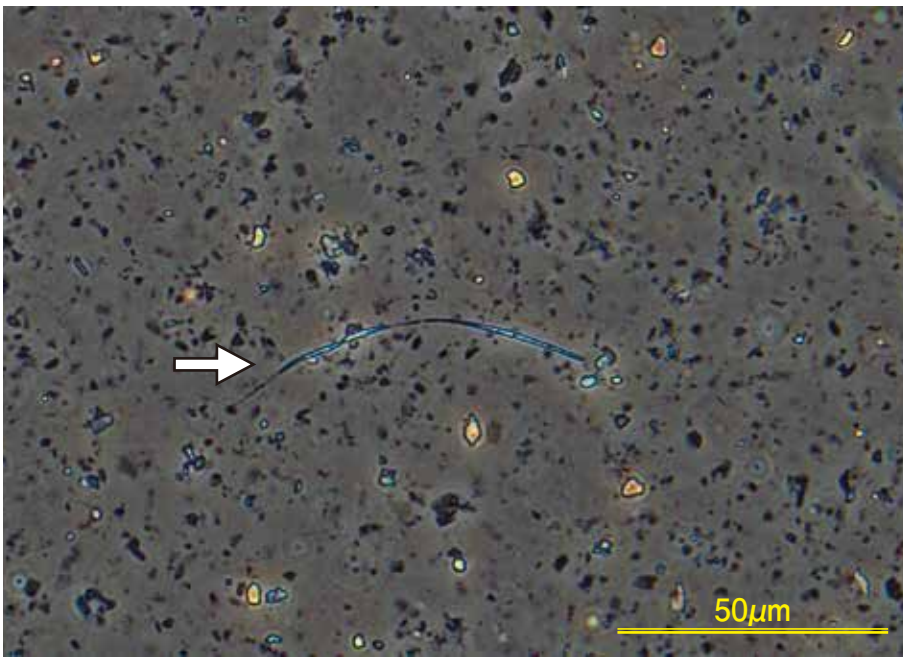
31



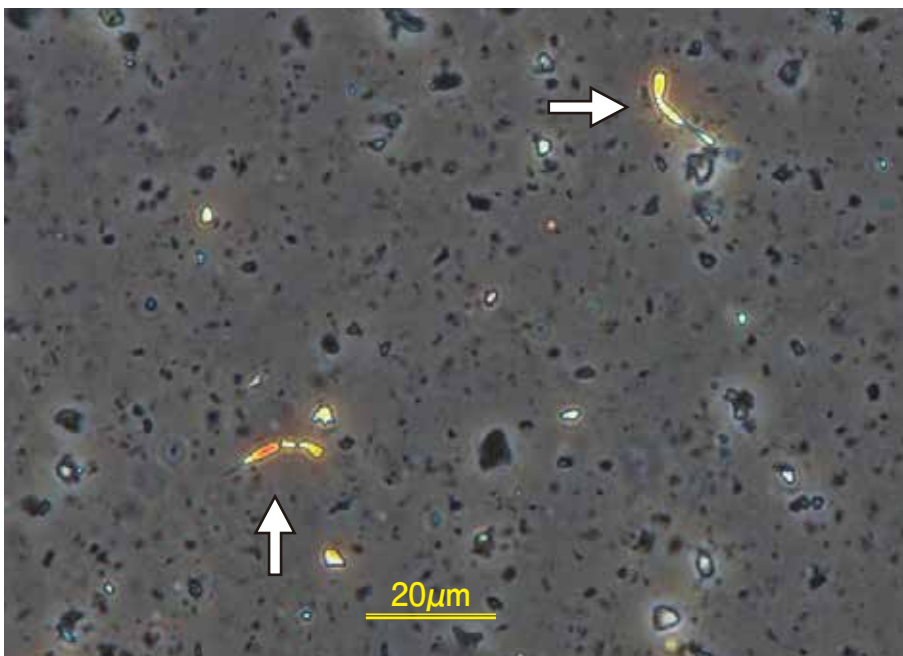
32 31と同一石綿小体の生物顕微鏡像



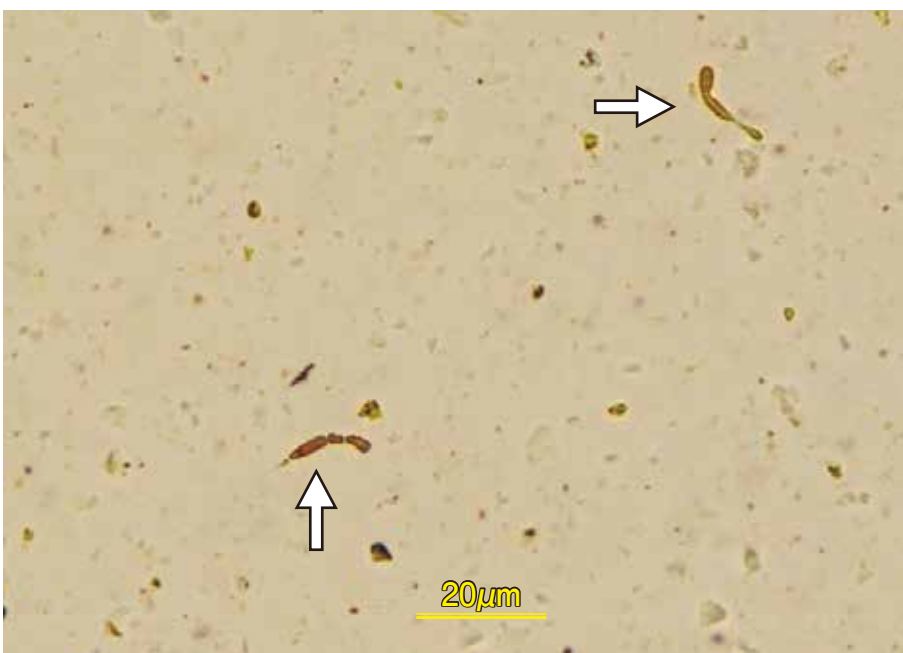
33



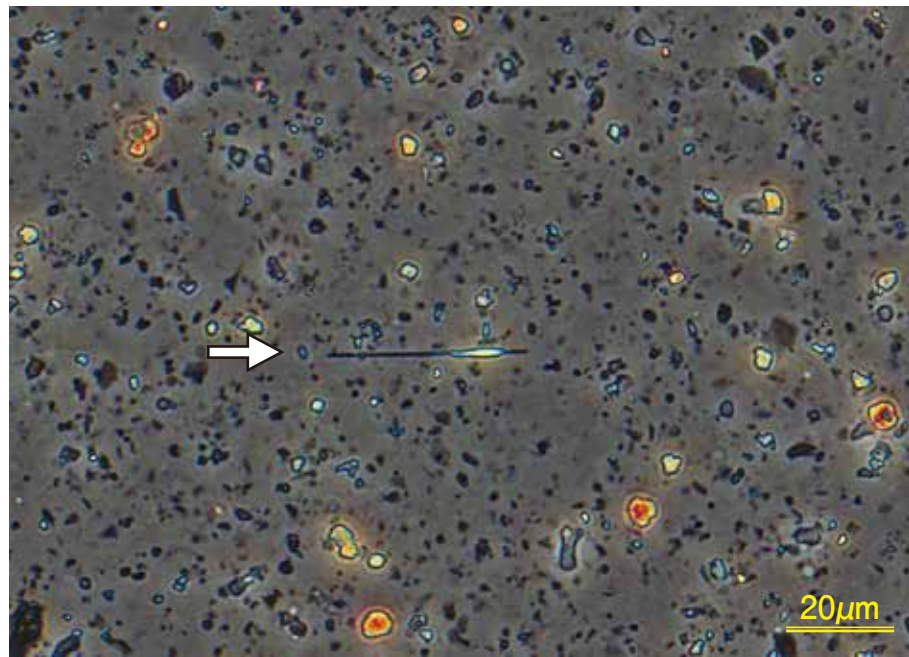
34



35

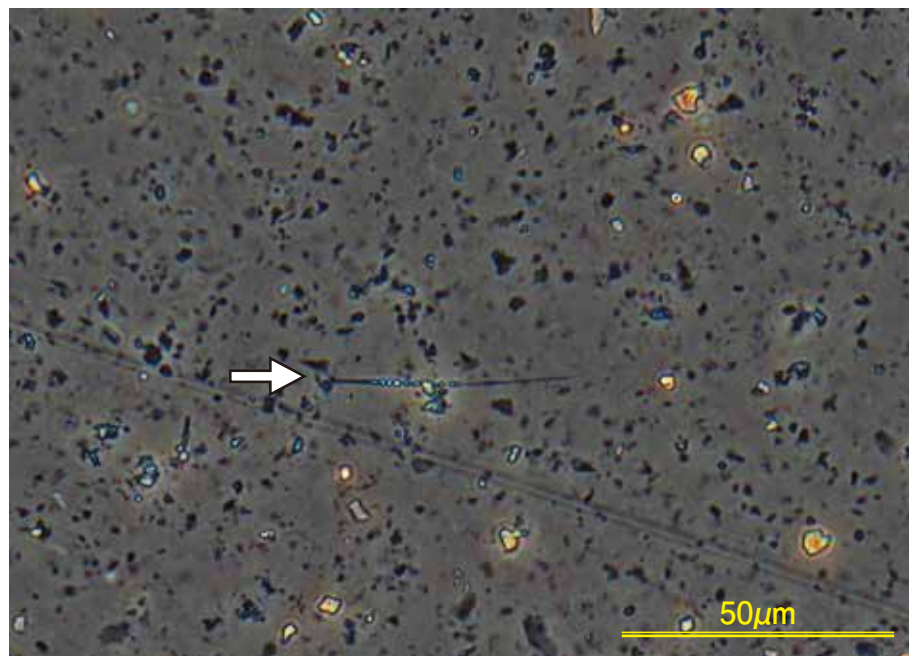


36 35と同一石綿小体の生物顕微鏡像

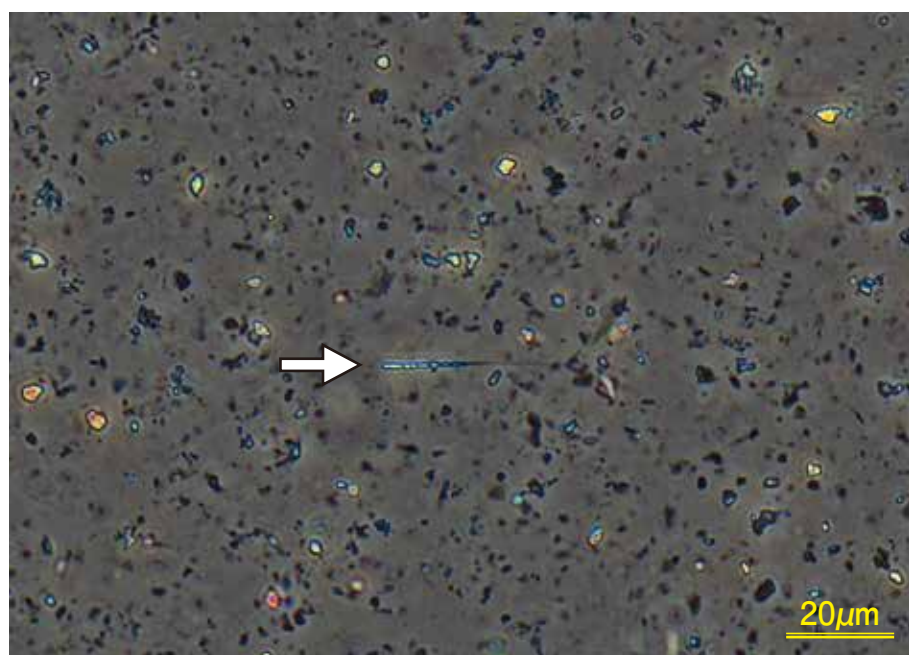


少量のタンパク体に覆われた石綿小体

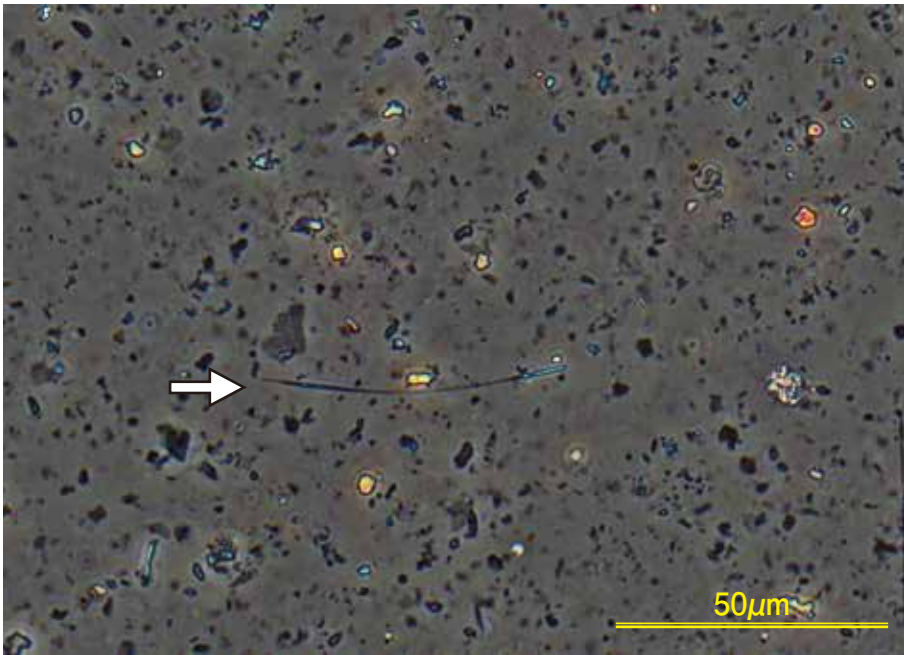
37



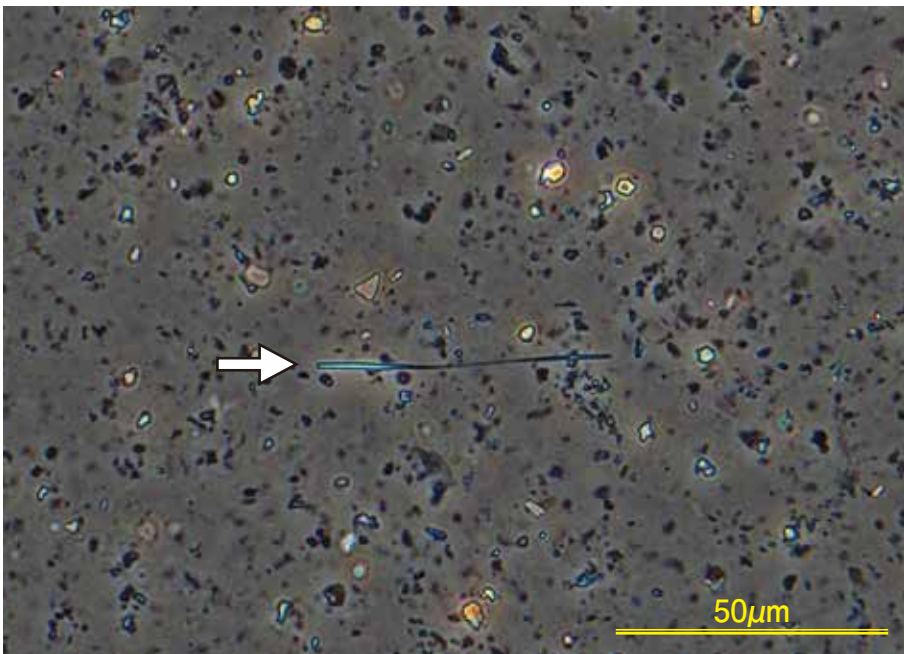
38 少量のタンパク体に覆われた数珠状、団子状の石綿小体



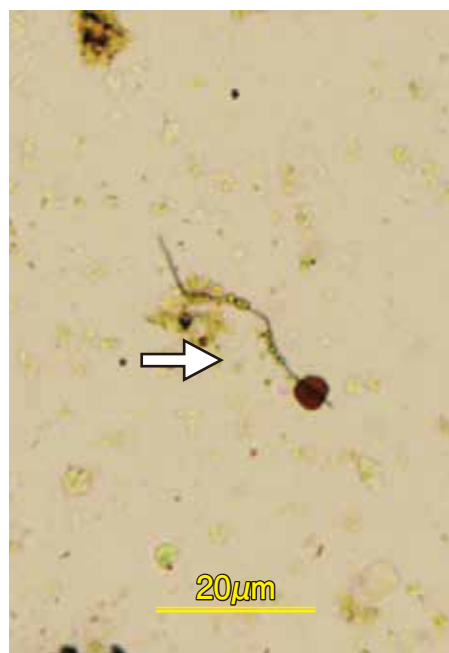
39



40



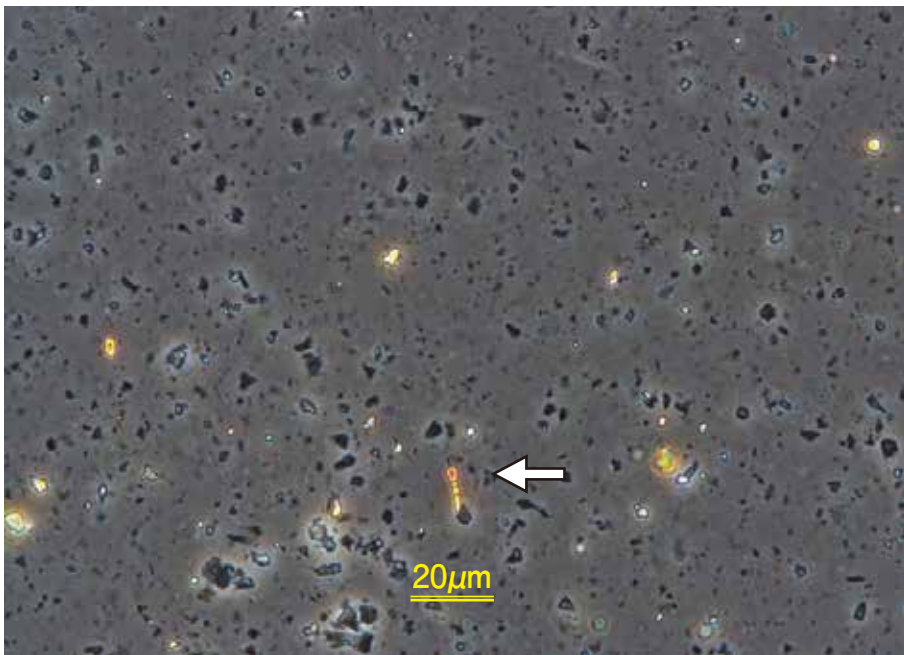
41



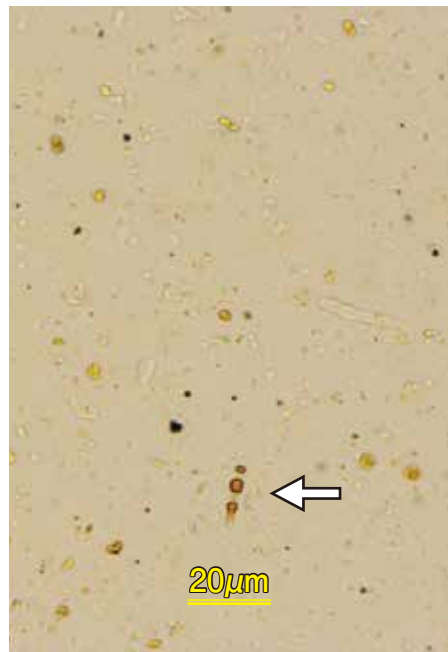
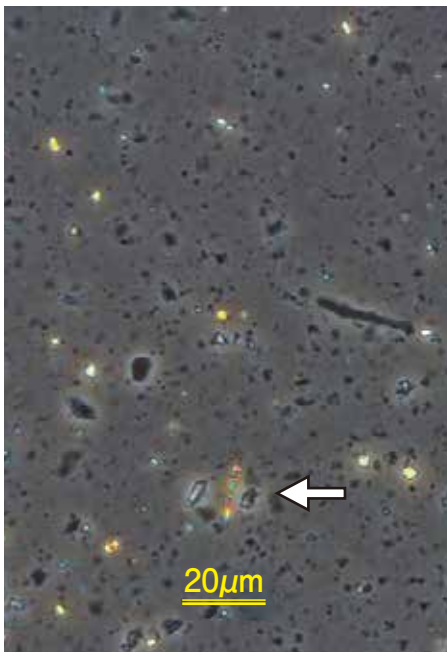
42 少量のタンパク体

