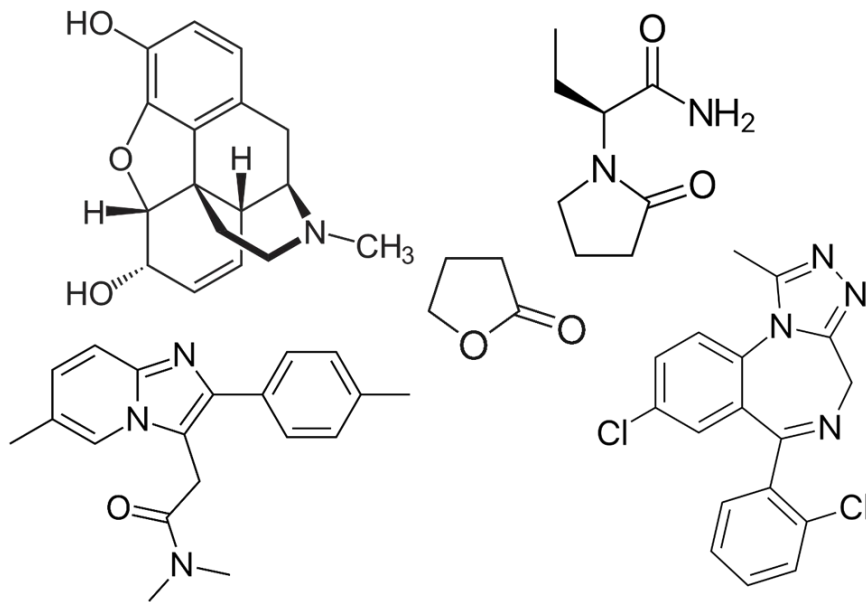


基盤研究機関

薬毒物探索解析研究所

2019 年度年報



福岡大学

令和2年3月

福岡大学薬毒物探索解析研究所

Fukuoka University Research Institute for Toxicological Detection and Monitoring
(FUTOX)

【研究所の設置目的】

本研究所は、中毒学に関する基礎的、臨床的研究を目的とする。薬物分析法の改良・新たな分析法の開発では、迅速かつ網羅的に薬毒物を分析可能にする技術の開発、薬物履歴診断のための毛髪中薬物の検出法の確立、また、アルコールに代わる飲酒マーカーの開発に取り組む。さらに、中毒発症に関わる遺伝的背景の解明、生物学的マーカー探索を行い、中毒の診断、治療、予防を目指す。薬物による自殺・乱用に関する研究では、実際の患者が使用した薬物を特定したうえで、患者背景を分析・研究し、自殺・乱用への対策を提案する。

【研究者および研究組織】

久保研究班

- 久保 真一 : 福岡大学・医学部・法医学教室・教授
柏木 正之 : 福岡大学・医学部・法医学教室・准教授
原 健二 : 福岡大学・医学部・法医学教室・講師
松末 綾 : 福岡大学・医学部・法医学教室・講師
Brian Waters : 福岡大学・医学部・法医学教室・助教
高山 みお : 福岡大学・医学部・法医学教室・助教 (令和元年 8 月末まで)
工藤 恵子 : 久留米大学・医学部・法医学教室・客員准教授
(令和元年 5 月より)

川崎研究班

- 川崎 弘詔 : 福岡大学・医学部・精神医学教室・教授
衛藤 暢明 : 福岡大学・医学部・精神医学教室・准教授
後藤 玲央 : 福岡大学・医学部・精神医学教室・助教

池松研究班

- 池松 和哉 : 長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・法医学分野・教授
山本 琢磨 : 兵庫医科大学・医学部・法医学教室・准教授
梅原 敬弘 : 長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・法医学分野・助教

久保研究班

1. 研究概要

1) 薬物スクリーニングのための試料調製に関する研究

法医解剖試料、臨床領域における中毒分析試料などから、薬物スクリーニングを行うため、試料調製は重要である。法医解剖試料では、死後変化などが加わり、試料調製が複雑である。また、臨床領域における中毒分析では、迅速な結果が求められる。このような状況の中、正確かつ迅速な薬物スクリーニングの結果を得るため、より良い試料調製法の開発に関する研究を行う。

2) 液体クロマトグラフ質量分析計による薬物分析システムの構築に関する研究

液体クロマトグラフ質量分析では m/z (質量電荷数比) によりターゲット化合物を特定する。薬物分析の実際では、薬物、化合物に関する m/z のデータベースと照合することになる。しかし、定性、定量分析のためには、内部標準物質、標準物質による確認が重要である。本研究は、内部標準物質を用いることで、標準物質を所有していない場合でも、定量的に測定できる分析システムを構築することである。

3) 毛髪からの向精神薬の分析法の開発に関する研究

向精神薬は、性犯罪の際に、被害者の行為能力を奪う目的で使用されることからデートレイプドラッグ (Date Rape Drug; DRD) と呼ばれる。性犯罪の証明のためには、毛髪からの DRD の証明は重要である。しかし、毛髪からの向精神薬の分析は、覚せい剤等の乱用薬物と異なり、使用される量も少ないことから、極めて困難である。そのために、毛髪からの向精神薬の分析は、高感度の分析機器が必要である。本研究は、毛髪からの標的薬物の抽出方法の改良することで、汎用分析器でも有効な分析法を開発することを目的とする。

4) 死因、病態究明を目的としたバイオマーカー探索に関する研究

生体内で生じる化学成分の大部分は、血液中を循環し、体内に分布されるが、肝臓で代謝され、尿中に排泄される。たとえば、腎臓に障害があれば、化学成分の血液中濃度、尿中濃度に異常がみられる。本研究では、法医解剖試料の薬物スクリーニングの時に検出される生体由来の化学成分の血液、尿、体組織中の濃度を測定することで、臓器障害のバイオマーカーを探索する。

