

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：82505

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09299

研究課題名(和文)簡易吸光度計による、血中薬物濃度の簡易定量法の開発

研究課題名(英文)Development of drug quantification method in blood by a simple visible spectrometer

研究代表者

辻川 健治 (Tsujikawa, Kenji)

科学警察研究所・附属鑑定所・鑑定官

研究者番号：50356193

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：市販の尿中CAF用検査プレートによる血中CAF濃度の判定法を開発した。CAF添加血清をリン酸緩衝液(PBS)で希釈したものを尿中CAF用検査プレートに滴下した後、バンドの有無(バンドがない場合がCAF陽性)を確認した。その結果、PBSで20倍及び100倍に希釈した血清について尿中CAF用検査プレートで検査を行うことで、血中CAF濃度が中毒域以下、中毒域、致死域のいずれかと判定することが可能であった。解剖血4例(2例はCAF濃度が致死域(150 µg/mL以上)、残り2例はCAF中毒以外)に対し上記方法で検査を行ったところ、血中CAF濃度を適切に判定できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カフェイン中毒は増加が著しく、また、時に致死的な中毒である。一方で、血液浄化法により血中からカフェインを除去することで、血中カフェイン濃度が致死濃度域であっても十分に救命可能である。本研究成果は、血液浄化法を適応するかどうかを判断する上で有用な血中カフェイン濃度の判定法となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We developed a simple estimation method using a point-of-care test kit for urinary caffeine (CAF). CAF-spiked human serum was diluted with PBS and applied to the kit. After 5 min incubation, the kit was scanned by a scanner and the membrane image was processed with ImageJ. When the 20-fold diluted serum was applied, serum samples with initial CAF concentration 25 and 50 µg/mL were CAF-negative and -positive, respectively. When the 100-fold diluted serum was applied, none of the CAF-spiked serum samples gave positive. Therefore, we proposed the following test procedure: i) 20-fold diluted serum was initially tested and ii) 100-fold diluted serum was additionally tested when the initial result was CAF positive. Using this procedure, CAF concentration is classified into 3 levels: <25, 25 to 100, and >100 µg/mL. The test procedure was validated using postmortem heart blood from two cases of fatal CAF intoxication (CAF concentration: 276 and 175 µg/mL) and two cases of other intoxication.

研究分野：法中毒学

キーワード：カフェイン 検査キット 血中濃度 判定

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中毒起因物質の中には、アセトアミノフェン、サリチル酸、カフェインなど、血中濃度と中毒の程度が明らかとなっているものがある。そうした薬毒物の血中濃度を迅速に測定できれば、解毒薬の使用、血液透析の実施等の治療方針の決定に有用である。しかしながら、多くの病院では、高速液体クロマトグラフやガスクロマトグラフ-質量分析装置等の高価な実験室用の分析装置(1式数百万円以上)はおろか、紫外可視分光光度計(安価なモデルで1式80万円程度)さえも保有しておらず、血液中の薬毒物の迅速分析が実施できる体制ではない。

2. 研究の目的

1を踏まえ、診断・治療に役立つレベルの精度で血液中の薬毒物の濃度を迅速に分析できれば、中毒の診断・治療に貢献しうると考えられた。そこで、近年、致死的な中毒事例の増加が問題となっているカフェインを対象として、市販の尿用のイムノクロマトキット(カットオフ濃度1 µg/mL)による、血中カフェイン濃度の迅速判定法の開発を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

市販の尿中カフェイン用検査プレート(商品名CAF Rapid Test Cassette (Urine)、公称カットオフ1 µg/mL、40枚入り税別定価20,000円)が血中カフェイン濃度の判定に活用できないか検討した。カフェイン添加血清(カフェイン濃度100、50、25、10 µg/mL)をリン酸緩衝液(PBS)で10、20、50、100倍に希釈したものを尿中カフェイン用検査プレートに滴下した後、バンドの有無(バンドがない場合がカフェイン陽性)を確認した。バンドの有無の判定にあたっては、客観性を高めるため、検査プレートを事務用スキャナーで取り込み、メンブレン部の画像をImage Jで解析し、バンドの有無を二次元グラフ上でのピークの有無として評価した。

また、検査フローの妥当性を評価するために、及びそれ以外の薬物の中毒で亡くなった方の心臓血(各 $n=2$)についても、同様の実験を行った。

4. 研究成果

1) カフェイン添加血清の検査結果

20倍希釈した血清を検査プレートにアプライしたところ、カフェイン濃度25 µg/mL以下の血清ではカフェイン陰性、50 µg/mL以上の血清ではカフェイン陽性と判定された。また、100倍希釈した血清を検査プレートにアプライしたところ、いずれのカフェイン濃度においても、カフェイン陰性と判定された。

2) 検査フローの提唱

上記の結果をふまえて、次のような検査フローを提唱した。1)最初に20倍希釈血清を検査する。2)1)の検査結果陰性であればカフェイン濃度25 µg/mL以下とみなす。3)1)の検査結果が陽性であった場合、100倍希釈血清を検査する。4)3)の検査結果が陰性であればカフェイン濃度25~100 µg/mL、陽性であればカフェイン濃度100 µg/mL以上とみなす。なお、血中カフェイン濃度25 µg/mL以下、25~100 µg/mL、100 µg/mL以上はそれぞれ軽症以下、中毒域、致死域に概ね相当する。

3) 検査フローの妥当性の評価

2)の検査フローの妥当性を評価するため、カフェイン及びそれ以外の薬物の中毒で亡くなった方の心臓血(各 $n=2$)について、20倍及び100倍に希釈後に検査プレートにアプライし、バンドの有無を判定した。なお、カフェイン中毒死した方の血中カフェイン濃度は、276 µg/mLと175 µg/mLであった。

上記4点の資料の検査結果についてフローにしたがって血中カフェイン濃度の判定を行ったところ、カフェイン中毒死した方の血中カフェイン濃度は100 µg/mL以上、それ以外の薬物により中毒死された方の血中カフェイン濃度は25 µg/mL以下と判定され、検査フローの妥当性を確認できた。

4) カフェインの代謝物に対する交差反応性の確認

カフェインには、主要な代謝物として、いずれもカフェインの脱メチル体であるテオフィリン、テオプロミン、パラキサンチンがある。これらはカフェインと化学構造が近いため、検査プレートに対し陽性を示す可能性がある。そこで、各代謝物を100 µg/mLとなるように添加した血清を20倍希釈して検査プレートにアプライし、バンドの有無を確認したところ、いずれの代謝物もバンドが確認され、すなわち陰性と判定された。各代謝物の血中濃度を考慮するとこれらの代謝物による影響は無視できるものと考えられた。

5) 研究発表

なお、本研究の成果は、日本臨床・分析中毒学会第7回学術集会（2023、プログラム P31）で発表するとともに、Forensic toxicology 誌に受理された（2024年6月18日現在 doi は付与前である）。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kenji Tsujikawa, Yuki Okada, Hiroki Segawa, Tadashi Yamamuro, Kenji Kuwayama, Tatsuyuki Kanamori, Yuko. T. Iwata	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of a simple estimation method of serum caffeine concentration using a point-of-care test kit for urinary caffeine	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Forensic Toxicology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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 辻川健治、岩田祐子
2. 発表標題 尿中カフェイン（CAF）用検査プレートによる血中CAF濃度判定法の開発
3. 学会等名 日本臨床・分析中毒学会第7回学術集会
4. 発表年 2023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
---------	---------