

法医鑑定試料中薬毒物の迅速検査に関する研究

李 華

広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医学専攻
病態情報医学講座 (法医学)
(指導: 小林正夫教授)

受付: 平成 19 年 10 月 29 日

受理: 平成 19 年 12 月 18 日

薬毒物の関与が疑われる事故や犯罪が多発する現在, 血液や尿などの生体試料から薬毒物を検出し, 薬毒物の関与を科学的に証明する必要性が高まっている。確実な分析結果を得るには, 精度の高い分析法で慎重に分析しなければならないが, 個々の薬毒物に対応した分析法を確立し, 膨大な試料数を検査するには時間と手間を要する。反面, 長期間の保存中に分解するなどの理由で, 可及的速やかに分析する必要がある。本研究では, 時間と手間をかけず, 膨大な試料から中毒の疑いがある試料を迅速に選別することを目的として, 迅速かつ簡便に生体試料中の薬毒物を検査する方法を開発した。また, 法医解剖時に採取した血液や尿中薬毒物の検査に市販検査キットを活用するため, アセトアミノフェン, パラコート, 有機リン系農薬 (フェニトロチオン), ヒ素に絞って検討を行い, 実際例に適用して有用性を検証した。

本研究の結果, 除タンパクやラインシュ法などの簡便な前処理を組み合わせることで血中のアセトアミノフェン, パラコート, 尿中のヒ素を中毒であるか否かを推測できる濃度まで検査できた。また, 膨大な時間と手間をかけず, 多くの試料から中毒の疑いがある試料を選別することが可能となり, 法医学分野 (検案・解剖など) での利用が期待される。しかし, 本法はあくまでも迅速検査法であり, 薬毒物摂取の推定に留まるため, 機器分析による確実な定性, 定量分析を行うことが望まれる。

Key words : Toxicology, Simple detection, Drugs, Poisons

分析技術の進歩とともに, 微量の薬毒物が検出できるようになったことで, これまで見逃されていた中毒の原因が解析可能となってきた²²⁾。その結果, これまで安全と考えられていた医薬品でも, 使用法や使用量によっては有害なものとなることが分かってきた。しかし, これらの分析機器は万能ではなく, 検出感度や分析可能な薬毒物の種類などに制限がある。また, 高価であり, 分析者には一定の知識と経験が求められるので, 限られた研究機関でしか利用できないのが現状である。未知物質の分析では, 予備試験を行って目的とする薬毒物を絞り込み, 分析機器などを利用して定性や定量分析を行う必要がある。予備試験は, 機器分析に比べて定性能力に劣るが, 多くの薬毒物から中毒の原因となる薬毒物を絞り込むには有用である。特

に臨床現場では中毒の原因となった薬毒物の早期同定が望まれるが, 薬毒物が確定できなくとも候補となる薬毒物が絞り込めれば適切な治療が可能となる⁸⁾。海外では 1980 年代に, 数時間で薬毒物を分析するスクリーニング法を開発している^{12,21)}が, 臨床的に活用されているとの報告はない。本研究では, 臨床現場における薬毒物の検査体制を構築するため, 日本中毒学会の「薬毒物分析の指針に関する提言」³⁰⁾で挙げられた 15 種類の薬毒物 (アセトアミノフェン, カバメート系農薬, グルホシネート, サリチル酸, 三環系抗うつ薬, 青酸化合物, テオフィリン, パラコート, バルビツール酸系薬物, ヒ素化合物, プロムワレリル尿素, ベンゾジアゼピン系薬物, メタノール, メタンフェタミン, 有機リン系農薬) を検査できる迅速

検査システムの確立を試みた。システムの確立には、迅速かつ簡便性を追求し、市販検査キットおよび化学反応を用いた生体試料中薬毒物の検査法を開発した^{2),10),13-17),24-26),29)}。

法医学分野においても薬毒物が関与したと考えられる事例に遭遇するが、それぞれの薬毒物に特徴的な解剖所見が少ないため、原因となった薬毒物の推定は困難であり、見落とされる場合もある。法医学解剖においては死因のみならず、その死に至った経過を推定することも大切である。死亡前に摂取した化学物質と死因との関係や、死亡時におけるその薬毒物の影響を明らかにすることも必要とされる。しかし、全ての法医学研究室で薬毒物中毒が分析できる体制にあるとは言い難い^{3),5),19),23)}。このような分析機器と人材が乏しい法医学では、上述の迅速かつ簡易な検査法は有用であると考える。2006年4月より実施されている「法医学解剖に伴う薬毒物検査」(警察庁丁鑑発第283号, 丁会発第406号, 丁捜一発第54号, 丁交指発第44号, 平成18年3月31日)において、特殊薬物検査項目にアセトアミノフェン, 有機リン系農薬, パラコート, 青酸の検査があげられ、「アセトアミノフェン検出キット」や「有機リン系農薬検出キット」などの市販検査キットの使用が盛り込まれている。法医鑑定としては、全血中の薬毒物検査が必要であるが、これらのキットは、尿あるいは血清中の薬物検査用に開発されたものであり、全血への適用例はなく検討もされていない。また、これらの薬毒物は、機器分析を行う上でも誘導体化が必要、前処理中の分解や気散などの理由から、正確な分析を行うには細心の注意を払う必要がある。そこで今回、これらの薬毒物を迅速かつ正確に検査することを目的に、上記市販検査キットが全血中薬毒物検査に利用可能であるか否かを検討し、実際の法医学解剖時に得られた試料に適用した。また、全血中パラコートおよび尿中ヒ素の検出についても検討し、その有用性を検証した。

