

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10132

研究課題名(和文) 簡便かつ安価で安全に行えるPapainを用いた新しいプランクトン検査法

研究課題名(英文) A new enzymatic method for extracting diatoms from organs of suspected drowning cases using papain digestion

研究代表者

柿崎 英二 (Kakizaki, Eiji)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：70284833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本で発見される変死体は水に係わるものが多い。これらの中には犯罪に関係しているものも含まれ、見逃し事案もあるため、溺死の診断は法医学の分野において重要と考えられている。現在、溺死の診断は珪藻を指標とした壊機法が最も信頼されているが、この方法は操作が煩雑な上に安全面や設備面で多くの問題を抱えている。そこで、我々はこの研究で危険な試薬を用いずに安全かつ簡便・迅速に行える新しい検査方法の開発を試みた。その結果、植物由来蛋白質分解酵素Papainと界面活性剤SDSを用いて安全かつ簡便・迅速な新しい珪藻検査法を確立し実際に法医実務で役立つことを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

すべての水中死体に対して、時間と労力のかかる従来の検査法(壊機法)を行うことは簡単ではない。またこの検査は加熱した強酸(発煙硝酸)を用いるため、安全面(化学熱傷、酸性ガスの吸引)や設備面(遠心機及び周辺機器への金属腐食、ドラフトチャンバーの設置・維持管理)の問題も抱えている。そこで本研究では植物由来のタンパク質分解酵素Papainを用いた新しい検査法を開発し、従来の壊機法によるプランクトン検査の代替法として利用できることを明らかにした。このように簡便・迅速かつ安全・安価な珪藻検査の方法は国内外を問わず報告例はなく、今後新しい検査法として死因究明や犯罪捜査に貢献できると考えている。

研究成果の概要(英文)：Diatom analysis is very effective for positive diagnosis of water inhalation in drowning. However, conventional strong acid diatom testing is laborious and potentially dangerous. We propose a simple, fast, and safe protocol using inexpensive reagents such as papain, SDS, and 5 N HCl for extracting diatoms from lung, kidney, and liver tissues. First, we determined optimal conditions for papain digestion using porcine tissues. Papain digestion was clearly superior to Proteinase K digestion. Next, for assessing the assay effectiveness in practical cases, the papain digestion protocol was applied to 80 tissue samples from 20 suspected drowning victims. The proposed method can be useful as a less-laborious, less-hazardous, and less-costly minimal test.

研究分野：法医学

キーワード：法医学 溺死の診断 プランクトン検査 パパイン(Papain) タンパク質分解酵素 珪藻 プロテイナーゼK(Proteinase K)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

強酸(発煙硝酸,濃硫酸)を用いる従来のプランクトン検査法(壊機法)に代わって,安全のために強酸ではなくタンパク質分解酵素(Proteinase K)や界面活性剤(SDS)を用いて,組織を溶解する方法が報告されている。しかし,酵素による組織の溶解は強酸に比べてかなりの時間(12-24h)を要する上に,反応終了後に溶け残る不溶性物質の量も多いことが長年の課題であった。またプランクトン検査では溶解する組織の量が多いため,タンパク質分解酵素 Proteinase Kを用いる検査に要する費用は極めて高くなる。Proteinase Kはもともと分子生物学領域において動物組織からDNAを抽出するために利用されてきた。その使用濃度は0.1 mg/mLである。しかしこの濃度ではDNA抽出には問題のないものの(DNA抽出を目的とする場合,組織の一部でも溶解していればDNAは得られるため),プランクトン検査にとっては溶け残りが多いため検査が著しく困難になったり,珪藻が不溶性物質に覆われて検出できなくなったりするため,適切ではない。

この溶け残りの問題を解決するために,我々はQiagen Proteinase K, Buffer ATL及び5N塩酸を用いて,1gの肺組織から安全かつ簡便・迅速(3時間以内)に珪藻を単離する方法を報告した(*Forensic Sci. Int.*, vol 251, 179-185, 2015)。この方法は,市販の試薬をそのまま利用できるプロトコールとしてデザインし,Proteinase Kの酵素量はキアゲンのキットで現在動物組織の分解に利用されている濃度,即ち従来の添加量の20倍で溶解する力が格段に高い(つまりこの濃度でなければそもそも十分に溶解できない)。また,従来のSDSに代えて,キアゲンのBuffer ATLを利用した。さらにそれでも溶け残る結合組織等を溶解するための工夫として,5N塩酸(70℃,15分)を使った分解ステップも追加して行った。これにより溶解力は一段と向上した。本法は,当施設において耐震補強工事のため1年間ドラフトチャンバーを使用できなかった期間にルーチン検査として実際に利用した。その結果,解剖当日に検査結果が得られる上に,検出感度も高く検査費も所定の範囲内に収まった。

