

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18983

研究課題名（和文）腐敗剖検試料におけるエタノール死後産生の評価に有用な揮発性成分の定量解析

研究課題名（英文）Quantitative analysis of volatile compounds useful for evaluating postmortem ethanol production in decomposed autopsy specimens.

研究代表者

池松 夏紀（IKEMATSU, Natsuki）

琉球大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：20848410

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：腐敗事例のエタノール分析では、エタノール死後産生の指標として使われているn-プロパノールが必ずしも検出されず、飲酒の判定に苦慮することがある。本研究では剖検例の大腿筋肉を対象に、n-プロパノールの再評価と、より指標に適した代替成分の探索を行った。その結果、n-プロパノールの有無は腐敗指標としては有用である一方、検出される割合は低いことが分かった。またエタノール/アセトアルデヒド濃度比が飲酒判定の基準として利用できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

法医学の教科書では、エタノールの死後産生は同時に検出されるn-プロパノールによって判断出来ると記述されているが、実務ではn-プロパノールの検出がない、あるいはとても微量で、その定量値による飲酒判定は困難な場合が多い。今回の成果によって、n-プロパノールを腐敗指標として使うことの有用性とその限界が示された。また、n-プロパノールに代わる飲酒判定の基準としてエタノール/アセトアルデヒド濃度比が利用できる可能性が示唆された。解剖死体の生前飲酒を誤って解釈しないために有用な研究成果となった。

研究成果の概要（英文）：Ethanol analysis in decomposed autopsy cases can be difficult to determine alcohol consumption. One reason for this is that n-propanol, which is used as an indicator of postmortem Ethanol production, is not always detected. In this study, we re-evaluated n-propanol and search for a more suitable alternative compound as a putrefactive indicator by using the femoral muscles of autopsy cases. It was found that the presence of n-propanol is useful as an indicator of decomposition, although the detection rate is low. It was suggested that the ethanol/acetaldehyde concentration ratio could be used as a criterion for determining alcohol consumption.

研究分野：法医中毒学

キーワード：腐敗性揮発成分 エタノール死後産生 ガスクロマトグラフ質量分析装置 GC-MS/MS 法医剖検例

## 様式 C - 19 , F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

法医学検体中のエタノール濃度は死因を鑑定する上で極めて重要な情報となるため、多くの法医学講座でルーチン分析としてエタノール検査が行われている。死体現象が進んで発見された腐敗事例では、死因究明につながる情報が少なく、この場合のエタノール摂取の有無も重要な情報の一つとなりうる。しかし腐敗事例でのエタノール濃度は、死後に繁殖した細菌や酵母によるエタノール産生の影響を受けるため、検出されたエタノールが生前摂取なのか死後産生なのかを見極めることが重要となる。

腐敗で生じる成分としては、n-プロパノールが最もよく知られており、エタノール死後産生の評価基準として広く用いられている。Nanikawaらは *in vitro* の実験で、血液中エタノールの死後産生量は n-プロパノール濃度の 20 倍を超えないと報告<sup>1)</sup>しており、その基準は広く用いられ、定説として、日本の複数の法医学教科書に記載されている。

しかしながら実際には、肉眼的に腐敗している事例においても、試料から n-プロパノールが検出されない、或いは微量である事例を経験し、その際のエタノール濃度の評価に苦慮する(図1)。

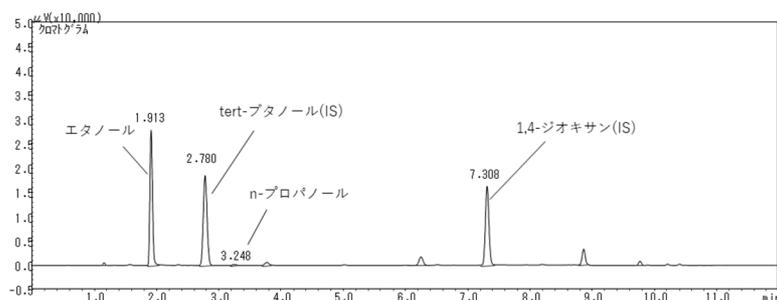


図1 腐敗事例(大腿筋肉)のクロマトグラム

独居・自宅死亡。死後10日程度経過。糖尿を発症してから、飲酒をやめたという情報のある事例。

定量結果：エタノール 1.55 mg/g、n-プロパノール 0.02 mg/g

IS：内部標準物質

Liangらによって報告された *in vivo* の実験<sup>2)</sup>でも、死後変化が軽度であると n-プロパノールは検出されないこと、死後産生エタノール/n-プロパノール濃度比は 20 を超えることがあるとして、この濃度比を用いてエタノールの死後産生量を概算することはできないと報告されている。

