

急性中毒医療におけるアセトアミノフェン検出キット®の臨床的有用性
—新潟市民病院 28 症例の調査より—

高山真理子,^{*,a} 藤澤真奈美,^a 堀 寧,^a 小田 明,^a
勝山新一郎,^a 広瀬保夫,^b 山崎佳苗,^c 若林広行^c

Clinical Usefulness of the Acetaminophen Detection Kit® in Treating Acute Poisoning
—Data from a Survey of 28 Cases Treated at Niigata City General Hospital—

Mariko TAKAYAMA,^{*,a} Manami FUJISAWA,^a Yasushi HORI,^a Akira ODA,^a
Shinichiro KATSUYAMA,^a Yasuo HIROSE,^b Kanae YAMAZAKI,^c and Hiroyuki WAKABAYASHI^c
^aDepartment of Hospital Pharmacy, ^bEmergency and Critical Care Medical Center, Niigata City General Hospital,
463-7 Syumoku, Chuo-ku, Niigata 950-1197, Japan, and ^cDepartment of Analytical Chemistry, Faculty
of Pharmaceutical Sciences, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences,
265-1 Higashijima Akiha-ku Niigata 956-8603, Japan

(Received June 20, 2007; Accepted October 2, 2007)

In acute poisoning caused by acetaminophen (*N*-acetyl-*p*-aminophenol, APAP), it is critical to predict the onset of delayed liver injury based on the prompt measurement of serum APAP level and to administer the antidote *N*-acetylcysteine (NAC) without delay as needed. However, all emergency medical facilities are not necessarily equipped with an expensive analytical instrument that allows prompt determination of APAP. Here, we tested the clinical usefulness of the Acetaminophen Detection Kit® (Kanto Chemical Co., Ltd.), which claims to rapidly detect APAP in serum using a simple procedure, by spectrophotometrically measuring the APAP concentration in 34 serum samples collected from 28 patients with acute APAP poisoning. The results showed that the correlation coefficient between the APAP value measured by the Acetaminophen Detection Kit® and that determined by the HPLC method was, at 0.888, not very high, but that the decision on whether to administer NAC based on the measured APAP level was consistent between the two analytical methods in 23 out of 25 patients. Also, the value obtained by the Acetaminophen Detection Kit® was equal to, or larger than, that obtained by the HPLC method, suggesting that it is unlikely that patients requiring NAC would be left untreated. These results indicate that the Acetaminophen Detection Kit®, with its ease and simplicity of use, is clinically useful in emergency medical facilities for which an expensive analytical instrument is not affordable.

Key words—acetaminophen; Detection Kit; *N*-acetylcysteine; poison

緒 言

アセトアミノフェン (*N*-Acetyl-*p*-aminophenol, 以下 APAP) は 1876 年に米国で合成され, 現在も世界中で用いられている代表的な解熱鎮痛剤である. 日本では 2006 年現在, APAP を含有する医療薬は 73 品目, 一般薬は 1512 品目が存在している.¹⁾ このように APAP は手に入り易いため, 過量服用する急性中毒の事例も多く, 日本中毒情報センターの 2006 年受信報告²⁾によると医薬品中毒 7659 件のうち APAP に関する問い合わせは 450 件 (内

訳: 医療用解熱鎮痛消炎剤 65 件, 医療用総合感冒剤 22 件, 一般用解熱鎮痛薬 64 件, 一般用感冒薬 299 件) と, 医薬品による急性中毒の 5.9% を占めている.

APAP の急性中毒では悪心, 嘔吐, 代謝性アシドーシス, 過呼吸, 全身倦怠感, 発汗, 体温低下などの初期症状がみられるが, 特に問題となるのは遅発性の肝障害である. 中毒が重症化した場合は 3–5 日後に肝壊死の状態となる.^{3,4)} この肝障害を予防するためには, APAP の毒性代謝物 *N*-アセチルパラベンゾキノニミンを解毒する *N*-アセチルシステイン (以下 NAC) の投与が有効であり, 早期に重症化を予測して NAC の投与を判断することが急性 APAP 中毒の治療において重要といえる.

