

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10562

研究課題名（和文）身近に潜む脅威「界面活性剤」～陽イオン界面活性剤中毒の科学的解明～

研究課題名（英文）The development of a method for cationic detergent poisoning diagnosis using liquid chromatography mass spectrometry

研究代表者

藤田 友嗣 (FUJITA, YUJI)

岩手医科大学・医学部・講師

研究者番号：50721974

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：我々の身の回りは界面活性剤を含有する製品で溢れており、身近に存在し容易に入手できることから、子供や高齢者の誤飲など、界面活性剤による中毒の発生は後を絶たない。界面活性剤の中でも消毒剤の主成分として用いられる陽イオン界面活性剤は、ヒトに対する成人推定致死量が数グラムと考えられており、毒性が強く、注意すべき薬毒物の一つである。我々は、この陽イオン界面活性剤のうち、[モノ、ビス（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）]-アルキルトルエンという化合物について、血液や尿などの生体試料から検出する方法を確立した。さらに本法を中毒事例に適用し、血中濃度の変化や体内での挙動を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、まず生体試料中から陽イオン界面活性剤の[モノ、ビス（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）]-アルキルトルエンを検出する方法を確立した。これにより、本中毒を科学的に証明することが可能となった。次いで、中毒事例における血中濃度や体内での挙動を明らかにした。これらのデータは中毒の評価や治療を行う際に有用な情報となり得る。以上より、本研究は、法医学分野における死因究明、救急医療における中毒の治療の発展に貢献できると考える。

研究成果の概要（英文）：The cation detergent, [mono, bis (trimethylammonium methylene chloride)]-alkyl (C9-15) toluene (TAMCA), is widely used as an animal antiseptic. The toxicity of TAMCA for humans is estimated to be very strong. We have developed a new method for analysis of TAMCA in biological samples. The method was applied to the poisoning case, and the toxicokinetics of TAMCA were determined in human. Our results may be useful in the analytical and toxicological assessment of TAMCA for forensic and clinical field.

研究分野：臨床中毒

キーワード：界面活性剤 陽イオン界面活性剤 4級アンモニウム塩化合物

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々の身の回りは界面活性剤を含有する製品で溢れており、身近に存在し容易に入手できることから、子供や高齢者の誤飲など、界面活性剤による中毒の発生は後を絶たない。界面活性剤の中でも消毒剤の主成分として用いられる陽イオン界面活性剤は、ヒトに対する成人推定致死量が数グラムと考えられており、毒性が強く、法中毒・臨床中毒の分野において注意すべき薬毒物の一つである。陽イオン界面活性剤による主な中毒事例は、院内等で消毒剤として使用される塩化ベンザルコニウム(BZK)であるが、[モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)]-アルキルトルエン(TAMCA)による死亡事例も報告されている。TAMCAは、1価の陽イオンである塩化メチルアルキルベンジルトリメチルアンモニウム(以下、モノ体)と2価の陽イオンである塩化メチルアルキルキシリレンビストリメチルアンモニウム(以下、ビス体)の混合物(モノ体:ビス体=4:1)である。なお両化合物ともアルキル鎖はC9-15であり、メインはC12である。これまでTAMCA中毒事例において、生体試料からモノ体とビス体を個別に検出しその濃度まで測定している報告はみあたらず、またヒトにおけるモノ体とビス体の中毒濃度や致死濃度、体内動態に関しても明らかにされていない。

### 2. 研究の目的

このようにTAMCAはヒトに危害を及ぼす化合物の一つであるが、生体試料からの検出方法が確立されておらず、また中毒濃度や体内動態等の臨床的な情報も乏しいのが現状である。そこで我々は、TAMCA中毒を科学的に証明する方法、臨床における基礎的データを構築することを目的とした。

### 3. 研究の方法

生体試料の前処理にはQuEChERS法を用いた。測定に関して、分析カラムはHILICカラムである東ソー社製TSKgel Amide 80(2.0×150 mm, 3 μm)を用い、移動相は30 mMギ酸アンモニウムとアセトニトリルを用いた。質量分析装置は定性・定量分析にはSCIEX社製の3200QTRAPを、代謝物分析にはSCIEX社製のX500Rを用いた。

TAMCA含有消毒剤を自殺目的で頸部に注入した事例の血液、尿、注入部位の組織を分析用試料とした。これらの試料を定性分析後に、アルキル鎖がC12モノ体とC12ビス体に関して定量分析を行った。経時的に測定したモノ体とビス体の血中濃度に関して、これらのデータを対数変換後に来院後の経過時間に対してプロットし、体内動態の解析を行った。

