

【5C-1101】解体現場のアスベストリスクに対応する特異的バイオプローブの創成と迅速検出への応用
(H23～H25；累計予算額 97,730 千円)

黒田 章夫（広島大学）

1. 研究実施体制

(1) 解体現場のアスベストリスクに対応する特異的バイオプローブの創成と迅速検出への応用（広島大学）

【C-1101】解体現場のアスベストリスクに対応する特異的バイオプローブの創成と迅速検出への応用

- ・アスベストを含む建材が約4000万トン(古い建物)
- ・解体現場でアスベスト飛散の可能性

2. 研究開発目的

研究代表者は細胞内タンパク質ライブラリーの中からアスベストに特異的に結合するタンパク質をスクリーニングし、このタンパク質を蛍光物質で修飾することにより、バイオプローブを作成した。この蛍光プローブを用い、フィルター上のアスベストを蛍光顕微鏡でとらえる方法（バイオ蛍光法）を開発した。染色の操作は簡単で、フィルターに数滴のバイオプローブを垂らすだけで前処理が完結する。このフィルターを蛍光顕微鏡で観察すると、アスベスト繊維が光って見えるため、約 30 ナノメートル幅の非常に微細なアスベスト繊維が、低倍率でも明瞭に観察できた。アスベストは蛇紋石系のアスベストであるクリソタイルと、他 5 種類が含まれる角閃石アスベストが存在する。アスベスト結合タンパク質のうち、DksA タンパク質はクリソタイルに特異的で、GatZ タンパク質あるいは HNS タンパク質は角閃石系のアスベストに広く結合した。バイオ蛍光法は、位相差顕微鏡レベルの操作性である程度の確度でアスベストと判定できるので、現場での「迅速簡易検出法」として有望視されている（2010 年 6 月改訂の環境省のアスベストモニタリングマニュアル第 4 版で紹介）。これらのアスベスト結合タンパク質を利用すれば、全種類のアスベストに対応できるが、残念ながら HNS と GatZ がアスベスト以外のケイ酸アルミ繊維、ケイ酸カルシウム（ワラストナイト）、酸化チタンウイスキーとの交差が見られるという課題が残されていた。もしこの点が克服できれば、現場でアスベストと確定できる「迅速検出法」が確立できると考えられた。そこで、HNS と GatZ のアスベストの結合に関与する領域を特定し、その他の無機繊維と結合する領域を取り除くことによって、アスベストに対する特異性が向上したバイオプローブを作成することを目的とした。また、実際のサンプルに対して、光・電子相関顕微鏡による蛍光繊維の分析を行うことによって、バイオプローブの特異性を検証することとした。