材料と方法

【材料】

1. 薬毒物および試薬

アセトアミノフェン(一級試薬), パラコート(残留農薬用), フェニトロチオン(有機リン系農薬, 残留農薬用), ヒ素(元素分析用ヒ素標準溶液), 濃塩酸(ヒ素分析用)およびその他の試薬は、和光純薬工業(株)製を用いた。銅片(0.5×0.8×0.02 cm)および銅粒(C.S. 定量用)は三津和化学薬品(株)製を用いた。

2. 市販検査キット, 反応系およびその他

使用した市販検査キットおよび反応系は、アセトアミノフェンの分析にはアセトアミノフェン検出キット²⁹⁾(関東化学(株)), 有機リン系農薬の分析には有機リン系農薬検出キット¹⁶⁾(関東化学(株)), パラコートの分析にはヒドロサルファイト反応, ヒ素の分析にはパックテスト(ヒ素, 商品型式: WAK-As, 共立理化学研究所(株))およびモリブデン酸ブルー法⁹⁾を用いた。吸光度測定には分光光度計(UV-200S, (株)島津製作所)を用いた。

【試料】

条件検討に使用する血液と尿は、本研究の趣旨を説明して同意の得られた薬物を服用していない健康人から採取した。アセトアミノフェン, パラコートの検査には解剖時に採取した血液と尿を用いた。解剖時に採取した試料は、検査するまでの間、-20℃で冷凍保存した。ヒ素の検査にはヒ素中毒患者の服用日から連続5日間採取した尿を用いた。

【操作手順】

1. アセトアミノフェン検査

血液0.1 g にアセトニトリル0.2 ml を加えて混合し、3000 rpm で5分間遠心分離する。上清を蓋付き試験管に入れ、試薬Aを10滴入れる。蓋をして100℃で10分間加熱する。放冷後、試薬Bを10滴加えて反応させる。反応液をセルに移し、600 nm の吸光度を測定する。(試薬AとBはキット付属の試薬)

2. パラコート検査

血液0.5 g に6%過塩素酸0.8 ml を入れて混合し、3000 rpm で5分間遠心分離する。上清を試験管に入れ、1 M 水酸化ナトリウム水溶液(0.1%ヒドロサルファイトナトリウム含有)を1 ml 加えて反応させる。反応液をセルに移し、600 nm の吸光度を測定する。

3. 有機リン系農薬検査

血液0.5 g に0.01 M 塩酸0.5 ml と酢酸エチルを1 ml を入れて混合し、3000 rpm で5分間遠心分離する。上層をNBP試薬入試験管に移し、100℃で20分間加熱する。放冷後、TEP試薬2滴と抽出溶媒0.5 ml を加えて反応させる。反応液をセルに移し、520 nm の吸光度を測定する。(NBP試薬, TEP試薬, 抽出溶媒はキット付属の試薬)

4. ヒ素検査 (モリブデン酸ブルー法)

尿 5 ml に銅粒 3 g と濃塩酸 2 ml を入れ、100℃で 20 分間加熱する。溶液を捨てて銅粒を蒸留水で洗浄する (pH 試験紙で洗浄液が中性になるのを確認する)。銅粒に 0.1 M 水酸化ナトリウム 0.5 ml を加え、吸着したヒ素を溶出する (この操作を 3 回繰り返す)。その溶出液を塩酸水溶液で中和し、検査溶液とする。検査溶液に過マンガン酸ナトリウム (10⁻⁴ M) 50 μl を加えて攪拌し、室温に 5 分間放置する。L-アスコルビン酸 (10 ± 0.5 g/100 ml) 50 μl と Reagent A (13 ± 0.5 g モリブデン酸アンモニウム +9M 硫酸 100 ml) 100 μl を加えて攪拌し、50℃で 20 分間加熱する。反応液をセルに移し、840 nm の吸光度を測定する。

5. ヒ素検査 (バックテスト)

