

レ タ ー / 速 報

尿中濫用薬物検査キットのインスタントビュー™ M-1 とトライエージ®DOA の性能の比較

守屋 文夫¹⁾²⁾, 榎野 貴文²⁾ 吉留 敬²⁾
三浦 雅布²⁾, 宮石 智²⁾

¹⁾川崎医療福祉大学医療福祉学部保健看護学科

²⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科法医学分野

原稿受付日 2011年10月17日, 原稿受領日 2012年3月5日

はじめに

尿中濫用薬物のスクリーニングの主流はイムノアッセイである。わが国では、トライエージ®DOA (以下 Triage とする) が、簡便に複数の薬物群を検出できる唯一のキットとして、1994年に発売されて以来、救急医療と法医解剖実務の双方において汎用されている¹⁾。Triage は、3ステップ操作により、11分でフェンシクリジン (PCP)、ベンゾジアゼピン類 (BZO)、コカイン系麻薬 (COC)、覚せい剤 (AMP)、大麻 (THC)、モルヒネ系麻薬 (OPI)、バルビツール酸類 (BAR) および三環系抗うつ薬 (TCA) を検出できる¹⁾。

一方、2010年11月にわが国で発売となったインスタントビュー™M-1 (以下 IV M-1 とする) は、付属のピペットを用いて尿試料を検体滴下窓に滴下するだけで、7分以内に AMP, THC, COC, BZO, BAR および TCA を検出できる (AMP および BZO については、本キットにおける略記はそれぞれ METH および BZD であるが、本稿では混乱を避けるため AMP と BZO に統一する)。IV M-1 は、AMP および BAR のカットオフ値がそれぞれ 500 ng/mL および 200 ng/mL に設定されており、Triage (それぞれ 1,000 ng/mL および 300 ng/mL) よりも感度が高い。他の薬物群のカットオフ値は、Triage と同じ値に設定されている。Moody ら²⁾ は、米国で先行発売された IV (AMP, THC, COC,

BZO および BAR を検出対象としている) の性能を患者尿を用いて検討し、その正確度の高さを確認している。

本研究では、法医・臨床実務における IV M-1 の有用性の有無を明らかにするために、法医剖検尿を用いて得られた、IV M-1 と Triage による AMP, THC, COC, BZO, BAR および TCA の検査結果を比較した。なお、Triage による PCP と OPI の検査結果については、IV M-1 がそれらを検出対象としていないため、本稿では言及しない。

I 方 法

IV M-1 はテイエフビー (東京) より供与された。Triage はシスメックス (神戸) より購入した。

死後経過時間が8時間から1~2週間の法医解剖死体43例の尿を試料とし、それらを直接にまたは遠心分離 (3,000 rpm, 5 min) して得られた上清を、IV M-1 および Triage 検査に用いた。

また、死後経過時間が1~2カ月で、高度に腐敗した薬毒物非関連死体1例より、濃赤褐色尿を採取した。それを遠心分離 (3,000 rpm, 5 min) して得られた上清、および Moriya ら³⁾の方法により処理して得られた除蛋白液を、両キットにより検査した。

尿中薬物の存否の確認は、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS: GCMS-QP 2010 Plus, 島津製作所, 京都) を用いて行った。定量は実施しなかった。

Table 1 Results of 14 urine samples in which Instant-View™ M-1 and/or Triage® DOA showed positive for one or more drug classes

Sample No.	Grade of putrefaction	Drug class(es) for which positive result(s) was/were obtained		Drug(s) detected by GC-MS
		Instant-View™ M-1	Triage® DOA	
1	Slight	BZO	BZO	Flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam, brotizolam
2	Slight	BZO	BZO	Flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam
3	Slight	BZO	BZO	Flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam
4	Slight	BZO	BZO	Flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam
5	Slight	BZO	BZO	7-Aminoflunitrazepam
6	Slight	BZO	BZO	Brotizolam
7	None	BZO, BAR	BZO, BAR	Alprazolam, clobazam, brotizolam, phenobarbital
8	Heavy	AMP	AMP	None*
9	Heavy	No cross reactions	THC	None
10	Slight	No cross reactions	AMP	None*
11	Slight	No cross reactions	TCA	None
12	Heavy	No cross reactions	AMP, TCA	None*
13	Heavy	No cross reactions	AMP, THC, TCA	None*
14	Heavy	No cross reactions	AMP, THC, BZO, TCA	None*

* Existence of phenethylamine was confirmed

In other 29 samples, both Instant-View™ M-1 and Triage® DOA showed no positive reactions for AMP, THC, COC, BZO, BAR and TCA, and no target drugs were detected by GC-MS