^a新潟市民病院薬剤部, ^b新潟市民病院救命救急センター, ^c新潟薬科大学薬学部薬学科臨床薬剤治療学教室
*e-mail: yak_DI@hosp.niigata.niigata.jp

そしてこの肝障害発症の予測には Rumack-Matthew ノモグラム^{5,6)}が世界的に知られている。NAC 製剤であるアセチルシステイン内用液 17.6%「センジュ[®]」(千寿製薬^株)の添付文書には、ノモグラムが記載されており、血清中 APAP 濃度をノモグラムに当てはめて、NAC 投与推奨ラインより上である場合に NAC を投与するという判断ができる。一方、血清中 APAP 濃度の迅速定量ができない施設においては、APAP が 7.5 g 又は 150 mg/kg (体重) 以上の摂取が疑われる症例に NAC を投与する、すなわち推定服用量から NAC の投与を判断する方法も添付文書に記載されている。しかし、われわれは自施設の症例を基に推定服用量に基づく NAC の投与判断がノモグラムに基づく NAC の投与判断とどの位合致するのかを調査した結果、約半数が合致しなかった。⁷⁾したがって、より多くの救急医療施設で血清中 APAP 濃度の迅速定量が行われることが望ましい。

従来、血清中 APAP 濃度を定量するには蛍光偏光免疫測定法 (FPIC 法) や高速液体クロマトグラフ法 (HPLC 法) が汎用されている。しかし、これらは高価な専用分析機器が必要となり、すべての救急医療施設に配備されているとは限らない。一方、血清中 APAP の簡易検査法として販売されているアセトアミノフェン検出キット[®] (関東化学^株)⁸⁾は、安全性の高い試薬を使用し、迅速かつ簡便な操作で生体試料中の APAP を検出できることから、救急医療における有用性が期待される。アセトアミノフェン検出キット[®]の測定原理は古くから知られているインドフェノール法であり、APAP を加水分解後、生成した *p*-アミノフェノールからインドフェノール色素 (青色) を生じさせ、アセトアミノフェン検出キット[®]に同封される APAP 陽性コントロールと検体試料とを同時に反応させることで、目視的に APAP の存在を判定するものである。また、生じたインドフェノール色素の 600 nm における吸光度を測定することで定量分析にも応用できる。⁸⁾

今回、われわれはこのアセトアミノフェン検出キット[®]と安価で購入し易い分光光度計を用いて、実際の急性 APAP 中毒患者 28 症例 34 検体の血清中 APAP 濃度を定量し、HPLC 法による定量値と比較した。また、両方法の定量値を基に NAC の投与

判断についても比較し、アセトアミノフェン検出キット[®]の臨床上的有用性について検証したので報告する。

対象者及び方法

新潟市民病院薬剤部が薬毒物中毒の分析業務を開始した 1999 年 4 月から 2007 年 3 月の間に、APAP の服用後 4 時間以降 (APAP 大量服用時の消化管吸収は 4 時間で終了するとされる⁹⁾) に採血し、血清分離後 -40°C で凍結保存しておいた患者 28 症例、34 検体を調査に供した。

血清中 APAP の定量分析 アセトアミノフェン検出キット[®] (関東化学^株) はインドフェノール反応を応用した呈色反応により APAP を検出するキットである。血清に試薬 A を添加し遠心分離、加熱することにより、除タンパクと APAP の加水分解を行い、生成した *p*-アミノフェノールに試薬 B を添加することによりインドフェノール色素 (青色) を生じさせ、600 nm における吸光度を測定する。なお、試薬 A と B の成分は未公表である。⁸⁾ 吸光度の測定は UV mini1240 分光光度計 (島津製作所) を、データ解析は UV Data Manager Ver 1.02 (島津製作所) を用いた。

1 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$ の APAP 標準メタノール溶液を用いた検量線は吸光度 (ABS) = 0.002497 \times APAP 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) - 0.006414 の回帰直線が得られ、相関係数は 0.998 と良好であった。われわれは予備実験で APAP 標準溶液の溶媒に APAP を含まないボランティア健康人の血清と、メタノールとを用いて比較した。その結果、両溶媒の間で検量線には差がみられなかったため、入手と扱いが容易なメタノールを用いた。また、血清中 APAP の定量範囲は原著⁸⁾が指定する 10-200 $\mu\text{g/ml}$ とした。また、分析所要時間は 1 検体約 20 分であった。

