

イムノクロマト法を用いた薬物検査キットの評価

藤井 友和*、大類 仁*、佐貫 薫*、倉嶋 直樹*、池原裕可里*

Evaluation of Drug Test Kit based on Immuno-Chromatography

Tomokazu FUJII*, Hitoshi ORUI*, Kaori SANUKI*, Naoki KURASHIMA* and Yukari IKEHARA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan

To raise the precision of screening for illegal drugs in the control site of Customs, as a technique to reinforce simple chemical reagents which uses color reaction, in this study we examined the detection limit concentration, cross reaction (false reaction), etc. of a drug test kit based on the immuno-chromato method. Any of the test kits for methamphetamine, amphetamine, MDMA and opiates were able to detect the target with high sensitivity and selectively, and the test kit for cannabis was able to detect cannabis selectively although sensitivity was low. It is considered that the drug test kit based on the immuno-chromato method is very useful in the control site of Customs.

1. 緒 言

税関の取締・検査現場で発見された、覚せい剤や麻薬、大麻等の「不正薬物」と嫌疑される物品については、呈色反応を利用した試験（呈色試験）により、不正薬物か否かのスクリーニングを行っている。しかし、呈色試験は不正薬物以外の物質にも陽性を示す場合があるため、呈色試験を補完する方法の導入が求められている。

近年、特定の成分に対する選択性と感度の高さから、免疫学的測定法（イムノアッセイ）を利用した簡便な検査法が注目されている。イムノアッセイとは、測定したい物質（抗原）を動物の体内に入れて抗体を作らせ、それを取り出して検査キットに組み込み、抗原と抗体が特異的に結合することを利用して、検査対象物中の抗原の有無を判定する方法であり、食品中のアレルゲン検査や尿中の不正薬物の検査等の幅広い分野で利用されている。

尿中の薬物検査キットについては、イムノアッセイとクロマトグラフィーを併用したイムノクロマト法が主に用いられており、操作の簡便さと判定の容易さから、その市場は拡大している。こ

れらの尿検査用検査キットが税関の取締現場で薬物判定のための検査手段として使用することができれば、検査精度の更なる向上が期待される。

そこで本研究においては、市販のイムノクロマト法による薬物検査キットについて、検出限界濃度、誤反応（交差反応）について調査し、税関での使用に有効か否かを検討したので報告する。

2. 実 験

2. 1 薬物検査キット

Fastest II Drug Screen Dipstick Test : Branan Medical Corporation 製 (USA)

（メタンフェタミン用、アンフェタミン用、MDMA 用、あへん用及び大麻用）

2. 2 試料

メタンフェタミン用、アンフェタミン用、MDMA 用及びあへん用検査キットで使用した試料を、Table 1 に示す。大麻用検査キットで使用した試料を、Table 2 に示す。