また事例によっては n-プロパノールの検出は微量だが、他の死後産生成分がより顕著に検出されることもあり、n-プロパノールが腐敗指標の代表として扱われていることに疑問を持った。

### 2. 研究の目的

本研究では(1)n-プロパノールの再評価、(2)より良い指標となる、高頻度で検出される成分の探索を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は琉球大学・人を対象とする医学系研究倫理審査委員会の承認を受けて行った(承認番号 1607)。

#### 【対象】

2019年4月～2021年12月までに当講座にて解剖した事例 883 例

#### 【サンプル調製】

大腿筋肉 0.1 g、内部標準物質 (tert-Butanol) 0.1 mL、希釈液 (2.38%過塩素酸、0.2%チオ尿素含有の超純水) 0.8 mL を混合、ビーズクラッシャーでホモジナイズしたのち遠心分離した上清 0.5 mL + 希釈液 0.5 mL をバイアルに入れる。

#### 【分析方法】

試料をヘッドスペース法にて GC-MS/MS (GCMS-TQ8040 NX ,HS-20・Shimadzu) に導入し、Scan・SIM 分析した。

#### 機器条件

検出器：EI、カラム：Rtx-BAC Plus 1 (30 m x 0.32 mm i.d., 1.8 μm df, RESTEK)

キャリアガス・カラム流量：ヘリウム 2.1 mL/min、スプリット比 30

GC オープン温度：40 (4分保持) (昇温 10 /min) 120 (昇温 40 /min) 200

(3分保持)

HS オープン温度：60 ，サンプルライン温度：100 ，トランスファーライン温度：150  
定量計算は内部標準法（検量線）を用いた。

### 【統計解析】

883 事例を下記に則り群分けした。

- (1) 死後経過時間(PMI)分類：日本法医学会鑑定例概要に基づく7段階（12時間以内，24時間以内，48時間以内，1週間以内，10日以内，1ヶ月以内，1ヶ月超）
- (2) 飲酒の有無：3段階（飲酒有り，無し，不明）。ルーチンのアルコール検査結果や警察からの情報（飲酒習慣の有無，現場での酒の有無など）を元の実務上判断しえる範囲で行った。
- (3) ケトアシドーシスの有無：2段階（ケトアシドーシス有り，無し）。死因・既往・生活習慣などの情報を元に，ケトアシドーシスになりうるバックグラウンドがある事例はケトアシドーシス有り群へ分類し，それ以外を無し群とした。

統計解析には JMP® 15.0.0 (SAS Institute) を用いた。

エタノール，n-プロパノール，アセトアルデヒド，イソバレルアルデヒドは飲酒無し群 614 事例，アセトンとイソプロパノールは飲酒無しかつケトアシドーシス無し群 509 事例を対象に，各定量値と PMI 分類で Steel-Dwass 検定を行い，各成分の死後産生を評価した（有意水準  $p < 0.05$ ）。

またエタノールを除いた 5 成分の定量値ならびにエタノールとの濃度比を用いて，飲酒有り群と飲酒無し群の Classification Tree 解析を行った。統計解析は琉球大学医学部保健学科基礎看護学講座生物統計学分野・米本孝二教授の助言を受けて行った。

## 4. 研究成果

### (1) 大腿筋肉試料からの揮発成分の同定

883 事例の大腿筋肉から下記の 42 成分を同定した。

エタノール，アセトアルデヒド，イソプロパノール，アセトン，n-プロパノール，イソバレルアルデヒド，1-ブタノール，1-ペンタノール，2-エチルフラン，2-ブタノール，2-ブタノン，2-ペンタノール，2-ペンタノン，2-メチル1-ブタノール，2-メチルブチルアルデヒド，2-メチルフラン，2-メチルプロパン酸エチルエステル，2-メチル酪酸エチルエステル，2-メチル酪酸，3-ヘプタノン，3-メチルブタノール，3-メチル酪酸エチルエステル，3-メチル酪酸，イソブチルアルデヒド，イソ酪酸，ギ酸ブチルエステル，ジメチルジスルフィド，ブチルアルデヒド，プロパン酸エチルエステル，プロピオン酸，プロピオン酸ブチル，ヘキサノール，ペンタン酸エチルエステル，ペンタン酸，メタンチオール，酪酸イソプロピル，酢酸，酢酸ブチル，酢酸プロピル，酪酸，酪酸エチルエステル，酪酸プロピルエステル