上記、モリブデン酸ブルー法と同様に処理し、検査溶液を作成する。検査溶液を専用カップに入れる。K-1 試薬 (希硫酸を含む) 4 滴を加えて攪拌する。さらに K-2 試薬 (過マンガン酸カリウムを含む) 1 滴を加えて攪拌する。検査試薬の入ったチューブに混合液全量を吸い込む。5～6 回振り混ぜて反応させる。2 分後、セルに移し、710 nm の吸光度を測定する。(K-1 試薬、K-2 試薬はキット付属の試薬)

結 果

1. アセトアミノフェン検査

アセトアミノフェン検出キットでは、血液 0.1 g (水で 2 倍希釈した血液は 0.2 g) に対し、それぞれメタノール 0.3 ml、アセトニトリル 0.2 ml、トリクロロ酢酸 (5%, W/V) 0.1 ml、タングステン酸 (250 g/liter) 0.12 ml、硫酸アンモニウム (飽和溶液) 0.4 ml、キット付属の試薬 A (過塩素酸含有) 10 滴を加えて除タンパクし、呈色の程度を比べた (Fig. 1)。検討した 6 種類の除タンパク剤の中で、アセトニトリルではブルーを呈し、無添加血液ではほぼ無色透明であった。血液を 2 倍希釈して検査すると、メタノール、硫酸アンモニウム、タングステン酸ではブルーを呈するが、無添加血液では淡黄色～淡緑色に呈色し、低濃度のアセトアミノフェンを含む血液での判別が困難であった。以上の結果から、血液を希釈せずアセトニトリルで除タンパクすることとした。健康人の血液試料にアセトアミノフェンを添加し (無添加, 10, 20, 50, 100, 200 μg/g)、検査した結果、血液中アセトアミノフェン濃度と吸光度との間に直線性 ($r^2 = 0.99$) が得られ、定量可能であることがわかった。検出下限は 10 μg/g である。また、100 μg/g と 20 μg/g 時

のばらつき ($n = 5$) を検討するとそれぞれ 4.8% と 12% であり、血液を検査試料とした場合でも、再現性に優れた方法であることが分かった。

2. パラコート検査

ハイドロサルファイト反応では、血液 0.5 g (2 倍希釈した血液は 1.0 g) に対し、メタノール 1.5 ml、アセトニトリル 1.0 ml、トリクロロ酢酸 (5%, W/V) 0.5 ml、タングステン酸 (250 g/liter) 0.6 ml、硫酸アンモニウム (飽和溶液) 2.0 ml、過塩素酸 (6%, W/V) 0.4 ml を加えて除タンパクし、呈色の程度を比べた (Fig. 2)。パラコート添加血液を除タンパクすると、過塩素酸での除タンパクのみが青く呈色した。パラコート無添加の血液は呈色せず、内因性の妨害がないため、血液中パラコートの前処理には過塩素酸による除タンパクを選んだ。健康人の血液にパラコートを添加 (無添加, 1, 5, 10, 50 μg/g) して検査した結果、直線性 ($r^2 = 0.99$) が得られた。検出下限は 1 μg/g である。また、20 μg/g と 5 μg/g のパラコートをを含む血液のばらつき ($n = 5$) を検討した結果、4.5% と 4.1% である。この方法も簡易法でありながら再現性が高いと考えられる。

3. 有機リン系農薬検査

有機リン系農薬検出キットでは、血液 1.0 g に対し、メタノール 3.0 ml、アセトニトリル 2.0 ml、トリクロロ酢酸 (5%, W/V) 2.0 ml、タングステン酸 (250 g/liter) 1.2 ml、硫酸アンモニウム (飽和溶液) 4.0 ml、過塩素酸 (6%, w/v) 0.8 ml を使用したが、アセトニトリルでの除タンパクのみ淡紫色を呈した。除タンパク剤による抽出は呈色が薄かったため、酢酸エチルで抽出した溶液を検査したが、呈色の程度が強かった (Fig. 3)。酢酸エチル抽出ではセルに入る液量が少なく吸光度が測れないため、抽出溶媒 (ジエチルエーテル) 1 ml を添加する必要がある。また、検量線は直線性ではなかった。5～20 μg/g 時では薄いピンク色を呈しており、無添加の淡黄色と区別できることがわかった (Fig. 3)。

4. ヒ素検査

モリブデン酸ブルー法およびバックテストでは、ヒ素の有無にかかわらず着色したため、直接尿を検査できなかった。古くからヒ素などを抽出する方法として知られているラインシュ法で尿中ヒ素を抽出した結果、尿中ヒ素の有無を確認できた。ラインシュ法で得た検査溶液をそれぞれモリブデン酸ブルー法とバック

