

I. 総論

1. 試料

試料は唯一無二であるので、その取扱いには細心の注意を払わなければならない。特に、試料の同一性（試料が確かに当該人物のものであること）の確認、試料の完全さ（試料の採取・受渡・保存が確実かつ適正に行われ、試料の分解や改竄がないこと）およびセキュリティの確保に留意する。

(1) 剖検試料

試料採取にあたっては、以下の事項に留意する。

a) 採取試料および採取量

試料は再分析 (counter analysis) のため、二分して採取することを勧める。採取した試料は一般に、直ちに分析に供するもの以外は冷凍保存するので^{*1}、二分した試料をさらに小分けする（一回の分析に使用する量）ことを勧める。採取量は以下の量を目安にする（でき得る限り多様な試料の採取が望ましいが、④～⑪は状況に応じて採取することでもよい）。

- | | | | |
|------------------------------|------------------|---------------------|-----------------|
| ① 血液 20 ml (g) x 2 | ② 尿 20 ml x 2 | ③ 胃内容 20 ml (g) x 2 | ④ 脳 10-20 g x 2 |
| ⑤ 肝臓 10-20 g x 2 | ⑥ 肺臓 10-20 g x 2 | ⑦ 脾臓 10-20 g x 2 | |
| ⑧ 腎臓 10-20 g x 2 | ⑨ 筋肉 10-20 g x 2 | ⑩ 脂肪 10-20 g x 2 | |
| ⑪ その他(毛髪：50 mg；硝子液：全量；胆汁：全量) | | | |

b) 採取した試料はそれぞれ個別の容器^{*2} に入れ、あるいは個別に包装し、それぞれに付票を貼る。付票には試料名、試料提供者名（あるいは試料番号）、採取日時、採取責任者名などを記入する。各試料は1つあるいは2つにまとめ、安全な場所に保管する。

c) 同時に、試料提供者名（あるいは試料番号）、試料名、採取量、採取日時、採取責任者名、保管場所などを検査試料原簿（各機関の分析責任者が作成する）に記載する。

d) 結核、肝炎、HIV など感染性の高い疾患の可能性のある試料は、それがはっきり分かる分類をして保管する。

^{*1} ガス体の分析が必要な場合は、溶存していたガスが凍結により気相中に排出され、開栓時に揮散するので、試料採取後直ちに、分析容器（注射器等で直接気相を採取できるテフロン栓あるいはライナーなどで密栓する）に一定量宛分取し、でき得る限り速やかに分析する。

^{*2} 凍結保存（通常-20℃）中に破損しないことが肝要であり、テフロンパッキン・ネジロ栓付きガラス製容器が最適である。プラスチック容器およびゴム栓は無極性薬物を吸着するので、それらの存在が予想されるときは避ける。

(2) 受託試料

受託試料は分析者が直接採取に関与しないので、試料の採取について委託者に以下のことを指示する。

- a) 試料の種類（血液、尿など）と必要量
- b) 試料容器の種類および必要ならば、体液に添加する防腐剤などの種類と量
- c) 試料の同一性を示す符号付け
- d) 包装と輸送方法
- e) 結核、肝炎、HIV など感染性の高い病気の可能性の有無
- f) 分析依頼書に記載する内容〔試料提供者名（あるいは試料番号）、試料名、採取量、採取日時、採取場所、採取責任者名、その他の試料に関する情報〕

試料を受け取る際は、直ちに依頼書と照らし合わせて個々の試料をチェックする。依頼書と異なる試料や完全さが損なわれた試料がある場合は受け取りを断るべきであろう。以下剖検試料の項（1 頁）の c) および d) に続く。

(3) 取扱い・保存・廃棄

試料の取扱いにあたっては、以下の事項に留意する。

- a) 検査のために試料を使用するときは、使用日時、使用量、使用目的、使用者名などを検査試料原簿に記載する。また、試料の保管場所を移動したときも検査試料原簿に記載する。
- b) 試料の解凍等による当該薬毒物の分解を極力避け、使用する器具、容器等によるコンタミネーションに留意する。
- c) 検査終了後、試料は再分析などに備えて可能な限り長期間保存することを勧める。やむを得ず廃棄するときは、必ず、検査試料原簿に記載する。
- d) 試料の廃棄はそれが遺体の一部であり、かつ医療用廃棄物でもあることを考慮して、適切な方法をとる。

