

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K09262

研究課題名(和文) 硬組織からの薬物検出方法の開発と血中濃度との相関に関する研究

研究課題名(英文) Development of a Method for Detecting Drugs from Hard Tissue and Study of Correlation with Blood Concentration

研究代表者

矢島 大介 (Yajima, Daisuke)

国際医療福祉大学・医学部・教授

研究者番号：60451754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では骨からの薬物分析法を検討し、その検出頻度や検出薬物を調査した。その結果、骨試料を微細化後、アセトニトリル/水抽出+塩化ナトリウム塩析法で常温10分間の超音波処理を行いその上清を分取、この抽出操作を3-4回行くと骨試料から十分に薬物が抽出されることが分かった。また、当機関等で扱った白骨事例を分析した結果、その約16%で薬物が検出され、それらは向精神薬や高血圧治療薬、解熱鎮痛剤、糖尿病治療薬などであった。骨試料から薬物を抽出する方法及び白骨事例での薬物検出頻度を提示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨からの薬物分析法は確立されておらず、また白骨事例における薬物検出頻度等の統計もない。本研究では骨からの薬物分析法を検討し、その検出頻度や検出薬物を調査した。骨からの薬物の抽出はアセトニトリル/水を用いた一般的な抽出方法で行うことができ、これを数回繰り返せば骨に含まれる薬物のほぼ全量が抽出可能であることが分かった。当機関で扱った白骨事例ではその約16%で薬物が検出され、それらは向精神薬や高血圧治療薬、解熱鎮痛剤、糖尿病治療薬などであった。白骨事例でも薬物検査を行うことは有用で、それにより死亡直前の身体状況を推測することができる可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study examined methods for drug analysis from bone. The frequency of drug detection and the types of drugs detected were investigated. The appropriate analysis method was to add acetonitrile/water to the bone and sonicate it for 10 minutes at room temperature. It was found that the drug was sufficiently extracted from the bone sample after 3-4 times of this extraction operation. Analysis of the skeletonized cases revealed that drugs were detected in approximately 16% of the samples. These included psychotropic drugs, drugs for hypertension, antipyretic analgesics, and drugs for diabetes. The method for extracting drugs from bone samples and the frequency of drug detection in the skeletonized cases are presented.

研究分野：法医学

キーワード：骨からの薬物検出

1. 研究開始当初の背景

- ① 法医学領域では様々な死体を扱うが、その中に白骨化死体も含まれる。白骨化死体は血液をはじめ各種主要臓器も失われており、実施可能な検査は限られる。実務上は骨の形態学的検査と遺伝子型検査以外には通常は実施が不可能である。それゆえ、性別や年齢、骨奇形、生前の骨折や手術痕の有無などのほか、その死体から情報を引き出すことは困難である。
- ② 一方で、骨や歯牙を代表とする硬組織は腐敗変化に抵抗し最後まで残存する。それゆえ、それら組織の内部には生前に存在した何等かの物質が保存されている可能性もある。特に腐敗変化を受けづらい化学物質については、死後長期間にわたり硬組織内に存在していることが予想される。法医学領域でそれらの化学物質について有用なものとして薬毒物がある。法医学領域で扱う薬毒物は広範にわたるが、医薬品や違法薬物を扱うことが多く、これらの薬物は分子量が小さく、腐敗変化を受けづらいものも多くあると考えられる。
- ③ 硬組織からの薬毒物分析について調べると、法医学領域ではほとんど行われておらず、過去の報告も少ない(1,2)。それゆえ、分析指針や検出頻度、検出薬物などの統計もない。よって、有効な分析方法や検出薬物や頻度が明らかになれば、白骨化死体であっても生前に摂取した薬毒物を知ることができ、死亡直前の身体状況を推測できると考えた。

2. 研究の目的

- ① 本研究では検出方法の検討を行うこと、血中で検出される薬毒物と硬組織から検出できる薬毒物に差があるか否か知ること、白骨化死体での薬毒物の検出頻度を知ることである。

