

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：34401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K21153

研究課題名（和文）質量分析を用いた胃内容物精密分析による死後経過時間推定法の確立に向けた検討

研究課題名（英文）Study on the establishment of a method for estimating postmortem time by precise analysis of stomach contents using mass spectrometry

研究代表者

森 一也（Mori, Kazuya）

大阪医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：60796738

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：新たな死後経過時間推定のため1つの指標確立を目的として、胃内容物に着目した。本研究では、質量分析法を用いて、胃内容物に含まれる食物の消化分解過程で出現するアミノ酸等の一次代謝産物を同定し、それらの経時的な挙動変化を確認することとした。分析食物としては日本人の主食であり、かつ法医解剖時の胃内容物によく見られる米飯粒を利用することとした。米飯粒と人工胃液を反応させたところ、一部のアミノ酸の発現量等について経時的に変化することが統計学的有意な差として現れた。従って、新たな死後経過時間推定の1つの指標として確立す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

死後経過時間を推定することは、我が国における社会の安全や治安維持等も含めて法務実務上重要な課題の1つである。しかしながら、現段階では死後経過時間の推定には確固たる指標が存在せず、種々の情報を組み合わせることでそれらを導き出している。また、それら情報の判断には主観的要素が強いため、正確な死後経過時間を導出することに困難な状況になっている。本方法が確立することで客観的な指標の1つとなり、より精度の高い死後経過時間の推定に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We focused on stomach contents with the aim of establishing a new indicator for estimating time since death.

In this study, we used mass spectrometry to identify primary metabolic products such as amino acids that appear during the digestive decomposition process of food contained in stomach contents, and to confirm changes in their behavior over time.

We decided to use cooked rice grains as the food to be analyzed, which is the staple food of the Japanese people and is often found in stomach contents during forensic autopsies. When cooked rice grains were reacted with artificial gastric juice, statistically significant differences were found in the expression levels of some amino acids over time. Therefore, it was suggested that this could be established as a new indicator for estimating time since death.

研究分野：法医学

キーワード：法医学 死後経過時間

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

死後経過時間を推定することは、我が国の社会の安全や治安維持等も含めて法務実務上重要な課題の1つである。これら推定には体温降下、眼の変化、死斑、死体硬直、胃内容物、環境情報など種々の情報を包括的に判断し推定する方法がとられている。しかしながら、これらの方法は鑑定医の視覚や触覚に依存する主観的要素が強く、客観的な指標であるとは言い難い状態となっている。また、関連学会においても死後経過時間推定の研究は多くなされているものの、実用化されるまでには至っていない。

これまで、胃内容物から死後経過時間を推定するための研究には、人工胃液を用いた食品の消化率の検討を行っているものがある (Suzuki, S : Forensic Sci Int. 1987)。この検討では、消化状況や組織学的情報を視覚的に観察する方法で検討を行っている。さらに、別の研究では、胃内容物の体積をその割合の変化から捉えた方法で検討されている (Hubig M, et al. Forensic Sci Int. 2018)。しかし、これらの方法では、指標の1つにはなるものの主観的な要素が強く、確固たる指標になるとは言い難い。また、実際の解剖現場においては、法医学関連書籍に記載されているような、「胃内容物が軽度消化され十二指腸内に移行が始まっていれば食後1~2時間」とする等の情報をベースとした、鑑定医の主観的な判断に頼っているのが実情となっている。

従って、胃内容物を用いて主観的な判断に左右されない指標を確立させることは、即ち客観的な指標の1つとなり、死後経過時間を推定の精度の向上の一助となりえると考えられる。

2. 研究の目的

死後経過時間推定の1つの客観的指標の確立を目的として、胃内容物の死後変化を確認する。今回の検討では、胃内容物の消化状況等を、質量分析装置を用いて精密分析を行うという方法を用いるため、観察者の視覚に依存する、即ち主観に捉わられることなく推定できることにある。

