

症 例 報 告

急性メタノール中毒における
ギ酸血中濃度分析法の検討森川 剛¹⁾, 岡澤香津子¹⁾, 清水 貴裕²⁾, 小田切佐代子³⁾
不破 史子⁴⁾, 中川 沙織⁴⁾, 大和 進⁴⁾¹⁾JA 長野厚生連北信総合病院薬剤部²⁾同循環器内科 ³⁾同精神科⁴⁾新潟薬科大学薬学部薬品分析化学研究室

原稿受付日 2014年7月10日, 原稿受領日 2015年2月6日

Study of blood concentration analysis for formate
in acute methanol poisoningGo Morikawa¹⁾, Katsuko Okazawa¹⁾, Takahiro Shimizu²⁾, Sayoko Otagiri³⁾,
Fumiko Fuwa⁴⁾, Saori Nakagawa⁴⁾, Susumu Yamato⁴⁾¹⁾Department of Pharmacy, Hokushin General Hospital²⁾Department of Cardiovascular Internal Medicine, Hokushin General Hospital³⁾Department of Psychiatry, Hokushin General Hospital⁴⁾Department of Bio-Analytical Chemistry, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences

—Summary— (Jpn J Clin Toxicol 2015 ; 28 : 243–246)

A 53-year-old woman ingested about 300 mL of 95% methanol. After immediate ethanol antagonist therapy and hemodialysis, she recovered completely. Few days later, the plasma concentration of methanol and formate was measured. A gas chromatography was used for the plasma methanol concentration measurement, and a colorimetric method was used for plasma formate concentration measurement (Formate Colorimetric Assay Kit ; BioVision, California, USA). Patient's plasma methanol concentration before hemodialysis was 676.9 mg/dL and plasma formate concentration was 16.9 mg/dL. By removing blood methanol and formate using hemodialysis before formate accumulations in the body, the patient was discharged without any sequelae. We were able to obtain correlation between a gas chromatography and colorimetric method without gas chromatography-mass spectrometry, with good correlation coefficients. The sensitivity was sufficient for analyzing blood sample. Monitoring formate concentration is useful in determining the treatment and evaluating the prognosis of methanol poisoning. We suggest that this colorimetric method is useful in a facility with no access to a gas chromatography in order to measure a plasma formate concentration.

Key words : methanol poisoning, formate, gas chromatography, colorimetric method

はじめに

急性メタノール中毒は致死的な中毒の1つであり、その治療にはエタノール代謝拮抗療法や血液透析などが行われる¹⁾。その治療方針や生命予後の検討にメタノールおよびギ酸の血中濃度モニタリングが有効であり、ガスクロマトグラフ (GC) やガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いて測定が行われている²⁾。しかし、多くの医療施設では定量分析を行うことができないため、臨床症状や血清浸透圧較差¹⁾、重クロム酸反応²⁾や北川式アルコール検知管などの定性分析³⁾などから判断して治療を開始しているのが現状である。

今回われわれはメタノール大量服用の症例を救命し、後日メタノールおよびギ酸の血中濃度測定を行った。そこでギ酸の血中濃度測定法に関して医療現場で活用可能な知見を得たので報告する。

I 症 例

53歳、女性。燃料用アルコール(メタノール95%：エタノール5%)約300 mLを自殺企図で飲用し、約2時間後に当院救急外来に搬送された。初診時：血圧106/83 mmHg, 脈拍50/min, 体温36℃, SpO₂ 97%, 酩酊状態であった。入院時検査所見をTable 1に示す。補液とビタミンB製剤の投与を開始し、当院搬入30分後、日本薬局方エタノール(95.1~96.9 vol%)と葉酸の経鼻胃管からの投与を開始した。エタノールは初期投与量として35 mL (0.7 mL/kg)を蒸留水165 mLで希釈し(21%)投与した。当院搬入約3時間後から血液透析を開始した。透析中は50%エタノールを25 mL/hrで投与し、4時間の血液透析を終了した。透析後も補液と葉酸の投与を継続し、葉酸は合計200 mg投与した。

