

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月1日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590749

研究課題名（和文） 病態が薬毒物の体内動態に与える影響

研究課題名（英文） Effects of patho-physiological changes on the toxicokinetics of drug and chemicals.

## 研究代表者

木下 博之（KINOSHITA HIROSHI）

香川大学・医学部・教授

研究者番号：00284357

## 研究成果の概要（和文）：

アルコール嗜好性の異なるラットモデルでは、エタノール投与後の血中コルチコステロン濃度に有意な差はみられなかった。また、覚せい剤（メタンフェタミン）の繰り返し投与は短期間でも体重や食餌摂取量に影響した。

実際の剖検例での濃度測定とその解析を行ったところ、吸収期に死亡した事例では、通常状態と異なる体内分布をとることや、特に大量服用例では消化管内での残存量の評価が重要であることを明らかにした。

## 研究成果の概要（英文）：

There was no difference of plasma corticosterone concentration between HAP (high alcohol preferring) and LAP (low alcohol preferring) rats following ethanol administration. We observed significant lowering of body weight gain, due to the decreased food intake and elevation of plasma corticosterone concentration following repeated methamphetamine administration, even in the short term.

We observed the different distribution patterns compare to the regular condition, from the analysis of drug concentrations in poisoning cases. We concluded that it is important to consider the residual amount of the drugs in the gastrointestinal tract for the toxicological evaluation in massive ingestion case.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学、法医学

キーワード：薬毒物、体内動態、ストレス、病態、エタノール

## 1. 研究開始当初の背景

法医学領域では様々な薬毒物の関連する事

例にしばしば遭遇し、実務でも飲酒をはじめ、各種薬物の過剰摂取事例などを取り扱うこと

がある。その際には得られた結果から、事件や事故が発生した時点での薬物の体内濃度を評価し、その時点での行動能力についての評価を行うことも少なくない。薬毒物の吸収・分布・代謝・排泄といった体内動態は、動物実験やコンピュータを用いたシミュレーションにて推測することがある程度可能であるが、これらの実験やシミュレーションを行う際のパラメーターは侵襲や体質、個人差等を排除した状態でのデータを基礎としている。そのため、法医学領域の事例にみられる非生理的な状態が薬物の体内動態に与える影響や、生体にとってストレスとなる様々な要因、さらに代謝能力を含めた薬物に対する感受性差といった点については十分検討されていない。そこで、本研究では実験的に作成した様々なモデル病態動物を用いて、侵襲下の生体における薬物の体内動態やストレスの要因、さらに感受性差について検討する必要があると思われる。

## 2. 研究の目的

本研究では、病態モデル動物を用い、生体にとってストレスとなる様々な要因および代謝能力を含めた薬物に対する感受性差といった点についての検討を行う。具体的には、取り扱う頻度の高いアルコールに関して、アルコール嗜好性とエタノール投与後のグルココルチコイド分泌についての検討を行う。

非生理的な状態として、様々な侵襲下の生体における薬物の影響とその体内動態を評価・検討する。具体的には、覚せい剤（メタンフェタミン）の投与によるストレスホルモンへの影響と、繰り返し投与に伴う影響について、体重減少や食行動異常といった乱用により発現する頻度が高い徴候についての検討を行う。

さらに、実際の剖検例での血液、消化管内容等の濃度測定結果から、加齢による機能低下、多種類の薬剤の併用による相互作用や基礎疾患影響について解析を行う。

## 3. 研究の方法

(1) アルコール嗜好性とエタノール投与後のグルココルチコイド分泌

① 動物は、Wistar 系由来で、兵庫医科大学法医学講座で維持しているアルコール嗜好性の異なるラット（HAP:高アルコール嗜好性ラット）と（LAP:低アルコール嗜好性ラット）を用いた。