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

Table 1 Samples for methamphetamine, amphetamine, MDMA and opiates test kit

Classification	Sample			
Drugs (20 kinds)	<i>d</i> -Amphetamine sulfate	Heroin	Methamphetamine hydrochloride	
	Buprenorphine hydrochloride	Ketamine	<i>dl</i> -Methylephedrine	
	Cannabis resin	Lefetamine	Morphine hydrochloride	
	Codein phosphate	MBDB	<i>dl</i> -Norephedrine	
	Dihydrocodein phosphate	MDA	Opium	
	Ethylmorphine hydrochloride	MDMA	Phentermine	
	Ephedrine hydrochloride	Mefenorex hydrochloride		
Chemical reagent for general studies (41 kinds)	Acetylsalicylic acid	3-Hydroxy tyramine hydrochloride	Procaine	
	<i>p</i> -Acetamide phenol	Ibuprofen	<i>dl</i> -Synephrine	
	<i>dl</i> -Adrenalin	Isobutyl benzene	Toluene	
	4-Amino antipyrine	Mephentermine	Tyramine	
	1-Amino-4-phenyl butane	2-(4-Methoxyphenyl) ethylamine	Acid dye	
	3-Amino-1-phenyl butane	Methylamine hydrochloride	Basic dye	
	Aniline	3,4-Methylenedioxy phenylethylamine hydrochloride	Direct dye	
	Benzylamine	<i>N</i> -Methylphenylethylamine	Disperse dye	
	Caffeine	(<i>R</i>)-(+)- β -Methylphenylethylamine	Reactive dye	
	<i>dl-p</i> -Chloroamphetamine hydrochloride	<i>l-a</i> -Narcotine	Vat dye	
	Dehydroacetic acid	5-Nitrobarbituric acid	Pigment	
	Dextromethorphan	Papaverine hydrochloride		
	<i>p</i> -Dimethylaminobenzaldehyde	<i>l</i> -Phenylalaninol		
	3,4-Dimethoxy phenylethylamine	2-Phenylethylamine		
	Ethylamine hydrochloride	3-Phenylpropylamine		
Commercial medical supplies (6 kinds)	Contac	PL granule	Pavulon S gold fine grain	
	Kefral	Yin qiao san	Shoseiryuto	
Foods (4 kinds)	Worcester sauce	Seaweed tea (Powder)	Soy sauce	Poppy seed (Bean-jam bread)
Amino acids (27 kinds)	β -Alanine	Glutamine	<i>l</i> -Ornithine hydrochloride	
	<i>l</i> -Alanine	<i>d</i> -Glutaminic acid	<i>l</i> -Phenylalanine	
	4-Aminobutyric acid	Glycine	(L)-(-)-Proline	
	(<i>R</i>)-(-)-2-Aminobutyric acid	<i>l</i> -Histidine	<i>l</i> -Serine	
	<i>l</i> -Arginine	<i>l</i> -Hydroxyproline	<i>l</i> -Theanine	
	<i>dl</i> -Asparagine	<i>l</i> -Isoleucine	(L)-(-)-Threonine	
	<i>dl</i> -Aspartic acid	<i>l</i> -Methionine	<i>dl</i> -Tryptophan	
	<i>l</i> -Cysteine	<i>l</i> -Leucine	<i>l</i> -Tyrosine	
	<i>l</i> -Cystine	<i>l</i> -Lysine hydrochloride	<i>l</i> -Valine	

Table 2 Samples for cannabis test kit

Classification	Sample				
Drugs (2 kinds)	Cannabis (Keep in CCL)		Seeds of cannabis		
Cigarette (5 kinds)	Cabin	Hi-Lite	Hope	Seven stars	Marlboro
Tea (21 kinds)	Banaba tea	Ginkgo tea	Mulberry leaf tea	Sri Lankan green tea (with lemon)	
	Bear bamboo grass tea	Green tea	Persimmon leaf tea	Taiwanese tea	
	Dokudami tea	Job's tears tea	Psidium tea	Tian Cha	
	Eucommia ulmoides tea	Loquat tea	Red tea		
	Field horsetail tea	Masala tea	Rooibos tea		
	Gimnema sylvestra tea	Mate tea	Sri Lankan green tea (with jasmine)		
Foods (3 kinds)	Seeds of cannabis (in seven-spice chili pepper)		Cannabis beer (not drug)		Toasted laver

2. 3 測定

2. 3. 1 反応限界濃度及び交差反応の検討

2. 3. 1 (1) メタンフェタミン用、アンフェタミン用、MDMA 用及びあへん用検査キット

10 mg/ml の濃度で試料を蒸留水に溶解又は分散させたものを、測定試料溶液の原液とした。

検査キットの試験方法は、試料原液に検査キットの先端を 10 秒浸漬した後、3 分間水平に静置し、判定ラインの有無により該否を判定した。

測定試料原液で陽性反応が出た場合は、原液を 10 倍に希釈して再び検査キットによる試験を行った。この操作を検査キットが陰性を示すまで繰り返した。



(a) The result is positive when there is a red line in the "C" region and no line in the "T" region.



(b) The result is negative when there are two red lines, one in the "C" region and the other in the "T" region.