また、これらの分析結果から得られた情報と食品成分データベース等との照合を行うことで、現時点では特定に至らない対象者の生前における摂取食物種の特定も可能になり、事件捜査等の解決の1つの手掛かりに繋がる可能性が見込まれる。

本研究では、in vitro で人工胃液と穀類・肉類等の食品を混和し、インキュベーター内にて消化反応を進める。その後、質量分析法等を用いて、各栄養素の消化分解過程で出現する物質の同定や存在比率の変化等を経時的に明らかにし、経過時間との相関性を導き出すこととする。

3. 研究の方法

胃内容物にはご遺体が生前食したものが含まれるため、種々の食物が含まれる。今回は、その中でも特に、日本人の主食であることや、法医解剖中の胃内容物として頻繁に認められる米飯をターゲット食物とした。

(1)炊飯後の米飯を一粒(39mg ± 1mg)ずつ急速冷凍(-80℃)したものを人工胃液(Biorelevant社)と室温にて反応させ、反応後0時間から12時間まで1時間刻みでの13ポイントで取り出し、全量破砕後に遠心分離を行い、上清を抽出した。それら上清(1μl)を質量分析にて解析を行った。

(2)さらに、実際のご遺体における死体現象の1つである体温冷却を模式的に再現するために、胃内容物温度を漸次的に下降させる胃内環境疑似モデルを作製した。米飯と人工胃液と反応させる温度を体温である38℃から順に1時間ごとに1度低下するようにサーモシェーカー(IKA MATRIX ORBITAL)を設定して反応させ、上記と同様の時間13ポイントでそれぞれ解析を行った。

解析の評価には、米飯中には含まれないL-Methionine-sulfone(LMS)を内部標準とし、内部標準の面積値と検出された物質の面積値の割合を解析に使用した。質量分析については、LCMS-9300(QTOF型質量分析装置:島津製作所)を分析機器とし、LC/MS/MSパッケージ次代謝産物 ver2.0を分析ソフトに利用し解析を行った。また、統計分析ソフトにはJMPPro16.2.0を利用した。分析のLC/MS条件は表の通りである。

<表>

○ LC条件	○ MS条件
カラム	ネブライザーガス流量 : 3 L/min
Discovery HS F5-3	ドライイングガス流量 : 0.1% 酢酸水
Sigma- Aldrich P/N 567503-U	ヒーティングガス流量 : 0.1% 酢酸水
移動相 AおよびB	インターフェイス温度 : 300℃
0.1% 酢酸水	DL温度 : 250℃
	ヒートブロック温度 : 400℃
	イオン化モード : ESI

4. 研究成果

解析の結果、分析ソフトのデータベースに記載されたアミノ酸のうち、9種類のアミノ酸 (Asparagine、Aspartic acid、Arginine、Glutamic acid、Tyrosine、Histidine、Phenylalanine、Proline) が検出されたため、これらを解析することとした。また、その他情報として、アミノ酸以外の物質としては、Adenosine、Guanosine、Dimethylglycine、Pantothenic acid が検出されている。

結果のグラフは、X軸に反応時間、Y軸に内部標準と検出アミノ酸の面積値の割合を示し、すべてのサンプル (n=5) と平均値を散布図として表し、回帰分析によりそれぞれの散布図に対して近似指数曲線を描いている。

まずは、温度変化を加えることなく、人工胃液と米飯を反応させたものについては、以下のとおりの結果が示された。

- Aspartic acid については、決定係数が 0.967 となり経時的な相関関係があった。(図 1)
- Arginine については、決定係数が 0.926 となり経時的な相関関係があった。(図 2)
- Asparagine については、決定係数が 0.968 となり経時的な相関関係があった。(図 3)
- Glutamic acid については、決定係数が 0.865 となり経時的な相関関係があった。(図 4)
- Phenylalanine については、決定係数が 0.970 となり経時的な相関関係があった。(図 5)
- Tyrosine については、決定係数が 0.856 となり経時的な相関関係があった。(図 6)
- Proline については、決定係数が 0.844 となり経時的な相関関係があった。(図 7)
- Histidine については、決定係数が 0.741 となり経時的な相関関係があった。(図 8)

