

Clinical Forensic Toxicological Study of Volatile Anesthetics Utilizing Pulse Heating-GC-MS Method

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 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/2297/8586

パルスヒーティングー質量分析法を用いた 吸入麻酔薬に関する臨床法医中毒学的研究

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 大島 徹教授)

齊 藤 和 則

現在汎用されている代表的な揮発性吸入麻酔薬、ハロタン、イソフルラン、エンフルラン、セボフルランの4種について、パルスヒーティングーガスクロマトグラフィーー質量分析 (pulse heating-gas chromatography-mass spectrometry, Py-GC-MS) 法による生体試料からの分析法と、その臨床法医中毒学的応用について検討した。まず、これら4種の麻酔薬を血漿またはツィーン20溶液中に溶解させた標準液を作り、これをPy-GC-MS法にて分析したところ、定性分析において得られたマススペクトルは標準物質のそれと良く一致していた。定量分析では検量線のピーク高と濃度は直線性を示し、相関係数は0.998から0.999と正の相関を示した。15 μ g/mlの標的濃度にて回収率は97.5%から104.2%と高かった。日内精度では、変動係数が6.9%から11.6%とやや大きかった。さらに4種の麻酔薬を吸入させたウサギ血液試料をPy-GC-MS法で分析したが、定性分析では標準物質のマススペクトルと良く一致し、また定量分析では同一試料の気化平衡 (head space, HS)-GC-MS法による測定値と比較したところ、いずれも相関係数は0.988から0.997の範囲で良好な相関が得られた。続いてエンフルラン、セボフルランを用いた手術症例について、その術中血液試料を分析したところ、定性分析では標準液と良く一致するマススペクトルが得られ、定量分析でも同一試料のHS-GC-MS法による測定値と比較したところ、相関係数は各々0.914, 0.937であり良好な相関が得られた。また、全身麻酔経過中のエンフルランやセボフルランの濃度変化は、術中の患者のバイタルサインの変動と良く一致していた。さらに、エンフルラン、セボフルランを用いた麻酔施行中に採取したヒト血液試料を、 -20°C と 20°C で各々保存した後、1日から365日目にPy-GC-MS法にて測定したが、 -20°C と 20°C 保存における測定値に有意な差は認められなかった。また、採血から361日後にセボフルランが、また365日後にエンフルランがなお検出可能であった。以上の成績より、Py-GC-MS法は揮発性薬毒物の分析の一環として揮発性吸入麻酔の分析にも利用でき、手術中の麻酔薬モニタリングにも応用できる可能性が示された。

Key words 法医中毒学, 薬毒物分析, 吸入麻酔薬, パルスヒーティングーガスクロマトグラフィーー質量分析法, 麻酔中モニタリング

吸入麻酔は第二次世界大戦後、急速にその進歩を遂げた¹⁾。すなわち、閉鎖循環式麻酔器を用いて、酸素とともに気化器にてガス状にした麻酔薬をその濃度を微調整しつつ投与し、安全で確実な麻酔深度を保つことが可能となった。また、麻酔薬それ自身も導入および覚醒が速やかで、副作用の発生頻度も低いものが開発されてきた。

しかし、吸入麻酔薬の安定性、安全性が高くなってきているとはいえ、様々な原因による麻酔事故は未だに発生している²⁾。麻酔事故の原因としては、麻酔ガス供給系、麻酔回路、薬剤投与法上での問題が多く、なかでも薬剤投与法に関しては、注射薬の誤使用、不注意な麻酔ガス流量変化などが指摘されている。そして不幸なことに、最悪の結果としての麻酔事故死亡例も依然として報告されている³⁾。

近年、脊髄麻酔中や全身麻酔中に血圧、脈拍、尿量はもちろんのこと、パルスオキシメーターを用いた動脈血酸素飽和度の

測定、炭酸ガス測定などのモニタリングの重要性が強調され、実際の医療現場でもその積極的な利用がなされている。さらに、麻酔回路、人工呼吸器、吸入ガスの各段階におけるモニタリングも導入、実用化されつつあり、麻酔をより安全、確実に実施するシステムの整備が図られている⁴⁾。このような意味において、麻酔施行時における安全対策の有力な方法の一つとして、吸入麻酔薬の術中血中濃度を容易に知ることが可能になれば、さらに一層の安全性の向上、副作用の軽減につながるものと期待される。

一方、吸入麻酔薬については本来の医療目的以外の意図の使用、すなわち犯法的使用も散見され⁵⁾、法医学ならびに救急医療の分野においても、これら予期せぬ事態に対処しうる迅速かつ確実な分析方法の確立が急務である。しかしながら、実際には麻酔薬の種類も多く、測定法も様々であるため、臨床現場における吸入麻酔薬の血中濃度測定はなお、一般的には行われて

平成6年9月20日受付, 平成6年11月7日受理

Abbreviations: EI, electron impact; GC, gas chromatography; GOT, glutamic-oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic-pyruvic transaminase; HS, head space; MS, mass spectrometry; Py, pulse heating; SIM, selected ion monitoring

いないのが現状である。ちなみに、揮発性物質の測定法としては、現在、気化平衡 (head space, HS) 法が一般的であるが、血液や尿などの試料を 0.5ml 以上必要とし、また適切な内部標準物質を個々に選択して添加しなければならず、さらに試料に含まれる揮発性物質の気化のために加熱等の前処理が必要で、分析時間も約10分を要し、ややその手技が繁雑である感を否めない。

最近 Nagano ら⁷⁾はキュリーポイントパイロライザーを用いたパルスヒーティング (pulse heating, Py) 法を開発し、さらにトルエンなどの揮発性薬毒物分析へ応用し、良好な成績を得ている。この方法は広範囲の揮発性薬毒物の同時分析が可能であり、しかも前処理が不要、操作が容易、微量試料でも迅速に測定ができることなどが特色である。また、中谷⁸⁾は本法によるジエチルエーテル、クロロホルム等の分析へと法実務上の対象を広げ、その有用性について報告している。

今回、著者が行った研究では、これまで当教室で基礎的ならびに法医学的応用について継続的に研究されてきた、このパルスヒーティングーガスクロマトグラフィーー質量分析 (Py-gas chromatography-mass spectrometry, Py-GC-MS) 法を用い、ハロタン、イソフルラン、エンフルラン、セボフルランの4種類の汎用吸入麻酔薬について実験動物を用いて基礎的検討を行い、その後、臨床現場試料におけるモニタリングへの応用について、従来からの HS-GC-MS 法と比較検討した。

材料および方法

I. 吸入麻酔薬

市販のハロタン (ヘキストジャパン, 東京), イソフルラン (ダイナボット, 大阪), エンフルラン (大日本製薬, 大阪), セボフルラン (丸石製薬, 大阪) を購入し使用した。

II. 標準麻酔薬混合液

ハロタン, イソフルラン, エンフルラン, セボフルランを血漿または 10% (V/V) ツィーン20溶液に添加し, 各々が 400 μ g/ml の濃度になるような保存混合溶液を作製した。この保存溶液を用いて, 各々の濃度が 1, 5, 15, 50 および 100 μ g/ml の溶液を血漿または 10% (V/V) ツィーン20溶液で希釈して作製した。

III. 動物実験試料

白色日本ウサギ (体重約 2.8Kg) 3匹を用いた。ハロタン, イソフルラン, エンフルラン, セボフルランの吸入麻酔薬混合液の蒸気を室温 (10~20 $^{\circ}$ C), 開放系にて30~60分間吸入させた後, ディスポーザブルシリンジで耳静脈から延べ10回採血 (各々 2~4ml) した。

IV. 臨床試料

1. 定性分析および Py-GC-MS 法と HS-GC-MS 法による測定試料

対象はセボフルランによる全身麻酔を施した手術患者12例 (男性6例, 女性6例) ならびにエンフルランによる全身麻酔を施した4例 (男性2例, 女性2例) である。セボフルランまたはエンフルラン吸入開始から30分後, あるいは一部については30分後と60分後に末梢静脈血 (2ml) を採取した。手術内容は胃癌5例, 大腸癌2例, 胆石症4例, 乳癌2例, 甲状腺癌, 十二指腸乳頭部癌, 自然気胸各々1例であり, 年齢は36歳から74歳 (平均年齢57.7歳) であった。

2. 保存温度の違いによる測定値変化の検討用試料

対象はセボフルランまたはエンフルランの全身麻酔下に手術を受けた11例 (男性6例, 女性5例) で, 胃癌4例, 大腸癌2例, 胆石症3例, 肺腫瘍2例であり, 年齢は28歳から70歳 (平均年齢55.8歳) であった。吸入麻酔開始後30分に末梢静脈血 4ml を採取し, アルミパッキン付きバイアル瓶2本に各々 2ml ずつ, 約9分目まで注入してデッドスペースを少なくし, 一本は20 $^{\circ}$ C前後の室温, 他の一本は-20 $^{\circ}$ Cの冷凍保存とし, 採取後1日から最高365日目に Py-GC-MS 法にて測定した。

3. 麻酔経過と血中麻酔薬濃度との関係についての検討用試料

1) 症例1

64歳男性, 直腸癌, 術式は低位前方切除術である。鎮痛剤クエン酸フェンタニール, 鎮静剤ミタゾラム, 筋弛緩剤臭化ベクロニウムブロマイド投与によるニューロレプト麻酔を行い, 気管内挿管後, 酸素, 笑気を加え, 血圧などの変動を基に麻酔開始120分後からセボフルランを吸入濃度 1% で吸入させた。手術中は臭化ベクロニウムブロマイドを適宜追加投与した。

2) 症例2

64歳男性, 腹部大動脈瘤, 術式は人工血管置換術。症例1と同様にニューロレプト麻酔を行い, 気管内挿管後, 酸素, 笑気を投与した。麻酔開始後80分の時点で1%の濃度のエンフルラン投与を行った。手術中は臭化ベクロニウムブロマイドを適宜追加投与した。

症例1, 2ともに血液試料採取を, セボフルランまたはエンフルラン吸入開始直前を0分とし, 開始後3, 5, 15, 30, 60分, さらに吸入終了後10, 20, 30分にて行った。各々, 末梢静脈血を2mlずつ採取した。採取した血液試料をアルミパッキン付きバイアル瓶に約9分目まで入れ, -20 $^{\circ}$ Cの冷凍保存とし, 症例1では3日後, 症例2では20日後に Py-GC-MS 法にて測定した。