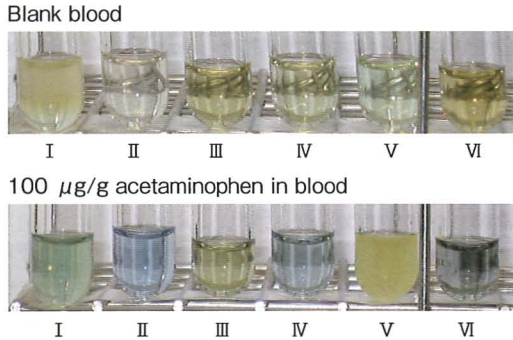


Fig. 1. Detection results of acetaminophen in blood by determination of the solutions obtained by deproteinization with six different reagents.

The deproteinized reagents were added to 0.1 g sample of blood and centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The supernatant was then examined by acetaminophen detection kit. The upper panel showed the coloration of blank blood, the lower panel showed the coloration of spiked blood with 100 $\mu\text{g/g}$ acetaminophen. The reagents used were the followings; I: methanol, II: acetonitrile, III: trichloroacetic acid, IV: tungstic acid, V: ammonium sulfate, VI: Reagent A (perchloric acid).

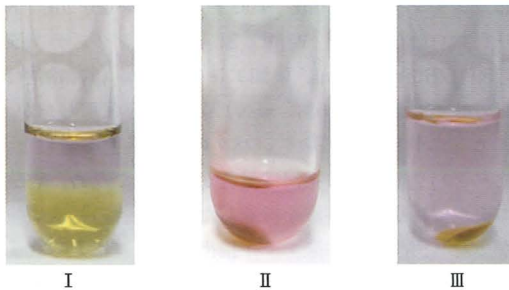


Fig. 3. Detection results of fenitrothion in blood by liquid extraction

Extraction reagents were added to 1.0 g sample of blood and centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The organic layers were then examined by organophosphorus pesticide detection kit. The extraction reagents used were the followings; I: 2.0 ml-volume of acetonitrile, II and III: 1.0 ml-volume of ethyl acetate. In the condition II, 0.01M hydrochloric acid was added to the sample, when organophosphorus pesticide was extracted with the reagent.

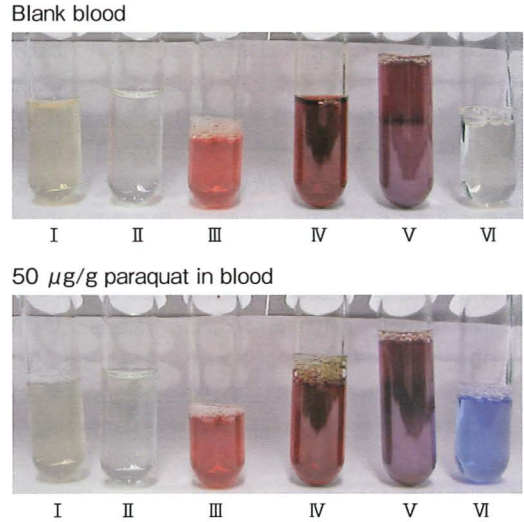


Fig. 2. Detection results of paraquat in blood by determination of the solutions obtained by deproteinization with six different reagents.

The deproteinized reagents were added to 0.5 g sample of blood and centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The supernatant was then examined by hydrosulfite reaction. The upper panel showed the coloration of blank blood, the lower panel showed the coloration of spiked blood with 50 $\mu\text{g/g}$ paraquat. The reagents used were the followings; I: methanol, II: acetonitrile, III: trichloroacetic acid, IV: tungstic acid, V: ammonium sulfate, VI: perchloric acid.

テストで検査した結果、両者とも無添加尿は無色、ヒ素添加尿はブルーを呈し、検出下限は0.1 $\mu\text{g/ml}$ である。そこで、尿中ヒ素の抽出法として、ラインシュ法以外にも陰イオン交換樹脂 InertSep MA-2 (ジューエルサイエンス(株))、近年、ヒ素除去剤として開発されたメディア G-2 (株) サニックス) と無機系重金属吸着剤アドセラ® (日本板硝子(株)) を検討した。InertSep MA-2 では、直接樹脂中を通しただけでは尿中ヒ素を抽出できなかったが、尿を水で20~50倍に希釈することで尿中ヒ素を抽出できた。メディア G-2 とアドセラ® は、吸着剤自体から妨害物質が溶出し、抽出剤としては適さなかった。以上のことから、本研究ではラインシュ法による抽出条件を詳細に検討することとした。その最適な条件を確立させるため、尿中のヒ素を銅に吸着させる条件および吸着されたヒ素の解離条件に分けて詳しく検討した。まず、尿中のヒ素を銅に吸着させるため、銅粒の量 (0.5, 1, 3, 5, 10 g)、添加する塩酸の量 (1, 2, 3 ml)、加熱時間 (10, 20, 30 分) を検討した結果 (Figs. 4, 5)、銅粒は3 g、塩酸は2 ml、加熱時間は20分で良好な結果が得られた。次に、吸着したヒ素の解離条件として昇華、アルカリおよび酸による溶出を検討した結果、昇華および酸に

