

生体内繊維状物質の高感度・多元的検出と ばく露レベルに関する研究

篠原 也寸志^{*1}

分析透過型電子顕微鏡による肺内石綿繊維計測を、現在の電子顕微鏡の特性を活用し効率的に、短繊維まで検出する手法の検討を行った。その中で、試料作製法におけるシュウ酸処理の導入が有効であった。他の検査結果からはばく露量の推定が困難な場合であっても、分析透過型電子顕微鏡分析によって、肺内から比較的細く短い石綿繊維が高濃度で検出できることが確認できた。

キーワード: 石綿繊維, 肺内石綿分析, 組織消化法, 分析透過型電子顕微鏡

1 はじめに

アスベスト等の繊維状物質へのばく露を原因とする肺がんなどによる健康被害の拡大が社会的関心を集めている。平成18年には、労働者災害補償に係る石綿による肺がん認定基準「石綿による疾病の認定基準について」が改められ、同年には石綿健康被害救済法が施行されたことに伴い、肺内アスベスト量の分析・評価が行われることとなった。肺内に存在するアスベスト関連物質には石綿小体と石綿繊維があり、石綿小体については、光学(位相差)顕微鏡による計測が可能であるため、国内の拠点労災病院等において検査が実施されている状況にある。一方、石綿繊維については、微小部化学分析が可能な分析電子顕微鏡による計測が必要なため、国内で実施可能な機関は限られている状況にある。また、角閃石系石綿繊維の肺内濃度とばく露レベルには一定の関係があるが、細く短いクリソタイル量などに関しては不明な点が多く、現状の計測法によるばく露レベル評価は完全でないと言われている。電子顕微鏡による肺内石綿繊維計測でも評価が困難とされるクリソタイルその他の石綿繊維を効率的に検出する手法を確立し、肺内アスベスト量とばく露レベルとの関係を検討することが実務的な面からも要請されている。

電子顕微鏡による肺内石綿繊維の計測は1970年代から始まり、エネルギー分散型X線分析装置(EDS)を装着した透過型電子顕微鏡(TEM)または走査型電子顕微鏡(SEM)が使用されてきた。TEMによる計測法が細く短い繊維の検出と同定に優れているため、これを使うことが普通である。過去にはTEMに装着したSEMあるいはSTEM(走査型透過電子顕微鏡)ユニットを併用したことがある。当時の加速電圧100kVクラスのTEMでは、EDS分析を行う際に電子線を数10nm程度まで細く絞る

のが困難な場合があり、SEMあるいはSTEMのように電子線を細く収束できる機能が有用であったと考えられる。しかし最近の装置性能からみると、STEM機能等を併用する利点は少ないと考えられる。

TEMによる分析は、最高加速電圧が100kV前後の装置の使用が多かったが、最近では加速電圧200kVの装置の使用も増えている。加速電圧が低いと、像コントラストの低いクリソタイル繊維でも蛍光板上で明瞭に観察できるとされてきたが、最近ではCCDカメラで像観察を行うことも可能である。CCD画像是蛍光板上で観察する像に比べ、高コントラスト側の階調表現が劣るが、200kVの加速電圧でも低コントラスト像の観察が容易であり、デジタル画像データとして取得できるため記録性にも優れている。これら装置性能の発達に負うところは本研究の直接の目的ではないが、これら機能を有効に利用することで効率的な計測が達成できるものと考えられる。

本研究では分析透過型電子顕微鏡による肺内石綿繊維計測で、評価が困難とされるクリソタイルその他の短繊維石綿繊維を効率的に検出する手法を確立することを第一の目的とし、以下の3項目に関する検討を行った。まず、電子顕微鏡試料の作製条件の見直しを行い、細く短い繊維の検出性能の向上を図った。次いで、この方法による肺内石綿繊維の計測を行い、検出精度の妥当性を石綿小体計測結果と比較して確認すると共に、石綿小体計測による評価が困難な事例において検出される石綿繊維の特徴を検討した。更に、個々の繊維状粒子の形状・構造・組成変化に関する分析を行い、生体内での繊維状物質の経時変化の特徴を抽出することを目指した。本稿では、一定の成果が得られた、最初の2項目に関する結果をとりまとめたが、その概要は以下の点である。