次にアセトアミノフェン検出キット[®]と分光光度計による血清中 APAP 定量値が従来法による定量値と、どの程度相関するのか確かめる目的で、同一試料を UV 検出 HPLC 法¹⁰⁾を用いて定量した。本 HPLC 法の分析所要時間は 1 検体約 50 分であった。

結果及び考察

Figure 1 に急性 APAP 中毒患者 28 症例 34 検体

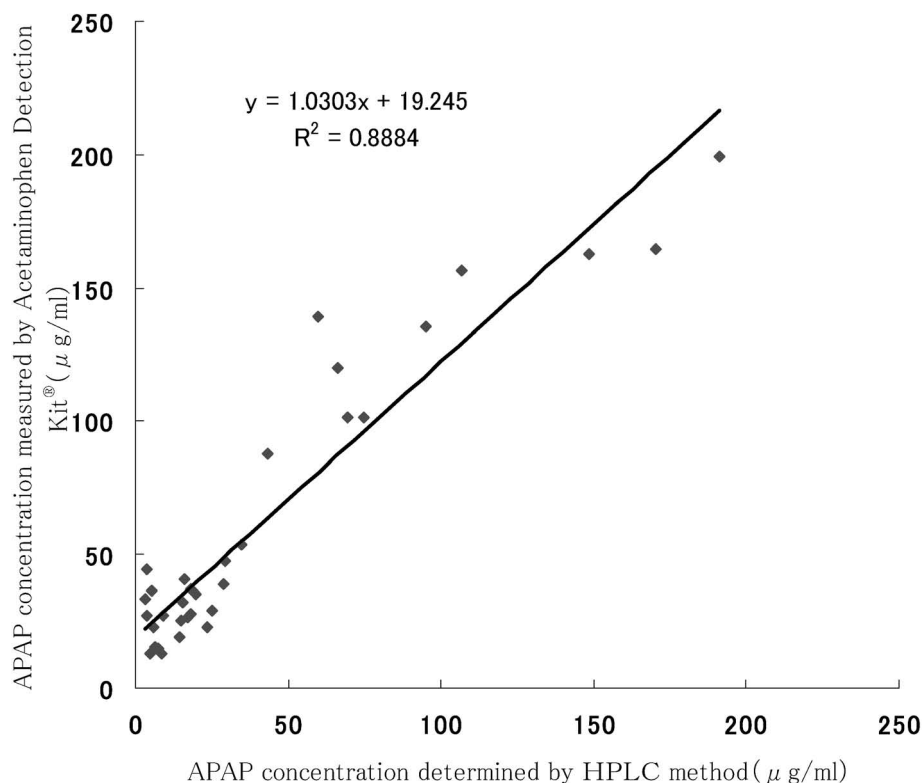


Fig. 1. Correlation between Serum APAP Concentration Measured by Acetaminophen Detection Kit® and the Concentration Determined by HPLC Method

Analysis was performed on 34 serum samples collected from 28 patients with acute APAP poisoning.

におけるアセトアミノフェン検出キット®と HPLC 法での APAP 定量値の相関関係を示す。両法の定量値は、相関係数は 0.888 と、定量分析値の相関性として良好とは言い難い結果であった。また、アセトアミノフェン検出キット®の定量値は、2 検体で HPLC 法での定量値と同等値、32 検体で HPLC 法での定量値より高い値を示した。アセトアミノフェン検出キット®の定量値が HPLC 法の定量値より高い傾向にあるのは、HPLC 法では血清中の APAP 未変化体を定量しているが、アセトアミノフェン検出キット®の場合、APAP に加えて APAP の代謝物、すなわち、グルクロン酸抱合体などを同時に検出したためと推察される。¹¹⁾

ところでアセトアミノフェン検出キット®により定量を行う過程で、試薬 B を添加したあとの検体が、経時的に発色が濃くなることに気が付いた。そこで、APAP 100 μg/ml の標準メタノール溶液 3 検体について、アセトアミノフェン検出キット®によりインドフェノール反応を行い、試薬 B を添加した直後、5、10、15、20、25、30 分後の 600 nm における吸光度を測定した。Figure 2 にこの吸光度の経時