2. 分析

(1) スクリーニングおよび確認

分析対象薬毒物が予め指定されている場合を除いて、まず最初にスクリーニング検査を行い、試料中に存在する薬毒物を推定することが望ましい。スクリーニングで検出した薬毒物(群)については、スクリーニングと確認検査が同時に行える GC/MS および LC/MS を使用した場合を除いて、必ず確認検査を行わなければならない。確認検査はスクリーニングで用いた手段より特異的で感度の高い方法によって行う。陽性・陰性の判定には、用いた分析法の検出限界*³ではなく、カットオフ値*⁴を用いる。

*³ 検出限界 (LOD: limit of detection) は GC あるいは HPLC では、一般に $S/N = 3$ の濃度、すなわち、ブランクマトリックス（血液、尿など）のバックグラウンドのノイズ (N) の 3 倍のピーク高さ (S) を示す分

析対象物質の濃度をいう。LOD 値は分析機器，試料マトリックスによって異なるので，文献記載の分析法を用いても，各研究室で再度チェックする必要がある。

*⁴ カットオフ値は検体の検査結果が陽性であるか否かを判定する下限の濃度であり，その方法の検出限界とは必ずしも一致しない（例えば，イムノアッセイにおける交差反応性による偽陽性を排除するためのカットオフ値の設定。アルコール検査では内因性のアルコールが存在するため，カットオフ値はそれ以上に設定しなければならない。また，MS を用いた分析ではマススペクトルの一致の度合いをどの程度に設定するかが大きな問題である）。

(2) 定量分析

摂取した薬毒物の個体に対する影響を言及するには，体液・体組織中薬毒物濃度に関するデータが不可欠である。したがって，スクリーニングおよび確認検査で同定した薬毒物は定量分析することを勧める。定量分析法の選択は研究室で利用できる手段によって制限されるが，選択した分析法については，試料を分析する前に，必ず，その分析法の精度，再現性，検量線の特性，定量限界，ブランク試料のバックグラウンドなどを再チェックする。一般的には内部標準法により定量するが，ある場合には，標準添加法を用いる [ブランクマトリックス (blank matrix) の妨害がある時など]。何れの場合も，1 試料につき少なくとも 2 重の定量 ($n \geq 2$) を行う。もし， n 回の分析値の変動が予め設定した許容範囲を越えたときは再定量する。

- i) 内部標準物質：内部標準物質には抽出・分離過程で分析対象物質と類似の挙動を示す分析対象物質の同族体，あるいは分子構造が類似した化合物を用いる。GC/MS および LC/MS では分析対象物質の重水素標識体が最適である。
- ii) 検量線：検量線は少なくとも 3 種のキャリブレーターとブランクを用いて作成する。キャリブレーターはでき得る限り分析対象物質の標準物質を用い，試料と同じマトリックスにする。
- iii) 標準物質 (standard)*⁵：分析対象物質の標準物質は直接定量値に影響を及ぼすので，純度が高く，その純度が測定されたものでなければならない。もし，純度が表示されていない場合は，純度を測定してから使用する。湿気を避け (密封する)，遮光して低温で保存し，使用期限を厳守する。期限切れのものを使用しなければならない場合は，純度を測定してから使用する。
- iv) コントロール：コントロールはキャリブレーションの有効性，経時的な定量分析の安定性を調べるために用いる。したがって，コントロールはキャリブレーターとは別に，基準物質から調製する。毎日行うルーチン分析では (キャリブレーションは一定期間毎に行うので)，コントロールは重要な意味を持っている。コントロールの分析値が予め定めた範囲 (例えば，平均値 ± 2 S.D.) を越えた場合はそのバッチは無効にする。

