

# 法 医 学

## 1 構 成 員

	平成22年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	2人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人
医員	0人
研修医	0人
特任研究員	1人
大学院学生（うち他講座から）	2人（0人）
研究生	2人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	1人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	11人

## 2 教員の異動状況

- 鈴木 修（教授）（H4. 4. 1～現職）  
 渡部加奈子（准教授）（H12. 7. 1～19. 3. 31 助教授；19. 4. 1～現職）  
 野澤 秀樹（助教）（H11. 1. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）  
 権守 邦夫（助教）（H17. 1. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）

## 3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成21年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	6編（0編）
そのインパクトファクターの合計	8.76
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1編（1編）
そのインパクトファクターの合計	0.00
(4) 著書数（うち邦文のもの）	0編（0編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	1編（0編）
そのインパクトファクターの合計	1.31

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Watanabe K, Hasegawa K, Yamagishi I, Nozawa H, Suzuki O : Simple analysis of naphthalene in human whole blood and urine by headspace capillary gas chromatography with large-volume injection. *Forensic Toxicol.*, 27:98-102, 2009.
2. Kanno S, Watanabe K, Hirano S, Yamagishi I, Gonmori K, Minakata K, Suzuki O : Application of thermoresponsive HPLC to forensic toxicology : determination of barbitulates in human urine. *Forensic Toxicol.*, 27:103-106, 2009.
3. Watanabe K, Hasegawa K, Yamagishi I, Nozawa H, Takaba M, Suzuki O : Simple isotope dilution headspace-GC-MS analysis of naphthalene and p-dichlorobenzene in whole blood and urine. *Anal.Sci.*, 25:1301-1305, 2009
4. Ahmed WHA, Gonmori K, Suzuki M, Watanabe K, Suzuki O : Simultaneous analysis of  $\alpha$ -amanitin,  $\beta$ -amanitin and phalloidin in toxic mushrooms by liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Forensic Toxicol.*, in press.

インパクトファクターの小計 [1.526]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Minakata K, Nozawa H, Gonmori K, Suzuki M, Suzuki O : Determination of cyanide, in urine and gastric content, by electrospray ionization tandem mass spectrometry after direct flow injection of dicyanogold. *Anal. Chim. Acta*, 651:81-84, 2009.

インパクトファクターの小計 [3.757]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kumazawa T, Saeki K, Yanagisawa I, Uchigasaki S, Hasegawa C, Seno H, Suzuki O, Sato k : Automated on-line in-tube solid phase microextraction coupled with HPLC/MS/MS for the determination of butyriphenone derivatives in human plasma. *Anal. Bioanal. Chem.*, 394: 1161-1170, 2009.

インパクトファクターの小計 [3.480]

(3) 総 説

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. 横山和正, 権守邦夫 : 近年における熱帯性キノコによる中毒の増加. *中毒研究*. 2009; 22: 240-248

インパクトファクターの小計 [0.00]

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Watanabe K, Hasegawa K, Suzuki O : A double suicide autopsy case of potassium poisoning by intravenous administration of potassium aspartate after intake of some psycho pharmaceuticals. Hum.Exp.Toxicol., in press.

インパクトファクターの小計 [1.307]

#### 4 特許等の出願状況

	平成21年度
特許取得数（出願中含む）	0件

#### 5 医学研究費取得状況

	平成21年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (1380万円)
(2) 厚生労働科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	0件 (0万円)

##### (1) 文部科学省科学研究費

- ・ 基盤研究B（代表 鈴木 修）違法ドラッグの新分析方法の開発：超高速液体クロマトグラフィーとTOF-MSとの結合（1280万円）
- ・ 萌芽研究（代表 鈴木 修）高感度ラマン分析による重金属毒物検出法の開発（100万円）

#### 7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	1件
(3) 学会座長回数	1件	3件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	9件	1件
(6) 一般演題発表数	1件	