計測標本の作製方法は研究目的に応じて様々の提案がなされたが、TEM装置の性能向上に対してみると、計測の妨げとなる有機残さ物質の除去が必要と考えられ、シュウ酸処理による有機残さ物中の鉄の除去と低温灰化による脱鉄後の有機残さの灰化が有効とわかった。

石綿小体数からでは、高濃度ばく露が推定できない事

*1 労働安全衛生総合研究所環境計測管理研究グループ。

連絡先: 〒214-8585 神奈川県川崎市多摩区長尾 6-21-1

労働安全衛生総合研究所環境計測管理研究グループ 篠原也寸志^{*1}

E-mail: shinohara@h.jniosh.go.jp

例でも、細く短いクロシドライトが多数存在し、石綿繊維数から高濃度ばく露が推定できる場合がしばしば認められ、TEM法による繊維計測による評価が重要であると考えられた。また、繊維長が5 μ mを超えるような長い石綿繊維のみを対象とする計測では、肺内石綿繊維数の評価が不十分となる可能性が考えられた。

2 生体組織消化法の概要

石綿繊維は1本のサイズが極めて小さく、肺組織の切片試料で検出するのは効率的でないため、肺内に存在する石綿繊維の定量的分析では、一定量の肺組織を化学的に分解または灰化するなどの組織消化を行った後の残さを試料として取り扱う。ちなみに、長さ20 μ m、直径0.5 μ mの角閃石系石綿繊維(比重3.4)が1億本存在する場合で、その重量は1.3mg程度である。

今日までに様々な組織消化法が提案され利用されているが、その中で多くの研究者が基本として採用しているのは、Smith-Naylorの方法¹⁾である。Smith-Naylor法は以下に示す手順のように、次亜塩素酸ナトリウムを含む溶液で化学的に組織を分解させる湿式消化法の代表的なものである。

試料の採取・秤量

- ① 肺実質約5gを採取する。乾燥組織は使用せず、試料量は5gより多くても少なくともかまわないが、気管支・細気管支・大きな血管・硬化した部分を含まないようにする。
- ② 組織重量を秤量し、記録する。

湿式組織消化処理

- ③ 消化の進行を速めるため、組織を細切する。
- ④ ガラス容器に移し、漂白液(5.25%の次亜塩素酸ソーダを含む洗剤)を試料5gあたり200mlの割合で加える。
- ⑤ 全ての組織が溶解し容器の底に沈殿するまで放置する。24~72時間を要するが肺組織の線維化の程度により長時間を要する。24時間で溶解が終わらない場合は、上澄み液を捨て、漂白液を追加する。組織消化が完了するまで、24時間ごとにこの操作を繰り返す。痰試料の場合は約2時間で完了する。

消化残さ物の回収

- ⑥ 沈殿残さを失わないよう注意して、上澄み液をできるだけ捨てる。
- ⑦ クロロホルム20mlを加え、攪拌して容器の側壁を洗う。50%エタノール20mlを加える。
- ⑧ 激しく振とうし、残さを懸濁させる。
- ⑨ 40mlの遠沈管を使い、600~800回転で10分間遠心分離を行う。
- ⑩ 遠心分離後、遠沈管内の液は3層に分かれる。最上層はアルコールの層、真ん中は黒色の層で炭質物が濃集し、最下層はクロロホルムである(痰の場合は中心層が薄い白色の層となる)。

⑪ 上澄み液を捨てる。遠沈管底の沈殿残さが黒、灰色、金色に見える場合はこれらの沈殿物が肉眼で確認できなくなるまで、⑦-⑩の操作を繰り返す。観察試料の回収

⑫ 沈殿残さを95%エタノールに懸濁させ、メンブランフィルターにろ過する。

以上の消化法を基本として、研究者により方法を異にする点として、1)組織重量の秤量方法、2)消化方法、3)組織消化後の繊維状物質(残さ物質)の回収(分離)方法が挙げられる。また、電子顕微鏡観察試料の作製においては、4)回収試料を電顕試料に転換する方法、が挙げられる。

