

依存性薬物の毛髪への移行に関する研究^{#1}木倉瑠理^{#2}・中原雄二Studies on mechanism of drug incorporation into hair^{#1}Ruri Kikura^{#2} and Yuji Nakahara

Drugs and endogenous compounds circulating in the blood are partially incorporated into the growing hair and are retained there for a long time. Therefore, hair analysis has been used as a useful method for detecting and monitoring drugs from days to years after ingestion. Although numerous drugs and metabolites have been detected in hair, many factors are still not cleared on the mechanisms responsible for the incorporation and retention of drugs in hair. In this study, the incorporation mechanisms of drugs from blood into hair were investigated with respect to the contributions of the physicochemical properties of the drugs. The following conclusions were drawn from the results. 1. Drug concentrations in hair were compared to their pharmacokinetic parameters using an animal model, and it was shown that the incorporation of drugs from plasma into hair distinctly depended upon the physicochemical properties of each drug. 2. As an index of facility of incorporation of a drug into hair, Incorporation Rate (ICR) was defined as the ratio of drug concentration in hair to the area under the concentration versus time curve (AUC) in plasma. The effects of structural factors on ICRs were determined using amphetamine analogs, and it was shown that the basicity and lipophilicity affected the drug incorporation into hair. 3. In *in vitro* experiments, ICRs positively correlated with melanin affinity and lipophilicity. In particular, melanin affinity principally controls the incorporation of basic drugs into hair. 4. In distinguishing legitimate amphetamine-like OTC drug use from illegal amphetamine/methamphetamine use, hair samples were more useful than urine samples due to the easier long term detection of parent drugs or specific metabolites in hair.

Keywords: hair analysis, drugs of abuse, drug incorporation

1. はじめに

毛髪中の薬物分析について本格的に研究が行われるようになったのはここ10数年のことであるが、薬物を摂取した場合、その一部が毛髪中へ取り込まれることはすでに多くの研究結果から明らかにされている。1979年に Baumgartner ら¹⁾がラジオイムノアッセイを用いてヘロイン中毒者の毛髪からモルヒネを検出して以来、現在までに裁判化学の分野を中心に、覚せい剤²⁻¹⁵⁾、コカイン(COC)¹⁵⁻⁴¹⁾、オピエイト^{15,34-40,42-65)}、フェンシクリジン(PCP)^{41,66-69)}、リゼルギン酸ジエチルアミド(LSD)⁷⁰⁾、大麻成分^{40,71-73)}など様々な薬物が、ng/mg レベルで毛髪中から検出されている。

毛髪は主に毛根部と毛幹部に大別される。毛根部分に存

在する毛乳頭には毛細血管が入り込み、ここで血液中の薬物が一部毛髪中に取り込まれ、毛母細胞が成長して分裂を繰り返し角化しながら毛幹部へと押し上げられていく際に、細胞の角化に従ってその部位に固定され、毛髪の成長とともに毛根側から先端に移動していくと考えられている。また、現在までに、薬物の使用時期と毛髪中の薬物分布が良く一致し、毛髪分析により長期間にわたる過去の薬物使用歴の推定が可能であることが示されている^{6,7,10)}。このため、毛髪試料を用いた薬物分析では、血液や尿など他の生体試料中から完全に薬物が消失した後でも数年間にわたる薬物モニタリングが可能であり、様々な分野で用いられるようになってきた。例えば、近年では、妊婦の薬物使用による胎児への薬物暴露の評価⁷⁴⁻⁸⁰⁾、薬物依存の進行度の診断¹⁰⁾、医師の処方通り薬を使用しているかを知るコンプライアンス⁸⁷⁻⁹⁵⁾、オリンピック等の競技会のドーピング証明⁹⁶⁾、またダイオキシン等の環境汚染物質のヒトへの長期暴露評価⁹⁷⁾などに毛髪分析が応用されている。

このように、毛髪は過去の化学物質の暴露状況を長期間にわたって記録する、いわばテープレコーダーとしての役

^{#1} 本総説は学位論文「依存性薬物の毛髪への取り込み機構に関する研究」(千葉大学大学院薬学研究科博士号, 1998.2)の内容の一部を要約したものである。

^{#2} To whom correspondence should be addressed: Ruri Kikura; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.245; Fax:03-3707-6950; E-mail:kikura@nihs.go.jp

割を持つ大変有用な試料と考えられる。しかしながら、血液中から毛髪へどのような機構で薬物が移行し、そして保持されているのか未だ不明な点も多い。毛髪は主にケラチン蛋白、メラニン色素、脂質、微量元素、水分から構成されている^{98,99}。その中でも特にメラニン色素は、化合物の毛髪への移行や毛髪中での保持に大きく関与しているのではないかと考えられている。いくつかの薬物は、生体中のメラニン含有組織に蓄積されることが以前より指摘されているが、クロロキンを一回投与した有色マウスの眼中のメラニン画分から、一年を経ても相当量の薬物が検出されることが報告されている¹⁰⁰。毛髪においても近年、ニコチン¹⁰¹、オキサフロシン⁹²、メサドン¹⁰²、COC¹⁰³、コデイン⁶²などの薬物は、白色の毛髪と比較して、有色の毛髪により高濃度検出されることが報告されている。Coneらのグループ¹⁰⁴では、様々な処置を施した頭髪を用いて、毛髪の構成成分とCOCとの結合を *in vitro* の系で調べている。その結果、異なる色の頭髪では、薬物結合能に大きな差がみられ、特に脱色した頭髪では薬物結合能が著しく低下することを示した。また、メラニン色素は、その構造中に多くのカルボキシル基、フェノール基、インドール・キノン構造を有することから^{98,99}、塩基性薬物とイオ的な結合をすることが指摘されている。フェノチアジン系薬物やキノロン系薬物といった塩基性化合物はメラニンとの結合性が高いことで知られているが、この結合能は原子価の高い金属イオンの存在下で阻害されることが報告されている¹⁰⁵。また最近、Rollinsらのグループ⁶³は、同一個体に黒毛と白毛を持つラットを用いた実験において、弱塩基性薬物であるコデインの毛髪中濃度は黒毛の方が高いものの、中性薬物であるフェノバルビタールは黒毛と白毛における薬物濃度がほぼ等しく、メラニン色素が塩基性薬物の毛髪への移行及び毛髪中での保持に関与していることを示した。一方、メラニン色素以外にも、毛髪の主成分であるケラチン蛋白も多くの酸性基をその構造中に有することから^{98,99}、薬物との相互作用が考えられる。その他にも、Kalasinskyらのグループ¹⁰⁶では、赤外顕微鏡を用いて毛髪横断面での薬物分布を可視的に表わす試みをしており、薬物により毛髪の異なる部位に存在することを示している。

このように、ここ数年で少しずつ個々の薬物について毛髪への移行に関する知見が蓄積されてきた。しかし、薬物の血中パラメーターと毛髪中濃度にはどのような関係があるのか、血液から毛髪への移行に化合物の構造及び物性がどのように関与するのかを系統的に評価した報告はない。そこで、本研究では、薬物の血中から毛髪への移行を薬物の物性面で説明することを目的として、まず、毛髪中の各薬物のガスクロマトグラフィー/質量分析(Gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)を用いた微量分析法を検討し、COC及びその代謝物について、動物実験モデルを用

いて、各血中パラメーターと毛髪中薬物濃度との関係を調べた^{107,108}。また、血中薬物がどの程度の割合で毛髪中に取り込まれるのかを表わす指標のひとつとして、血中濃度時間曲線下面積(Area under concentration versus time curve, AUC)値に対する毛髪中濃度の比をIncorporation rate(ICR)値として定義し、様々な物性を持つ35種類のアンフェタミン系薬物のICR値を求めた。そして、薬物の血中から毛髪への移行性に及ぼす化学構造の影響を検討した^{109,110}。その結果、毛髪への移行には薬物の塩基性、脂溶性が関与していることを見出したが、さらにそれらの物性の影響を調べるために、*in vitro* の系を用いて、塩基性が大きく関与していると思われるメラニン親和性及び脂溶性を20種類の依存性薬物について測定し、ICR値との相関関係を調べた¹¹¹。また最後に、これらの結果を踏まえ、毛髪を用いた薬物分析の裁判化学的分野における利用法として、摂取すると体内で覚せい剤に代謝され、既存の尿分析では覚せい剤との摂取識別が困難である合法的医薬品に着目し、毛髪を用いた覚せい剤との摂取識別法を確立して、毛髪分析の有用性を示した¹¹²⁻¹¹⁴。

2. COC及び代謝物の血中から毛髪への移行性

COCは中枢興奮性の麻薬として、強い精神作用をもたらす薬物である。COCは、摂取すると速やかに加水分解を受け、血中、尿中からはベンゾイルエクゴニン(BE)及びエクゴニンメチルエステル(EME)が主代謝物として検出される^{115,116}(Fig.1)。Jeffcoatら¹¹⁵は、ヒトにCOCを静脈注射、吸引、喫煙の3種類の経路で投与し、48時間にわたるCOC及びBEの血中濃度変化を報告している。それによると、それぞれの投与経路におけるCOC及びBEのAUC値の比は、静脈投与で1:7、吸引で1:13、喫煙で1:8となり、いずれにおいてもCOCと比較してBEのAUC値は明らかに大きい値を示した。一方、現在までに、数多くのCOC乱用者の毛髪中の薬物分析が行われ、乱用者の毛髪中では他の代謝物濃度と比較してCOCが極めて高濃度存在することが報告されている^{19,22}。これらのことを考え併せると、血中薬物が毛髪へ移行する際、その物性により難易があることが推測される。しかし、実際、COC及びその代謝物の血中薬物濃度比は毛髪中濃度比に相関しているのか、それとも薬物により毛髪への移行には何らかの差異が認められるのかを同一個体で検討した報告はない。そこで、まず、毛髪中のCOC及びその代謝物BE及びEMEのGC/MSを用いた微量分析法を検討し、動物実験においてCOC及びその代謝物の血中パラメーターと毛髪中濃度を比較して、それぞれの化合物の血中から毛髪への移行性の難易を調べた。なお動物実験では、有色の体毛を有するDark-Agouti(DA)ラットを使用し、毛髪中の薬物濃度は、ラットから同一条件で採取した毛髪試