Abbreviations used: GC-MS=gas chromatography-mass spectrometry, AMP=amphetamines, THC=cannabinoids, COC=cocaine metabolite, BZO=benzodiazepines, BAR=barbiturates and TCA=tricyclic antidepressants

THCを除く薬物については、主に親薬物を確認対象とし、尿1 mLを用いてMoriyaら⁴⁾の方法により抽出した。

THCについては、代謝物の11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acidを確認対象とし、Dixitら⁵⁾の方法により抽出した。

GC-MSの測定条件は、カラム: Rxi-5Sil MS (30 m×0.25 mm i.d., 膜厚0.25 μm, 島津ジーエルシー, 東京); カラム温度: 100℃ (2 min) → 40℃/min, 250℃ → 20℃/min, 280℃ (7.75 min); 注入口温度: 250℃; サンプル注入量: 1 μL (スプリットモード, 1:15); キャリアガス: ヘリウム (2 mL/min); イオンソース: EI (0.1 kv, 250℃); スキャン条件: m/z 40-550/0.5 sec, とした。

本研究では、IV M-1とTriageの双方、あるいはどちらか一方がAMP, THC, COC, BZO, BARおよびTCAのいずれかに対し陽性を示したが、GC-MSにより対象薬物の存在が確認されなかったものを、交差反応として取り扱った。両キットの薬

物群ごとにみた交差反応の出現頻度の統計的評価は、PASW® Statistics 18 (エス・ピー・エス・エス, 東京)を使用し、Wilcoxon signed-ranks testにより行った。p<0.05をもって有意と判断した。

II 結 果

剖検尿43試料のうち、IV M-1とTriageの双方、あるいはどちらか一方がAMP, THC, COC, BZO, BARおよびTCAのいずれかに対し陽性を示したものは、14試料あった(Table 1)。

そのうち7試料において、GC-MSにより薬物の存在が確認された。それら試料では、IV M-1とTriageがともに、BZO (7試料) およびBAR (1試料) に対し陽性を示した。BZO陽性試料から、フルニトラゼパム (4試料) およびその代謝物の7-アミノフルニトラゼパム (5試料), プロチゾラム (3試料), アルプラゾラム (1試料), ならびにクロバザム (1試料) が検出された。一方、BAR陽性試料からフェノバルビタールが検出された。上記7試料が

Table 2 Comparison of cross-reactivity between Instant-ViewTM M-1 and Triage[®] DOA

Drug class	Number of cross-reactions		Wilcoxon signed-ranks test
	Instant-View TM M-1	Triage [®] DOA	
AMP	1	5	$p=0.046^*$
TCA	0	4	$p=0.046^*$
THC	0	3	$p=0.083$
BZO	0	1	$p=0.317$

* Statistically significant at $p<0.05$

得られた遺体の腐敗は、高度な1例を除き、ほとんどないか軽微であった (Table 1)。

他の7試料では、GC-MSにより薬物の存在は確認されなかった。そのうち6試料において、IV M-1は全6種類の薬物群に対し陰性を示したが、TriageはAMP (4試料), TCA (4試料), THC (3試料)およびBZO (1試料)に対し陽性を示した。それら6試料が得られた遺体の腐敗は、ほとんど認められなかった2例を除き、高度であった。1試料では、両キットがともに、AMPに対し陽性を示した。同試料が得られた遺体の腐敗は高度であった。AMP陽性となった上記5試料については、GC-MSにより、腐敗アミンの1つであるフェネチルアミンの存在が確認された (Table 1)。

AMPおよびTCA項目におけるIV M-1の交差反応の出現頻度は、Triageよりも有意 ($p<0.05$)に低かった。THCおよびBZO項目における両キットの交差反応の出現頻度に、有意差は認められなかった (Table 2)。

全6種類の薬物群に対し、IV M-1とTriageの双方が陰性を示した試料は29試料あり、GC-MSにより薬物の存在は確認されなかった。

薬毒物を含まない高度に腐敗した濃赤褐色尿を遠心分離し、その上清をIV M-1検査に使用したところ、全6種類の薬物群に対し陰性と判定される結果が得られた。一方、Triageでは、同上清をそのまま使用すると着色が強く、判定が困難であった。次に、尿試料の除蛋白液を両キットに適用したところ、いずれも判定が可能であった。IV M-1では、上記と同様に陰性と判定される結果が得られたが、Triageは、AMPおよびTHCに対し陽性を示した。