1) 組織重量の秤量法

組織中の石綿繊維数濃度は、組織乾燥重量1gあたりの本数で報告されるのが標準となっている。湿重量1gあたりの本数で示されている場合は、秤量値が不安定なため、相互比較が難しい点に注意する必要がある。秤量方法として、消化処理に先立ち乾燥させた試料の秤量を行うのが直接的であるが、乾燥後の試料は消化困難となりやすい、乾燥による収縮で石綿小体等が細片化することを防ぐ、などの理由で次のような別法で対処する場合がある。簡便法として、事前に多数の組織検体で得た、湿重量と乾燥重量の比(湿乾比の平均値)を換算係数として使用する方法がある。経験的には検体による湿乾比の変動が大きいため、特定の換算計数の使用は適当でないと考えられる。2分法は、消化試料を2分し、一方で湿乾比を求め、もう一方は湿潤状態から消化処理を行い、最後に湿乾比から換算する方法である。直接法は、細切した試料を110℃程度で乾燥し乾燥重量を秤量した後に、消化する方法である。乾燥前に、試料を細切することで消化困難、細片化の影響を最小限にできると考えられる。

2) 消化方法

組織消化の方法は、湿式法と乾式法に分けることができる。湿式法で使用するのは、次亜塩素酸ナトリウムを含む漂白液、水酸化カリウムなどのアルカリ溶液である。乾式法では、酸素プラズマによる低温灰化処理を行うのが一般的である。湿式法を利用する研究者が多く、化学的に有機物を主とする組織を溶解することで、鉍物性粉じん等の無機物質からなる残さを濃縮することができる。乾式法の場合は、鉄分を伴う有機組織の燃焼が進みにくい点、未燃焼組織と無機残さが塊状の残さ物として残りやすい場合がある。鉄分を伴う有機組織は湿式法でも分解しにくい点は共通するが、乾式法ほど著しく塊状に収縮凝集することは少ないと考えられる。

3) 組織消化後の繊維状物質(残さ物質)の回収(分離)方法

組織中に含まれる炭質物を鉍物性残さ物と分離するため、クロロホルム、エタノールによる抽出処理を行う、残さ物分離時にろ過効率を低下させる未消化有機物を低減させるためシュウ酸等をろ液に添加する、などの処理を行う場合がある。これらの処理の必要性は、検体ごと

に異なるため、ルーチン的に行うべきかは検討が必要と思われる。

4) 消化残さ物の回収と電顕試料への転換法

電子顕微鏡による石綿繊維の計数法として、走査型電子顕微鏡 (SEM) を使用する場合と透過型電子顕微鏡 (TEM) を使用する場合は、観察試料の作製法が異なる。SEM試料の場合は、使用するフィルター種類に関する制限が少ないため、ここでの検討は省略する。TEMによる観察の場合は、試料を透過した電子線を結像させて観察するため、電子線が透過しないフィルターを除去し、電子線が透過するカーボン膜のような薄膜上に試料を転換することが必要となる。このための代表的な方法として、フィルター溶解法とPVA膜転写法がある。

フィルター溶解法では、ポリカーボネート製メンブランフィルターが多用される。残さ物を捕集したフィルターにカーボン蒸着を施し、形成されたカーボン膜中に残さ物を捕捉する。このフィルターごとTEM観察用グリッドの上に置き、フィルターをクロロホルムで溶解し、残ったカーボン膜をTEM観察用グリッドに移す方法である。少数例であるが、セルロース製メンブランフィルターに捕集し同様の処置を行い、アセトンでフィルターを溶解させる方法もある。

PVA膜転写法は、セルロース製メンブランフィルターを低温灰化処理により燃焼除去した後、PVA水溶液で残さ物を覆い、乾燥後のPVA薄膜に残差物を転写した後、カーボン蒸着を行い、PVA膜上に形成されたカーボン膜中に残さ物を捕捉させ、PVA膜を温湯で溶解し、残ったカーボン膜をTEM観察用グリッドに移す方法である。

フィルター溶解法の長所として、TEM観察試料作製までの手数が少ない点が挙げられる。欠点として、ポリカーボネートフィルターを使用した場合に、フィルター構造 (孔隙の輪郭) が背景として残り、観察の妨げとなること、使用する有機溶剤の種類によってフィルターの溶解が不完全となり、溶剤を含めてグリッドに付着すること、が挙げられる。一方、PVA膜転写法の長所は、観察試料に背景構造が生じず、有機溶剤付着が無い点であるが、試料作製までの手数が多く複雑となる欠点が挙げられる。