位相差顕微鏡像(左)と生物
顕微鏡像(右)で比較

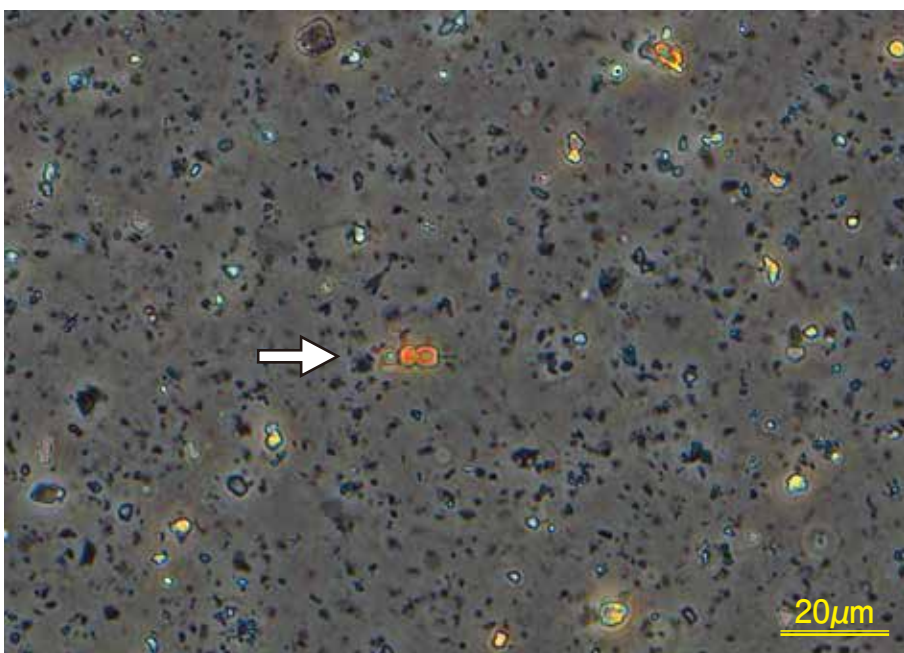
短繊維に数個のタンパク
体を伴う石綿小体



43

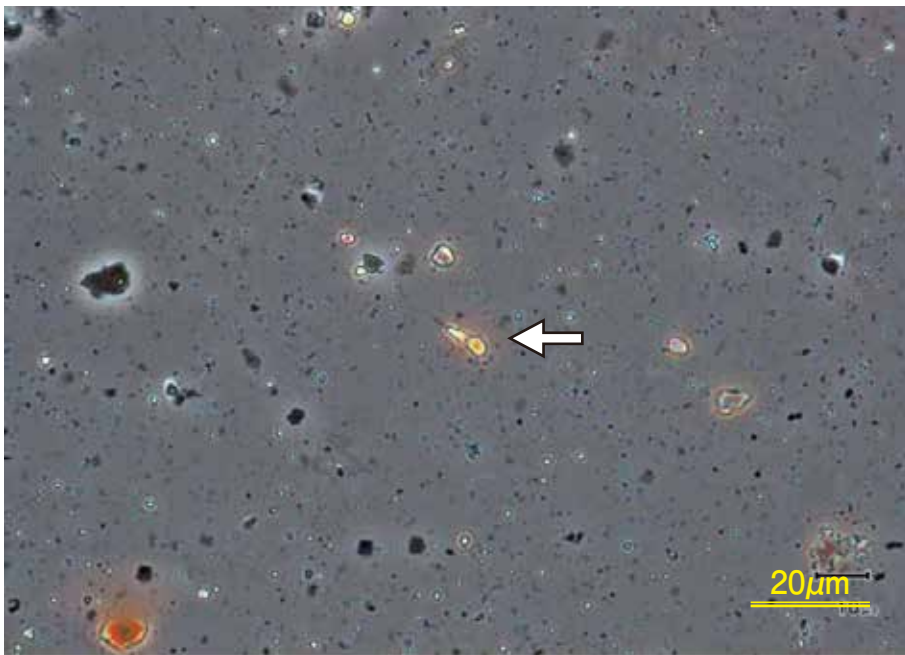


44 位相差顕微鏡像(左)と生
物顕微鏡像(右)で比較

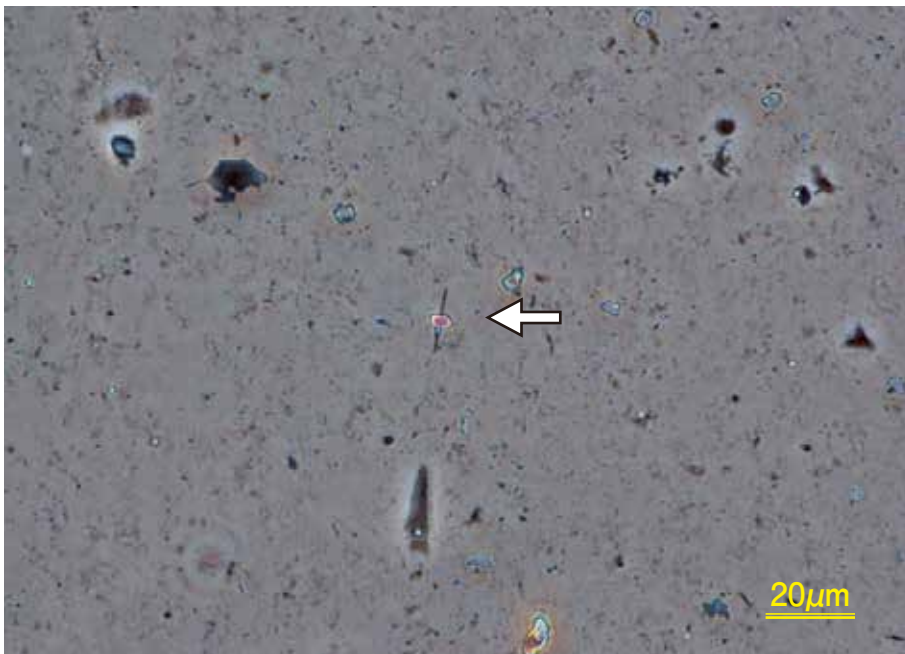


45 短繊維に数個のタンパク
体を伴う石綿小体

短繊維に数個のタンパク体を伴う石綿小体／夾雑物に埋もれて確認しにくい石綿小体

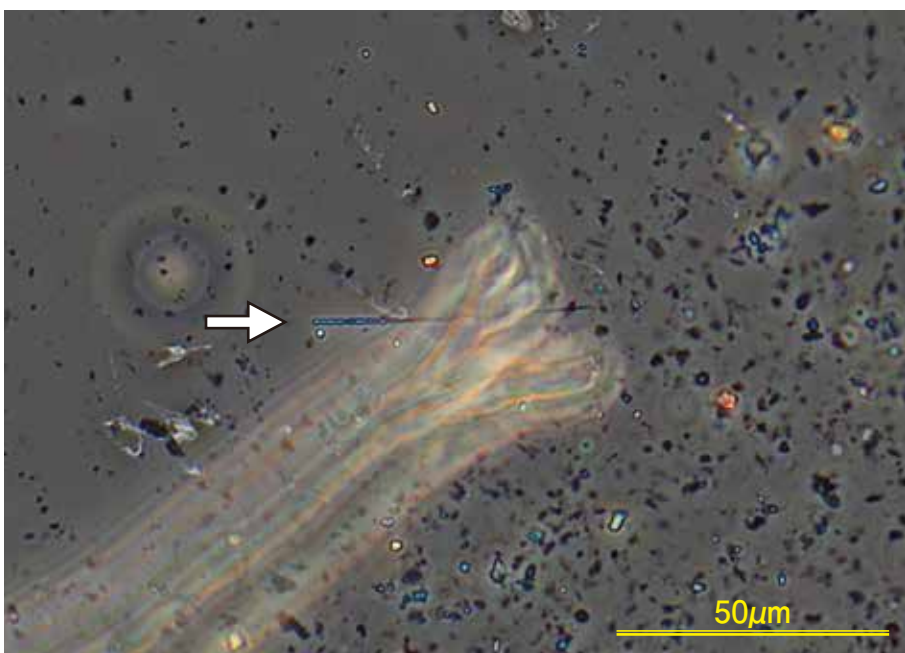


46

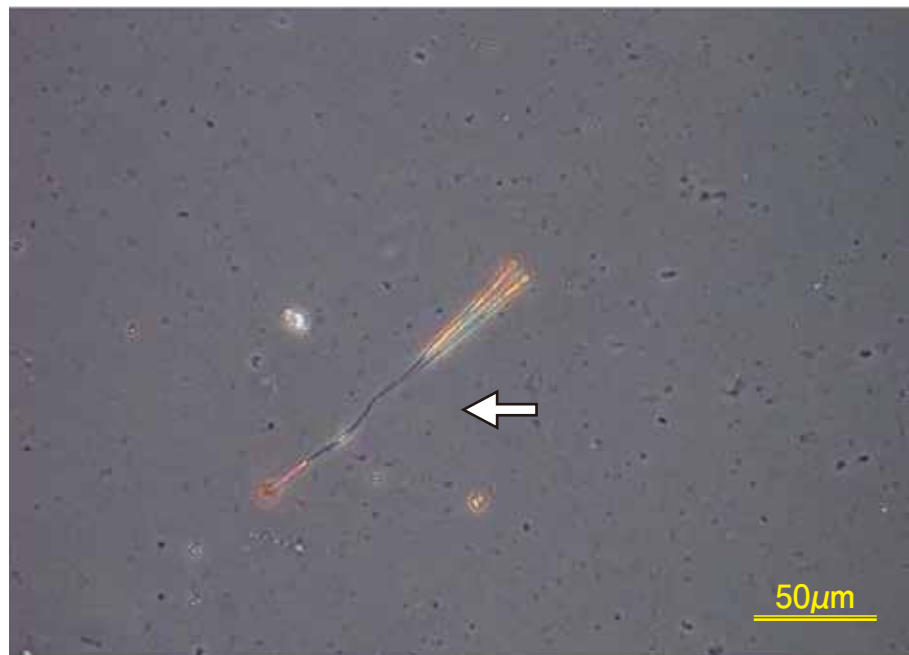


47

夾雑物に埋もれて確認しにくい石綿小体



48



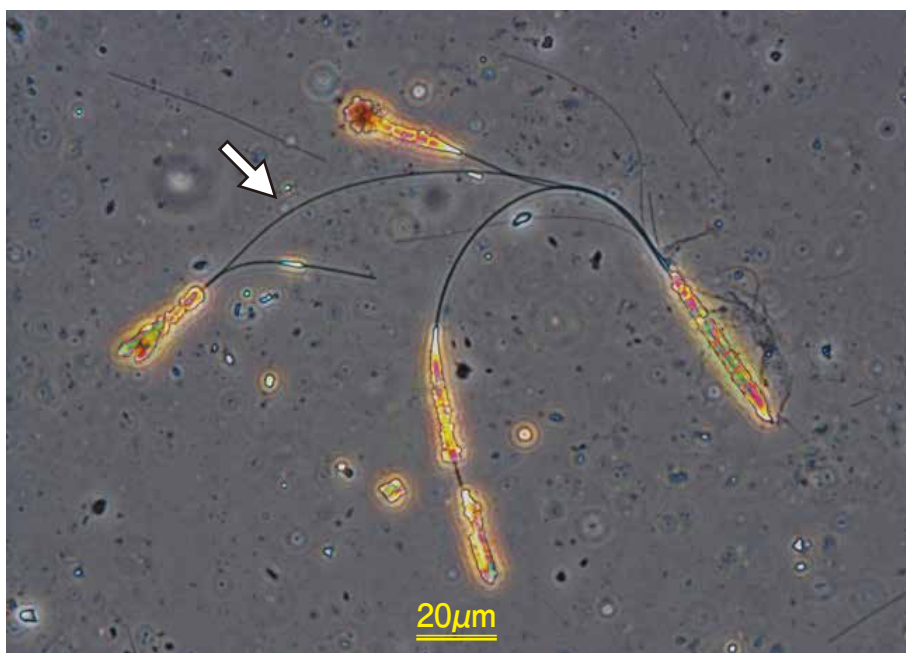
複数の繊維からなる石綿小体

49



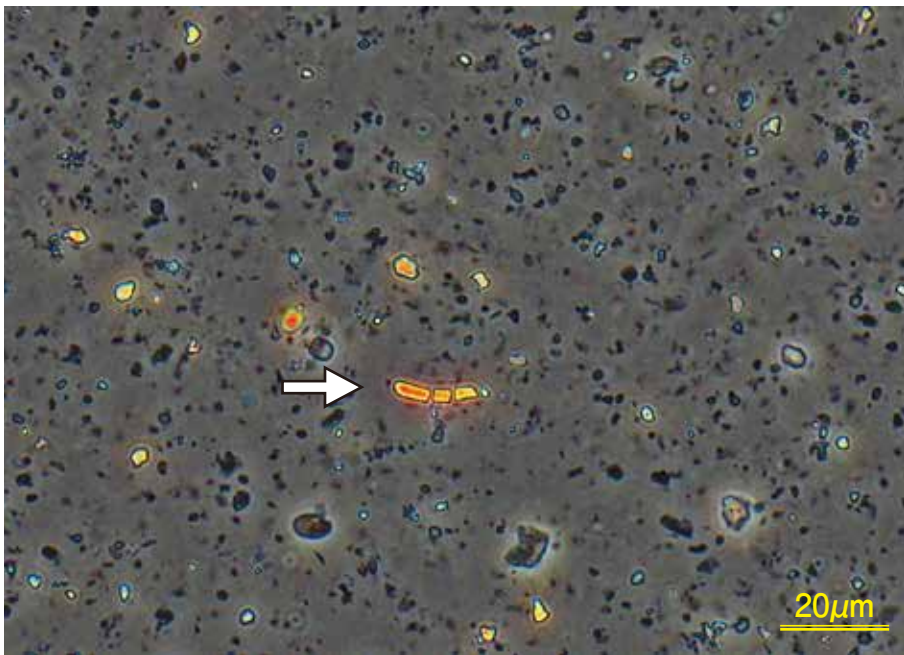
50

位相差顕微鏡像(左)と生物顕微鏡像(右)で比較

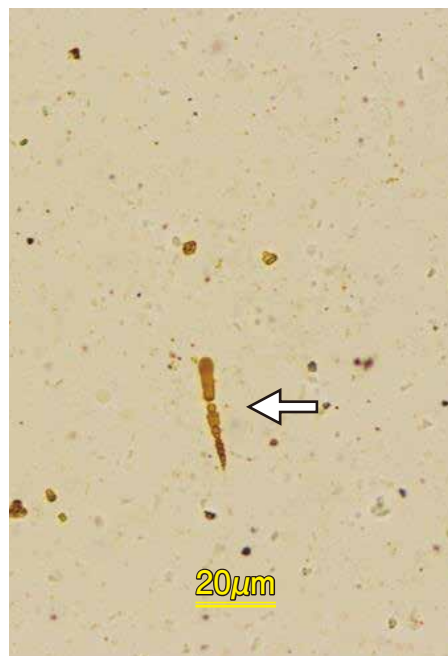
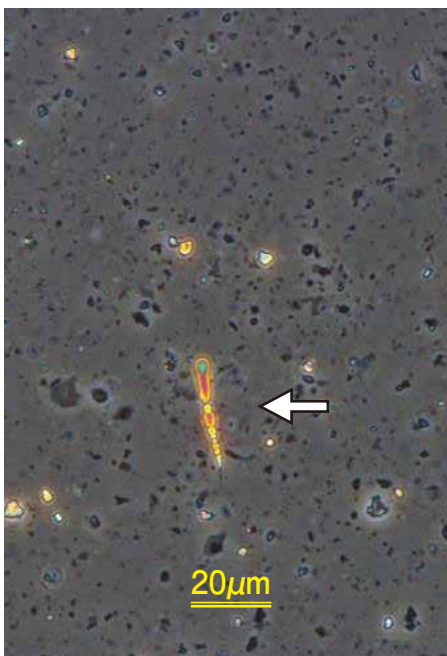


51

配列などを加味して石綿小体と判断できる例

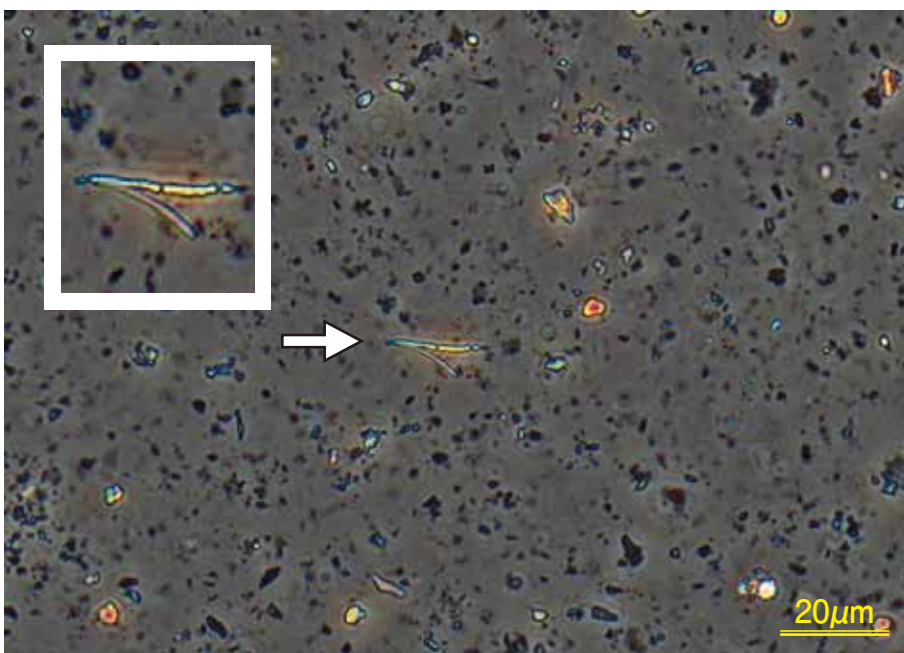


52 繊維は確認できないが、連続性のある並びで微細繊維の存在が推測される



53 配列や形状から石綿小体と判断できる例

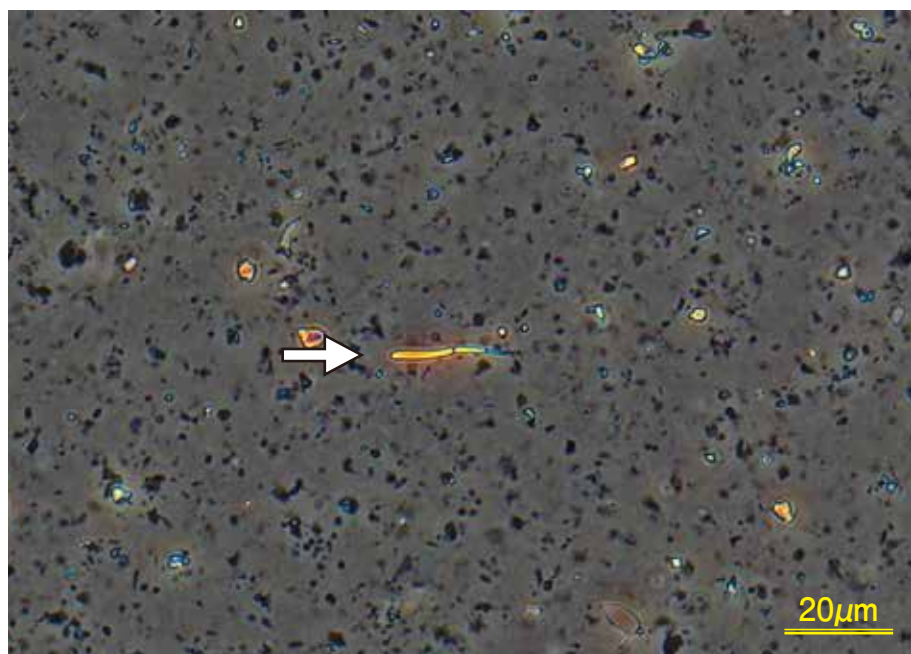
一連の石綿小体の下方部分は、団子状石綿小体といえる位相差顕微鏡像(左)と生物顕微鏡像(右)で比較



