

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590856

研究課題名(和文)一酸化炭素の体内動態に与える組織ヘムタンパクの役割

研究課題名(英文)Role of tissue heme protein on the toxicokinetics of carbon monoxide.

研究代表者

木下 博之(KINOSHITA, HIROSHI)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：00284357

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)： センサーガスクロマトグラフィーを用いて、一酸化炭素炭素ヘモグロビン飽和度測定に応用したところ、十分な感度と特異度が得られ、血液以外の試料にも適用可能であった。剖検例での検討では、左右心室内血液と末梢血との間に濃度差がないことが明らかになった。

さらに、死後変化により血液試料が濃縮された場合でも、試料を希釈することで正確な一酸化炭素炭素ヘモグロビン飽和度の測定が可能なることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)： We have applied the sensor gas chromatography for the measurement of carboxyhemoglobin (CO-Hb) saturation in blood. It is highly sensitive for carbon monoxide, and it may be applicable for other forensic samples.

No remarkable difference of CO-Hb saturation was observed between heart blood and peripheral venous blood in carbon monoxide related cases. And there was no effect of sample dilution on the value of CO-Hb in case of concentrated blood.

研究分野：法医学

キーワード：一酸化炭素 中毒 センサーガスクロマトグラフィー ヘモグロビン 飽和度 体内動態

1. 研究開始当初の背景

一酸化炭素(CO)は、我が国の中毒死の原因として最も多い。吸入により摂取したCOは、主に赤血球のヘモグロビンと結合し、CO-ヘモグロビンを形成することで、組織への酸素供給が低下し、毒性を発揮する。組織の低酸素による障害は、COの急性毒性において中心的な役割を果たしていると考えられる。法医学領域でも火災などのCOが関連する事例を取り扱う頻度は高く、その死因への影響を判断する上では、CO-ヘモグロビンの割合(飽和度)を指標としている。精度の高い毒性評価を行うためには、法中毒学的な検討が不可欠である。そこで、本研究ではCOの体内動態を検討するとともに、CO中毒の評価法として、センサーガスクロマトグラフィーの応用についてもあわせて検討する。

2. 研究の目的

本研究ではまず、センサーガスクロマトグラフィーを用いて、血液を含む各種の試料に含まれるCO濃度測定への応用の可能性を検討し、その至適測定条件について検討を行う。具体的には、血液や筋肉組織など、法医学的応用の可能性について検討する。

さらに、法医学的試料を用いた場合において、死後変化が測定値に与える影響についてもあわせて検討する。具体的には、死後変化による血液の濃縮などに伴う測定値の変化についての検討を行う。また、実際の剖検例での濃度測定結果から、COの体内動態と、毒性を評価する上で考慮すべき事項についても解析を行う。

3. 研究の方法

(1) センサーガスクロマトグラフィーを用いた、CO濃度の測定

半導体ガスセンサを検出器とするガスクロマトグラフィーを用いた。

血液にCOをバブリングした試料を段階的に希釈し、バイアル瓶に密封したのちリン酸と反応させCOを遊離させたのち、センサーガスクロマトグラフィーでCOを測定した。その際に、最も検出感度が高くなるよう、リン酸との反応時間やバイアルの加温についても検討した。

一酸化炭素を暴露した動物の血液及び筋肉試料を用い、検討の結果得られた至適条件にてCO濃度の測定を行うとともに、試料のヘモグロビン値から飽和度を算出し、体内動態を検討した。

(2) 試料の希釈が測定値に与える影響

死後変化としてよく見られる血液の濃縮が測定値に与える影響を検討した。

血液試料をそのままの状態でのCO飽和度を測定し、さらに、試料を2倍に希釈して同じ測定を行い、両者の比較を行った。

(3) 剖検例での濃度測定結果からの解析

火災などCOの関連した事例の剖検時に採取、測定した左右心室内血液、及び末梢の静

脈血のデータを集計した。

試料の採取部位による濃度差について論じ、体内動態についても検討した。

4. 研究成果

(1) センサーガスクロマトグラフィーを用いた、CO濃度の測定

半導体センサーは水素、CO、メタンに高感度であり、今回のガスクロマトグラフィーの設定条件で、水素ガスとCOは明瞭に分離できた。また、リン酸添加後の反応時間と反応温度について、至適条件を検討したところ、室温で30分間反応させた場合の測定値のばらつきが最も小さかった。