3) 症例3

17歳男性, 漏斗胸術後, プレート抜去術が施行された。鎮痛剤クエン酸フェンタニール, 全身麻酔剤チオペンタールナトリウム, 筋弛緩剤ベクロニウムブロマイドを使用して麻酔導入を行い, 直後に気管内挿管を施行した。引き続き笑気, 酸素とともにセボフルランを2%の濃度で用い, 全身麻酔を施した。

4) 症例4

16歳男性, 漏斗胸, 術式は胸郭矯正術である。症例3と同様の麻酔導入後, セボフルランを2%の吸入濃度で使用した。

5) 症例5

43歳女性, 右乳癌, 術式は非定型乳房切断術である。やはり, 症例3と同様の麻酔導入を行い, 吸入濃度2%でセボフルランを使用した。

症例3, 4については, セボフルラン吸入開始直前を0分とし, 以後3, 5, 15, 30分後に, 症例5については同様に0分, 以後15, 30分後に末梢動脈血2mlを採取し, 直ちにその血中濃度を Py-GC-MS 法により測定した。

なお, 臨床試料採取に当たっては, 全例, 手術当日までに患者本人に対して, あらかじめ麻酔担当医または執刀医が口頭で血液採取内容の説明を行い, 可及的に書面による患者本人の同意を得た。

V. 分析装置・方法

1. 分析装置

パイロライザーは JHP-3 型 (日本分析工業, 東京) を,

GC-MS 装置は QP-1000 型 (島津, 京都) および DX303 & DA5100 システム (日本電子, 東京) を用いた。

2. 分析方法

1) Py-GC-MS 法

試料血液 3 μ l をマイクロシリンジで採取し, 円筒状に整形した強磁性体 (パイロホイル[®]) の内側壁に注入し, すばやく試料管に挿入した。次いで試料管を熱分解器にセットした後, 160 $^{\circ}$ C, 4 秒間パルス加熱し, 気化した物質を直接 GC に導入, 分離後, 質量分析器で分析した。

2) HS-GC-MS 法

容量 10ml のスクリーバイアル瓶に試料 0.5ml を入れ, さらに内部標準液 (100 μ g/ml ジクロロメタン 10% (V/V) ツィー

ン20溶液) 0.5ml を加え, 55 $^{\circ}$ C で約20分間保温後, 気相ガス約 1~1.5ml を採取し, GC-MS 装置に導入, 分析した。

3. 分析条件

1) 熱分解器 (パイロライザー) による試料のパルス加熱

パイロライザー JHP-3 型の分析条件は出力 225W, 周波数 930kHz, パイロホイル 160 $^{\circ}$ C, オープン温度 170 $^{\circ}$ C, およびニードル温度 200 $^{\circ}$ C に設定した。

2) GC-MS

i. QP-1000 (Py 法用)

分析は GC カラム, GS-Q (J&W, Folsom, California, USA) (0.53mm \times 30m), カラム温度 160 $^{\circ}$ C, 注入口温度 170 $^{\circ}$ C, キャリアーガス (He) 15ml/分の条件で行った。質量分析は電子衝撃 (electron impact, EI) モード, 陽イオン検出モード, イオン化電圧 70eV, イオン化電流 60 μ A の条件で行った。定性分析はスキャンモード, 定量分析は選択イオン検出 (selected ion monitoring, SIM) モードで行った。エンフルラン, セボフルラン, イソフルラン, ハロタンの定量については, SIM モードで各々 M/Z 101, 131, 149, 198 を用いた。

ii. DX303 & DA5100 (HS 法用)

GC カラムは DB-1 (J & W) (0.53mm \times 30m \times 5.0 μ m), カラム温度 60 $^{\circ}$ C, 注入口温度および分離温度各々 120 $^{\circ}$ C, キャリアーガス (He) 15ml/分の条件を用いた。質量分析は EI モード, 陽イオン検出モード, 加速電圧 3kV, イオン化電圧 70eV, イオン化電流 0.3mA, コンバージョン・ダイノード電圧 -10kV の条件で行った。定量分析は SIM 法を用いて M/Z 131 および 181 はセボフルラン, 117 および 149 はイソフルラン, 101 および 117 はエンフルラン, 117 と 198 はハロタン, また M/Z 83 と 84 は内部標準物質であるジクロロメタンについて各々用いた。

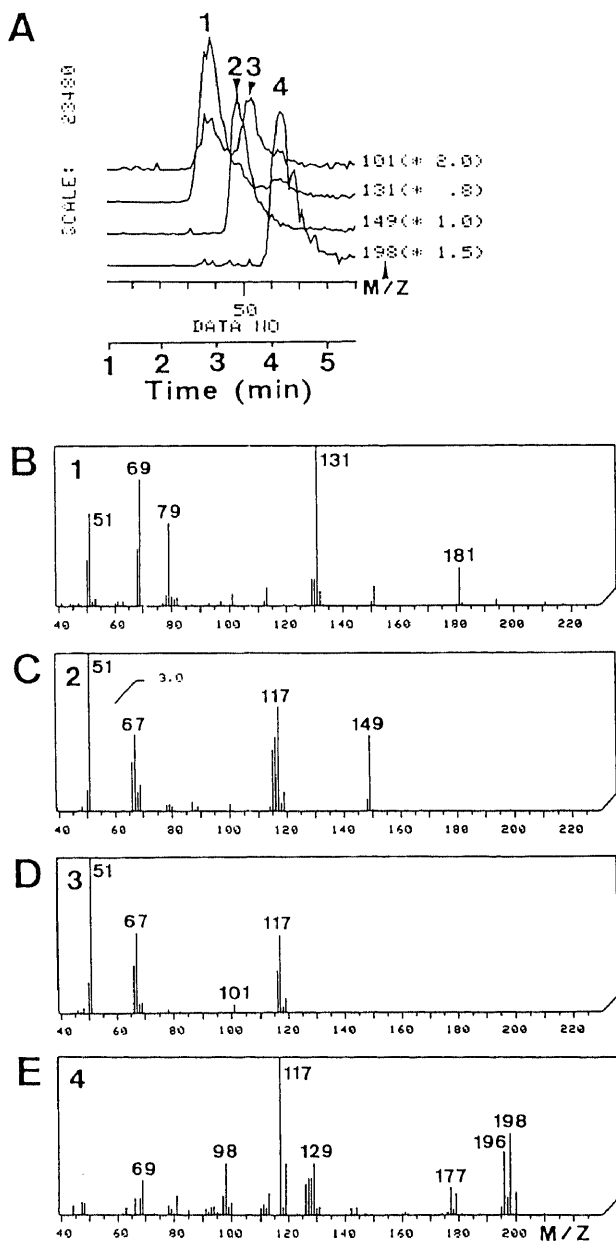


Fig. 1. Mass chromatograms (A) and mass spectra (B-E) of the four volatile anesthetics examined by pulse heating-gas chromatography-mass spectrometry (Py-GC-MS). 1, sevoflurane; 2, isoflurane; 3, enflurane; 4, halothane.

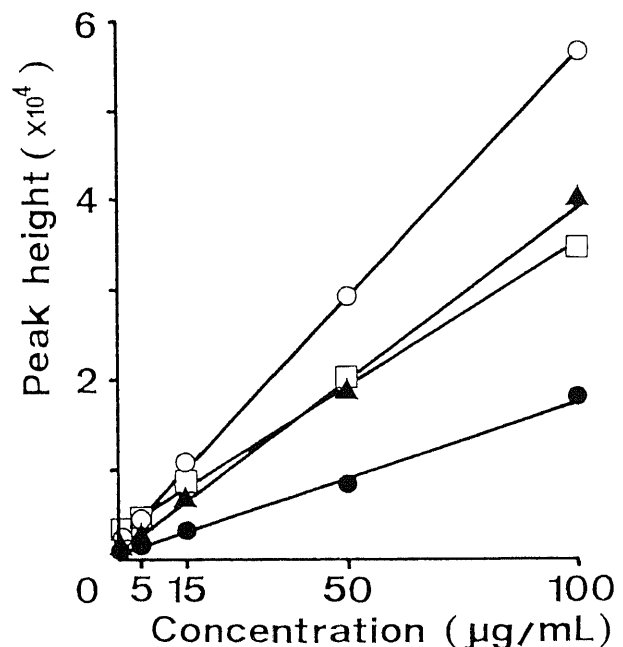


Fig. 2. Standard curves for the four volatile anesthetics by Py-GC-MS. \circ , sevoflurane; \blacktriangle , isoflurane; \square , halothane; \bullet , enflurane.

成 績

1. Py-GC-MS 法による麻酔薬分析方法の基礎的検討

1. 定性分析

血漿中の4種類の麻酔薬をPy-GC-MS法により同時分析したマスプロトグラムとマススペクトルを図1に示す。保持時間はセボフルラン2.8分、イソフルラン3.4分、エンフルラン3.7分、ハロタン4.2分であった。イソフルランとエンフルランの保持時間は互いに近接していたが、各々 M/Z 149, 101のマスプロトグラムにて明確に識別が可能であった。また、これらの吸入麻酔薬のマススペクトルにおける特徴的な分子あるいはフラグメントイオンとして、セボフルランの M/Z 181は

Table 1. Regression line and correlation coefficient in standard curves for the four volatile anesthetics

Volatile anesthetics	Regression line	Correlation coefficient
Sevoflurane	$Y=544X+2049$	0.999
Isoflurane	$Y=386X+691$	0.999
Enflurane	$Y=172X+437$	0.998
Halothane	$Y=316X+3446$	0.999

Y, peak height per 3 μ L (mean value, (n=5)); X, concentration of substance (1~100 μ g/ml).

Table 2. Recovery and within-run precision of the four volatile anesthetics by pulse heating GC-MS

Volatile anesthetics	Target concentration (A) (μ g/ml)	Measured concentration (B) (μ g/ml)	Recovery (B/A \times 100) (%)	Coefficients of variation (%)
Sevoflurane	15.0	15.39 \pm 1.40*	102.6	9.1
Isoflurane	15.0	15.59 \pm 1.07	103.9	6.9
Enflurane	15.0	15.63 \pm 1.38	104.2	11.3
Halothane	15.0	14.63 \pm 1.69	97.5	11.6

*, mean value \pm SD (n=6).