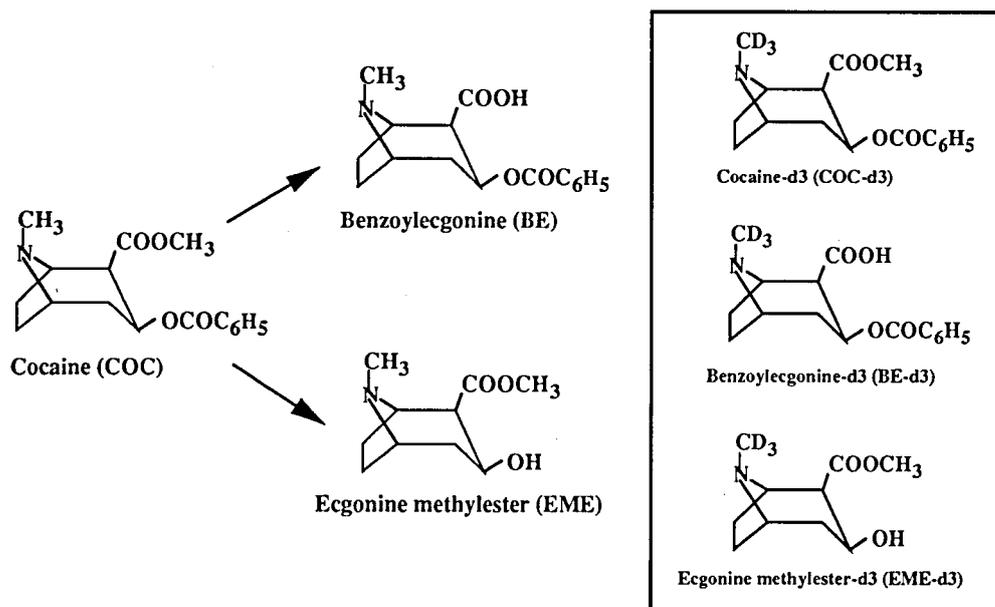


Fig.1 Structures of COC, its metabolites and their deuterated compounds

料を使用して測定した。すなわち、投与直前にラットの背部の毛を一定領域動物用バリカンで刈り取っておき、すべての薬物が血中、毛根中から毛幹部に移行すると考えられる初回投与4週間後（投与期間も含む）に同程度の長さで新たに生えてきた毛髪を刈り取り、その試料中の薬物濃度を測定した。またこの際、刈り取った毛髪を0.1%ラウリル硫酸ナトリウム溶液で3回、次いで水で3回、超音波下で各1分間ずつ表面洗浄し、十分乾燥させたものを試料として使用した。

2-1. ラット毛髪試料中からの薬物の抽出法の検討

毛髪中の薬物を効率良く、しかも夾雑物をできる限り除去する抽出方法は、毛髪分析において重要な要因となる。現在までに報告されている毛髪からの薬物の抽出法は大別すると、①アルカリで可溶化して抽出^{2,4)}、②酸または酸性メタノール溶液で抽出^{17,19,20)}、③酵素により可溶化して抽出^{18,22)}の3方法がある。毛髪中からのCOC及び代謝物BE、EMEの抽出を考えた場合、COCはアルカリ条件下で速やかに加水分解を受けるので①のアルカリ可溶化は適さない。そこで、まず、②の酸性メタノール溶液による抽出法及び③の酵素処理による抽出法について、実際にCOCを投与したラットから採取した毛髪試料を用いて、毛髪中の薬物を効率よく抽出できる方法を検討した。

DAラットに塩酸COCを5 mg/kg ずつ、5日間腹腔内投与し、背部に初回投与4週間後、新たに生えてきた毛髪を採取した。その毛髪試料30 mgを洗浄後、1)メタノール/5M塩酸(20:1)溶液による抽出、2)プロテイナーゼKによる酵素処理、3)ジチオトレイトール（毛髪内のジスルフィド結合切断）及びプロテイナーゼKを用いる酵素処

理の3方法により抽出を行い、それぞれ固相カラムで精製して、GC/MS-選択イオン検出法(selected ion monitoring, SIM)により各薬物の測定を行った。なお定量は、精度の良い微量分析を可能とするために、各々の薬物の重水素標識体を合成し内部標準物質として使用した。またBE、EMEは、それぞれペンタフルオロプロピオン酸無水物(PFPA)及び1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール(HFiP)を用いて誘導体化して測定を行った。

3方法によって抽出した毛髪中の各薬物濃度はほぼ等しく、また、異なる2種類の抽出方法を続けて行った場合、2回目の抽出では3化合物のいずれも検出されなかった。ただし、夾雑物による妨害ピークを考慮すると、2)のプロテイナーゼK消化法を用いた抽出法が最も適していた。そこで以下の実験では、COC及びその代謝物の毛髪からの抽出はプロテイナーゼK消化法により行った。なお、分析に使用したGC/MS-SIMの条件下において、毛髪中のCOC、BE、EMEは良好な分離を示し、また試料中の常在成分による妨害はクロマトグラム上では認められなかった。定量は、COCをm/z 182、BEのPFPAによる誘導体を318、EMEのHFiPによる誘導体を182のモニタリングイオンで行った。それぞれの重水素標識体とのピーク面積比により検量線を作成したところ、0.3-20 ng/mgの範囲で直線性が得られ(r^2 は0.997以上)、添加回収率はいずれも90%以上であった。また分析の相対標準偏差(n=3)は、毛髪試料30 mgにCOC、BE、EMEをそれぞれ1.0 ng/mg添加した時は4.1、1.7、2.8%、10 ng/mg添加した時は2.4、1.6、1.3%であった。

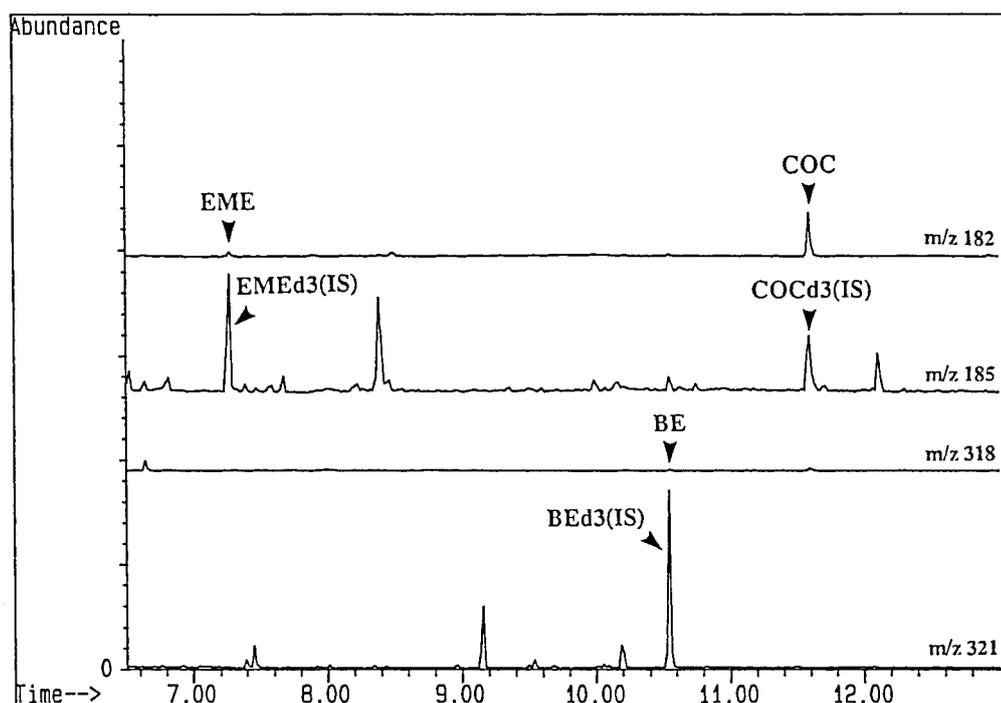


Fig.2 GC/MS - SIM chromatogram of rat hair extract
After i.p. administration of COC at 5 mg/kg for 5 days,
rat hair was cut, extracted and derivatized with PFFA
and HFiP.

2-2. コカイン及び代謝物のラット血漿中及び毛髪中濃度

9匹のDAラットに塩酸COCを5 mg/kgずつ5日間腹腔内投与し、初回投与後経時的に眼窩静脈叢より採血して、COC及びその代謝物であるBE, EMEの血漿中濃度をGC/MSにより測定した。分析の結果、いずれのラットもCOCは速やかに血中から消失し、COCの半減期は13.5分と、BE, EMEの半減期のそれぞれ1/6, 1/13となった。最高血中濃度はCOCとBEはほぼ同程度、EMEはCOCの1/2程度であった。また、血漿中AUC値は、COC, BE, EMEでそれぞれ14.2, 60.7, 53.4 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ となり、COCは代謝物の値の1/4程度となった。一方、初回投与4週間後に採取した毛髪試料中のCOC及びBE, EME濃度をGC/MSにより測定した。Fig.2に毛髪抽出物の誘導体のGC/MS - SIMクロマトグラムを示す。測定の結果、毛髪中の各薬物濃度は、COC, BE, EMEがそれぞれ 16.4 ± 4.8 , 1.7 ± 0.4 , $0.8 \pm 0.3 \text{ ng}/\text{mg}$ となり、COC濃度がBE, EMEの9.6及び20.5倍と極めて高い値を示した。もし、血中から毛髪への移行には薬物によって選択性がないとすると、毛髪中の各薬物濃度比は血中の各薬物濃度比を反映すると思われる。しかしながら、今回の結果において、ラット血漿中COC, BE, EMEのAUC値の比は1:4.3:3.8であったにもかかわらず、毛髪中の薬物濃度比は1:0.10:0.05であった。以上の結果より、COCは、BE, EMEと比較して、血中から毛髪中への移行性あるいは毛髪中での

保持力が極めて高い化合物であることが示唆された。COCは脂溶性の高い塩基性化合物(pKa 8.6)として知られているが¹¹⁷⁾、BE, EMEはそれぞれカルボキシル基と水酸基を有するより極性の高い代謝物である。このような化合物の物性の違いにより、移行性が異なるのではないかと考えられる。

2-3. コカインの代謝物を投与したラットの血漿中及び毛髪中薬物濃度

さらに上記化合物の毛髪への移行性を検討するために、代謝物BE, EMEそのものをそれぞれDAラットに投与して、血漿中のAUC値と毛髪中濃度を比較した。DAラットにBE, EMEをそれぞれ10 mg/kgずつ5日間腹腔内投与し、初回投与後経時的に採血して、血漿中の薬物濃度をGC/MSにより測定した。血中濃度変化からBE, EMEの血漿中AUC値を算出したところ、それぞれ1323及び411 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ であった。一方、初回投与4週間後に新たに生えてきた毛をラット背部から刈り取り、毛髪中薬物濃度を測定したところ、EMEは6.0 ng/mgであったが、BEは0.3 ng/mgであった。前述した通り、COCを投与したラット毛髪中からCOCとともにBE, EMEも検出され、AUC値に対する毛髪中濃度の比はそれぞれ0.028, 0.015であった。今回、代謝物そのものを単独投与した場合、AUC値に対する毛髪中濃度の比はEMEでは0.015を示した。しかし、BEにおいては、AUC値はCOC投与の際に代謝物として検出された値の21.6倍であったものの、

毛髪からは1/6程度しか検出されなかった。このことから、COC投与ラットの毛髪中から検出されたBEは、BE自身が血中から毛髪へ移行したのではなく、主に、COCが毛髪へ移行した後、毛根もしくは毛幹部分で酵素的、化学的加水分解を受けて生じたものである可能性が示唆された。

2-4. コカイン及び重水素標識した代謝物を同時投与したラットの血漿中及び毛髪中薬物濃度

COCを投与した際に毛髪中から検出された代謝物BEの由来を確認するために、ラットにCOC及び代謝物の重水素標識体BE-d3、EME-d3をそれぞれ3, 0.5, 0.5 mg/kgずつ、同時に10日間腹腔内投与し、COCとその代謝物であるBEとEME、そしてBE-d3、EME-d3の血漿中薬物濃度変化を測定した。また、初回投与後4週間で新たに生えてきた毛をラット背部から刈り取り、各々の毛髪中濃度を測定した。