実際の血液試料を用い、従来から用いているオキシメーターでの測定値と比較したところ、両者の測定値に大きな差はなく、センサーガスクロマトグラフィーが有用であること、法医学的応用も可能であることが示された。

(2) 試料の希釈が測定値に与える影響

試料の希釈を生理食塩水で行った場合、蒸留水で行った場合いずれも、COヘモグロビン飽和度測定値の変動は、希釈前の測定値の±5%以内にとどまり、試料の希釈による影響はないものと判断された。

死後の血液試料は溶血や濃縮などの影響を受けやすく変性しやすいが、COに関しては比較的それらの影響は少ないことが明らかになった。

(3) 剖検例での薬物体内動態の変動に与える要因の検討

実際のCO関連死の剖検例での左右心室血および大腿静脈血の濃度を比較したところ、左右心室内の血液では両者の値に強い相関があり、差はみられなかった。また末梢の静脈血と左心室の間にも同様に有意な差はみられなかった。

今回の解析の結果、死亡例におけるCO飽和度の評価を行う場合、死後試料では採取部位の違いによる測定値の大きな差はみられなかった。このことから、COについては毒性評価のための試料採取部位を限定する必要がないことが明らかになった。心臓内血液はミオグロビンを豊富に含有する心筋に接しており、またミオグロビンはCOと結合しやすいため、死後の筋肉からの拡散が想定されたが、通常の検査においては拡散の影響がそれほど大きくないことも明らかになった。これら得られた結果は今後の鑑定例にも活用が期待される。

今回の結果から、COの毒性を評価する上で考慮すべき事項が明らかになった。ただ、吸入の初期における体内動態についてのデータは少なく、今後もさらに検討していく必要性が明らかになった。

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 27 件)

1. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Kinoshita H. Strain differences in the expression of cholinergic markers in the hippocampus of ApoE-knockout and C57BL/6J mice. *Neurochemical J.* 8: 78-81, 2014. 査読有
2. Dokai Mochimatsu K, Miyatake N, Tanaka N, Kinoshita H. Lower air temperature is associated with ambulance transports and death in Takamatsu area, Japan. *Environ Health Prev Med.* 19: 253-257, 2014. 査読有
3. Tanaka N, Okuzono R, Umemoto T, Jamal M, Takakura A, Kumihashi M, Miyatake N, Yokoi H, Uemura K, Tsutsui K, Ameno K, Kinoshita H. Estimating pleural effusion volume using three-dimensional images from postmortem computed tomography data in case of drowning. *Current study of environmental and medical science.* 7: 6-8, 2014. 査読有
4. Tanaka N, Kinoshita H, Takakura A, Jamal M, Kumihashi M, Uchiyama Y, Tsutsui K, Ameno K. Application of sensor gas chromatography for the determination of carbon monoxide in forensic medicine. *Current study of environmental and medical science.* 7: 9-11, 2014. 査読有
5. 田中直子, 飴野 清, モストファ ジャーマル, 組橋 充, 宮武伸行, 木下博之. オキシメータ エーボックス4000を用いた一酸化炭素ヘモグロビン飽和度測定における試料希釈の影響. *法医病理.* 20: 39-40, 2014. 査読有
6. 梅本剛司, 田中直子, 飴野 清, 高倉彩華, モストファ ジャーマル, 組橋 充, 宮武伸行, 筒井邦彦, 木下博之. 臍窩部皮下脂肪組織厚および頭皮厚と栄養状態の関係. *法医病理.* 20: 78-80, 2014. 査読有
7. Kinoshita H, Tanaka N, Kumihashi M, Jamal M, Takakura A, Umemoto T, Tsutsui K, Ameno K. Titanium in stomach contents - does it provide useful information for forensic diagnosis? *Rom J Leg Med.* 22: 117-118, 2014. 査読有
8. Tanaka N, Kinoshita H, Kumihashi M, Jamal M, Takakura A, Umemoto T, Tobiume T, Tsutsui K, Ameno K. Medicolegal implications of fatal poisoning by ethanol and psychotropic drug. *Current study of environmental and medical science.* 7: 3-5, 2014. 査読有
9. Fujihara J, Kinoshita H, Tanaka N, Yasuda T, Takeshita H. Accuracy and usefulness of the AVOXimeter 4000 as routine analysis of carboxyhemoglobin. *J Forensic Sci.* 58: 1047-1049, 2013. DOI: 10.1111/1556-4029.12144 査読有
10. Mityatake N, Tanaka N, Sakano N, Kinoshita H. Relationship between road traffic accidents and drinking habits in all 47 prefectures of Japan. *Journal of Transportation Technologies.* 3: 190-193, 2013. 査読有
11. Jamal M, Ameno K, Ruby M, Miki T, Tanaka N, Nakamura Y, Kinoshita H. Ethanol- and acetaldehyde-induced cholinergic imbalance in the hippocampus of Aldh2-knockout mice does not affect nerve growth factor or brain-derived neurotrophic factor. *Brain Res.* 1539: 41-47, 2013. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.09.035 査読有
12. Mityatake N, Hirao T, Sakano N, Tanaka N, Kinoshita H. Lower air temperature is associated with higher ambulance transports in Sakata area, Yamagata prefecture, Japan. *Open Journal of Epidemiology.* 3: 220-223, 2013. DOI: 10.4236/ojepi.2013.34032 査読有
13. 田中直子, 飴野 清, Jamal Mostofa, 組橋 充, 筒井邦彦, 木下博之. イムノアッセイ法を基礎にした覚せい剤のスクリーニング検査における各種検査キットの比較 (第2報). *医学と生物学*, 157: 387-390, 2013. 査読有
14. 木下博之, 谷口知晶, 田中直子, Jamal Mostofa, 組橋 充, 筒井邦彦, 飴野 清. 錠剤中薬物の直腸吸収に関する研究. *医学と生物学*, 157: 875-878, 2013. 査読有
15. Fujihara J, Hasegawa M, Kato T, Miura M, Iida K, Kinoshita H, Tanaka N, Takeshita H. A case of drowning lacking typical findings of carbon monoxide poisoning despite the high CO concentration. *Forensic Toxicol.* 31: 180-182, 2013. DOI: 10.1007/s11419-012-0147-4. 査読有
16. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Okuzono R, Tsutsui K, Ameno K. Application of energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDX) in a case of methomyl ingestion. *Forensic Sci Int* 227: 103-105, 2013. Doi: 10.1016/j.forsciint.2012.08.026. 査読有
17. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Kumihashi M, Tsutsui K, Ameno K. Finding for current marks: histopathological examination and energy-dispersive X-ray spectroscopy of three cases. *Legal Med.* 15: 283-287, 2013. 査読有
18. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Kumihashi M, Tobiume T, Tsutsui K, Ameno K. Usefulness of intratracheal gas analysis in an autopsy case of helium inhalation. *Rom J Leg Med.* 21: 237-238, 2013. 査読有

19. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Tsutsui K, Ameno K. Xylene; a useful marker for agricultural product ingestion. *Soud Lek.* 58: 59-60, 2013. 査読有

20. Yoshida S, Kinoshita H, Tatara T, Tashiro C, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Hishida S. Involvement of glucocorticoid receptor on hyperpyrexia induced by methamphetamine administration. *Soud Lek.* 57: 66-68, 2012. 査読有

21. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Tsutsui K, Jessop D, Ameno K. Effects of cyanamide-ethanol reaction (CER) on expression of 5-HT1A and 5-HT4 receptor mRNA in rat hippocampus. *Current study of environmental and medical science.* 5: 13-16, 2012. 査読有

22. 奥蘭良太, 飴野 清, 田中直子, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 木下博之. 覚せい剤のスクリーニング検査における各種検査キットの比較. *医学と生物学*, 156: 258-262, 2012. 査読有

