

平成 30 年 5 月 15 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08873

研究課題名(和文) 硫化水素中毒の法医病態生理学的検討

研究課題名(英文) Forensic pathophysiological study of hydrogen sulfide poisoning.

研究代表者

木下 博之 (Kinoshita, Hiroshi)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：00284357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)： センサーガスクロマトグラフィーを用いて、試料中の硫化水素濃度測定に応用したところ、水素や青酸などのガスの影響はなく、十分な感度も得られ、法医学的試料にも応用が可能であった。さらに、死斑の色調についても検討した。動物に硫化ナトリウムを投与して体内で硫化水素を産生させる実験モデルを用いた場合、死斑は暗緑色にならなかったことから、色調変化には経皮的暴露の影響が大きいことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)： We have applied the sensor gas chromatography for the measurement of hydrogen sulfide in blood. It is highly sensitive for hydrogen sulfide, without interference by other gases, and it may be applicable for forensic samples. There was no effect of hypostatic discoloration by hydrogen sulfide by the experiments using sodium sulfide. We conclude that hypostatic discoloration may be due to the direct exposure to hydrogen sulfide from skin.

研究分野：法医学

キーワード：硫化水素 センサーガスクロマトグラフ 中毒 測定法 硫化ナトリウム 気化平衡法 腐敗ガス

1. 研究開始当初の背景

硫化水素は、火山ガスや有機物の分解で生じる腐敗ガスとして自然界に広く存在する。また、工業原料としても広く用いられているため、職業上の曝露事故もみられる。職場での曝露は一酸化炭素に次いで多いといわれており、法医学領域でもしばしば事故などによる硫化水素中毒死事例を取り扱うことがある。

摂取された硫化水素は、体内で速やかに酸化されるが、体内の解毒能力には限界があるといわれている。高濃度の曝露ではミトコンドリアのチトクロームオキシダーゼと結合し、酸化的リン酸化を阻害し、好気性呼吸を抑制することで毒性を発揮する。硫化水素の影響を評価する上では、死亡時の血液中の硫化物濃度を指標とする。その際には濃度測定が重要になるが、測定には特殊な検出器を有する分析装置や、複雑な試料の前処理が必要なことも多く、簡便な測定法の確立が求められる。

硫化水素による死亡事例では、死斑や臓器の色調が暗緑色を呈することが知られている。この色調変化は硫化水素が血液中のヘモグロビンと結合してスルフォヘモグロビンを形成するためと考えられているが、硫化水素の経皮的吸収の影響も示唆されており、その詳細は明らかでない。

そこで、本研究では、簡便な測定法の確立のためにセンサーガスクロマトグラフの法医学的応用について検討するとともに、死斑の色調に与える影響についても検討する。

2. 研究の目的

本研究ではまず、センサーガスクロマトグラフを用いて、血液等の液状の試料に含まれる硫化水素濃度の測定が可能かどうかを検討する。センサーガスクロマトグラフは、特殊な操作を要しないことが特徴の一つとされ、近年活用が広がっている。生体由来の試料を用いるため、他の揮発性成分やガスなど、分析の妨害となる可能性のある成分等についても併せて検討を行う。また、測定が可能な場合には、試料の前処理、加温時間などを詳細に検討し、至適条件の設定を行う。

さらに、動物を用いた実験で、死斑の色調に与える硫化水素の影響についても評価を行う。

3. 研究の方法

(1) センサーガスクロマトグラフを用いた、硫化水素濃度の測定

半導体ガスセンサを検出器とするガスクロマトグラフを用いた。

試料中の硫化物イオン濃度を測定するため、標準試料として硫化ナトリウムの溶液を作成し、段階的に希釈する。気化平衡法を用い、バイアル瓶に密封したのち硫酸と反応させ硫化水素を遊離させる。シリンジで気相の

一部を採取して、センサーガスクロマトグラフに注入し、硫化水素を測定した。その際に、最も検出感度が高くなるよう、硫酸を添加後のインキュベーション時間やバイアルの加温についても検討した。

