

日本学術会議・公開シンポジウム 「法獣医学を解く」

法獣医と中毒～質量分析計を用いた診断技術～

池中良徳(教授)

北海道大学One Healthリサーチセンター

1. はじめに

動物の中毒死の解明には、対象となる化学物質の多様性と、未知化合物の存在が障壁となる。中毒物質は多岐にわたる上、標準品が得られない未知物質が含まれることも多い。北海道大学大学院獣医学研究院およびOne Healthリサーチセンターでは、LC/MS/MS(QQQ)、LC/Q-TOF/MS、GC/MS/MS、ICP/MS等の高度分析機器を複数台導入し、物性が多岐にわたる化学物質のスクリーニングおよび中毒評価のための定量を両面から実施できる、実用的な中毒診断体制を構築してきた。本報告では、実際の事例に基づく分析結果と、各分析機器の特性を活かした中毒診断技術の実際と課題について紹介する。

2. 対象と方法

本研究では、ペットフード模擬毒餌(メソミルなどの農薬や医薬品を混合)を用いて、診断法の開発を実施した。その後、中毒が疑われた犬や猫の胃内容物、および河川で発生した魚類(アマゴ・イワナ)の中毒死事例等、司法解剖や依頼検査で得られた検体を対象とした。有機化合物の抽出には簡便で迅速なQuEChERS法を用い、LC/MS/MS(QQQ; Agilent 6495B)やLC/Q-TOF/MS(Agilent 6546)により測定を行った。

ここで、LC/Q-TOF/MSは、精密質量の測定が可能であり、更にフラグメント情報を同時に解析する事により化合物の構造推定が可能である。一方、このような完全ノンターゲット分析では候補物質の「絞り込み」が重要となるが、検出される数万のピークから中毒の原因物質を同定することは実質困難である。そこで、本研究では、特に中毒原因として多い、農薬について、既存のPCDL(Personal Compound Database and Library)に加え、新たに保持時間(Rt)を付加した独自の農薬ライブラリ(423化合物)を構築し、同定精度の向上を図った。

3. モデル毒餌を用いた分析法の確立

市販ドッグフードにメソミル、シアノフォス、アセタミプリドなど7種の化合物を混合したモデル毒餌サンプルを用い、LC/Q-TOF/MSによる網羅的スクリーニングを実施した。高分解能データと市販データベース

であるPCDL(Agilent; 8998化合物)に加え、自施設で構築したRt付きの独自ライブラリ(423農薬化合物)を用いることで、保持時間と精密質量によるマッチングが可能となり、7種中5種の化合物を同定できた。さらに、中毒が疑われた猫20検体に対して同手法を適用し、殺虫剤14種、除草剤10種、殺鼠剤1種を検出するなど、Q-TOFによる多種化学物質の包括的検出の有効性が確認された。

4. 実際の虐待事例におけるメソミルの定量分析

中毒死が疑われた犬猫の胃内容物124検体に対し、LC/MS/MSを用いたメソミルの定量分析を行った結果、35検体から陽性が確認された。定量濃度は最大で15.9 mg(62g中)、体重換算で3.2 mg/kgに達し、致死量(LD₅₀: 10~20 mg/kg)に近い値であった。一部の検体では青緑色の人工物も認められ、メソミル含有の毒餌の存在が強く示唆された。QQQの高感度・高精度な定量性能は、動物虐待の証拠保全と法的対応において極めて有用である。

5. 最後に

LC/MS/MSとLC/Q-TOF/MSはそれぞれ定量性とスクリーニング性能に優れ、併用することで中毒原因の同定精度を大きく高めることができる。今後は、自然毒や医薬品を含む保持時間付きライブラリの拡充、およびフラグメントパターン解析の標準化により、未知物質の高精度な構造推定を可能とする診断体系の確立が望まれる。

【講演者略歴】

2008年 信州大学総合工学系研究科修了

2009年 北海道大学大学院獣医学研究科 助教

2011年 同 講師

2013年 同 准教授

2021年 同 教授

2023年—現職 北海道大学One Healthリサーチセンター教授