以上のことより、検出されたアミノ酸 8 種類については、経時的な相関関係があることが認められ、その中でも特に、Aspartic acid、Arginine、Asparagine、Glutamic acid の 4 種類については、時間経過と特に強い関連があることが示された。

図 1: Aspartic acid

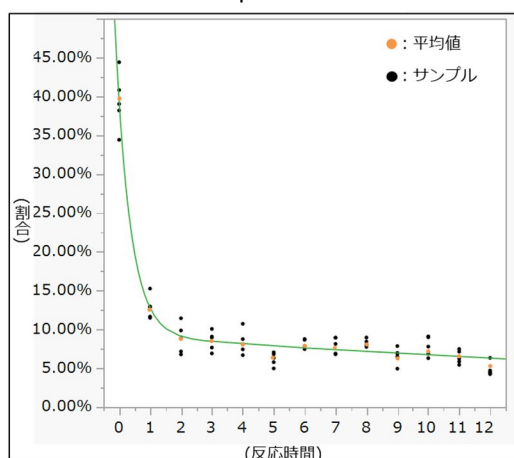


図 2: Arginine

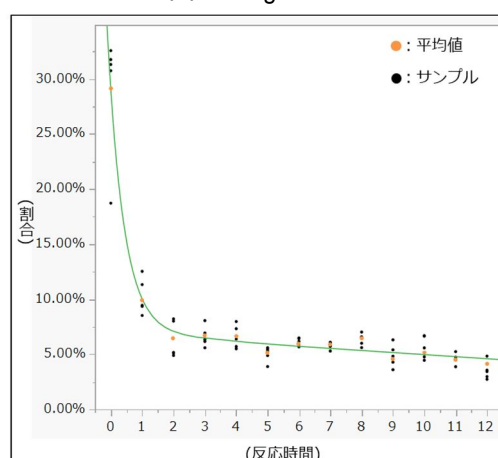


図 3: Asparagine

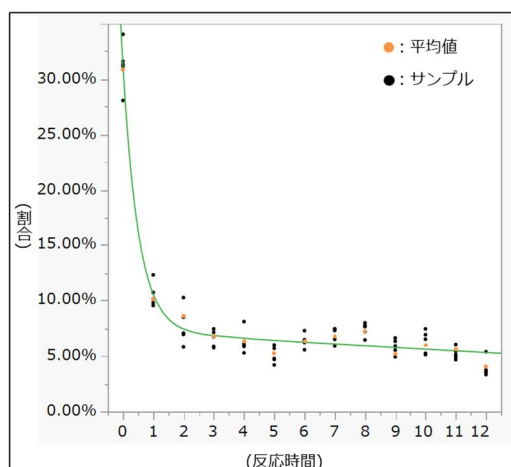


図 4: Glutamic acid

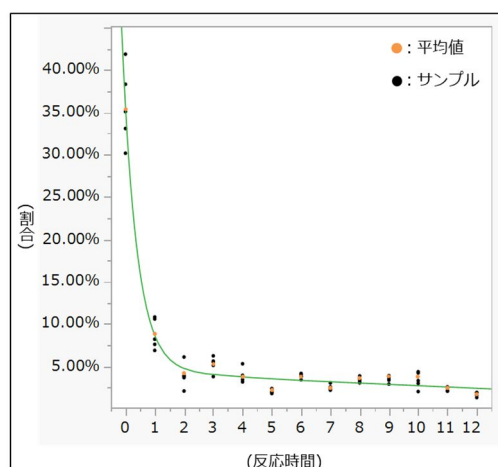


図 5 : Phenylalanine

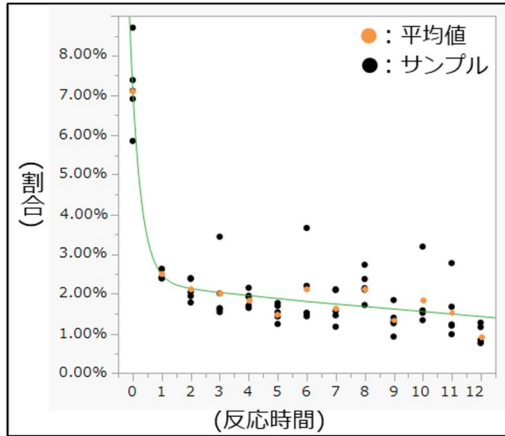


図 6 : Tyrosine

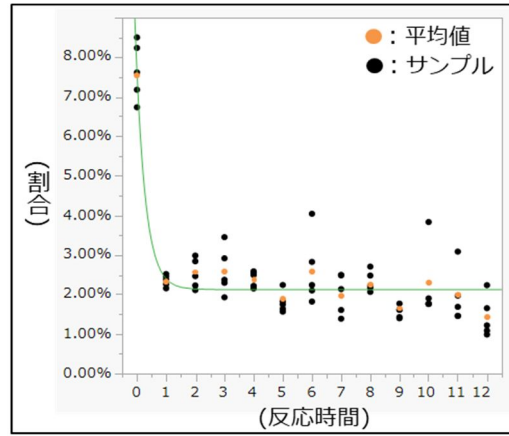


図 7 : Proline

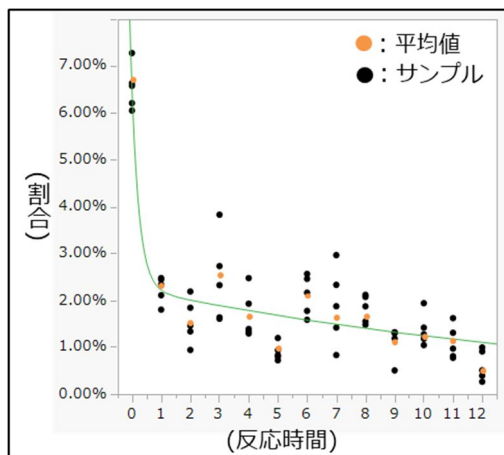
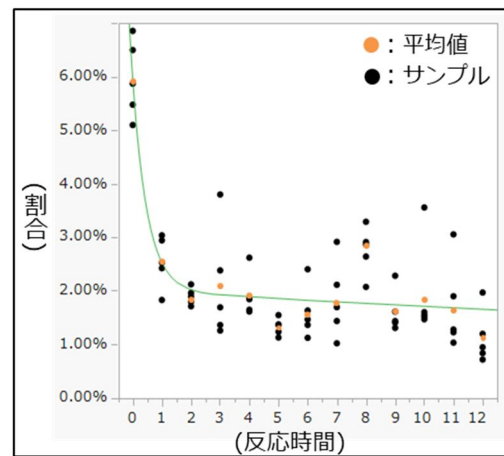


図 8 : Histidine



また、死後変化と同様の温度変化を加えて反応させる系についての結果は、上述の温度変化を加えない結果とほぼ変わらず、温度と関連があるというわけではないことが示された。法医解剖に付されるご遺体は発見されるまでに、種々の環境下に置かれている。その観点からも、温度に関連なく同様の結果が得られたことは、指標として用いるに適しているのかもしれない。

以上の結果より、米飯を用いた質量分析法によるアミノ酸の経時挙動解析を行うことにより、死後経過時間を推定するための新たな方法の確立の可能性が示された。

しかしながら、米の品種により各アミノ酸の含有量に差があるとの報告もあることから、異なる品種の米を用いて同様の解析を行っていく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森一也、坪井健人、野村和克、北川美佐、齊藤高志、鈴木廣一、佐藤貴子
2. 発表標題 新たな死後経過時間推定法の確立に向けた質量分析法による人工胃液中米飯由来アミノ酸の経時挙動解析
3. 学会等名 日本法医学会
4. 発表年 2022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
---------	---------