

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 11 日現在

機関番号：11301  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26460873  
研究課題名(和文) 犯罪死の見逃しを防止する新しい薬毒物分析法の開発  
  
研究課題名(英文) Rapid drug screening system for death investigation  
  
研究代表者  
白井 聖尊 (Usui, Kiyotaka)  
  
東北大学・医学系研究科・講師  
  
研究者番号：80567884  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：犯罪死の見逃し防止のために薬毒物検査の実施は必須であるが、すべての検体について従来法で対応することは難しい。そこで改良型QuEChERS法とフローインジェクション-質量分析法(FI-MS/MS)を組み合わせ、全血試料の抽出から分析結果の報告までを10分程度で完了させる新しい分析法の構築を試みた。構築した分析法とLC-MS/MS(従来法)による定性結果の一致率は96%程度であり、この分析法は幅広い薬毒物に対して迅速かつ簡便に検査が可能であることがわかった。しかし、いくつかの事例で低濃度の薬毒物を取りこぼすこともあり、犯罪死見逃し防止にはさらなる改良が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：There is a compelling need for the rapid drug screening in forensic science in Japan. From the start-up of an LC-MS/MS to the reporting of the result, including analysis of the blank sample, a period of more than 2 hours is typical. Additionally, this technique is somewhat difficult for less experienced analysts. Therefore, we addressed these limiting factors by developing a reliable and simple analytical technique using a combination of the QuEChERS method and an FI-MS/MS, which returns results within 10 min. This new method enabled us to complete the entire drug screening process within 10 min. For actual forensic cases, the qualitative results roughly matched (96% concordance rate) with the results obtained with the standard LC-MS/MS technique. Although some drugs present at low concentrations were not detected in the analysis of forensic cases, the QuEChERS-FI-MS/MS method was able to detect a wide-range of drugs in whole blood in a relatively short time.

研究分野：法中毒学

キーワード：Flow injection QuEChERS extraction Drug screening Tandem mass spectrometry

## 1. 研究開始当初の背景

犯罪死の見逃し防止に資する死因究明制度の在り方に関する研究会で警察庁が提出した資料(平成23年)によると、日本における犯罪死の見逃し件数は平成10年以降、43件が報告されている。このうち、薬毒物を用いた事件は11件あり、実に25%以上を占めている。内閣府の死因究明等促進会議における検討会(死因究明推進計画検討会)でも、警察の扱う死体については「原則全件検査すべき」という意見が委員・専門委員から提出されていた。「犯罪死の見逃し」は、司法関係機関だけでなく、死因究明制度そのものの信用を失墜させる事案であり、薬毒物の全件検査を可能とする新しい分析法の開発が必要と考えた。

## 2. 研究の目的

薬毒物による事件は、解剖やAi(死亡時画像診断)のみで認知することは難しく、薬毒物検査の実施が必須である。しかし、警察が扱う全ての死体に対して検査を実施するには、膨大な時間と労力が必要であり、現状の分析法で対応するのは難しいと考えられる。本研究の目的は、これまで研究代表者らが開発してきた(1)約5分で薬毒物抽出ができる改良型QuEChERS法と(2)フローインジェクション(FI)分析法、さらに(3)ハイブリッド型質量分析計(MS/MS)の3つを組み合わせ、抽出から結果報告までを10分以内(装置安定化、ブランク分析も含む)に完了させる薬毒物分析システムの構築によって「犯罪死の見逃しを防止する」ことである(図1)。

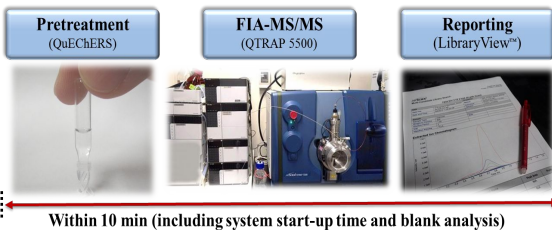


図1 新しい薬毒物分析法の流れ

## 3. 研究の方法

### (1) 機器分析の条件設定

測定時間の圧倒的な短縮を目指すため、カラムによる分離工程を排除したFI-MS/MS法の条件設定を行なった。対象とする薬毒物は、法医学上重要とされている

薬毒物から選択した。すなわち、ベンゾジアゼピン系薬物、三環・四環系抗うつ薬、フェノチアジン系薬物、ブチロフェノン系薬物、その他一般医薬品、代謝物、天然毒などに分け、各クラスから検出頻度の高い薬毒物をピックアップし、最初に標準試料を用いて測定条件を確定させた。次にFI-MS/MS法で重要となる次の項目について検討を行なった。