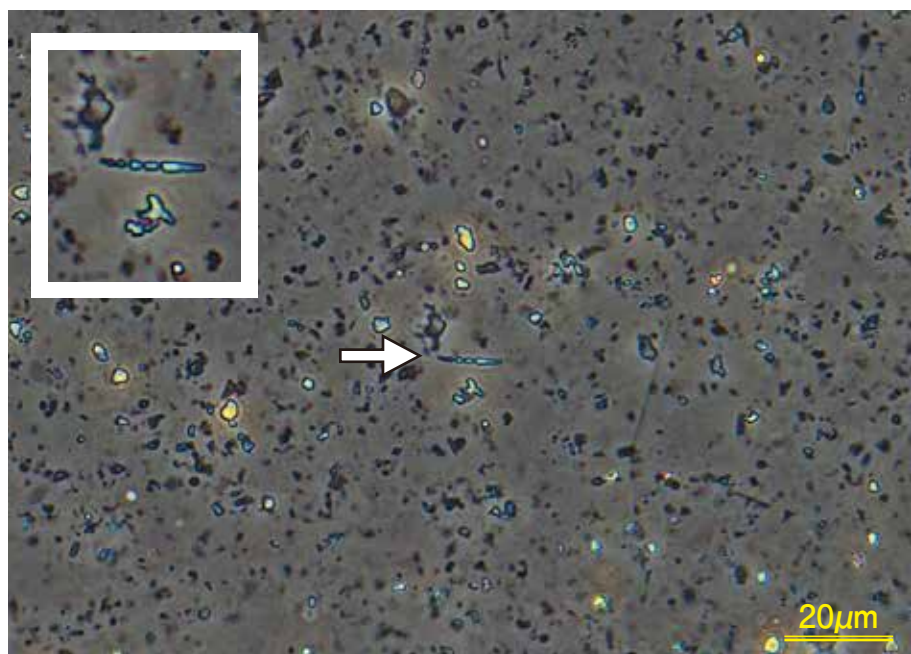
54 配列および繊維の確認より石綿小体と判断できる例

4.1.1 石綿小体に計数する例

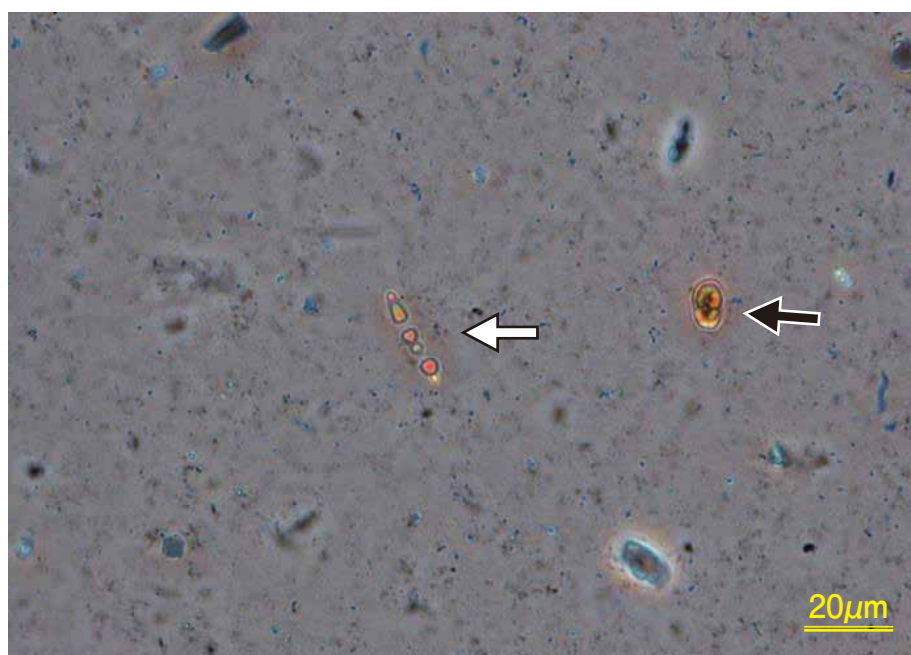
配列などを加味して石綿小体と判断できる例



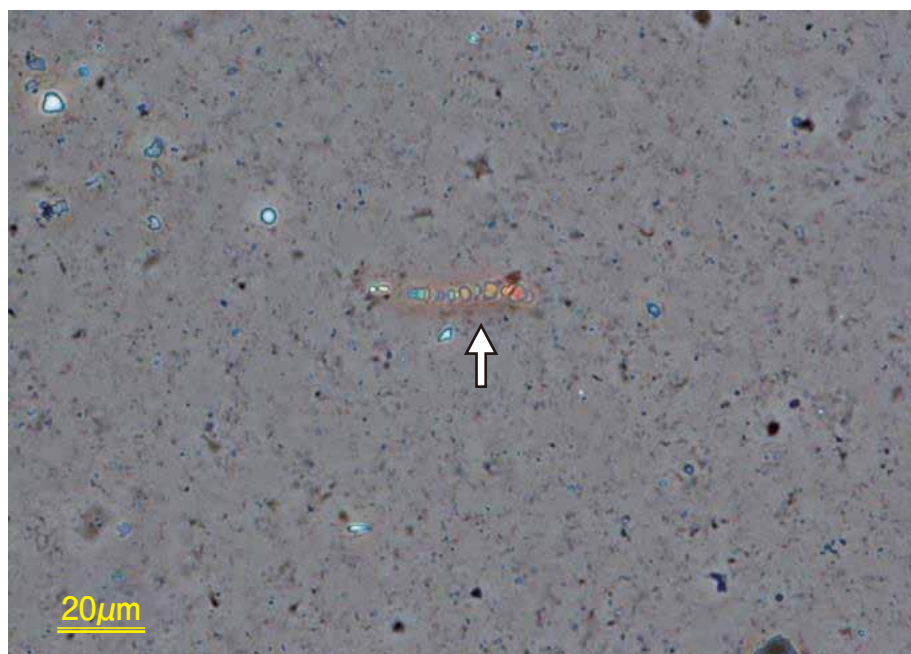
55



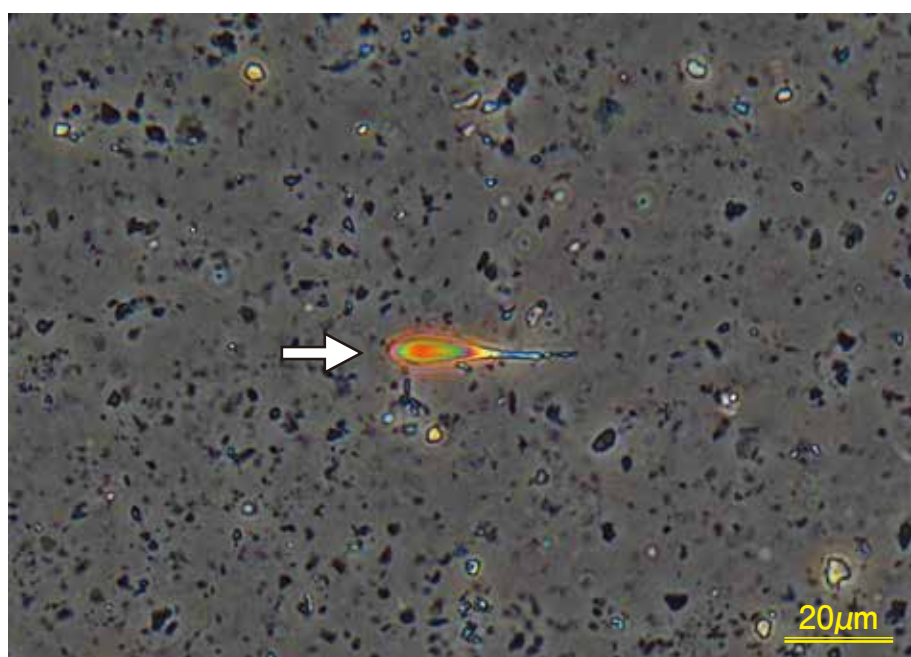
56



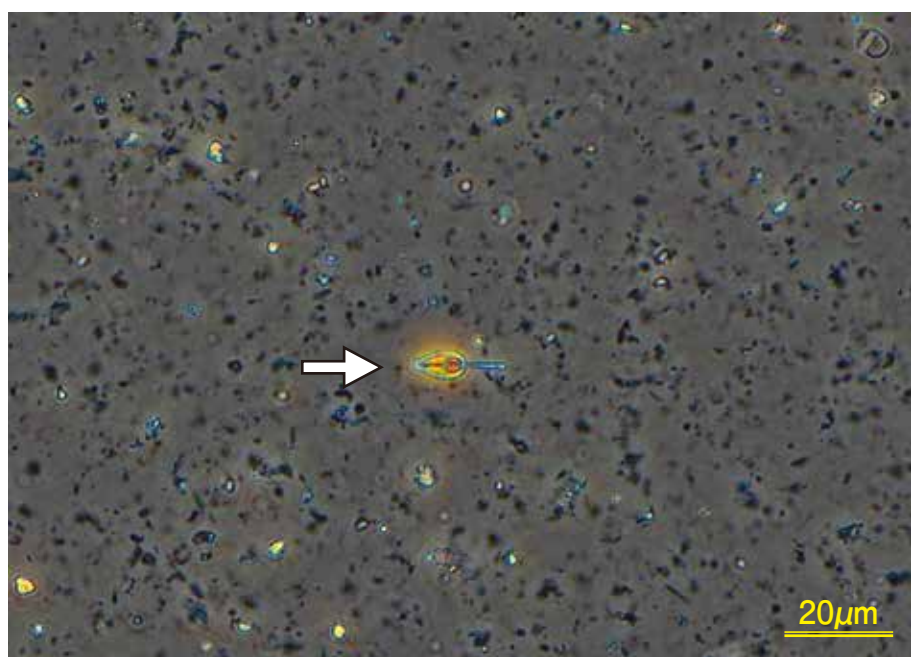
57 繊維の確認は難しいが、連続性のある並びで微細繊維の存在が推測される



58
コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体

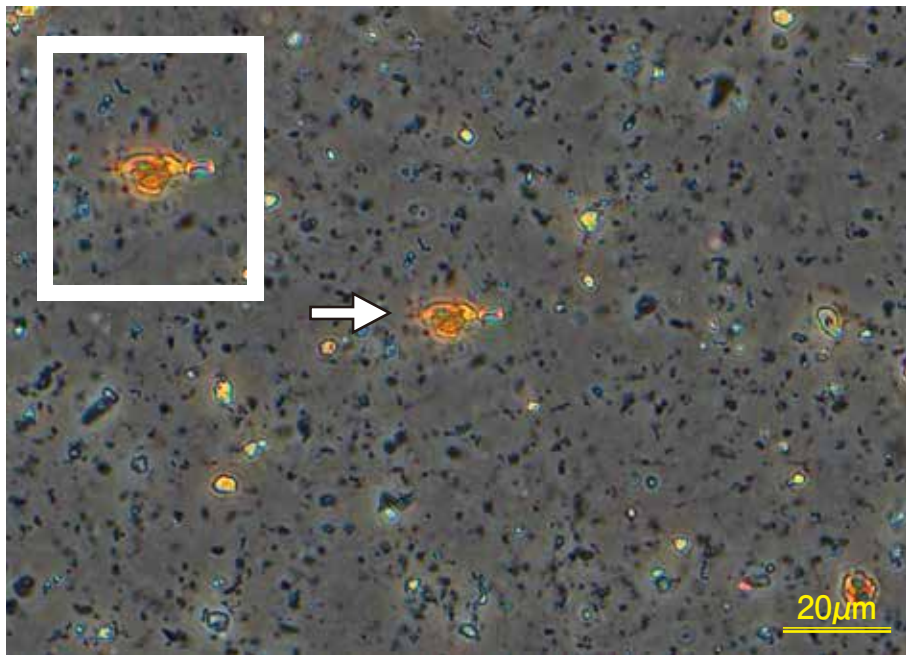


59 タンパク体に繊維が覆われた石綿小体
石綿小体右側に繊維が確認

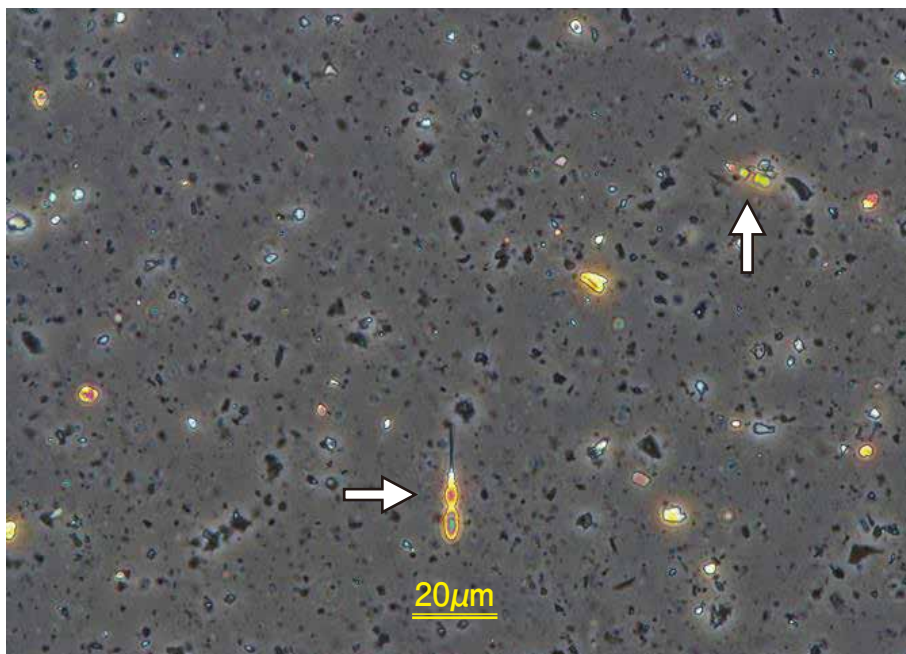


60 タンパク体に覆われた繊維が推定できる石綿小体

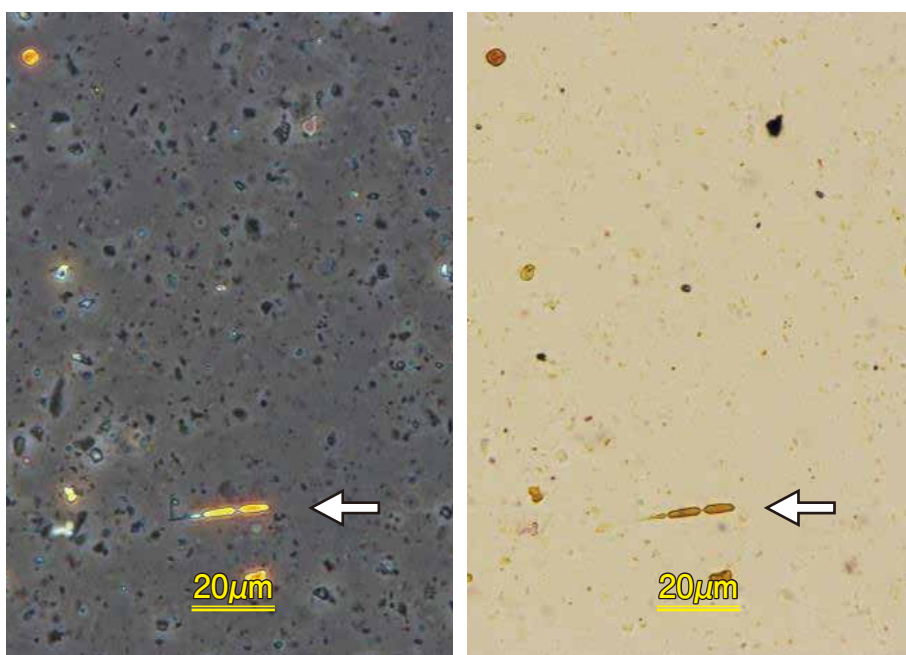
繊維の確認から石綿小体と判断できる例



61

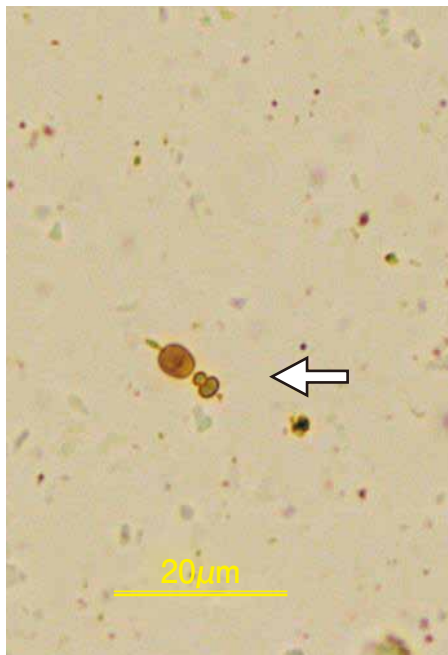
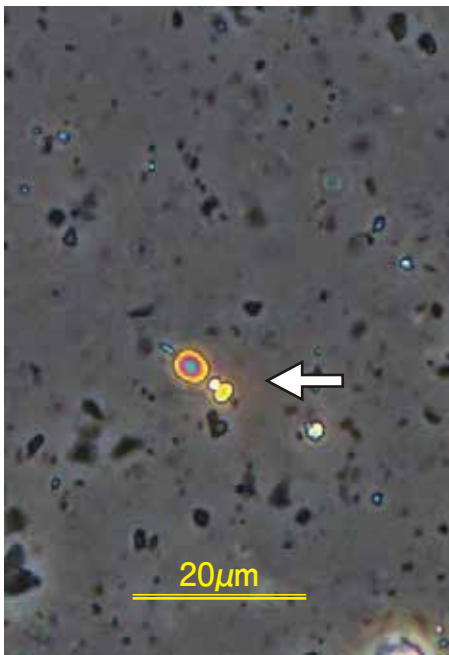