第3病日に嘔気が発現し制吐剤を使用したほかに、視力障害など特記すべき神経学的異常所見は認めなかった。予後は良好であったが、精神科的評価および治療のため精神科へ転科し、後日退院となった。

Table 1 Laboratory data on admission

<Hematology>		<Biochemistry>	
WBC	5,300 / μ L	TP	6.7 g/dL
RBC	463 $\times 10^4$ / μ L	AMY	38 IU/L
Hb	14.7 g/dL	BUN	7.0 mg/dL
Plt	22.3 $\times 10^4$ / μ L	Cre	0.50 mg/dL
<Blood gas analysis*>		T-Bil	0.6 mg/dL
pH	7.388	GOT	16 IU/L
PaCO ₂	35.1 mmHg	GPT	14 IU/L
PaO ₂	105 mmHg	LDH	148 IU/L
HCO ₃ ⁻	-3.2 mEq/L	Na	144 mEq/L
BE	20.7 mEq/L	K	3.4 mEq/L
AG	37 mEq/L	Cl	110 mEq/L

*Blood sample drawn 2.5 hr after admission (before HD)

II 測定と結果

1. 方法

患者本人の同意を得て、透析前の採血(3本)と第6病日、第57病日の計5本の血清を凍結保存し、退院後にメタノールおよびギ酸の血中濃度を測定した。本研究は、JA長野厚生連北信総合病院倫理委員会の承認を得ている。

2. メタノールの定量分析 (GC)⁴⁾

血漿中メタノール濃度の測定には水素炎イオン化検出ガスクロマトグラフ法 (GC-FID) を用い、メタノールおよびエタノールが分離される条件で行った。ヘッドスペース法による試料採取を用いて、検量線は内標準検量線法により作成し、続いて患者血漿濃度の測定を行った。

3. ギ酸の定量分析 (比色法)

Formate Colorimetric Assay Kit (BioVision, California, USA) を使用して測定を行った。測定方法をFig. 1に示す。

4. 結果

血中メタノール濃度測定に用いる相関曲線は、ピーク面積比 = $2.207 \times [\text{MeOH 濃度 (mg/dL)}] + 0.060$ ($r^2 = 0.999$) であり、定量範囲は3~900 mg/dLであった。

血中ギ酸濃度測定に用いる相関曲線は、吸光度 (450 nm) = $0.0106 \times [\text{HCOOH 濃度 (mg/dL)}] +$

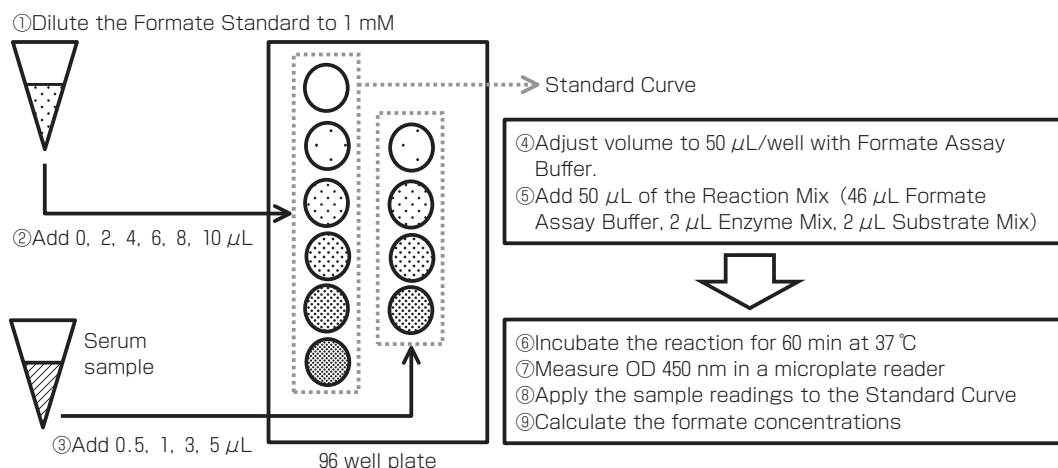


Fig. 1 Procedure for measuring the formate concentrations by Formate Colorimetric Assay Kit