② 腹腔内に3g/kgのエタノール（7%エタノール生理食塩水溶液）を腹腔内投与した。投与4時間後断頭して血液を採取した。

③ エタノール濃度は気化平衡ガスクロマトグラフィー法、血中のコルチコステロン濃度は ELISA 法で測定した。

(2) メタンフェタミン投与による生理的変化とストレスホルモンへの影響

① 動物は、Wistar 系ラット（オス）を用いた。

② 腹腔内に5mg/kgのメタンフェタミンを1日1回5日間連続で投与した。最終投与24時間後に断頭して血液を採取した。

③ メタンフェタミンの投与期間中は、毎日、体重と食餌摂取量を計測した。

④ 血中のコルチコステロン濃度は ELISA 法で測定した。

(3) 剖検例での薬物体内動態の変動に与える要因の検討

① 薬物による中毒死事例の剖検時に血液、胃内容、臓器を採取した。

② 対象となる薬物により、高速液体クロマトグラフィー法、ガスクロマトグラフィー法、ガスクロマトグラフィー質量分析法などを併用して試料の薬物を同定、定量した。

## 4. 研究成果

(1) アルコール嗜好性とエタノール投与後のグルココルチコイド分泌

① HAP、LAP とも、エタノール投与により血中濃度の上昇がみられた（HAP:  $45.3 \pm 5.3$  mM、LAP:  $44.1 \pm 2.1$  mM）。また両群とも生理食塩水を投与したコントロールと比較して血中のコルチコステロン濃度は有意に上昇した（表1）。しかしながら、エタノール濃度、コルチコステロン濃度ともアルコール嗜好性による差はみられなかった。

表 1. 各群の血中コルチコステロン濃度 (ng/ml)

Group	Control (saline)	Ethanol (3g/kg)
HAP	$131.3 \pm 13.4$	$291.1 \pm 21.6 *$
LAP	$155.1 \pm 22.4$	$257.6 \pm 15.0 *$

\*P<0.05 compare with Control.

② 飲酒行動を左右する要素の一つに、アルコールに対する好み（嗜好性）があげられる。この嗜好性は、アルコールに対する個人差や体質等を規定する要因の一つと考えられているが、エタノール自体の代謝は影響されないことが報告されている。一方、コルチコステロンはストレスホルモンのひとつであり、病態を制御していることが考えられる。今回の実験結果から、エタノール嗜好性の異なる動物でもエタノール投与による差がみられなかったことから、コルチコステロンを介する反応に対する影響は小さいことが明らかになった。

(2) メタンフェタミン投与による生理的変化とストレスホルモンへの影響

① メタンフェタミン投与により期間中の摂食量の低下と体重減少がみられた。また、メタンフェタミン投与群ではコルチコステロン濃度も著明に増加した（表2）。

表2. 各群における実験期間中の体重変化、1日食餌摂取量および血中コルチコステロン濃度。

Group	Methamphetamine	Control
Body weight (g)		
Before Exp	214.0±5.8	216.0±6.9
End of Exp	240.8±2.9*	250.8±1.9
Daily food intake (g/day)	22.7±0.5*	24.9±0.7
Corticosterone (ng/ml)	187.5±6.6*	130.5±21.6

\* P<0.05 compare with Control.

② メタンフェタミンはわが国で覚せい剤として乱用される薬物のひとつである。乱用者には体重減少や食行動異常が高頻度にみられることが知られているが、これらの病態が比較的短期間の乱用においてもみられるかどうかの検討はこれまでない。今回の実験においても、メタンフェタミン投与は、短期間でも体重や食餌摂取量に影響した。また、血中のコルチコステロン濃度も有意に上昇した。メタンフェタミン乱用において、短期間の場合もコルチコステロンを介した影響がみられた。コルチコステロンは様々な生体機能の調節に関与しており、肝臓での薬物代謝にも影響する。そのため、頻回の薬物乱用でない場合にも、生体への影響のみならず薬物代謝への影響も考慮する必要があると示唆された。