動物実験での血液試料を用い、検討の結果得られた至適条件にて硫化水素濃度の測定を行った。

(2) 他のガス成分の影響についての検討

血液などを試料とする場合、目的とする硫化水素以外にも混在する可能性のある物質や、死後経過に伴って産生する物質による影響を考慮する必要があり、死後変化としてよくみられる腐敗ガスの一つである水素と、火災の際などに発生することがある青酸(シアン化水素)について、硫化水素測定の際の妨害の有無について検討した。

妨害の可能性のある水素及びシアンガスについて、その確認および定量方法についても併せて検討した。

(3) 硫化水素が死斑の色調に与える影響

麻酔下のラットに硫化ナトリウムを投与する。体内で代謝により硫化水素が生成する。

動物の死後、出現する死斑の色調を確認し、色調に与える影響を検討する。

4. 研究成果

(1) センサーガスクロマトグラフを用いた硫化水素濃度の測定

今回用いた装置の半導体センサーは硫化水素、メチルメルカプタン、硫化ジメチルに高感度である。ガスクロマトグラフの設定条件で、水素ガスとシアン化水素のピークは硫化水素のピークに近接するが、測定への直接の影響はなく、十分に定量性が得られることが明らかになり、簡便な気化平衡法による測定の有用性が明らかになった。

硫酸添加後の反応時間と反応温度について、至適条件を検討したところ、室温で20秒震盪し反応させ直後に測定した場合と、震盪後に平衡時間をおいた場合のいずれにおいてもピークの高さに差はなかった。センサーガスクロマトグラフによる測定は、気化平衡法で行うことができるため簡便で、必要な前処理も少なく、法医学的応用も可能であることが示された。

(2) 他のガス成分の影響についての検討

水素ガスとシアン化水素のピークは硫化水素のピークと近接するが、分離は可能であった。

水素ガスについては、水素測定用の装置と併用することで、ガスの種類の確認が可能であった。また、0.8-79.8 ppmの範囲で、ピーク高さの直線性が確認され、併せて試料気体中濃度の測定も可能であった。シアン化水素についても確認が可能であり、試料濃度が0.05-20µg/mlの範囲で定量が可能であった。

(3) 硫化水素が死斑の色調に与える影響

硫化ナトリウム投与による硫化水素中毒

モデルを用いた。センサーガスクロマトグラフで体内での硫化水素産生を確認した。

実験の結果、死斑の色調は暗緑色にはならず、硫化ナトリウム投与では死斑の色調に直接影響しないことが明らかになった。これらの結果から、間接的に経皮的曝露の影響が大きいことが示された。得られた結果は今後の鑑定例にも活用が期待される。

今回の結果から、センサーガスクロマトグラフの法医学的有用性が明らかになった。さらにその応用について、今後も検討を進めていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計23件)

1. Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Kimura S, Tsutsui K, Ameno K, Kinoshita H. Application of energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) in forensics - titanium, silicon and magnesium in the stomach contents as good indicators for ingestion of pharmaceutical tablets. Rom J Leg Med. 25: 89-91, 2017. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/541>
2. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Matsubara S, Ameno K. Flunitrazepam in stomach contents may be a good indicator of its massive ingestion. Rom J Leg Med. 25: 193-195, 2017. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/560>
3. Takakura A, Tanaka N, Omyia T, Omori H, Hirasaki A, Jamal M, Ito A, Ishimoto S, Tsutsui K, Kimura S, Ameno K, Kinoshita H. Spectrophotometric measurement of boric acid in a case of accidental ingestion. The Albanian Journal of Medical and Health Sciences. 48: 49-53, 2017. 査読有 <http://ajmhs.umed.edu.al/ajmhs-archive/2017/6-%20Case%20report.Last.Call%20-%20Formatuar.pdf>
4. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Abe H, Kumihashi M, Shibayama T, Jamal M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Iwase H, Ameno K. An autopsy case of death by combined use of benzodiazepines and diphenidine. Soud Lek. 62: 40-43, 2017. 査読有
5. Tanaka N, Kinoshita H, Takakura A, Jamal M, Kumihashi M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Matsubara S, Ameno K. Application of sensor gas chromatography for the determination of hydrogen gas in forensic medicine. Revista e Mjekësisë Ligjore Shqiptare (Review of Albanian Legal Medicine). 13: 57-63, 2017. 査読有