しかし,この方法は肺の簡易迅速診断法として非常に効果的であったが,腎臓や肝臓に対しては一般に10g以上の組織を溶解する必要があり,費用の面で実務利用できなかった。そのため,組織を溶解する能力に優れ,かつ安価に入手可能な別の酵素を用いることが必要であった。

2. 研究の目的

Papainは,広い基質特異性や高い耐熱性を有する植物由来のタンパク質分解酵素である。食品分野では肉の軟化剤,パンの製造やワインの醸造,その他の分野でも化粧品や医薬品,動物飼料などで広く利用されており大量に生産されている。そのため,Proteinase Kよりはるかに安価に入手可能である。そこで,我々はPapainを利用できないか基礎実験を行った。その結果,Papainは,従来のProteinase Kを用いる方法よりも,優れた分解能力をもつことが,確かめられた。

ところで,従来の強酸を用いた壊機法やProteinase Kを用いた酵素法において,完全に溶解することの最も難しい臓器は肝臓である。そこで,我々は肝臓を溶解可能な方法とすることを目標に,市販のブタ肝臓を用いて,これまでに様々な酵素やその反応条件を検討してきた。その結果,Papainは10gのブタ肝臓を迅速かつ完全に溶解でき,費用も安価におさえることが示された。そこで本研究では,これらの基礎実験に基づいてさらに詳細に至適条件を検討し,最終的に法医解剖における実務利用を目指した。

3. 研究の方法

本研究では,まず(1)ブタの諸臓器(肝臓,腎臓,肺)を完全に溶解可能なPapainの至適条件を決定した。次に,(2)実際にヒト諸臓器に応用可能か否かを検討した。

(1)Papainによる組織溶解法のための条件設定:試料として市販のブタ諸臓器(肝臓,腎臓,肺)を使用

これまでの基礎実験からPapainを用いることの有用性は既に示唆されているが,至適条件に関する詳細な検討は未だ十分ではない。そこで,以下のように至適条件を決定した。

Papainによる組織溶解法の至適条件 ブタの肝臓(フナコシ:家畜副産物)を用いて,反応温度やpH等についてPapain(Roche)の至適条件を1gの小スケールで検討した。

至適反応温度 最初に反応温度20℃,30℃,40℃,50℃,60℃,70℃の条件下でPapainの溶解能を比較検討した。

至適pH まずpH 4.0,pH 5.0,pH 6.0,pH 7.0,pH 8.0の条件下での,Papainの溶解能を調べ,至適濃度を決定した。

至適L-Cysteine濃度 Papainの活性化にはL-Cysteineが必須であり,0.25%,0.5%,0.75%,1.0%,1.25%,1.5%濃度の条件下で,Papainの溶解能を調べ,至適濃度を決定した。

Papainの至適濃度の決定 Papainの使用濃度0.1 mg/mL,0.2 mg/mL,0.5 mg/mL,1 mg/mL,2 mg/mLの条件下でPapainの溶解能を比較検討した。但し,あくまでPapainの使用量は実務で利用を想定しているため,検査費内に収まるように考慮した。

PapainとProteinase Kとの比較 Papainは広い基質特異性や高い耐熱性を有する植物由来のタンパク質分解酵素である。一方、Proteinase Kは、従来から広く組織の溶解に利用されてきた。Proteinase Kの使用濃度0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mLの条件下でPapainとの溶解能を比較検討し、Papainを利用することの優位性を明らかにした。

SDSの添加について これまでの我々の基礎実験の結果から、SDSを添加する順序がPapainの溶解能に大きく影響することが示されている。そこで、使用するSDSの濃度と添加するタイミングについて検討した。

試薬に元々混入している珪藻について これまでの我々の基礎実験の結果から、試薬の中には元々珪藻が混入していることが示されている。そこで、本研究で使用する試薬について、混入している珪藻の数及び種類を調べた。