3 生体組織消化法の検討

前節で概観した試料作製法にはそれぞれ一長一短があるため、目的に応じた選択が必要となる。労災補償等の目的で肺内アスベスト量の評価を行う場合でみると、肺内に高濃度のアスベストが残存する場合は、石綿小体計測で確認できる事が多いため、ATEM分析では低濃度に近い領域の試料分析を行うことが普通となっている。このため、石綿小体分析との整合性、乾燥組織1gあたり数100万本レベルの繊維長1 μ mを超える石綿繊維の定量的検出を行うためには、次の神山-鈴木の方法²⁾が適当と判断した。

この方法を採用し検討する中で改良を要すると考えられたのは、組織消化後の残さに未分解の肺組織が残留す

る点であった。残留しやすい肺組織は鉄分を伴い、同法の消化処理 (以下の②) を繰り返しても分解が進まないため、シュウ酸による脱鉄処理を追加することとした。神山-鈴木の方法を元に、シュウ酸処理を加えた試料作製手順は、以下のようになる。

- ① 約1cm³の組織を使用し、湿重量と乾燥重量 (110°Cのオープンで数時間乾燥) を秤量する。
- ② 乾燥組織に実験用洗浄剤 (クリーン99-K200、30%の次亜塩素酸ナトリウムと4%の水酸化カリウム、陰イオン界面活性剤を含む) を加え、60°Cで3~6時間消化処理を行う。
- ③ 組織消化後の溶液を遠心分離処理し (11000回転、30分間)、上澄みを棄却する。
- ④ 蒸留水による洗浄と遠心分離処理を3回繰り返した後、超音波処理による分散処理を短時間行った後、蒸留水で正確に50mlに定容する。
- ⑤ 定容検液の一部 (~5ml) を混合セルロースメンブランフィルター (0.45 μ m孔径) でろ過する。
- ⑥ シュウ酸処理を行う場合は、ろ過に先立ち、分取した定容検液に0.25Mシュウ酸水溶液を25ml加え、40°Cの恒温槽に1時間置いた後、フィルターにろ過する。
- ⑦ フィルターが乾燥したら、ろ過面を下側にしアセトン蒸気でスライドグラスに固定する。
- ⑧ フィルターを固定したスライドを酸素プラズマ低温灰化装置で処理し (高周波出力150Wで2~3時間)、フィルターを灰化する。
- ⑨ スライドグラスの灰化残さの周囲を、セロファンテープで枠取りをする。
- ⑩ 枠取りした部分を、約2mlの8%PVA水溶液で覆い、室温で乾燥させる。
- ⑪ テープごとPVA膜をスライドグラスから剥離し、反転してスライドグラスにテープで固定する。
- ⑫ PVA膜上にカーボン蒸着を厚く施した後、温수에浮かべ、数時間をかけてPVAを溶解させる。
- ⑬ 200メッシュの電顕グリッド (Ni) に、浮遊する (粒子を保持した) カーボン膜をすくい上げる。

組織消化法においてシュウ酸を使用した報告は過去にも存在するが、ここで行った方法の特徴は、シュウ酸処理により肺組織に伴う鉄分を除去するだけでなく、引き続き低温灰化処理を行うことにより、肺組織を灰化しやすくした点にある。これにより、残さとして残る肺組織の多くを除去できるようになった³⁾。なお留意点として、シュウ酸処理を過剰に行うと、石綿小体を構成するタンパク物質まで分解される点が挙げられる。

4 分析透過型電子顕微鏡による石綿繊維の分析

石綿繊維は6種類に区分されるが、商業的に多用されたのは、クリソタイル (白石綿)、クロシドライト (青石綿)、アモサイト (茶石綿) である。クリソタイルは

紡織製品を始め、パッキング、建材等多くの石綿製品に使用された。クロシドライトは吹付材、石綿水道管等に、アモサイトは断熱材、建材等で使用された。この他に繊維状のトレモライト、アクチノライト、アモサイトがありトレモライトとアクチノライト繊維はクリソタイルに伴うことが多いとされる。分析透過型電子顕微(ATEM)は、これら石綿繊維の種類を判定まで行えるため、可能な限り微細な繊維まで検出を行うことで、ばく露評価に寄与することが期待される。