よる溶出は、アルカリ溶出に比べ、回収量は低かった。アルカリによる溶出を詳細に検討した結果、0.1 M の水酸化ナトリウム 0.5 ml で3回溶出することで良好な結果が得られた (Figs. 6, 7)。最適条件下での尿中ヒ素の回収率は50%であり、複数回抽出を繰り返しても回収率を改善することはできなかった。ラインシュ法の詳細な条件検討を行った論文は見当たらないが、ヒ素の最大回収率は50%との記載もあり⁴⁾、裏付ける結果となった。本法でヒ素添加尿を検査した結果、0.1~2 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で直線性が得られ ($r^2 = 0.98$)、検出下限は0.05 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、ヒ素添加尿 (0.1, 1 $\mu\text{g/ml}$) を検査した時のばらつきは5%以下であった。銅粒からアルカリ溶液により溶出した試料をパックテストで検査したところ、吸光度のばらつきは5%以上であったが、試薬調整などが不要なため、実験設備の整っていない施設での迅速検査には有用であると考えられる。

以上のように、膨大な時間と手間をかけて機器分析を行わなくとも、迅速検査法で簡便かつ短時間で数多くの試料から中毒の疑いがある試料を選別することが可能となった。本迅速検査の有用性を評価する目的で司法解剖 22 事例について検査を行った結果、3

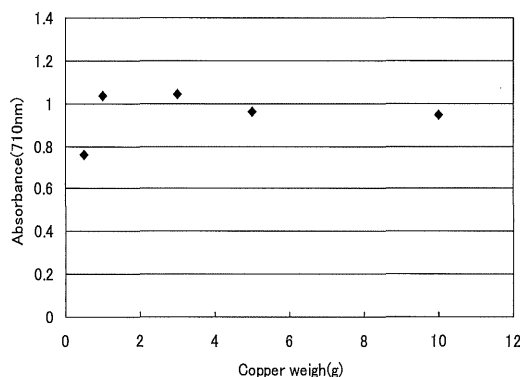


Fig. 4. Effect of an amount of copper granule on the recovery of arsenic in urine.

2 ml-volume of hydrochloric acid and copper granule were added to 5 ml of urine and the mixture was heated at 100°C for 20 min. Arsenic was then desorbed from the copper granule by 0.5 ml-volume of 0.1M sodium hydroxide solution three times. The solution was examined by molybden blue method. Copper granule used was weight at 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, and 10 g.

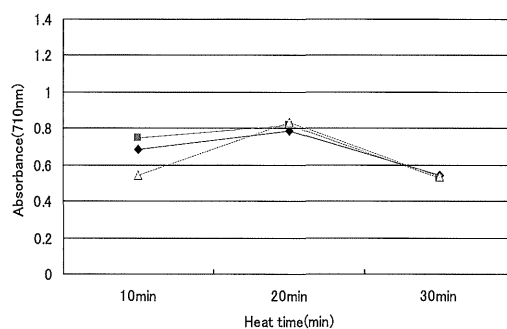


Fig. 5. Effect of a volume of hydrochloric acid and heating time on the recovery of arsenic in urine.

Hydrochloric acid and 3.0 g of copper granule were added to 5 ml of urine and the mixture was heated at 100°C. Arsenic was then desorbed from the copper granule by 0.5 ml-volume of 0.1M sodium hydroxide solution three times. The solution was examined by molybden blue method. Hydrochloric acid used the following volume; \blacklozenge : 1 ml, \blacksquare : 2 ml, \blacktriangle : 3 ml. The heated time was 10, 20, and 30 min.

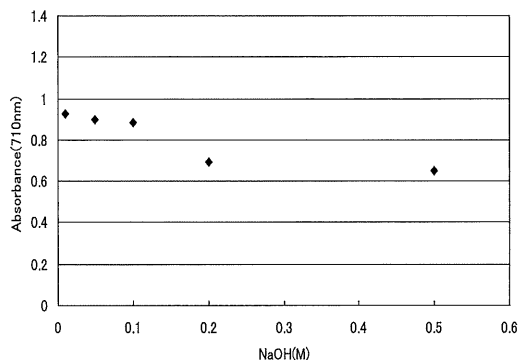


Fig. 6. Effect of a concentration of sodium hydroxide on the recovery of arsenic in urine.