Fig.1 Examples of judgment: (a) positive result, (b) negative result

2. 3. 1 (2) 大麻用検査キット

試料 100 mg に 2 %炭酸ナトリウム水溶液を 1 ml 加え、測定試料溶液の原液とし、2. 3. 1 と同様に検査キットが陰性反応を示すまで試験を繰り返した。

2. 3. 2 溶媒の影響の検討

溶媒に蒸留水又は水道水を用いた場合における目的薬物の検出限界濃度について、比較検討した。

3. 結果及び考察

3. 1 反応限界濃度及び交差反応の検討結果

3. 1. 1 メタンフェタミン用検査キット

結果を Table 3 に示す。なお、10 mg/ml で陰性のものは記載していない（以下 3.1.4 まで同じ）。目的成分であるメタンフェタミンは、100 ng/ml の濃度で選択的に検出できた。10 µg/ml 以上の濃度では、主にメタンフェタミンの類似構造を有するアミン系化合物に対し、交差反応が確認された。

Table 3 Minimum concentration of detection using methamphetamine test kit

Concentration	Sample
100 ng/ml	Methamphetamine hydrochloride
10 µg/ml	MDMA PMMA
100 µg/ml	Ephedrine hydrochloride MBDB Mephentermine
1 mg/ml	<i>dl</i> -Methylephedrine MDA <i>dl</i> -Synephrine Procaine <i>N</i> -Phenylethylamine
10 mg/ml	<i>d</i> -Amphetamine sulfate Phentermine Mefenorex hydrochloride 2-Phenylethylamine Ethylamine Diethyl amine Triethyl amine 3,4-Dimethoxy phenylethylamine 2-(4-Methoxyphenyl) ethylamine (<i>R</i>)-(+)- β -Methylphenylethylamine Tyramine

3. 1. 2 アンフェタミン用検査キット

結果を Table 4 に示す。目的成分であるアンフェタミンは、1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で選択的に検出できた。100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では、主にアンフェタミンの類似構造を有するアミン系化合物に対し交差反応が確認された。

Table 4 Minimum concentration of detection using amphetamine test kit

Concentration	Sample
1 $\mu\text{g/ml}$	<i>d</i> -Amphetamine sulfate
100 $\mu\text{g/ml}$	MDA Tyramine
1 mg/ml	Phentermine 2-Phenylethylamine 3-Amino-1-phenylbutane 3,4-Dimethoxy phenylethylamine 2-(4-Methoxyphenyl) ethylamine <i>l</i> -Phenylalaninol
10 mg/ml	MDMA Ethylamine Diethyl amine Triethyl amine 2-(4-Chlorophenyl) ethylamine

3. 1. 3 MDMA 用検査キット

結果を Table 5 に示す。目的成分である MDMA は、10 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で選択的に検出できた。100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では、主に MDMA の類似構造を持つ化合物に対し、交差反応が確認された。

Table 5 Minimum concentration of detection using MDMA test kit

Concentration	Sample
10 $\mu\text{g/ml}$	MDMA
100 $\mu\text{g/ml}$	MDA MBDB
1 mg/ml	Methamphetamine hydrochloride Mefenorex hydrochloride 2-Phenylethylamine 3-Phenylpropylamine 1-Amino-4-phenylbutane 3-Amino-1-phenylbutane 2-(4-Chlorophenyl) ethylamine 2-(4-Methoxyphenyl) ethylamine 3,4-Methylenedioxy phenylethylamine hydrochloride <i>N</i> -Methylphenylethylamine (<i>R</i>)-(+)- β -Methylphenylethylamine
10 mg/ml	<i>d</i> -Amphetamine sulfate Ephedrine hydrochloride Phentermine Ethylamine Diethyl amine Triethyl amine 3,4-Dimethoxy phenylethylamine <i>l</i> -Phenylalaninol Benzylamine Tyramine

3. 1. 4 あへん用検査キット

結果を Table 6 に示す。あへん並びにあへん中の麻薬成分であるモルヒネ、エチルモルヒネ、コデイン、ヘロイン及びジヒドロコデイン（以下、あへん類と略記する）は、100 ng/ml～1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で選択的に検出できた。