(1) 高濃度の肺内石綿小体が検出される事例の石綿繊維分析

肺内石綿小体数から高濃度ばく露が推定できるレベルは、乾燥組織1gあたり5000本以上とされ、同1000本未満は一般的なばく露レベルでも検出される量とされている。一方、石綿繊維に関しては、高濃度ばく露が推定できるレベルとして、繊維長5μmを超える石綿繊維で200万本以上、1μmを超える石綿繊維で500万本以上が妥当と考えられている。

そこで、石綿小体数が乾燥組織1gあたり5000本前後を超える計測例について、その石綿繊維数をATEMで計測した結果を次表に示した。

表 石綿小体数5000本レベルを超える事例の石綿繊維数濃度

事例番号	石綿繊維数 (100万本/g乾燥組織)			石綿小体数 (万本/g乾燥組織)	
	>5μm 繊維長	>1μm 繊維長	検出下 限值	石綿小 体	検出下限 値
A*	19.9	107.2	1.99	43.2	0.16
B*	6.63	48.9	0.83	14.7	0.06
C*	2.61	6.90	0.15	1.4	0.02
D**	8.52	19.2	0.43	0.94	0.03
E**	2.11	4.99	0.11	0.45	0.008

*参考文献4) **参考文献5)

この結果からみると、本分析法では、石綿小体数が5000本を超える場合、繊維長5μmを超える石綿繊維で200万本以上、1μmを超える石綿繊維で500万本以上が計数できるものと判断される。この5例で検出された石綿繊維は、クロシドライト・アモサイトが主である場合が多かったが、事例Cではアモサイトが主な石綿繊維で他例とは異なっていた。

(2) 肺内石綿小体数が5000本(1g乾燥組織あたり)未満事例の石綿繊維分析

石綿小体計測の結果が、乾燥組織1gあたり最大約3000本までであった例について、石綿繊維計測を行った結果をまとめると以下ようになる⁶⁾。

肺内石綿小体数が1000本に満たない例で、石綿繊維数から高濃度ばく露が推定できる例はこれまでになかつ

た。石綿小体数が1000~3000本台の事例中には、石綿繊維数からみて高濃度ばく露が推定された例があった。これらは全て繊維長1μm超の石綿繊維数で500万本を越えていた場合であり、5μm超の繊維数でみると200万本には達していなかった。

高濃度ばく露が推定された例で検出された石綿繊維は、クロシドライトあるいはクリソタイルであることが多く、これら単独または両者の合計で総石綿繊維の半数を超えていた。アモサイトは繊維長5μmを超える石綿繊維数に占める割合は60%程度にまで達する場合があるが、総石綿繊維数に占める構成比率は平均すると10%未満で低かった。トレモライト・アクチノライト繊維が主たる石綿繊維として検出される例もまれにあった。

一方、石綿小体の核となる繊維の種類でみると、アモサイトである場合が圧倒的多数であり、石綿小体を形成する石綿繊維の種類あるいはサイズが偏っていることが示唆された。従来から、クリソタイルは石綿小体を形成しにくい石綿繊維と言われていたが、以上の知見より、細く短いクロシドライトが多数存在する場合も、これらクロシドライトを核とする石綿小体が形成されにくいことが推測される。その様な場合には、石綿小体計測による評価は不十分となりやすく、ATEM法による繊維計測による評価が重要であると考えられる。また、繊維長が5μmを超える石綿繊維のみを対象とする計測では、肺内石綿繊維数の評価が不十分となる可能性が示唆された。

参 考 文 献

- 1) Smith MJ Naylor B. A method for extracting ferruginous bodies from sputum and pulmonary tissues. Am J Clin Pathol 1972; 58: 250-254.
- 2) Kohyama N Suzuki Y : Analysis of asbestos fibers in lung parenchyma pleural plaques and mesothelioma tissues of North American insulation workers. Annal New York Acad Sci 1991; 643 27-52..
- 3) 篠原也寸志. 石綿繊維の電顕計測試料作製時のシュウ酸処理の検討. 2008; 第15回石綿・中皮腫研究会抄録集 21.
- 4) 森永謙二 神山宣彦 篠原也寸志 高田礼子. 石綿小体等の計測の精度管理等に係る分科会報告. 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報告書. 労働安全衛生総合研究所; 2008: 45-55.
- 5) 篠原也寸志 神山宣彦. 良性石綿胸水症例の肺内石綿繊維の計測分析. 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報告書. 労働者健康福祉機構; 2009: 45-52.
- 6) 篠原也寸志. 肺内石綿小体と繊維の意義について. 2008; 日本職業・災害医学会誌 56 (臨時増刊号) : 50.

