

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09083

研究課題名（和文）皮膚揮発性物質分析による農薬中毒の診断法の実用化

研究課題名（英文）Practical application of diagnostic method for pesticide poisoning by skin volatile substance analysis

研究代表者

梅澤 和夫（UMEZAWA, KAZUO）

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：30349344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：農薬中毒患者に対し、皮膚ガス分析を実施した。有機リン中毒患者では、血中濃度は速やかに低下したが、中毒症状は残存していた。一方、皮膚ガス分析では持続的に検出され、中毒症状が継続している期間において検出された。また同時に有機リン製剤の代謝産物も検出された。代謝産物も中毒症状を引き起こす事が報告されており、皮膚ガス測定の特長としての重要性が明らかになった。不明薬剤内服症例において実施された皮膚ガス分析ではグリホサート、オルトクロロベンゼンが検出された。農薬中毒に絡みついて皮膚ガス分析によるオミックス解析が可能なが示された。皮膚ガス分析の農薬中毒に於ける有用性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有機リン中毒においては、その血中濃度は速やかに低下するが、臨床症状は長期に継続し治療判断が困難であった。皮膚ガス分析では臨床症状を有する期間に於いて、有機リン、および、中毒活性を有すると言われている、その代謝産物も検出されており、中毒患者の治療交換判断に寄与することができた。また、不明薬剤服用症例に対しても、皮膚ガス分析により中毒物質を特定することができ、中毒オミックス解析が可能なが示され、トキシドームの手段として注目される技術である。皮膚ガス分析は非侵襲的検査であり間は負担が少なく、安全な検査である。オミックス解析が可能なが皮膚ガス分析は今後のトキシドームを大きく変える検査法である。

研究成果の概要（英文）：Skin gas analysis was performed on pesticide poisoning patients. In patients poisoned with organophosphorus, blood levels decreased quickly, but symptoms of poisoning remained. On the other hand, skin gas analysis showed persistent detection of organophosphorus during the period of continued symptoms of intoxication. At the same time, metabolites of organophosphorus products were also detected. Metabolites have also been reported to cause intoxication symptoms, and the importance of skin gas analysis as a toxidome became clear. Skin gas analysis performed in cases of poisoning with unknown drugs detected glyphosate and orthochlorobenzene. Omics analysis by skin gas analysis in pesticide poisoning was shown to be feasible. The usefulness of skin gas analysis in pesticide poisoning was demonstrated.

研究分野：中毒分析

キーワード：皮膚ガス分析 オミックス解析 パッシブフラクティブサンプラー 農薬中毒 トキシドーム 非侵襲検査

## 1. 研究開始当初の背景

皮膚揮発性物質(皮膚ガス)分析は、新たな非観血的検査として国内外で開発研究が進められている。しかしながら、臨床検査として実用化された測定システムはない。それは、実用的かつ信頼性あるサンプリングデバイスを含めた測定システムが利用可能な状態に無かったことによる。我々は皮膚揮発性物質の非観血的な測定のための皮膚ガス測定装置(パッシブ・フラックス・サンプラー-passive flux sampler: PFS、キャップ部分に Mono-Trap をステンレスメッシュにて固定:左上図)の開発、それを用いてガスクロマトグラフィー-MSにて物質解析をおこなう皮膚ガス分析システムを確立、ICU 入院患者と皮膚アンモニアとの解析、健康人に於けるストレスと皮膚ガスとの解析など様々な病態での非観血的診断が可能であることを示してきた。