6. 田中直子, 安賀文俊, 高倉彩華, モストファ ジャーマル, 伊藤明日香, 組橋 充, 飴野 清, 木下敏史, 戸上太郎, 影山淳一, 木下博之. 油性造影剤遺残の1例. 法医学病理. 23: 29-32, 2017. 査読有

7. Jamal M, Ameno K, Miki T, Tanaka N, Ito A, Ono J, Takakura A, Kumihashi M, Kinoshita H. Ethanol and acetaldehyde differentially alter extracellular dopamine and serotonin in Aldh2-knockout mouse dorsal striatum: A reverse microdialysis study. NeuroToxicology. 52: 204-209, 2016. 査読有 doi: 10.1016/j.neuro.2015.12.011.

8. Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Kumihashi M, Ito A, Ishimoto S, Tsutsui K, Kimura S, Ameno K, Kinoshita H. Stomach gas as a useful matrix for detecting ante-mortem gas exposure. A case of asphyxia by helium inhalation. Rom J Leg Med. 24: 21-22, 2016. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/461>

9. Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Kumihashi M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Ameno K, Kinoshita H. Detection of kerosene in stomach contents - useful indicator of vital reaction. Rom J Leg Med. 2016; 24: 128-130. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/479>

10. Makino Y, Itoda N, Ikegaya H, Tanaka N, Kinoshita H, Motomura A, Uno T, Iwase H. Search and removal of radioactive seeds: another application of postmortem computed tomography prior to autopsy. Int J Leg Med. 130: 1329-1332, 2016. 査読有 doi: 10.1007/s00414-016-1404-6.

11. Tanaka N, Kinoshita H, Takakura A, Jamal M, Ito A, Kumihashi M, Tsutsui K, Kimura S, Ameno K. Distinction between entrance wound and exit wound by energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. Leg Med. 22: 5-8, 2016. 査読有 doi: 10.1016/j.legalmed.2016.07.003.

12. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Kimura S, Tsutsui K, Nagasaki Y, Mastubara S, Ameno K. Detection of butane metabolites as an indicator of butane abuse. Rom J Leg Med. 24: 216-218, 2016. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/498>

13. Tanaka N, Kinoshita H, Takakura A, Wakabayashi A, Sudo H, Okano K, Suzuki Y. Application of energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) for identification of a foreign body. Revista e Mjekësisë Ligjore Shqiptare (Review of Albanian Legal Medicine). 12: 67-71, 2016. 査読有

14. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Ito A,

Takakura A, Kumihashi M, Kinoshita H. Ethanol and acetaldehyde after intraperitoneal administration to Aldh2-knockout mice-reflection in blood and brain levels. *Neurochem Res.* 41: 1029-1034, 2016. 査読有 DOI:10.1007/s11064-015-1788-6

15. 田中直子, 花田真理子, 平野成則, 高倉彩華, モストファ ジャーマル, 伊藤明日香, 組橋 充, 筒井邦彦, 木村正司, 飴野 清, 石丸伊知郎, 木下博之. センサガスクロマトグラフを用いた青酸の測定. *法医病理.* 22:79-82, 2016. 査読有

16. Tanaka N, Kinoshita H, Takakura A, Jamal M, Kumihashi M, Uchiyama Y, Tsutsui K, Ameno K. Combination of energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) and head-space gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) is a useful screening tool for stomach contents. *Rom J Leg Med.* 23: 43-44, 2015. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/408>

17. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Takakura A, Tobiume T, Tsutsui K, Ameno K. A fatal case of poisoning with ethanol and psychotropic drugs with putrefactive changes. *Soud Lek.* 60: 25-27, 2015. 査読有

18. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Takakura A, Kumihashi M, Miyatake N, Ameno K. Squeezed splenic blood sampling as an alternative method for carboxyhemoglobin measurement. *Rom J Leg Med.* 23: 106-108, 2015. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/420>

19. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Takakura A, Kumihashi M, Miyatake N, Tsutsui K, Ameno K. Detection of chlorine and bromine in free liquid from the sphenoid sinus as an indicator of seawater drowning. *Legal Med.* 17: 299-303, 2015. 査読有 doi: 10.1016/j.legalmed.2015.08.005.

20. Tanaka N, Miyatake N, Kinoshita H, Fukunaga T. Correlation between death while bathing and meteorological parameters in the 23 wards of Tokyo. *Rom J Leg Med.* 23: 167-170, 2015. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/430>

21. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Matsubara S, Ameno K. Multiple drug poisoning case caused by a pharmacokinetic interaction involving paroxetine. *Rom J Leg Med.* 23: 208-210, 2015. 査読有 <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/437>

22. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Takakura A, Kumihashi M, Tobiume T,

Tsutsui K, Ameno K. A color test for the convenient identification of an ingested surface activating agent. *Soud Lek.* 60: 40-42, 2015. 査読有

23. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Tsutsui K, Kimura S, Nagano T, Matsubara S, Ameno K. Analysis of stomach contents by head-space gas chromatography/mass spectrometry to screen for ingestion of insecticide. *Revista e Mjekësisë Ligjore Shqiptare (Review of Albanian Legal Medicine).* 11: 85-89, 2015. 査読有

〔学会発表〕(計16件)

1. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Kimura S, Tsutsui K, Ameno K. Direct measurement of tissue sample by energy dispersive X-ray fluorescent spectrometry (EDX) for the identification of metal deposition in case of electrocution. 10th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM). Dusseldorf, Germany. 2017.

2. Tanaka N, Takakura A, Kumihashi M, Jamal M, Ito A, Kimura S, Tsutsui K, Ameno K, Kinoshita H. Application of energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) in the stomach contents; a good indicator for ingestion of pharmaceutical tablets. 10th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM). Dusseldorf, Germany. 2017.

3. Jamal M, Ito A, Tanaka N, Takakura A, Ameno K, Kinoshita H. The role of apolipoprotein E and the ethanol exposure in age-related changes in choline acetyltransferase and brain-derived neurotrophic factor in the mouse hippocampus. 19th International Society of Addiction Medicine. Abu Dhabi, UAE. 2017.

4. モストファ ジャーマル, 伊藤明日香, 田中直子, 飴野 清, 高倉彩華, 木下博之. ApoE deficiency and ethanol decrease in ChAT and BDNF age-dependently in the mouse hippocampus. 第101次日本法医学会学術全国集会. 岐阜. 2017.

5. 田中直子, 高倉彩華, モストファ ジャーマル, 伊藤明日香, 組橋 充, 木村正司, 飴野 清, 木下博之. センサガスクロマトグラフによる血液中の青酸測定. 第101次日本法医学会学術全国集会. 岐阜. 2017.

6. 木下博之, 田中直子, ジャーマル モストファ, 高倉彩華, 伊藤明日香, 飴野 清. 法医学実務におけるアルコールの影響評価. 第52回日本アルコール・アディクション医学会学術総会. 横浜. 2017.

7. 田中直子, 高倉彩華, モストファ ジャー

マル, 伊藤明日香, 組橋 充, 筒井邦彦, 木村正司, 飴野 清, 木下博之. 蛍光X線分析による胃内容測定の有用性 -薬物摂取の指標として-. 第 29 回日本中毒学会中国・四国地方会. 高知. 2017.

8. 田中直子, 高倉彩華, 槇野陽介, モストファ ジャーナル, 伊藤明日香, 木村正司, 加茂和博, 飴野 清, 岩瀬博太郎, 木下博之. 気道内異物の1剖検例. 第34回日本法医学会学術中四国地方集会. 松山. 2017.