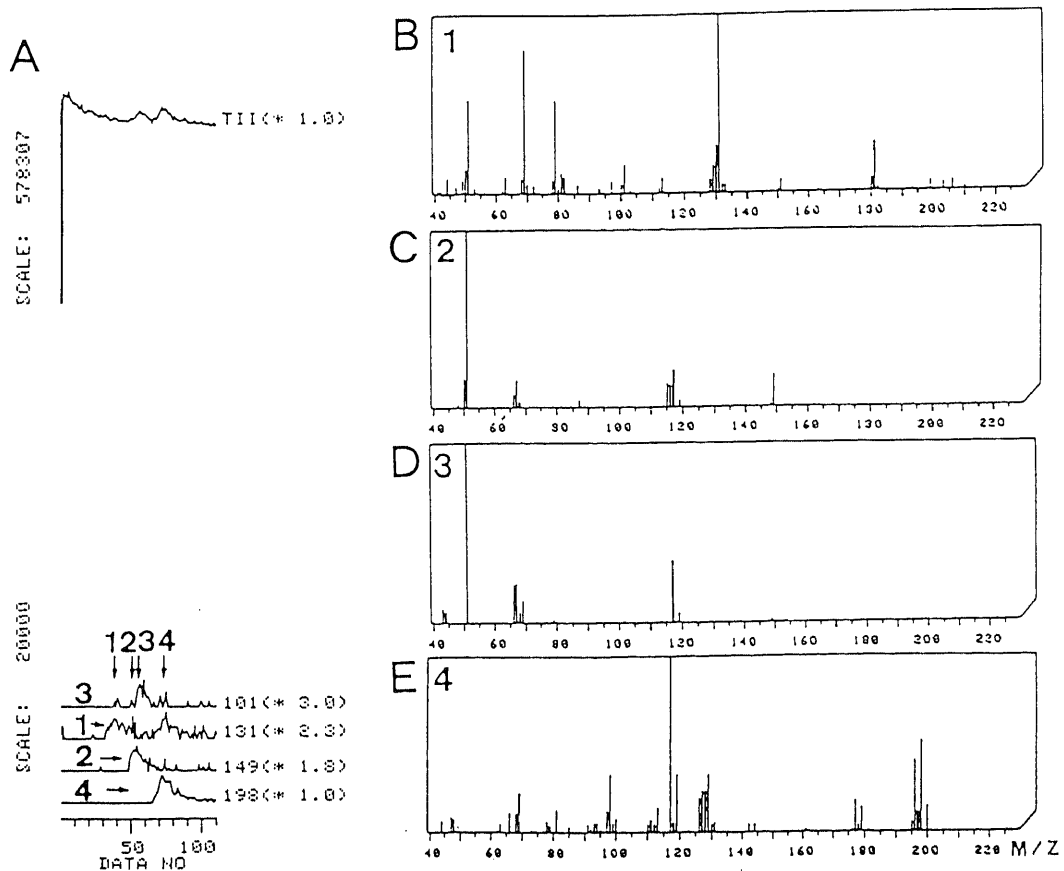


Fig. 3. Total ion chromatogram, mass chromatograms and mass spectra of the four volatile anesthetics in rabbit blood examined by Py-GC-MS. (A), Total ion chromatogram (upper) and mass chromatograms (lower). (B)-(E), Mass spectra. 1, sevoflurane; 2, isoflurane; 3, enflurane; 4, halothane.

[M-F]⁺, イソフルランの M/Z は149は [M-C1]⁺, エンフルランの M/Z 117は [M-(OCHF₂)⁺, ハロタンの M/Z 196は [M]⁺に相当していた。

2. 定量分析

4種の吸入麻酔薬の検量線を図2に示す。1~100 μ g/mlの濃度範囲においてピーク高との間に直線関係が得られた。各々の回帰直線, 相関係数を表1に示す。相関係数は0.998~0.999であった。

次に Py-GC-MS 法により得られた4種の吸入麻酔薬の回収

率と変動係数を表2に示す。各々 15 μ g/mlの標的濃度に対して回収率は 97.5~104.2%であった。日内精度については, 15 μ g/mlの濃度にて変動係数が 6.9~11.6%であった。日間精度については, 15 μ g/mlの濃度にて, 変動係数がセボフルランは 11.1%, イソフルランで 11.0%, エンフルランでは 12.9%, ハロタンが 12.2%であった。

II. 生物試料についての基礎的検討

1. 定性分析

4種の吸入麻酔薬を吸入させたウサギの血液試料のマスクロ

Table 3. Comparison of the values of four anesthetics in rabbit's blood determined by Py method with those by HS method

Experiment number	Sample number	Concentration (μ g/ml)							
		Sevoflurane		Isoflurane		Enflurane		Halothane	
		PY	HS	Py	HS	Py	HS	Py	HS
1	1	1.13	1.11	4.09	3.81	3.85	3.95	17.2	17.1
	2	28.0	30.0	60.5	60.3	55.2	59.5	155	165
2	1	6.81	6.98	20.4	20.6	20.4	20.5	78.8	75.7
	2	7.24	6.91	22.0	20.4	22.9	20.7	87.7	76.7
	3	8.37	7.93	23.4	23.4	23.6	23.3	93.3	93.4
	4	8.90	9.15	25.4	26.4	25.2	26.3	98.8	98.7
3	1	58.7	58.5	117	119	132	127	286	298
	2	64.9	73.1	125	135	135	145	339	343
	3	49.3	46.1	97.1	91.3	117	109	257	212
	4	29.2	28.4	60.3	57.6	76.6	78.5	161	150

Py, pulse heating method; HS, head space method.

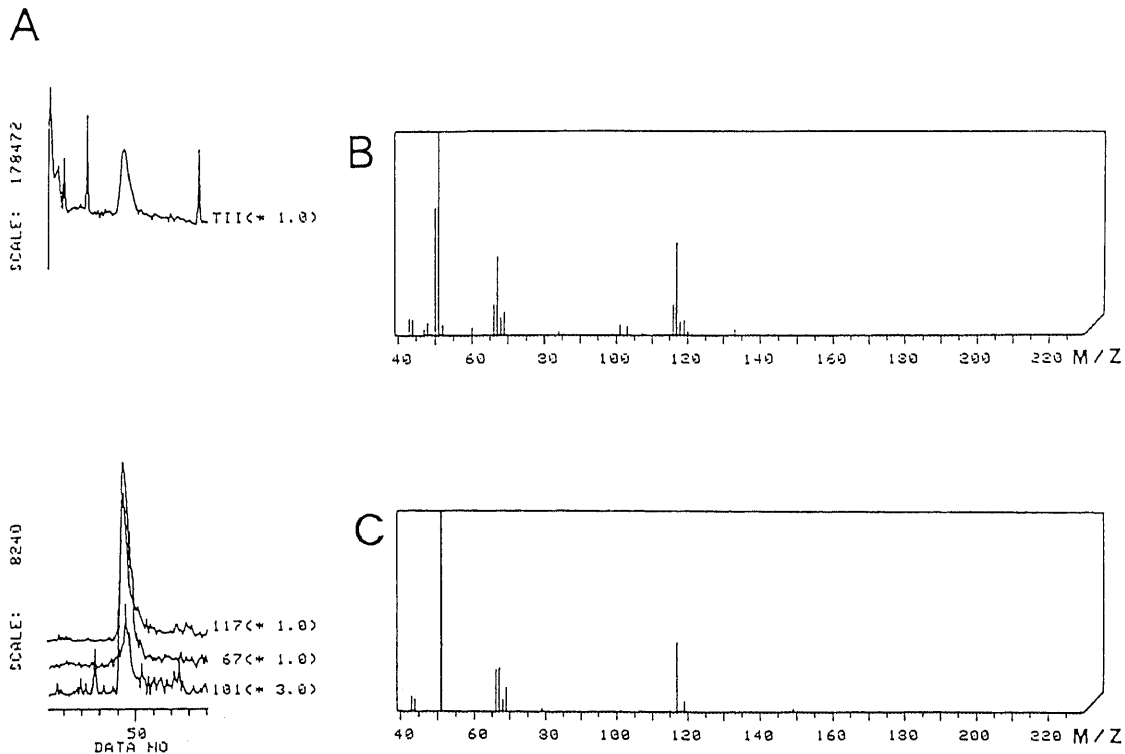


Fig. 4. Total ion chromatogram, mass chromatograms and mass spectra of enflurane by Py-GC-MS. (A), Total ion chromatogram (upper) and mass chromatograms (lower). (B), Mass spectrum in the blood specimen of a patient. (C), Mass spectrum of standard sample.

マトグラムとマススペクトルを図3に示す。セボフルランの特徴的な主要ピークである M/Z 131, 69, 51, 79, 181 (ピーク強度順, 以下同) の各ピークが, 標準エンフルランと同様ウサギ血液についてのマススペクトルでも認められた。同様に, イソフルランでは主要ピーク M/Z 51, 117, 67, 149 が, エンフルランでは主要ピーク M/Z 51, 67, 117, ハロタンでは主要ピーク M/Z 117, 198, 196, 98, 129 が標準イソフルラン, エンフルラン, ハロタンと同様に認められた。

2. 定量分析

動物実験試料の定量分析では, 同一試料について Py 法と, 同時に行った HS 法との比較を表3に示す。この成績については各々回帰直線を求めてみると, エンフルラン: $Y = -0.25 + 0.99X$, $r = 0.993$ (Y: Py 法による値, X: HS 法による値, r: 相関係数), 以下同様に, ハロタン: $Y = 6.13 + 0.989X$, $r = 0.988$, セボフルラン: $Y = 0.975 + 0.943X$, $r = 0.994$, イソフルラン: $Y = 1.95 + 0.96X$, $r = 0.997$ であった。相関係数は0.988から0.997であり, いずれも強い正の相関が得られ, 両者の定量法による値の差はなかった。

III. 臨床試料への応用

1. 定性分析

エンフルランまたはセボフルランによる全身麻酔を施した手術症例から採取し, Py 法で分析した血液試料のマスプロマトグラムとマススペクトルを図4, 5に示す。エンフルランの特徴的な主要ピークである M/Z 51, 67, 117 の各ピークが, 患者血液についてのマススペクトルでも標準エンフルランと同様に認められた。また, セボフルランについても特徴的な主要ピークである M/Z 131, 51, 69, 79, 181 の各ピークが認められ, い