*⁵ 我が国では残留農薬標準品のように純度等が測定された標準物質が市販されている。欧米では規制薬物を含む多数の基準物質 (reference material)，認証基準物質 (certified reference material) およびこれらから調製したキャリブレーターおよびコントロールが市販されている。

3. 分析結果の解釈

分析結果を解釈する前に、分析手順に沿った記録（秤量、溶液調製、機器データ、計算など）を再吟味し、必要があれば再検査などの修正作業を行う。

結果の解釈にあたっては i) 個体差があること. ii) 常用していたか、単回使用であったか、すなわち耐性、逆耐性の可能性. iii) 当該薬毒物の作用に対する相加、相乗、拮抗作用を有する薬毒物の共存. iv) 個体の年齢、健康状態、疾病の有無.などを考慮しなければならない。

当該薬毒物の血液および体組織中濃度を文献値と比較して、致死レベル、中毒レベルあるいは治療レベル（毒物では軽微な影響）を判定する。この判定はあくまでも薬毒物検査のみから得た結論であり、剖検例にあつては剖検所見等と併せて総合的に判定されるものである。

4. 報告書

報告（鑑定）書は第三者が見てよく理解できるように、でき得る限り詳細に記述する。報告書には少なくとも、作成年月日、報告書番号、分析した試料名および試料番号、分析の方法（抽出の手順、分析機器とその操作条件）、分析結果、考察（参考文献、当該薬毒物の個体に対する作用の程度を含む）、結論、分析者および報告書作成者などを記載し、押印する（報告書例参照）。報告書の機密については十分留意しなければならない。

（例 1）

薬毒物検査報告書

ABC-〇〇〇（解剖番号）

19XY 年 X 月 Y 日

「検査試料」

i) 血液（心臓） ii) 肝臓 iii) 脳

「操作方法」

気化平衡びんに血液 0.5 ml および内部標準液（メチルエチルケトン 16 μ l/ml）2 ml を入れ、60℃で 15 分間加温後、その気相 0.5 ml をガスクロマトグラフに注入する。肝臓および脳 各 2 g にそれぞれ蒸留水 4 ml を加えてホモジナイズし、12,000 g で 5 分間遠心分離する。上清 0.5 ml をとり、血液と同様に処理した後、気相 0.5 ml をガスクロマトグラフ（GC）に注入する。検量線はブランク試料（血液、肝臓および脳）に 0.5, 1 および 2 mg/ml（g）のアルコールおよび内部標準液 2 ml を加えたものを用いて作成する。

「GC の条件」

装置：日立 063, 水素炎イオン化検出器付き；カラム：Porapak Q（80-100 メッシュ）ガラスカラム、2 m $\times$ 3 mm i.d.；温度：注入部および検出器 200℃、カラム 150℃；キャリアーガス：窒素、60 ml/分。

「結果」

各試料の二重分析の結果、血液、肝臓および脳中アルコール濃度はそれぞれ 1.8 mg/ml, 2.1 mg/g およ

び 1.6 mg/g であった.

「結論」

血液, 肝臓および脳中アルコール分析の結果から, 本屍は中程度酩酊 (運動失調, 言語不明瞭などの症状を来す) であると考えられる.

ABC 大学医学部 DEF

〇〇〇〇〇 印

(例 2)

薬毒物検査報告書

ABC-000/99 (報告書番号)

19xy 年 x 月 z 日

1. 検査試料

19xx 年x月x日, 司法解剖 [No. dce/99; 執刀者:(氏名)] において〇〇〇〇が採取し, 直ちに分析した, あるいは分析するまで-20℃で保存した.