2-2.でも見られたように、COCの血漿中AUC値はCOCの代謝産物であるBE、EMEと比較して低い値を示したが、毛髪中濃度は15.4 ng/mgであり、BE、EMEのそれぞれ3倍、7倍の高濃度を示した。一方、COCと同時に投与したBE-d3、EME-d3の血漿中AUC値はそれぞれ38.5, 33.5 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ と、BE、EMEの値よりも2.6及び4.6倍高い値を示した。しかし、毛髪中では、EME-d3はEMEと同程度検出されたが、BE-d3は痕跡量しか検出されず、その濃度はBEの1/17以下であった (Fig.3)。これらのことから、BEは血中から毛髪へはほとんど移行せず、COCを投与した際に毛髪中から検出されたBEは、主にCOCが毛髪中、毛根中で分解もしくは代謝をうけた結果生成したものであることが示された (Fig.4)。

以上の結果より、血中から毛髪への薬物の移行性は化合

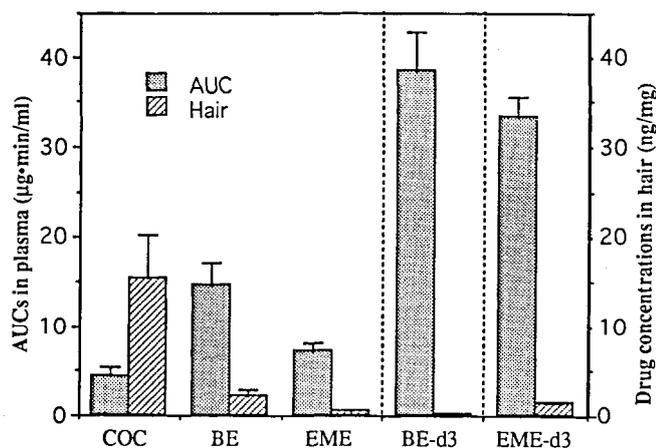


Fig.3 Comparison of rat plasma AUC and hair concentration of drugs

Rat was i.p. co-administered by COC, BE-d3 and EME-d3 at 3, 0.5 and 0.5 mg/kg, respectively.

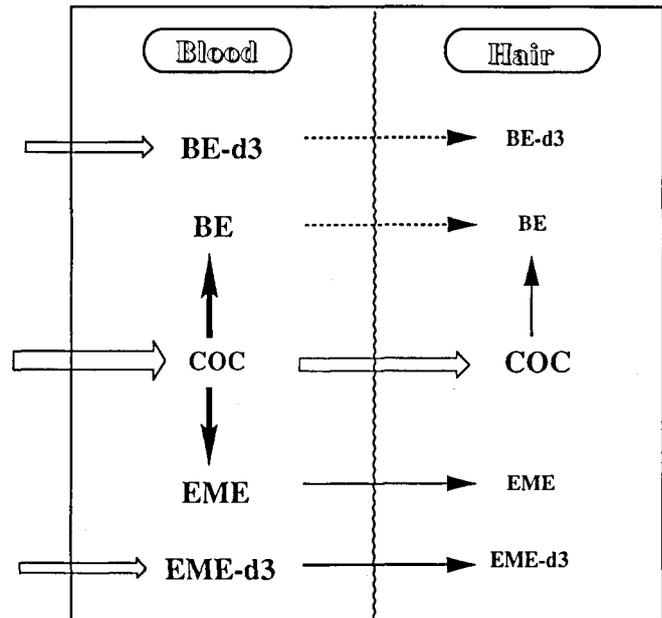


Fig.4 Mechanism model of incorporation of COC and its metabolites from blood into hair and chemical conversion of COC in hair

物により異なり、COCはその極性代謝物であるBE、EMEと比較して極めて毛髪への移行が高いことが明らかとなった。毛髪では、薬物の挙動が他の生体試料とは異なり、消失が速いため他の試料中からは検出が困難であるCOCのような薬物でも、長期にわたり高濃度検出されることは、注目に値する結果であると思われる。

3. 薬物の毛髪への移行性と化学構造との相関

前述したように、血中から毛髪への移行には化合物により難易があることが明らかとなった。そこで、毛髪への薬物の移行性を薬物の物性面からさらに検討することを目的とし、覚せい剤アンフェタミン (AP)、メタンフェタミン (MA) に着目して、これらをモデル化合物とした様々な側鎖を持つ35種類のアンフェタミン系薬物 (Table 1) を用いて、薬物の毛髪への移行性に及ぼす化学構造の影響を調べた。

薬物の血液から毛髪への移行性を検討する際、血中側の薬物動態的なパラメーターとして、その薬物の消失の速さを示す半減期、最高血中濃度、血中薬物の総量を示すAUC値等が考えられる。我々¹⁰⁾は今までに、MAを投与したラットの毛髪中のMAと脱メチル代謝物であるAP濃度は投与量に比例して増加し、投与量及び血漿中AUC値と毛髪中濃度には正の相関関係がみられることを報告している。一方、米国のRollinsら⁶³⁾のグループにおいても、コデインをモデル化合物とした動物実験において、コデインとその代謝物であるモルヒネでは、投与量と毛髪中濃度に高い相関があることを示している。また、反復静脈投与

Table 1. Structures and ICRs of 35 drugs

Drugs	R1	R2	ICR ([Hair]/AUC) *				
Amphetamine (AP)	H	H	0.10				
Methamphetamine (MA)	H	CH3	0.13				
Ethylamphetamine (EAP)	H	CH2CH3	0.14				
Propylamphetamine (PAP)	H	CH2CH2CH3	0.26				
Mefenorex (MFX)	H	CH2CH2CH2Cl	0.33				
Clobenzorex (CBX)	H	CH2C6H4Cl	1.81				
Prenylamine (PLA)	H	CH2CH2CH(C6H5)2	1.43				
Desmethylbenzphetamine (norBZP)	H	CH2C6H5	0.38				
Benzphetamine (BZP)	CH3	CH2C6H5	1.55				
Desmethylfurfenorex (norFFX)	H	CH2C4H3O	0.33				
Furfenorex (FFX)	CH3	CH2C4H3O	0.69				
Dimethylamphetamine (DMA)	CH3	CH3	0.04				
Fenproporex (FPX)	H	CH2CH2C ≡ N	0.05				
Desmethyldeprenyl (norDPN)	H	CH2C ≡ CH	0.02				
Deprenyl (DPN)	CH3	CH2C ≡ CH	0.03				
Formylmethamphetamine (FMA)	CH3	CHO	0.005				
Acetylamphetamine (AcAP)	H	CH3CO	.**				
Acetylmethamphetamine (AcMA)	CH3	CH3CO	.**				
Cathinone (CTN)	H	H	X	Y	0.01		
Amfepramone (AFP)	C2H5	C2H5	O	H	0.01		
Phenylpropanolamine (PPA)	H	H	H, OH	H	0.07		
Ephedrine (EP)	CH3	H	H, OH	H	0.10		
Methylephedrine (MEP)	CH3	CH3	H, OH	H	0.03		
Phentermine (PTM)	H	H	H, H	CH3	0.17		
Mephentermine (MPT)	CH3	H	H, H	CH3	0.24		
3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)	H	H	2	3	4	5	
3,4-Methylenedioxyethamphetamine (MDMA)	CH3	H	H	-OCH2O-	H	0.30	
3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA)	C2H5	H	H	-OCH2O-	H	0.77	
3-Methoxy-4,5-methylenedioxyamphetamine (MMDA)	CH3	H	H	OCH3	-OCH2O-	1.24	
Methoxyphenamine (MOP)	CH3	H	OCH3	H	H	0.43	
p-Methoxymethamphetamine (MOMA)	CH3	H	H	H	OCH3	0.40	
p-Hydroxyamphetamine (OHAP)	H	H	H	H	OH	0.03	
p-Hydroxymethamphetamine (OHMA)	CH3	H	H	H	OH	0.07	
4-Hydroxy-3-methoxyamphetamine (HMAP)	H	H	H	OCH3	OH	0.35	
4-Hydroxy-3-methoxymethamphetamine (HMMA)	CH3	H	H	OCH3	OH	0.47	

*; ICR means the ratio of drug concentration in hair to AUC in plasma.

**; Drug was not detected in the hair sample.

と定速静脈投与の2種類の投与方法において、AUC値に対する毛髪中濃度の比がほぼ一定となることから、毛髪中のコカイン濃度は血中の最高血中濃度や半減期よりも、むしろAUC値に影響されることを示唆している⁶³⁾。そこで、以上の点を考慮し、血中薬物がどの程度の割合で毛髪中に取り込まれるのかを表わす指標のひとつとして、AUC値に対する毛髪中濃度の比([Hair]/AUC)をICR値として定義した。そして、それぞれの薬物についてICR値を求め、薬物の構造が毛髪への移行にどのような影響を及ぼしているのかを検討した。

まず、35種類のアンフェタミン系薬物をそれぞれ単独でDAラットに5 mg/kg ずつ10日間連続して投与し、2に述べた方法と同様にして、血漿中AUC値と4週間後の毛髪中薬物濃度を測定した。アンフェタミン系薬物の毛髪からの抽出は、メタノール/5 M 塩酸 (20:1) 溶液を用いて、1時間超音波抽出後1晩放置をすることにより行った。また、分析は血漿試料及び毛髪試料の酸性メタノール抽出物を固相カラムにより精製し、トリフルオロ酢酸無水物(TFAA)を用いて誘導体化した後、GC/MS-SIMにより行った。なお、定量には、各々の化合物の重水素標識体を合成し内部標準物質として用いた。

測定した35種類の薬物のAUC値及び毛髪中濃度からICR値を計算した結果、ICR値はそれぞれの薬物の物性により0から1.81もの広い範囲の値を示した(Table 1)。また、これら薬物について、導入した置換基を構造別に分類して検討した結果、以下に示す通り、それぞれの構造がICR値に影響を及ぼすことが明らかとなった(Fig. 5)。すなわち、1. 窒素に置換した炭素側鎖の長さ(H < C1 < C2 < C3)に従ってICR値は増加し、ハロゲン基が導入されることによりその効果は増強される。2. ベンゼン環やフラン環の導入によりICR値は増加し、その効果はベンゼン環の方が強く働く。3. ケトン基及び水酸基の導入によりICR値は減少し、その効果は芳香環水酸基のほうが脂肪族水酸基より強く働く。4. プロパルギル基、シアノエチル基の導入はICR値を減少させる。5. 窒素にアシル基を導入して薬物の塩基性を消失させると、薬物の毛髪への移行は消失する。6. 芳香環上のメチレンジオキシ基やメトキシ基は薬物の毛髪への移行を大きく上昇させるが、特にメチレンジオキシ基はその効果が大きい。7. β位の炭素にメチル基が導入されることにより、ICR値は増加する。以上の結果が得られた。窒素にアシル基を導入して塩基性を消失させた薬物では、毛髪への薬物の取り込みが認められなかったが、