0.008 ($r^2=0.998$) であり、定量範囲は 9.2~36.8 mg/dL であった。また日間変動のメタノール測定精度は 94.4%, RSD 4.1% (300 mg/dL, n=3), ギ酸測定精度は 93.1%, RSD 8.0% (27.6 mg/dL, n=3) であった。

透析前に採血して凍結保存した 3 本の検体の血中メタノール濃度とギ酸濃度を測定したところ、血中メタノール濃度は 676.9 mg/dL (RSD 10.7%), 血中ギ酸濃度は 16.9 mg/dL (RSD 7.5%) であった。Day 6, 57 の血中メタノール濃度は 10.8 mg/dL, 4.3 mg/dL で、血中ギ酸濃度は 0.7 mg/dL, 1.0 mg/dL であった。

III 考 察

メタノールの代謝は、気道粘膜、消化管粘膜、皮膚より速やかに吸収され、体内でアルコール脱水素酵素によってホルムアルデヒドに酸化され、次いでアルデヒド脱水素酵素によってギ酸に酸化される。ギ酸は 10-ホルミルテトラヒドロ葉酸合成酵素により二酸化炭素と水に分解される。ヒトはギ酸の代謝活性が低く、ギ酸から二酸化炭素への代謝速度が遅いためギ酸が蓄積しやすい。ギ酸濃度が中毒域を超えると一過性の中枢神経系の抑制を起し、高度の代謝性アシドーシスや視神経のシトクロム酸化酵素を阻害することで重篤な視力障害をもたらす。つまり、メタノール中毒は血中ギ酸濃度が重症度や死亡率と相関する⁵⁾。Zakharov らは、急性メタノール中毒において血中ギ酸濃度が 17 mg/dL 以上で眼障害

の初期症状があり、50 mg/dL 以上では眼障害や中枢神経障害の後遺症に関連し、致死的であると報告している⁶⁾。したがって、中毒起因物質がメタノールと特定された際には血中ギ酸濃度を定量することが望ましい⁷⁾。

メタノール中毒の治療として、エタノールやホメピゾールによる拮抗療法がある。また、ギ酸の二酸化炭素への代謝促進のため、葉酸の投与が推奨されている¹⁵⁾。メタノールの半減期は一般に 2~24 時間とされる¹⁾が、Mégarbane らはエタノール拮抗療法により、メタノールの半減期は 30~52 時間に延長したと報告している⁸⁾。また、Hovda らはメタノール中毒をホメピゾールで治療した症例報告のなかで、葉酸投与を行わなかった 2 症例のギ酸の半減期は 2.6 時間であった一方、合計 150 mg の葉酸投与を行った 1 症例のギ酸の半減期は 1.7 時間であったと報告している⁹⁾。

メタノールの経口致死量は一般に 30~240 mL とされる¹⁾。本症例の推定飲用量はメタノールとして約 300 mL であった。透析前の血中ギ酸濃度は 16.9 mg/dL であり、これは Zakharov らの報告⁶⁾によると眼障害の初期症状が起り得る血中濃度と考えられる。しかしながら、視力障害もなく救命し得たのは、エタノール拮抗療法によりメタノールのギ酸への代謝を遅らせ、葉酸投与によりギ酸の二酸化炭素への代謝を早め、さらに毒性代謝物のギ酸が体内に蓄積される前にメタノールとギ酸を血液透析により除去できたことによるものと推察される。ただし、

血液透析の適応，終了時期などの治療方針を決定する際に，当院でもメタノール，エタノール，ギ酸の血中濃度をモニタリングする¹⁰⁾ことが可能であれば，より根拠のある治療になったと考える。また，今回血清浸透圧較差から推定されるメタノールの推定血中濃度の検討を行わなかったが，迅速な定量分析ができない施設であれば検討すべきであったと考える。