23. 田中直子, 飴野 清, Mostofa Jamal, 組橋 充, 宮武伸行, 木下博之. 分画的酸素飽和度および一酸化炭素ヘモグロビン測定における試料の採取と保存に関する基礎的検討. *法医学の実際と研究*, 55: 51-55, 2012. 査読有

24. Tanaka N, Kinoshita H, Kuse A, Takatsu M, Jamal M, Kumihashi M, Nagasaki Y, Asano M, Ueno Y, Ameno K. Forensic toxicological implications of pleural effusion; an autopsy case of drug overdose. *Soud Lek.* 57: 48-50, 2012. 査読有

25. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Kumihashi M, Tsutsui K, Ameno K. An autopsy case of fuel gas abuse. *Rom J Leg Med.* 20: 195-196, 2012. 査読有

26. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Okuzono R, Ameno K. A fatal case due to cough syrup abuse. *Soud Lek.* 57: 69-70, 2012. 査読有

27. Kinoshita H, Tanaka N, Kuse A, Ohtsuki A, Nagasaki Y, Ueno Y, Jamal M, Tsutsui K, Kumihashi M, Ameno K. An autopsy case of triazolam overdose. *Rom J Leg Med.* 20: 297-298, 2012. 査読有

[学会発表](計 21 件)

1. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Takakura A, Kinoshita H. Acetaldehyde decreased brain-derived neurotropic factor, nerve growth factor and neurotrophin-4 expression in the frontal cortex of Aldh2-knockout mice. 9th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM). Fukuoka, Japan. 2014.6.16-20.

2. Tanaka N, Ameno K, Mostofa J, Takakura A, Umemoto T, Kumihashi M, Tsutsui K, Kinoshita H. Application of energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) for drowning cases. 9th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM). Fukuoka, Japan. 2014.6.16-20.

3. Kinoshita H, Tanaka N, Kumihashi M, Mostofa J, Takakura A, Umemoto T, Tsutsui K, Ameno K. Titanium in stomach contents -useful information for forensic diagnosis? 9th International Symposium Advances in Legal Medicine (ISALM). Fukuoka, Japan. 2014.6.16-20.

4. 田中直子, 木下博之, 小川尊明, 大林由美子, モストファ ジャーマル, 組橋 充, 高倉彩華, 松井義郎, 筒井邦彦, 飴野 清. 歯牙X線所見からの年齢推定が有用であった1剖検例. 第13回警察歯科医会全国大会. ホテルクレメント徳島, 徳島, 2014.8.23.

5. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Takakura A, Kinoshita H. High ethanol and acetaldehyde decrease extracellular glutamate in the frontal cortex of Aldh2-knockout mice: a reverse microdialysis study (1). 第31回日本法医学会学術中四国地方集会. アルファあなぶきホール, 高松, 2014.11.1.

6. 田中直子, 木下博之, 高倉彩華, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 内山 勇, 筒井邦彦, 飴野 清. 有機リン系農薬の摂取が確認できた1剖検例. 第26回日本中毒学会中四国地方会学術集会. サポートホール高松, 高松, 2014.12.6.

7. 木下博之, 田中直子, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 飛梅 董, 飴野 清. ヘリウムガス吸引による窒息死の1例. 第21回法医病理勉強会, ロイトン札幌, 札幌, 2013.6.26.

8. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Kinoshita H. Up-regulation of NMDA receptor NR1 subunit in the lipid raft of Aldh2-KO mouse brain cortex (1). 第97次日本法医学会総会. ロイトン札幌, 札幌, 2013.6.26-28.

9. 田中直子, 飴野 清, Jamal M, 組橋 充, 木下博之. センサーガスクロマトグラフによる一酸化炭素濃度測定. 第97次日本法医学会総会. ロイトン札幌, 札幌, 2013.6.26-28.

10. 木下博之, 田中直子, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 飛梅 董, 飴野 清. 懸垂による呼吸不全と考えた1剖検例. 第30回日本法医学会学術中四国地方集会. ニューウエルシティ出雲, 出雲, 2013.11.9.