- | | | |
|--------------|----------|---------------|
| i) 血液 (心臓) | ii) 尿 | iii) 胃内容物 |
| iv) 脳 | v) 肺臓 | vi) 肝臓 |
| vii) 腎臓 | viii) 脾臓 | ix) 筋肉 (採取部位) |
| x) 脂肪 (採取部位) | | |

【注意: 受託試料の場合は委託者名, 試料の受領年月日, 輸送会社名, 伝票番号, 容器の類型, 各試料の容量 (あるいは重量) などを記載する. 】

2. 試薬

省略（使用した標準物質，試薬，溶媒などについて記載）

3. 分析方法

1) 薬毒物スクリーニング（分析者：△△△△）

胃内容上清 5 ml，血液 5 ml および尿 5 ml を用い，各2倍容量のジクロロメタンで抽出（振盪，遠心，分離）し，水層に NaHCO_3 2 g を加え，同量のジクロロメタンで再抽出する．抽出液を合わせ，無水 Na_2SO_4 0.5 g を加えて乾燥後，減圧で約 50 μl に濃縮し，その 2 μl を GC/MS に注入する．

2) フェノバルビタールの定量（分析者：○○○○）

体液および体組織試料 約 0.5 g を精密にはかり，内部標準液（シクロバルビタール/エタノール溶液；1 mg/ml）30 μl および 0.01N NaOH 液 4 ml を加えて混和（体組織はホモジナイズ）し，エーテル 5 ml および 0.1N HCl 2 ml を加えて 10 分間振盪した後，遠心分離する．エーテル層 4 ml をとり，0.1N NaOH 液 2 ml を加えて振盪した後，遠心分離する．水層 1.8 ml をとり，1N HCl 0.3 ml およびエーテル 0.8 ml を加えて振盪・遠心分離する．エーテル層 0.5 ml をとり，窒素ガス気流でエーテルを留去後，残渣をエタノール 50 μl に溶かし，その 2 μl を GC/MS に注入してマスフラグメントグラフィーにより定量する．検量線はブランク血液にフェノバルビタールを添加し，上記と同様に操作して作成する．

3) プロメタジンおよびクロルプロマジンの同時定量（分析者：△△△△）

体液および体組織試料 約 1.0 g を精密にはかり，内部標準液（ジブカイン塩酸塩/水溶液；40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）25 μl および 0.01N HCl 4 ml を加えて混和（体組織はホモジナイズ）し，酢酸エチル 7 ml および $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 2.5 g を加えて 10 分間振盪した後，遠心分離する．酢酸エチル層 4-5 ml をとり，0.1N HCl 2 ml を加えて振盪した後，遠心分離する．水層 1.8 ml をとり，0.4N NaOH 液 1 ml および酢酸エチル 0.8 ml を加えて振盪・遠心分離する．酢酸エチル層 0.5 ml をとり，窒素ガス気流で酢酸エチルを留去後，残渣を酢酸エチル 20 μl に溶かし，その 1 μl を GC-NPD に注入する．検量線はブランク血液にプロメタジンおよびクロルプロマジンを添加し，上記と同様に操作して作成する．

4) GC/MS および GC-NPD の条件

i) 薬毒物スクリーニング

装置：島津 LKB-9000，GCMS PAC 500 付属；カラム：4% Dexsil 300 GC (Uniport HP 80/100 mesh)，1 m x 3 mm i.d.；温度：注入部 220℃，カラム 120-280℃（10℃/分 昇温），セパレーター 290℃，イオン源 310℃；キャリアーガス：He，30 ml/分；イオン化エネルギー：20 eV．

ii) フェノバルビタールの定量

カラム:3% OV-17 (Uniport HP 80/100 mesh), 1 m x 3 mm i.d.;温度:カラム 200-270℃ (10℃/分 昇温);キャリアーガス:He, 25 ml/分;モニターイオン:フェノバルビタール m/z 204, シクロバルビタール m/z 207. その他の条件は上記 i) に同じ.

iii) プロメタジンおよびクロルプロマジンの同時定量

装置:島津 GC-7AG;検出器:NPD;カラム:島津ワイドボアークャピラリーカラム CBP-1, 12 m x 0.53 mm i.d., 膜厚 1 μm;温度:注入部および検出器 240℃, カラム 120℃で1分保持, 120-220℃ (10℃/分 昇温);キャリアーガス:He, 10 ml/分;メイクアップガス:He, 50 ml/分.