#### ・ハイブリッド型質量分析計の設定

FI-MS/MS法では薬毒物を一斉に検出するため、タンデム型質量分析計におけるイオンの選択条件、取込み速度、取込み時間の設定を行なった。各薬毒物のプリカーサーイオン(Q1)とプロダクトイオン(Q3)はできるだけ重複しないように選択した。本研究では200種類程度の薬毒物を対象とするため、各薬毒物のイオン取込み時間を5ミリ秒に設定した。

#### ・移動相の流速設定

FI法において、移動相の流速が遅いと拡散による感度低下を招く一方、速すぎると質量分析のデータポイント数が少なくなるため、取りこぼしが発生すると考えられる。そのため、流量グラジエントを使用して、全体の測定時間を1測定あたり1.5分以内で調整した。

### (2) 従来法(LC-MS/MS)との比較

血液(全血)中の薬毒物について、改良型QuEChERS法を用いて抽出を行なった後、前述のとおり設定したFI-MS/MS法で分析した。また同一試料について従来法である高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)による分析もおこなった。得られたデータは市販の解析ソフトであるLibrary View™ソフトウェアで自動解析させた後、その定性結果について比較検討した。両分析法の定性結果について、類似性指標であるジャカード係数、ダイス係数及びコサイン係数を用いて、客観的な比較検討を行なった。

## 4. 研究成果

血液(全血)中の薬毒物について改良型QuEChERS法を用いて抽出した後、あらかじめ設定したFI-MS/MS条件により測定を行ないLibraryView™ソフトウェアで混合スペクトルを自動解析した。LibraryView™による自動ライブラリー検索において、Purity(ライブラリーに収録されているスペクトルとの同一性)が、どの程度の値(%)を示したと

きに「検出」と判断するのは非常に重要なファクターとなる。本来であれば、取得したプロダクトイオンスペクトルを測定者自身が確認してから判断すべきであるが、一つの薬毒物について混合スペクトルを解析するには手間と時間がかかる。また分析経験の少ない測定者にとっては難しい作業である。そのため、「検出」について簡単な判定基準を設定することにした。図2は、実際に Purity (%) を変化させたときの、LC-MS/MS との定性結果一致率の変化をプロットしたものである。法医試料 150 件程度について解析を行なったところ、閾値として Purity (%) を 24.3 に設定したときに、その一致率が最大になることがわかった。このときのコサイン係数、ダイス係数及びジャカード係数は、それぞれ 96%、96%及び 93% (100% を完全一致とする) であった。

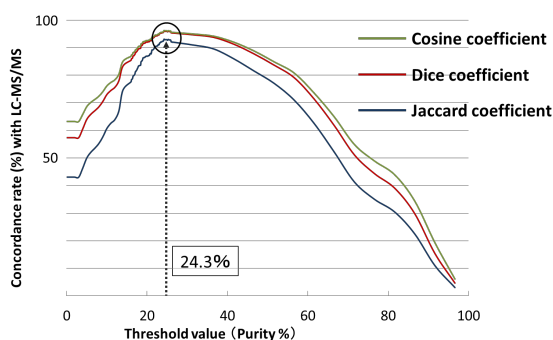


図2 Purity (%)と LC-MS/MS との一致率の関係

そのため LibraryView™ による検出判定基準は Purity (%) = 24.3 以上とするのが妥当と考えられた。このように FI-MS/MS の定性結果は LC-MS/MS とほぼ一致しており、法医学分野で要求される幅広い薬毒物に対して、迅速かつ簡便な検査が可能であることがわかった。一方で、いくつかの事例において低濃度の薬毒物を取りこぼす現象 (偽陰性) も見られた。犯罪死見逃し防止にはさらなる一致率の向上が必要だと考えられる。

臨床分野において急性薬物中毒が疑われた際も、その中毒起因物質を迅速かつ簡便に特定することができれば、適切な初期治療につながると期待できる。とくに急性薬物中毒の場合、血中の薬毒物濃度は比較的高濃度であることが多いため、今回開発した FI-MS/MS は法医学分野だけでなく、救急医療分野においても利用できると考えられる。

## 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)

[学会発表](計 20 件)

Kiyotaka Usui, Koichi Saito, Tetsuo Kokaji, Masato Funayama. Rapid drug screening for use in emergency medical treatment, The Asia Pacific Association of Medical Toxicology 2016, November 17th, 2016, Singapore (Singapore)

Kiyotaka Usui, Tasuku Murata, Yoshie Hayashizaki, Masato Funayama. Direct detection of designer drug MT-45 in human tissue samples by probe electrospray ionization-tandem mass spectrometry, The International Association of Forensic Toxicologists 2016, August 28th, 2016, Brisbane (Australia)

臼井聖尊, 質量分析で何がわかるか ~ 東北の質量分析最前線 ~ , 第 12 回 学際科学フロンティア研究所セミナー 2016 年 8 月 10 日, 学際科学フロンティア研究所 (仙台)