ずれも標準セボフルランが示すピークと良く一致した。

2. 定量分析

1) Py 法と HS 法との比較

各実験ごとに作成した検量線を用いて, 臨床試料中のセボフルラン, エンフルランを Py 法と HS 法で同時に測定した結果を表4に示す。この測定値に基づいて, エンフルランおよびセボフルランについて回帰直線を求めると, エンフルランでは $Y = 13.0 + 0.55X$, ($r = 0.914$, $n = 8$, Y: Py 法による値, X: HS 法による値, r: 相関係数) であり, 同様にセボフルランでは $Y = -2.78 + 1.31X$ ($r = 0.937$, $n = 18$) となり, いずれも強い正の相関を示した。

2) 保存温度の違いによる測定値の比較

20℃の室温保存, ならびに-20℃冷凍保存での測定値を表5に示す。セボフルランを測定した例について比較すると, 室温保存および冷凍保存で両者の測定値の相関係数は0.988であった。また, Wilcoxon 検定を行ったところ, 危険率5%以下で両保存法での測定値に有意差は認められなかった。また, 合計4検体と例数は少ないが, エンフルランでは両者の相関係数は0.979であり, Wilcoxon 検定でも危険率5%以下で, この両保存法の違いによる測定値間の有意差は認められなかった。

3. 麻酔経過と血中濃度

症例1の麻酔経過を図6に示す。麻酔開始45分後に皮膚切開が行われ, その後約100分後に血圧が上昇し始め, 120分の時点で濃度1%のセボフルラン吸入を開始した(図6においてこの時点をも0としている)。この直後血圧は170/100mmHgから150/90mmHgへと低下した。導入後3分で血中濃度は18.1μg/mlであったが, その直後に吸入濃度を1%から0.5%と減じた

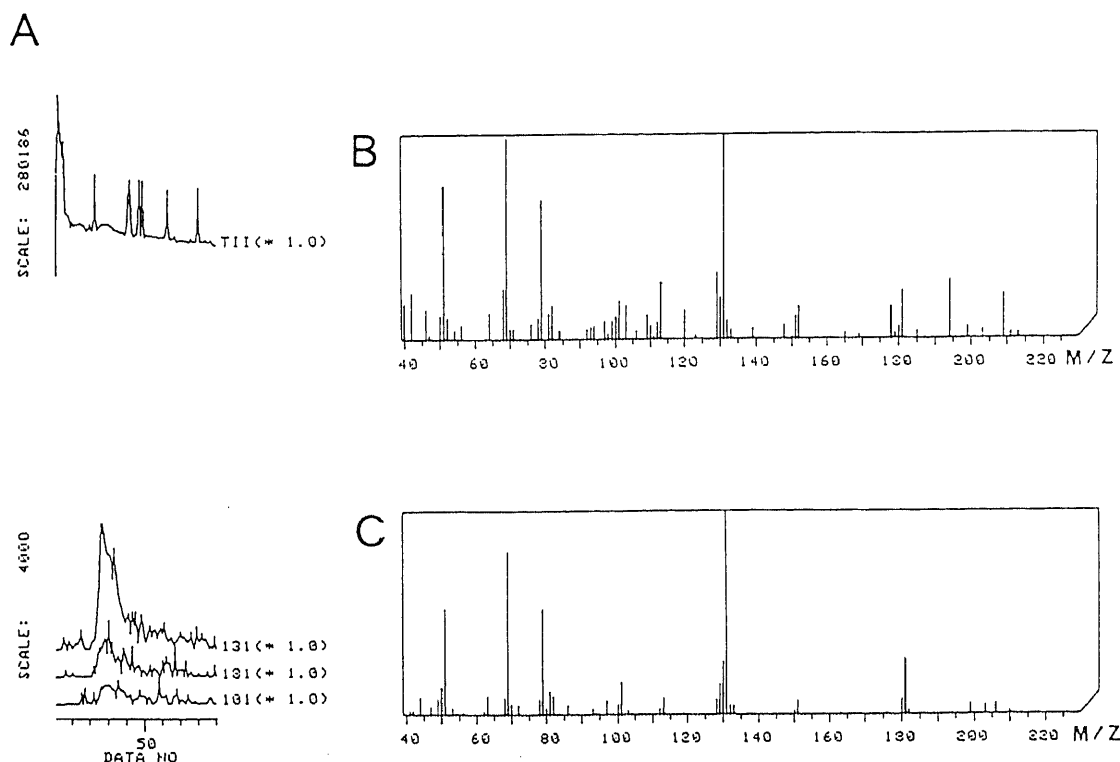


Fig. 5. Total ion chromatogram, mass chromatograms and mass spectra of sevoflurane by Py-GC-MS. (A), Total ion chromatogram (upper) and mass chromatograms (lower). (B), Mass spectrum in the blood specimen of a patient. (C), Mass spectrum of standard sample.

ため、吸入開始後5分では、血中濃度 $11.5\mu\text{g/ml}$ へと低下し、血圧は安定した。その5分後には吸入濃度を 1.0% に戻し、導入15分後には血中濃度は $33.5\mu\text{g/ml}$ まで上昇した。その後、セボフルランの吸入濃度を 1.5% とした直後から血圧は低下を示したが、 1.0% に戻した後、血圧はやや上昇に転じた。これ以後は投与濃度は 1.0% で維持し、血圧、脈拍ともほとんど変化し

なかった。この間、パルスオキシメーターによる動脈血酸素飽和度は 99% 以上であり、体温は 35°C 前後を示し、両者ともにはほとんど変動を認めなかった。セボフルラン吸入を終了した時点から10分後には血中濃度は $6.7\mu\text{g/ml}$ へと低下し、終了30分の時点で抜管した。この時の濃度は $6.8\mu\text{g/ml}$ であった(いずれも採取後 -20°C で3日間保存した試料)。経過中、心電図に不整脈

Table 4. Determination of sevoflurane and enflurane in the patients' blood collected during the operation

Volatile anesthetics	Case number	Sex	Age (years)	Anesthetics ($\mu\text{g/ml}$) measured by	
				Py	HS
Sevoflurane	1	F	52	22.8	22.7
	2	M	41	23.6	23.7
	3	M	56	26.0	23.5
	4	F	55	23.1	24.9
	5	M	36	31.2	31.5
	6	F	45	5.7	4.3
	7	M	74	31.8	31.8
				39.5	32.3
	8	F	65	62.0	47.6
				56.5	36.8
	9	F	63	17.3	18.0
				24.3	16.8
	10	M	64	16.0	12.2
			17.2	11.7	
	11	F	64	11.3	13.1
			11.3	7.3	
	12	M	56	44.1	29.5
			7.8	11.9	
Enflurane	1	F	65	43.7	47.0
				26.7	45.9
	2	M	65	44.8	45.3
				87.1	141.2
	3	M	56	16.3	11.3
				27.1	15.1
	4	F	62	16.3	32.0
				61.1	60.6

M, Male; F, Female; Py, pulse heating method; HS, head space method.

Table 5. Effect of storage temperature on the determination of sevoflurane and enflurane in the blood

Volatile anesthetics	Sample number	Sex	Age (years)	Storage interval (days)	Anesthetic concentration ($\mu\text{g/ml}$) stored at	
					20°C	-20°C
Sevoflurane	1	F	68	26	15.5	11.3
	2	M	59	23	6.4	7.8
	3	M	54	361	18.5	17.3
	4	F	61	8	10.8	9.1
	5	F	50	15	28.6	32.8
	6	F	62	22	38.3	33.4
	7	M	28	1	85.5	70.5
Enflurane	1	M	70	365	44.6	51.9
	2	M	56	30	20.7	27.1
	3	M	57	15	24.8	20.6
	4	F	44	110	59.7	73.8

M, Male; F, Female.

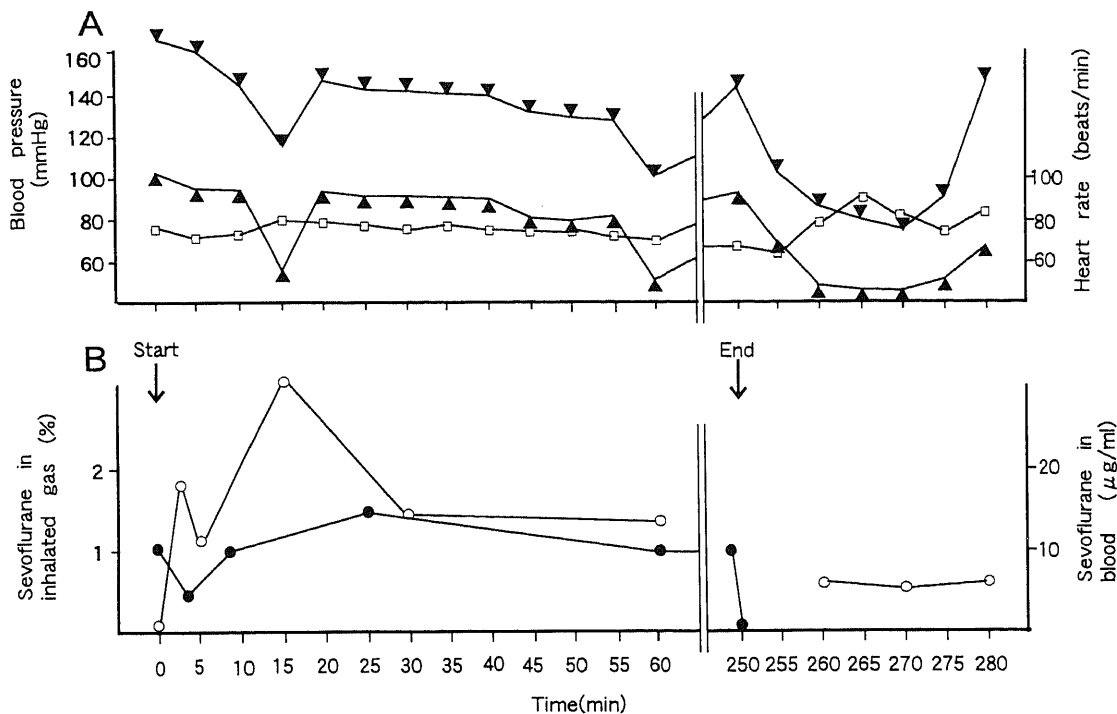


Fig. 6. Condition of a patient (64-year-old male) during operation and concentration of sevoflurane in inhaled gas and in the blood. (A) Blood pressure (Bp) and heart rate. ▼, maximum Bp; ▲, minimum Bp; □, heart rate. (B) Sevoflurane concentration in inhaled gas (●) and in the blood (○). Start; start of sevoflurane inhalation; end, end of sevoflurane inhalation.

