

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390185

研究課題名（和文） 法医鑑定における薬物分析のシステム化とフィールドスタディ

研究課題名（英文） Development of efficient drug analysis system in forensic practice

研究代表者

工藤 恵子（KUDO KEIKO）

九州大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10186405

研究成果の概要（和文）：

標準物質を用いなくても薬物の確認と濃度推定が可能なGC/MSによる画期的スクリーニング法を開発し、法医実務に応用した。さらに催眠鎮静剤43種についてLC/MSによる高感度定量法を確立した。2003年から2006年の4年間の中毒死関連の2つの統計データを用い、我が国の中毒発生状況の実態について調査を行った。さらにフィンランドのすぐれた薬物分析システムを調査することで、実務的な側面からわが国に最も適した薬物分析システムの構築を試みた。

研究成果の概要（英文）：

A novel screening procedure using calibration locking databases was developed by GC/MS. The method does not require standard substances and semi-quantitative data can be obtained simultaneously. We also developed a rapid and quantitative screening method for 43 hypnotics by LC/MS. The attempt for developing the most efficient drug analysis system in Japan was made based on a retrospective study on the kinds of compounds causing poisonings and on the analysis of the frequency of their use employing two series of reports dealing with fatal poisoning cases and a review of the drug analysis system accompanied by forensic autopsy in Finland.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：法医中毒学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：GC/MS, データベース, LC/MS, NAGINATA, 薬毒物スクリーニング, フィンランド

## 1. 研究開始当初の背景

わが国における法医解剖に伴う薬物分析は、これまで極めて古典的な方法がとられてきた。すなわち、アルコールと一酸化炭素の分析に加え、トライエージに代表される免疫

学的手法を中心に各法医学教室で個別に行われ、特殊な薬物の分析が必要となった場合にのみ執刀医の判断で他機関へ個人的に分析を依頼するという方法であった。しかしながら近年の薬物乱用の多様化、すなわち違法

ドラッグなどの若者への急激な浸透、それに伴う薬物がらみの犯罪の増加、薬物に関連した医療事故の増加により、従来の薬物分析体制では、原因薬物の見落としや、結果の誤った判定などを引き起こす可能性が生じてきた。

このような状況下、平成17年度より法医鑑定謝金とは別に薬毒物スクリーニングに対して初めて検査代が支給されることになり、全国の法医学教室で一斉にトライエージによるスクリーニングが開始された。ようやくわが国も薬物分析のシステム化に向けて踏み出したことになる。しかしながら、スクリーニングに引き続いて行われるべき確認検査や定量分析はすべての法医学教室で可能なわけではなく、欧米諸国のように、高度な専門知識と技術を有する法中毒学者が複数常勤し、かつ精密・高感度な分析機器を有するセンター的な分析施設の設置が急務であり、そこでは、膨大な試料に対する高精度な分析をシステム化することが最重要課題となると考えられる。

申請者らは、上記目標に向けて、平成16年度から科学研究費の補助を得て、現在最も薬物鑑定で苦慮している、多種多様な依存性薬物の一斉スクリーニング法の確立に着手した。その結果、MDMAやマジックマッシュルームの成分、多種の違法ドラッグ類を含む30種に及ぶ乱用薬物を3時間以内に尿中から全て確認・半定量可能な画期的な方法を確立した。成果は2005年9月にソウルで開催された国際法中毒学会で発表すると同時に国際誌にも掲載されている。

続いて、得られた乱用薬物の保持時間や質量スペクトルなどのデータをガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)のデータ解析ソフトに搭載することで、全依存性薬物を標準物質がなくても迅速に確認可能なGC/MS分析のためのソフトウェアの開発に着手して若干の知見を得た。この方法を用いると分析後のデータ処理が迅速にできることから分析時間の大幅な短縮が可能で、これにより他施設からの分析依頼にも対応可能となることを見出した。

## 2. 研究の目的

これまでの研究成果を元に乱用薬物および催眠鎮静剤を中心に検量線搭載のデータベースを用いた画期的なスクリーニング法

を完成させ、研究協力機関を募って全国規模のフィールドスタディを行うことで、わが国の法医解剖における薬物鑑定の現状とニーズを把握し、さらにわが国と同様の解剖体制をとっているフィンランドのすぐれた分析システムを調査することで、実務的な側面からわが国に最も適した薬物分析システムを構築することが目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 乱用薬物および催眠鎮静剤のGC/MSによるスクリーニング法の確立

これまでの研究成果をもとに、乱用薬物と催眠鎮静剤の薬物情報をガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)のデータ解析ソフト(NAGINATA)に搭載し、これらを血液および尿中から標準物質がなくても迅速に確認可能なスクリーニング法を開発する。

(2) LC/MSによる催眠鎮静剤の一斉分析法の開発

薬物がらみの犯罪や精神科疾患の治療などに多く用いられ、しばしば薬物分析の対象となるが、通常のGC/MS分析では確認不可能なベンゾジアゼピン系薬物を代表とする微量の睡眠鎮静剤の液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)による高感度一斉分析法を確立する。