市販風邪薬の一つが陽性反応を示したが、これは成分として含有する、ジヒドロコデインに反応したためと考えられる。その他、1 mg/ml 以上の濃度で、アミン系化合物に対し交差反応を示した。

Table 6 Minimum concentration of detection using opiates test kit

Concentration	Sample
100 ng/ml	Opium Morphine hydrochloride Ethylmorphine hydrochloride Codein phosphate
1 $\mu\text{g/ml}$	Heroin Dihydrocodein phosphate
100 $\mu\text{g/ml}$	"Pavulon S gold fine grain"
1 mg/ml	Triethyl amine
10 mg/ml	Ethylamine Diethyl amine Procaine

3. 1. 5 大麻用検査キット

結果を Table 7 に示す。なお、100 mg/ml で陰性のものは記載していない。大麻以外の試料について交差反応を示すものは無く、目的物質である大麻を選択的に検知できた。

Table 7 Minimum concentration of detection using cannabis test kit

Concentration	Sample
1 mg/ml	Cannabis resin (The surface)
10 mg/ml	Cannabis resin (The inside)
100 mg/ml	Cannabis seed (Gathered by cannabis grass)

3. 2 溶媒の影響の検討結果

水道水を使用した場合の結果を Table 8 に示す。溶媒を水道水とすると、蒸留水を使用した場合と比較して感度が低下した。

3. 3 総括評価

今回使用した検査キットは主に尿検査用のものであるが、大麻用検査キット以外は目的成分の水溶液に対しても高い感度を示した。

抗原抗体反応では、類似構造を有する化合物に対して交差反応を示すことが一般的に指摘されているが、本研究で使用した検査キットにおいても同様の傾向を示した。特に高濃度領域では、非該当薬物を薬物であると誤認する可能性が高いことが示唆された。また、メタンフェタミン用、アンフェタミン用及び MDMA 用の検査キットでは、チラミン等のいわゆる腐敗アミン類に対しても交差反応を示した。従って、腐敗した又は腐敗のおそれのある貨物を検査対象とする場合は、注意を要すると考えられる。

Table 8 Concentration of detection limit dissolved in distilled water and tap water

Test kit	Reagents	Concentration of detection limit	
		Distilled water	Tap water
Methamphetamine test kit	Methamphetamine hydrochloride	100 ng/ml	10 µg/ml
Amphetamine test kit	<i>d</i> -Amphetamine sulfate	1 µg/ml	10 µg/ml
MDMA test kit	MDMA	10 µg/ml	10 µg/ml
Opiates test kit	Heroin	1 µg/ml	1 µg/ml
	Morphine hydrochloride	100 ng/ml	1 µg/ml
	Codein phosphate	100 ng/ml	100 ng/ml
	Ethylmorphine hydrochloride	100 ng/ml	100 ng/ml
	Opium	100 ng/ml	10 µg/ml

いずれの検査キットにおいても、低濃度では目的成分を選択的に検出できることから、水溶液の濃度を適切に調整することが重要である。従って、今後は税関の取締現場における本検査キットの良好な使用方法を確立する方針である。

なお、大麻用検査キットについては、他の薬物の検査キットと比較して感度が低かった。これについては様々な原因が考えられる。しかしながら、大麻を選択的に検出できたことから、税関の取締現場に有効な手法と考えられる。

4. 要 約

本研究では、税関の取締現場における不正薬物のスクリーニングの精度を高めるため、呈色反応を利用した簡易試薬を補強する手法として、イムノクロマト法による薬物検査キットの検出限界濃度、交差反応等について検討した。メタンフェタミン用、アンフェタミン用、MDMA 用及びあへん用のいずれの検査キットにおいても目的成分を高い感度で選択的に検出でき、大麻用検査キットについては、感度は低いながら大麻を選択的に検出できた。ゆえにイムノクロマト法を用いた薬物検査キットは、税関の取締現場において非常に有用であると考えられる。