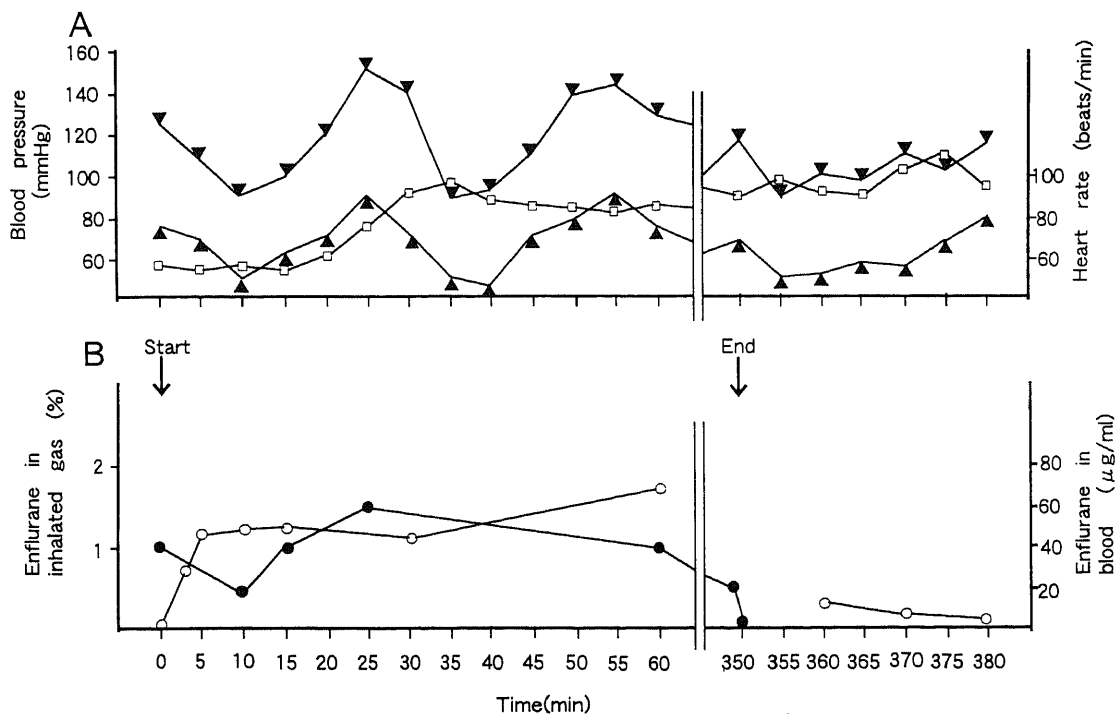


Fig. 7. Condition of a patient (64-year-old male) during operation and concentration of enflurane in inhaled gas and in the blood. (A) Blood pressure (Bp) and heart rate. ▼, maximum Bp; ▲, minimum Bp; □, heart rate. (B) Enflurane concentration in inhaled gas (●) and in the blood (○). Start; start of enflurane inhalation; end, end of enflurane inhalation.

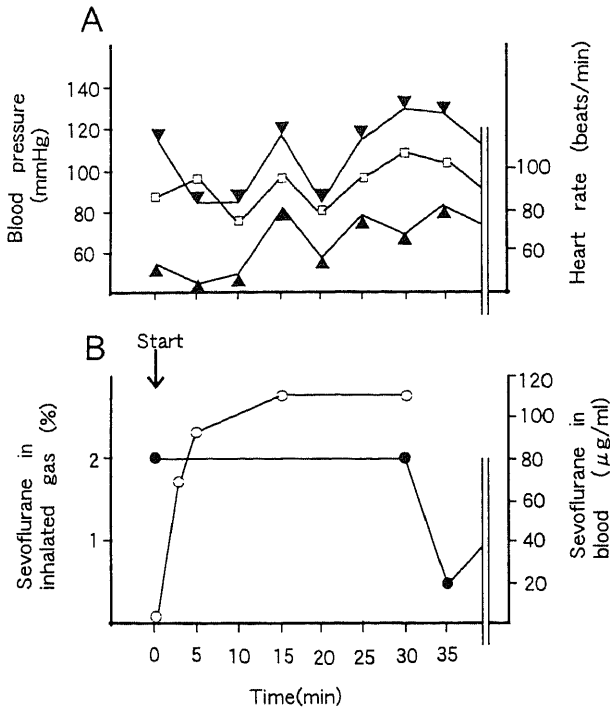


Fig. 8. Condition of a patient (17-year-old male) during operation and concentration of sevoflurane in inhaled gas and in the blood. (A) Blood pressure (Bp) and heart rate. ▼, maximum Bp; ▲, minimum Bp; □, heart rate. (B) Sevoflurane concentration in inhaled gas (●) and in the blood (○). Start; start of sevoflurane inhalation.

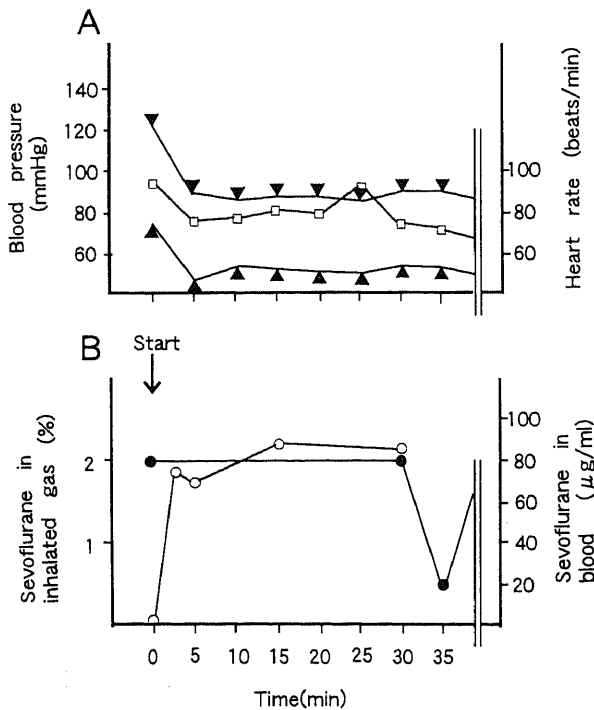


Fig. 9. Condition of a patient (16-year-old male) during operation and concentration of sevoflurane in inhaled gas and in the blood. (A) Blood pressure (Bp) and heart rate. ▼, maximum Bp; ▲, minimum Bp; □, heart rate. (B) Sevoflurane concentration in inhaled gas (●) and in the blood (○). Start; start of sevoflurane inhalation.

Table 6. Sevoflurane concentration in the blood

Case number	sample blood	Sevoflurane (μg/ml)				
		Sampling time after the start of sevoflurane inhalation (min)				
		0	3	5	15	30
1	Venous	0	18.1	11.5	33.5	17.2
3	Arterial	0	76.3	73.1	87.9	83.8
4	Arterial	0	67.8	92.9	110.2	110.5
5	Arterial	0	N.T.	62.7	N.T.	93.7

N.T., not tested.

は出現しなかった。

症例2の麻酔経過を図7に示す。エンフルラン吸入開始後3分で血中濃度は21.5μg/mlを示した。5分後には血圧が低下し始め、この時点で血中濃度は43.8μg/mlであった。その後は血圧は回復したが、開始後30分にも血圧が低下し、この時エンフルランは43.7μg/mlを示した。開始60分後でも血中濃度は70.7μg/mlで、この後血圧は徐々に低下した。経過中脈拍は血圧の変動と平行して変化した。パルスオキシメーターは99%以上の動脈血酸素飽和度を示し、体温は35.7℃から36.0℃にてほとんど変化を認めなかった。エンフルラン終了10分後には血中濃度は8.9μg/mlであり、30分の時点では濃度は2.8μg/mlと急速に減少した(いずれも採取後-20℃で20日間保存した試料)。

症例3の麻酔経過を図9に示す。セボフルラン開始後3分で血中濃度は76.3μg/mlに達し、これ以降血中濃度はやや上昇し、それとともに血圧は低下した。パルスオキシメーターによる動脈血酸素飽和度は常に98%以上を示し、体温も37.0℃前後でほとんど変化を示さなかった(採取直後に分析)。

症例4の麻酔経過を図8に示す。セボフルラン開始後3分で血中濃度は67.8μg/mlであり、以後次第に上昇した。開始後30分の時点では110.5μg/mlに達した。その間、症例3と同様、血圧はやや低下を示した。パルスオキシメーターによる動脈血酸素飽和度は98%以上であり、体温は36℃台であり、麻酔施行中ほとんど変化を認めなかった(採取直後に分析)。

症例5では、セボフルラン開始後15分で血中濃度は57.8μg/mlであり、30分にて93.7μg/mlであった。麻酔中、血圧はほとんど変化を認めず、パルスオキシメーターも動脈血酸素飽和度99%以上の値を示した(採取直後に分析)。

以上セボフルランの静脈血濃度を測定した1例(症例1)と動脈血濃度を測定した3例(症例3, 4, 5)について、セボフルラン開始から30分間の血中濃度推移を表6に示し、その濃度変化を観察した。

考 察

医療事故訴訟は昭和60年から62年では年間約1400件前後あり、それを医療類型別に分類すると、治療に関するもの約36%、手術に関するもの約20%、診断に関するもの約20%、注射に関するもの約7%の順で、麻酔に関するものは約5%(年間約70件)を占めている。これに続いて、投薬については約4%、輸血と看護が各々1%、レントゲン照射0.2%、その他6%となっている。すなわち、麻酔では、麻酔実施前の問診・検査な

どの適否, 実施方法の適否, 実施後の観察・処置の適否, 麻酔についての説明と同意が問題となるが, このうち, 麻酔中の管理については, これまで, 酸素供給不適切やバイタルサインを観察すべき担当医の無断退去, あるいは患者の異変を示す徴候を発見するのが遅れたり, 発見後の処置に不手際があったりする事例が知られている⁹⁾.