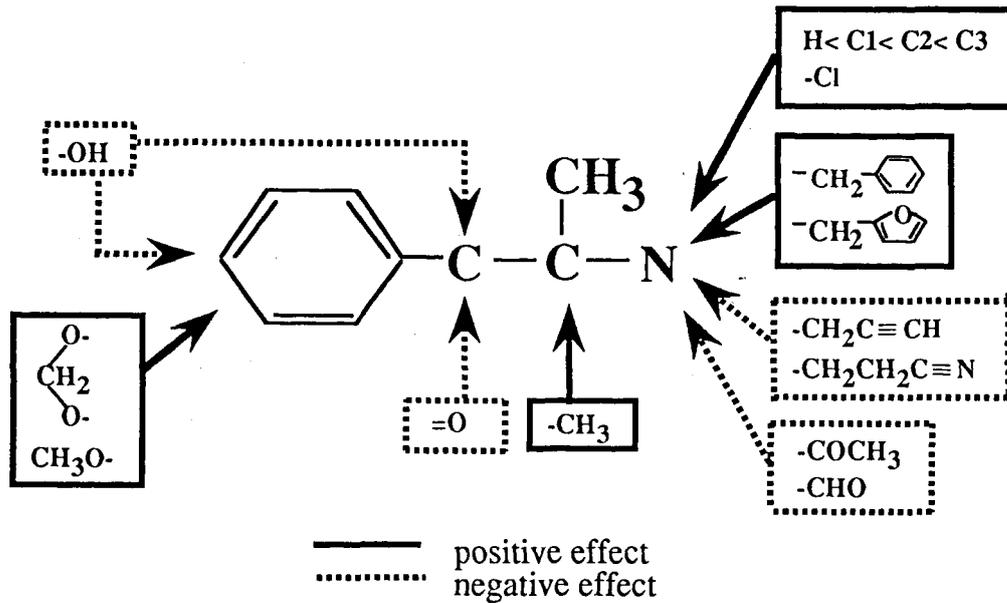


Fig.5 Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair

このことから、薬物の塩基性 (pKa) が毛髪への取り込みに大きく影響していることが明らかとなった。毛髪中のメラニン色素は酸性基を多く含み、毛髪の等電点は pH4.0 程度であると言われている¹¹⁸⁾。そのため、毛髪中のメラニンとイオンの相互作用を持ちやすい pKa の大きい塩基性化合物ほど毛髪への移行もしくは毛髪中での保持力が高いのではないかと考えられる。一方、上記の結果において、薬物の窒素に置換した炭素側鎖の長さが増えるほど ICR 値が増大する、2位の炭素にメチル基が導入されると ICR 値が増大する、ベンゼンやフラン環の導入により ICR 値が増大する、極性基の導入により ICR 値が減少することが示されたが、これらの結果より、薬物の脂溶性も毛髪への移行に影響を与えるのではないかと考えられる。また、ベンゼン環上にメチレンジオキシ基やメトキシ基を導入することにより ICR 値の増大が認められたが、ベンゼン環上のこれら電子供与性を有する基は、その薬物の毛髪への移行性に影響を与えるのではないと思われる。

以上の結果より、薬物の毛髪への移行にはその構造により差異があり、薬物の塩基性、脂溶性が関与していることが示唆された。しかし、薬物の中にはそれだけでは説明できない化学構造の影響が見られるものもある。こうした複数の要因が関与して、毛髪中では他の組織では見られない薬物の挙動を示していると思われる。

4. 薬物の物性と毛髪への移行性

薬物の毛髪への移行性にはその薬物の塩基性と脂溶性が関与していることが示されたが、それらの物性が毛髪への移行性にどのような影響を及ぼしているかをさらに検討するために、薬物の塩基性が大きく関与していると思われる

メラニン親和性及び脂溶性に焦点をあて検討を加えた。

薬物は、2及び3で用いた13種類の薬物 (COC, BE, EME, MA, AP, OHMA, OHAP, MDA, MDMA, MOP, BZP, norBZP, DPN) とデスマチルメトキシフェナミン (norMOP)、ならびに Fig.6 に示した6種類の代表的な依存性薬物及びその代謝物 (モルヒネ (MO), 6-アセチルモルヒネ (6MAM), PCP, 4-フェニール-4-ピペリジノ-シクロヘキサノール (PPC), LSD, 11-ノル- Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール-9-カルボン酸 (THCA)) の計20種類を使用した。これらの薬物について、まず動物実験において、ラット血漿中 AUC 値と毛髪中濃度を求め、各薬物の ICR 値を算出した。また、*in vitro* の系において、各薬物のメラニン親和性と脂溶性を測定し、それぞれの ICR 値と比較して、薬物のこれら物性と毛髪への移行性の関係を検討した。なお、薬物の毛髪からの抽出法は、COC 及びその代謝物は2で示した通り、アンフェタミン系薬物は3で示した通り行った。他の薬物については、最も効率良く、夾雑物が少ない毛髪からの薬物の抽出条件を検討した結果^{53,69,70)}、モルヒネ系薬物はメタノール/トリフルオロ酢酸 (9:1) 溶液による抽出が、PCP, PPC 及び LSD についてはアンフェタミン系薬物と同様にメタノール/5M 塩酸 (20:1) 溶液による抽出が、THCA についてはアルカリ可溶性による抽出が最も適した抽出方法であることが示された。

4-1. 依存性薬物の血漿中及び毛髪中濃度と ICR 値

まず、20種類の薬物について、それぞれの薬物を投与したラットの血漿中 AUC 値及び毛髪中濃度を測定し、それらの値から各 ICR 値を算出した。薬物の測定は、LSD については蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー

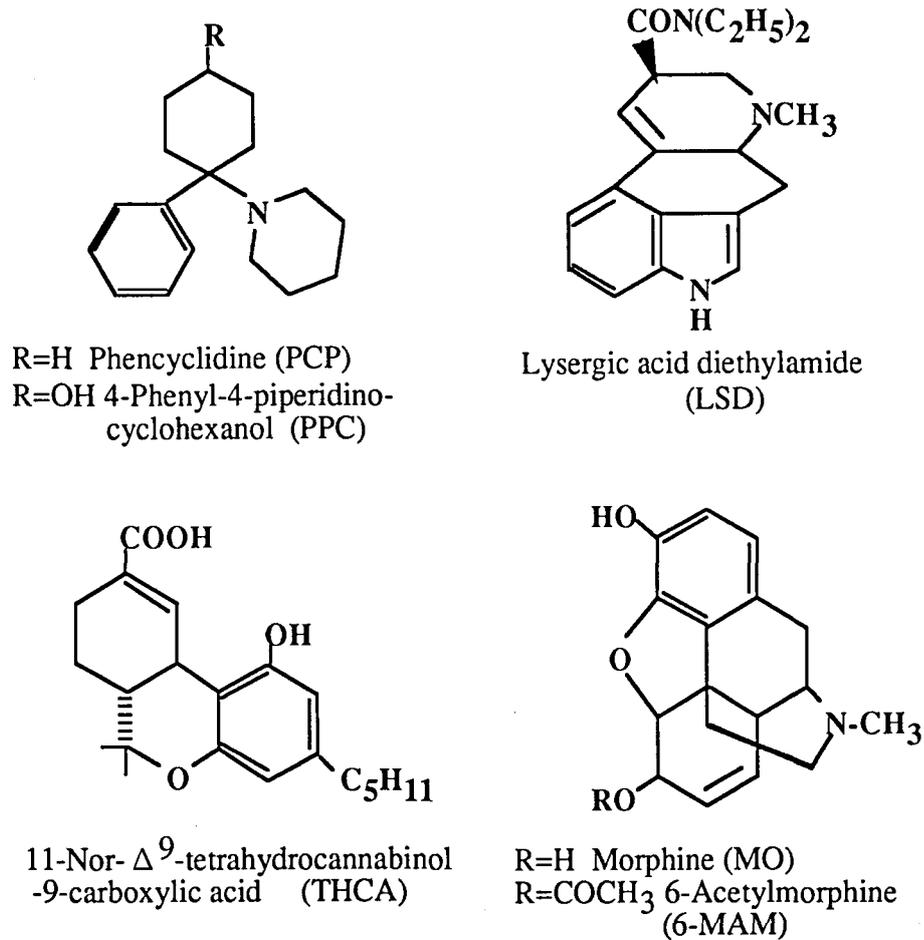


Fig.6 Structures of 6 abused drugs and their metabolites

(HPLC) により、他の薬物については GC/MS-SIM により行った。Fig. 7 に各薬物の ICR 値の対数値を示す。ICR 値はそれぞれの薬物の物性により広い範囲の値を示し、その差は3600倍にも及んだ。これらの薬物を、高い ICR 値 ($\log ICR > 0$)、中程度の ICR 値 ($-1 < \log ICR < 0$)、低い ICR 値 ($\log ICR < -1$) の3つのグループに分類した場合、

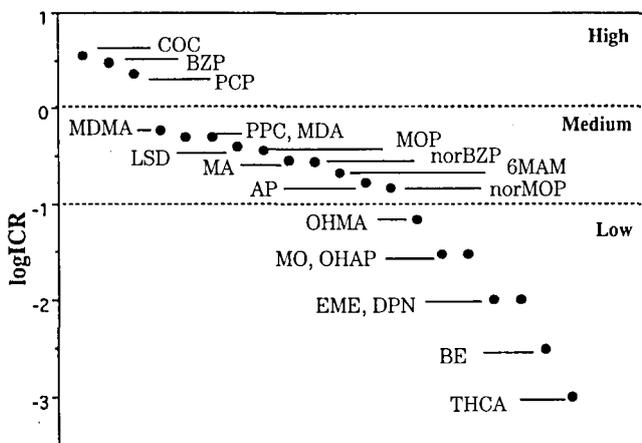


Fig.7 Classification of 20 drugs by ICRs into hair

COC, BZP, PCP 等の塩基性薬物が高い ICR 値を示すグループに分類された。一方、酸性薬物である THCA や両性薬物である BE などは低い ICR 値を示すグループに分類されており、これらと比較して塩基性薬物の ICR 値は高い値となることが示された。

4-2. 薬物のメラニン親和性と ICR 値

In vitro 実験において、20種類の薬物のメラニン親和性を測定した。各薬物のメラニン親和性は次の通り算出した。各薬物溶液とメラニンの懸濁液を混和しインキュベーションした後、メンブランフィルターを通し、非結合薬物濃度を GC/MS もしくは HPLC で測定した。メラニンに結合した薬物濃度はコントロール値から非結合薬物濃度を差し引くことにより算出して、Langmuir の吸着等温式にあてはめて算出したk値をメラニン親和性とした¹¹⁹⁾。測定の結果、メラニン親和性は COC が最も高い値を示し、次いでアンフェタミン構造の窒素にベンジル基が導入された BZP 及び PCP などの塩基性薬物が高い値を示した。一方、酸性薬物である THCA が最も低い値を示し、他にも構造内にカルボキシル基を有する BE や水酸基を有する薬物などが低いメラニン親和性を示した。また、各薬物の ICR

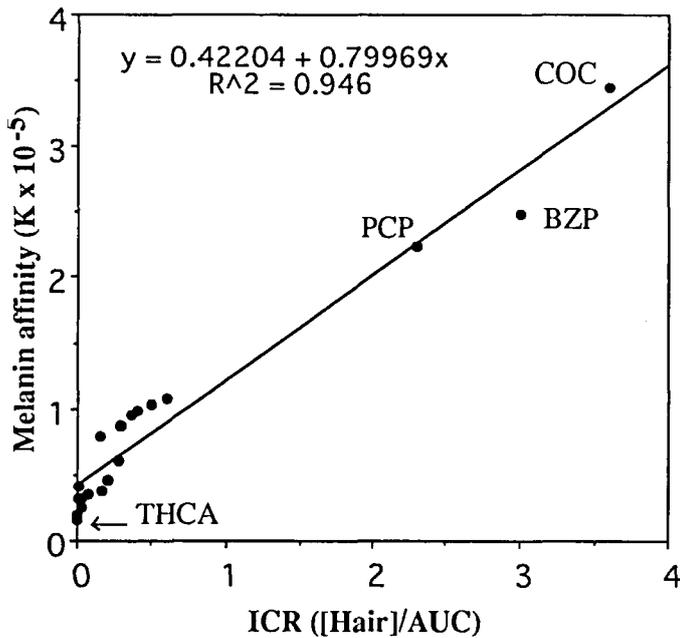


Fig.8 Relationship between melanin affinity and ICRs on 20 drugs

値とメラニン親和性との関係を検討したところ、ICR 値とメラニン親和性の間には正の相関が見られ、その相関係数は0.973と極めて高い値を示した (Fig. 8)。このことから、薬物の毛髪への移行にはメラニン親和性が大きく関与しており、そのメラニン親和性には薬物の塩基性が重要な要因であることが明らかとなった。

