

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K10117

研究課題名(和文) 化学的アプローチによる死後経過時間推定の新たな指標の開発応用

研究課題名(英文) Development and application of a new indicator for estimating postmortem interval using a chemical approach

研究代表者

神 繁樹 (Jin, Shigeki)

北海道大学・医学研究院・特任助教

研究者番号：60531845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：様々な死後経過時間の死体の体液を化学分析し、腐敗度の高い死体から得られた検体から高濃度の酪酸が検出されることを見出した。非腐敗の検体と比較して平均値で血液において100倍以上、尿においては300倍以上の濃度の酪酸が検出された。これらの結果から体液中の酪酸濃度は腐敗の指標として有用であることが期待される。また、硫化水素中毒死ではない高腐敗度の検体から硫化水素中毒のマーカーとされるチオ硫酸塩が高濃度で検出され、中毒の鑑定に注意が必要であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで死体の腐敗の指標とされてきたのは死後産生されるエタノールと1-プロパノールの比率であったが、経験的に定められた指標に適合しない事例が多かった。これに対し、本研究で見出された酪酸については、血中および尿中濃度において腐敗と非腐敗で統計処理上有意な群間差($p < 0.01$)が示され、且つ群間の濃度範囲にオーバーラップも認められず指標として有用であると評価できる。また、硫化水素中毒死におけるチオ硫酸塩の濃度による鑑定では腐敗による濃度上昇に注意が必要であることが示された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed body fluids from cases at various postmortem intervals and found that high concentrations of n-butyric acid were detected in samples obtained from severely decomposed cases. n-Butyric acid was detected in decomposed cases at an average concentration more than 100 and 300 times higher than in non-composed cases, in blood and urine, respectively. These results suggest that the concentration of n-butyric acid in body fluids is a useful indicator of body decomposition. On the other hand, thiosulfate, a marker of hydrogen sulfide poisoning, was detected at high concentrations in severely decomposed cases that was not hydrogen sulfide poisoning, indicating the need for caution in the diagnosis of poisoning.

研究分野：法中毒学

キーワード：死後経過時間 腐敗 酪酸 LC-MS チオ硫酸塩 硫化水素中毒

1. 研究開始当初の背景

法医学において死体の死後経過時間の推定は角膜混濁や死斑、身体の硬直、体温降下などの物理的現象の見地から行っている。これは鑑定者の経験や長年蓄積してきた知見に基づいている。そこで新たな推定法を探るべく、ごく最近ではCT画像における脳脊髄液の輝度値(CT値)を指標とする方法が提案された^{1,2)}が評価までには至っておらず議論となっている³⁾。

現在、死後腐敗によるエチルアルコールの死後産生では指標として1-プロパノールが用いられているが、その検出量は腐敗が進行している場合でもごくわずかである事例が度々見られた。また、死亡前の飲酒状況によりその数値(特にアルコールとの比率)が定まらないことがあり、アルコールの代謝産物であるethyl glucuronideやethyl sulfateを測定してその結果を考慮する必要がある(法医学分野でのethyl glucuronide測定例:Vezzoliら⁴⁾)。

一方、死体内における硫黄化合物について、硫化水素中毒が原因の死亡者体内の血液や尿で多量のチオ硫酸塩が検出されることが報告されており⁵⁾、以来チオ硫酸塩は硫化水素中毒の診断マーカーとして用いられている⁶⁾。しかしながら近年、硫化水素中毒とは無縁の死体から硫化水素中毒の事例を超える量のチオ硫酸塩が検出されたとの報告があり⁷⁾、議論が高まっている。この例では腐敗による硫化物の酸化がチオ硫酸塩の検出に繋がったものと推測している。そもそも硫黄化合物は生体内においてアミノ酸(メチオニンやシステイン、シスチンなど)を始めとして多く存在している。加えて、硫黄は化学的に非常に酸化されやすい性質を有しているため、生存中でも酸化物が常に生成しており、物質の代謝などに対して様々な役割を果たしている。死後においては腐敗によって硫黄化合物が生命活動とは異なった変化をしていると考えられ、それを調査することにより死後時間経過の推定や死因との関係が明らかになる可能性を秘めていると考える。

2. 研究の目的

本研究は体内物質、特に低分子化合物について詳細な分析を行うことで死後変化を捉え、そのデータから死後時間経過推定の新たな指針・指標を提案することを目的とした。

3. 研究の方法

様々な死後経過時間の死体の体液(血液、尿、髄液など)中の低分子化合物を網羅的に分析し、経過時間(もしくは腐敗度)により量的変化が見られる物質を探索した。量的変化が認められた物質について詳細な分析を行い、時間と量的関係性を解析した。得られたデータを基に特定物質の検出量によって死後経過時間の推定ができないか検討した。物質の分析は主に質量分析装置(LC-MSおよびGC-MS)を用い、物質の同定および定量を行った。

4. 研究成果

(1) 死後経過時間・腐敗度によって採取できる体液サンプルが限られるため、主に血液および尿についてガスクロマトグラフ質量分析装置を用いた分析を行い、サンプル間の比較を行ったところ、腐敗度の高い死体の血液・尿から短鎖脂肪酸や芳香環を有する化合物、短鎖脂肪酸アルコール類が高濃度で検出された。その中で特に顕著な差異を示したものは酪酸(*n*-butyric acid)であった。