##### (1) 国際学会等開催・参加

##### 5) 一般発表

##### ポスター発表

1. Minakata K, Gonmori K, Suzuki O : Simple and sensitive determination of arsenite and arsenate by electrospray ionization mass spectrometry. 47<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists Conference, 2009; P039. Geneve, Switzerland

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

第31回日本法医学科学術中部地方集会

3) シンポジウム発表

権守邦夫, 菅野さなえ, 南方かよ子, 渡部加奈子, 鈴木修: キノコ中毒 - 最近の知見 -, 第34回日本医用マススペクトル学会年会, 2009年9月, 大阪

4) 座長をした学会名

日本法中毒学会第28年会 2009年, 金沢

第31回日本中毒学会総会 2009年, 東京

The International Association of Forensic Toxicology 2009, Geneve, Switzerland

第31回日本法医学会科学術中部地方集会 2009年, 浜松

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

鈴木 修

日本法医学会監事

日本法医学会評議員

日本法中毒学会理事長

日本医用マススペクトル学会副理事長

The International Association of Forensic Toxicology (TIAFT) 地域代表者

日本学術会議連携会員

内閣官房「重大ケミカルハザード専門家ネットワーク」メンバー

渡部加奈子

日本法医学会評議員

日本法中毒学会評議員・幹事

権守邦夫

日本法医学会評議員

日本法中毒学会理事

日本中毒学会評議員

## 8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数 (レフリー数は除く)	1件	0件

(1) 国内の英文雑誌の編集

鈴木 修: Forensic Toxicology (Springer Japan, Japanese Association of Forensic Toxicology:

JAFT, Japan),

Chief Editor, PubMed/Medline登録なし, インパクトファクターなし

(2) 国内外の英文雑誌のレフリー

渡部 加奈子:Human and Experimental Toxicology (USA) 2回

## 9 共同研究の実施状況

	平成21年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	0件
(3) 学内共同研究	0件

## 10 産学共同研究

	平成21年度
産学共同研究	0件

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

### 1. 大容量注入によるナフタレンならびにパラジクロロベンゼンのGC-MS分析に関する研究

ヘッドスペース (HS) 抽出法とは、分析対象である希釈した全血・尿をバイアル瓶に入れ、セプトム付キャップで密栓し、加熱すると気相に揮発性物質や半揮発性物質が蒸発して、液相から抽出されるものである。我々は、多くの揮発性物質や、半揮発性物質を含んだ気相を多量 (約 5 mL) バイアル瓶から抜き取り、ガスクロマトグラフィー (GC) にかけて、大容量注入GC法として多くの論文を発表してきた。但し、この大容量注入法をガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) にかけると、急激にMS装置の真空度が下がり、MS装置が停止してしまうことが多く、大容量注入をGC-MSに適応させるためには工夫が必要であり、この点を克服すべく多くの実験を行ってきた。

今回は前年度に行った実験をGCからGC-MSに格上げし、ナフタレンに加えて、パラジクロロベンゼンも同時に分析対象とした。この研究の直前に、藤沢市と横須賀市において、カップヌードルにナフタレンやパラジクロロベンゼンの混入被疑事件が発生し、本研究をさらに加速する結果となった。通常のキャピラリーGC-MSでは気相サンプルは通常0.1 ml程度を注入するが、今回の実験では1.0 mlの気相を注入することを試みたところ、この程度の量ではMS装置に特に支障がないことが判明した。またキャピラリーカラムの初期温度を60℃にすることによって、低温オープントラッピングを使用する必要なく、普通のGC-MS条件でナフタレンとパラジクロロベンゼンをキャピラリーカラム内にロスなく補足することができた。

また安定同位体内部標準物質として、ナフタレン $d_8$ とパラジクロロベンゼン $d_4$ を用いることにより、分析精度を飛躍的に向上させることができた。ナフタレン、ナフタレン- $d_8$ 、パラジクロロベンゼン、パラジクロロベンゼン- $d_4$ の定量には、各マススペクトルイオンそれぞれ $m/z$  128, 136, 146ならびに152のピークを用いて選択的イオンモニタリングを施行した。その結果、全血中なら