### 4. 研究成果

TAMCAのモノ体、ビス体ともにアルキル鎖のメインはC12である。本研究では、メインであるC12モノ体とC12ビス体をターゲットとした。生体試料からの抽出には、簡便で迅速なQuEChERS法を採用した。QuEChERSは法中毒、臨床中毒における多くの薬毒物に対応可能であり、本化合物の抽出にも応用可能で、簡便かつ迅速に抽出することが可能であった。血清および尿プラークに関して、C12モノ体とC12ビス体が出現する位置に妨害物質は出現しなかった。血清中におけるC12モノ体とC12ビス体の定量分析に関して、バリデーションを実施した。C12モノ体の検出限界は2 ng/mLで検量線の直線性が成立する範囲は10-800 ng/mL、C12ビス体の検出限界は5 ng/mLで範囲は25-2000 ng/mLであった。本法の併行精度と室内再現精度は両化合物とも定量下限値では15%以下であり、低、中、高濃度のサンプルでは10%以下であった。また、回収率、マトリックス効果、保存安定性、希釈定量性に関しても十分許容できる範囲内であった。本法では最適な内部標準物質を見つけることができず、血中の定量分析には絶対検量線法を用いたが、精度よく血中のC12モノ体とC12ビス体を定量できることが示された。

本法を中毒事例の分析に応用した。本事例における来院時の血中濃度は、C12モノ体 2.00 μg/mL、C12ビス体 11.0 μg/mLであった。本化合物における中毒例の報告において、血中濃度の報告はあるが、モノ体とビス体を分離して測定しておらず、本事例の濃度と比較して中毒を評価することは難しい。患者の臨床経過から判断すると、患者は治療が行われなければ死亡していた可能性が非常に高く、来院時のC12のモノ体とC12ビス体の血中濃度は、中毒濃度であることは間違いがなく、致死濃度といっても過言ではないと思われる。

TAMCAのモノ体とビス体の存在比は4:1であり、モノ体の含有量はビス体より多い。しかし、来院時の血中濃度は、C12ビス体がC12モノ体に比べて高く、モノ体とビス体の比は1:6と逆転していた。注入した頸部の組織中の濃度(受傷10日後に切除)を標準添加法により定量した結果、C12モノ体は6.43 mg/g、C12ビス体は35.3 μg/gであり、C12ビス体の注入部位の組織中濃度は極めて低い値であった。経時的に測定した血中濃度を対数変換した値を来院後の経過時間に対してプロットした図から、C12モノ体およびC12ビス体は2コンパートメントモデルを示しており、両化合物とも臓器へ移行することが示された。この分布相における半減期を算出すると、C12モノ体は17 hr、C12ビス体は7.5 hrであり、分布相における半減期はC12ビス体の方が短時間であった。これらの結果から、注入部位から血中、そして血中から臓器への移行に

関して、ビス体はモノ体に比べて速やかであると推測され、この移行の速さが毒性の強さと関連している可能性も考えられる。これらの化合物の中毒死事例において、臓器への分布が報告されており、その中でも特に肺と腎臓において組織中濃度が血中濃度よりも高いと報告されている<sup>1, 2)</sup>。同じ4級アンモニウム塩化合物で陽イオン界面活性剤であるBZKの動物実験でも、肺と腎臓に高濃度に分布し、これらの臓器への傷害が確認されている<sup>3, 4)</sup>。また、BZK中毒死例の報告において、致死的な心臓毒性を報告している論文もある<sup>5)</sup>。本事例において、中毒症状として、心機能低下(下大静脈の虚脱、血圧低下)、呼吸抑制、腎障害を呈しており、これは陽イオン界面活性剤の臓器移行性の高さが強く関連していると思われる。

消失相に関して、C12モノ体とC12ビス体の半減期はそれぞれ、99 hr、137 hrであり、非常に長い半減期であった。なお、消失相に相当するこれらの化合物の血中濃度は、極めて低い濃度が持続していた。本研究は、1症例の為にはっきりとしたことは不明であるが、半減期の延長は、心機能低下、腎障害、血中タンパクへの結合、移行した臓器からの血中への再分泌などが複雑に絡み合った可能性が考えられる。同じ陽イオン界面活性剤のBZK摂取事例において、摂取18日後に血中からBZKが検出された報告<sup>6)</sup>があり、陽イオン界面活性剤は血中からの消失には長い時間を要するのかもしれない。

