原 著

痰溶解法を利用したアスベスト小体の検出

——特にアスベスト曝露の評価——

呉共済病院臨床病理科

青木 潤 山本津由子 佐々木なおみ 谷山 清己

痰と肺に含まれるアスベスト小体数を同時に算出し、両者の関連性を検討した。剖検 12 例から採取された気管内の痰は、集細胞細胞診法と次亜塩素酸ナトリウムによる溶解法を用いて、また同一症例の肺組織は溶解法を用いてアスベスト小体を検出した。痰中のアスベスト小体は細胞診法では 12 例中 1 例のみから検出されたが、溶解法では 8 例から検出された。肺組織からは全例でアスベスト小体が検出され、そのうち高度以上曝露（151 本/5 g 以上）は 9 例であった。痰溶解法で検出された 8 症例の肺は高度以上のアスベスト曝露であった。気管内痰と喀痰は成分的には同一と考えられるため、通常提出される喀痰において溶解法を用いてアスベスト小体が検出されれば、高度以上の曝露者である可能性が高く、痰溶解法はアスベスト曝露のスクリーニング検査法として有用と考える。

Key words : Asbestos body—Sputum—Lung—Digestion procedure

I. はじめに

アスベスト曝露と肺癌発生との関連は 1955 年に Doll¹⁾ が詳細に報告している。また 1960 年には Wagner²⁾ がきわめてまれな腫瘍である中皮腫がアスベスト鉱山地域から多発していることを報告した。その後アスベストが有する高い発癌性は広く知られている。しかし、アスベストはその優秀な断熱性、電気絶縁性、化学的安定性などから幅広く工業製品や建造物に使われ、使用量はその後も増え続けた。

われわれの病院の立地する呉地区には、1920 年代

から海軍工廠がおかれ、造船をはじめとする軍需産業が盛んであった。そして戦後もひき続き造船、製鉄が基幹産業のため、戦前、戦後を通じて多数のアスベスト曝露者が存在し、これらの人々からのアスベスト関連疾患である石綿肺や悪性腫瘍の発生が問題となってきた^{3~5)}。

従来、アスベスト曝露の定量には、主として切除肺あるいは剖検肺が用いられているが^{3,4)}、この方法では切除前、あるいは生前に曝露量を証明することはできない。細胞診検体として提出される喀痰中にアスベスト小体が検出されることがあるが、これが実際にどの程度肺の曝露と関係があるのか詳細に検討した報告は検索した限りではなかった。そこでわれわれは痰と肺組織中のアスベスト小体を同時に検出できる剖検例を用い、両者の相関を調べ、痰からアスベスト曝露量の評価が可能か否かを検討した。その結果、痰溶解法によるアスベスト小体検出はアスベスト曝露量の概略を知るためのスクリーニング検査として有用と考えられたので報告する。

Detection of asbestos bodies by means of digestion procedure using sputum : an analysis of asbestos exposed subjects
Jun AOKI, C.T., C.M.I.A.C, Tsuyuko YAMAMOTO, C.T., I. A.C, Naomi SASAKI, M.D., Kiyomi TANIYAMA, M.D.
Department of Clinical Pathology, Kure Mutual Aid Hospital

論文別刷請求先 ☎ 737 呉市西中央 2 の 3 の 28 国家公務員等共済組合連合会呉共済病院臨床病理科 青木 潤

平成 7 年 3 月 17 日受付

平成 7 年 6 月 23 日受理

II. 対象と方法

対 象

1993年10, 11月に呉共済病院で剖検された症例のうち気管内から痰が採取できた11例と, 同年1月に剖検し生前の喀痰中のアスベスト小体が同じ方法で検出されていた悪性中皮腫1例の計12例を用いた。男性9例, 女性3例であり, 平均年齢73.3歳(66~86歳)であった(表1)。常時アスベストに曝露されていたと思われる, 造船, 自動車製造, 製鉄, 鉄鋼業を曝露職種⁹⁾とした。一方, 症例5, 6は空気の大変きれいな島嶼部に永く住んでいた主婦で, 住環境, 職歴ともに曝露の可能性が少ない例である。