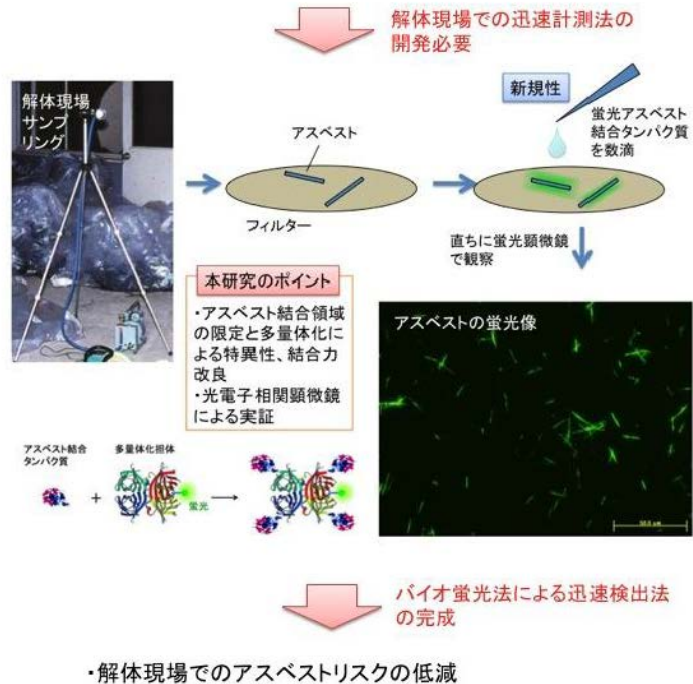


図 研究のイメージ

3. 本研究により得られた主な成果（研究者による記載）

(1) 科学的意義

バイオ蛍光法は、蛍光で修飾したアスベスト結合タンパク質によって、アスベストを蛍光で可視化する世界で初めての技術である。沢山の種類のタンパク質から無機物質に結合するタンパク質を選択し、蛍光で修飾することでバイオイメージングに応用した。バイオイメージングの世界を無機物質の検出に広げたことは、科学的に大きな意義がある（平成 24 年度文部科学大臣表彰科学技術賞受賞）。また、本研究開発によって、初めてアスベスト結合領域をペプチドレベルで特定し、特異性と結合性を実際の現場で利用できるレベルまで向上させることができた。実際、現場のサンプルを使って特異性を評価した結果、誤認識率は 5%、偽陰性率 2%以下でアスベストが問題なく検出できることが実証できた。遺伝子工学、タンパク質工学を駆使して、環境中のアスベスト検査に資するバイオプローブを作成できたことは意義深い。さらに、蛍光顕微鏡で観察できる微細クリソタイルの直径は、30-35nm であることがわかっている。ナノサイズの粒子は、通常の光学顕微鏡では見ることができないくらい小さいが、蛍光でラベルすれば、その存在は可視化できることを実証した。これによりバイオ蛍光法がアスベスト以外にも近年毒性が指摘されているナノ材料の簡便な可視化にも将来応用できる可能性を示したことは科学的に意義が大きい。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

バイオ蛍光法によるアスベスト迅速検出法は、環境省アスベストモニタリングマニュアル第 4 版に記載されている。本研究開発でより信頼性の高いアスベスト迅速計測法が確立できた。

<行政が活用することが見込まれる成果>

アスベストはこれまでの曝露だけでも今後 2030 年前後までに約 10 万人の中皮腫発症を予想する文献も存在する（The New England Journal of Medicine, 353:1591-1603, 2005）。解体現場や瓦礫処理の際のさらなる曝露が重なれば、さらに数十年先までもアスベスト起因性のガン発症の問題を抱えることになる（解体現場のアスベストリスク）。アメリカでは、アスベストは懲罰的損害賠償の対象になるが、日本ではこの賠償はほとんど認められておらず、検査の動機付けにはなっていなかった。そこで 2013 年 6 月、石綿飛散防止強化へ向けて法改正が行われ、届け出がなくともアスベスト飛散の恐れがある場合に自治体が立ち入りできる様になった。しかし、現在の大気アスベスト検出の公定法は時間がかかること、提案されている偏光顕微鏡法は複雑な方法であり、且つ微細アスベスト等を見逃してしまう等の問題があり、立ち入り検査の際に利用できる簡易迅速検査法が確立されていなかった。

本方法は、暗視野の中でアスベスト繊維が特異的に光っているために、直ちに微細アスベストも検出できる等の利点がある（推進費の中間評価で S 評価）。平成 25 年 10 月 23 日、第 10 回中央環境審議会石綿飛散防止専門委員会の資料中で、簡便で迅速な蛍光法の普及を期待する旨が記述されている。

民間の検査会社では、方法論が優れているだけでは技術の普及に至らない。特にアスベストなど社会的な問題が大きい場合には、公的な機関の積極的な評価や自治体・民間への周知が必要となる。

4. 委員の指摘及び提言概要

研究の企画段階で想定されていた技術上の利点を十分に説得性のある結果で示すことができた。現在問題となっている、アスベストの迅速な測定法を、従来とは全く異なる手法で開発したことの意義は大きい。独創的な研究を進めてきており、環境行政への貢献も期待できる。中間評

価で指摘された実用化についても十分に検討され、申し分ない。今後はこの手法の普及に向けての活動を期待する。ただし、公定法によるアスベスト検査との比較の検証方法について検討することが必要であろう。

5. 評点

総合評点：S