排泄に関して、TAMCA中毒事例(経口摂取ではなく、血中への直接的な投与)において、福家らの報告<sup>1)</sup>では、尿中からこれらの化合物は検出されておらず、一方、Shimizuらの報告<sup>2)</sup>では、これら化合物の存在が尿中で確認されている。なお、これらの報告ではモノ体とビス体を分離して測定してはいない。本事例では(頸部への注射による投与)、来院時の尿中からC12モノ体とC12ビス体が検出され、尿中への排泄が確認された。なお、尿中濃度(標準添加法により定量)は、随時尿の結果ではあるが、C12モノ体 2.14 µg/mL、C12ビス体 132 µg/mLであり、血中濃度と同様にC12ビス体濃度がC12モノ体に比べて高い値であった。C12ビス体は、4級アンモニウム基が2個ついており、構造的にみても水溶性が高いため、腎臓から尿中へ排泄され、尿中濃度がC12モノ体に比べ高くなったものと思われる。一方、尿中濃度が低いC12モノ体は、C12ビス体に比べ脂溶性が高く、肝で代謝され尿中へ排泄されるものと推測される。

代謝に関して、C12モノ体からは、水酸化体とそのグルクロン酸抱合体と推測される化合物が検出された。一方、本装置の感度によるものかもしれないが、C12ビス体からは代謝物と推定される化合物は検出することができなかった。ビス体は水溶性が高いため、生体内での水酸化や抱合体などの代謝を受ける必要がないのかもしれない。C12ビス体の血中消失半減期がC12モノ体より1.4倍も延長していたが、これはビス体が水溶性であることから、代謝を受けない、もしくは代謝を受けにくいことが影響していた可能性が考えられる。

結論として、生体試料におけるモノ体およびビス体の検出する方法を確立し本法を中毒事例に応用した。中毒事例におけるC12モノ体とC12ビス体の来院時の血中濃度はそれぞれ、2.00 µg/mL、11.0 µg/mLであり、この濃度は中毒域から致死域に至る濃度と考えられる。経時的に測定した血中濃度データから、これらの化合物における体内動態を解析したところ、両化合物とも2コンパートメントモデルを示し、これらの化合物は臓器へ移行することが示された。本事例では、臨床症状として、心機能低下、呼吸抑制、腎障害を呈しており、これらの症状は組織へ移行したこれらの化合物の直接的な作用により引き起こされたと推測される。なお、モノとビスの血中消失半減期は非常に長く、血中からの消失には長時間が必要であった。代謝および排泄に関して、C12モノ体は水酸化、グルクロン酸抱合をうけて尿中へ排泄され、C12ビス体は水溶性が高いため、代謝を受けずにそのまま尿中へ排泄されると考えられる。本研究成果は、本中毒の証明および評価において有用なデータになると考える。

#### 参考文献

- 1) 福家千昭 他, 日本法中毒学会第26年会要旨集. 42-43 (2007)
- 2) Keiko Shimizu, et al., *Forensic Sci Int.* 173:83-84 (2007)
- 3) Yuying Xue, et al. *Toxicol Lett.* 148:113-123 (2004)
- 4) Yuying Xue, et al. *J Appl Toxicol.* 32::480-487 (2012)
- 5) Luca Roncati, et al. *Forensic Sci Int.* 278:e19-e23 (2017)
- 6) Satoko Mishima-Kimura, et al. *Legal Med.* 32:48-51 (2018)

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 1件）

1. 発表者名 藤田友嗣
2. 発表標題 界面活性剤による中毒に関して
3. 学会等名 第35回日本中毒学会東日本地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田友嗣
2. 発表標題 臨床中毒におけるマスペクトロメトリーの活用
3. 学会等名 5th International Chemical Hazard Symposium, 第5回日本環境化学会 北海道・東北地区部会 中国・四国部会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田友嗣、藤野靖久、白井尊聖、井上義博
2. 発表標題 動物用殺菌消毒剤パコマ有効成分（陽イオン界面活性剤）の体内動態に関する検討
3. 学会等名 第44回日本中毒学会総会・学術集会
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
研究分担者	藤野 靖久  (Fujino Yasuhisa)  (80306026)	岩手医科大学・医学部・特任准教授    (31201)	

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	臼井 聖尊  (Usui Kiyotaka)  (80567884)	東北大学・医学系研究科・講師     (11301)	

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