方 法

剖検時, 最初に気管を慎重に切開し痰を採取した。さらに左右肺の下葉末梢組織の一部を採取した。痰は粘液融解剤入りの集痰容器に入れ, 細胞診標本を1枚作製した。残りの痰と肺組織をSmithら⁶⁾や, 松田⁷⁾が報告している次亜塩素酸ナトリウムによる溶解法に従い下記のごとく処理した。

1. 痰: 集細胞容器に溶解法(5%次亜塩素酸ナトリウム液, 商品名: アンチホルミン)を20ml加え, 混和したのちに蓋を緩めて室温で2時間以上放置。肺組織: ホルマリン固定したのち, 湿重量5g分を数mmの大きさに細切し, 溶解液を200mlを加え攪拌したのち48~72時間放置(24時間ごとにチェックし, 溶け具合が悪い場合は溶解液を加える)。

2. 痰および肺組織を完全に溶解後, 上清を注意深くできるだけ除去し, クロロホルム20mlを加え管壁をよく洗う。

3. さらに50%エタノールを等量加えよく振盪する。

4. 遠心管に分注し800回転で10分間遠沈。

5. 上からエタノール, 炭粉, クロロホルムの3層(痰の場合は炭粉層はなく少量の白色浮遊物層)に分離するので, 沈渣を残しこれらを除去する。

6. 沈渣に95%エタノールを加え, よく攪拌する。

7. ミリポアフィルター(SM型, 孔径5 μ , Bedford社製)で吸引濾過。

8. フィルターを無染色でそのまま乾燥し, キシレンで透徹, 合成封入剤で封入。

9. 顕微鏡下に, フィルター上のアスベスト小体の数をすべて数える。

なお, 算定に際しては串刺し団子様で中心にアスベストの針状構造が確認でき, 明らかにアスベスト小体と同定できるものだけを数えた。単なる針状の構造物や, 針状構造の確認ができない含鉄小体様物質は算定から除外した(写真1, 2)。村井, 北川らの報告⁸⁾を参考にして, 肺組織5g中, アスベスト小体数が40本以下を低度, 41~150本を中等度, 151~9,999法を高度とし, さらに10,000本以上を超高度曝露群とした。左右どちらかの肺で多く検出された方をこの基準(表2)で分類した。

III. 結 果

気管内痰と肺組織のアスベスト小体の検出結果を表3に示す。痰の細胞診標本からアスベスト小体が検出されたのは12例中の1例(8%)のみで, 痰溶解法では8例(67%)であった。なお, 症例11では生前に喀痰細胞診が5回施行され, そのうち1回にアスベ

表1 検討症例

症例	年齢	性別	住所	職業歴	曝露職種	主病変
1	69	男	呉市	船員		肺線維症
2	74	女	呉市	製鉄工	○	肝硬変
3	80	男	呉市	自動車製造工	○	肺癌(腺癌)
4	67	男	呉市	会社役員		脳出血
5	69	女	豊田郡	主婦		胆嚢癌(腺癌)
6	66	女	豊田郡	主婦		肝内胆管癌(腺癌)
7	68	男	呉市	製鉄工	○	悪性リンパ腫
8	79	男	呉市	製鉄工	○	慢性腎不全
9	72	男	呉市	会計士		肺癌(腺癌)
10	80	男	呉市	造船工	○	前立腺癌転移
11	86	男	呉市	鉄鋼所工員	○	肺癌(扁平上皮癌)
12	69	男	安芸郡	造船工	○	胸膜悪性中皮腫

ト小体が検出されたが、剖検時痰の細胞診では検出されなかった。痰溶解法で検出された8例のアスベスト小体数は、粘液融解後の痰沈渣1mlあたり0.5~306本（平均31.4本）であった。

肺組織からは全例でアスベスト小体が検出された。最少は4本、最多は123,120本であった。左右の肺下葉組織を比較すると、平均アスベスト小体数は左：12,981本、右：8,300本で、12例中10例は右下葉より左下葉の方から多数のアスベスト小体が検出され

た。

左・右肺どちらかから151本/5g以上検出され、高度以上の曝露群に分類されたのは12例中9例あり、このうち7例は曝露職種の職歴があった。低度~中等度曝露群に属する4例は非曝露職種であった。