(3) 剖検例での薬物体内動態の変動に与える要因の検討

① 実際の中毒死剖検例での血液、消化管内容等の濃度測定を示す（表3、4）。表3はカルバマゼピン中毒の事例である。胃内に比較的多量の薬物が残存しており、薬物の吸収期での死亡例と考えられた。この例での薬物服用量は約5.2gと推定された。表4は多種類の薬物を服用したと考えられる事例である。それぞれの薬物の血中濃度レベルは、中毒域ないし治療域であった。胃内容の所見および残存する薬物量から判断すると、吸収期の死亡例と考えられた。

表3. カルバマゼピン中毒事例の試料中薬物濃度(μg/ml)。

Specimen	Carbamazepine	Phenobarbital
Heart blood	60.3	15.8
Femoral venous blood	50.2	14.8
Urine	9.4	34.0
Cerebrospinal fluid	16.2	8.4
Stomach contents	4984.9	70.3

Specimen	ET	PB	PM	CPZ
Femoral blood	0.086	5.082	0.107	0.144
Urine	N.D.	1.736	0.806	1.437
Stomach contents	34.4 (3.4)*	5480 (548)*	1534 (153)*	1708 (171)*

表4. 多剤併用事例の試料中薬物濃度(μg/ml)。

Specimen	ET	PB	PM	CPZ
Femoral blood	0.086	5.082	0.107	0.144
Urine	N.D.	1.736	0.806	1.437
Stomach contents	34.4 (3.4)*	5480 (548)*	1534 (153)*	1708 (171)*

N.D.: Not detected.

ET: etizolam, PB: phenobarbital, PM: promethazine, CPZ: chlorpromazine

\* Each figure in parentheses represents the total amount of drug in the stomach (mg).

② 今回の解析の結果、多量投与の場合も含め、吸収期での死亡事例の場合は定常状態と異なる体内分布をとること、そのため消化管内での残存量の評価が重要であることが明らかになった。特に、服薬量の推定を行う場合には、主に血中濃度から算出する機会が多いが、表3、4のように消化管内に比較的多量の薬物が残存する場合には、それらの影響も無視できない。そのため、正確な評価を行う上では消化管内の残存量についてのデータが不可欠であることが明らかになった。また、摂取後体内での分解が早い薬物においても、消化管内容の濃度評価が有用である結果も得られた。これら得られた結果は今後の鑑定例にも活用が期待される。

③ これらの結果から、薬物の体内動態に与える影響については、特に大量投与の場合に吸収過程の影響が大きいこと、さらに多量服用の場合、吸収期が延長することが報告されており、それらの影響が個々の薬物・毒物で大きく異なることが明らかになった。個々の薬物についても吸収過程における体内動態についての解析は少なく、今後もさらに検討していく必要性が明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計 12 件)

- ① Adachi N, Kinoshita H, Nishiguchi M, Takahashi M, Ouchi H, Minami T, Matsui K, Yamamura T, Yoshida S, Nishio H. Determination of acephate and methamidphos in tissues: appearance of matrix effect in gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicol.* 29: 159-62, 2011. 査読有
- ② 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス4000)の法医実務への応用(第2報) -凍死の補助診断への応用-. *法医学の実際と研究*, 54, 205-209, 2011. 査読有
- ③ Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Ohkubo E, Kumihashi M, Ameno K. A case of drowning whilst under the influence of brotizolam, flunitrazepam and ethanol. *Soud Lek.* 56: 5-6, 2011. 査読有
- ④ Tanaka N, Kinoshita H, Nishiguchi M, Jamal M, Kumihashi M, Takahashi M, Nishio H, Ameno K. An autopsy case of multiple psychotropic drug poisoning. *Soud Lek.* 56: 38-9, 2011. 査読有
- ⑤ Kinoshita H, Yoshioka N, Kuse A, Nishiguchi M, Tanaka N, Jamal M, Kumihashi M, Nagasaki Y, Ueno Y, Ameno K. A fatal case of severe methemoglobinemia presumably due to chlorate ingestion. *Soud Lek.* 56: 43-4, 2011. 査読有
- ⑥ Takahashi M, Kinoshita H, Nishiguchi M, Nishio H. Detection of metallic elements from paraffin-embedded tissue blocks by energy dispersive X-ray fluorescent spectrometry. *Legal Med.* 12: 102-103, 2010. 査読有
- ⑦ Kinoshita H, Takahashi M, Matsui K, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Hishida H, Jamal M, Ohkubo E, Tanaka N, Ameno K. Effects of repeated administration of methamphetamine on corticosterone secretion in rats. *Current study of environmental and medical science.* 3: 3-4, 2010. 査読有
- ⑧ Takahashi M, Kinoshita H, Kuse A, Morichika M, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Matsui K, Yamamura T, Motomura H, Otsu N, Yoshida S., Adachi N, Ueno Y, Hishida S, Nishio H. An autopsy case of poisoning with selective serotonin reuptake inhibitor, paroxetine. *Soud Lek.* 55: 2-4, 2010. 査読有
- ⑨ Kinoshita H, Morikawa K, Kuse A, Nagasaki Y, Takahashi M, Nishiguchi M,