2 ml-volume of hydrochloric acid and 3.0 g of copper granule were added to 5 ml of urine and the mixture was heated at 100°C for 20 min. Arsenic was then desorbed from the copper granule by sodium hydroxide solution. The solution was examined by molybden blue method. Sodium hydroxide solution was used to desorb arsenic from the copper granule. The concentration of sodium hydroxide solution was 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, and 0.5 M.

事例でアセトアミノフェンが検出された (25.5, 18.5, 108.9 $\mu\text{g/g}$ 検出された) が、いずれも治療域であった。また、3事例でパラコートが検出され (4.6, 1.2, 23.0 $\mu\text{g/g}$)、詳細に検査する試料数を1/10に絞り込むなど、機器分析前のスクリーニングには有効であることが検証された。さらに、自殺目的でヒ素を服用した患者の尿を検査した結果、服用6時間後には0.71 $\mu\text{g/ml}$ 、30時間後には0.22 $\mu\text{g/ml}$ 、54時間後には0.48 $\mu\text{g/ml}$ 、78時間後には0.13 $\mu\text{g/ml}$ 、102時間後には0.09 $\mu\text{g/ml}$ のヒ素が検出され、高価な機器を使用せずに尿中のヒ素濃度を追跡することができた。

考 察

アセトアミノフェン検出キットは尿および血清検査用、ハイドロサルファイト反応と有機リン系農薬検出キットは尿検査用である。血液や血清は、脂質やタンパクなどが含まれているため、市販検査キットや化学反応で直接呈色することは困難である。このような妨害成分を除去するため、無機酸や有機溶剤による6種の除タンパク法¹¹⁾を検討した。尿試料中のヒ素検査に用いたバックテストとモリブデン酸ブルー法は、尿中のリン酸の影響で無添加の尿も呈色される。しかし、

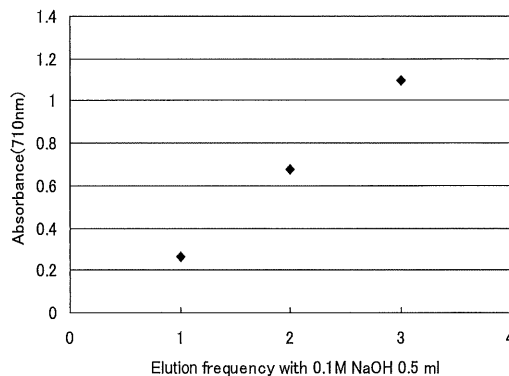


Fig. 7. Effect of a elution frequency on the recovery of arsenic in urine.

2 ml-volume of hydrochloric acid and 3.0 g of copper granule were added to 5 ml of urine and the mixture was heated at 100°C for 20 min. Arsenic was then desorbed from the copper granule by 0.5 ml of 0.1 M sodium hydroxide solution. The solution was examined by molybden blue method. The elution frequency with 0.5 ml of 0.1 M sodium hydroxide solution was once, twice, and three times.

尿試料からヒ素を分離した後に呈色することで良好な結果が得られた。

1. アセトアミノフェン検査

アセトニトリルで除タンパクすることで良好な結果が得られた。血中アセトアミノフェンの正常域 (治療域) は10 ~ 20 $\mu\text{g/ml}$ 、中毒域は150 $\mu\text{g/ml}$ 、致死域は160 $\mu\text{g/ml}$ 以上とされている^{20,27)} ため、本法で治療域であるか否かの十分推定可能である。

2. パラコート検査

過塩素酸での除タンパクのみが鮮やかなブルーを呈した。また、無添加血液は無色透明であったため、血中パラコート検査の前処理には過塩素酸による除タンパクを選んだ。パラコート中毒域は0.6 ~ 3.2 $\mu\text{g/ml}$ 、致死域は15 $\mu\text{g/ml}$ 以上とされている^{20,27)} ため、本法で中毒の疑いを推定可能である。

3. 有機リン系農薬検査

アセトニトリルでの除タンパクのみ呈色したが、呈色が薄かったため、酢酸エチルによる液-液抽出でより呈色の程度が強くなった。しかし、酢酸エチルによ

る抽出では検量線が直線にならず、5～20 $\mu\text{g/g}$ でピンク色を呈した。小山ら⁶⁾の論文によると血清中のフェニトロチオン濃度が7 $\mu\text{g/ml}$ を超えると重症化が予想される。液-液抽出による前処理で5 $\mu\text{g/g}$ まで検出できるため、重症患者の血液も検査可能と考える。