9. 木下博之, 田中直子, 高倉彩華, 組橋充, モストファ ジャーナル, 伊藤明日香, 木村正司, 加茂和博, 飴野 清. 覚せい剤検査における胆汁の有用性. 第34回日本法医学会学術中四国地方集会. 松山. 2017.

10. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Mostofa J, Kumihashi M, Ito A, Ishimoto S, Tsutsui K, Kimura S, Ameno K. Matrix for detection of ante-mortem exposed gas in case of helium inhalation. International Academy of Legal Medicine, intersocial symposium P5 medicine & justice. Venice, Italy. 2016.

11. 石本沙樹, 田中直子, モストファ ジャーナル, 高倉彩華, 伊藤明日香, 組橋 充, 木村正司, 飴野 清, 木下博之. センサガスクロマトグラフによる青酸の測定. 第100次日本法医学会学術全国集会. 東京. 2016.

12. 田中直子, 木下博之, モストファ ジャーナル, 高倉彩華, 伊藤明日香, 石本沙樹, 組橋 充, 木村正司, 飴野 清. 蛍光X線分析法を用いた射創における射入口および射出口の鑑別. 第100次日本法医学会学術全国集会. 東京. 2016.

13. 木下博之, 田中直子, 高倉彩華, モストファ ジャーナル, 伊藤明日香, 木村正司, 飴野 清. 胃内容の薬物濃度測定の有用性. 第33回日本法医学会学術中四国地方集会. 広島. 2016.

14. 田中直子, 木下博之, 高倉彩華, モストファ ジャーナル, 伊藤明日香, 組橋 充, 筒井邦彦, 飴野 清. ヘリウムガス吸引による窒息の1剖検例. 第28回日本中毒学会中国四国地方会. 宇部. 2016.

15. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Mostofa J, Kumihashi M, Uchiyama Y, Tsutsui K, Ameno K. Combination of energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) and head-space gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) is a useful screening tool for stomach contents. International Academy of Legal Medicine. Dubai, UAE. 2015.

16. 田中直子, 木下博之, ジャーナル モストファ, 高倉彩華, 組橋 充, 内山 勇, 木村正司, 飴野 清. 蛍光X線分析法を用いた感電時の皮膚への金属付着の検討. 第99次日本法医学会学術全国集会. 高知. 2015.

〔図書〕(計4件)

1. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Ito A, Kumihashi M, Kimura S, Tsutsui K, Matsubara S, Ameno K: Application of CO-oximeter for forensic samples. Dogan KH. ed. Post mortem examination and autopsy -current issues from death to laboratory analysis. Rijeka, Croatia: InTech Open; 2018; p161-171.

2. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Ito A, Kumihashi M, Kimura S, Tsutsui K, Matsubara S, Ameno K: Sampling of the postmortem specimen for the analysis of volatile or gaseous substances in forensic practice. Warren V. ed. Gas chromatography. New York: Nova Science Publishers, Inc; 2017; p105-119.

3. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Ito A, Kumihashi M, Kimura S, Tsutsui K, Matsubara S, Ameno K: Simplified analysis of toxic gaseous substance in forensic practice: experiences from Japan. Malangu N. ed. Poisoning - from specific toxic agents to novel rapid and simplified techniques for analysis. Rijeka, Croatia: InTech Open; 2017; p157-172.

4. Kinoshita H, Tanaka N, Takakura A, Jamal M, Ito A, Kimura S, Tsutsui K, Matsubara S, Ameno K: Toxicological evaluation of psychotropic drug overdose in forensic practice. Morales DP. ed. Drug overdoses and alcohol withdrawal. Prevalence, trends and prevention. New York: Nova Science Publishers, Inc; 2016; p1-13.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

木下 博之(KINOSHITA HIROSHI)
香川大学・医学部・教授
研究者番号: 00284357

(2)研究分担者

田中 直子(TANAKA NAOKO)
香川大学・医学部・講師
研究者番号: 60700052