5) アルコールを補完する飲酒マーカー探索に関する研究

飲酒運転でひき逃げし、事故後数時間を経過して身柄を拘束される場合、エタノール (EtOH) が検出されない限り、飲酒を証明することはできない。EtOH が体外に排泄された後においても、検出できる EtOH を補完する新たな飲酒マーカーを探索する。

2. 研究成果

1) 薬物スクリーニングのための試料調製に関する研究

【はじめに】

我々は剖検組織からの薬物スクリーニングのために、イオン交換・ポリマーミックスモード固相抽出カラムを使った試料調製法を開発している。試料調製のコンセプトは、GC-MS (/MS)、LC-MS/MS の両測定に使える試料を調製することにある。

2017 年度は、イオン交換・ポリマーミックスモード固相抽出カラムを使った試料調製法の条件をほぼ確立した。

2018 年度は、GC-MS 測定の再現性の改良に取り組んだ。アセトニトリル抽出した液に酢酸を添加して、数種のカートリッジを検討したところ、弱陽イオン交換と強陰イオン交換を使用すると、酸性から塩基性化合物までの広範な化合物を GC-MS により、明瞭に検出することができた。

2019 年度は、法医剖検診断におけるバイオマーカー研究のための尿試料の前処理法を検討した。我々は、バイオマーカーとして、親水性の糖由来成分、アミノ酸代謝物を GC-MS で分析している。尿試料からの GC-MS 分析では、試料処理段階で、脱水剤による再現性の低下が問題である。そこで、脱水剤を使用しない、イオン交換抽出カラムによる簡素な試料処理法を検討し、併せて薬物スクリーニングへの応用を検討した。また、ISOLUTE CBA、Strata SAX の 2 種類のカラムを検討した。

【試薬・方法】

試薬：フェニルアセチルグルタミン(PAG-d5)、カフェイン-d3 等の内部標準物質(IS)液他を用いた。

試料調製：尿 0.1 mL、脱イオン水 0.3 mL、IS 液、ウレアーゼ水溶液 0.04 mL を混ぜ、30 分後、アセトニトリル 2 mL、酢酸 0.05 mL を混ぜ、抽出カラムに通液、続いてアセトニトリル 2 mL とアンモニア水 0.1 mL (CBA) または 2M 塩酸 0.1mL (SAX) の混合液を流し、酢酸 0.3mL を入れたガラス試験管に、通過液を採取した。窒素気流下で濃縮乾涸した。残渣をメタノール/酢酸プロピル(5/1)に溶解し、GC-MS で測定した。

測定条件：カラム：ZB-SemiVolatiles/BPX5 タンデムカラム、オープン温度 80°C から調整した。

【結果・考察】

CBA と SAX のいずれのカラムにおいても、広範囲の化合物を検出することができた。さらに、CBA では、SAX では検出されない食物、酒類に関連する糖由来成分、フェノール系成分が検出された。イオン交換抽出カラムを使用すると、ウレアーゼ処理、濃縮

乾涸に時間を要するが、操作が簡単である。剖検試料では、脂肪酸、コレステロール、アミノ酸が検出されたが、酢酸を比較的大量に加えることで、薬物検出の障害を抑制することが可能となった。

2) 液体クロマトグラフ質量分析計による薬物分析システムの構築に関する研究【はじめに】

液体クロマトグラフ質量分析では、 m/z のデータベースで、化合物を特定する。本研究は、内部標準物質を用い、より広い範囲の多くの薬物を、標準物質を所有していない場合でも、定量的に測定できる分析システムを構築することである。

さらには、内部標準となる化合物の数、種類を選定し、より多くの化合物を検出できるようにすることである。

なお、本研究は、島津製作所との共同研究として実施している。

【研究経過】

現在、分子量、保持時間（リテンションタイム）等を考慮し、まず、ジアゼパム-d5、フェノバルビタール-d5 の 2 種類の重水素標識体を内部標準として、様々な化合物とともに、液体クロマトグラフ質量分析を実施している。今後、内部標準の種類と数を増やし、分析システムの構築を目指す。

3) 毛髪からの向精神薬の分析法の開発に関する研究

【はじめに】

薬物が犯罪に使用された場合、その薬物を特定するために、被害者の血液、尿からの薬物分析が行われる。しかし、薬物が代謝、排泄されてしまった場合、例えば、薬物が使用されてから数日以上経過した場合、血液や尿からの検出は不可能となる。過去の薬物の使用を確認する試料として、毛髪は、乱用薬物、例えば覚せい剤の過去の使用歴の証明に用いられてきた。

デートレイプドラッグ（Date Rape Drug; DRD）は、アルコール飲料等に混入させ、服用した相手の意識や抵抗力を奪って性的暴行に及ぶ目的で使われる睡眠薬や抗不安薬である。福岡市は、性犯罪の発生件数が、全国第 2 位で、DRD が使用された事件も多数発生している。2016 年から 18 年の 3 年間の、福岡大学医学部法医学教室における DRD の分析件数は 10 件であった。

毛髪からの DRD の検出における課題は、覚せい剤等の乱用薬物と違い、DRD は薬物として少ない量（例、エチゾラムでは 0.5mg 程度）を、単回使用したことを証明することにある。この課題を解決するために、性犯罪の際に使用される DRD の検出、毛髪からの DRD の検出法の確立に取り組んでいる。

【材料・方法】

試料：医師が、右頭頂部、左頭頂部、右後頭部、左後頭部の4ヵ所から、頭髪100本を採取し、「試料採取シート」に貼り付ける。

前処理：毛髪80本を、部位別に一本ずつ、頭皮側の切断部を0cmとし、30cmまで貼り付けて、毛髪の長さを測定する。

毛髪の裁断・洗浄：頭皮側の切断部から1.5cmまたは1.0cm間隔で切断し、同じ距離の部分にまとめ、それぞれ2mLの遠心管に入れる。遠心管内の毛髪を0.1%ラウリル硫酸ナトリウム溶液(1回)、蒸留水(3回)、蒸留水/エタノール(1回)、エタノール(1回)の順で洗浄し、室温で一昼夜かけて乾燥する。