農薬とその代謝産物が皮膚ガスとなることに着目し、複数の農薬中毒症例(パラコート、フェニトロチオン、マラチオン、グリホサート、アセフェート)において、皮膚ガス測定が患者の病態把握に利用可能であることを示した(左下図、急性有機リン中毒患者の皮膚ガス分析、Rinsho Byori 2018, 66: 949-956)皮膚ガス分析の特徴は一般的に行われている血中濃度測定と異なり、皮膚ガス収集装置は中毒物質が異なっても共通である(網羅的に測定可能)、血中濃度が検出限界以下となっても検出される、代謝産物も同時に測定可能である、組織移行した物質も測定可能である、等があり、急性中毒のみならず慢性中毒、代謝産物による中毒も診断可能である。しかしながら当大学が所在する神奈川県西部地区での農薬中毒症例は、服毒自殺による急性中毒が中心で、慢性中毒など労災事例は極めて希で、症例数に限りがあり、実用化に向けた検査性能データ取得が困難である

本研究では、農薬中毒において、臓器障害、治療モニタリングに適切な測定方法を実用化するため、農薬中毒症例について全国規模で症例を収集し、本測定法の実用化に向けた検証を行うことを目的とする。平成30年度より救命救急センターでの多施設研究を実施中で、急性中毒症例、慢性中毒症例、職業曝露等による長期曝露による障害症例についてPFSを用いた皮膚ガス分析による主中毒物質、および代謝産物の検出を行い、農薬中毒の中毒動態の解析と予後予測等の解析を行う。

## 2. 研究の目的

農薬中毒患者(急性、慢性を含む)を対象に急性中毒に於ける中毒動態の解析、予後予測法の解析、に加え、慢性中毒における中毒動態の解析、予後予測法の開発の両者を目的とする。方法は1週間に1回程度の頻度で、患者皮膚に皮膚ガス測定装置(PFS)を1時間添付、PFS回収後、ガスクロマトグラフィー-MSにて定量的に解析し、中毒原因物質物質濃度とその代謝産物濃度の動態を解析する。同時に血中薬物濃度も測定し、両者を比較検討する事も行う。

## 3. 研究の方法

### (1) 調査研究の方法

多施設観察研究(介入なし、対象治療薬なし)

測定日:入院患者:入院日、以後毎週1回に退院日まで

外来患者(慢性中毒、退院後):来院日

参加施設:救命救急センター等

対象患者:急性、慢性の農薬中毒

測定方法:

パッシブ・フラックス・サンプラー(PFS)を患者前胸部に1時間添付し回収。4にて一時保管。

東海大学理学部化学科に郵送(月1回程度の集中発送)

Mono-Trapに捕集された皮膚揮発性物質を熱脱離または溶媒抽出し、ガスクロマトグラフィー(GC-MS)にて測定。

物質同定はNIST(National Institute of Standards and Technology)ライブラリーを用い行う。

皮膚ガス測定日に血中薬物濃度も測定(自施設測定。自施設測定不能な場合は東海大学医学部附属病院高度救命救急センター内、中毒センターにて測定)

目標症例数:100症例

統計学的検討(多変量解析)に必要な症例数として設定した。

### (2) 調査研究計画及び期間

調査研究計画:

東海大学医学部臨床研究審査委員会にて臨床研究承認(17R-057)

共同研究施設の募集(平成30年12月~令和4年12月31日)

共同研究実施での研究内容説明（適宜）  
症例登録（平成30年12月～令和4年12月31日）  
検査結果の集計、統計処理（平成30年1月～令和5年2月28日）

### （3） 調査項目

#### 一般事項、共通事項

本研究調査は多施設観察研究（介入なし、対象治療薬なし）として実施され、医療費負担は発生しない。個人情報 は匿名化する。

#### PFSによる解析

PFS をガスクロマトグラム解析により 1 回の検体採取で中毒農薬、および代謝産物の同定が可能である。

P1 左下図は実際のフェニトロチオン中毒患者における PFS を用いた解析結果で、服毒したフェニトロチオンの他にその代謝産物（3-methyl-4-nitrophenol、fenitrooxon、O-desmethyl fenitrooxon、dimethyl phosphate）を定量する。