4-3. 薬物の脂溶性と ICR 値

20種類の依存性薬物の脂溶性を Kaliszan ら¹²⁰⁾の方法に従い、HPLCにより測定した。HPLCにおいて、ODS カラムを用いて、移動相の有機溶媒濃度を変えることにより各濃度における薬物のキャパシティーファクターの対数値 $\log k'$ を求め、有機溶媒濃度が0となった時の $\log k'$ 値を外挿した値、すなわち $\log k'w$ 値を脂溶性を表わすパラメーターとして用いた。測定の結果、 $\log k'w$ は THCA が最も高い値を示し、次いで PCP, BZP, COC であった。また、20種類の薬物の $\log k'w$ と ICR 値間の相関係数は0.201と低いものの、非常に高い $\log k'w$ を示す THCA を除いた場合、その相関係数は0.875となった (Fig. 9)。以上の結果より、脂溶性も薬物の毛髪への移行性に関与していることが示された。しかし、THCA は極めて高い脂溶性を示すにもかかわらず、その ICR 値は20化合物中最も低い値であった。THCA を除く19化合物は、その構造中にアミノ基を有する塩基性もしくは両性の化合物であるが、THCA は構造内にカルボキシル基を含む酸性化合物であり、メラニン親和性が最も低い化合物であるためではないかと思われる。

現在までに数多くの薬物が生体中のメラニン含有組織に

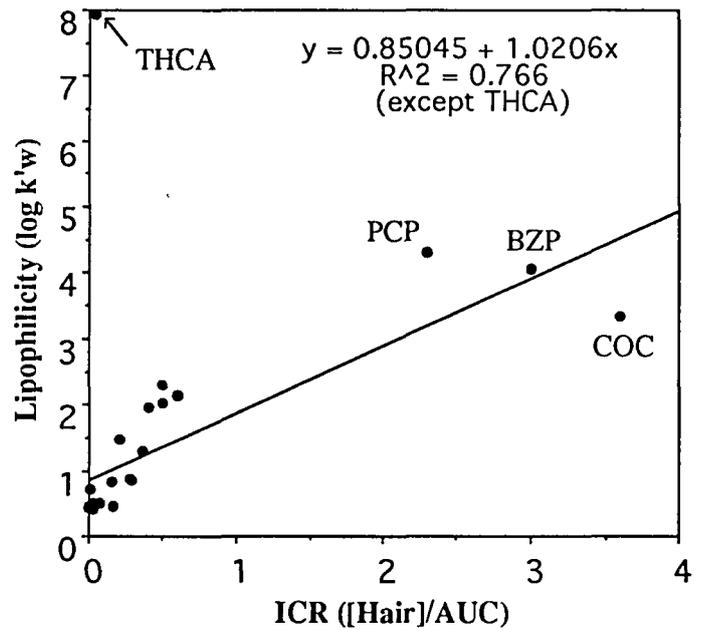


Fig.9 Relationship between lipophilicity and ICRs on 19 drugs. The correlation coefficient was calculated using the two factors of 19 drugs excluding THCA.

蓄積されることが報告されている。メラニンはいンドール-5,6-キノンユニットの酸化重合体であり、その構造内には、フリーのカルボキシル基やフェノール性水酸基を有するドーパクロム、5,6-ジヒドロキシインドールカルボン酸などが存在する。Larsson¹⁰⁵⁾らは塩基性薬物であるクロロプロマジン、クロロキン、パラコートについて *in vitro* の系でウシの眼中メラニン画分との結合を検討しているが、その結果、これら薬物は金属イオンによりその結合が阻害され、その阻害は金属の原子価が上がるほど強く現れることを報告している。また、溶液のpHを下げることも、これら薬物とメラニンとの結合が阻害されることから、薬物とメラニンとの結合には静電的相互作用が関与していると述べている。一方、Stepien¹²¹⁾らは、合成ドーパメラニンとクロロキンの結合におけるpH、イオン強度、有機溶媒の存在の影響を検討している。また、メラニン中のカルボキシル基をメチル化して薬物との結合に及ぼす影響を検討し、クロロキンとメラニンとの結合には、静電的相互作用だけではなく、メラニン中のインドール環と薬物の芳香環との van der Waals 力や疎水の相互作用なども関与していることを示した。さらに Zane¹²²⁾らは、様々な物性をもつ27薬物のメラニン含有組織への分布を調べている。薬物の組織分布状態を、投与後5分と96時間後に有色系 Long-Evans ラットにおけるオートラジオグラムで評価したところ、初期の5分間での薬物のぶどう膜中 (メラニン含有組織) への移行には、その薬物の酸・塩基性、pKa (イオン化状態)、薬物-メラニン結合エネルギー、 $\log P_{o/w}$ (オクタノール・水分配係数) が最も関与してお

り、96時間後での薬物のメラニン含有組織における保持には、それに加えその薬物の分布容積が関与していることを報告している。

今回の研究では、メラニン含有組織のひとつである毛髪において、薬物の毛髪への移行性を示す ICR 値には、メラニン親和性と脂溶性が大きく関与していることが明らかとなった。また、メラニン親和性の高い化合物はいずれも塩基性化合物であり、構造中にカルボキシル基を有する BE や THCA はメラニン親和性が低いことが示された。特に酸性化合物である THCA は、極めて高い脂溶性を示し、さらに構造中にメラニン中のインドール環と van der Waals 力による相互作用が可能な芳香環を有するにもかかわらず、そのメラニン親和性及び ICR 値が極めて低いことが明らかとなった。メラニンと薬物との結合には前述したように、静電的相互作用が大きく関与しており、メラニン中の酸性基とイオニックな相互作用を及ぼすことができる塩基性薬物の方が、毛髪への移行性が高いのではないかと考えられる。

このように、メラニンは薬物、特に塩基性薬物の毛髪への移行に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、ヒトの白髪や白色ラット毛髪にも、少量ながら薬物が検出されており、必ずしもメラニン親和性だけで薬物の毛髪への移行が説明できるわけではない。メラニン色素以外にも、毛髪の主成分であるケラチン蛋白も多くの酸性基をその構造中に有しており^{98,99}、塩基性薬物との相互作用が考えられる。また、毛髪中に少量ながら存在する脂質も、薬物との非特異的な結合に関与しているのではないかと考えられる⁹⁹。

5. 裁判化学的応用—毛髪分析による覚せい剤とアンフェタミン系医薬品との摂取識別—

日本の最大の薬物乱用問題は覚せい剤の乱用とそれに係わる犯罪である。現在、覚せい剤 MA, AP の不正使用証明は、尿中からの MA, AP の検出により行われている。しかし、アンフェタミン系医薬品のなかには、デプレニール¹²³⁻¹²⁶、ベンツフェタミン¹²⁷⁻¹³⁰、フルフェノレックス^{127,128}、メフェノレックス¹³¹、フェンプロレックス¹³²、フェネチリン^{133,134}のように、体内で覚せい剤に代謝され、これらが尿中に主代謝物として排泄される合法的医薬品が存在する。これらの薬物と覚せい剤の摂取識別を行うためには、生体試料中から未変化体、もしくはその薬物に特徴的な代謝物の検出が必要である。しかしながら、これら化合物のほとんどは速やかに体内から消失するため、血液や尿を試料として用いた分析では、一定時間を経ると、合法的な医薬品を摂取したのか、あるいは覚せい剤を摂取したのかの識別が困難な場合がある。

前述したように、薬物の血液から毛髪への移行性は、その物性により異なり、毛髪中の各薬物濃度比は血液中や尿

中のそれとは異なる様相を示す。また、一度取り込まれた薬物は長期間にわたり毛髪中に保持される。これらの毛髪の特性を考慮すると、毛髪試料を用いれば、時間を経ても未変化体が検体中から検出できる可能性が考えられ、過去のアンフェタミン系医薬品使用と覚せい剤使用の識別にも適用できるのではないかと考えられる。そこで代表的なアンフェタミン系医薬品であるデプレニール (R(-)-N-メチル-N-(1-フェニル-2-プロピル)-2-プロパルギルアミン, DPN)、ベンツフェタミン (1-フェニル-2-(N-メチル-N-ベンジルアミノ)プロパン, BZP) 及びフェネチリン (7-[2-(α -メチルフェニルエチルアミノ)エチル]-テオフィリン, FNT) の3薬物 (Fig.10) について、まず動物実験モデルを用いて、未変化体とその代謝物の血中から毛髪への移行性の違いを調べた。さらにヒトにおいて、毛髪分析により覚せい剤との摂取識別が可能であるかを検討し、裁判化学の分野における毛髪分析の有用性を示した。

なお、毛髪からのこれら3種のアンフェタミン系医薬品の抽出は、3で述べた方法と同様に、メタノール/5 M 塩酸 (20:1) 溶液を用いて行い、分析は、血漿試料及び毛髪試料の酸性メタノール抽出物を固相カラムにより精製し、TFAA により誘導体化した後、GC/MS-SIM により行った。この際、内部標準物質として各々の化合物の重水素標識体を合成して用いた。

5-1. 毛髪分析による DPN の摂取識別

DPN は、モノアミン酸化酵素 B 型の特異的阻害剤であり、パーキンソン病治療薬として、特に欧州で広く使用されている。DPN は摂取すると、ヒト尿中から MA 及び AP が主代謝物として検出される¹²³⁻¹²⁶が、未変化体やその脱メチル体 (デスメチルデプレニール; norDPN) は消失が速いために、一定時間を経た尿中から検出することは困難である。一般に治療用に用いられている DPN は R(-)-エナンチオマーであり¹³⁵、摂取すると R(-)-MA, R(-)-AP 及びそれらの水酸抱合体に代謝される¹²⁴。現在日本で乱用されている覚せい剤 MA, AP はそのほとんどが S(+)-エナンチオマーであることから¹³⁶、生体試料中の MA, AP のキラル分析を行うことにより、覚せい剤と医薬品 DPN との摂取識別の参考となることが現在までに報告されている^{125,126,137,138}。しかし、代謝物である MA, AP のキラル分析を行うだけでは、実際に DPN を摂取したのかを確認することは難しい。

まず、塩酸 DPN 10 mg/kg をラットに10日間腹腔内投与し、DPN 及び3種の主代謝物、norDPN, MA, AP の血漿中 AUC 値と毛髪中の薬物濃度を測定して ICR 値を求めた。その結果、DPN と norDPN の ICR 値は MA, AP と比較して低く、1/4から1/15程度であることが示された。また、本法を用いて塩酸 DPN を毎日15 mg、5日間摂取したヒト (n=3) の尿中、ヒゲ中及び頭髪中の薬物濃度を