11. 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 飛梅 董, 木下博之. 蛍光X線分析法の溺死事例への応用. 第30回日本法医学会学術中四国地方集会. ニューウエルシティ出雲, 出雲, 2013.11.9.

12. 田中直子, 木下博之, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 高倉彩華, 梅本剛司, 飛梅 董, 筒井邦彦, 飴野 清. アルコールと

フルニトラゼパム併用の1剖検例．第25回日本中毒学会中四国地方会学術集会．アークホテル岡山，岡山，2013.12.7．

13. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Okuzono R, Ameno K. Application of energy dispersive X-ray fluorescent spectrometry (EDX) in a case of pesticide ingestion. The 50th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologist, Hamamatsu, Japan, 2012.6.3-8.

14. Jamal M, Sultana R, Ameno K, Tanaka N, Kinoshita H, Nakamura Y. Effects of nicotine on radial-arm maze spatial memory in ApoE-knockout mice. The 50th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologist, Hamamatsu, Japan, 2012.6.3-8.

15. Kinoshita H, Tanaka N, Kuse A, Takatsu M, Jamal M, Kumihashi M, Nagasaki Y, Asano M, Ueno Y, Ameno K. Forensic toxicological implications of pleural effusion; an autopsy case of drug overdose. 22nd Congress of the International Academy of Legal Medicine, Istanbul. Turkey, 2012.7.5-8.

16. Tanaka N, Ameno K, Jamal M, Kumihashi M, Kinoshita H. Stability of MetHb and COHb in blood samples using AVOX oximeter. 22nd Congress of the International Academy of Legal Medicine, Istanbul. Turkey, 2012.7.5-8.

17. 田中直子, 飴野 清, 奥藺良太, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス4000)の法医実務への応用(4). 第96次日本法医学会総会. アクトシティ浜松, 浜松, 2012.6.7-9.

18. 奥藺良太, 飴野 清, 田中直子, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 木下博之. 覚せい剤のスクリーニング検査における各種検査キットの比較. 第96次日本法医学会総会. アクトシティ浜松, 浜松, 2012.6.7-9.

19. 木下博之, 飴野 清, 田中直子, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 小川尊明, 大林由美子, 松井義郎, 井尻 巖. 法医解剖時の歯科医師との連携. 第29回日本法医学会学術中四国地方集会, 高知会館, 高知, 2012.10.20.

20. 田中直子, 木下博之, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 飴野 清. 感電死の3剖検例. 第29回日本法医学会学術中四国地方集会, 高知会館, 高知, 2012.10.20.

21. 田中直子, 木下博之, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 飴野 清. ガソリン中毒の1例. 第24回日本中毒学会中四国地方会学術集会, 愛媛大学, 松山, 2012.12.8.

〔図書〕(計 3 件)

1. 木下博之, 中毒 各論(ガスおよび揮発性物質, 自然毒, エタノール(アルコール)).

In: 標準法医学、(石津日出雄, 高津光洋監修, 池田典昭, 鈴木廣一 編集), 医学書院、東京、180-196、2013.

2. Kinoshita H, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Ameno K. Evaluation of carboxyhemoglobin (CO-Hb) by oximeter in forensic practice. In "Carbon monoxide: Sources, uses and hazards", (DiLoreto D, Corcoran I. eds), 109-116, Nova Science Publishers Inc, 2012.

3. Jamal M, Ameno K, Tanaka N, Kumihashi M, Kinoshita H. Nicotine addiction and treatment: recent advances. In "Nicotine addiction. Prevention, health effects and treatment option", (Di Giovanni G. ed), 1-23, Nova Science Publishers Inc, 2012.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下 博之 (KINOSHITA HIROSHI)

香川大学・医学部・教授

研究者番号: 00284357

(2) 研究分担者

飴野 清 (AMENO KIYOSHI)

香川大学・医学部・准教授

(H24-25)

研究者番号: 50019626

田中 直子 (TANAKA NAOKO)

香川大学・医学部・助教

(H25-26)

研究者番号: 60700052