62



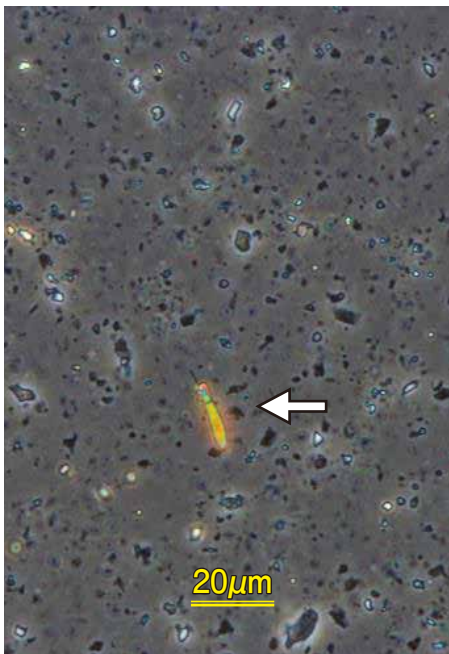
63 石綿小体の左側部分に、タンパク体で薄く覆われた繊維が確認できる

位相差顕微鏡像(左)と生物顕微鏡像(右)で比較



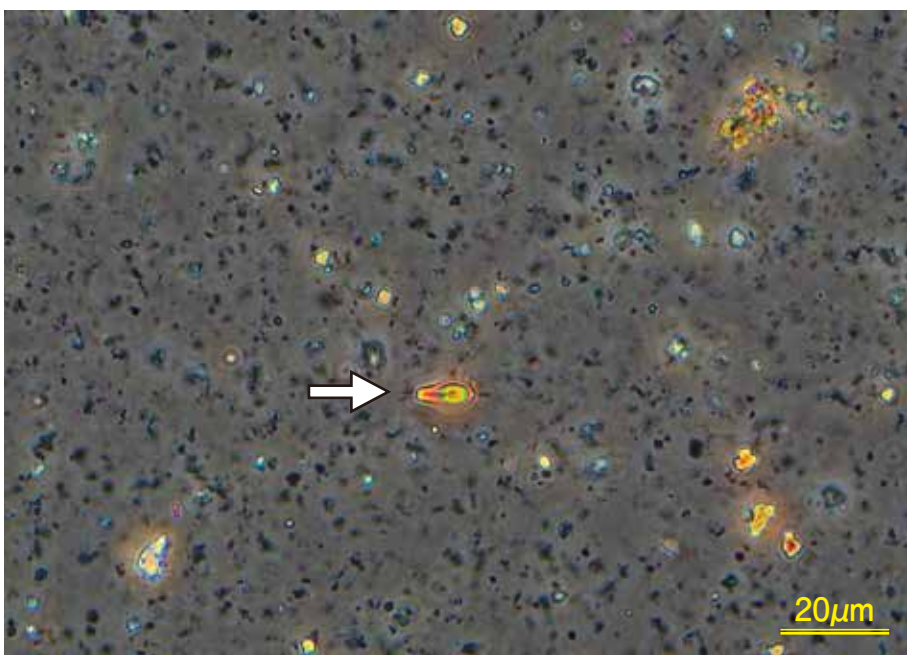
64 粒子状タンパク体の中に、微かに繊維が確認できる

位相差顕微鏡像(左)と生物顕微鏡像(右)で比較

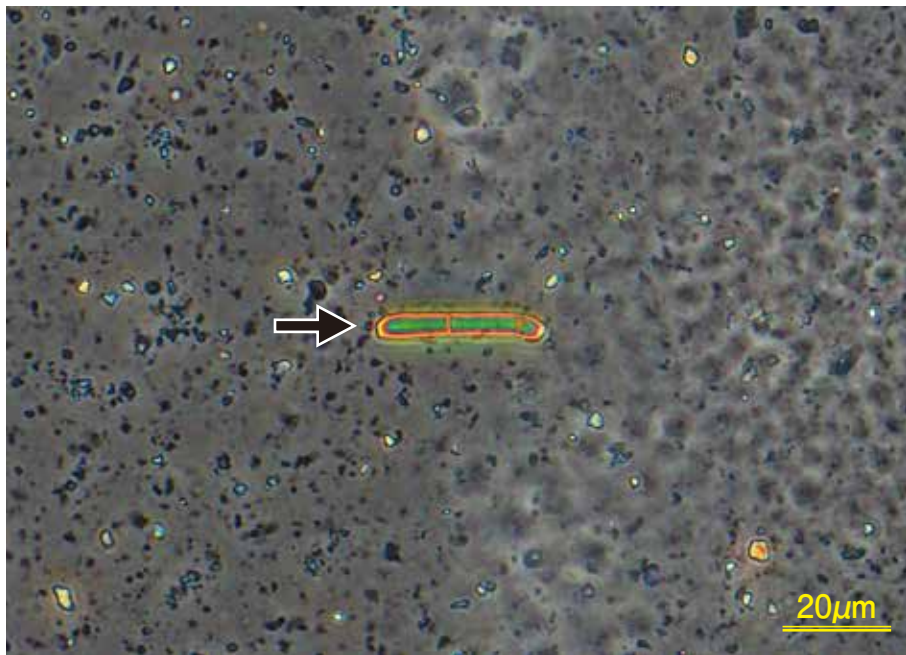


65

位相差顕微鏡像(左)と生物顕微鏡像(右)で比較



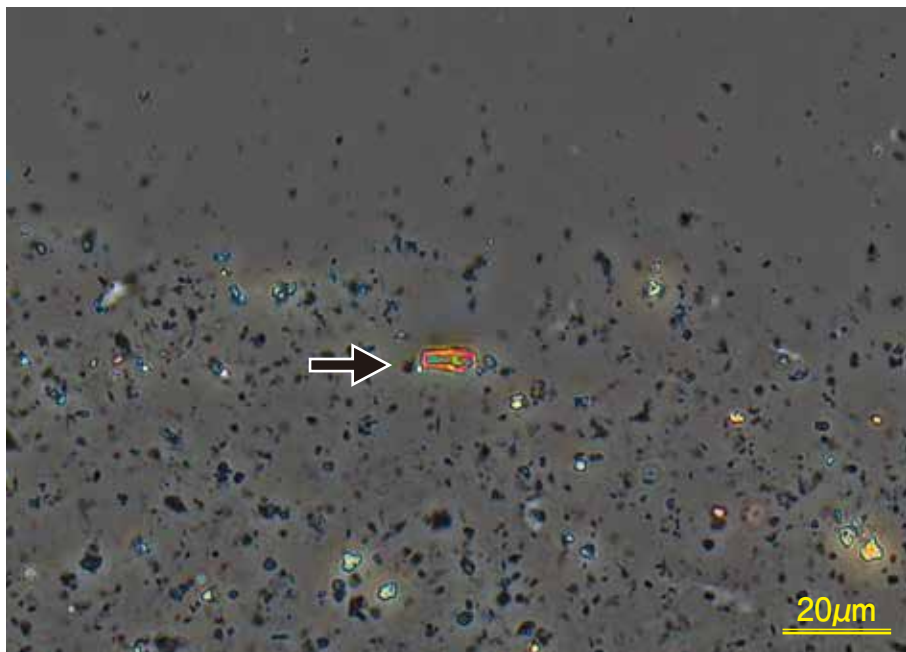
66



石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質

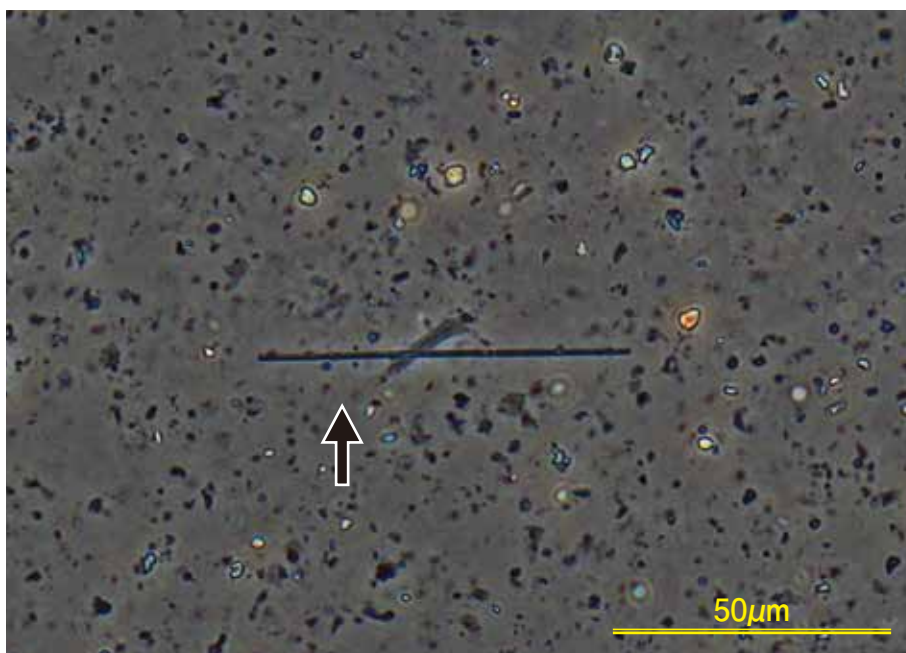
67 石綿小体に計数しない粒子状物質

全体がタンパク体に覆われ繊維が確認できない



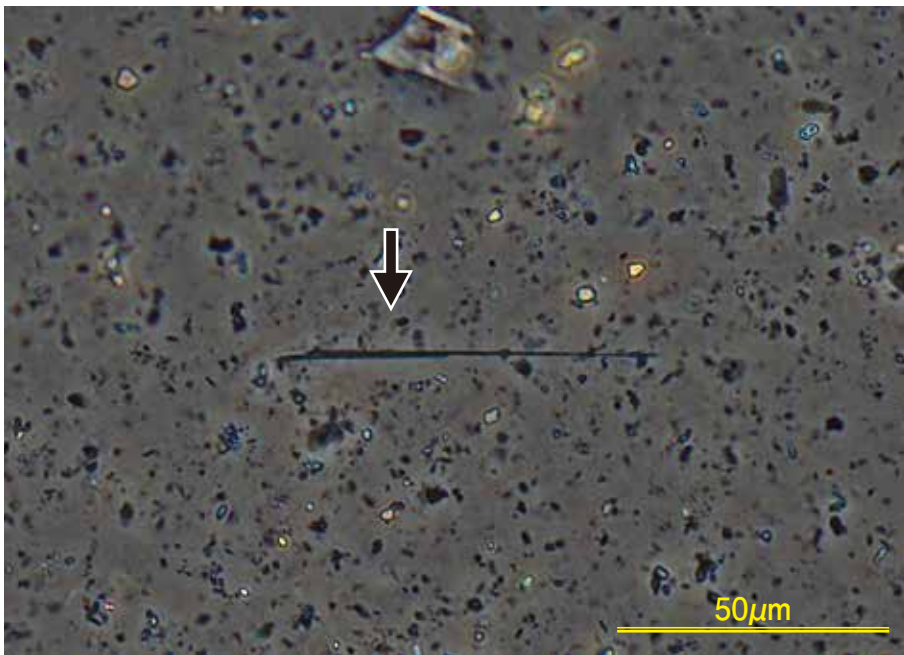
68 計数しない粒子状物質

繊維が確認できない



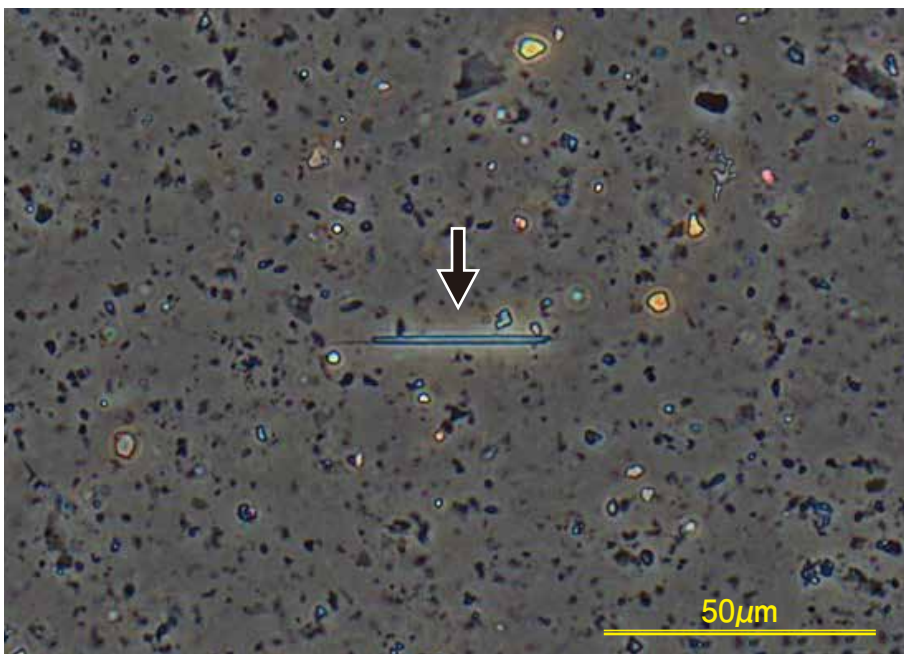
69 石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質

タンパク体の被覆は確認できない



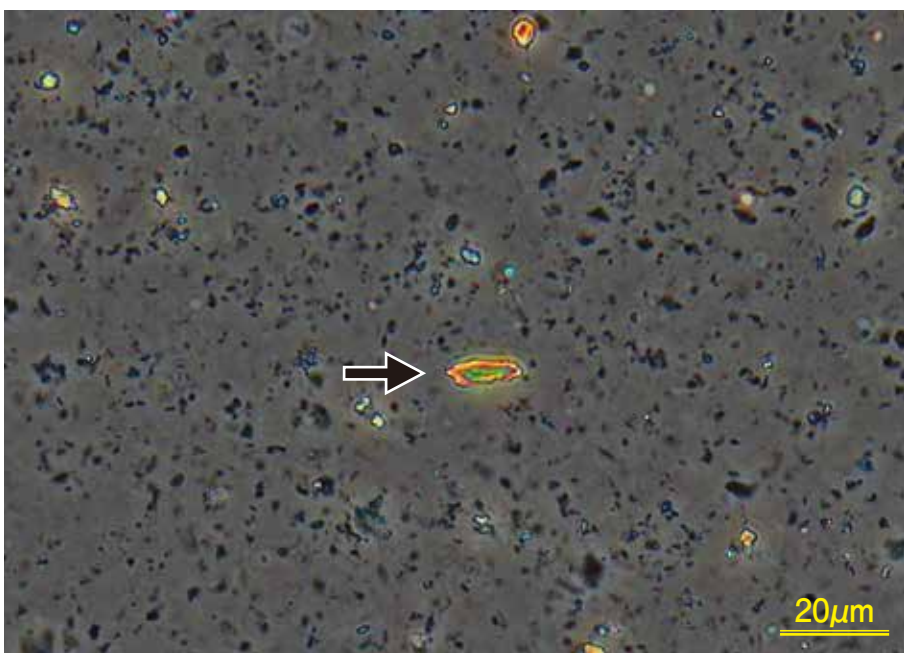
70 石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質

タンパク体の被覆は確認できない



71

タンパク体の被覆は確認できない

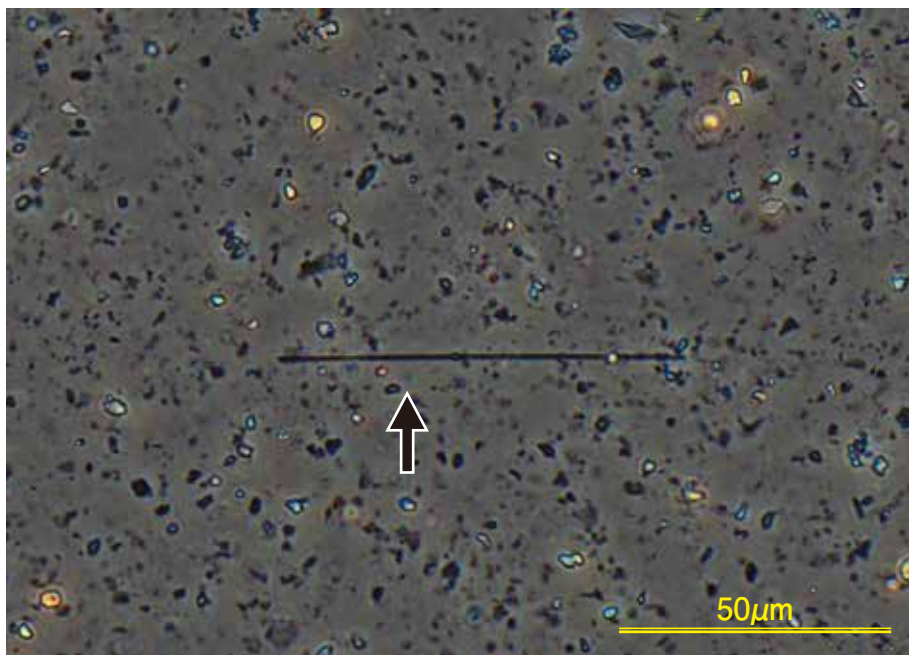


72 石綿小体に計数しない粒子状物質

繊維が確認できない

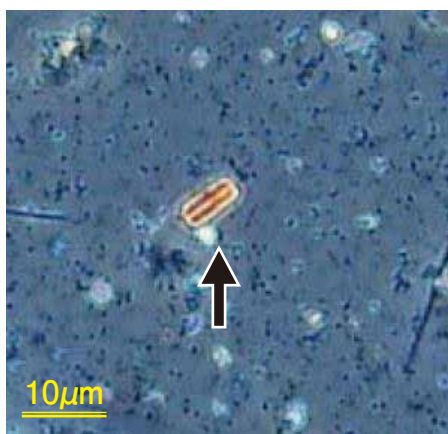
4.1.2 石綿小体に計数しない例

石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質

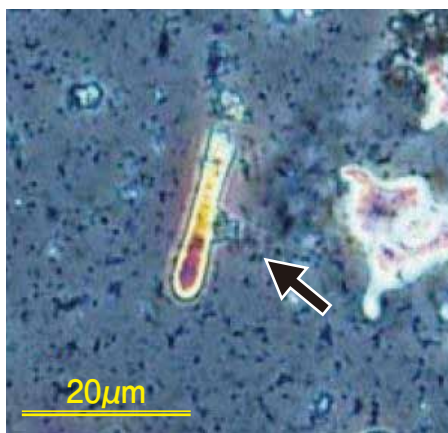
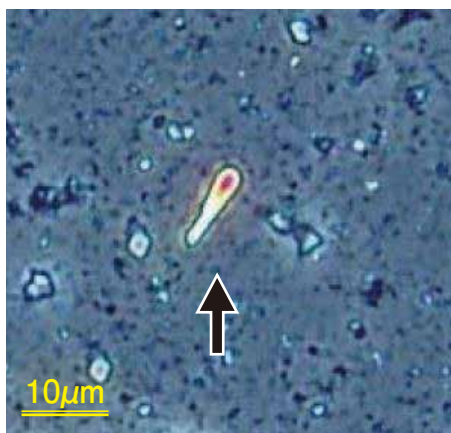


73 石綿小体に計数しない繊維状物質

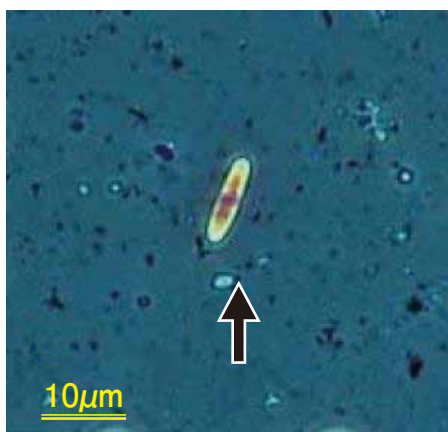
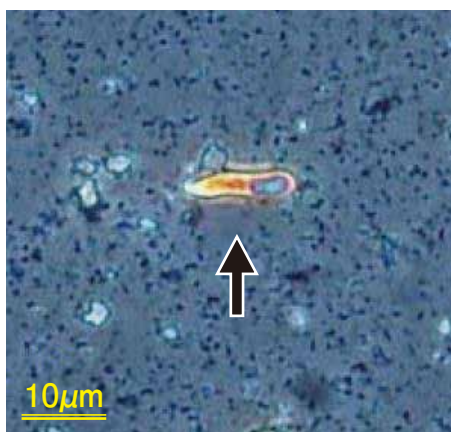
タンパク体の被覆は確認できない