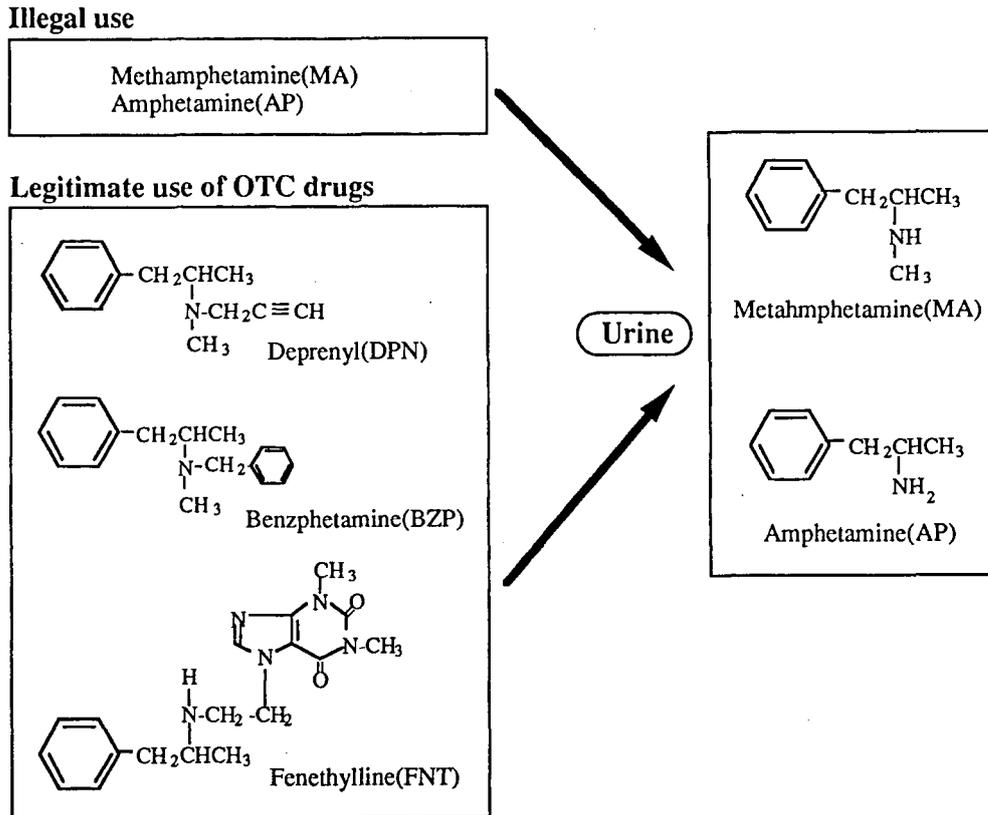


Fig.10 MA and/or AP in urine
They are excreted into urine after illegal use of MA
and/or AP, and legitimate use of DPN, BZP and FNT.

測定したところ、尿中には MA, AP が96時間後まで検出されたが、DPN は36時間以後は検出不可能であった。一方、頭髪中からは MA (1.30-2.25 ng/mg), AP (0.42-0.99 ng/mg) と共に、DPN (trace level) 及び norDPN (0.17-0.29 ng/mg) が検出され、ヒゲからも同様に検出された。このことから、毛髪中の DPN もしくは norDPN を検出することにより、覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。

なお、DPN 使用者と実際の覚せい剤 MA 乱用者 (n=39) の頭髪中の MA, AP 濃度を比較したところ、DPN 使用者の [AP]/[MA] は0.32-0.54 であり、MA 乱用者の [AP]/[MA] は0.11±0.05 であった。また、DPN 使用者と覚せい剤乱用者の頭髪中の MA のキラル分析を行ったところ、DPN 使用者の頭髪からはR(-)-エナンチオマーの MA のみが検出され、覚せい剤乱用者の頭髪からは、s(+)-エナンチオマーの MA のみが検出された。これらのことから、頭髪中の [AP]/[MA] の値もしくは MA, AP の光学活性は、DPN 使用者と覚せい剤乱用者の摂取識別の参考になると思われる。

5-2. 毛髪分析による BZP の摂取識別

BZP は食欲減退剤として主に欧米で使用されている医

薬品である。しかしながら、服用すると体内で速やかに覚せい剤 MA 及び AP に代謝され、尿試料からは未変化体の検出が極めて困難であることが知られている¹³⁹⁻¹⁴²⁾。

まず、塩酸 BZP をラットに10 mg/kg ずつ10日間腹腔内投与し、BZP と4種の主代謝物、すなわち脱メチル体(デスマチルベンツフェタミン; norBZP)、水酸化体(p-ヒドロキシデスマチルベンツフェタミン; OHnorBZP)、脱ベンジル体(MA, AP)の血漿中 AUC 値及び毛髪中濃度を測定して ICR 値を求めた。その結果、BZP の ICR 値は MA, AP の ICR 値の5-15倍もの値となり、BZP は他の代謝物と比較して、血中から毛髪への移行性が極めて高いことが示された。また、本法を BZP を1日1回 30 mg、5日間使用したヒト (n=2) の尿、頭髪及び陰毛に適用した。その結果、BZP は尿中では速やかに消失し、摂取1時間後までしか検出されなかった。また、OHnorBZP, AP が尿中主代謝物として検出されたが、72時間後の試料からは AP のみが検出され、他の代謝物はほとんど検出されなかった。一方、頭髪中からは、MA, AP がそれぞれ0.10, 1.06-1.66 ng/mg 検出され、尿中からほとんど検出できなかった BZP, norBZP もそれぞれ0.14-0.56, 0.29-0.63 ng/mg と比較的高濃度検出された (Fig. 11)。ま

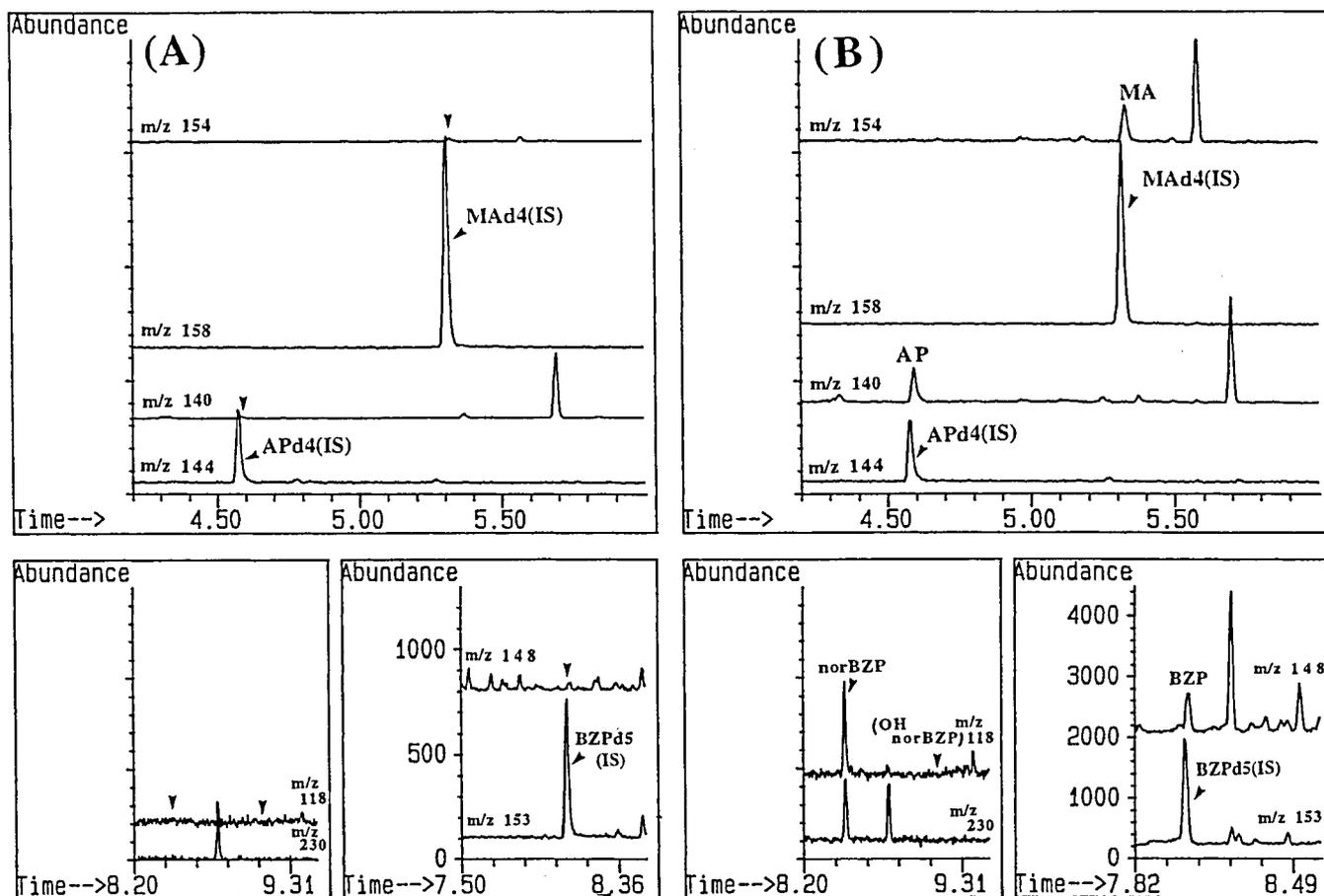


Fig.11 GC/MS-SIM chromatograms of human hair extracts

Scalp hair sample was spiked with IS compounds, extracted and derivatized with TFAA. A: control scalp hair, B: scalp hair after 3 weeks from the first dosage of BZP-HCl (oral, 30 mg x 5 days).