びに尿中ナフタレンでは、2.5–1,000ng/mlで直線性が得られ、パラジクロロベンゼンに関しても同様の結果が得られた。検出限界はナフタレン、パラジクロロベンゼンともに全血では1 ng/ml、尿では0.5 ml/mlであった。

さらに本分析法の再現性・回収率なども検討したが、概ね良好な結果を得る事が出来た。最後に本研究プロジェクトの主任研究者が自らナフタレンもしくはパラジクロロベンゼンの気体を軽く吸入し、吸入直後と10分後に採決し、両方の物質の血中濃度分析を行った結果、ナフタレンにおいては直後と10分後でそれぞれ14.0ならびに4.62 ng/ml、パラジクロロベンゼンではそれぞれ49.1ならびに13.1 ng/mlであった。

これら結果を学術英文雑誌Analytical Sciencesに発表した。さらに大量の気相を注入し、飛躍的に高感度分析を可能にするため鋭意努力しているところである。

(渡部加奈子・鈴木 修)

## 2. 温度応答性LC-MS-MSによる強心配糖体類の分析研究

本邦で開発された熱応答性のHPLCカラムの材質は、シリカビーズの表面にpoly N-isopropylacrylamideという特殊なポリマーを付着させた構造を有しており、10℃程度の温度では親水性の構造を呈しているが、40℃以上になるとポリマーの構造が変化し、疎水性の性質に変化するというユニークな特性を持っている。このカラムは薬学や生化学の分野で利用されつつあり、もっぱらHPLCのみに利用されて来た。われわれは、初めて本カラムを用いて6種類のバルビツール酸系薬物のHPLC分析を行い良好な結果を得、学術英文雑誌Forensic Toxicologyに発表した。

今回の実験では5種類の強心配糖体類（ジゴキシン、メチルジゴキシン、デスラノシド、ジギトキシンならびにジギトキシゲニン）について、本熱応答性ポリマーカラムを用いて、LC-MS-MS分析を試みた。強心配糖体の構造の基本はステロイド骨格があり、それに糖がついていないもの、3個もしくは4個ついたものがあり、極性も5種類で変化に富み、分子量も374~943ダルトンと幅広い。これらの異なった特性を有する5種類の強心配糖体を保持時間15分以内で一斉に分析しようとするものである。

種々の予備実験の結果、初期カラム温度50℃から開始し、10分程度の時間でカラム温度10℃まで直線的な温度グラジエントでカラム温度を下げる事が最適であることが判明した。また移動相についても各種検討を行ったが、15%のメタノールを含む2.5 mMギ酸アンモニウム (pH 3.4) が最適であった。

まず、全血や尿からの強心配糖体類の抽出条件やLC-MS-MS分析条件を確立し、ブランクの全血や尿に各濃度の強心配糖体類を添加したサンプルを用いて、回収率、直線性、再現性を検討した結果いずれも概ね良好であった。検出限界はすべての物質に関して、0.2-0.3 ng/mlであった。

本熱応答性LC-MS-MSを用いた法中毒学的研究はこれが最初のものである。カラム濃度変化と移動相中メタノール濃度変化を併用することにより、他の多くの薬毒物の保持時間や分離を自由自在に操作することが可能になるものと考えられ、法医学・法中毒学での有用性が期待される。

(菅野さなえ、渡部加奈子、鈴木修)

### 3. 強力きのこ毒アマニチン類のLC-TOFMSによる分析継続研究

ここ数年間本研究を精力的に継続しているが、ようやく実験が成功し、論文としてまとめたので報告する。飛行時間型質量分析法（TOFMS）は分解能10,000以上で、下3桁以上の正確な質量数を与え、低分子化合物においては、元素組成分析が可能となる。