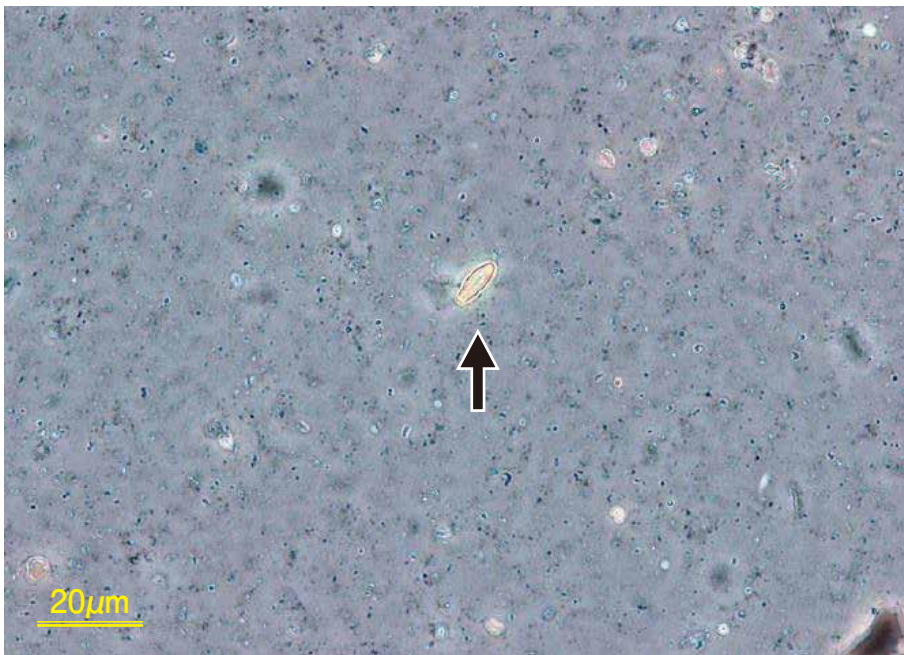
74、75 中心に穴あるいは構状の構造を持つが、両端部に繊維が確認できない



76、77 全体がコーティングされ、形状からは繊維が確認できない

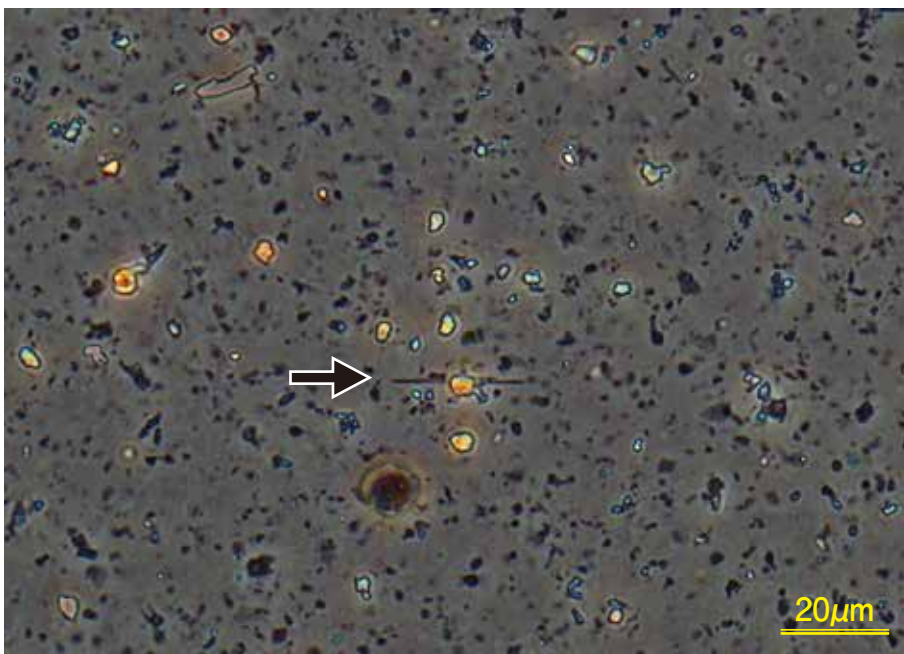


78、79 全体がコーティングされ、形状からは繊維が確認できない

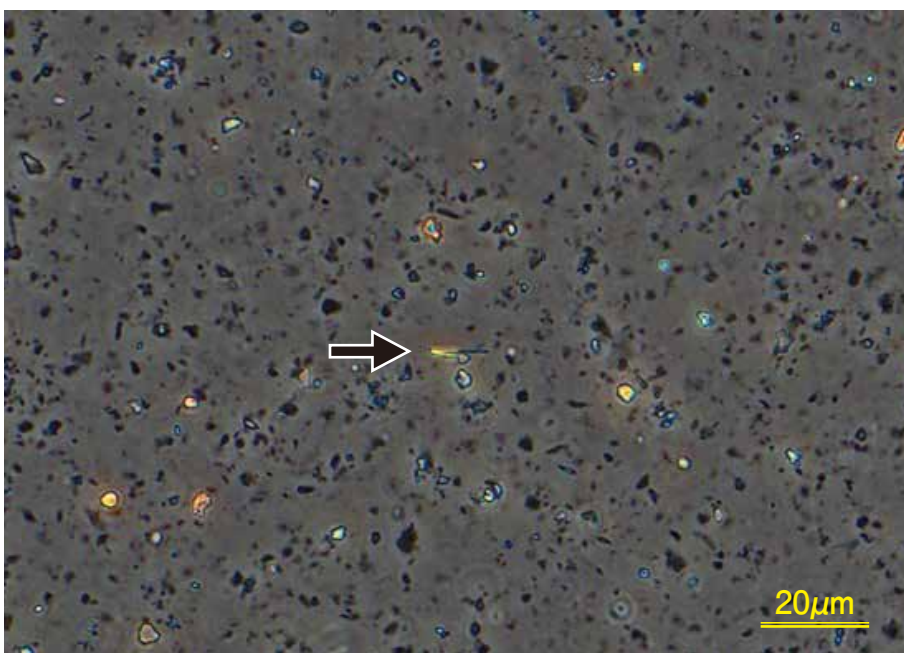


80 中心に穴あるいは構状の構造を持つが、両端部に繊維が確認できない

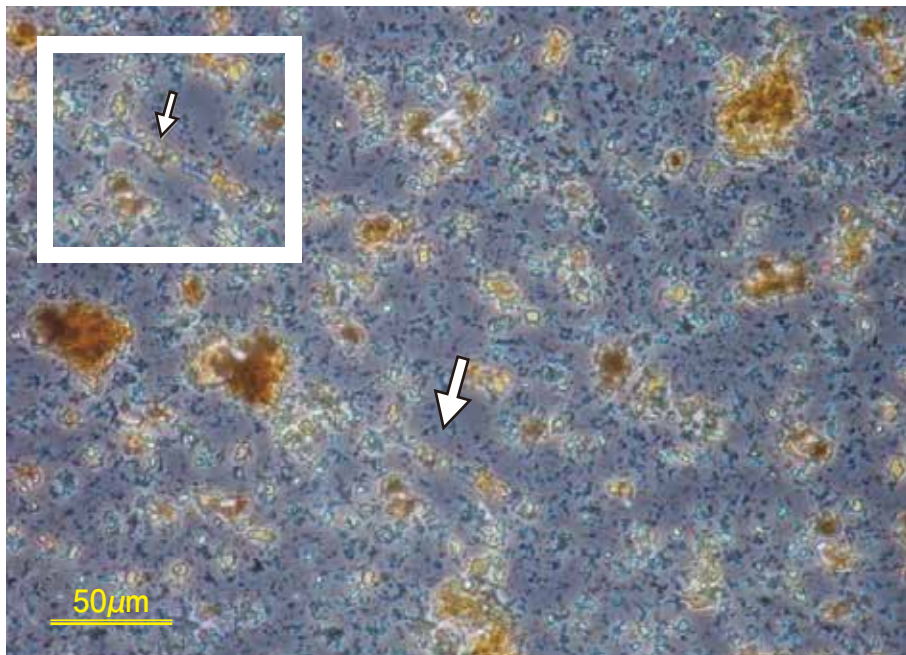
他の粒子が重なる例



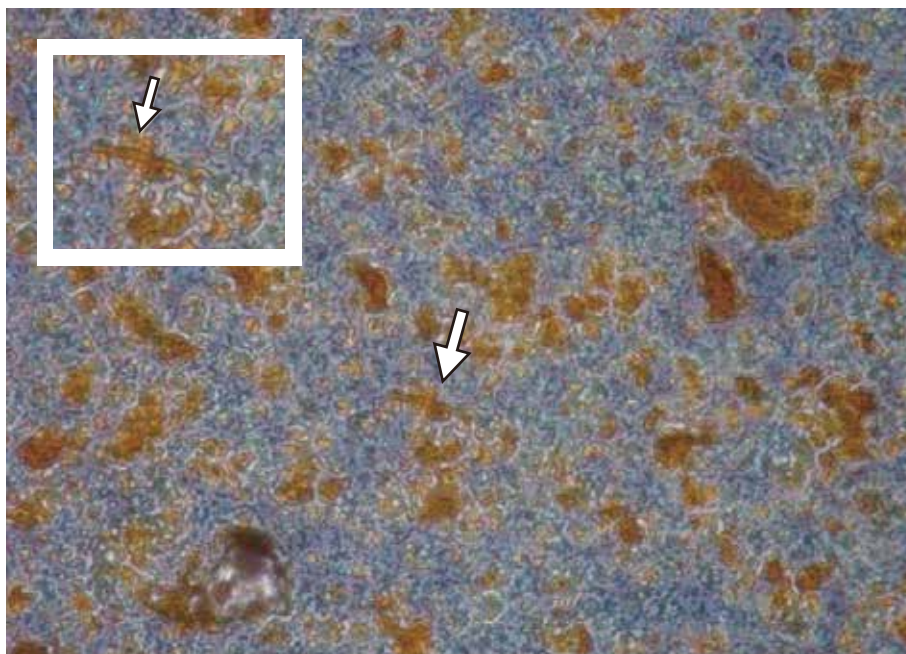
81 一見、石綿小体のようにみえるが、背景の残渣物が繊維上に重なっている



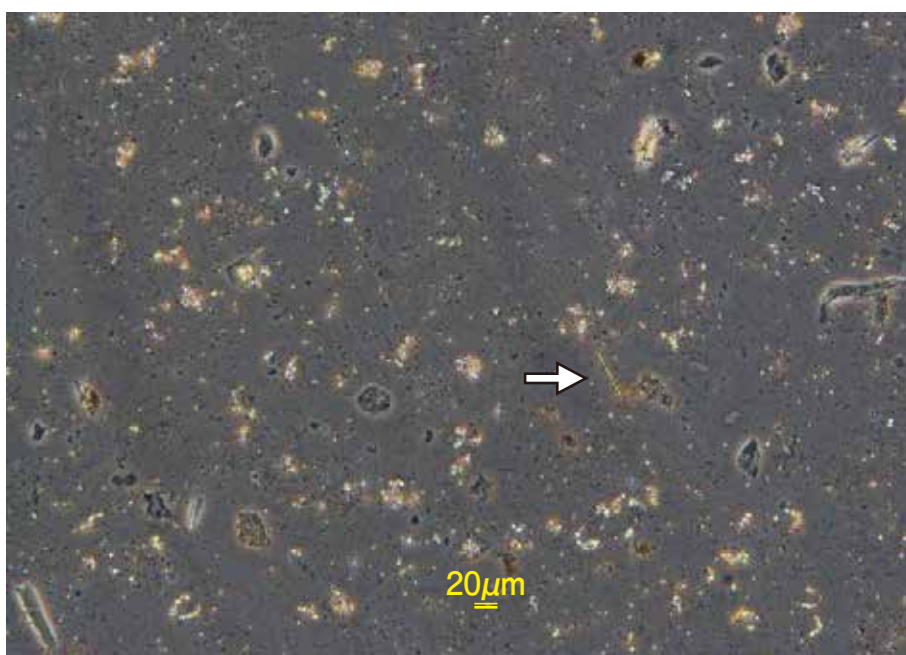
82 繊維への明瞭なタンパク体の被覆は確認できない



83 残渣および石綿小体が多い症例。1枚あたりの分取量が多いため、分取量を低くして複数枚の標本を作製して計測することが望ましい

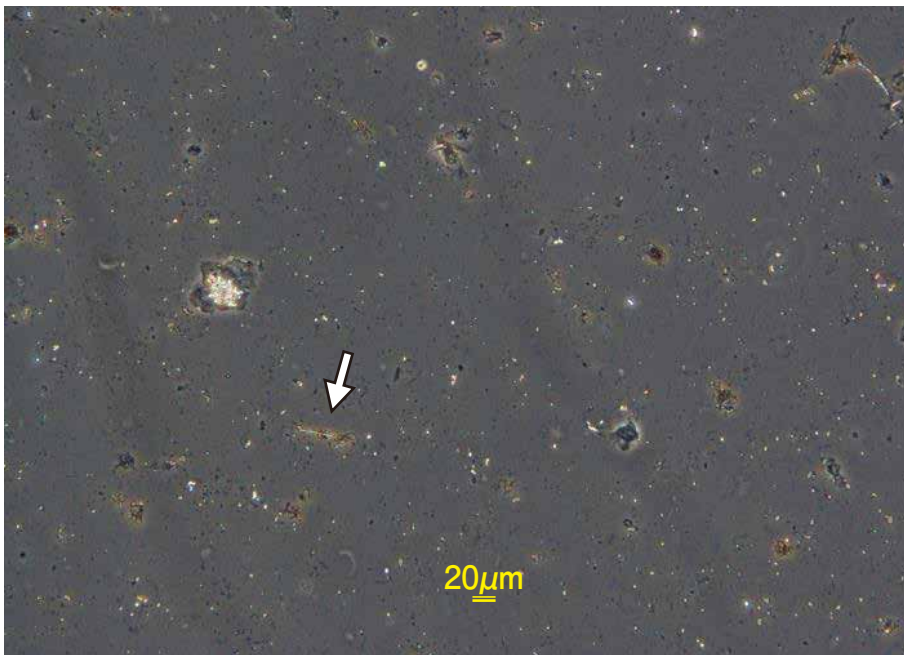


84



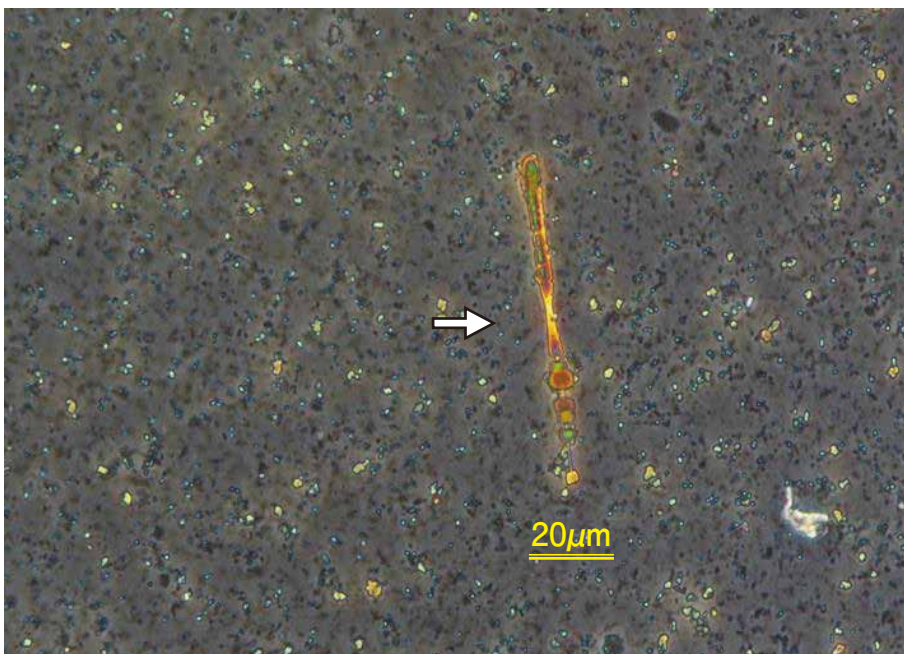