その他のブタ諸臓器(腎臓、肺)についても、肝臓と同様に完全に溶解可能であることを確認した。

(2) 解剖事例に対する有効性の検討

まず簡易プランクトン検査法としての有効性を明らかにした(水中死体及び水辺付近で発見された死体:計20例)。検査試料としては、左右の肺各1g、現場水10 mLを使用し、15 mLの遠沈管内で酵素反応から洗浄・回収まで一連の操作を行った。可能な限り少ない労力と費用で検査を行えるようにプロトコルをデザインした。この際、検査時における空气中、試薬類、検査器具などからのコンタミネーションがないことを確認するために、陰性対照も同時に行った。

次に通常の検体量(腎臓と肝臓 各10g)を用いた場合の有効性を明らかにした。この場合、175 mLの遠沈管を用いて酵素反応やSDS溶解を行い、その遠心分離後は15 mLの遠沈管内でHCl分解から洗浄・回収まで一連の操作を行った。この際、陰性対照も同時に行った。

すべての解剖事例について従来の壊機試験も行い、新しい検査法と従来の壊機法との結果を比較検討した。

4. 研究成果

動物組織の溶解にはProteinase K(微生物由来タンパク質分解酵素)が広く利用されている。法医学領域でもこれを応用した報告が比較的早く(1994年)からあるものの、溶解能が十分でないことや試薬が高価であることなどから広く実務利用されてこなかった。そこで我々はこれまでとは違う方法でQiagen Proteinase K, Buffer ATL及び5N塩酸を用いて、1gの肺組織から安全かつ簡便・迅速(3時間以内)に珪藻を単離する方法を提案した。しかしこの方法は、肺の簡易迅速診断として効果的であったが、腎臓や肝臓に対しては10g以上の組織を溶解する必要があるため、主に費用の面で実務利用できなかった。そこで、我々はこの問題を解決するために、安価に入手可能なPapain(植物由来タンパク質分解酵素)に着目した。そして従来の壊機法や酵素法においても、完全に溶解することの最も難しい肝臓を、まず溶解可能な方法とすることを目標に、市販のブタ肝臓を用いて、試薬や条件を検討し決定した。

Papainの至適反応温度を調べた結果、50において最もブタ肝臓を迅速に溶解させた。反応温度30及び40においては、反応温度の低下に伴って溶解能も低下した。一方60及び70においては、反応温度の上昇に伴って組織の熱凝固が生じ、溶解能が顕著に低下した。

Papainの至適pHはpH 6~7とされ(Roche)、ブタ肝臓を用いて調べたところ、pH 6と7において明らかな違いは認めなかった。但し、L-Cysteine自体の溶解性に関しては、pH 6において明らかに溶解性が低下し、pH 7の方が適していた。

またL-Cysteine及びPapainの至適使用濃度を反応温度50、反応時間1時間で検討したところ、0.5%及び0.5 mg/mLでの使用が、溶解性及び費用の面から適切であり、仮に試料によって溶解性が悪い場合は、随時追加して対応していくことが適切であると考えられた。

PapainとProteinase Kの比較については、Papainの方がブタ肝臓を迅速に溶解させた。またDNAの抽出・精製で一般的に用いられている手法、即ちProteinase Kと2% SDSを同時に反応させる方法については、SDSの存在が酵素活性を顕著に低下させている側面も示された。この結果から、一定の溶解液に対して多量(1/10量)の組織を溶解させる必要のある珪藻検査においては、主に費用の面で適切でないと考えられた。これらの結果から我々はPapainとSDSは同時に用いずに、Papainによる酵素反応後に、SDSを添加する方が効率良く安価に組織を溶解できると考えた。また従来の手法においてProteinase Kの溶解能が優れなかったのは、SDSが始めから添加されていることも関係していたことが考えられた。

試薬類に由来する珪藻のコンタミネーションの可能性を調べた結果、PapainとSDSに珪藻が含まれていることが明らかとなった。この結果から、改めて試薬類のフィルター濾過(0.45 µm)や陰性対照をおくことの必要性が示された。また、フィルター濾過をしていない場合、例え腎臓や肝臓、骨髄などから珪藻が検出されていても、それが溺水の吸引を直接示しているのかどうか、その評価は非常に難しいと考えられた。

