

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17416

研究課題名（和文）飲酒後の吸収相における呼気中アルコール動態モデルの検討

研究課題名（英文）Study of a model of breath alcohol pharmacokinetics during the absorption phase after drinking

研究代表者

姫宮 彩子（白鳥彩子）（Himemiya-Hakucho, Ayako）

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：90593301

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）： 飲酒実験では、呼気採取直後では口腔内等に残留するアルコール（Alc）が多いが、時間経過にしたがって吸収過程に伴って上昇した循環中（血中）Alcが呼気中へ排泄される分が増加するため、呼気中Alc濃度（BrAC）は指数関数的に減少した後、10～20分程度の時点で増加に転じる挙動を示した。一方、洗口実験では、BrACは採取直後から指数関数的に減少して10～20分程度で十分に低下した。両実験のBrAC値の差をとった曲線は、血中Alc動態における吸収相を考慮したモデル式に合うと考えられた。今後引き続きデータの集積を継続し、完了次第、ALDH2遺伝子型を考慮した動態モデルの検討を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、アルコール関連の法的事案の鑑定の主な対象は血中動態の消失相であった。‘呼気中動態の吸収相’の動態モデルを検討した報告は認められず、アルコールの真の動態を明らかにしているとは言い難い。本研究の達成により、実務上解釈が困難とされてきた呼気吸収相を含めたアルコール呼気中動態の解明に近づくことができれば、より詳細な助言・鑑定が可能になると期待される。

また、呼気中動態の吸収相はアルコールの体内動態学において解明が遅れている一方、法医鑑定実務においてその必要性が高まっている。本研究は、飲酒に関わる法的事案の解決、あるいは減少に寄与する波及効果が生まれる可能性も期待される。

研究成果の概要（英文）： We analyzed data on breath alcohol concentrations (BrAC). In the alcohol consumption experiments, the residual alcohol in the oral cavity was high immediately after the breath samples are sampled, and the elevated circulating alcohol during absorption, which were excreted into the breath, increased as time passes. Therefore, the whole kinetics showed the BrAC decreased exponentially with time and turned to increase when 10 to 20 minutes had passed. In the mouthwash experiments, exponential decreases from the start of breath collections, and significant decreases were observed after about 10 to 20 minutes. The curves calculated by taking the difference in the values of BrAC obtained from both experiments were considered to fit the first-order absorption kinetic model used for the estimation of blood alcohol concentrations.

We plan to continue to collect data and to evaluate the pharmacokinetic model of BrAC that takes account of ALDH2 genotypes.

研究分野：法医学・アルコール医学

キーワード：呼気中アルコール濃度 吸収相 ALDH2遺伝子型 飲酒実験 洗口実験

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国では、飲酒運転を含む悪質な自動車運転に対して、道路交通法や刑法の度重なる改正によって厳罰化が進んできた。飲酒運転の取り締まりでは、簡便であることから、血液ではなく、主に呼気検査が行われている。呼気中に排泄されたアルコールは、血中濃度を概ね反映するため、呼気検査結果を血中濃度値に換算することで酔酩度等の判断が可能となる。

アルコールの血中動態は吸収相、直線的・曲線的消失相からなり、Widmark らによって直線的消失相の濃度推定式 ($C = C_0 - \beta_{60} \times t$) が提唱され、現在鑑定に広く用いられている。また、Fujimiya らや Uemura らは吸収相の濃度推定式 ($C = \text{Dose} / (Vd / F) \times [1 - \exp(-ka \times t)] - \beta_{60} \times t$) を提唱しており、我々はこれを使用して吸収相を考慮した鑑定も行ってきた。

一方で、呼気動態においては、吸収相では、口腔内にアルコールが残留するため、検査結果の解釈を複雑化させる。吸収相、特に飲酒後早期の呼気中動態は、残留アルコールと、吸収過程に伴って上昇し呼気中へ排泄される循環中アルコールが混在したものになっていると予想されるが、これを動態モデルとして表すことが可能であるか否か検討した研究はこれまでなく、吸収相の呼気検査結果を解釈するためのエビデンスに乏しい現状にあった。実務上解釈が困難とされてきた呼気の吸収相を含めたアルコール呼気動態の全容を解明することで、ある検査値が吸収相のものなのか、消失相のものなのか、あるいは飲酒の判断は困難であるのか、などより詳細な鑑定が可能になるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、真のアルコール呼気動態モデルを完成させることで、法律的事案への助言や鑑定へ寄与することである。

3. 研究の方法

本研究では、本学の臨床研究倫理審査の承認後、健康成人を対象に以下の実験を行った。

1. 飲酒実験—アルコール水を飲酒した直後から、経時的に呼気を採取。

2. 洗口実験—アルコール水を口に含むのみで吐き出した直後から、経時的に呼気を採取。

それぞれの呼気アルコール濃度を測定し、アルコール体質 (*ALDH2* 遺伝子多型) 別に動態の特徴を調べ、飲酒動態から洗口動態 (残留アルコールの影響) を差し引いた「真」の吸収期の動態の検討を試みる。詳細は以下の通りである。

【対象者】1 合程度の飲酒経験のある健康成人 (性別問わず、BMI で標準体重の範囲) とし、*ALDH2* 遺伝子型の *1/*1 型と *1/*2 型を可能な限り同程度集める。2 種類の実験について、それぞれ 3 種類のアルコール水を用いた実験を実施する。各群の症例数は 10 名とし、全体で 120 名 (2 多型×2 実験×3 濃度×10 名分) の参加を目標とした。