85 分取量が多いため夾雑物が多く透明化不良例（分取量1.5ml）

背景の夾雑物が多く、石綿小体は確認し難い



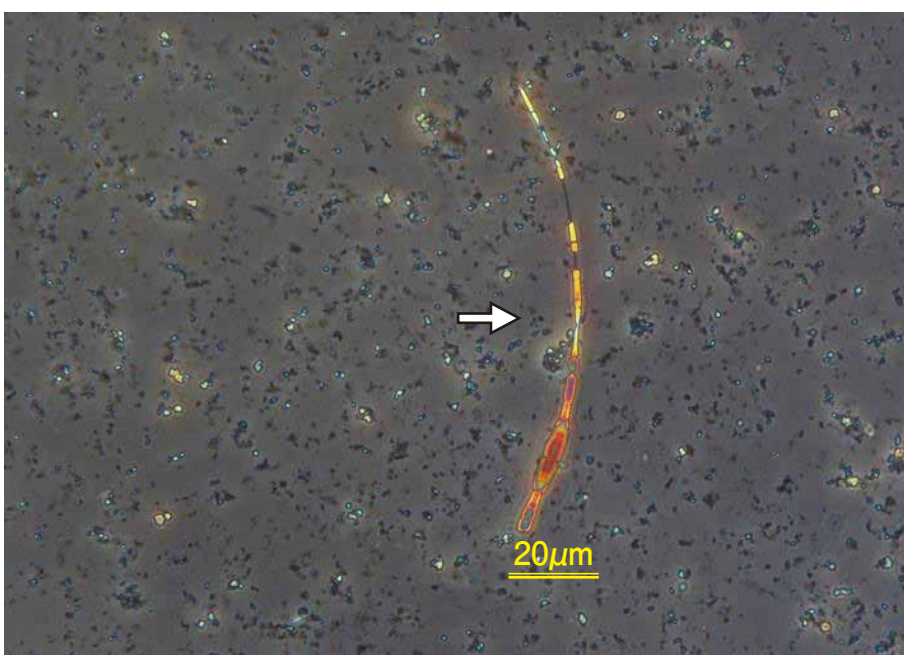
86 85と同一症例であるが分取量が少量のため透明化良好例（分取量0.8ml）

背景の夾雑物が分取多量例より少なく、観察がしやすい



87 分取多量例（分取量4.5ml）（本文p.14 図22）

背景の夾雑物、残渣が多い

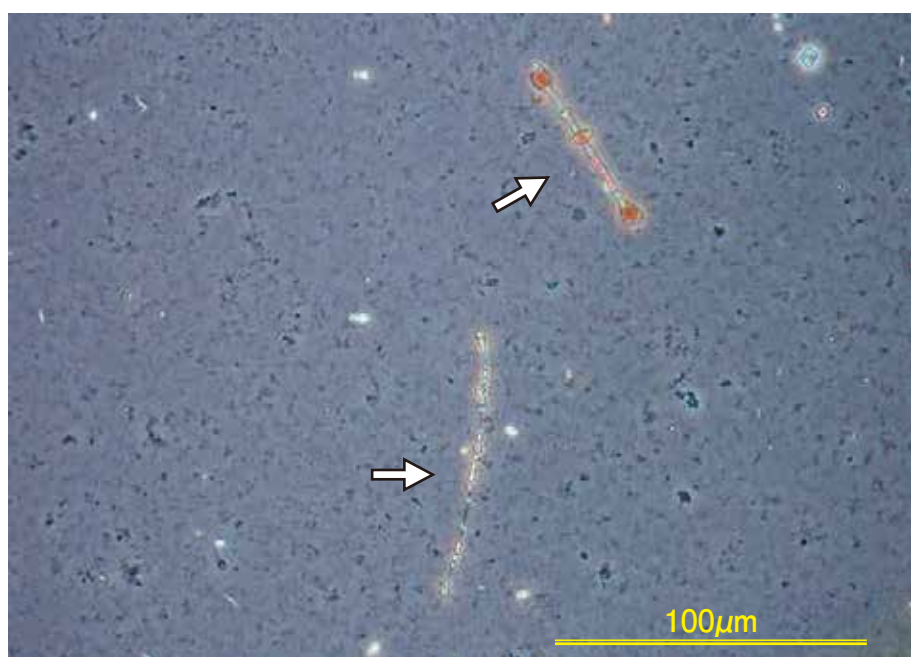


88 分取少量例（分取量1.5ml）（本文p.14 図23）

87と同一症例であるが分取量が少量のため背景の夾雑物、残渣が分取多量例より少なく、観察がしやすい



89 タンパク体が連なった石綿小体中央に繊維が見られる



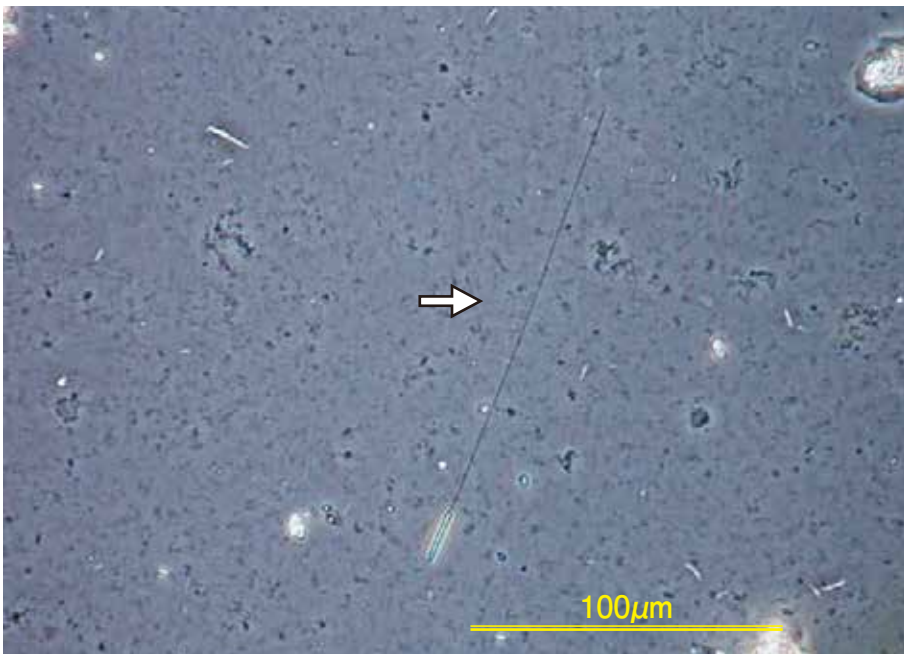
90 上：亜鈴様石綿小体
下：タンパク体が連なった石綿小体



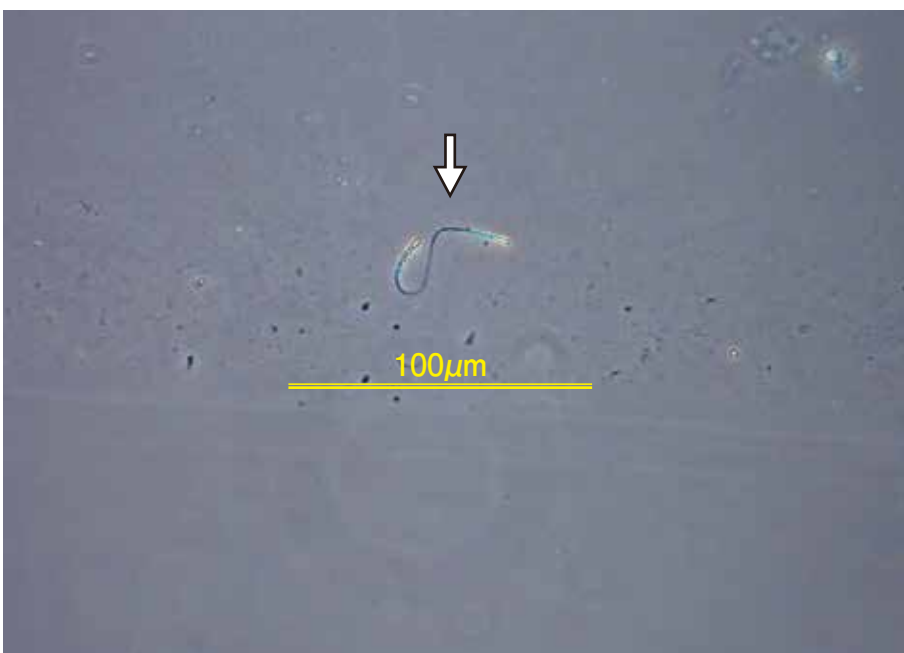
91 タンパク体、色調とも典型的な石綿小体



92 分両端に橙色の少量の附着物を持つ石綿小体



93 下方部分が少量のタンパク体に覆われた石綿小体

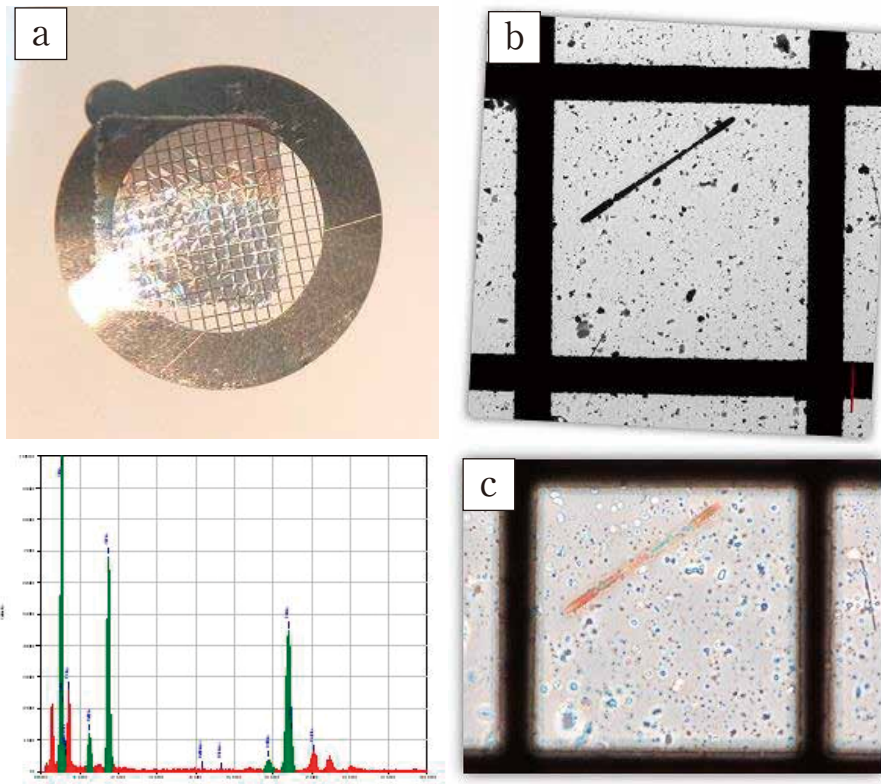


94 繊維がS字状に屈曲した石綿小体

4.3 位相差顕微鏡と分析透過電子顕微鏡の両方で見た石綿小体と疑似粒子の比較画像