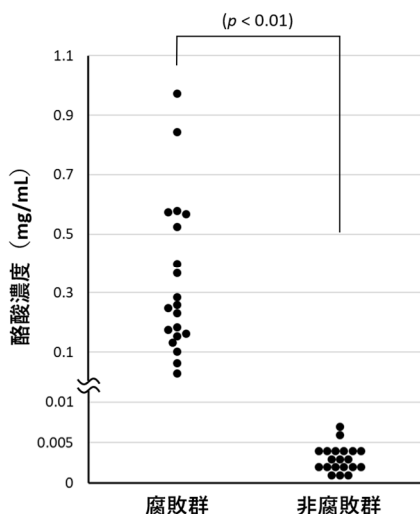


図1. 血液中の酪酸濃度の群間差

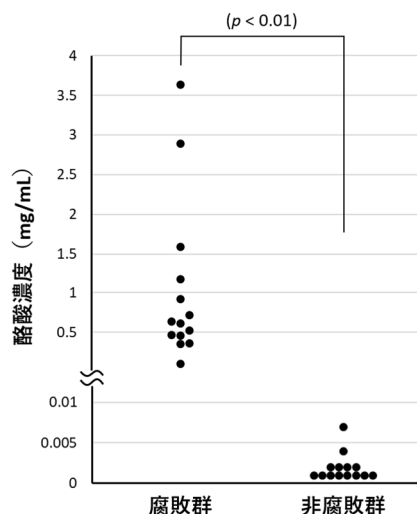


図2. 尿中の酪酸濃度の群間差

- 7) Miyazato T, Ishikawa T, Michiue T, Oritani S, Maeda H, Pathological and toxicological findings in four cases of fatal hydrogen sulfide inhalation, *Forensic Toxicol.* 31, 2013, 172-179.
- 8) Matoba K, Murakami M, Fujita E, Jin S, Ogasawara R, Matoba T, Takeuchi A, Haga S, Ozaki M, Hyodoh H, The usefulness of measuring n-butyric acid concentration as a new indicator of blood decomposition in forensic autopsy. *Legal Med.* 57, 2022, 102071.
- 9) Jin S, Murakami M, Matoba K, Matoba T, Haga S, Ozaki M, Takeuchi A, Hyodoh H, Sample preparation method with ultrafiltration for whole blood thiosulfate measurement, *Legal Med.* 47, 2020, 101765.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Jin Shigeki, Murakami Manabu, Matoba Kotaro, Matoba Tomoko, Haga Sanae, Ozaki Michitaka, Takeuchi Akiko, Hyodoh Hideki	4. 巻 47
2. 論文標題 Sample preparation method with ultrafiltration for whole blood thiosulfate measurement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 101765 ~ 101765
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2020.101765	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 Matoba Kotaro, Murakami Manabu, Fujita Emi, Jin Shigeki, Ogasawara Ryosuke, Matoba Tomoko, Takeuchi Akiko, Haga Sanae, Ozaki Michitaka, Hyodoh Hideki	4. 巻 57
2. 論文標題 The usefulness of measuring n-butyric acid concentration as a new indicator of blood decomposition in forensic autopsy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 102071 ~ 102071
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2022.102071	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神 繁樹, 的場光太郎, 兵頭秀樹
2. 発表標題 薬毒物の迅速なスクリーニング ~ 探針エレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いた分析の実際 ~
3. 学会等名 第105次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神 繁樹, 的場光太郎, 的場智子, 兵頭秀樹
2. 発表標題 血中チオ硫酸塩濃度の保存による変化について
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 的場光太郎, 奥谷菜穂子, 神 繁樹, 兵頭秀樹
2. 発表標題 クロバ工科の蛆が薬物検査に有用であった一剖検例
3. 学会等名 第104次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 的場光太郎, 神 繁樹, 兵頭秀樹
2. 発表標題 血液中のアルコール死後産生と酪酸濃度の関係について
3. 学会等名 第21回日本法医学会学術北日本地方集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 邵 旻睿, 的場光太郎, 兵頭秀樹, 的場智子, 齋藤厚子, 神 繁樹
2. 発表標題 血中チオ硫酸塩測定における前処理法の改良
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神 繁樹, 的場光太郎, 兵頭秀樹
2. 発表標題 チオ硫酸塩測定における血液サンプルの前処理の検討
3. 学会等名 第103次日本法医学会学術全国集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 邵 晏蓉, 藤田瑛美, 山世真由美, 兵頭秀樹, 的場光太郎, 神 繁樹
2. 発表標題 LC-MS/MSによる尿および血中の酪酸の測定と死後腐敗における関係
3. 学会等名 第24回日本質量分析学会北海道談話会・研究会
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	的場 光太郎 (Matoba Kotaro) (00466450)	北海道大学・医学研究院・講師 (10101)	

	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
研究協力者	兵頭 秀樹 (Hyodoh Hideki) (30306154)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	

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