研究業績リスト

課題名：生体内繊維状物質の高感度・多元的検出とばく露レベルに関する研究

平成22年度(2010年)		
1	国内外の研究集会発表	篠原也寸志(2010) 石綿小体・石綿繊維による石綿ばく露評価, 第58回日本職業・災害医学会学術大会, 日本職業・災害医学会誌 58 (臨時増刊号), 別88.
2	国内外の研究集会発表	篠原也寸志(2010) 肺内で検出されるクリソタイル繊維とそれに関連する繊維状鉱物の形状的特徴, 第17回石綿・中皮腫研究会, プログラム, p14.
3	著書・単行本	Kenji Morinaga, Yasushi Shinohara (2011) Asbestos pollution and its health effects: Asbestos-related diseases in Japan, In Asbestos diseases: Lessons from Japan's experience(K. Miyamoto et al. (eds), 55-73, Springer.
平成21年度(2009年)		
1	国内外の研究集会発表	篠原也寸志(2009)変質したクリソタイル繊維の特徴とTEMによる検出について, 第16回石綿・中皮腫研究会, 抄録集, 7.
2	総説ほか(査読有無問わず)	廣島健三, 由佐俊和, 篠原也寸志(2009)石綿曝露の病理学的評価, 肺癌 49 (1), 48-57.
3	総説ほか(査読有無問わず)	森永謙二, 篠原也寸志(2010)アスベストの健康影響ー日本における石綿関連疾患, 医学のあゆみ, 232, 940-946
4	報告書	篠原也寸志, 菅野誠一郎(2010)石綿小体に関する計測例の収集事業報告書, 56p, 労働安全衛生総合研究所
平成20年度(2008年)		
1	国内外の研究集会発表	篠原也寸志(2008)肺内石綿小体と繊維の意義について, 第56回日本職業・災害医学会学術大会, 日本職業・災害医学会誌, 56 (臨時増刊号), p50.
2	国内外の研究集会発表	篠原也寸志(2008)石綿繊維の電顕計測試料作製時のシュウ酸処理の検討, 第15回石綿・中皮種研究会, 抄録集, p21.
3	国内外の研究集会発表	大西一男, 出射由香, 松本省二, 釜田里江, 篠原也寸志(2008)分散染色分析法による肺内石綿繊維同定の限界と問題点. 第56回日本職業・災害医学会学術大会, 日本職業・災害医学会誌, 56 (臨時増刊号), p109.
4	研究所出版物	篠原也寸志(2008)生体内繊維状物質の高感度・多元的検出とばく露レベルに関する研究, 労働安全衛生総合研究所プロジェクト研究報告, p229-238.
5	著書・単行本	由佐俊和, 廣島健三, 篠原也寸志(2008) (中皮腫事例2)尼崎市に居住歴のある男性に発症した悪性胸膜中皮腫, (増補新装版)石綿ばく露と石綿関連疾患(森永謙二編), p 289-292, 東京, 三信図書
6	報告書	篠原也寸志, 神山宣彦(2009)良性石綿胸水症例の肺内石綿繊維の計測分析. 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報告書, p45-52, 労働者健康福祉機構
平成19年度(2007年)		
1	国内外の研究集会発表	篠原也寸志, 守屋康充, 由佐俊和, 安川 朋久, 宗知子, 廣島 健三, 岸本充, 森永 謙二, 神山宣彦(2007)尼崎市に居住歴があり悪性胸膜中皮腫を発症した男性の肺内石綿濃度, 第14回石綿・中皮腫研究会, 講演抄録集, p5.
2	総説ほか(査読有無問わず)	篠原也寸志, 森永謙二 (2007) アスベストによる労働災害とその対策, セイフティエンジニアリング 145, 13-18.
3	報告書	森永謙二, 神山宣彦, 篠原也寸志, 高田礼子(2008)石綿小体等の計測の精度管理等に係る分科会報告, 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報告書(平成19年度厚生労働省委託研究), p45-55,労働安全衛生総合研究所
4	報告書	篠原也寸志(2008)石綿繊維 非被覆繊維), 平成19年度石綿関連疾患に係る文献調査委託業務報告書(平成19年度環境省委託業務報告書), p58-66, JFEテクニサーチ株式会社