Iijima S. et al (2023) *Industrial Health* 61(2), (in press)より転載許可済

図1 カーボン抽出法で作製したTEMメッシュ



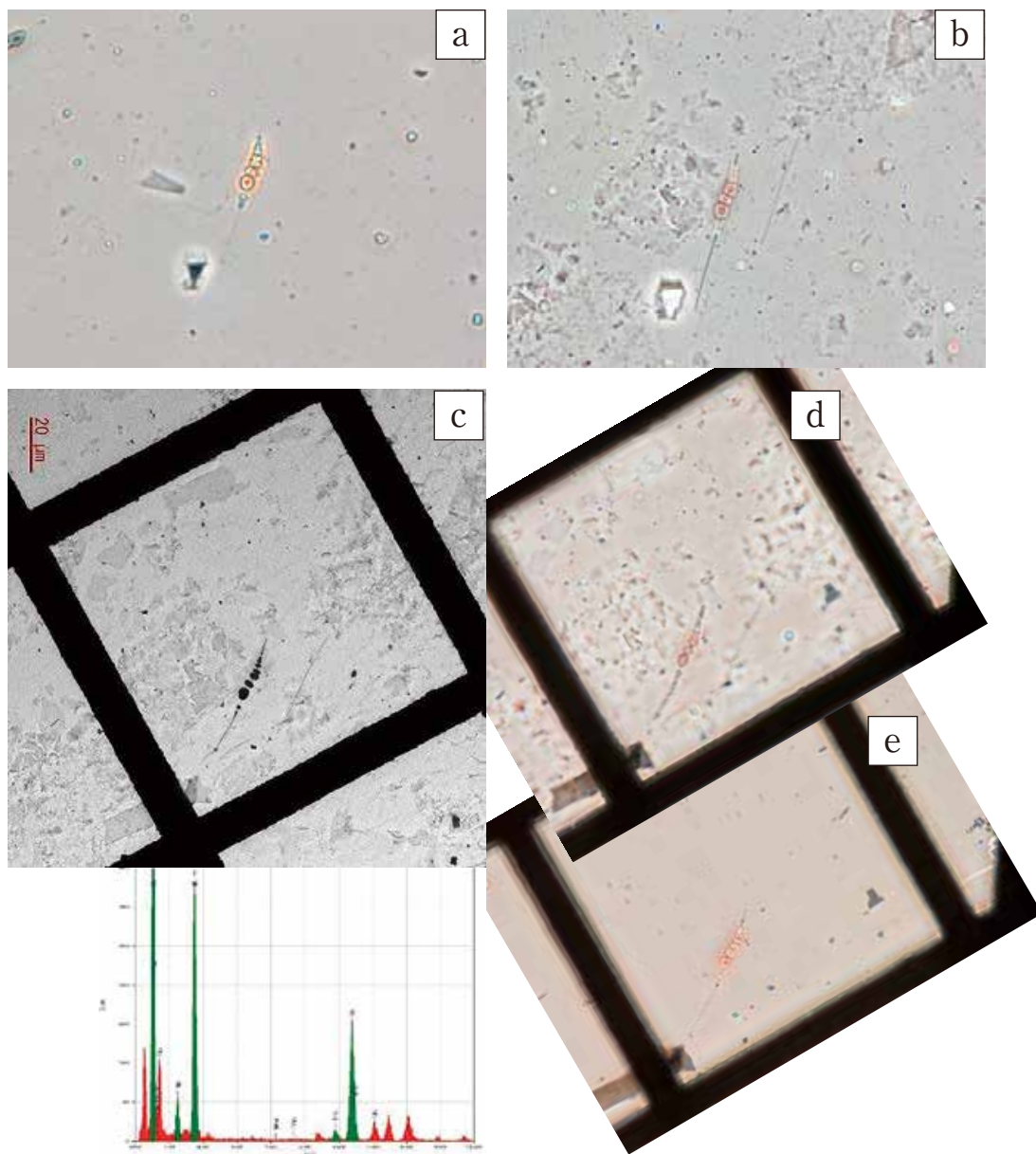
(a) 実体顕微鏡で見た写真

(b) TEMで見た画像

(c) PCMで見た画像

EDXスペクトルはその石綿小体の中心線維がアモサイトであることを示す。

図2 同一の石綿小体と石綿繊維をPCMとTEMで見た画像



- (a) 通常のPCM標本のPCM観察像
- (b) 通常のPCM標本のカバーガラスをキシレンに浸漬して外し低温灰化したスライドガラス標本のPCM観察像
- (c) (b)の標本からカーボン抽出法で作製したTEMメッシュ標本のTEM観察像
- (d) (c)のTEM標本のPCM観察像
- (e) (c)のTEM標本にカバーガラスをかけた標本のPCM観察像
- EDXスペクトルは石綿小体の中心線維がアモサイトであることを示す。

図3 同一の粒子（=石綿小体）をPCMとTEMで観察したペア画像

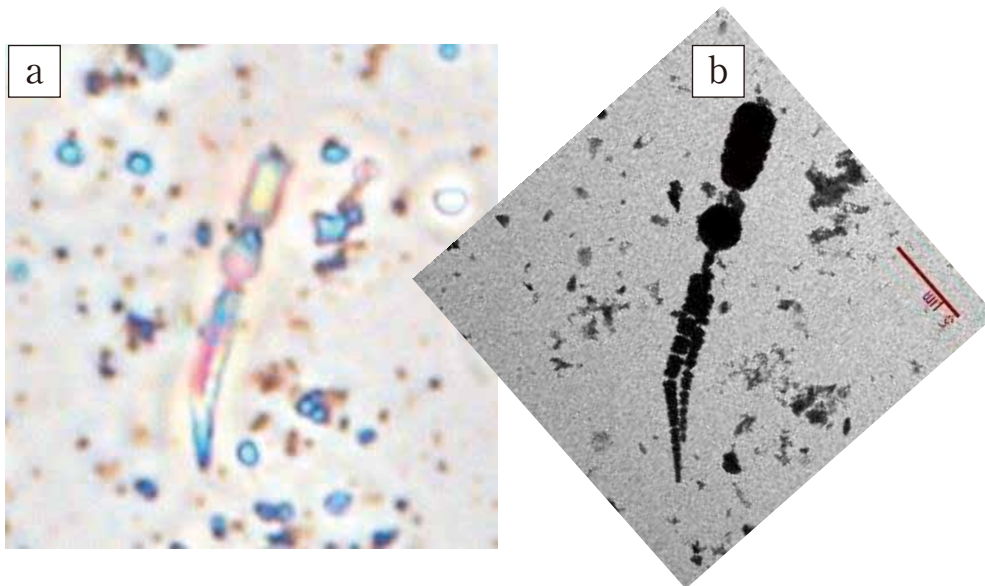
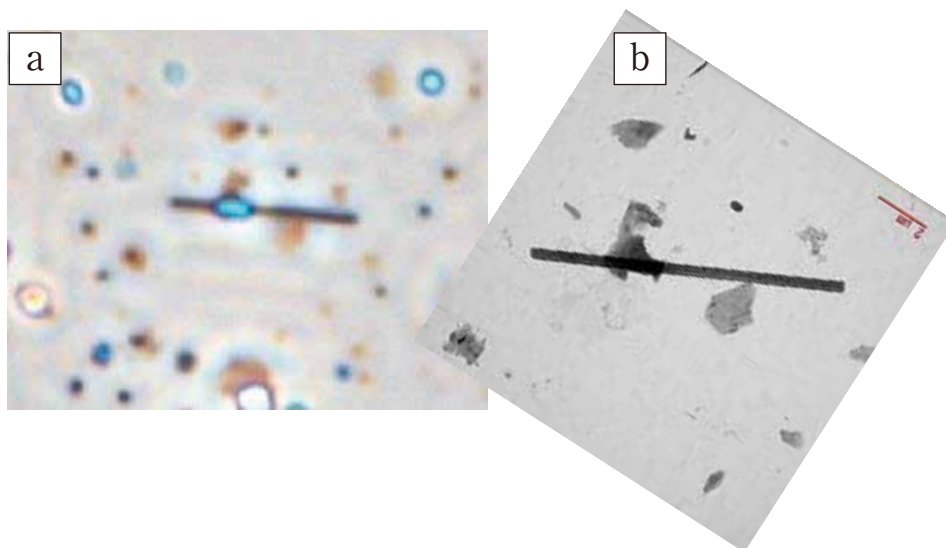
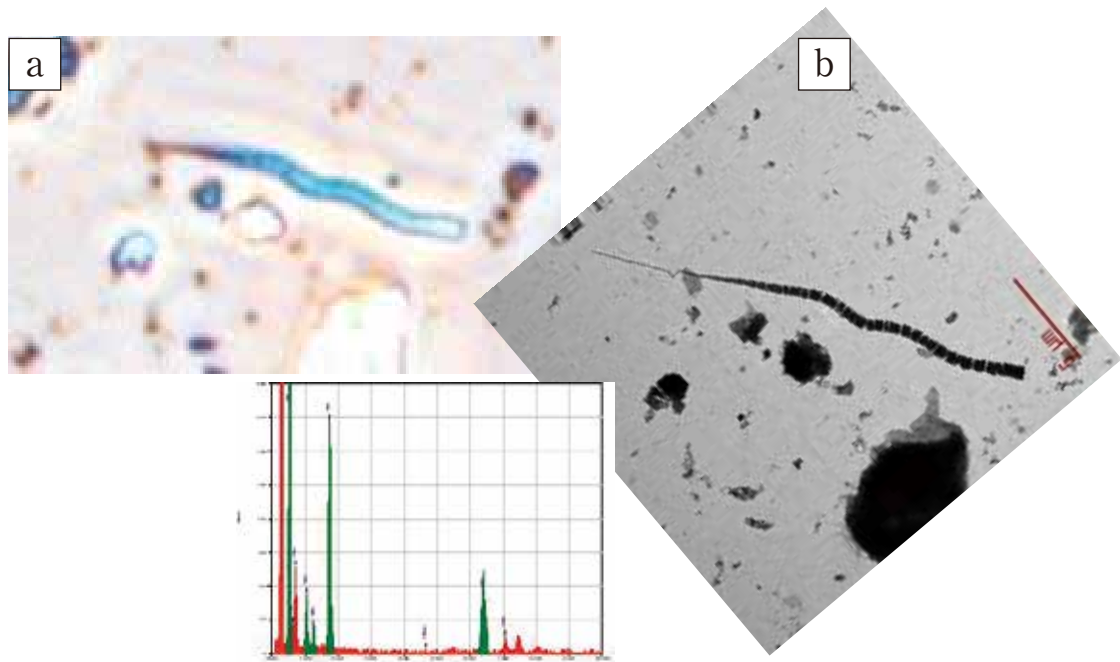