これまでの研究成果から、我々は以下のようにPapainを用いた珪藻検査の方法を決定した。まず肝臓10gをメスで細片し、これを175 mL容V底遠心ボトル(ポリカーボネート製, Thermo Scientific)に入れ、0.5 mg/mL Papain (Roche)加及び5 mg/mL L-Cysteine加10 mM PBS (pH 7)120 mLを加えて50、1~2時間反応させる。次いで、SDSを終濃度2%となるように添加し、50、15分間加熱する。液質が透明化したことを確認後、遠心分離を行い(3500 rpm, 15 min)、上清を除去する。次いで、沈渣液を15 mL容コニカル遠沈管(ポリプロピレン製, Nunc)に移し、

超純水で2回洗浄後、5 N 塩酸で70℃、20分間加熱する。さらに超純水で1回洗浄後、最後にエタノールで置換し、プレパラートを作成する。以上の方法を用いることで、肝臓だけでなく肺や腎臓に対しても、優れた溶解能を示すことが明らかとなった。但し、肺については1gの組織から十分な数と種類の珪藻を検出できることがこれまでの研究でも示されている[10]ことから、肝臓の1/10のスケールで行うことが勧められる。即ち、肺については15 mLのコニカルチューブを用いて酵素反応から遠心分離まで行うことが可能で非常に簡便かつ迅速に行うことができるようになった。

一方、予備実験として脂質の分解を目的にリパーゼ等の添加も検討したが、分解能の明らかな向上はみられず、操作ステップや経費が増えるため実務検査として適さないと考えられた。さらに組織の微生物分解も検討したが、ある程度まで分解はできたものの、珪藻検出に最適なレベルの分解能は得られなかった。また、珪藻は化学的には非常に安定であるものの、物理的な力に対しては壊れやすい種も多く、酵素溶解液の攪拌時(ボルテックス)やプレパラート封入時(カバーグラスを押し当てる際)に注意を要することも示された。特に、海産珪藻は壊れやすく、淡水と海水の識別に最も重要な指標と成り得る *Chaetoceros* や *Bacteriastrium* などは、特に注意を要することが明らかとなった。

最終的に今回開発した新しい手法を用いて、実際の水中死体20例に対して検査したところ、肺については従来の強酸を用いた壊機法と比較して、組織の溶解力はやや低下したものの、本来肺組織に含まれる珪藻の数は十分に多いため、問題なく検査に利用できた。一方、腎臓や肝臓についても従来の壊機法より溶解力は低下したもののほぼ完全に組織を溶解できた。ただし、加熱した強酸による分解と比較して、強力に分解できるわけではないので、やはり遠心分離に際して沈下せずに回収できない珪藻も生じるため、検査の労力や時間、費用等を考慮すると、腎臓や肝臓を溶解する場合は従来の発煙硝酸を用いて組織を完全に溶解する方法が結局は好ましいと考えられた。

さらに本研究を通じて腎臓や肝臓に含まれる珪藻の数は従来広く言われているよりずっと少ない可能性も示唆された。また検査を行うにあたり、最も注意すべき点として試薬類に元々含まれている珪藻によって生じ得るコンタミネーションが挙げられた。

以上の結果から本研究によって確立したPapainによる安全かつ簡便・迅速な珪藻検査法は法医学実務で役立つことが示された。このように簡便・迅速かつ安全・安価な珪藻検査の方法は国内外を問わず報告例がなく、今後新しい検査法として死因究明や犯罪捜査に貢献できると考えている。

[本研究は以下のこれまでの我々の溺死診断研究を基盤にして計画し実行することで成果を得ることができた]

【1】 Kakizaki E, Takahama K, Seo Y, Kozawa S, Sakai M, Yukawa N. Marine bacteria comprise a possible indicator of drowning in seawater. *Forensic Sci Int* 176 (2008) 236-247.

【2】 Kakizaki E, Kozawa S, Sakai M, Yukawa N. Bioluminescent bacteria have potential as a marker of drowning in seawater: Two immersed cadavers retrieved near estuaries. *Legal Med* 11 (2009) 91-96.

【3】 Kakizaki E, Kozawa S, Tashiro N, Sakai M, Yukawa N. Detection of bacterioplankton in immersed cadavers using selective agar plates. *Legal Med* 11 (2009) S350-S353.

【4】 Kakizaki E, Kozawa S, Matsuda H, Muraoka E, Uchiyama T, Sakai M, Yukawa N. Freshwater bacterioplankton cultured from liver, kidney and lungs of a decomposed cadaver retrieved from a sandy seashore: possibility of drowning in a river and then floating out to sea. *Legal Med* 12 (2010) 195-199.