(3) わが国における中毒発生状況の調査と分析対象薬毒物の絞込み

中毒死関連の2つのデータ(科学警察研究所編:薬物による中毒事故等の発生状況、日本法医学会編:鑑定例概要)の2003年から2006年の4年間について中毒起因物質の種類とその出現頻度について調査を行い、我が国の薬物鑑定に最も重要な薬毒物を選定する。

(4) NAGINATA薬毒物データベースの拡充と前処理法の開発

上記(3)の結果を元に、法医鑑定に必要な薬毒物の質量スペクトル、保持時間、検量線情報をNAGINATA上に登録すると同時に各薬物群に最も効率的な前処理法を確立する。

(5) フィンランドの薬物分析システムの調査・研究

フィンランドにおいて国内6,000体の法医解剖事例と3,000人の臨床中毒事例を一ヶ所で

分析している、ヘルシンキ大学法医学教室の極めてすぐれた分析システムを同大学の協力の下に調査する。

#### (6) 我が国に最も適した薬物分析システムの構築

本研究で開発したNAGINATA薬毒物スクリーニングシステムを導入した、全国の法医学教室と連携して同一の方法で多数の解剖事例の分析を行い、事例概要と分析結果を照らし合わせて実務的な側面からわが国に最も適した薬物分析システムを構築する。

### 4. 研究成果

#### (1) 乱用薬物および催眠鎮静剤の GC/MS によるスクリーニング法の確立

確立した 30 種の乱用薬物の一斉スクリーニング法をもとに、さらに 25 種の催眠鎮静剤を加え、各薬物の①保持時間と②質量スペクトル③イオン強度の比、さらに④検量線情報を GC/MS の精度管理・相対定量ソフトウェア NAGINATA™ を用いてデータベース化した。続いてこれらの薬物を効率よく抽出可能な方法を検討し、極性化合物の抽出に適したエンハンスドポリマー充填剤 Focus カラムで薬物を抽出、アセチル化後作成したデータベースを用いることで、標準物質を所持しなくても薬物が存在するかどうかを迅速に判定し、試料中濃度も概算可能な画期的なスクリーニング法を確立した。

#### (2) LC/MSによる催眠鎮静剤の一斉分析法の開発

計43種の催眠鎮静剤を同時に高感度で定量できるすぐれたLC/MSによる分析法を確立して鑑定に应用することが可能となった。この方法は高感度であるため犯罪目的で用いられた微量の睡眠薬の検出にも大きな成果を発揮している。

#### (3) わが国における中毒発生状況の調査と分析対象薬毒物の絞込み

中毒死関連の2つのデータ（科学警察研究所編：薬物による中毒事故等の発生状況、日本法医学会編：鑑定例概要）の2003年から2006年の4年間について詳細に調査した結果分析が必要な最重要薬毒物として314種を選定することに成功した。その内訳は揮発性毒物36種、乱用薬物14種、医薬品170種、農薬60

種、天然毒13種、その他21種である。

#### (4) NAGINATA薬毒物データベースの拡充と前処理法の開発

(3)の研究成果に基づき、薬毒物のデータベースへの拡充を行った。本研究終了までに作成出来たデータベースは塩基性薬毒物（アセチル214種、遊離体186種）酸性薬物20種で、今後農薬や揮発性毒物を追加する予定である。

非ステロイド性抗炎症薬および大麻の代謝物などのカルボキシル基を含む酸性薬物について、効率よく抽出可能な方法を検討した。その結果、Oasis Maxカラムを用い、TMS誘導体化とすることで、効率のよい酸性薬物の前処理法を考案した。

#### (5) フィンランドの薬物分析システムの調査・研究

フィンランドヘルシンキ大学法医学教室中毒部門、Erkki Vuori教授、トゥルク大学法医学教室Pekka Saukko教授の協力の下、法医鑑定に伴う薬毒物の分析システムについて、主に下記の点について調査を行い日本法医学雑誌で報告した。

- ①解剖機関での試料の採取、送付の方法
- ②分析機関での試料の搬入、保存、分析、データの集積、結果の解釈、報告書作成、結果の報告、試料の破棄までの実際の流れ
- ③個々の薬物群ごとの実際の分析方法
- ④法医解剖特有の特殊試料（腐敗臓器、骨髄など）の分析
- ⑤分析試料数、勤務者人数、分析費用の捻出先、年間予算
- ⑥分析結果が裁判で争われる時の対応方法