4. 結果

1) 薬毒物スクリーニング

薬毒物スクリーニングで検出した化合物を表1に示す.

表 1. スクリーニングで検出された化合物

胃内容	血液	尿
phenobarbital	phenobarbital	phenobarbital
promethazine	promethazine	promethazine
chlorpromazine	norpromethazine	norpromethazine
	hydroxypromethazine	hydroxypromethazine
	hydroxynorpromethazine	hydroxynorpromethazine
	chlorpromazine	chlorpromazine
		norchlorpromazine
		hydroxychlorpromazine
		chlorpromazine sulfoxide
		norchlorpromazine sulfoxide
		2-chlorophenothiazine

注) phenobarbital, promethazine および chlorpromazine を除く代謝物は, 文献掲載のマススペクトルとの同一性および保持時間の妥当性により同定した.

2) 定量分析

フェノバルビタール, プロメタジンおよびクロルプロマジンの定量分析 (n = 2) の結果を表2に示す.

表 2. 体液・組織中 Phenobarbital, promethazine および chlorpromazine 濃度 (μg/g)

試料	phenobarbital	promethazine	chlorpromazine
血液	98.0	5.05	1.68
尿	55.2	0.28	1.11
脳	101	14.4	4.06
肺臓	118	14.4	5.37
肝臓	106	38.2	22.1
腎臓	105	6.92	3.03
脾臓	102	11.1	3.37
筋肉	86.4	5.95	2.24
脂肪	64.8	10.9	5.00

3) その他

血液中のアルコールは生理値以下の濃度であった(気化平衡-GC 法).

5. 考察

- 1) 本屍の胃内容物, 血液および尿から phenobarbital, promethazine および chlorpromazine, およびそれらの代謝物が検出されたことから, 本屍は phenobarbital, promethazine および chlorpromazine の配合剤であるベゲタミン®を摂取したものと推定される.
- 2) 本屍の体液・組織中 phenobarbital, promethazine および chlorpromazine 濃度 (表2) を表3に示す phenobarbital, promethazine あるいは chlorpromazine 単剤摂取による中毒死例の濃度と比較すると, phenobarbital はほぼ中毒死濃度の範囲にあり, promethazine と chlorpromazine は中毒死濃度の約 1/2 程度である. 個体差, 耐性の可能性などを考慮に入れると, 本例を phenobarbital 中毒死とするには若干の不確実性がある. 一方, phenobarbital と chlorpromazine は中枢抑制作用に関して強い相乗効果を示すという¹⁾. したがって, 薬毒物検査結果からは, 本屍の死因は phenobarbital と chlorpromazine の相乗的な中枢抑制作用による中毒であると考えられる.

¹⁾ 広瀬勝巳 他:私信, 塩野義研究所.

表 3. 文献における phenobarbital, promethazine あるいは chlorpromazine 単剤摂取による
死亡例の体液・組織中濃度 (µg/g or g)

薬物名	例数	血液	肝臓	腎臓	文献
phenobarbital	2	78, 98	123, 116	N.D.	2)
promethazine	2	N.D., 80	50, 180	26, 92	3)
chlorpromazine	8	3.0-35	50-2,110	4.0-740	3)

N.D. :記載なし

2) Cravey, R.H., Read, D., Sedgwick, P.R. and Turner, J.E.: Toxicologic data from
documented drug-induced or drug-related fatal cases. Clin. Tox., 10, 327-339, 1997.

3) Bonnicksen, R., Geertinger, P. and Maehly, A.C.: Toxicological data on phenothiazine
drugs in autopsy cases. Z. Rechtsmed., 67, 158-169, 1970.

6. 結論(鑑定)

- 1) 本屍は phenobarbital, promethazine および chlorpromazine の配合剤であるベゲタミン[®] を摂取したものと推定する.
- 2) 薬毒物検査結果から、本屍の死因は phenobarbital と chlorpromazine の相乗的な中枢抑制作用を主にしたベゲタミン[®] 中毒と考える.

〇〇大学医学部法医学教室

(職名) 〇〇〇〇 印