【5】 Kakizaki E, Kozawa S, Matsuda H, Muraoka E, Uchiyama T, Sakai M, Yukawa N. In vitro study of possible microbial indicators for drowning: salinity and types of bacterioplankton proliferating in blood. *Forensic Sci Int* 204 (2011) 80-87.

【6】 Kakizaki E, Kozawa S, Imamura N, Uchiyama T, Nishida S, Sakai M, Yukawa N. Detection of marine and freshwater bacterioplankton in immersed victims: post-mortem bacterial invasion does not readily occur. *Forensic Sci Int* 211 (2011) 9-18.

【7】 Kakizaki E, Kozawa S, Sakai M, Yukawa N. Numbers, sizes and types of diatoms around estuaries for a diatom test. *Am J Forensic Med Pathol* 32 (2011) 269-274.

【8】 Kakizaki E, Ogura Y, Kozawa S, Nishida S, Uchiyama T, Hayashi T, Yukawa N. Detection of diverse aquatic microbes in blood and organs of drowning victims: First metagenomic approach using high-throughput 454-pyrosequencing. *Forensic Sci Int* 220 (2012) 135-146.

【9】 Uchiyama T, Kakizaki E, Kozawa S, Nishida S, Imamura N and Yukawa N. A new molecular approach to help conclude drowning as a cause of death: Simultaneous detection of eight bacterioplankton species using real-time PCR assays with TaqMan probes. *Forensic Sci Int* 222 (2012) 11-26.

【10】 Kakizaki E and Yukawa N. Simple protocol for extracting diatoms from lung tissues of suspected drowning cases within three hours: First practical application. *Forensic Science International* 251: 179-185 (2015).

【11】 柿崎英二, 湯川修弘. 特集 次世代シーケンサーが可能にした感染学の新しい展開, 4. 臨床への応用(Clinical Sequencing), 4)法医学への応用. 化学療法の領域 33: 143-151 (2017).

【12】 Kakizaki E, Sonoda A, Sakai M and Yukawa N. Simple detection of bacterioplankton using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay: First practical approach to 72 cases of suspected drowning. Forensic Science International 289: 289-303 (2018).