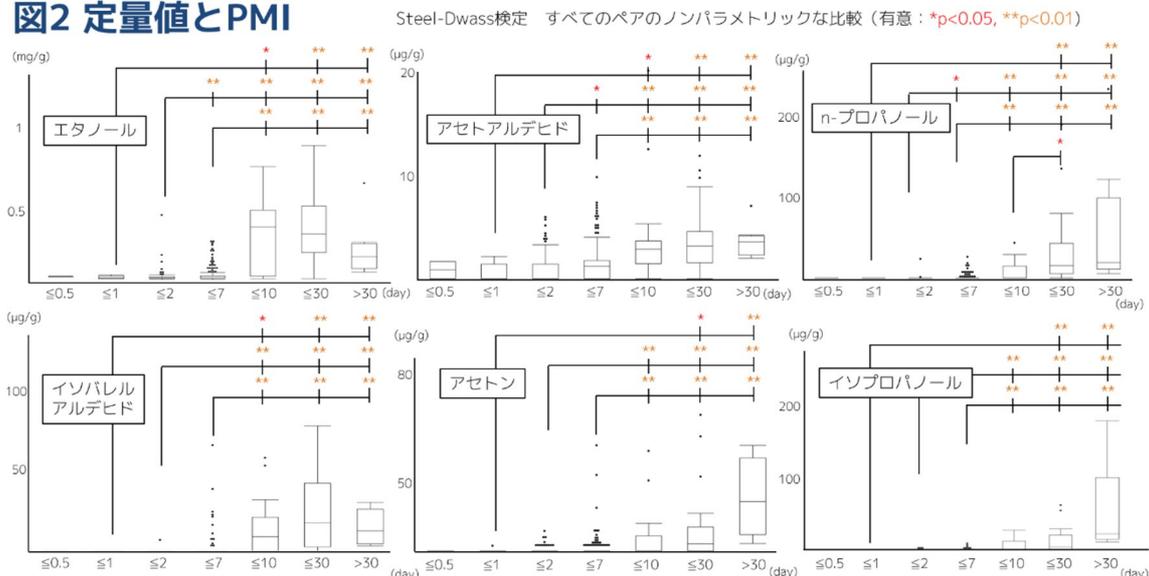
### (2) 検出頻度上位成分の定量値の統計解析

上記の 42 成分のうち，検出頻度上位の成分としてエタノール，アセトアルデヒド，イソプロパノール，アセトン，n-プロパノール，イソバレルアルデヒドの 6 成分を選出し定量した。

### 腐敗段階と定量値の関係

飲酒無群の中で PMI が短い群に対し長い群で 6 成分いずれも有意に高値を示した(図2)。

図2 定量値と PMI



### n-プロパノールの再評価

エタノール検出に対する n-プロパノール検出の割合を確認すると、n-プロパノールは腐敗が始まる PMI 2 日以上の事例で検出されはじめ、PMI が 1 ヶ月を超える事例ではエタノール検出に対して 100% の割合で検出された(図 3)。このことから n-プロパノールの有無は腐敗指標としては有用である一方、エタノールと比べて検出される割合が低いと分かった。

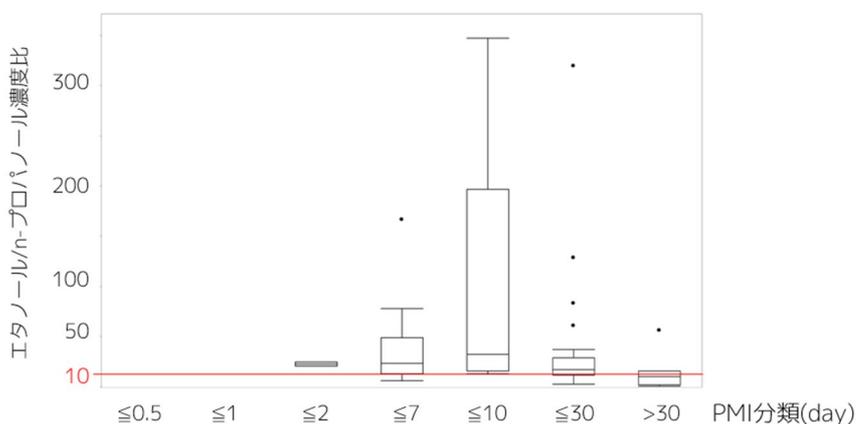
また、過去の Nanikawa らの報告で「大腿筋肉中の腐敗産生エタノール濃度は n-プロパノール濃度の 10 倍を超えない」とされる<sup>1)</sup>。

今回の定量値で濃度比を求めてみたところ、その多くが 10 倍を超え、また PMI によっても変動し一定ではなかった(図 4)。よって n-プロパノール濃度でエタノール死後産生量を推測することはできないと考えられた。

図3 n-プロパノールの検出割合

PMI分類 (day)	n-プロパノール検出数/エタノール検出数 (%)
≤ 0.5	0
≤ 1	0
≤ 2	1
≤ 7	7
≤ 10	42
≤ 30	86
> 30	100