試料の調製：遠心管にステンレスビーズを8個入れて、ビーズクラッシャー(BC)により、4800rpm、5分間、毛髪を潰す。その後、3Mリン酸アンモニウムバッファ(pH8.3)0.2mL、内部標準物質(対象薬物の重水素標識体)を2ng(メタノール溶液10μl)を入れる。蓋を閉めた後、BCにより、3200rpmで1分間混和する。さらに、3Mリン酸アンモニウムバッファ0.1mLを加え、混和する。2時間後、アセトニトリル0.2mLを加え、BCで3200rpmで1分間混和し、遠心して、上清を得る。この操作を3回繰り返す。この上清をCaptivaNDLipidsチューブ(3mL)に移し、遠心して、ろ液をガラス試験管に採取する。このろ液を窒素気流(60°C)で濃縮乾固する。試料残渣を0.1%ギ酸溶液に溶かし、LC-MS/MS分析する。

DRD薬物の検出：選択反応モニタリング(SRM)とプロダクトイオンスペクトルの解析の組み合わせにより行う。薬物濃度は、内部標準物質とのピーク面積比から求める(図1)。

図1. DRD・ゾルピデムのクロマトグラフ例

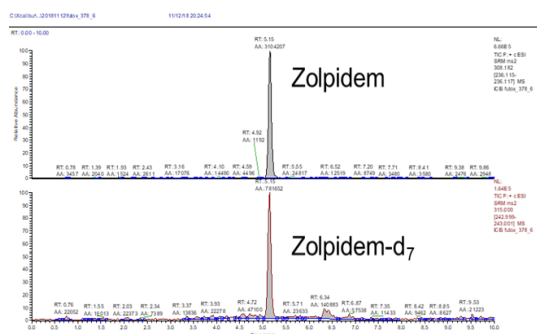
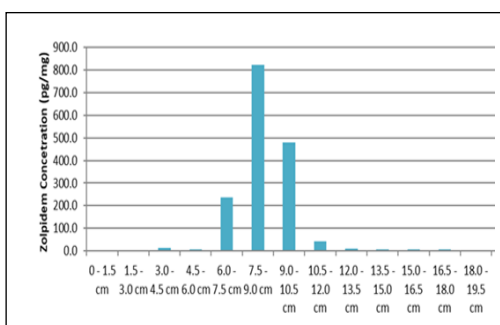


図2. 毛髪中のDRD・ゾルピデムの分布



【結果・考察】

毛髪からのゾルピデムの分析例を図2に示す。毛髪に1つのピークを形成するゾルピデムの分布が確認された。このピークは、服用時期に一致していた。

DRD事例の薬物分析で最も重要な点は、DRDの有無と、毛髪における分布である。DRDが検出された場合、DRDを使用した犯行が裏付けられ、その分布が、犯行の時期の特定につながることになる。準強制性交等罪は、心神喪失又は抗拒不能状態の人に姦淫や肛門性交、口腔性交等の性交類似行為を行った場合に成立する。心神喪失又は抗拒

不能状態に陥れた証拠として、毛髪からの DRD の検出は必須であり、特に毛髪から検出された薬物が犯行時に使用されたことを証明しなければならない。

2019 年 7 月、本研究で確立した毛髪からの DRD の検出法で分析した結果が、準強制性交事件の判決において、証拠として採用された。

一般に、研究成果は、学会発表、論文発表として公表される。さらには特許取得、実用化等による社会への還元がある。一方、毛髪からの DRD の検出法の確立のように、犯罪事実の科学的証明（法）に関する研究では、研究の目的は、研究発表だけでなく、研究成果が裁判の証拠として採用されることにある。即ち、確立した検出方法で得られた分析結果が、証拠として採用され、それが判決に繋がることである。毛髪からの DRD の検出法の確立は、まさに、研究成果が社会に還元できたことになる。

4) 死因、病態究明を目的としたバイオマーカー探索に関する研究

【はじめに】

2017 年度は、血中 *p*-cresol 濃度は生前の病態を知るうえで、貴重な情報を提供することを明らかにした (Diagnostic meaning of blood *p*-cresol concentration in forensic autopsy cases. *Leg Med.* 2018; 34: 27-35.)。

2018 年度は、慢性腎臓病における臓器内の *p*-cresol の分布と分画の割合を明らかにした (Organ distribution of endogenous *p*-cresol in hemodialysis patients. *J Med Invest.* 2019; 66: 81-85.)。

2019 年度は、尿中のフェニルアセチルグルタミン (PAG) の分析法の検討と、法医剖検例の分析を行った。

本研究は、科研費・基盤研究 (C) (2019-2021)「研究課題：尿毒素としての腸内細菌産生フェニルアセチルグルタミンの法医剖検診断の意義の解明」によるものである。

【材料・方法】

症例：2017 年 1 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日までの 2 年間に福岡大学医学部法医学教室で解剖した法医解剖 230 例のうち、解剖時に尿が採取できた 97 例について分析した。対象症例 (97 例) の内訳は、1) 性別：男性 77 例、女性 20 例、2) 年齢：0 歳から 93 歳、3) 死後経過時間：以下の 8 群に分けた。12 時間以内、24 時間以内、48 時間以内、10 日以内、1 週間以内、1 ヶ月以内、1 ヶ月以上、不詳。4) 障害発生後死亡までの時間 (期間)：以下の 9 群に分けた。即死、1 時間以内、6 時間以内、24 時間以内、1 週間以内、10 日以内、1 ヶ月以内、1 ヶ月超、不詳。

試薬：①ウレアーゼ水溶液：ナタマメ由来のウレアーゼ 20mg/脱イオン水 10 mL、4°C で保存 (富士フィルム和光) ②内部標準溶液の具体的な調製手順：Phenylacetyl-d5 L-glutamine (Toronto Research Chemicals, Toronto, ON, Canada) 1 mg の入った瓶で直接調製イオン水 1 mL/アセトニトリル 1 mL/ギ酸 0.001 mL の混合液を調製する。③①の液 1 mL を PAG-d5 1 mg の瓶に入れ、PAG-d5 を溶かす。その後、使用時まで 4°C で保存する。