#### 臨床症状

対象患者に観察された中毒症状（頻脈、縮瞳、発汗、気道分泌過多等）

患者年齢、性別（母集団特性解析に利用）

曝露薬剤情報：薬品名、曝露経路（吸入、経皮、経口）、曝露量、曝露日時等

臨床検査（診療録の後向き調査にて実施）

コリンエステラーゼ値、動脈血血液ガス分析、胸部放射線検査所見等

## 4．研究成果

ヒトの皮膚表面から放出される微量の生体揮発性ガス "ヒト皮膚ガス" には様々な生体情報が含まれており、様々な疾患の診断に利用できる。ヒト皮膚ガスを用いて急性薬物中毒患者の原因物質を同定した。

パッシブフラックスサンプラー（PFS）を用いて、フェニトロチオンとその代謝物を揮発性有機化合物（VOC）として皮膚表面で採取・測定することに成功した。50%フェニトロチオン乳剤の服用症例に対し、皮膚 VOC は、ガラスバイアル、ポリプロピレン製スクリーキャップに捕捉媒体（MonoTrap<sup>®</sup>、DCC18）を装着したシンプルな装置である PFS によって採取された。PFS を胸部に 7 時間装着し、その後、皮膚表面から放出されるトラップ化合物を質量分析装置付きガスクロマトグラフィーで測定した。クロマトグラムには強度の異なる複数のピークが観察され、それぞれを国立標準技術研究所のライブラリデータベースを用いて同定した。その結果、外因性フェニトロチオンおよびフェニトロチオンの代謝物である 3-メチル-4-ニトロフェノール、フェニトロオキシソ、O-デスマチルフェニトロオキシソ、リン酸ジメチルなどが同定された。フェニトロチオンの血清中濃度と放出フラックスの時間経過は異なり、一次減衰を仮定した場合の半減期はそれぞれ 3.7 日と 6.8 日であった。フェニトロチオンの血清中濃度が低下した後も有機リン酸のトキシドームは残存し、フェニトロチオンとその代謝物の放出フラックスは継続的に検出された。これらの結果から、ガスクロマトグラフィーと質量分析計を組み合わせた PFS は、非侵襲的な検査として中毒患者の皮膚 VOC 中のフェニトロチオンとその代謝物の測定に有用であり、中毒のモニタリングと毒物動態学的影響の持続時間の予測が可能であることが示唆された。

一方、服用薬剤不明症例に対し、皮膚ガスを測定したところ、オルトジクロロベンゼンが検出された。家庭内からはオルトジクロロベンゼンを含む殺虫剤が検出され、オルトジクロロベンゼン中毒と診断された。

有機リン中毒においては、その血中濃度は速やかに低下するが、臨床症状は長期に継続し治療判断が困難であった。皮膚ガス分析では臨床症状を有する期間に於いて、有機リン、および、中毒活栓を有すると言われている、その代謝産物も検出されており、中毒患者の治療交換判断に寄与することができた。また、不明薬剤服用症例に対しても、皮膚ガス分析により中毒物質を特定することができ、中毒オミックス解析が可能なが示され、トキシドームの手段として注目される技術である。皮膚ガス分析は非侵襲的検査であり間は負担が少なく、安全な検査である。オミックス解析が可能な皮膚ガス分析は今後のトキシドームを大きく変える検査法である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 川本 英嗣, 梅澤 和夫, 関根 嘉香, 今井 寛
2. 発表標題 生体揮発性ガス分析によりオルトジクロロベンゼンによる急性薬物中毒と診断した症例
3. 学会等名 第50回日本救急医学会総会・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	川本 英嗣 (KAWAMOTO EIJI) (20577415)	三重大学・医学部附属病院・講師  (14101)	
研究分担者	斉藤 剛 (SAITHO TAKESHI) (30266465)	東海大学・医学部・准教授  (32644)	
研究分担者	神野 敬祐 (JINNNO KEISUKE) (40897550)	香川大学・医学部附属病院・医員  (16201)	
研究分担者	関根 嘉香 (SEKINE YOSHIKA) (50328100)	東海大学・理学部・教授  (32644)	

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	浅井 さとみ  (ASAI SATOMI)  (60365989)	東海大学・医学部・准教授    (32644)	

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