【13】 Kakizaki E, Sonoda A, Shinkawa N and Yukawa N. A new enzymatic method for extracting diatoms from organs of suspected drowning cases using papain: Optimal digestion and first practical application. Forensic Science International 297: 204-216 (2019).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shinkawa N*, Kakizaki E, Sonoda A, Yukawa N	4. 巻 42
2. 論文標題 Adult dismembered body with myositis ossificans: Evidence for physical abuse in an autopsy case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Forensic Medicine and Pathology	6. 最初と最後の頁 73-76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAF.0000000000000628.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 新川慶明*, 中野 敦, 柿崎英二, 林 里采, 園田 愛, 湯川修弘.	4. 巻 5040
2. 論文標題 小児のボタン電池誤飲を防ぐために - 低電圧1.5Vのボタン電池でも組織傷害性アルカリは生成される (第2報)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本医事新報	6. 最初と最後の頁 48-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 新川慶明*, 湯川修弘	4. 巻 63
2. 論文標題 亜硝酸ナトリウムとアスコルビン酸 / 塩の混合中毒? 【レター】	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 法医学の実際と研究	6. 最初と最後の頁 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kakizaki E*, Sonoda A, Shinkawa N, Yukawa N*	4. 巻 297
2. 論文標題 A new enzymatic method for extracting diatoms from organs of suspected drowning cases using papain: Optimal digestion and first practical application	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Forensic Science International	6. 最初と最後の頁 204-216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forsciint.2019.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi S, Kakizaki E, Sonoda A, Shinkawa N, Shiragami T*, Yukawa N*	4. 巻 299
2. 論文標題 Acceleration effect of the forensic luminol reaction induced by visible light irradiation of whole human blood aqueous solutions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Forensic Science International	6. 最初と最後の頁 208-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forsciint.2019.04.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinkawa N*, Yamaguchi M, Ozaki M, Yukawa N	4. 巻 40
2. 論文標題 Neonatal Death Caused by Interrupted Aortic Arch Associated With 22q11.2 Deletion Syndrome: An Autopsy Case Report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Forensic Medicine and Pathology	6. 最初と最後の頁 178-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAF.0000000000000454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kakizaki E, Sonoda A, Sakai M and Yukawa N	4. 巻 289
2. 論文標題 Simple detection of bacterioplankton using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay: First practical approach to 72 cases of suspected drowning	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Forensic Science International	6. 最初と最後の頁 289-303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forsciint.2018.05.035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 新川慶明, 中野 敦, 柿崎英二, 林 里采, 園田 愛, 湯川修弘	4. 巻 4896
2. 論文標題 小児のボタン電池誤飲を防ぐために - 低電圧1.5Vのボタン電池でも組織傷害性アルカリは生成される	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本医事新報	6. 最初と最後の頁 20-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 林 里采, 石田 康, 園田 愛, 新川慶明, 柿崎英二, 湯川修弘	4. 巻 61
2. 論文標題 覚せい剤 (メタンフェタミン) の法医学講義ノート	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 法医学の実際と研究	6. 最初と最後の頁 201-216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 柿崎英二, 園田 愛, 柳井章江, 新川慶明, 湯川修弘
2. 発表標題 壊機法によるプランクトン検査: 偽陽性を生じる要因の一つについて
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林 里采, 白上 努, 松本 仁, 柿崎英二, 新川慶明, 園田 愛, 湯川修弘
2. 発表標題 Evaluation of photochemical damage of visible-light-irradiated blood by forensic luminol reaction
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 湯川修弘, 新川慶明, 林 里采, 園田 愛, 柿崎英二
2. 発表標題 Degree of reductionを用いたアルコール代謝の法医学教育
3. 学会等名 第70回日本法医学会学術九州地方集会 (福岡)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 園田 愛, 柿崎英二, 新川慶明, 湯川修弘
2. 発表標題 水棲微生物を指標とした溺死の補助診断法：最も少ない労力で検査を行うためのプロトコールの最適化
3. 学会等名 第103次日本法医学会学術全国集会（仙台）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新川慶明, 園田 愛, 松山美紀, 柿崎英二, 林 里采, 和田 啓, 湯川修弘
2. 発表標題 慢性硬膜下出血内に認められたヘマトイジン含有マクロファージと思われる黄色色素含有細胞
3. 学会等名 第103次日本法医学会学術全国集会（仙台）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新川慶明, 柿崎英二, 林 里采, 園田 愛, 湯川修弘
2. 発表標題 切断された遺体に骨化性筋炎を認め、生前の暴行が疑われた一例
3. 学会等名 第69回日本法医学会学術九州地方集会（大分）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 里采, 白上 努, 柿崎英二, 新川慶明, 園田 愛, 湯川修弘
2. 発表標題 血液水溶液への可視光照射によるルミノール反応の加速効果
3. 学会等名 第69回日本法医学会学術九州地方集会（大分）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kakizaki E, Sonoda A, Shinkawa N, Yukawa N
2. 発表標題 A new enzymatic method for extracting diatoms from lung, kidney and liver tissues of suspected drowning cases using papain digestion: First practical application
3. 学会等名 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine (IALM) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yukawa N, Shinkawa N, Sonoda A, Kakizaki E, Hayashi S
2. 発表標題 Autopsy of a body with discolored sun-exposed areas of skin, and a literature survey on postmortem suntan
3. 学会等名 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine (IALM) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 湯川修弘, 新川慶明, 柿崎英二, 園田 愛, 林 里采, 小片 守
2. 発表標題 右手に笹の葉を硬く握った状態で発見され即時性死体硬直と思われた溺死の一解剖例
3. 学会等名 第68回日本法医学会学術九州地方集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新川慶明, 柿崎英二, 林 里采, 園田 愛, 湯川修弘
2. 発表標題 ボタン電池の誤飲や嵌頓において, 低電圧1.5 Vの電池でも組織傷害性のアルカリが生成される理由について
3. 学会等名 第68回日本法医学会学術九州地方集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	園田 愛 (Sonoda Ai) (10762122)	宮崎大学・医学部・助手 (17601)	
研究分担者	新川 慶明 (Shinkawa Norihiro) (40625836)	宮崎大学・医学部・助教 (17601)	
研究分担者	湯川 修弘 (Yukawa Nobuhiro) (30240154)	宮崎大学・医学部・教授 (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------