試料調製・分析：①尿 0.10 mL(重量で確認 0.100～0.101 g)をポリプロピレン(5 mL のスクリーキャップ付き遠心管)に入れ、脱イオン水 0.3 mL、内部標準溶液 10 μ L(10 μ g)、ウレアーゼ水溶液 0.04 mL を加え、よく混和する。②30 分後、この試験管にアセトニトリル 2 mL、酢酸 0.05 mL を加え、よく混和、ISOLUTE CBA 500mg/3mL(Biotage) に入れ、溶出する液をガラス試験管 (16 mm x 125 mm、酢酸 0.3 mL を入れておく。)に採取する。液が少なくなったところで、500 rpm で短い時間で遠心する。空になったポリプロピレン容器にアセトニトリル 2 mL、アンモニア水 0.1 mL を入れ、容器の中を洗い、空になった CBA のカートリッジに流し込み、同じ試験管に採取する。③採取した試料液を別のガラス試験管 (16 mm x 100 mm、酢酸 0.1 mL を入れておく。)に移す。④窒素気流で濃縮乾涸する。これを試料として GC-MS で分析した。

【結果・考察】

尿中 PAG 濃度と年齢、性別、死後経過時間、障害発生から死亡までの時間 (期間)との関係：尿中 PAG 濃度と年齢、性別、死後経過時間との関係を、相関係数、群間比較を用いて統計学的に検討したところ、尿中 PAG と年齢との間に、弱い正の相関を認めしたが、性別に有意差は認めなかった。尿中 PAG は、死後経過時間の影響は認められなかった。一方で、クレアチン (Cr) は、死後変化に伴い分解されることから (文献 2)、死後変化の影響を考慮し、死後経過時間 48 時間以内の症例 (64 例) について、尿中 PAG の法医剖検診断の意義の研究対象とした。

健康成人の尿中 PAG 濃度について：健康成人尿 6 検体について、尿中 PAG 濃度とクレアチン (Cr) 濃度を測定した。尿中 PAG 濃度は 95～436 μ g/mL、Cr 濃度は 92～185mg/dL で、Cr で補正した PAG 濃度 (PAG/Cr mg) は 0.063～0.236mg であった。この濃度は、健康成人の先行研究における PAG/Cr 平均値 0.059 (最小 0.015、最大 0.084) と類似していた。そこで、我々の健康成人の尿中 PAG 濃度 (204.5 \pm 128.8 μ g/mL) を基準値として採用した。尿中 PAG 濃度が 333.3 μ g/mL (平均+SD) 以上を異常群、462.1 μ g/mL (平均+2SD) 以上を高度異常群として検討を行った。

研究対象とした 64 例のうち、尿中 PAG 異常群は 5 例で、全て高度異常群 (最小値 477、最大値 863 μ g/mL) であった。そこで、これら 5 例について検討を行った。基本データについては、1) 性別は、全員男性であった。2) 年齢は 56 から 88 歳、3) 死後経過時間は 24 時間以内 3 例、48 時間以内が 2 例、4) 障害発生から死亡までの経過時間 (期間) は、1 時間以内 3 例、10 日以内と不詳が 1 例ずつであった。5) 死因は、①脳挫砕、外傷性脳障害、②焼死、③凍死、④慢性硬膜下血腫、⑤外傷性ショック死であった。

高度異常群の基本データに明らかな特徴を認めなかった。今後、これらの症例を含め、尿中 PAG 濃度が異常を示す要因の解明に取り組む。

5) アルコールに代わる飲酒マーカー探索に関する研究

【はじめに】

飲酒マーカーとして、エチルグルコシド（EG）を選択し、2018年度は、尿中EG異性体の検出法を検討した。以下にGC-MSによる分析条件を示す。

装置：	島津 GCMS-TQ8030
カラム：	タンデムカラム（2つのカラムを連結）
	注入口側 Rtx-200 2 m x 0.18 mm i.d., 膜厚 0.4 μm
	MS側 Rtx-200 10 m x 0.15 mm i.d., 膜厚 0.25 μm
キャリアガス：	ヘリウム 流量が一定になるように圧力制御
	初期圧力 269 kPa
カラム槽の温度：	70°C (1.5 min), to 180°C at 55°C/min, hold for 3 min, to 200°C at 20°C/min, hold for 0.5 min, to 300°C at 50°C/min, hold for 6 min
他の温度：	注入口 250°C; インターフェース 280°C; イオン源 230°C
イオン化モード：	電子イオン化; イオン化電圧: 70 eV
Scan mode：	m/z 40~550
SIM mode:	m/z 81, 112, 141, 157, 200
MRM mode:	m/z 157 > 115; m/z 157 > 73; m/z 141 > 81

2019年度は、法医剖検例におけるEGの意義を検討するとともに各種アルコール飲料飲酒時の尿中エタノール（EtOH）とEG濃度の経時変化に関する研究に取り組んだ。

<法医剖検例におけるEGの意義に関する研究>

【材料・方法】

法医解剖例で、血液ならびに尿が採取できた症例のうち、当教室で実施している薬毒物スクリーニング検査で、血液または尿からEGが検出された症例を研究対象とした。

試料：2018年6月以降の症例の22症例について分析した。

分析方法：2018年度までの研究成果に則って分析した。

【結果・考察】

分析した22例の血中と尿中EtOH濃度は、ほぼ直線に分布していた。血中濃度が0.500mg/mL未満の低濃度群、2.000mg/mL未満の中濃度群、2.000mg/mL以上の高濃度群に分けて、EG濃度について検討を行った。

血中EtOH濃度の低濃度群（L群）16例、中濃度群（M群）3例、高濃度群（H群）3例に分けて、血中、尿中EG濃度及び、血中・尿中EG濃度比について検討を行なった。L群において1例に、はずれ値を認めた。この症例を検討した。