今回はドクツルタケ自体の $\alpha$ -アマニチン、 $\beta$ -アマニチンならびにファロイジンの抽出条件を検討した。きのこ自体には意外な程、脂質やペプチド類などの成分が多く、一回の抽出では、クリーンな抽出物を得ることが出来ないことが判明し、結局二段階の抽出を行った。すなわち、まず細かく刻んだきのこに内部標準物質であるマイクロシスチンRRを加え、0.1%トリフルオロ酢酸メタノール溶液でホモジナイズし、遠沈する。上清を蒸発乾固し、水に溶解し、Oasis HLB（60 mg, 3 cc）カートリッジにかけ、100%メタノールで溶出する。溶出液を蒸発乾固し、15%メタノールを含む10 mM酢酸アンモニウム溶液（LCの移動相）に溶解し、LC-TOFMSにかけ分析を行った。

TOFMS分析の特徴は上記の様に高分解能で分析が可能であり、LC-MSで通常観察されるプロトン付加分子イオンの同位体ピークが、本アマニチン類では、4本以上正確な位置に、さらに正確な相対強度で出現することが判明した。すなわち、このプロトン付加分子イオンの同位体プロフィールだけで、アマニチン類の同定ができる。

さらに本LC-TOFMS法の信頼性を検証した結果、3種類のアマニチン類はいずれも100—1000 ng/gの範囲で良好な直線性を示し、 $\alpha$ -アマニチン、 $\beta$ -アマニチンならびにファロイジンの検出限界はそれぞれ30, 30ならびに10ng/gであった。きのこからの抽出効率は53.1—69.6%であり、再現性についても良好な結果が得られた。

本法を用いて、ドクツルタケの傘部、茎部、根部の各部分を分け、それぞれのアマニチン類の濃度を測定したところ、すべての毒素が傘部で最高濃度で、次が茎、最低濃度が根部であった。傘部では、 $\alpha$ -アマニチンが最も高濃度で次に $\beta$ -アマニチン、さらにファロイジンという順番になった。ところが、茎や根部ではいずれもファロイジン濃度が最高という結果であった。

以上の結果を論文としてまとめ、現在学術英文雑誌Forensic Toxicology に印刷中である。

(Walid Husein Ali Ahmed・権守邦夫・渡部加奈子・鈴木 修)

## 13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

12項目参照のこと。

## 14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

以上に述べた3種類の研究は、いずれも特徴的なMS装置を用いたり、開発したり、また特殊なHPLCカラムを用いるなど、新しい分析装置を開発したり、工夫を加えたりすることに主眼をおいた研究である。これらの研究の独創性は高く、分析対象物質・分析サンプルの種類は無限に拡大できる。法医学・法中毒学における応用性はきわめて高いものである。

1. 数年前より、自ら分析機の一部を改良しながら一連の研究を展開してきたポストカラムスイッチングのGC-MSへの応用のテーマにおいて、H21年11月にリース購入したAgilent GC-MSDを用いてDeansスイッチを改良し、実験の完成間近である。シマズ製作所より同研究を自社の分析機でも行ってほしいと、H22年1月にGCMSDが3年間無料レンタル納品され、同様のテーマを完成させる

ため部品の改良についてシマズ製作所と相談しながら研究を行っている。  
(渡部 加奈子, 鈴木 修)

## 15 新聞, 雑誌等による報道

### 新聞

1. 「山口県秋芳洞、ホテルでCO中毒 専門家が見方」 読売新聞オンライン  
2009年6月4日
2. 「国際学会成功へ地元浜松が支援 - 組織委員長の医大・鈴木教授 -」 静岡新聞  
2009年12月4日
3. 「若者の薬物乱用防ごう - 中区で日本法中毒学会、科捜研研究員が講演 -」 中日新聞  
2010年2月28日

### TV報道

1. 「酒井のり子の覚せい剤毛髪分析陽性」総力報道! THE NEWS TBS  
2009年8月19日
2. 毛髪による覚せい剤鑑定について音声出演 FNN スーパーニュース フジテレビ  
2009年9月3日