臼井聖尊, 村田匡, 舟山真人, 探針エレクトロスプレーイオン化法を用いた臓器中危険ドラッグの迅速分析, 日本法中毒学会第 35 年会, 2016 年 7 月 1 日, 大阪産業創造館 (大阪)

臼井聖尊, 村田匡, 舟山真人, 臓器中の危険ドラッグの直接分析 ~ 探針エレクトロスプレーイオン化法の法医試料への応用 ~ , 第 100 次日本法医学会学術全国集会, 2016 年 6 月 15 日, 品川区立総合区民会館 (東京)

臼井聖尊, 法医学における質量分析の応用, 日本質量分析学会 北海道談話会 2016 年 2 月 5 日 旭川医科大学 (旭川)

臼井聖尊, 医工連携技術が活躍: 科学捜査最前線, 第 3 回 TOLIC カンファレンス, 2015 年 12 月 22 日, 岩手県工業技術センター (盛岡)

Toshikazu Minohata, Keiko Kudo, Noriaki Shima, Munehiro Katagi, Kiyotaka Usui, Hitoshi Tsuchihashi, Noriaki Ikeda. Rapid screening method covers common 161 forensic drugs by ultra-high speed LC/MS/MS with synchronized survey scanning, The International Association of Forensic Toxicologists 2015, August 30th, 2015, Florence (Italy)

Kiyotaka Usui, Yuji Fujita, Tetsuo Kokaji, Masato Funayama. Detection of synthetic cannabinoid 5-fluoro ADB and its possible

metabolites in four fatalities, The International Association of Forensic Toxicologists 2015, August 30th, 2015, Florence (Italy)

箕畑俊和, 工藤恵子, 志摩典明, 片木宗弘, 臼井聖尊, 土橋均, 池田典, MRM トリガー自動MS/MS 機能を用いた法薬毒物 161 成分一斉分析法の開発, 日本法中毒学会第 34 年会, 2015 年 6 月 26 日, 九州大学医学部百年講堂 (福岡)

臼井聖尊, 小椋哲雄, 舟山真人, 血中から危険ドラッグ 5-fluoro ADB が検出された 4 例, 第 99 次日本法医学会学術全国集会, 2015 年 6 月 10 日, 高知市文化プラザ かるぽーと (高知)

Kiyotaka Usui, Rapid Drug Screening Using a Combination of Flow Injection Tandem Mass Spectrometry (FI/MS/MS) and the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) Method, American Academy of Forensic Sciences, February 16th, 2015, Orlando (America)

臼井聖尊, 急性薬物中毒における迅速診断法の開発, ABSCIEX iNSPIRE iNNOVATION Mass Spectrometry Meeting 2014, 2014 年 7 月 24 日, グランフロント大阪ナレッジキャピタル (大阪)

臼井聖尊, 急性薬物中毒における迅速診断法の開発, ABSCIEX iNSPIRE iNNOVATION Mass Spectrometry Meeting 2014, 2014 年 7 月 22 日, 東京コンファレンスセンター (東京)

臼井聖尊, 小椋哲雄, 齋藤弘一, 舟山真人, 急性薬物中毒における迅速診断法の開発, 日本法中毒学会第 33 年会, 2014 年 7 月 5 日, 名古屋大学シンポジオンホール (名古屋)

Keiko Kudo, Yosuke Usumoto, Kiyotaka Usui, Makiko Hayashida, Emiko Kurisaki, Kanju Saka, Akiko Tsuji, Noriaki Ikeda. Rapid and simultaneous extraction of acidic and basic drugs using modified QuEChERS method and protein-lipid removal filter cartridge, 9th International Symposium on Advances in Legal Medicine (ISALM), June 19th, 2014, Fukuoka (Japan)

臼井聖尊, 小椋哲雄, 齋藤弘一, 舟山真人, フローインジェクション-タンデム質量分析法を用いた薬毒物の簡易スクリーニング, 第 98 次日本法医学会学術全国集会, 2014 年 6 月 19 日, 福岡国際会議場 (福岡)

Toshikazu Minohata, Keiko Kudo, Kiyotaka Usui, Noriaki Shima, Munehiro Katagi, Hitoshi Tsuchihashi, Koichi Suzuki, Noriaki Ikeda.

Simultaneous analysis for forensic drugs in human blood and urine using ultra-high speed LC-MS/MS, 62nd American Society for Mass Spectrometry Annual Conference, June 19th, 2014, Baltimore (America)

臼井聖尊, 急性薬物中毒における迅速測定法の有用性, 第 62 回 質量分析討論会, 2014 年 5 月 16 日, ホテル阪急エキスポパーク (大阪)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

臼井 聖尊 (USUI, KIYOTAKA)

東北大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号: 80567884