症例：20歳代後半の女性で、死亡前夜に忘年会に出席し、友人宅に宿泊して、昼頃帰宅した。夕食後（飲酒なし）、入浴中に溺水した。病歴に意識消失発作があり、意識消失から溺死した可能性が考えられた。本屍は、死亡時、飲酒後約21時間経過していたものと推定された。

EtOHとEGの関係：血中、尿中のEtOH濃度は極めて低いにも関わらず、EGが検出された。EGの濃度は、血中に比し、尿中が高濃度であった。

EG、特に尿中のEGは、飲酒後EtOHが代謝排泄された後においても検出されたことから、飲酒マーカーになりえるものと考えられた。

EG異性体の関係：血中EGが、尿に代謝排泄される場合、異性体の α/β 比は変わらないものと推定される。しかし、22例中、5症例は、尿中の α の割合が、血中よりが高くなっていた。血中EtOH濃度が低い症例では、血中と尿中の α/β 比は、近似した値とな

っていた。血中、尿中 EtOH 濃度が高い症例では、尿中の α/β 比が高値となっていた。EG の代謝排泄においては、 β -EG の代謝排泄が、 α -EG より遅れるのかもしれない。または、飲酒の早い時期に、日本酒のように α 異性体を含む、アルコール飲料を飲酒した可能性が考えられた。EG の異性体分析は、飲酒したアルコール飲料を推定することに有効かもしれない。

<飲酒後の尿中 EtOH と EG 濃度の経時変化に関する研究>

法医剖検例における尿中 EG 分析の意義を明らかにするために、飲酒後の尿中 EtOH 濃度と EG 濃度を、経時的に測定した。

【材料・方法】

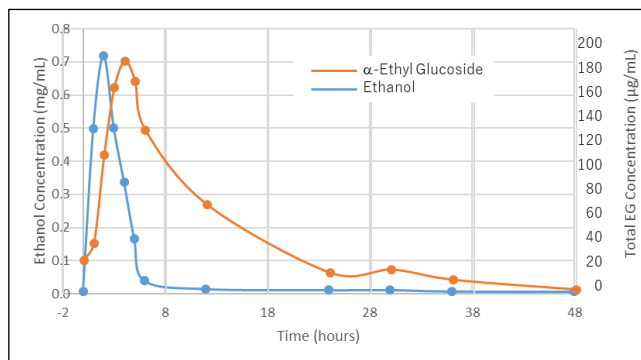
健康成人が、EtOH 35g に相当する日本酒、ビール、ワイン（赤・白）を 30 分で飲酒した。飲酒前、飲酒後 1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、5 時間、6 時間、12 時間、24 時間、36 時間、48 時間後に尿を採取した。

これらの尿を試料として、GC-MS で分析する。

【結果・考察】

尿中 EtOH は、飲酒後 1 時間で最高血中濃度となり、以降急速に低下し、飲酒後 6 時間でほぼ排泄される。この結果は、これまでの結果とよく一致していた。これに対し、EG は、飲酒後 5 時間で最高血中濃度となり、以降、緩徐に低下し、飲酒後 24 時間で、飲酒前の濃度に低下した。ワインを飲酒した分析例を図 3 に示す。

図 3. 尿中 EtOH と EG 濃度の飲酒後経過時間による変遷



EtOH と EG の濃度から、1) EtOH>EG 群、2) EtOH \approx EG; EtOH 高濃度群、3) EtOH<EG 群、4) EtOH \approx EG; EtOH 低濃度群の大きく 4 群が考えられる。即ち、1) EtOH>EG 群は飲酒開始直後、2) EtOH \approx EG; EtOH 高濃度群は飲酒中から飲酒後まもなく、3) EtOH<EG 群は飲酒後 5~6 時間から 24 時間、4) EtOH \approx EG; EtOH 低濃度群は飲酒後 24 時間以降と考えられる。

この飲酒実験の結果から、法医剖検例の尿を分析することで、飲酒後の経過時間を推定することが可能と考える。特に、飲酒後 EtOH が低下した時期においても、EG が検出できれば、飲酒後 5~6 時間から 24 時間と判断できるものとする。EG は、EtOH が

検出できない場合でも、飲酒のマーカーとなり得るものとする。

3. 研究業績

1) 原著論文

- [1] Ikematsu N, Kashiwagi M, Hara K, Waters B, Matsusue A, Takayama M, Kubo S. Organ distribution of endogenous *p*-cresol in hemodialysis patients. *J Med Invest*. 2019; 66: 81-85.

2) 症例報告

- [1] 桐生京佳 (王 璐), 池松夏紀, Brian Waters, 原 健二, 久保真一, 北村 修. 高血中 *p*-cresol 濃度を呈した透析中に発症した致死的小脳出血の 1 剖検例. *法医病理*. 2019; 25(1): 27-32.

3) 総説・著書・その他

- [1] 久保真一. 法医学からみるカフェイン中毒：急性中毒と慢性中毒. *アディクションと家族*. 2019; 34(2): 114-116.

4) 国際学会発表

- [1] Waters B, Sakamoto Y, Hara K, Matsusue A, Kashiwagi M, Kubo S. Detection of Drug-Facilitated Sexual Assault (DFSA) compounds from adulterated beverages using monolithic silica adsorbents and multimode inlet GC-MS/MS. The 57th International Meeting of the Association of Forensic Toxicology. 2019; Abstracts ID 82, p133, Birmingham, UK.
- [2] Nakazono T, Gohda A, Momota F, Kubo S. Identification of Human Urine by LC-MS/MS Analysis of five major 17-ketosteroid Conjugates. Der 98 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. *Rechtsmedizin*. 2019; 29(4): p359, Hamburg, Germany.
- [3] Takayama M, Matsuzawa T, Matsusue A, Kashiwagi M, Waters B, Hara K, Kubo S. A forensic autopsy case of infectious meningitis; mixed infection of bacillus and fungi. Der 98 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. *Rechtsmedizin*. 2019; 29(4): p366, Hamburg, Germany.