4. ヒ素検査

抽出に使用した InertSep MA-2は、陰イオン交換樹脂であり、試料中のイオン濃度によって抽出効率の差の出ることが知られている。原尿を通してヒ素が抽出されず、20～50倍に希釈することでヒ素が抽出されたことから尿中に存在する塩素などのイオンが影響していると推察される。簡便な脱塩法と組み合わせることで、尿中ヒ素の抽出法としての開発可能性があり、今後の課題である。また、メディア G-2 やアドセラ[®] は試料中のヒ素吸着のみを目的に開発された材料であるため、溶出時の妨害がなくせるよう改良することで尿中ヒ素検査の前処理として利用可能と考える。近年、再利用可能なヒ素吸着剤の開発も行われており、これらを活用することによって、前処理にも活用できると期待される。ヒ素化合物は、有機か無機か、3価か5価であるかの形態によって毒性が異なる。そのため、形態の違いを含めた分析を行い、リスク評価を行う必要がある。また、ヒ素の形態分析を行うには、高速液体クロマトグラフで分離して ICP-MS で検出することができる²²⁾。しかし、これらの機器を所有しても分析結果が出るまでには数時間を要するとともに、技術と知識を要する。近年、蛍光 X 線分析装置を利用した尿中ヒ素の簡易定量法も報告されている¹⁸⁾が、本法を用いてヒ素中毒が疑われた患者の尿を検査した結果、0.71～0.09 $\mu\text{g/ml}$ のヒ素が検出された。体内に入ったヒ素は、半日から4日で尿から排泄され³¹⁾、尿中濃度は0.1～0.4 mg/liter ¹⁾とされている。今回検査したヒ素中毒患者の尿中ヒ素濃度は服用後6時間から54時間で中毒量を超えたが、102時間後には中毒量以下であった。尿中ヒ素濃度の推移を追跡した文献はほとんどないが、小山ら⁷⁾の報告と同様の傾向が見られ、無機総ヒ素の検査には利用可能と考える。

結 語

本研究は市販検査キットおよび化学反応に除タンパクやラインシュ法などの前処理を組み合わせることで血中のアセトアミノフェン、パラコート、尿中ヒ素を中毒レベルまで検査できることを可能とした。また、

解剖時に採取した血液やヒ素中毒患者の尿からアセトアミノフェンやパラコート、ヒ素を中毒であるか否かを推測できる濃度まで検査することができた。本法を用いることで、膨大な時間と手間をかけて機器分析を行わなくとも、多くの試料から中毒の疑いのある試料を選別することが可能となり、検案・解剖など法医学分野ならびに救急医学での利用が期待される。しかし、本法はあくまでも迅速検査法であり、薬毒物摂取の推定に留まるため、機器分析による確実な定性、定量分析を行うことが望まれる。

謝 辞

原稿を終えるに際し、御指導、御校閲を賜りました小林正夫先生、屋敷幹雄先生、奈女良 昭先生、西田まなみ先生に謹んで感謝の意を表します。

参 考 論 文

1. **Baselt, R.C.** 2002. Arsenic, Disposition of toxic drugs and chemicals in man, 6th ed. Biomedical Publications, California.
2. 広島大学医学部法医学講座(編) 2001. 薬毒物の簡易検査法—呈色反応を中心として—。じほう、東京。
3. 舟山真人 1999. 法中毒が研究主体ではない法医学教室での薬毒物検査は何ができるのか、何をすべきか。日本法医学雑誌 53 : 297-300.
4. **Gettler, A. O. and Kaye, S.** 1950. A simple and rapid analytical method for Hg, Bi, Sb, and As in biologic material. The journal of laboratory and clinical medicine 35 : 146-151.
5. 権守邦夫 1999. コンピュータネットワークによる薬毒物検査の協体制。日本法医学雑誌 53 : 313-317.
6. 小山和弘, 鈴木 亮, 菊野隆明, 梶原博視, 榛葉哲男 2006. フェニトロチオン中毒例における血中濃度と症状について。中毒研究 19 : 41-47.
7. 小山和弘, 田中啓司, 坂本奈美子, 菊野隆明, 島津陽子, 梶原久紀, 関口久紀 2002. 救命できた急性ヒ素中毒患者における血清及び尿中総ヒ素濃度の動態。中毒研究 15 : 167-170.
8. 黒岩幸雄, 寺田 賢 1988. 急性中毒における薬毒物分析について。中毒研究 1 : 67-82.
9. **Lenoble, V., Deluchat, V., Serpaud, B. and Bollinger, J. C.** 2003. Arsenite oxidation and arsenate determination by the molybdenum blue method. Talanta 61 : 267-276.