3. 研究の方法

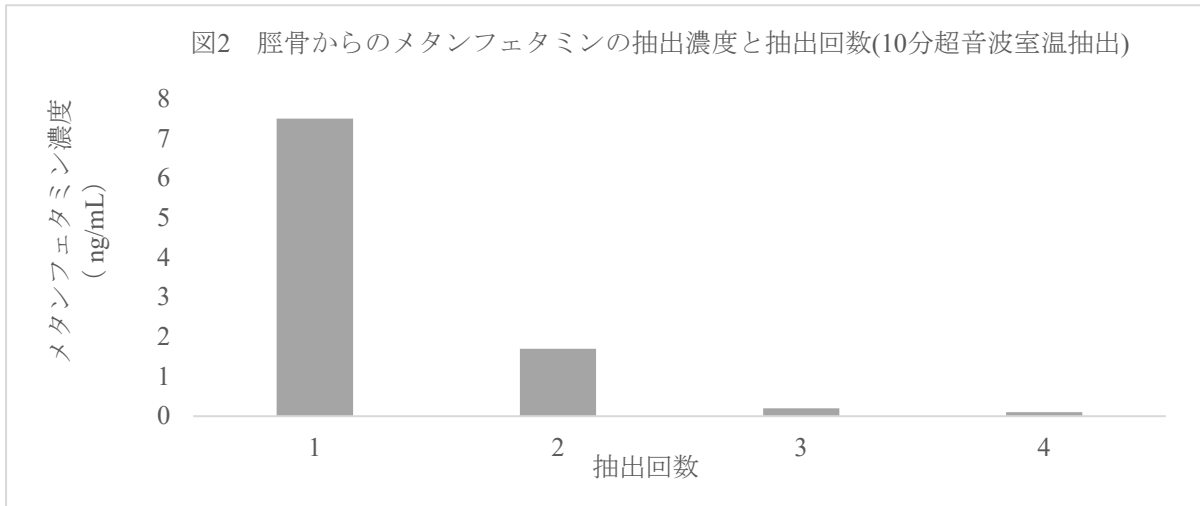
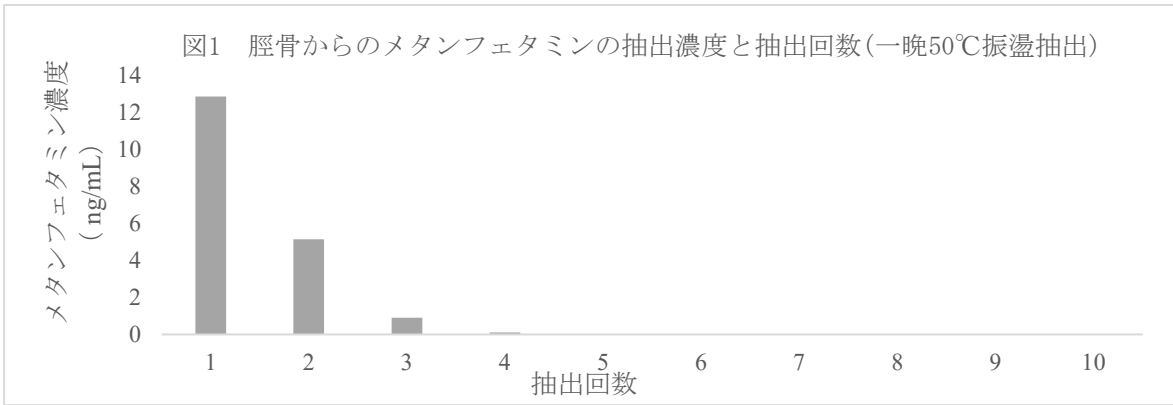
- ① 硬組織からの薬毒物の検出方法の検討
薬毒物の抽出にはメタノール(MeOH)またはアセトニトリル(ACN)/水が用いられるがいずれが適当かを検討した。また、複数回抽出操作を繰り返し抽出回数の検討を行った。さらに抽出時間の短縮を試みた(時短抽出法)。抽出方法：骨微細化試料 0.5g にメタノール 2mL またはアセトニトリル 1ml+水 1ml を加え、750rpm、50℃で一晩振盪反応させた。遠心部分離した上清を採取し、溶媒を溜去して初期移動相に溶解し分析機器に導入した。この操作を 10 回繰り返し、両抽出法の差異を検討した。時短抽出法：振盪反応の代わりに室温で 10 分間超音波処理を行い、その上清を採取した。この操作を 4 回繰り返し、従来法と比較した。
- ② 血中薬毒物と骨中薬毒物の比較
多種類の薬毒物が血中から検出された事例について骨からの抽出を試みて、同じ薬物が検出できるか否か比較を行った。
- ③ 白骨化死体での薬毒物の検出頻度
白骨化事例で薬毒物の検出を行い、検出薬物の種類と検出頻度を調べた。

4. 研究成果

- ① 硬組織からの薬毒物の検出方法の検討
骨組織からの薬毒物の抽出においてはメタノール抽出とアセトニトリル/水抽出ではアセトニトリル抽出法のほうが抽出率は良い傾向を認めたが、著明な差は無く、どちらの方法を採用しても良いことが分かった。(表 1) また、抽出回数は同様の操作を 3-4 回行うことでほぼ全量が抽出できることが分かった。(図 1) さらに、抽出時間も一晩 50℃振盪抽出と 10 分超音波室温抽出では差がなく、後者のほうが抽出時間は短く、4 回の抽出でほぼ全量が抽出可能であり効率的であると考えられた。(図 2)

表 1 メタンフェタミン合計抽出量 (ng/mL)

	MeOH 抽出	ANC 抽出
腰椎	3.5	5.0
胸骨	1.7	4.7
脛骨	19.3	19.0



② 血中薬毒物と骨中薬毒物の比較

血中での検出薬物と骨からの検出薬物では差異が生じた。血中での検出された薬物の一部は骨からは検出できなかった。その理由として、薬物により骨への移行性に違いがあること、薬物の含有量が血液に比べ骨では少ないことの可能性が挙げられた。これは、骨から検出された薬物は骨組織自体に浸透しているというよりは、骨に分布する血管内の血液に含有されていた薬物を検出しているものと考えられるからである。