さらに, 我が国の医療事故死に占める麻酔事故死については, これまで八十島¹⁰⁾, 日本法医学会¹¹⁾, 若杉ら¹²⁾, 日本法医学会課題調査委員会¹³⁾などの報告がある. このうち1948年から1980年までの調査に基づき八十島は麻酔事故死に占める吸入全身麻酔の割合は12.2%としているなど, 安全性が高くなったとはいえ麻酔関連の死亡事故はまだ決して少なくない. 小林¹⁴⁾は, 一般的には麻酔は安全であるとしながらも, 米国¹⁵⁾, 英国の集計から, 麻酔死亡例は, 1万例当り0.7から3.7とし, また, これらの麻酔事故原因を詳細に検討すると, 麻酔回路のはずれ, 薬剤投与量の誤り, 挿管手技の不手際, 低換気などが上位を占めていることを報告した. 須山ら¹⁶⁾は, 45歳男性の右大腿骨骨折例, 21歳女性の左肘頭骨骨折例において, ハロタンによる全身麻酔下手術直後に痙攣をきたし, いずれも120日後に死亡に至った事例を報告した.

こうした現状の反省に立って, 近年, 麻酔事故の防止対策として, 麻酔前回診の徹底や事故時の緊急対策法とともに, 各種モニタリングの臨床現場への積極的導入が推進されてきている. すなわち, 従来からの血圧, 心拍数, 体温, 尿量, 心電図などに加え, ベンチレーター監視, さらに動脈血酸素飽和度測定, 炭酸ガス測定なども普及してきている¹⁷⁾. たとえば, Keenanら¹⁸⁾は, 15年間にわたる調査期間中, 163,240症例中27例で麻酔が原因で心停止したことを報告しているが, このような事例では低換気が最大の原因であり, 適切なモニタリングによって避けるべきものであるとしている. また, Eichhorn¹⁹⁾は, 動脈血酸素飽和度測定, 炭酸ガス測定などのモニターを用いた麻酔事故防止の取り組みを報告している. しかし, 成瀬ら²⁰⁾は, 種々のモニターの開発にて麻酔事故は年々減少傾向にあるが, これらのモニターの設置は大学病院や一部の大病院にすぎないと述べており, この分野はまだ十分改善すべき課題を抱えている.

このような状況の中にあって, 吸入麻酔薬の血中濃度の直接測定は麻酔深度について客観的に知る上で極めて有用であると考えられる. すなわち, 血中濃度測定は吸入麻酔薬の安全な使用を容易にし, また不必要な過剰量の麻酔薬の投与を未然に防止し, なおかつ経済的にも有利である. 土肥²¹⁾はこれに関連して「麻酔薬深度を測定する方法としては, 麻酔薬の血液内濃度や脳波変化があるが, 麻酔薬の血中濃度測定はどうしても後手にまわってしまう」と述べているが, 麻酔薬の血中濃度を的確に把握するために, 短時間に容易に吸入麻酔薬の血中濃度を測定しうる術中モニタリングの開発が強く求められている.

従来, 揮発性物質の測定にはHS法が広く用いられているが^{22,23)}, この方法では分析対象とする物質と物理的, 化学的に類似した物質を内部標準として加え, 一定時間加熱しておくことが必要である. またHS法の原理から, 分析対象の物質および内部標準物質の分圧に影響するような他の物質の混入や温度設定の精度, 各種イオン類の濃度やpHなどが影響を及ぼすことが考えられる. 一方, 吸入麻酔薬の血中濃度測定法はこれまで種々の方法で行われ, 例えば横田²⁴⁾はハロタンの測定法して独

自の試料加熱気化装置に血液試料を直接注入して3分で測定可能としている. 彼は種々のカラム充填剤を検討し, たとえば, ハロタンのピークと水分のピークの分離を容易にするためモレキュラーシーブ5Aというカラム充填剤を用いているが, この充填剤はハロタン以外の吸入麻酔薬の分離には不十分であることが判明している. また, 山田ら²⁵⁾は, エンフルラン, イソフルラン血中濃度の直接法による測定を試みたが, 使用した装置には加熱装置とカラム流路切り替えバルブを装着しているため, 操作がやや煩雑で測定時間も10分を要しているなど, なお検討の余地を多く残している.

一方, 近年, Naganoら⁷⁾は被検物質を気化させた後, 気体として直接, 分析器に導入する方法, すなわちPy-GC-MS法を開発した. この方法は, 試料の前処置が不要で, 短時間で測定が可能であり, 目的物質以外の成分の影響も受けにくいなどの優れた特徴を有している.

今回, 筆者が行った研究では, 現在汎用されている4種類の吸入麻酔薬セボフルラン, エンフルラン, イソフルラン, ハロタンをPy-GC-MS法にて分析したが, 使用カラムを選択することで, 1種類の吸入麻酔薬のみではなく4種の吸入麻酔薬を同時に分離できるうえ, 各々の標準液のマススペクトルと同一のスペクトルが得られることが明らかになった. 定量分析では, 各麻酔薬の濃度15 μ g/mlにおいて, 回収率は97.5%から104.2%と高く, これら4種類の麻酔薬の分析がPy-GC-MS法で行えることが判明した. しかし, 変動係数は15 μ g/mlの濃度にて6.9%から11.6%であり, エタノールの変動係数の範囲, すなわち2.7%から5.1%⁷⁾と比較して高かった. この理由として, これら吸入麻酔薬が低い沸点を有し, 常温で比較的高い蒸気圧であり, さらに血液/ガス分配係数が低値である²⁶⁻²⁸⁾ことが考えられ, このことは, これら吸入麻酔薬がいずれも常温ではエタノールに比べて気相に移行しやすいことを示している. このため, 本実験手技では, 結果的に変動係数が高くなったものと考えている. ちなみに, 吸入麻酔薬について, 検出限界は3 μ lの試料を用いた場合, 各々約0.2 μ g/mlの濃度であった.

動物実験試料について, 定性分析では, これら4種の吸入麻酔薬はPy-GC-MS法で各々明瞭に分離された. 定量分析においてはPy-GC-MS法およびHS-GC-MS法, すなわち異なる二つの測定法による同一試料の測定値の比較から, 相関係数は0.988から0.997となり, 強い正の相関が得られた. すなわち, 実験的な生物試料を対象とした場合でも, Py-GC-MS法を用いることにより従来の気化平衡法の値とほぼ同様の成績が得られ, これら4種の吸入麻酔薬の生物試料からの分析に応用できることが示された.

臨床試料についても, 定性分析の結果は標準物質のマススペクトルと一致した. 定量分析でも, 動物実験試料と同様, 両法によるエンフルランおよびセボフルランの試料測定値のいずれも, 相関係数が各々0.914, 0.937と良い相関を示した. したがって, Py-GC-MS法は臨床試料についても吸入麻酔薬の血中濃度測定に十分応用可能であることが示された. なお, Py法による測定結果よりHS法による測定結果が高値を示すことがあるが, この理由としては先に述べたように, 検体を先ずPy法により測定し続いてHS法にて測定したため, 操作中に吸入麻酔薬の気相への移動が生じたことが考えられる. また, これ以外の理由としては, マイクロシリッジによる血液採取の際に, 微細凝固血液により正確に採取できなかった可能性が, ま

たは吸入麻酔薬が均一に溶解していなかった試料を測定した可能性などが考えられる。

藤井ら²⁹⁾は、吸入濃度 2% のセボフルランを用いた 6 例の検討で、全血中セボフルラン濃度は導入後 15 分にて 253~467 μ M (50.0~93.4 μ g/ml, 平均 72 μ g/ml) と報告した。また、Frink ら³⁰⁾の報告によれば、約 2% の吸入濃度でのセボフルラン麻酔症例 30 例の検討で、セボフルラン吸入開始後 30 分にて末梢静脈血での血中濃度が平均約 600 μ M (120 μ g/ml) であった。Avramov ら³¹⁾は、セボフルランの導入の速さと脳波との関連の検討の中で、急速導入による 5 例の動脈血濃度を経時的に測定し、吸入濃度 4% のセボフルランにて導入 2 分後に 10.6mg% (106 μ g/ml) に上昇し、この時点で意識は消失し、4 分から 5 分後には 13.2mg% (132 μ g/ml), 15 分後には 13.7mg% (137 μ g/ml) となり、緩徐導入では、徐々に血中濃度は上昇し、導入 60 分後には 12.3mg% (123 μ g/ml) に達したと述べている。木村らの報告³²⁾によれば、エンフルランを用いた 13 例の検討でエンフルランの動脈血中の濃度は吸入開始 15 分後で 12.5mg% (125 μ g/ml), 30 分後では 17.0mg% (170 μ g/ml) であった。

しかし、本研究での測定では吸入開始後 30 分にて静脈血中のセボフルラン濃度は 5.7~62.0 μ g/ml (平均 26.2 μ g/ml), エンフルランでは 16.3~87.1 μ g/ml (平均 40.4 μ g/ml) であり、いずれもこれまでの報告値に比し低値であり、その原因の検討が必要となった。

そこでセボフルランについては、3 症例ではあるが、動脈血試料を採取直後に Py-GC-MS 法にて測定したところ、吸入開始 3 分後では平均 72.1 μ g/ml, 5 分後には 76.2 μ g/ml であり、15 分後には 99.1 μ g/ml, 30 分後には 96.0 μ g/ml と藤井ら²⁹⁾, Avramov ら³¹⁾の報告に近い値が得られた。

すなわち、本研究における臨床血液試料について、エンフルラン、セボフルランの静脈血濃度の測定値が低かった理由としては、吸入濃度の差が第一に挙げられる。また、動脈血と比べた場合、種々の臓器に麻酔薬が移行、分配したために静脈血においては、その血中濃度が減少していたものと考えられる。さらに、保存期間が経るにつれての蒸発や変性、採血に用いたディスポーザブル注射器の内壁や内筒の合成樹脂パッキンに吸入麻酔薬の成分が吸着すること、そして、今回対象にしている吸入麻酔薬は、血液/ガス分配係数が極めて低いため、保存中にバイアル瓶内で気化が進行し、測定時にアルミパッキン付キャップを開栓した際に瞬時に散逸してしまうことも測定値の差を生じる原因になると考えられる。この差を可及的に小さくするためには、試料を瓶に入れる際に迅速に入れることや、試料瓶中のいわゆるデッドスペースをなくすように可及的に多くの試料を入れること、パイロライザーへの導入時の手際の良い操作が正しい測定の上で重要である。