5) 国内学会発表

- [1] 大脇涼子, Brian Waters, 原 健二, 高山みお, 松末 綾, 柏木正之, 久保真一. 法医剖検症例におけるエチルグルコシド異性体分析の意義 (第 1 報). 第 69 回日本法医学会学術九州地方集会. 要旨集. 2019; p9, 大分.
- [2] 柏木正之, 高山みお, 原 健二, 松末 綾, Brian Waters, 久保真一. 特異な化合物が検出された 2 剖検例. 第 69 回日本法医学会学術九州地方集会. 要旨集. 2019; p10, 大分.
- [3] 辻 雅善, 今本 彩, Brian Waters, 原 健二, 久保真一, 尾崎米厚. 新生児毛髪からの Fatty Acid Ethyl Esters の測定方法の検討：胎児のアルコール曝露の証明. 第 89 回日本衛生学会学術総会. *日本衛生学雑誌*. 2019; 74(sup): S149, 名古屋.

- [4] Brian Waters, 原 健二, 池松夏紀, 松末 綾, 高山みお, 柏木正之, 久保真一. GC-MS/MS による法医剖検試料からのエチルグルコシド異性体の定量分析法の開発. 第 103 次日本法医学会学術全国集会. 日法医誌. 2019; 73(1): p73, 仙台.
- [5] 池松夏紀, 桐生京佳, Brian Waters, 原 健二, 高山みお, 松末 綾, 柏木正之, 北村 修, 久保真一. 透析中に発症した小脳出血の 1 剖検例: 血中 p-cresol 濃度の検討. 第 103 次日本法医学会学術全国集会. 日法医誌. 2019; 73(1): p78, 仙台.
- [6] 石上安希子, 澤田素希, 今井達也, Brian Waters, 原 健二, 柏木正之, 高山みお, 松末 綾, 久保真一, 西村明儒. 薬物摂取例における腎傷害に関する免疫組織化学的検討. 第 103 次日本法医学会学術全国集会. 日法医誌. 2019; 73(1): p79, 仙台.
- [7] 柏木正之, 高山みお, 山本琢磨, Brian Waters, 原 健二, 松末 綾, 池松和哉, 久保真一. 法医解剖の現場にみる OTC 薬中毒死例. 第 41 回日本中毒学会総会・学術集会. 日本中毒学会機関誌. 2019; 32(2): p185, 川越.
- [8] Brian Waters, 原 健二, 柏木正之, 松末 綾, 高山みお, 久保真一. デートレイブドラッグの分析: 法医学の立場から. 日本法中毒学会第 38 年会. 要旨集. 2019; p35, 福岡.
- [9] 工藤恵子, 坂 幹樹, 副島美貴子, 池田典昭, 久保真一, 神田芳郎. 腐敗組織を含む特殊試料中薬物の標準的定量法の確立 (第 1 報). 日本法中毒学会第 38 年会. 要旨集. 2019; p67, 福岡.
- [10] 久保真一. 死因究明における薬毒物分析の意義. 第 17 回オートプシー・イメージング (Ai) 学会. 要旨集. 2019; p14, 熊本.

4. 科学研究費等、取得した外部資金

- 1) 久保真一 (研究代表者), 原 健二 (分担), ウォーターズ ブライアン (分担), 高山みお (分担), 柏木正之 (分担), 松末 綾 (分担), 池松夏紀 (分担). 尿毒素としての腸内細菌産生フェニルアセチルグルタミンの法医剖検診断の意義の解明. 基盤研究 (C). 2019 年度～2021 年度 4,290,000 円
- 2) 久保真一 (代表). 液体クロマトグラフ質量分析計を用いた、法医中毒分析システムの構築. 共同研究. 島津製作所. 2020 年 2 月～2021 年 1 月. 550,000 円

川寄研究班

1. 研究概要

以下に、主な研究課題について紹介する。

1) 救命救急センターおよび2次救急（ER科）における自殺未遂者に関する研究

自殺未遂者が救命救急センターに入院後、精神科医（自殺予防担当医）および精神保健福祉士を中心とした当院に所属するケース・マネージャーが全例を把握・介入し、精神科医の診察、ケース・マネージャーによる心理教育および再企図予防に必要な情報収集を行う。また、特に中毒による自殺企図に関してこれまでの患者の実態調査を行う。

2) 化学物質が情動行動に与える影響に関する研究

精神疾患の病態研究では、症状を模したモデル動物が使用されることがある。うつ病モデル動物の一つである嗅球摘出（Olfactory bulbectomized : OB）ラットは、外科的手法により嗅球を除去することにより作成され、予測妥当性および表面妥当性に優れることから薬理学的研究において抗うつ薬のスクリーニングにも用いられている。OBラットでは前頭葉の皮質-海馬-扁桃体間のドーパミン神経伝達系が障害されることが示唆されているが、中枢では受容体間相互作用により情報伝達系同士の複雑なネットワークが形成されており、一部における変化が様々な影響を与えることに繋がる。これら相互作用ネットワークの解明は新たな中枢刺激薬の開発や化学物質が情動行動に与える影響を予測する際に必要な重要な知見である。本研究ではモデル動物を使用し、モデルの示すうつ病用行動や神経伝達に関与するモノアミンの脳各部位における発現に対する、向精神作用をもつ薬物や化学物質の影響について調査し、そのメカニズムの解明を目指す。

2. 研究成果

本年度の主な研究成果を以下にまとめる。

1) 救命救急センターおよび2次救急（ER科）における自殺企図者に関する研究

当院に搬送された年間の自殺未遂者が73人（3次救急：50人、2次救急：23人）、既遂者が13人であった。既遂13人(18%)、未遂者60人(82%)であった。

中毒と中毒以外に分けた場合、救命救急センターの未遂者のうち中毒が37人中15人で41%を占めるにすぎなかったのに対して、2次救急では中毒が未遂者のほとんどを占め、23人中20人と87%を占めた。中毒に関しては他の自殺企図手段と異なった特徴が明らかになっており、今後、さらに解析を進め、前向きの実態調査から中毒患者の自殺予防に向けた具体的な対策を検討していく。