図4 同一の繊維状粒子をPCMとTEMで観察したペア画像



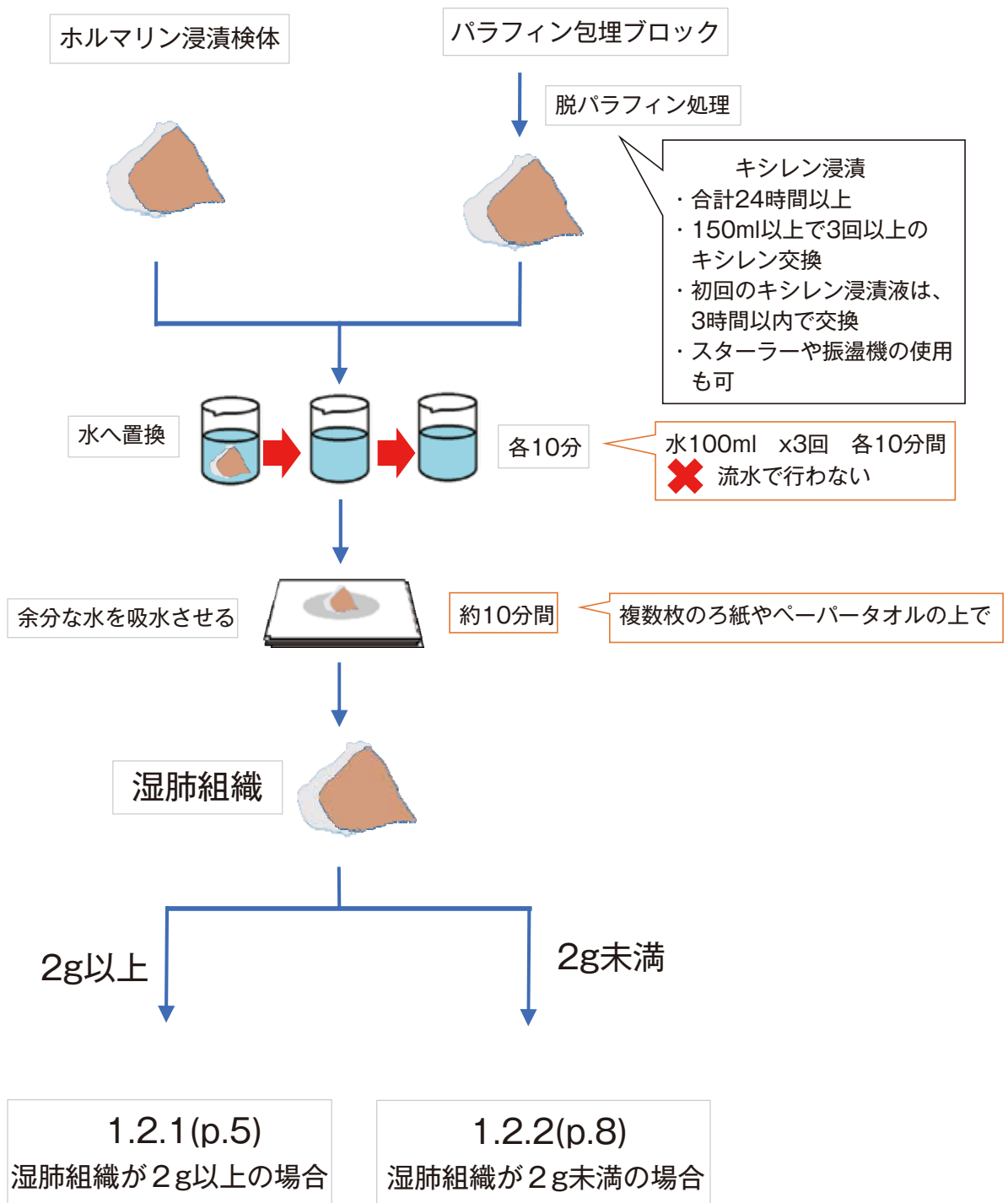
PCMで石綿小体様に見えた粒子をTEM像は石綿繊維に異物粒子が重なったものであることを示している。

図5 PCMとTEMで同一の粒子（＝石綿小体）を観察した画像

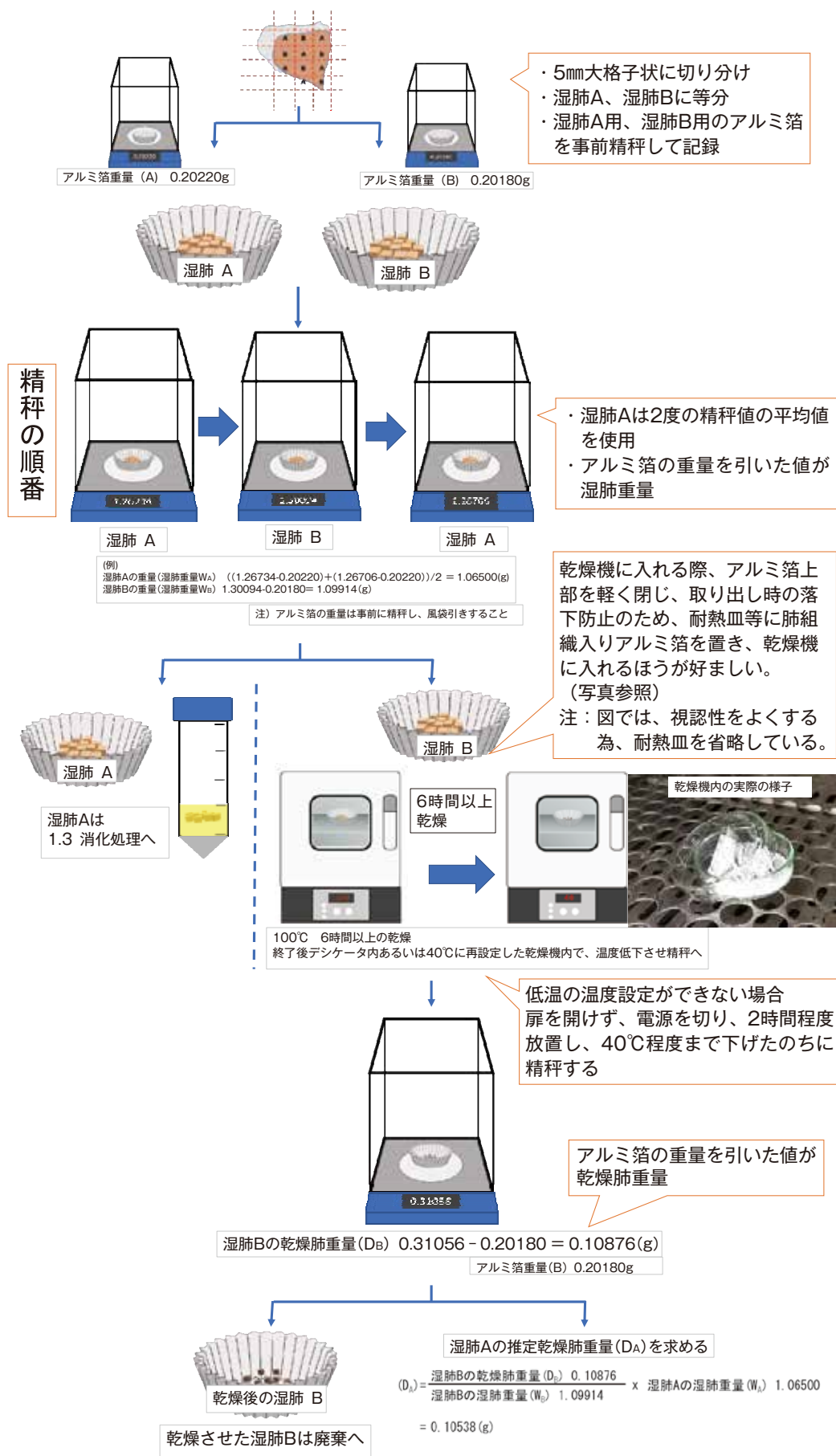


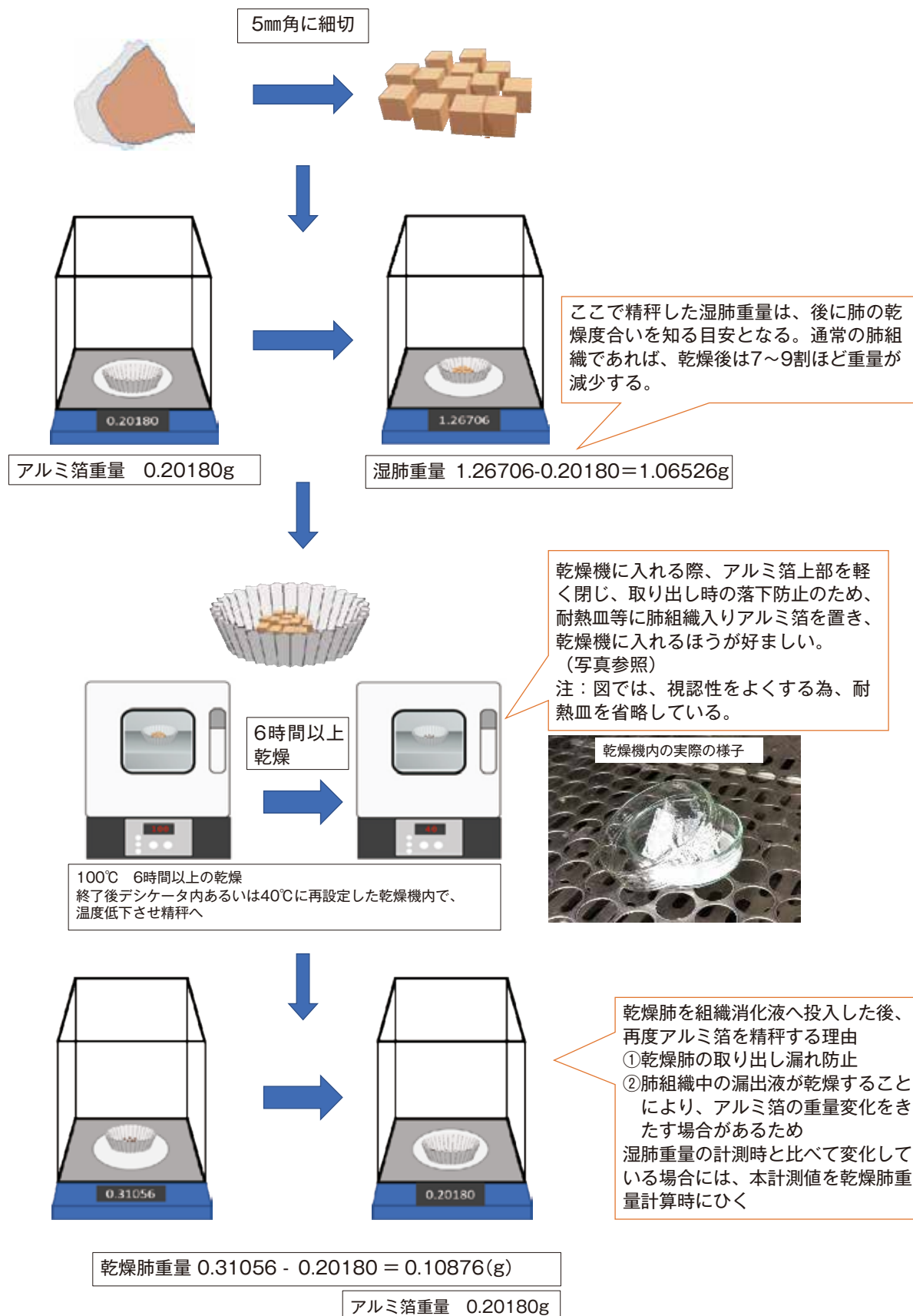
TEM像は石綿小体から出ている石綿繊維を示しているが、PCM像には見えない（矢印）。EDXスペクトルは中心線維がクロシドライトであることを示す。

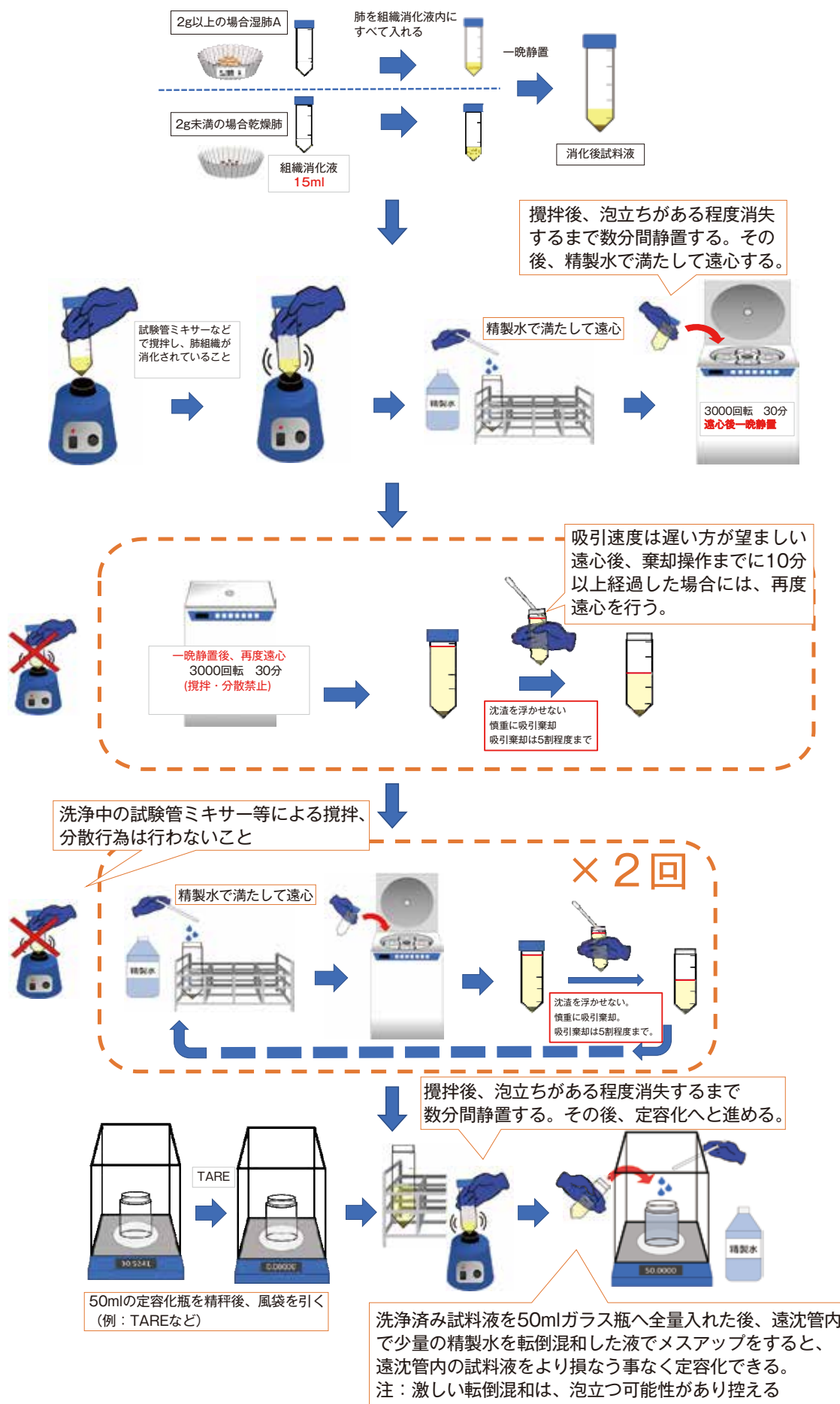
1.2 肺組織の秤量方法



1.2.1 湿肺組織2g以上の手順







謝 辞

2011（平成23）年度から2021（令和3）年度までの環境再生保全機構 石綿小体計測精度管理事業に参加いただいた方は以下のとおりです。

北海道中央労災病院

松崎 純和 石田 匠 松山 弘美

東北労災病院

高島 且統 安孫子 久男

横浜労災病院

濱村 尚也 飯島 佐知子 水本 学 内田 雅子

旭労災病院

山村 宗幸 服部 和宏 秋山 哲文 谷 清彦
山村 浩 瀬古 憲弘

神戸労災病院

佐藤 壱磨 松本省司

和歌山労災病院

田中 規仁 市川 和昭

山陰労災病院

木下 陽介 福田 理恵 村井 裕紀

岡山労災病院

妹尾 純江 岩佐 貴仁 藤木 正昭

九州労災病院

金澤 茂正 吉田 徳秀 淋 茜 牧野 裕太

長崎労災病院

岡部 寛央 川内 匡 田崎 潤一 井手 一徳

近畿中央呼吸器疾患センター

寺本 友昭

神奈川県立循環器呼吸器病センター

中村 満美子 本田 恵美

山口宇部医療センター

黒田 和彦 村上 匡美

労働安全衛生総合研究所

篠原 也寸志

石綿小体計測マニュアル（第3版）

令和5年3月1日 発行

発行者 独立行政法人労働者健康安全機構（JOHAS）

〒211-0021 神奈川県川崎市中原区木月住吉町1番1号

TEL 044 (431) 8641

FAX 044 (411) 5531

E-mail : kenkyu@johas.go.jp

独立行政法人環境再生保全機構（ERCA）

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番

ミュージアム川崎セントラルタワー9階

TEL 044 (520) 9615

FAX 044 (520) 2193

E-mail : asbestos@erca.go.jp

印刷 大東印刷工業株式会社