吸入麻酔薬はそれ自身の毒性による副作用および代謝物質による臓器障害を起こしうる^{33,34)}が、麻酔中の血中濃度のみならず麻酔後生じうる様々な異常の原因を知る上で、保存血や保存ヒト組織を利用した吸入麻酔薬の分析を行うことは非常に有用である。たとえば、ハロタンは、臨床使用が始まって間もなく肝障害例が報告され、当初、ハロタンの不純物が原因ではないかとされたが、その後の研究によりその代謝物質、免疫学的機序、手術中の低酸素などが原因と考えられるようになった^{35,36)}。そのため 1960 年代に入ってハロタンに代わる吸入麻酔の研究が盛んになり、代謝産物も少なく肝障害を起こしにくいエンフル

ラン、セボフルラン、イソフルランが開発されたという経緯がある。

また、吸入麻酔薬の犯法的使用、すなわち、乱用、自他殺などの目的で吸入麻酔薬を吸入、飲用または経静脈投与している場合³⁷⁾においても、血中濃度測定は原因物質の特定や救命処置のための速やかな情報提供を可能とし、その処置に、また、不幸にして障害が残った場合でも原因となった薬毒物を同定するのに大いに有用であると思われる。事実、過去に当教室においては、佐賀県内で発生した配管ミスによる 9 歳男児の麻酔死亡事故の法医学的検査を依頼され、事故発生から約 1 ヶ月後に、-20℃で保存された肝臓や脳などの臓器組織から笑気を GC-MS 法で検出し、事故の原因究明と死因の特定に大いに貢献した経験がある。したがって、保存後の試料からの麻酔薬検出は実務上、大きな意味を有する。また、他殺例としては、文献的には少ないが、当教室において、広い意味での吸入麻酔薬の範疇に入るクロロホルムを用いた 18 歳女性の事例を経験している。同事例においては、剖検施行時に平行して薬毒物スクリーニング検査が行われ、クロロホルムを心内血から検出し、剖検後、凍結保存した主要な臓器組織を用いてさらに詳細に死因の考察を行い得た。すなわち、これらの事例を通してみても、法医学実務において吸入麻酔薬のもつ重要性は明らかであり、その分析法の開発は大きな意味を持つものと痛感される。

今回、保存温度の違いについても検討したが、エンフルランとセボフルランについて、-20℃の冷凍保存と 20℃前後の室温保存にて測定値は良く相関し、有意差は認められず、かりに試料を室温保存後に測定しても、測定値には大きな影響はないものと考えられた。期間による経時的な測定値の変化については今回は検討していないが、セボフルランについては 361 日、エンフルランでは 365 日経過した試料からでも検出可能であった。しかし、経時的測定による減少程度の検討や、本研究で用いたアルミパッキン付バイアル瓶以外の保存容器や、パッキンの種類に基づく測定値の差などについては、今後さらに検討が必要である。

麻酔経過の検討では、症例 1 にてセボフルラン投与時、血圧は収縮期、拡張期ともに低下し、脈拍は大きな変化は認められず、また心電図所見でも異常は認めなかったことは稲田ら³⁸⁾の報告に一致していた。また、セボフルラン吸入終了後、急速に血中濃度は低下したが、これは導入の速さと同様血液/ガス分配係数が低いことによるもので、野口³⁹⁾, Frink ら³⁰⁾の報告と一致していた。本例は術前検査にて転移によると思われる肝腫瘍が認められたが、血液検査では、グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (glutamic-oxaloacetic transaminase, GOT), グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ (glutamic-pyruvic transaminase, GPT) の値は正常範囲であった。また腎機能にも異常は認められなかった。手術中に肝腫瘍に対してエタノールが局注され、手術終了直後の血液検査にて軽度の GOT, GPT の上昇が認められ、約 1 ヶ月後に正常化した。セボフルランによる肝機能障害の報告では、吸入後の GOT, GPT 上昇時期については、いまのところ定説がなく、本例でもセボフルランが原因であることを完全に否定できないが、手術終了直後の手術室での血液検査ですでに GOT, GPT の軽度上昇を認めていることから、手術中に転移性肝腫瘍を手的に検査したこと、さらに治療法として肝腫瘍にエタノールの局注を行ったことによる上昇が主体であり、セボフルランによる上昇はあっ

てもわずかであると考えられた。

また、セボフルラン麻酔の症例3,4では、吸入開始後3分から5分で急速に血中濃度は上昇し、Avramovら³¹⁾の報告と一致した。セボフルラン麻酔の症例1と同様エンフルラン麻酔の症例2でも吸入開始後の血中濃度の測定値は低かったものの、バイタルサインの変化の検討には有用であった。

一方、吸入麻酔薬を対象とする直接のモニタリング法としては呼気ガス中の麻酔薬濃度測定器がある⁴⁰⁾。呼期終末の肺胞内の吸入麻酔薬濃度は、平衡状態にあっては一定の比率で動脈血、さらには脳内濃度と等しく⁴²⁾、麻酔深度の判定に有用である。北村ら⁴³⁾は、セボフルランを用いた2歳から6歳の81症例を検討し、吸入濃度5%または7%にて、呼気濃度3.3%で静脈血濃度120 μ g/ml、呼気濃度5%で静脈血濃度160 μ g/mlと報告している。松木ら⁴⁴⁾の報告では、9頭のイヌを用いたイソフルランの麻酔深度の研究において、矢状静脈洞血中濃度は終末呼気濃度の85.3%であった。本法による血中吸入麻酔薬濃度測定値と、呼気麻酔ガスモニターによる呼気ガス中吸入麻酔薬濃度測定値との比較や、Py-GC-MS法を基盤に置いた血中麻酔薬濃度の自動分析化などについては、なお今後検討すべき課題と考える。

結 論

1. Py-GC-MS法を用い、4種の揮発性吸入麻酔薬であるハロタン、イソフルラン、エンフルラン、セボフルランを血漿またはツーン20溶液中に添加した標準試料を分析したところ、5分以内にすべての麻酔薬の分離同定が可能であった。

2. 上記標準試料について、Py-GC-MS法およびHS-GC-MS法で同一試料を定量し比較した。その結果、セボフルラン、イソフルラン、エンフルラン、ハロタンでその相関係数は、各々0.999, 0.999, 0.998, 0.999で高い相関を示した。変動係数は、各々9.1, 6.9, 11.3, 11.6%とやや高値を示した。

3. 上記4種の麻酔薬について、動物実験試料の同一試料をPy-GC-MS法とHS-GC-MS法の両方で測定し、測定値を比較検討したところ、ハロタンについての測定値の相関係数(r)は0.988、イソフルランでは $r=0.997$ 、エンフルランでは $r=0.993$ 、セボフルランでは $r=0.994$ であり、いずれも良い相関を示した。

4. エンフルランとセボフルランについて、手術中の末梢静脈血液試料を用いてPy-GC-MS法で分析した。その結果、動物実験試料と同様に5分以内に分離同定が可能であることが判明し、両方法の各々の測定値を比較すると、エンフルランの測定値の相関係数(r)は0.914、セボフルランでは $r=0.937$ であり、いずれも良好な相関を示した。

5. エンフルラン、セボフルラン共に、手術症例試料を一定期間保存した後の末梢静脈血濃度は、これまでの臨床例の報告による測定値に比べて低値であったが、セボフルランについては、動脈血の採取直後の測定値は従来の報告値にほぼ一致していた。この濃度差については、吸入濃度、動脈血と静脈血の違い、保存期間、保存容器、測定時の試料の処理時間などが影響していると考えられた。

6. 同一臨床試料を -20°C での冷凍保存と 20°C 前後での室温保存とし、Py-GC-MS法を用いて測定した結果、セボフルランでは両保存法間の相関係数は0.988と良い相関を示し、両保存法での測定値に明らかな有意差は認められなかった($p<0.05$,

Wilcoxon検定)。エンフルランについても、両保存法間の相関係数は0.979であり、やはり良い相関を示し、また、両保存法での測定値に有意差は認められなかった($p<0.05$, Wilcoxon検定)。さらに1年以内の保存であれば、エンフルラン、セボフルランともに血液試料からの検出が可能であった。

7. 手術中の麻酔経過中の血圧、脈拍などの変化と末梢静脈血の吸入麻酔薬濃度は良く関連しており、他の術中モニタリングと同様、Py-GC-MS法による吸入麻酔薬の迅速血中濃度測定についても臨床応用上の有用性が示された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師永野耐道名誉教授(現、警察庁科学警察研究所長)ならびに大島 徹教授に深甚なる謝意を表します。また、直接に御指導、御助言を頂いた高安達典講師に心から謝意を表します。また、多大なる御協力を頂きました西上 潤助手をはじめ、金沢大学医学部法医学講座の各位に深謝いたします。さらに、一部の手術症例の採血にあたり、格別の御高配を賜った麻酔・蘇生学講座小林 勉教授に深謝申し上げます。

