



A validated surrogate analyte LC-MS/MS assay for nicotine in eight human organs combined with QuEChERS extraction

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-05-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000410

論文審査の結果の要旨

臓器内薬物濃度の定量は、腐敗が進行した遺体から液体試料が採取できない事例において、中毒死判定の重要な参照データとして活用される。しかし、固体試料からは多量の夾雑物が混入しやすく、またブランク試料が得られないため、その定量は困難なことが多い。申請者は、ニコチン中毒死事例で採取したヒト臓器から、迅速・簡便・効率的にニコチンおよび代謝生成物であるコチニンを採取する手法（QuEChERS 法）を適用し、サロゲート物質法を活用した液体クロマトグラフィータンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、これらの定量分析手法の開発とその検証を行った。

本研究は浜松医科大学の臨床研究倫理委員会の承認を受け実施した（承認番号：23-232）。冷凍した肝臓、心筋、脳など 8 つの臓器から採取した固体試料をビーズクラッシャーにより粉碎しながらメタノールで抽出し、遠心分離などの操作過程を経て溶液を調製した。この溶液にサロゲート物質としてニコチン- d_4 とコチニン- d_3 および内部標準物質として 5-アミノキノリンを添加し、測定試料とした。

調製された試料の LC-MS/MS におけるクロマトグラムでは、ニコチン、コチニン、内部標準物質のピーク分離、およびサロゲート物質とのピーク重複において、良好な結果が示された。また、各検量線における決定係数も良好な結果が示され、算出濃度の妥当性が確認された。本研究における中心的な結果となる各臓器中のニコチン類濃度データについては、参考文献の肝臓内濃度の数値と比較・検討を行い、本手法の妥当性を示すとともに、本死亡事例が特殊な摂取経路（静脈注射）による急性中毒死であったことが示唆された。さらに、保管 1 日後および 1 ヶ月後の試料の安定性についても、実験データに基づく傾向が示された。質疑応答では、内部標準物質の選定、クロマトグラム上の測定対象物質以外の微小ピークについての説明、血管内の残存物質の算定による本手法の精度向上、イメージングマス利用可能性など、基礎的および発展的な議論も展開された。

審査委員会では、QuEChERS 法とサロゲート物質法を組み合わせた手法で固体組織から薬物濃度を算出し、試料の安定性・回収率を併せて詳細に検証した点を高く評価した。

以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 黒野 暢仁

副査 川上 純一 副査 河崎 秀陽