変化を示す。反応溶液の吸光度の平均値は時間とともに大きくなり、15 分後には、直後の値に対して 2.38% 増加し、統計的有意差がみられた ($p = 0.013$)。アセトアミノフェン検出キット®の取扱説明書には「判定は試薬 B を添加してから 30 分以内に行ってください」と記載されており、これは恐らくインドフェノール反応が進み、発色が濃くなってしまったためであると思われる。本調査の結果より、測定は 15 分以内に行うことが望ましいとともに、呈色反応を飽和させて止めるような方法を考える必要がある。

次にアセトアミノフェン検出キット®による NAC の投与判断と、HPLC 法による NAC の投与判断とがどの位合致するのかを調査した。対象は、APAP 服用後経過時間、あるいは推定服用量が不明な 3 症例を除外した 25 症例を用いた。Figure 3 にアセトアミノフェン検出キット®と HPLC 法による APAP の定量値と NAC の投与判断の比較を示す。両法での APAP 服用後経過時間における血清中 APAP 濃度をプロットし、同一検体の定量値を○で囲んで示してある。その結果、アセトアミノフ

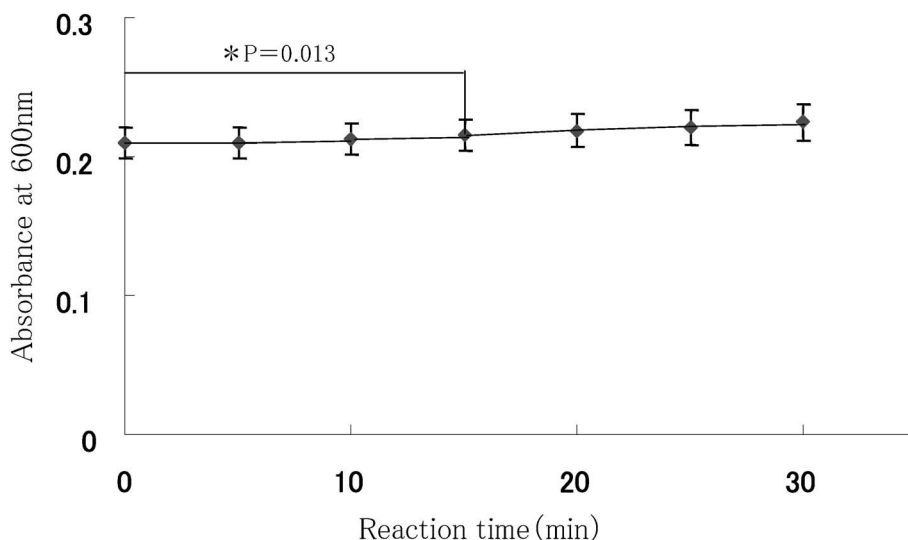


Fig. 2. Time-course Change in Absorbance of Standard APAP Solution (100 µg/ml) in Methanol after Initiating Reaction with Acetaminophen Detection Kit® (n=3)

*Level of significance: 0.05 (t-test).

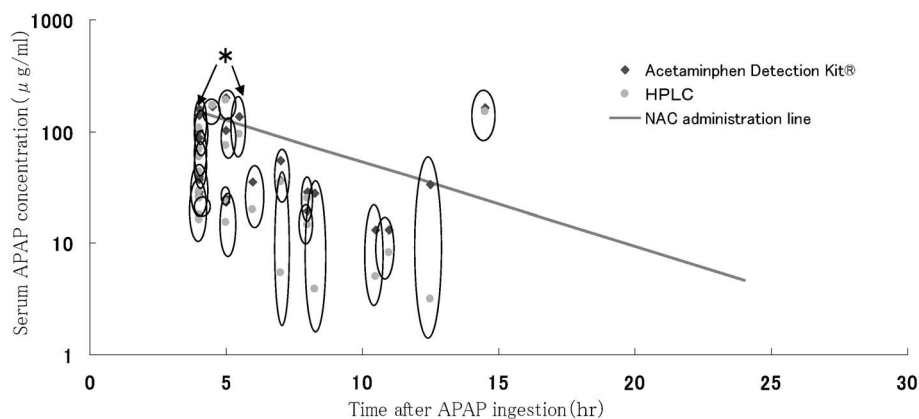


Fig. 3. APAP Values Measured by Acetaminophen Detection Kit® and by HPLC Method, and Their Relationship with the Decision to Administer NAC