2) 化学物質が情動行動に与える影響に関する研究

我々はうつ病モデル動物OBラットを対象に、ストレスや不安に効果を示す柴胡加竜

骨牡蠣湯 (SRBT) が OB ラットの示す行動異常および中枢神経系、とくに視床下部-下垂体-副腎系 (HPA 系) におけるモノアミン発現に与える影響について調査した。OB 手術後、2 週間の回復期間を置き、SRBT、生理食塩水またはイミプラミン (Imi) を 2 週間、連続投与した。その結果、OB 手術は、外部刺激への応答の強さに関する行動指標である情動過多反応を有意に増加させ、SRBT または Imi の投与は OB 手術により強化された情動過多反応を抑制することが示唆された。行動解析後にサンプリングを行い、いくつかの脳部位から得られたホモジネートサンプルを用いて、HPLC 法によりモノアミンの発現解析を行った。その結果、OB 手術を受けた群での前頭皮質におけるバニリン酸の低下や、下垂体における 5-ハイドロキシインドール酢酸の増加と、薬剤投与によるその抑制などが確認され、SRBT と Imi では異なる薬理作用を持つ可能性が示された。本研究結果は論文として福岡大学医学紀要に投稿し、2020 年発行の 47 巻 1 号に掲載された。今後はマイクロダイヤリシス等の異なる手法の導入、異なる疾患モデルを対象とした研究を行い、より詳細な解析を進めていく予定である。

3. 研究業績

1) 原著論文

- [1] Eto N. Learning from my experiences and mistakes with suicidal patients. *The Journal of the Japan Psychoanalytic Society*. 2019; Vol.1. 56-67.
- [2] 衛藤暢明, 原田康平, 松尾真裕子, 吉良健太郎, 大串祐馬, 畑中聡仁, 川寄弘詔. 総合病院精神科外来での自殺予防. *精神神経学雑誌*. 2019; 121(11): 873-879.
- [3] Ogushi Y, Gotoh L, Hatanaka A, Kawaguchi T, Kira K, Kawasaki H. Alterations in behavior and brain monoamine levels of olfactory bulbectomized rats following Saiko-ka-ryukotsu-borei-to Administration. *Med. Bull. Fukuoka Univ*. 2020; 47(1): 53-60.

2) 症例報告

なし

3) 総説・著書・その他

- [1] 箱田浩介, 吉良健太郎, 衛藤暢明, 川寄弘詔. 抗うつ薬の種類と使いかた. *臨床と研究*. 2019; 96(5): 521-525.
- [2] 畑中聡仁, 原田康平, 衛藤暢明, 松下満彦, 徳永雄一郎, 川寄弘詔. 入院中の自殺予防. *精神科*. 2019; 34(5): 499-505.
- [3] 衛藤暢明(分担・訳). *精神力動的な精神医学*. 第 5 版 G・O・ギャバード(著)2019; p399-426.

4) 国際学会発表

- [1] Eto N, Gotoh L, Wada K, Harada K, Matsuo M, Kawasaki H. How the suicides In Japan decreased; comparison between urban and rural areas. *The 19th WPA World Congress of Psychiatry*. 2019; Lisbon, Portugal.

- [2] Masuda M, Eto N, Matsuo M, Harada K, Gotoh L, Tanaka Y, Kira K, Ogushi Y, Hatanaka A, Kawasaki H. A Survey on Completed Suicides by Poisoning Encountered in an Emergency Room of a University Hospital in Japan. The 19th WPA World Congress of Psychiatry. 2019; Lisobon, Portugal.

5) 国内学会発表

- [1] 衛藤暢明, 川寄弘詔. 自殺予防外来に求められるニーズについて. 第115回日本精神神経学会. 2019; 新潟.
- [2] 衛藤暢明, 原田康平, 松尾真裕子, 畑中聡仁, 増田将人, 川寄弘詔. 福岡大学病院における自殺予防チームの活動 (ポスター). 第115回精神神経学会. 2019; 新潟.
- [3] 衛藤暢明. 自殺予防外来の試み. 第19回外来精神医療学会シンポジウム「自殺予防」. 2019; 福岡.
- [4] 衛藤暢明. 若年者の自殺予防. 日本精神神経科診療所協会 第20回日精診チーム医療・地域リハビリテーション研修会 教育セミナー. 2019; 福岡.
- [5] 衛藤暢明. 福岡大学病院での救急と精神科の連携システムづくり. 精神科救急シンポジウム2019. 2019; 札幌.
- [6] 衛藤暢明, 原田康平, 松尾真裕子, 川寄弘詔. 自死遺族の精神科受診経路について. 第43回日本自殺予防学会. 2019; 名古屋.
- [7] 後藤玲央, 大串祐馬, 川口貴子, 畑中聡仁, 吉良健太郎, 川寄弘詔. 嗅球摘出ラットの行動変化におけるアデノシンA1受容体作動薬N6-シクロペンチルアデノシンの作用. 第49回日本神経精神薬理学会. 2019; 福岡.
- [8] 後藤玲央, 大串祐馬, 畑中聡仁, 田口 公之, 林 礼雄, 川寄弘詔. 衝動性制御不全を示すcAMP-GEFIIノックアウトマウスを対象とする脳内モノアミン動態解析. 第42回日本分子生物学会年会. 2019; 福岡.
- [9] 田口公之, 後藤玲央, 大串祐馬, 畑中聡仁, 林 礼雄, 川寄弘詔. 母子分離マウスの脳におけるモノアミン量の変化とグアンファシンの効果. 第42回日本分子生物学会年会. 2019; 福岡.