III 考 察

Triageは、剖検例では腐敗により産生されるフェネチルアミン類に対する交差反応が生じ、AMP陽性となりやすいことが、Moriyaら⁶⁾の研究から明らかとなっている。今回も、同様の結果が観察された。一方、IV M-1は、メタンフェタミンのカットオフ値がTriageより低く設定されているにもかかわらず、AMP項目における交差反応の出現頻度がTriageよりも有意に低く、メタンフェタミンに対する特異性はかなり高いと考えられる。両キットの交差反応の相違は、使用されている抗体の特異性の違いによるものと思われるが、製造元から抗体作製法に関する情報を入手することは困難であり、詳細は不明である。

また、Triageでは、救急患者の胃洗浄液が試料として使用される場合には、原因不明の交差反応により、AMP陽性となる場合があることが報告されている⁷⁾。今回の結果から、IV M-1では、胃洗浄液におけるそのような交差反応も起こりにくいと推測されるが、その点は今後の検討課題である。

TCA項目に関しても、IV M-1がTriageに比し交差反応の出現頻度が有意に低い結果が得られ、同薬物群に対するIV M-1の特異性の高さが示唆された。交差反応の原因は、腐敗細菌による何らかの交差反応物質の産生と推定されている⁸⁾が、本研究では、GC-MSによる当該薬物群の代謝物の確認を行っていないので、今後は、それら代謝物も視野に入れた確認分析を実施し、本結果を検証する必要がある。

THC項目に認められた交差反応についても、腐敗細菌による何らかの交差反応物質の産生が疑われるが、詳細は不明である。一方、今回、交差反応と判断したBZO陽性試料に関しては、多種類存在す

る BZO の代謝物の GC-MS による確認を行っていないので, 今後は, それらの確認分析を実施し, 交差反応か否かを慎重に判断していくことが必要である。

血性試料の場合には, Triage 検査を行う前に, 除蛋白ないし限外濾過を行う必要がある¹⁾。今回の濃赤褐色尿についても, Triage には除蛋白操作が必要であった。一方, IV M-1 は同尿試料の除蛋白操作を必要としなかった。わずか 1 試料についての結果ではあるが, IV M-1 には, 高度に血性となった尿試料を, 除蛋白することなく使用できる可能性が示唆された。

結 語

IV M-1 は, Triage に比し検出可能な薬物群が 2 種類少ないものの, 操作が 1 ステップと簡便であること, および腐敗による AMP や TCA 項目における交差反応の出現頻度が有意に低いことから, 法医学・臨床実務における有用な薬物スクリーニングキットの 1 つと考えられる。

しかしながら, 本研究には, ①検討試料数がきわめて少ない, ② GC-MS を用いた薬物の確認が親薬物を中心としたものである, および③薬物の定量がなされていない, といった限界がある。今回得られた結果は暫定的なものにすぎず, 今後の検証研究がぜひ必要である。

<利益相反>

本研究は, 株式会社テイエフビー (東京) よりインスタントビュー™ M-1 の提供, および受託研究費 (No. 福 10001) 100,000 円を受けて実施された。

【文 献】

- 1) 守屋文夫: トライエージ DOA スクリーニングの有用性と限界. 中毒研究 2008; 21: 273-83.
- 2) Moody DE, Fang WB, Andrenyak DM, et al: A comparative evaluation of the instant-view 5-panel test card with OnTrak TestTcup Pro 5: Comparison with gas chromatography-mass spectrometry. J Anal Toxicol 2006; 30: 50-6.
- 3) Moriya F, Hashimoto Y: Application of the Triage™ Panel for Drugs of Abuse to forensic blood samples. Jpn J Legal Med 1996; 50: 50-6.
- 4) Moriya F, Hashimoto Y: Medicolegal implications of drugs and chemicals detected in intracranial hematomas. J Forensic Sci 1998; 43: 980-4.
- 5) Dixit V, Dixit VM: Solid-phase extraction of 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid from human urine with gas chromatographic-mass spectrometric confirmation. J Chromatogr 1991; 567: 81-91.
- 6) Moriya F, Hashimoto Y: Evaluation of Triage™ screening for drugs of abuse in postmortem blood and urine samples. Jpn J Legal Med 1997; 51: 214-9.
- 7) 千代孝夫: 起因物質同定のための分析検査実施の現況と有用性の検討. 中毒研究 2006; 19: 111-20.
- 8) 鈴木修, 野澤秀樹, 権守邦夫, 他: 法医学分野でのトライエージ DOA 検査の尿以外各試料への適用性について. Sysmex Journal 2006; 29: 74-9.