メタノールとギ酸の分析法として，従来からパックドカラムを用いたGCが用いられている⁴⁾。本症例ではメタノール濃度を測定する方法としてはGC-FIDを使用した。これは前処理をほとんど必要とせず，測定時間も5分と短時間で測定できる方法である。また，ギ酸の定量分析として本研究で用いた比色法は，結果を得るまでに1時間程度を要するものの，特異的かつ簡便に実施できる方法である。測定時間に関しては，今後臨床現場で活用していくためには，より比活性の高い酵素の開発が期待される。さらに，マイクロプレートリーダーは，蛍光物質の定量やELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)などで広く用いられており，特別な分析技術を必要としないハイスループット性の高い光学的測定方法である。今後，マイクロプレートリーダーを用いた比色法や酵素法は，中毒化合物の定量分析においても，一般病院でも利用可能な測定法の1つになり得ると考える。

結 語

メタノール中毒の予後を検討するうえで血中ギ酸濃度測定は有用であり，特異的かつ簡便に測定できる比色法を使用すればGCのない施設でも測定可能となり，予後の評価に活用できることが示唆された。

要 旨

53歳の女性が約300 mLの95%メタノールを服用した。迅速にエタノール拮抗療法，血液透析を施行し，予後は良好であった。

後日，メタノールおよびギ酸の血中濃度測定を行った。メタノール血中濃度測定にはガスクロマトグラフィー，ギ酸血中濃度測定には比色法 (Formate Colorimetric Assay Kit ; BioVision, California, USA) をそれぞれ使用した。透析前の血中メタノール濃度は676.9 mg/dL，血中ギ酸濃度は16.9 mg/dLであった。ギ酸が体内に蓄積する前にメタノールとギ酸を血液透析により除去できたため，後遺症

なく退院した。

本症例報告で用いた分析法のガスクロマトグラフィー・水素炎イオン化検出法および比色法で得られた検量線は良好な相関係数として得ることができた。また，血液試料に対しても十分な感度であった。

メタノール中毒の予後を推定するうえでギ酸血中濃度測定は有用であり，簡便に測定できる比色法を使用すればガスクロマトグラフのない施設でもギ酸濃度を測定できることが示唆された。

【利益相反】

本論文に関連し，開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

【文 献】

- 1) 坂本哲也：メタノール. 日本中毒学会編，急性中毒標準診療ガイド，じほう，東京，2008，pp196-204.
- 2) 堀 寧：メタノール. 日本中毒学会編，急性中毒標準診療ガイド，じほう，東京，2008，pp275-80.
- 3) 伊関憲，市川一誠，永野達也，他：検知管により早期診断し，かつ被殻病変を画像診断し得たメタノール中毒の1例. 日救急医会誌 2005 ; 16 : 175-81.
- 4) 鈴木修，屋敷幹雄編：メタノール・ギ酸. 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として，じほう，東京，2002，pp109-17.
- 5) Barceloux DG, Bond GR, Krenzelok EP, et al : American academy of clinical toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. J Toxicol Clin Toxicol 2002 ; 40 : 415-46.
- 6) Zakharov S, Kurcova I, Navratil T, et al : Is the Measurement of serum formate concentration useful in the diagnostics of acute methanol poisoning? A prospective study of 38 patients. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2015 ; 116 : 445-31.
- 7) Hovda KE, Urdal P, Jacobsen D : Increased serum formate in the diagnosis of methanol poisoning. J Anal Toxicol 2005 ; 29 : 586-8.
- 8) Mégarbane B, Borron SW, Baud FJ : Current recommendations for treatment of severe toxic alcohol poisonings. Intensive Care Med 2005 ; 31 : 189-95.
- 9) Hovda KE, Andersson KS, Urdal P, et al : Methanol and formate kinetics during treatment with fomepizole. Clin Toxicol 2005 ; 43 : 221-7.
- 10) 佐々間一基，荒川武蔵，広瀬保夫，他：メタノール，エタノール，ギ酸の血中濃度を経時的に分析したメタノール中毒の2例. 中毒研究 2010 ; 23 : 232-7.