4. 科学研究費等、取得した外部資金

- 1) 川寄弘詔 (研究代表者). 衝動性制御不全マウスモデルの行動および脳内モノアミン動態解析. 基盤研究 (C) .2017年度~2019年度C) .2017年度~2019年度

池松研究班

1. 研究概要

本研究は、長崎県下で実施した全解剖事例及び検案・検視事例における薬毒物スクリーニングに取り組み、死因への薬毒物の関与を検討することを目的とした。

以下に、主な研究課題について紹介する。

1) 長崎県における薬毒物スクリーニングの現況に関する研究

法医実務において、薬毒物の死因への関与を判断することは非常に難しい。解剖事例では、外部所見及び内部所見を慎重に観察し、血液・尿をはじめ諸臓器を採取した上で薬毒物検査を行い、得られた結果を用いて薬毒物の死因への関与の有無を総合的に判断する。しかし、特異的な所見を呈さない薬毒物も多く、また死後変化により試料中の薬毒物を検出することが困難となるため、死亡との因果関係を明確にすることは難しい。一方、検視事例では外部所見のみに頼らざるを得ず、現場の状況等で薬毒物の摂取が疑われない限り、死因への薬毒物の関与は見落とされる可能性がある。従って、薬毒物の死因への関与を明らかにするためには、比較的採取が容易で症状との相関性が高い血液や尿試料を用いて迅速かつ簡便な薬毒物スクリーニングを行うことが重要である。

そこで我々は、解剖事例において腐乱・白骨死体を除く全事例にて血液及び尿を採取、また検案・検視事例においては内因性急死・水中死体・焼死体・薬毒物の関与が疑われる事例にて同試料を採取し、NAGINATA-GC/MS 薬毒物スクリーニング (NAGINATA スクリーニング)、及び LC-MS/MS スクリーニングを並行して実施している。

2. 研究成果

本年度の主な研究成果を以下にまとめる。

1) 薬毒物スクリーニングに関する研究

本研究では、NAGINATA スクリーニングが導入された 2010 年 5 月から 2019 年 12 月までの 9 年と 7 ヶ月の間に血液及び尿の NAGINATA スクリーニングを実施した 8682 例の結果を解析した。血液及び尿が採取された症例数は、それぞれ 8296 例、6936 例であった。

NAGINATA スクリーニングを実施した 8296 例の全血試料のうちカフェイン、ニコチン、ニコチン代謝物、腐敗アミンを除き、主に医薬品の有効成分であるアセトアミノフェン (6.7%) やリドカイン (4.7%) などが検出された。一方、NAGINATA スクリーニングを実施した尿試料 6936 例のうちカフェイン、ニコチン、ニコチン代謝物、腐敗アミンを除き、主に医薬品の有効成分であるアセトアミノフェン (10.8%) やエフェドリン (4.2%) などが検出された。NAGINATA スクリーニングを実施した全血試料のうち、得られた相対定量値が治療域以上であった薬毒物は 50 種類であり、316 例 (3.8%) で治療域以上の薬物が検出された。

覚せい剤は、2018年1月から12月までの間では、1184例のうち解剖事例1例(0.08%)で検出、2017年1月から12月までの間では、1390例のうち解剖事例4例(0.2%)で検出、2016年1月から12月までの間では、1457例のうち解剖事例1例(0.06%)で検出、2015年1月から12月までの間では、1223例のうち解剖事例1例(0.08%)で検出、2012年1月から12月までの間では、547例のうち解剖事例1例(0.18%)で検出、2011年1月から12月までの間では、192例のうち解剖事例1例(0.5%)で検出された。2019年、2014-2013年、2010年では、NAGINATAスクリーニングによる検出はなかった。

NAGINATAスクリーニング実施例では50種類の薬物が治療域以上の濃度で検出され、死因への関与が示唆された。薬毒物の死因への関与の見落とし防止の観点から、効果的なスクリーニングが可能であった。また、長崎県下での覚せい剤の乱用は、2017年でわずかに増加したものの比較的低い水準で推移していることが推察される。

2) SIEMENS ADVIA Centaur CPによるインスリン濃度測定

長崎大学では、2019年11月より、全解剖事例及び検案・検視事例に対してインスリン濃度の測定を開始した。2019年11月から2020年3月までの間では、73例のうち3例(4.1%)で基準値(2.19-9.89 mU/L)以上の濃度が検出された。

3. 研究業績

1) 原著論文

なし

2) 症例報告

なし

3) 総説・著書・その他

[1] 県警と長崎大法医学教室「中毒域以上の毒薬物検出122件」、NHK、12月11日放送

[2] 死因究明の現場は「長崎大学法医学教室に潜入」、NCC長崎文化放送、3月11日放送

4) 国際学会発表

なし

5) 国内学会発表

なし

4. 科学研究費等、取得した外部資金

なし

薬毒物分析受託事業

2019 年度実績

- [1] 福岡県下 F 病院：血液、尿より、定性検査を実施しましたが、特異な薬物は検出されませんでした。
- [2] 福岡県下 O 病院：血清、尿より、tetrodotoxin を検出し、定量しました。
- [3] 石川県下 N 病院：血清より、caffeine□ theobromine、paraxanthine を検出し、定量しました。
- [4] 福岡県下 T 病院：血漿、尿より、caffeine、theobromine、paraxanthine を検出し、定量しました。

<表紙の化学式>

本年度の業績を代表する化学式を表紙に飾りました。

Morphine, Levetiracetum, γ -Butyrolactone, Zolpidem, Triazolam

発行年月日： 令和2年5月
発行者： 久保真一
発行元： 福岡大学基盤研究機関 薬毒物探索解析研究所
〒814-0180 福岡市城南区七隈 7-45-1
福岡大学医学部法医学教室内 薬毒物探索解析研究所
電話： 092-801-1011 (内線 3336)
F A X： 092-801-4266
U R L： <http://www.med.fukuoka-u.ac.jp/forensic/FUTOX/>
印刷・製本： 城島印刷株式会社
〒810-0012 福岡市中央区白金 2-9-6
電話： 092-531-7102
F A X： 092-524-4411