曝露職種7例は全例高度以上の曝露者であり、痰溶解法でアスベスト小体が検出された。非曝露職種でありながら高度曝露していた2例はいずれも呉市在住であった。また、島嶼部に在住し、職業的にも環境的にも曝露されにくいと考えられる主婦（症例5.6）も低度および中等度曝露者であった（表3）。

肺内アスベスト曝露の程度と、痰中のアスベスト小体検出の関係を表4に示す。低度、中等度曝露群の痰からは細胞診、溶解法ともにアスベスト小体は検出されなかった。高度曝露群の痰からは細胞診では検出されなかったが、溶解法では7例中6例（85.7%）から

写真1 症例20の痰溶解法によるアスベスト小体（無染色，a：×80，b：×200）。

表2 アスベスト曝露程度の分類基準

肺組織5g中の アスベスト小体数	曝露群
40以下	低度
41~150	中等度
151~9,999	高度
10,000以上	超高度

写真2 症例20の肺組織中アスベスト小体走査電子顕微鏡像。大小のアスベスト小体が多数認められる。光顕レベルでは検出できない微細なものもある（bar：50μm）。

表 3 アスベスト小体検出結果

症例	喀痰		肺下葉組織 ²⁾		アスベスト 曝露職種	肺病変
	細胞診	溶解法 ¹⁾	左	右		
1	—	— (0)	89	4		線維化
2	—	— (24)	1,175	320	○	肺気腫, 間質性肺炎
3	—	— (0.5)	84	176	○	腺癌
4	—	— (0)	161	25		著変なし
5	—	— (0)	63	18		癌転移, 気管支肺炎
6	—	— (0)	4	9		癌転移
7	—	— (12)	255	110	○	線維化
8	—	— (2)	5,024	3,380	○	燕下性肺炎
9	—	— (6)	2,580	804		腺癌
10	—	— (11)	2,692	604	○	著変なし
11	— ³⁾	— (15)	20,520	9800	○	扁平上皮癌
12	+	— (306)	123,120	84,352	○	中皮腫浸潤
平均		(31.4)	12,980.6	8,300.2		

¹⁾: () の中の数値は粘液融解後の痰沈渣 1 ml 中のアスベスト小体数。 ²⁾: ホルマリン固定後の湿重量 5 g 中から検出されたアスベスト小体数。 ³⁾: 生前喀痰細胞診 5 回実施, うち 1 回アスベスト小体を検出

表 4 肺内アスベスト曝露程度と痰中アスベスト小体検出の関係

曝露群	症例数	細胞診 (%)	痰溶解法 (%)
低度	1	0 (0.0)	0 (0.0)
中等度	2	0 (0.0)	0 (0.0)
高度	7	0 (0.0)	6 (85.7)
超高度	2	1 (50.0)	2 (100.0)
合計(平均)	12	1 (8.3)	8 (66.7)

検出された。超高度曝露群では, 2 例中 1 例が細胞診でも検出され, 溶解法では 2 例ともに検出された。

肺のアスベスト関連疾患については, 中等度曝露の 2 例中 1 例が肺線維症であった。高度曝露群 7 例では肺腺癌 2 例, 線維化 1 例が認められた。超高度曝露群 2 例には肺扁平上皮癌と悪性中皮腫がみられた (表 5)。

VI. 考 察

痰に含まれるアスベスト小体とアスベスト曝露の関連を論じた従来の報告⁹⁻¹¹⁾は, 職業や曝露年数との関係を示したものが中心で, 痰と肺組織中に含まれるアスベスト小体数の関係を直接比較したものはわれわれの検索した範囲内では, 他にみられなかった。

今回の剖検例を用いた痰と肺組織中のアスベスト小体の同時検出の結果, 痰溶解法で検出された症例は, すべて高度以上の曝露群に属していた。またこの方法

表 5 アスベスト曝露群と肺病変

症例番号	曝露群	肺病変	アスベスト関連病変
6	低度	胆管癌転移	
1	中等度	線維化	△
5	〃	胆嚢癌転移, 肺炎	
2	高度	肺気腫, 肺炎	
3	〃	腺癌	○
4	〃	なし	
7	〃	線維化	△
8	〃	肺炎	
9	〃	腺癌	○
10	〃	なし	
11	超高度	扁平上皮癌	○
12	〃	中皮腫浸潤	○