#### (6) 我が国に最も適した薬物分析システムの構築

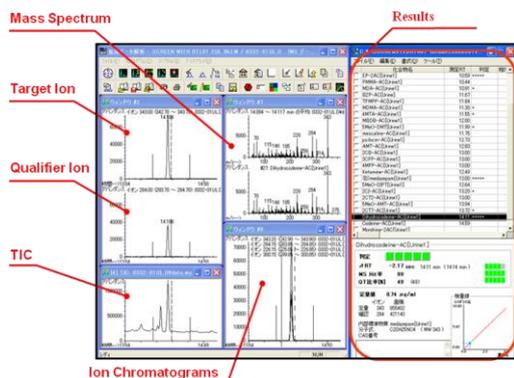
本研究の成果である薬毒物データベースを用いたスクリーニング法は、全国の分析機関に次第に広まり、現在12大学の法医学教室を含め17機関で稼働している。そこで、これらの施設での薬毒物分析を支援するため、利用者相互の情報交換を目的としたメーリングリストの立ち上げを行った。さらに分析者の知識と技術の向上を目的とした講習会を開催した。このメーリングリストと講習会による分析支援体制は、我が国の薬毒物分析の標準化に大きく貢献できると考える。現在、12大学の法医学教室で一斉に法医鑑定のための薬毒

物分析を行い、事例概要と分析結果を照らし合わせながら薬物鑑定における問題点の把握を行っている。この多機関による膨大なデータの蓄積が、わが国に最も適した薬物分析システムを構築する上で、最も貴重な情報を与えるものと考えている。

### NAGINATA 薬毒物スクリーニングの結果画面



### マニュアル解析画面



### 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6件)

① K. Kudo, T. Ishida, W. Hikiji, Y. Usumoto, T. Umehara, K. Nagamatsu, A. Tsuji, N. Ikeda: Pattern of poisoning in Japan: selection of drugs and poisons for systematic toxicological analysis. Forensic Toxicol 28 (2010) 25-32. (査読有)

② K. Kudo, T. Ishida, W. Hikiji, M. Hayashida, K. Uekusa, Y. Usumoto, A. Tsuji, N. Ikeda: Construction of calibration-locking databases for rapid and reliable drug screening by gas chromatography-mass spectrometry. Forensic Toxicol 27 (2009) 21-31. (査読有)

③ T. Ishida, K. Kudo, M. Hayashida, N. Ikeda: Rapid and quantitative screening method for 43 benzodiazepines and their metabolites, zolpidem and zopiclone in human plasma by liquid chromatography/mass spectrometry with a small particle column. J Chromatogr B 877 (2009) 2652-2657. (査読有)

④ 工藤恵子, 石田知己, 井上裕匡, 影浦光義: フィンランドにおける法医学解剖に伴う薬物分析システムの調査研究. 日本法医学雑誌 62 (2008) 124-135 (査読有)

⑤ 工藤恵子, 石田知己, 池田典昭: ガスクロマトグラフィー質量分析による標準物質を必要としない乱用薬物一斉分析法の開発. J Mass Spectrom Soc Jpn 56 (2008) 123-130 (査読有)

⑥ T. Ishida, K. Kudo, S. Naka, K. Toubou, T. Noguchi, N. Ikeda: Rapid diagnosis of drug intoxication using novel NAGINATA gas chromatography/mass spectrometry software. Rapid Commun Mass Spectrom 21 (2007) 3129-3138. (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

①工藤恵子：我が国における中毒発生状況：体系的薬毒物分析のための中毒起因物質の選定 第 94 次日本法医学会総会 2010 年 6 月 24 日 東京

②永松久実：NAGINATA データベース法による非ステロイド性抗炎症薬のスクリーニング 日本法中毒学会第 29 年会 2010 年 7 月 24 日 東京

③K KUDO : Construction of calibration locking databases for rapid and reliable drug screening by gas chromatography-mass spectrometry 第 47 回国際法中毒学会 2009 年 8 月 24 日 ジュネーブ

④工藤恵子：GC/MS による標準品を必要としない薬毒物スクリーニングのためのデータベースの構築 日本法中毒学会第 28 年会 2009 年 6 月 13 日 金沢

⑤工藤恵子：GC/MS による薬毒物スクリーニングにおけるアセチル化の有用性 日本法中毒学会第 27 年会、2008 年 6 月 14 日、東京

⑥工藤恵子：標準物質を必要としない簡易薬毒物スクリーニング法の開発と臨床応用の可能性 第 1 回 日本中毒学会九州地方会 2009 年 3 月 7 日 飯塚

⑦石田知己：UPLC-MS による血漿中ベンゾジアゼピン系薬物およびその代謝物、ゾルピデム、ゾピクロン計 43 種の迅速高感度定量法の確立 第 33 回 日本医用マススペクトル学会年会 2008 年 9 月 26 日 東京

[その他]

ガスクロマトグラフィー・質量分析用薬毒物データベース

著作権：九州大学所有 (QC080006)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

工藤 恵子 (KUDO KEIKO)

九州大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10186405

### (2) 研究分担者

池田 典昭 (IKEDA NORIAKI)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：60176097

### (3) 研究分担者

辻 彰子 (TSUJI AKIKO)

九州大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：10171993