Values of identical samples measured by the Acetaminophen Detection Kit® and by the HPLC method were circled. In 23 of 25 patients, serum APAP concentration values measured by the Acetaminophen Detection Kit® and by the HPLC method were both above or both below the NAC administration line, showing consistency in the decision to administer NAC. In 2 patients (*), serum APAP concentration values measured by the Acetaminophen Detection Kit® and by the HPLC method straddled the NAC administration line, resulting in different decisions on whether to administer NAC.

エン検出キット®による NAC の投与判断は 25 症例中 23 症例で HPLC 法による判断と合致した。また、合致していなかった 2 症例の定量値も NAC 投与ライン付近の微妙な差であり、これはオーバートリッジで治療を行う救急医療においては、現実的には NAC を投与すると考えられる。

急性 APAP 中毒では、肝障害の発症を予測して、早期に NAC を投与する必要がある。過去に自施設の症例を基に服用量情報と血清中 APAP 定量値とで NAC の投与判断がどの位合致するのかを調査した結果、約半数の症例が合致せず、その中には、

NAC の投与が必要な患者に投与されない可能性がある症例もいた。⁷⁾ アセトアミノフェン検出キット®を用いて NAC の投与を判断した場合は、APAP 定量値は、HPLC 法での定量値と同等、若しくは高い値を示すが、これは NAC が必要な患者に投与されずに、肝障害が重症化する危険性がない。また、NAC が不必要な患者に投与してしまったとしても、アセチルシステイン内用液 17.6% 「センジュ®」の添付文書によると、NAC 自体が引き起こす副作用は嘔気などの胃腸障害程度である。

以上の結果から、アセトアミノフェン検出キッ

ト®はその簡便性・利便性の利点も含めて、高価な分析機器を配備できない救急医療施設において、臨床上の有用性があると思われる。

REFERENCES

- 1) “Nihon Iyakuhsinsyu DB”, Jiho, Tokyo, 2006.
- 2) Nihon Tyudoku Jyoho Senter., *Tyudoku Kenkyu*, **20**, 159–189 (2007).
- 3) Matthew J. E., “Ellenhorn’s Medical Toxicology,” 2nd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1997, pp. 180–195.
- 4) Kent R. O., “Poisoning & Drug Overdose,” 3rd ed., Appleton & Lange, Connecticut, 1999, pp. 62–65.
- 5) Rumack B. H., Matthew H., *Pediatrics*, **55**, 871–876 (1975).
- 6) Smilkstein M. J., Bronstein A. C., Linden C., Augenstein W. L., Kulig K. W., Rumack B. H., *Ann. Emerg. Med.*, **20**, 1058–1063 (1991).
- 7) Takayama M., Nakajima M., Fujisawa M., Hori Y., Isogai T., Oda A., Katsuyama S., Hirose Y., Yoshioka T., *Nihon Byoin Yakuzaisikai Zasshi*, **41**, 720–722 (2005).
- 8) Yokoyama A., Namera A., Yashiki M., Kurihara M., *Tyudoku Kenkyu*, **16**, 323–327 (2003).
- 9) Kuroki Y., “Kaiteiban Syourei De Manabu Tyudukujiko To Sono Taisaku,” Jiho, Tokyo, 2000, pp. 121–126.
- 10) Hori Y., Iwasaki Y., Kuroki Y., Komiyama Y., Nakatani T., Namera A., *Tyudoku Kenkyu*, **15**, 385–390 (2002).
- 11) Yasojima M., Namera A., Yashiki M., Imamura T., Goda B., Iwasaki Y., Ohtani M., Kojima T., *Kyukyu Igaku*, **24**, 989–992 (2002).