△: 良性病変, ○: 悪性病変

で検出できなかった高度以上曝露例は 9 例中 1 例のみで, 疑陰性も少なかった。一方, 通常の細胞診標本では超高度曝露の 1 例から検出されたのみであった。気管内の痰と喀痰は成分的には同じと認識できるので, 痰溶解法は高度以上の曝露者発見のためのスクリーニング検査として有効と考えられる。

今回の検討では粘液融解後の痰沈渣量を基準としアスベスト小体数を算出したが, 採取できた痰の量は種々で, また痰の性状により粘液融解後の沈渣量も異なったため, 正確な定量化は困難であった。しかし, 高度あるいは超高度曝露の指標には十分なりうると思われる。Roggli ら¹²⁾は気管支肺胞洗浄液 (BAL 液) 中

のアスベスト小体を検出し 10^6 個の細胞あたり 1 本以上、または BAL 液 1 ml あたり 1 本以上のアスベスト小体があることが有意な曝露の指標であると結論づけているが、これは肺組織の曝露量から算定したものではなく、肺疾患、職歴から割り出したもので正確な曝露量評価にはいたっていない。また彼らも肺組織中のアスベスト小体数が比較できた 4 症例のデータを報告しているが、われわれの痰中のアスベスト小体数との比較と同様に厳密な相関を認めていない¹³⁾。また、Leiman ら¹⁴⁾は肺穿刺吸引細胞診 (FNA) 材料 1,256 例中 57 例でアスベスト小体を検出したと報告している。FNA 材料は肺病変を同時に診断できる点では優れているが、曝露のスクリーニング材料としては対象に限界がある。スクリーニング材料としては採取の容易な痰が有利であるとわれわれは考える。

今回の検討では濾過にミリポアフィルターを使用した。透徹・封入が難しく、鏡検困難な標本ができることがあった。今後は封入しやすい、メンブレンフィルター (センシンメディカル社製) を使用していく予定である。

肺組織から検出されたアスベスト小体数は曝露職種例の方が非曝露職種例より多い傾向はあったが、検討した全例の肺組織からアスベスト小体が検出された。高度曝露者は、職業的環境がアスベスト曝露に多大に関係していると考えられるが、非曝露職種でも高度曝露例 (症例 4, 9) がみられた。徳岡ら⁴⁾は剖検例を用い肺組織中のアスベスト小体を同様の方法で調べ、アスベスト汚染が単に職業環境下においてのみならず、一般生活環境下においても最近著しく増悪していることを警告している。呉市もアスベストに汚染されており³⁾、非曝露職種でありながら高度曝露者であった 2 例も呉市在住であった。曝露が全く想像できなかった島嶼部在住の主婦 (症例 5, 6) から検出されたことから、これらの地域での症例数をさらに増やして調査する必要性を感じた。

現在わが国でも、アスベストの使用が制限され使用量が減少しているが、すでに建築資材などとして多量に使用されているため、今後建築物に封じ込まれていたアスベストが、これらの建て替えに伴い産業廃棄物として処理されていく過程で、深刻な環境汚染を発生させることが憂慮されている¹⁵⁾。実際このたびの阪神大震災後の復旧作業では大きな社会問題となっている。

アスベスト曝露評価では、過去の職歴のみならず生

活環境などの詳しい聞き取りの必要性も指摘されているが^{3,5,15)}、予測不可能な曝露症例を見出すには有効なスクリーニング法が必要である。職歴、放射線による画像診断はアスベスト曝露の間接証拠であるが、今回の結果から、痰中にアスベスト小体を検出すればアスベスト高度以上曝露を強く示唆できることになる。このことは、アスベスト関連疾患のより早期の診断・治療につながるだけでなく、アスベストと喫煙は相乗的に発癌リスクを著しく上昇させることがわかっており⁹⁾、禁煙を強く指導することで肺癌の発生を減少させることも可能となると思われる。

さらに通常の細胞診標本でアスベスト小体が検出されるということは、超高度曝露の可能性が高いことを意味し、肺がきわめて深刻な状態であることを示唆する重要な細胞診所見であると考えられる。