Nishio H, Ueno Y, Jamal M, Kubo Y, Tanaka N, Ameno K. An autopsy case of carbamazepine poisoning. *Soud Lek.* 55: 22-24, 2010. 査読有

⑩ Tanaka N, Kinoshita H, Haba R, Jamal M, Ohkubo E, Ameno K. An autopsy case of butane gas abuse. *Soud Lek.* 55: 44-45, 2010. 査読有

⑪ 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストファ, 久保裕介, 組橋 充, 大久保恵理子, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス 4000)の法医実務への応用(第1報) -酸化炭素ヘモグロビン飽和度測定-. *法医学の実際と研究*, 53, 39-43, 2010. 査読有

⑫ Kinoshita H, Takahashi M, Matsui K, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Hishida H, Jamal M, Ameno K. Corticosterone concentration following ethanol administration in high alcohol preferring (HAP) and low alcohol preferring (LAP) rats. *Current study of environmental and medical science.* 2: 13-15, 2009. 査読有

〔学会発表〕(計 17 件)

- ① 飴野 清, 木下博之, ジャーマルモストファ, 田中直子, 組橋 充. アルコールの影響評価. 第19回法医病理勉強会・第17回法中毒懇話会(シンポジウム)「薬物関連死をめぐる法病理・法中毒のクロストーク」, 2011. 6. 15, 福島.
- ② 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストファ, 大久保恵理子, 組橋 充, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス4000)の法医実務への応用(3). 第95次日本法医学会総会, 2011. 6. 15-17, 福島.
- ③ Kinoshita H, Ameno K, Jamal M, Tanaka N. Poisoning cases due to the multiple drug ingestion. 8th International Symposium Advances in Legal Medicine, 2011. 9. 26-30, Frankfurt, Germany.
- ④ Kinoshita H, Tanaka N, Haba R, Jamal M, Kumihashi M, Ameno K. Autopsy case of butane gas abuse. 8th International Symposium Advances in Legal Medicine, 2011. 9. 26-30, Frankfurt, Germany.
- ⑤ Tanaka N, Ameno K, Jamal M, Kumihashi M, Kinoshita H. Application of oximeter AVOX 4000 in the forensic practice. 8th International Symposium Advances in Legal Medicine, 2011. 9. 26-30, Frankfurt, Germany.
- ⑥ 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストファ, 組橋 充, 木下博之. 大腿骨骨折後に凍死に至ったと考えられた一剖検例. 第28回日本法医学会学術中四国地方集会, 2011. 10. 15, 倉敷.
- ⑦ 木下博之, 田中直子, ジャーマルモスト

フア, 組橋 充, 高橋玄倫, 西尾 元, 飴野清. けい肺の1例. 第28回日本法医学会学術中四国地方集会, 2011.10.15, 倉敷.