なお、本研究の一部は第15回日本法医学会中部地方会(1993,名古屋)および第14回日本中毒学会西日本部会(1994,大阪)で口演発表した。

文 献

- 1) 八十島信之介: 法医学からみた麻酔死. 臨床麻酔, 10, 1288-1296 (1986).
- 2) 高折益彦: 麻酔事故. 外科治療, 52, 222-228 (1985).
- 3) 黒須吉夫: 麻酔と医療事故. 臨床麻酔, 8, 281-288 (1984).
- 4) Eichhorn, J. H., Cooper, J. B., Cullen, D. J., Maier, W. R., Philip, J. H. & Seema, R. G.: Standards for patient monitoring during anesthesia at Harvard Medical School. JAMA, 256, 1017-1020 (1986).
- 5) Jacob, B., Heller, C., Daldrup, T., Burring, K. F., Barz, J. & Bonte, W.: Fatal accident enflurane intoxication. J. Forensic Sci., 34, 1408-1412 (1989).
- 6) Kuhlman J. J. Jr., Magluilo, J. Jr., Levine, B. & Smith, M. L.: Two deaths involving isoflurane abuse. J. Forensic Sci., 38, 968-971 (1993).
- 7) Nagano, T., Takayasu, T. & Maeda, H.: A new method for the determination of ethanol in the blood and urine by pulse heating. Jpn. J. Legal Med., 43, 315-321 (1989).
- 8) 中谷 剛: パルスヒーティング法を応用した揮発性薬毒物分析法の開発と緊急スクリーニング. 十全医会誌, 102, 469-479 (1993).
- 9) 金川琢雄: 現代医事法学. 第1版, 154-163頁, 金原出版, 東京, 1993.
- 10) 八十島信之介: 医療行為に関連した急死. 産婦人科の実際, 7, 298-302 (1958).
- 11) 日本法医学会: 日本法医学会課題調査Ⅱ, 過去5ヶ年間の薬物ショック死剖検例に関する調査. 日法医誌, 20, 289-292 (1966).
- 12) 若杉長英, 四方一郎: 最近10年間の医療事故死について. 日法医誌, 30, 391-400 (1976).
- 13) 日本法医学会課題調査委員会: 日本法医学会課題調査報告(IX), 医療事故死剖検例調査(昭和51年~55年). 日法医誌,

- 37, 434-454 (1983).
- 14) 小林健一: 麻酔事故とその対策. 臨床麻酔, 15, 1125-1132 (1991).
- 15) Copper, J. B., Newbower, R. S., Long, C. D. & Bucknam, M.: Preventable anesthesia mishaps: A study of human factors. *Anesthesiology*, 49, 399-406 (1978).
- 16) 須山弘文, 大谷 勲, 永田武明: フローセン麻酔後の2死亡例. 日法医誌, 27, 30-36 (1973).
- 17) 内山正教, 山本 亨: 麻酔とリスクマネジメント. 臨床麻酔, 17, 441-447 (1993).
- 18) Keenan, R. L. & Boyan, C. P. K.: Cardiac arrest due to anesthesia. *JAMA*, 253, 2373-2377 (1985).
- 19) Eichhorn, J. H.: Prevention of intraoperative anesthesia accidents and related severe injury through safety monitoring. *Anesthesiology*, 70, 572-577 (1989).
- 20) 成瀬隆倫, 中村 功, 藤倉 隆, 滝澤久夫, 伊藤祐輔: 笑気 (N₂O) 麻酔事故の一剖検例. 日法医誌, 42, 397-402 (1988).
- 21) 土肥修司: 麻酔と蘇生. 中公新書1122, 第1版, 44頁, 中央公論社, 東京, 1993.
- 22) Ulrich, R. W., Bowerman, D. L., Wittenberg, P. H., Pierce, A. F., Schisler, D. K. & Levisky, J. A.: Head space mass spectrometric analysis for volatiles in biological specimens. *J. Anal. Toxicol.*, 1, 195-199 (1977).
- 23) Seto, Y., Tsunoda, N., Ohta, H. & Shinohara, T.: Determination of chloroform levels in blood using a headspace capillary gas chromatographic method. *J. Anal. Toxicol.*, 17, 415-420 (1993).
- 24) 横田晃和: フローセンの血中濃度に関する研究. 麻酔, 15, 1314-1322 (1966).
- 25) 山田輝夫, 片山 浩, 小坂 誠, 飯島義雄, 瀬戸甲蔵, 板野義太郎, 西本雅彦, 塩飽善友, 小坂二度見: ガスクロマトグラフによる血中麻酔薬濃度の測定に関する研究 (II). 麻酔, 31, 1114-1124 (1982).
- 26) Cromwell, T. H., Eger II, E. I. Stevens, W. C. & Dilan, W. M.: Forane uptake, excretion, and blood solubility in man. *Anesthesiology*, 35, 401-408 (1971).
- 27) Munson, E. S., Eger II, E. I., Tham, M. K. & Embro, W. J.: Increase in anesthetic uptake, excretion, and blood solubility in man after eating. *Anesth. Analg.*, 57, 224-231 (1978).
- 28) Eger II, E. I.: New inhaled anesthetics. *Anesthesiology*, 80, 906-922 (1994).
- 29) 藤井宏融, 盛生倫夫, 菊地博達, 河内正治, 平良 豊, 井上徹英, 前川隆英, 山本雅子, 池田和之, 森健次郎: セボフルレン麻酔時のセボフルレン血中濃度及び代謝に関する研究. 麻酔, 35, S373 (1986).
- 30) Frink, E. J. Jr., Malan, T. P., Atlas, M., Dominguez, L. M., Dinardo, J. A. & Brown, B. R. Jr.: Clinical comparison of sevoflurane and isoflurane in healthy patients. *Anesth. Analg.*, 74, 241-245 (1992).
- 31) Avramov, M. H., Shingu, K. Omatsu, Y., Osawa, M. & Moru, K.: Effects of different speeds of induction with sevoflurane on the EEG in man. *J. Anesth.*, 1, 1-7 (1987).
- 32) 木村邦之, 神 敏郎, 佐藤根敏彦, 工藤美穂子, 尾山力: Ethrane 麻酔とその動脈血中濃度. 麻酔, 22, 344-347 (1973).
- 33) 小川秀道: 麻酔薬の毒性と副作用. 薬局, 39, 21-25 (1988).
- 34) 盛生倫夫: 揮発性麻酔薬の不純物. 分解代謝および臓器障害. 臨床麻酔, 15, 1261-1270 (1991).
- 35) Brown, B. R. & Gandolfi, A. J.: Adverse effects of volatile anesthetics. *Br. J. Anaesth.*, 59, 14-23 (1987).
- 36) 盛生倫夫, 藤井宏融, 菊地博達: ハロセンの代謝. 臨床麻酔, 4, 1125-1132 (1980).
- 37) Sutton, J., Harrison, G. A. & Hickie, J. B.: Accidental intravenous injection of halothane. *Br. J. Anaesth.*, 43, 513-520 (1971).
- 38) 稲田 豊, 池田和之, 森健次郎, 盛生倫夫, 尾山 力, 岩月尚文, 清水禮壽, 藤田達士, 鈴木 太, 三宅 有, 藤田昌雄, 長野政雄, 田中 亮, 下地恒毅, 山本道雄, 宮崎正夫, 吉矢生人, 小栗頭二, 吉武潤一, 後藤 裕: セボフルレンの臨床評価. 麻酔, 36, 866-874 (1987).
- 39) 野口良子: セボフルレン麻酔の小手術侵襲に及ぼす影響. 新潟医学会雑誌, 105, 805-818 (1991).
- 40) 奥富俊之, 渡辺 敏: 麻酔ガスモニター. 臨床麻酔, 16, 181-187 (1992).
- 41) VanWagenen, R. A., Westenskow, D. R., Benner, R. E., Gregonis, D. E. & Coleman, D. L.: Dedicated monitoring of anesthetic and respiratory gases by Raman scattering. *J. Clin. Monit.*, 2, 215-222 (1986).
- 42) 内藤裕史: 吸入麻酔薬の薬理. 新臨床麻酔学全書 (山本秀夫, 青地 修, 吉武潤一, 天羽敬祐, 森健次郎, 諏訪邦夫編), 第1版, 第2巻B, 49-59 頁, 金原出版, 東京, 1984.
- 43) 北村征治, 谷口見啓, 神原紀子, 濱生和加子, 松山雅美: 小児における高濃度セボフルラン導入と血中濃度に関する検討. 日本麻酔学会総会抄録, A413 (1994).
- 44) 松木美智子, 熊谷雄一, 藤田省三, 佐藤由紀夫, 羽柴正夫, 下地恒毅: イソフルラン麻酔深度と脳波・脳血流・脳代謝連関. 麻酔, 36, 1747-1753 (1987).

Clinical Forensic Toxicological Study of Volatile Anesthetics Utilizing Pulse Heating-GC-MS Method

Kazunori Saitoh, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **103**, 884—897 (1994)

Key words forensic toxicology, analysis of drugs and poisons, volatile anesthetics, pulse heating-GC-MS method, monitoring in anesthesia

Abstract

The pulse heating-gas chromatography-mass spectrometry (Py-GC-MS) method for determining four kinds of representative volatile anesthetics (halothane, enflurane, sevoflurane and isoflurane) in biological specimens was evaluated. It was also examined for clinical forensic toxicological usefulness. First, the standard plasma solutions or Tween 20 solutions in which these anesthetics were dissolved, were analysed by the Py-GC-MS method. For qualitative analysis, the mass spectra obtained from the standard solutions well corresponded to those of each standard sample. For quantitative analysis, each anesthetic concentration in the blood was linearly correlated with the peak heights with correlation coefficients ranging from 0.998 to 0.999. At the target concentration (15 μ g/ml), the recoveries of these anesthetics were between 97.5% and 104.2%. The within-run precision of the Py-GC-MS method showed slightly high variation coefficients between 6.9% and 11.6%. Second, using the Py-GC-MS method, the rabbit blood anesthetized with these four kinds of anesthetics was analysed. For qualitative analysis, mass spectra well corresponded to those of the standard samples. For quantitative analysis, the same blood specimens were analysed simultaneously by the conventional head space (HS)-GC-MS method for comparison. Data obtained by these two methods showed reasonable correlation coefficients ranging from 0.988 to 0.997. The Py-GC-MS method was then applied to the blood specimens taken from patients anesthetized with enflurane or sevoflurane during their operations. For qualitative analysis, mass spectra were very similar to those obtained from standard samples. For quantitative analysis, data from the clinical blood specimens were examined by Py-GC-MS method and HS-GC-MS method separately for comparison. Data from these two different methods showed a good relationship with correlation coefficients of 0.914 and 0.937 in enflurane and sevoflurane, respectively. During the anesthesia in operation, enflurane or sevoflurane concentrations in the blood obtained from patients showed a good parallel with the respective patients' vital signs. Next, the clinical blood specimens were stored at 20°C and -20°C for 1 to 365 days, and these samples were analysed by Py-GC-MS method. Data obtained from the samples stored at two different temperatures showed no significant differences. Enflurane collected from patients could still be detected 365 days later and sevoflurane 361 days later. These results indicate that the Py-GC-MS method is applicable to clinical analysis of several kinds of volatile anesthetics as well as to forensic toxicological screening of volatile drugs and poisons and that it can be used in intraoperative monitoring of volatile anesthetics.