【方法】

1) *ALDH2* 遺伝子多型検査

測定には GeneFields-SNP (Alcohol) (KURABO) を用いる。Sampling Loop で対象者の口腔内粘膜を擦過し、Lysis Buffer 中に懸濁した。懸濁液をプライマー (PCR Oligo Mix) 等に混合してサーマルサイクラーで PCR 法を行い、*ALDH2* 遺伝子多型を含む領域 (rs671) の増幅を行った。次に PCR 産物に DNA Ligase・CLR (Cycling Ligation Reaction) Oligo Mix 等を混合しサーマルサイクラーで CLR 増幅した。CLR 産物と Coloring Buffer の混合液に DNA strip を入れ、テストエリアの検出ラインを読み取り、*ALDH2* 遺伝子多型を判定した。

なお、同キットは研究期間中に販売終了したため、その後は、採取した口腔内粘膜検体を一般社団法人生命科学教育研究所 (大阪) に送付し、検査および判定を委託した。

2) 実験

各実験に用いるアルコール水は WILKINSON VODKA40 度 (ニッカウキスキー、アサヒ) を使用して、(I) 0.01g/kg 体重、(II) 0.3g/kg 体重あるいは (III) 0.5g/kg 体重の純アルコールを含み、総量 180mL になるように水で調整した。

2-1) 実験 1—飲酒実験

飲酒前の呼気ガスを採取した後、アルコール水を 5 分程度で摂取してもらった。摂取終了時点、その 30 秒後、1、2、3、4、5、6、7、8、10、12、15 分後、以降は 5 分毎に、60 分後からは 10 分毎に、120 分目からは 20 分毎にアルコール濃度が正常範囲内に低下するまで呼気バッグを用いて呼気ガスを採取した。バッグ中のガスをシリンジで 5mL 吸引後、高感度ガスクロマトグラフ (エフアイエス株式会社、大阪) に注入し、アルコール濃度を測定した。

2-2) 実験 2—洗口実験 (残留アルコール動態をみる)

洗口前の呼気ガスを採取した後、アルコール水を 5 分程度かけて、口腔内保持を数秒行ったら吐き出すことを繰り返してもらった。全量を吐き出した時点から、2-1 と同様に呼気ガスを採取し、アルコール濃度を測定した。

3) 解析

各実験の測定データを解析し、*ALDH2* 遺伝子型別およびアルコール水の濃度別に濃度推移曲

線を算出した。データ集積が完了次第、薬物動態パラメーターを算出してアルコール体質 (*ALDH2* 遺伝子多型) 別に動態の特徴を調べる。また、カーブフィッティングにてそれぞれの濃度推移曲線を探査し、飲酒動態から洗口動態 (残留アルコールの影響) を差し引いた '真の吸収期の動態' モデル検討を試みる。

4. 研究成果

ALDH2 遺伝子型別およびアルコール水の濃度別に、呼気中アルコール濃度データを解析したところ、飲酒実験による呼気中アルコール動態では、口腔内等に残留するアルコールを反映すると考えられる相と、吸収過程に伴って上昇した循環中アルコールが呼気中に排泄したと考えられる相が混在して現れていた。呼気採取直後では前者によるアルコールの割合が多いが、時間経過にしたがって後者によるアルコールの割合が増加するため、動態曲線全体としては、時間経過に伴って呼気中アルコール濃度が指数関数的に減少する過程中、10~0分程度の経過時点で増加に転じる挙動を示した。一方、洗口実験による呼気中アルコール動態では、呼気採取開始から呼気中アルコール濃度が指数関数的に減少し、10~20分程度で十分な低下が認められた。助成期間中には、飲酒実験のデータ集積を終え、洗口 (口腔暴露) 実験のデータは集積途上であるが、それぞれの実験から得られた呼気中アルコール濃度値の差をとった曲線は、血中アルコール濃度における吸収相を考慮した動態モデル式 $C = \text{Dose} / (Vd / F) \times [1 - \exp(-ka \times t)] - \beta_{60} \times t$ に合うと考えられた。今後も引き続きデータの集積を継続し、完了次第、*ALDH2* 遺伝子型を考慮した動態モデルの検討を行う予定である。

<引用文献>

- ①八尋光秀、飲酒運転事故と道路交通法等の改正を中心とする法的取り組み、日本アルコール・薬物医学会雑誌、46巻、2011年、60-66
- ②Jones AW, Variability of the blood: breath alcohol ratio in vivo, J Stud Alcohol., Vol. 39, 1978, 1931-1939
- ③Widmark EMP, Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung, Wien-Berlin, Urban und Schwarzenberg, 1931
- ④Jones AW, Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework, Forensic Sci Int., Vol. 200, 2010, 1-20
- ⑤Fujimiya T, Fukui Y, Komura S, Pharmacokinetics of ethanol drinking - absorption kinetics and first-pass effect. Jpn J Legal Med., Vol. 49, 1995, 92-103
- ⑥Uemura K, Fujimiya T, Ohbora Y, Yoshida K, Individual differences in the kinetics of alcohol absorption and elimination: A human study, Forensic Sci Med Pathol., Vol.1, 2005, 27-30
- ⑦Himemiya-Hakucho A, Fujimiya T, Pharmacokinetic analyses using absorption kinetics in low-alcohol dose cases of drunken driving, Leg Med. (Tokyo), Vol. 26, 2017, 98-101

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 姫宮彩子
2. 発表標題 法医学から臨床・社会への貢献をめざすアルコール薬物動態研究
3. 学会等名 第56回日本アルコール・アディクション医学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 姫宮彩子
2. 発表標題 20年後のアルコール関連問題と法医学
3. 学会等名 第104回日本法医学会全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 姫宮彩子、藤宮龍也
2. 発表標題 少量飲酒時のアルコール初回通過効果と呼気アルコール動態への影響
3. 学会等名 第38回アルコール医学生物学研究会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------