た、陰毛からも同様にこれらの薬物が検出された。このことから、頭髮及び陰毛中のBZP, norBZPを検出することにより、BZPと覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。なお、BZP使用者の頭髮中のAP濃度はMA濃度の10倍もの値を示しており、頭髮中の[AP]/[MA]の値もBZP使用者と覚せい剤乱用者の摂取識別の参考になることが示された。

5-3. 毛髪分析によるFNTの摂取識別

FNTは精神賦活剤として主に欧州で使用されている医薬品であり、体内で脱アルキル化を受けAPを尿中に排泄することが報告されている^{133,134}。Yoshimuraら¹³⁴は、FNTをヒトに30 mg経口投与した際の尿中主代謝物は7-(カルボキシメチル)テオフィリン及びAPであるが、7-(カルボキシメチル)テオフィリンの尿中からの消失が速いため、摂取48時間後の尿中からはAPのみが高濃度検出されることを報告している。そのため、摂取後時間を経た

尿試料を用いた薬物分析では、FNTとAPとの使用識別が困難な場合があると考えられる。

まず、塩酸FNT 5 mg/kgをラットに10日間腹腔内投与し、FNT及び代謝物APの血漿中AUC値と毛髪中の薬物濃度をGC/MSにて測定してICR値を求めた。その結果、FNTのICR値は0.93とAPの4.2倍もの高い値を示し、FNTがAPと比較して毛髪に移行しやすいことが示された。一方、ヒト被験者5名にFNTを50 mgずつ3日間、1名に1日間経口で投与し、投与後経時的に尿中薬物濃度を測定するとともに、投与4週間後の頭髮中の薬物濃度を測定した。尿中ではAPが24時間後でも高濃度検出されたにもかかわらず、FNTは12時間後までしか検出されなかった。一方、ヒト頭髮中薬物濃度は、3日間投与群でFNT 0.51 ± 0.23 , AP 0.35 ± 0.12 ng/mgであり、1回投与したのみの被験者の頭髮中からもそれぞれ0.25, 0.11 ng/mg検出された。また、頭髮中のFNT濃度は、

一例を除きAPの1.2から2.7倍であった。このことから、毛髪中のFNTを検出することにより、覚せい剤との摂取識別が可能であることが示された。

以上の結果から、尿試料では未変化体(DPN, BZP, FNT)や特徴的な代謝物(norDPN, norBZP)が検出困難な場合でも、毛髪を用いれば長期間にわたり検出することが可能であり、毛髪はこれらアンフェタミン系医薬品と覚せい剤との摂取識別を行うのに有用な試料であることが明らかとなった。

6. おわりに

本研究により薬物の毛髪への移行に関する以下の知見が得られた。

1. 動物実験モデルを用いて、コカイン及び代謝物の血中パラメーターと毛髪中濃度を比較し、薬物の血中から毛髪への移行性はその物性と密接に関連することを明らかにした。

2. 血中の薬物がどの程度の割合で毛髪中へ移行するかを示す指標として、AUC値に対する毛髪中薬物濃度の比をICR値と定義し、アンフェタミン系薬物において、構造の変化がICR値に及ぼす影響を検討した。その結果、薬物の塩基性及び脂溶性が毛髪への移行に関与していることを明らかにした。

3. *In vitro* の系において、ICR値は薬物のメラニン親和性と脂溶性の両者と高い相関を示し、特に塩基性薬物の毛髪への移行には、メラニン親和性が関与することを明らかにした。

4. 毛髪分析は、他の生体試料を用いた分析では困難であるアンフェタミン系医薬品と覚せい剤との摂取識別が可能であり、裁判化学の分野でも利用価値が高いことを示した。

毛髪試料には主に、1)毛髪内の薬物分布状態と薬物使用歴がよく一致し、数年にも及ぶ長期間の薬物使用状況をモニタリングできる、2)未変化体を検出しやすい等、他の試料では得られない情報を得ることができる、3)採取、保存が容易である、という大きな利点がある。すでに裁判化学の領域ではこれらの利点をいかして、毛髪分析による過去の不法薬物の使用証明及び使用歴の推定が行われている。臨床化学の分野においても、毛髪分析を用いた患者に対する薬物治療へのコンプライアンス⁸⁷⁻⁹⁵⁾や、母親及び新生児の頭髪中の薬物分析を行うことにより、母親の自己申告に頼りしかなかった妊娠中の薬物使用による胎児への薬物暴露の評価⁷⁴⁻⁸⁶⁾などが可能となった。一方、環境衛生化学の分野では、発ガン性を有するダイオキシンなどの環境汚染物質のヒトへの長期暴露評価に毛髪分析が注目されている⁹⁷⁾。頭髪以外の毛髪、例えばヒゲ、陰毛、脇毛、臍毛からの薬物の検出も報告されており^{9,47,51,139,140)}、分析手段

としてより一般的に利用が可能となってきた。また、長期間の薬物モニタリングだけではなく、薬物が摂取後さきわめて速く毛根部に到達することを利用して、毛根を用いた薬物分析による急性中毒の原因物質解明にも応用されている^{141,142)}。今後さらに、化合物の毛髪への取り込み機構に関する基礎的な知見が蓄積されていくことにより、毛髪分析が薬学の様々な分野に応用されていくことが期待される。

謝 辞

本研究遂行にあたりご支援いただきました寺尾允男前薬品部部長、小嶋茂雄薬品部部長に深く感謝致します。また、数々のご協力、ご助言をいただきました、薬品部ならびに毒性部の皆様に心より感謝致します。そして、本研究総括に際し、適切なご指導、ご鞭撻を賜りました、千葉大学薬学部今成登志男教授及び澤井哲夫教授に謹んで感謝致します。

文 献

- 1) Baumgartner, A. M., Jones, P. F., Baumgartner, W. A. and Black, C. T.: *J. Nucl. Med.*, **20**, 748-752 (1979)
- 2) Ishiyama, I., Nagai, T. and Toshida, S.: *J. Forensic. Sci.*, **28**, 380-385 (1983)
- 3) Niwaguchi, T., Suzuki, S. and Inoue, T.: *Arch. Toxicol.*, **52**, 157-164 (1983)
- 4) Suzuki, O., Hattori, H. and Asano, M.: *J. Forensic. Sci.*, **29**, 611-617 (1984)
- 5) Suzuki, S., Inoue, T., Hori, H. and Inayama, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **13**, 176-178 (1989)
- 6) Nakahara, Y., Takahashi, K., Takeda, Y., Konuma, K., Fukui, S. and Tokui, T.: *Forensic. Sci. Int.*, **46**, 243-254 (1990)
- 7) Nakahara, Y., Takahashi, K., Shimamine, M. and Takeda, Y.: *J. Forensic. Sci.*, **36**, 70-78 (1991)
- 8) Nakahara, Y., Shimamine, M. and Takahashi, K.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 253-257 (1992)
- 9) Nakahara, Y., Takahashi, K. and Konuma, K.: *Forensic. Sci. Int.*, **63**, 109-119 (1993)
- 10) Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K. and Konuma, K.: *Adv. in Chem. Diagn. Treat. of Met. Dis.*, **2**, 187-199 (1994)
- 11) Kintz, P., Cirimele, V., Tracqui, A. and Mangin, P.: *J. Chromatogr. B.*, **670**, 162-166 (1995)
- 12) Nakahara, Y.: *Forensic. Sci. Int.*, **70**, 135-153 (1995)
- 13) Takayama, N., Tanaka, S. and Hayakawa, K.: *Biomed. Chromatogr.*, **11**, 25-28 (1997)
- 14) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 157-164 (1997)
- 15) Moeller, M. R., Fey, P. and Wennig, R.: *Forensic. Sci. Int.*, **63**, 185-206 (1993).
- 16) Baumgartner, W. A., Black, C. T., Jones, P. F. and Bland, W. H.: *J. Nucl. Med.*, **23**, 790-792 (1982)
- 17) Martz, R., Donnelly, B., Fetterolf, D., Lasswell, L., Hime, G. W. and Hearn, W. L.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 279-281 (1991)
- 18) Harkey, M. R., Henderson, G. L. and Zhou, C.: *J. Anal.*

- Toxicol.*, **15**, 260-265 (1991)
- 19) Cone, E. J., Yousefnejad, D., Darwin, W. D. and Maguire, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 250-255 (1991)
- 20) Mieczkowski, T., Barzelay, D., Gropper, B. and Wish, E.: *J. Psychoactive Drugs*, **23**, 241-249 (1991)
- 21) Fritch, D., Groce, Y. and Rieders, F.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 112-114 (1992)
- 22) Henderson, G. L., Harkey, M. R., Zhou, C. and Jones, R. T.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 199-201 (1992)
- 23) Pirozhkov, S. V., Watson, R. R. and Eskelson, C. D.: *Forensic Sci. Int.*, **57**, 99-107 (1992)
- 24) Ferko, A. P., Barbieri, E. J., DiGregorio, G. J. and Ruch, E. K.: *Life Sci.*, **51**, 1823-1832 (1992)
- 25) Moller, M. R., Fey, P. and Rimbach, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 291-296 (1992)
- 26) Janzen, K.: *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 402 (1992)
- 27) Springfield, A. C., Cartmell, L. W., Aufderheide, A. C., Buikstra, J. and Ho, J.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 269-275 (1993)
- 28) Mieczkowski, T. and Newel, R.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 85-98 (1993)
- 29) Martinez, F., Poet, T. S., Pillai, R., Erickson, J., Estrada, A. L. and Watson, R. R.: *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 138-142 (1993)
- 30) Tagliaro, F., Antonioli, C., De-Battisti, Z., Ghielmi, S. and Marigo, M.: *J. Chromatogr. A.*, **674**, 207-215 (1994)
- 31) Selavka, C. M. and Rieders, F.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 155-164 (1995)
- 32) Smith, F. P. and Kidwell, D. A.: *Forensic Sci. Int.*, **83**, 179-189 (1996)
- 33) Henderson, G. L., Harkey, M. R., Zhou, C., Jones, R. T. and Jacob III, P.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 1-12 (1996)
- 34) Valente, D., Cassini, M., Pigliapochi, M. and Vansetti, G.: *Clin. Chem.*, **27**, 1952-1953 (1981)
- 35) Curcuruto, O., Guidugli, F., Traldi, P., Sturaro, A., Tagliaro, F. and Marigo, M.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **6**, 434-437 (1992)
- 36) Cone, E. J., Darwin, W. D. and Wang, W. L.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 55-68 (1993)
- 37) Tagliaro, F., Poiesi, C., Aiello, R., Dorizzi, R., Ghielmi, S. and Marigo, M.: *J. Chromatogr.*, **638**, 303-309 (1993)
- 38) Wang, W. L., Darwin, W. D. and Cone, E. J.: *J. Chromatogr. B.*, **660**, 279-290 (1994)
- 39) Kintz, P. and Mangin, P.: *Forensic Sci. Int.*, **73**, 93-100 (1995)
- 40) Jurado, C., Gimenez, M. P., Menendez, M. and Repetto, M.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 165-174 (1995)
- 41) Kidwell, D. A.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 272-284 (1993)
- 42) Puschel, K., Thomasch, P. and Arnold, W.: *Forensic Sci. Int.*, **21**, 181-186 (1983)
- 43) Marigo, M., Tagliaro, F., Poiesi, C., Lafisca, S. and Neri, C.: *J. Anal. Toxicol.*, **10**, 158-161 (1986)
- 44) Franceschin, A., Morosini, L. and Dell'Anna, L.: *Clin. Chem.*, **33**, 2125 (1987)
- 45) Tagliaro, F., Marigo, M., Dorizzi, R. and Rigolin, F.: *Clin. Chem.*, **34**, 1365-1366 (1988)
- 46) Sachs, H. and Arnold, W.: *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **27**, 873-877 (1989)
- 47) Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 1-7 (1990)
- 48) Goldberger, B. A., Caplan, Y. H., Maguire, T. and Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 226-231 (1991)
- 49) Nakahara, Y., Takahashi, K., Shimamine, M. and Saitoh, A.: *Arch. Toxicol.*, **66**, 669-674 (1992)
- 50) Poletini, A., Groppi, A. and Montagna, M.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 217-225 (1993)
- 51) Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 657-662 (1993)
- 52) Sachs, H., Denk, R. and Raff, I.: *Int. J. Legal. Med.*, **105**, 247-250 (1993)
- 53) Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: *J. Chromatogr. B.*, **657**, 93-101 (1994)
- 54) Edder, P., Staub, C., Veuthey, J. L., Pierroz, I. and Haerdi, W.: *J. Chromatogr. B.*, **658**, 75-86 (1994)
- 55) Moeller, M. R. and Mueller, C.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 125-133 (1995)
- 56) Staub, C.: *Forensic Sci. Int.*, **70**, 111-123 (1995)
- 57) Kintz, P., Cirimele, V. and Mangin, P.: *Ann. Biol. Clin. Paris*, **53**, 565-567 (1995)
- 58) Gygi, S. P., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 387-391 (1995)
- 59) Wilkins, D. G., Haughey, H. M., Krueger, G. G. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 492-498 (1995)
- 60) Wilkins, D., Rollins, D. E., Seaman, J., Haughey H., Krueger, G. and Foltz, R.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 269-274 (1995)
- 61) 中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理: *分析化学*, **44**, 747-755 (1995)
- 62) Gygi, S. P., Joseph Jr., R. E., Cone, E. J., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 495-501 (1996)
- 63) Gygi, S. P., Colon, F., Raftgians, R. B., Galinsky, R. E., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 282-287 (1996)
- 64) Rollins, D. E., Wilkins, D. G. and Krueger, G. G.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 391-397 (1996)
- 65) Gygi, S. P., Wilkins, D. G. and Rollins, D. E.: *J. Pharm. Sci.*, **86**, 209-215 (1997)
- 66) Baumgartner, A. M., Jones, P. F. and Black, C. T.: *J. Forensic Sci.*, **26**, 576-581 (1981)
- 67) Sramek, J. J., Baumbartner, W. A., Tallos, J. A., Ahrens T. N., Heiser, J. F. and Blahd, W. H.: *Am. J. Psychiatry*, **142**, 950-953 (1985)
- 68) Slawson, M. H., Wilkins, D. G., Foltz, R. L. and Rollins, D. E.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 350-354 (1996)
- 69) Sakamoto, T., Tanaka, A. and Nakahara, Y.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 124-130 (1996)
- 70) Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K., Foltz, R. L. and Mieczkowski, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 323-329 (1996)
- 71) Kintz, P., Cirimele, V. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **40**, 619-622 (1995)
- 72) Wilkins, D., Haughey, H., Cone, E., Huestis, M., Foltz, R. and Rollins, D.: *J. Anal. Toxicol.*, **19**, 483-491 (1995)
- 73) Cirimele, V., Sachs, H., Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 13-16 (1996)
- 74) Graham, K., Koren, G., Klein, J., Schneiderman, J. and Greenwald, M.: *JAMA*, **262**, 3328-3330 (1989)
- 75) Callahan, C. M., Grant, T. M., Phipps, P., Clark, G., Novack, A. H., Streissguth, A. P. and Raisys, V. A.: *J. Pediatr.*, **120**, 763-768 (1991)
- 76) Forman, R., Schneiderman, J., Klein, J., Graham, K., Greenwald, M. and Koren, G.: *Life Sci.*, **50**, 1333-1341