稿を終えるにあたり、ご協力くださった呉共済病院臨床病理科・前田雄司技師長、小浦康則、折崎久美子技師、広島医学技術専門学校学生 (現、土谷病院) 椋 清美さんに深謝いたします。

本論文の要旨は、第 35 回日本臨床細胞学会総会 (1994 年 6 月、松江) において発表した。

Summary

Numbers of asbestos bodies in sputum and lung tissue were compared in 12 autopsy cases. Intratracheal sputum was examined by sputum cytology and a digestion procedure, and lung tissue was examined by the digestion procedure. Asbestos bodies were found in intratracheal sputum in only one of the 12 cases, by sputum cytology, but in eight by the digestion procedure. Asbestos bodies of varying number were found in the lung tissue of all patients by the digestion procedure. Nine cases were evaluated as highly exposed to asbestos (over 150 asbestos bodies/5 g of wet fixed lung tissue), and eight of them were found to have asbestos bodies in their intratracheal sputum by the digestion procedure. Therefore, detection of asbestos bodies in sputum by the digestion procedure is strong evidence of high exposure to asbestos. The digestion procedure using sputum should be a useful tool in screening for asbestos exposure.

文 献

- 1) Doll, R. Mortality from lung cancer in asbestos workers. Br. J. Ind. Med. 1955; 12: 81~86.

- 2) Wagner, J.C., Sleggs, C.A., Marchand, P. Diffuse pleural methothelioma and asbestos exposure in the North-West Cape Province. *Br. J. Ind. Med.* 1960; 17: 260~271.
 - 3) 片山正一. アスベスト曝露と癌発生との関係—呉医療圏における経験—. *医療* 1993; 47: 661~666.
 - 4) 徳岡昭治, 立山義朗, 楠部 滋, 藤原 恵, 米原修治, 武島幸夫・ほか. 剖検肺におけるアスベスト小体沈着状態の経年的推移に関する研究. *広島医学* 1989; 42: 1398~1405.
 - 5) 横山邦彦, 森永謙二. 特集=石綿の労働衛生管理, 石綿取り扱いの労働衛生管理概論. *産業医学ジャーナル* 1986; 9: 5~18.
 - 6) Smith, M.J., Naylor, B. A method for extracting ferruginous bodies from sputum and pulmonary tissue. *Am. J. Clin. Pathol.* 1972; 58: 250~254.
 - 7) 松田 実. アスベスト小体に関する研究, 第一報: 剖検肺からのアスベスト小体の検出. *日胸疾会誌* 1975; 13: 40~43.
 - 8) 村井嘉寛, 北川正信. 北陸地区剖検肺における石綿小体の検出頻度. *肺癌* 1984; 24: 239~247.
 - 9) Farley, M.L., Greenberg, S.D., Shuford Jr. E.H., Hurst, G.A., Spivery, C.G., Christianson, C.S. Ferruginous bodies in sputa of former asbestos workers. *Acta. Cytol.* 1977; 21: 693~700.
 - 10) McLarty, J. W., Greenberg, S.D., Hurst, G. A., Spivey, C.G., Seitzman, L.H., Hieger, L.R. et al. The clinical significance of ferruginous bodies in sputa. *J. Occup. Med.* 1980; 22: 92~96.
 - 11) McDonald, J.C., Sebastien, P., Case, B., MacDonald, A.D., Dufresne A. Ferruginous body count in sputum as index of past exposure to mineral fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 1992; 36: 271~282.
 - 12) Roggli, V.L., Coin, P.G., MacIntyre, N.R. et al. Asbestos content of bronchoalveolar lavage fluid. *Acta. Cytol.* 1994; 38: 502~510.
 - 13) Roggli, V.L., Piantadosi, C.A., Bell, D.Y. Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *Acta. Cytol.* 1986; 30: 470~476.
 - 14) Leiman, G. Asbestos bodies in fine needle aspirates of lung masses. *Acta. Cytol.* 1991; 35: 171~174.
 - 15) 神山宣彦. 特集=石綿汚染と疾患, 石綿の鉱物学と曝露の機会および肺内の石綿. *病理と臨床* 1989; 7: 676~685.
-