10. 李 華, 奈女良 昭, 西田まなみ, 屋敷幹雄, 木村恒二郎, 藤川敬浩 2004. ヒ素化合物検出における迅速検査キット—メルコクアントの有用性. 中毒研究 17 : 279-280.
11. **McDowall, R. D.** 1989. Sample preparation for biomedical analysis. *J. Chromatogr. B.* 492 : 3-58.
12. 内藤裕史 1981. 欧米の中毒センター [3] : ロンドン中毒センター. 救急医学 5 : 1617-1619.
13. 奈女良 昭, 西田まなみ, 屋敷幹雄, 木村恒二郎, 伊関 憲 2005. 中毒治療に役立つ迅速検査法. じほう, 東京.
14. 奈女良 昭, 岡島和夫, 内海兆郎, 屋敷幹雄, 今村 徹, 小嶋 亨 1999. ヒ素化合物検出におけるバックテスト®の有用性について. 救急医学 23 : 738-742.
15. 奈女良 昭, 内海兆郎, 金森久幸, 屋敷幹雄, 小嶋 亨 1998. シアン化合物の簡易検出キット. 中毒研究 11 : 395-397.
16. **Namera, A., Utsumi, Y., Yashiki, M., Ohtani, M., Imamura, T. and Kojima, T.** 2000. Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. *Clin. Chim. Acta* 291 : 9-18.
17. 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 岡田加奈子, 岩崎泰昌, 小嶋 亨, 大谷美奈子, 津久江一郎 1997. 乱用薬物スクリーニングキット Triage の臨床的有用性の評価. 医学と薬学 37 : 723-731.
18. 尾造由美子, 吉澤美枝, 村田厚夫, 島崎修次, 梶原正弘, 高木徹也, 佐藤喜宣 2004. ラインシェ法を利用したエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置によるヒ素の簡易定量法. 中毒研究 17 : 359-364.
19. 鷲 盛久 1999. 理想と現実のギャップ. 日本法医学雑誌 53 : 306-312.
20. **Schulz, M. and Schmoltdt, A.** 2003. Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Pharmazie* 58 : 447-474.
21. 鈴木健一 1982. 欧米の中毒センター [7] : サンフランシスコ中毒センター. 救急医学 6 : 829-835.
22. 鈴木 修, 屋敷幹雄 2002. 薬毒物分析実践ハンドブック—クロマトグラフィーを中心にして—. じほう, 東京.
23. 植木真琴 1999. 法医中毒分析と迅速性への課題. 日本法医学雑誌 53 : 318-321.
24. 内海兆郎 2002. 生体試料中薬毒物の迅速分析システム. 広島大学医学雑誌 50 : 145-153.
25. 内海兆郎, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 大谷美奈子, 小嶋 亨 1999. シアン化合物の簡易検査の有用性について. 救急医学 23 : 1663-1668.
26. 内海兆郎, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 大谷美奈子, 小嶋 亨 2000. 生体試料中のプロムワレリル尿素の簡易呈色法—急性中毒症例への応用—. 中毒研究 13 : 177-182.
27. **Winek, C. L., Wahba, W. W., Winek, Jr, C. L. and Balzer, T. W.** 2001. Dugs and chemical blood-level data 2001. *Forensic Sci. Int.* 122 : 107-123.
28. 横山明彦, 栗原 誠 2003. 薬毒物の迅速分析キット. THE CHEMICAL TIMES 3 : 17-20.
29. 横山明彦, 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 栗原 誠 2003. アセトアミノフェンの迅速検査キットの開発. 中毒研究 16 : 323-327.
30. 吉岡敏治, 郡山一明, 植木真琴, 遠藤容子, 後藤京子, 近藤留美子, 奈女良 昭, 屋敷幹雄 1999. 薬毒物分析の指針に関する提言. 中毒研究 12 : 437 - 441.
31. 吉村英敏 1986. 裁判化学. 南山堂, 東京.

Rapid Detection of Drugs and Poisons in Forensic Samples

Hua LI

Department of Legal Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences,
Hiroshima University
(Director: Prof. Masao KOBAYASHI)

There have been many accidents and crimes suspected drugs and poisons in our life. It becomes very important to elucidate a participation of the drugs and poisons. Blood and urine are usually used for detection of these drugs and poisons. However, it is not easy to identify the source of the poisoning from a huge number of drugs and poisons. Therefore, simple and accurate detection methods are requested for search of drugs and poisons in biological materials. In this study, the simple and fast detection methods of acetaminophen, paraquat, organophosphorus pesticides (fenitrothion) , and arsenic in biological materials were developed to select the suspicious samples of poisoning from a lot of samples. The proposed methods were applied for forensic materials.

As a result, acetaminophen and paraquat in blood, and the arsenic in urine were able to be detected by the concentration of the poisoning level in combination with a deproteination or Reinsch test. The proposed methods were useful to evaluate the cause of death. These results have a potential for the detection of drugs in forensic and clinical samples. However, it is hoped to do certain qualitative and the quantitative analysis by the instrumental analysis because of only the presumption of the medicine poison in this method.