- (1992)
- 77) Marques, P. R., Tippetts, A. S. and Branch, D. G.: *Am. J. Drug Alcohol Abuse*, **19**, 159-75 (1993)
- 78) Kintz, P., Kieffer, I., Messer, J. and Mangin, P.: *J. Forensic Sci.*, **38**, 119-123 (1993)
- 79) Kintz, P. and Mangin, P.: *J. Forensic. Sci. Soc.*, **33**, 139-142 (1993)
- 80) Kintz, P. and Mangin, P.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 99-104 (1993)
- 81) DiGregorio, G. J., Barbieri, E. J., Ferko, A. P. and Ruch, E. K.: *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 445-446 (1993)
- 82) Grant, T., Brown, Z., Callahan, C., Barr, H. and Streissguth, A. P.: *Obstet. Gynecol.*, **83**, 524-531 (1994)
- 83) Klein, J., Forman, R., Eliopoulos, C. and Koren, G.: *Ther. Drug Monit.*, **16**, 67-70 (1994)
- 84) Eliopoulos, C., Klein, J., Phan, M. K., Knie, B., Greenwald, M., Chitayat, D. and Koren, G.: *JAMA*, **271**, 621-627 (1994)
- 85) Strano - Rossi, S., Chiarotti, M., Fiori, A., Auriti, C. and Seganti, G.: *Life Sci.*, **59**, 1909-1915 (1996)
- 86) Charotti, M., Strano - Rossi, S., Offidani, C. and Fiori, A.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 555-558 (1996)
- 87) Uematsu, T., Sato, R., Suzuki, K., Yamaguchi, S. and Nakashima, M.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 239-244 (1989)
- 88) Sato, R., Uematsu, T., Sato, R., Yamaguchi, S. and Nakashima, M.: *Ther. Durg Monit.*, **11**, 686-691 (1989)
- 89) Uematsu, T. and Sato, R.: *Ther. Durg Monit.*, **12**, 183-187 (1990)
- 90) Matsuno, H., Uematsu, T. and Nakashima, M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **29**, 187-194 (1990)
- 91) Uematsu, T., Sata, R., Fujimori, O. and Nakashima, M.: *Arch. Dermatol. Res.*, **282**, 120-125 (1990)
- 92) Uematsu, T., Miyazawa, N., Okazaki, O. and Nakashima, M.: *J. Pharm. Sci.*, **81**, 45-48 (1992)
- 93) Uematsu, T., Kondo, K., Yano, S., Yamaguchi, T., Uemura, K. and Nakashima, M.: *J. Pharm. Sci.*, **83**, 42-45 (1994)
- 94) Nakano, M., Uematsu, T., Sato, H., Kosuge, K., Nishimoto, M. and Nakashima, M.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **47**, 195-202 (1994)
- 95) Uematsu, T., Nakashima, M., Fujii, M., Hamano, K., Yasutomi, M., Kodaira, S., Kato, T., Kotake, K., Oka, H. and Matsuike, T.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 109-113 (1996)
- 96) Hold, K. M., Wilkins, D. G., Crouch, D. J., Rollins, D. E. and Maes, R.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 345-349 (1996)
- 97) Miyata, H., Nakano, T., Aozasa, O., Ohta, S., Huang, C. W. and Tsai, H. T.: *Organohalogen Compd.*, **30**, 154-157 (1996)
- 98) 日本パーマネントウエーブ液工業組合編：毛髪とパーマネントウエーブ，新美容出版，東京，pp. 26-63 (1989)
- 99) Cone, E. J. and Joseph Jr., R. E.: "Drug testing in hair," eds. by Kintz, P., CRC Press, Florida, pp. 69-93 (1996)
- 100) Kindquist, N. G.: *Acta Radiol. Suppl.*, **325**, 1-92 (1973)
- 101) Gerstenberg, B., Schepers, G., Voncken, P. and Volkel, H.: *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 143-148 (1995)
- 102) Green, S. and Wilson, J.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 121-123 (1996)
- (1996)
- 103) Reid, R. W., O'Connor, F. L. and Crayton, W.: *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **32**, 405-410 (1994)
- 104) Joseph Jr., R. E., Su, T. P. and Cone, E. J.: *J. Anal. Toxicol.*, **20**, 338-344 (1996)
- 105) Larsson, B. and Tjalve, H.: *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1181-1187 (1979)
- 106) Kalasinsky, K. S., Magluilo Jr., J. and Schaefer, T.: *J. Anal. Toxicol.*, **18**, 337-341 (1994)
- 107) Nakahara, Y., Ochiai, T. and Kikura, R.: *Arch. Toxicology*, **66**, 586-589 (1992)
- 108) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Arch. Toxicology*, **68**, 54-59 (1994)
- 109) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 267-272 (1995)
- 110) Nakahara, Y., Takahashi, K., and Kikura, R.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1223-1227 (1995)
- 111) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1694-1699 (1995)
- 112) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Arch. Toxicol.*, **70**, 841-849 (1996)
- 113) Kikura, R., Nakahara, Y., Mieczkowski, T. and Tagliaro, F.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 165-177 (1997)
- 114) Kikura, R. and Nakahara, Y.: *J. Anal. Toxicol.*, **21**, 291-296 (1997)
- 115) Jeffcoat, A. R., Perez-Reyes, M., Hill, J. M., Sadler, B. M. and Cook, C. E.: *Drug Metab. Dispos.*, **17**, 153-159 (1989)
- 116) Ambre, J., Ruo, T., Nelson, J. and Belknap, S.: *J. Anal. Toxicol.*, **12**, 301-306 (1988)
- 117) "Clarke's isolation and identification of drugs," 2nd ed., eds. by Moffat, A. C., The pharmaceutical press, London, UK, pp. 489-490 (1986)
- 118) Corbett, J. F.: *J. S. D. C.*, Aug., 285 (1976)
- 119) Braweja, R., Sokoloski, T. D. and Patil, P. N.: *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1544-1547 (1997)
- 120) Kaliszan, R., Kaliszan, A. and Wainer, I. W.: *J. Chromatogr.*, **615**, 281-288 (1993)
- 121) Stepien, K. B. and Wolczok, T.: *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3359-3365 (1982)
- 122) Zane, P. A., Brindle, S. D., Gause, D. O., O'Buck, A. J., Raghaven, P. R. and Tripp, S. L.: *Pharm. Res.*, **7**, 935-941 (1990)
- 123) Reynolds, D. P., Elsworth, J. D., Blau, K., Sandlar, M., Lees, A. J. and Stern, G. M.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **6**, 542-544 (1978)
- 124) Karoum, E., Chuang, L. W., Eisler, T., Calne, D. B., Liebowitz, M. R., Quitkin, F. M., Klein, D. F. and Wyatt, R. J.: *Neurology*, **32**, 503-509 (1982)
- 125) Maurer, H. H. and Kramer, T.: *Arch. Pharm.*, **324**, 609 (1991)
- 126) Maurer, H. H. and Kraemer, T.: *Arch. Toxicol.*, **66**, 675-678 (1992)
- 127) Marsel, J., Doring, G., Remberg, G. and Spitteller, G.: *Z. Rechtsmedizin.*, **70**, 245-250 (1972)
- 128) Inoue, T. and Suzuki, S.: *Xenobiotica*, **16**, 691-698 (1986)
- 129) Budd, R. D. and Jain, N. C.: *J. Anal. Toxicol.*, **2**, 241 (1978)
- 130) Niwaguchi, T., Inoue, T. and Suzuki, S.: *Xenobiotica*, **12**, 617-625 (1982)

- 131) Blum, J. E.: *Arzneim. Forsch.*, **19**, 748-755 (1969)
- 132) Beckett, A. H., Shenoy, E. V. B. and Salmon, J. A.: *J. Pharm. Pharmac.*, **24**, 194-202 (1972)
- 133) Ellison, T., Levy, L., Bolger, J. W. and Okun, R.: *Eur. J. Pharmacol.*, **13**, 123-128 (1970)
- 134) Yoshimura, H., Yoshimitsu, T., Yamada, H., Koga, N. and Oguri, K.: *Xenobiotica*, **18**, 929-940 (1988)
- 135) Csanda, E., Antal, J., Antony, M. and Csanaky, A.: *J. Neural transm.*, **43**, 263-269 (1978)
- 136) 木倉瑠理, 島峯望彦, 中原雄二, 寺尾允男: 衛生試験所報告, **110**, 1-6 (1992)
- 137) 中原雄二, 高橋一徳, 石上暁子, 木倉瑠理, 島峯望彦: 衛生化学, **37**, 473-479 (1993)
- 138) 木倉瑠理, 石上暁子, 中原雄二: 衛生化学, **38**, 136-141 (1993)
- 139) Mangin, P. and Kintz, P.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 77-83 (1993)
- 140) Offidani, C., Rossi, S. S. and Chiarotti, M.: *Forensic Sci. Int.*, **63**, 105-108 (1993)
- 141) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Forensic Sci. Int.*, **84**, 157-164 (1997)
- 142) Nakahara, Y. and Kikura, R.: *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 969-972 (1997)