⑧ 木下博之, 田中直子, ジャーマルモストフア, 組橋 充, 飴野 清. カーバメート系農薬中毒の1例. 第23回日本中毒学会中四国地方会学術集会, 2011.12.10, 倉敷.

⑨ 高橋玄倫, 木下博之, 南 貴子, 西口美紀, 大内晴美, 松井清司, 本村浩之, 吉田史絵, 足立伸行, 西尾 元. 蛍光X線分析を用いたパラフィン包埋組織中の金属元素の検出. 第94次日本法医学会総会, 2010.6.23-25, 東京.

⑩ 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストフア, 久保裕介, 組橋 充, 大久保恵理子, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス4000)の法医中毒学への応用(1). 第94次日本法医学会総会, 2010.6.23-25, 東京.

⑪ 木下博之, 田中直子, ジャーマルモストフア, 大久保恵理子, 組橋 充, 飴野 清. 向精神薬とエタノールの影響下での溺水の1例. 第27回日本法医学会学術中四国地方集会, 2010.10.16, 徳島.

⑫ 田中直子, 飴野 清, ジャーマルモストフア, 大久保恵理子, 組橋 充, 木下博之. 体外検査用オキシメータ(エーボックス4000)の法医実務への応用(2). 第27回日本法医学会学術中四国地方集会, 2010.10.16, 徳島.

⑬ 木下博之, 田中直子, ジャーマルモストフア, 大久保恵理子, 組橋 充, 飴野 清. ブタンガス中毒の2例. 第22回日本中毒学会中四国地方会学術集会, 2010.12.11, 高松.

⑭ Takahashi M, Kinoshita H, Nishio, H. Application of energy dispersive X-ray fluorescent spectroscopy (EDXRF) in screening test for drug related case. XXI Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2009. 5.28-30, Lisbon. Portugal.

⑮ Adachi N, Kinoshita H, Nishiguchi M, Takahashi M, Ouchi H, Minami T, Matsui K, Yamamura T, Motomura H, Otsu N, Yoshida S, Hishida, S. Analysis of acephate and its metabolite in serum by GC-MS. XXI Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2009. 5.28-30, Lisbon. Portugal.

⑯ Kinoshita H, Matsui K, Takahashi M, Nishiguchi M, Minami T, Otsu N, Yoshida S, Adachi N, Hishida, S, Jamal M, Ameno K. Studies for the asbestos exposure in

Japanese urban populations. XXI Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2009. 5.28-30, Lisbon. Portugal.

⑰ 木下博之, 森川公子, 久世亜澄, 長崎 靖, 高橋玄倫, 西口美紀, 西尾 元, 上野易弘, Mostofa Jamal, 久保裕介, 飴野清. カルバマゼピン中毒の1例. 第26回日本法医学会学術中四国地方集会, 2009.10.17, 小郡.

〔図書〕(計2件)

① Takahashi M, Kinoshita H, Kuse A, Morichika M, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Matsui K, Yamamura T, Motomura H, Ohtsu N, Yoshida S, Adachi N, Hishida S, Ueno Y, Nishio, H. Application of energy dispersive X-ray fluorescent spectroscopy (EDX) in medico-legal autopsy case. In "Acta Medicinae Legalis et Socialis", (Vieira DN, Busuttil A, Cusack D, Beth P. eds), 325-328, Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

② Kinoshita H, Matsui K, Takahashi M, Nishiguchi M, Ouchi H, Minami T, Otsu N, Yoshida S, Adachi N, Hishida, S, Jamal M, Tanaka N, Ohkubo E, Ameno K. Studies for the asbestos exposure in Japanese urban populations. In "Acta Medicinae Legalis et Socialis", (Vieira DN, Busuttil A, Cusack D, Beth P. eds), 165-168, Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木下 博之 (KINOSHITA HIROSHI)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：00284357

### (2) 研究分担者

飴野 清 (AMENO KIYOSHI)

香川大学・医学部・准教授

研究者番号：50019626

高橋 玄倫 (TAKAHASHI MOTONORI)

神戸大学・医学部・講師

研究者番号：90509100