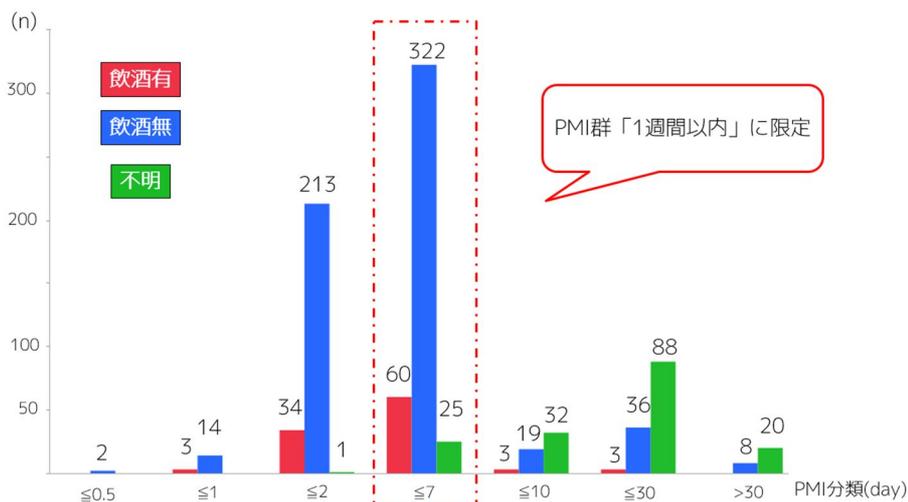
図4 濃度比



### 飲酒判定基準の探索

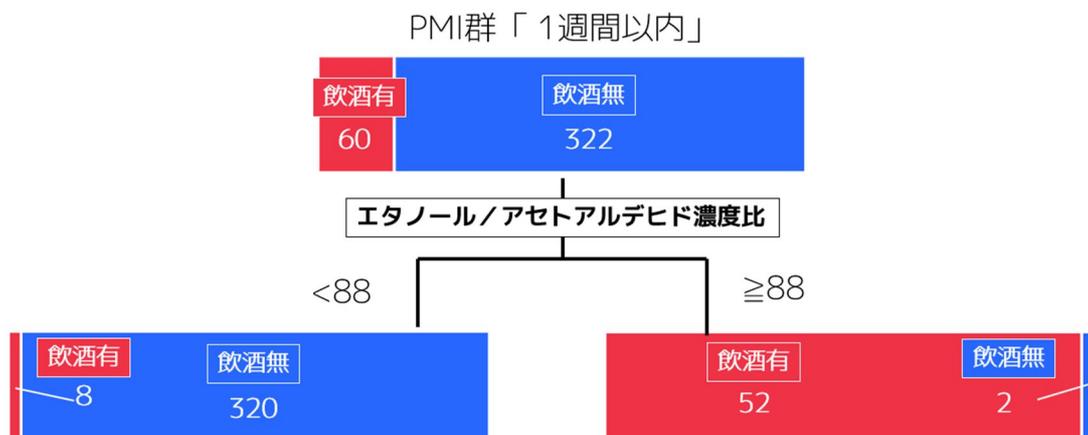
飲酒有群と無群を比較して飲酒判定の基準を探すにあたり、十分な n 数があり、また腐敗の影響が出てくる PMI 群である「1 週間以内」(図 5) に限定して解析を行った。

図5 飲酒分類の内訳



Classification Tree 解析の結果、PMI が 1 週間以内の飲酒有群の多くでエタノール/アセトアルデヒド濃度比が 88 以上であり、この比が飲酒判定の基準として利用できる可能性が示唆された(図 6)。

## 図6 Classification Tree解析結果



### <引用文献>

- 1) R Nanikawa, K Ameno, Y Hashimoto, K Hamada. Medicolegal studies on alcohol detected in dead bodies--alcohol levels in skeletal muscle. *Forensic Sci Int*, 1982, 20:133-40. DOI: 10.1016/0379-0738(82)90138-4
- 2) H Liang, S Kuang, L Guo, T Yu, Y Rao. Assessment of the Role Played by N-propanol Found in Postmortem Blood in the Discrimination Between Antemortem Consumption and Postmortem Formation of Ethanol Using Rats. *J Forensic Sci*, 2016, 61(1):122-6. DOI: 10.1111/1556-4029.12921

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池松夏紀
2. 発表標題 エタノール分析における腐敗指標の探索：第三報
3. 学会等名 第108次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 池松夏紀
2. 発表標題 エタノール分析における腐敗指標の探索：第二報
3. 学会等名 第72次日本法医学会学術九州地方集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池松夏紀
2. 発表標題 エタノール分析における腐敗指標の探索：第一報
3. 学会等名 日本法中毒学会第40年会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------