表2 血液と骨との検出薬物の比較

事例	検出薬物(心臓血)	頭蓋骨	大腿骨
1	Ephedrine	○	○
	Flunitrazepam	○	○
	Methylephedrine	○	○
	Paroxetine	○	○
	Sulpride	○	○
	Acetaminophen	不検出	○
	Desalkylflurazepam	○	不検出
	Dihydrocodeine	不検出	不検出
	Duloxetine	不検出	不検出
	Norephedrine	不検出	不検出
2	Aripiprazole	○	○
	Biperiden	○	○
	Blonanserin	○	○
	Haloperidol	○	○
	Chlorpromazine	不検出	不検出
	Levomepromazine	不検出	不検出
3	Aripiprazole	○	○
	Flunitrazepam	○	○
	Mirtazapine	○	○
	Nitrazepam	○	○
	Phenobarbital	○	○
	Quetiapine	○	○

	Chlorpheniramine	不検出	不検出
	Chlorpromazine	不検出	不検出
	Dextromethorphan	不検出	不検出
	Estazolam	不検出	不検出
	Lidocaine	不検出	不検出
	Olanzapine	不検出	不検出
	Paroxetine	不検出	不検出
	Promethazine	不検出	不検出
	Zotepine	不検出	不検出
4	Amoxapine	○	○
	Alprazolam	不検出	不検出
	Lidocaine	不検出	不検出
	Paroxetine	不検出	不検出

- ③ 白骨化死体での薬毒物の検出頻度
 白骨化死体 70 例について薬毒物検査を行ったところ 11 例で検出され、検出率は約 16%であった。それらは向精神薬や高血圧治療薬、解熱鎮痛剤、糖尿病治療薬などであった。
 (表 3)

表 3 薬物検出事例と推測される生前の病態 (抜粋)

事例	骨種と検出薬物		生前の病態(推測)
	頭蓋骨	大腿骨	
1	Diazepam、Haloperidol、 Maprotiline、Sulpride	Maprotiline、Sulpride	精神疾患
2	Ethenzamide、Salicylic Acid、Acetaminophen	Ethenzamide、Salicylic Acid、Acetaminophen	炎症、疼痛 (市販感冒薬の服用)
3	Lamotrigine、Telmisartan	Lamotrigine、Telmisartan	てんかん、精神疾患、高血圧
4	—	Oxazepam	精神疾患
5	Menmantine、Metformin	Menmantine、Metformin	認知症、糖尿病

- ④ まとめ
 骨からの薬物分析方法は確立されておらず、白骨事例における薬物検出頻度等の統計もない。本研究では骨からの薬物分析法を検討し、その検出頻度や検出薬物を調査した。その結果、分析方法ではアセトニトリル/水抽出+塩化ナトリウム塩析法を用い常温で超音波処理を行い 10 分間の抽出を 3-4 回行えば十分な抽出ができることが分かった。白骨事例の分析ではその約 16%で薬物が検出され、それらは向精神薬や高血圧治療薬、解熱鎮痛剤、糖尿病治療薬などであった。白骨事例でも薬物検査を行うことは有用で、それにより死亡直前の身体状況を推測することができる可能性がある。

【参考文献】

1. James Watterson PhD. Challenges in forensic toxicology of skeletonised human remains. Analyst, 2006, 131, 961-965
2. Nathalie A et al. Microwave-assisted extraction in toxicological screening of skeletal tissues. Forensic Toxicology Research Laboratory, Laurentian University, 935 Ramsey Lake Rd., Sudbury, Ontario, Canada P3E 2C6

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 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Daisuke Yajima, Hiroko Abe, Suguru Torimitsu, Keisuke Okaba, Miyuki Miura, Hirotaro Iwase
2. 発表標題 A Challenge to Detect Drugs from Bones
3. 学会等名 Lecture in National Forensic Service, Republic of Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daisuke Yajima, Hiroko Abe, Yoshikazu Yamagishi, Miyuki Miura, Keisuke Okaba, Yohsuke Makino, Ayumi Motomura, Hirotaro Iwase
2. 発表標題 A Challenge to Detect Drugs from Bones
3. 学会等名 Lecture of Forensic medicine in Chiang Mai University (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢島 大介、安部 寛子、永澤 明佳、岩瀬 博太郎
2. 発表標題 骨試料からの薬物検出の試み
3. 学会等名 日本法中毒学会第37年会
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	斉藤 久子 (Saito Hisako) (10292674)	千葉大学・大学院医学研究院・准教授 (12501)	

6. 研究組織（つづき）

	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	猪口 剛 (Inokuchi Go) (20572580)	千葉大学・大学院医学研究院・准教授 (12501)	
研究分担者	安部 寛子 (Abe Hiroko) (40707204)	千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員 (12501)	
研究分担者	山岸 由和 (Yamagishi Yoshikazu) (50834470)	千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員 (12501)	

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