



## Ofloxacin in Human Hair Determined by High Performance Liquid Chromatography

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮澤, 典夫 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1472">http://hdl.handle.net/10271/1472</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 195号	学位授与年月日	平成 7年 2月10日
氏 名	宮 澤 典 夫		
論文題目	Ofloxacin in Human Hair Determined by High Performance Liquid Chromatography (高速液体クロマトグラフィーによるヒト毛髪内オフロキサシンの測定)		

博士(医学) 宮澤典夫

## 論文題目

Ofloxacin in Human Hair Determined by High Performance Liquid Chromatography  
(高速液体クロマトグラフィーによるヒト毛髪内オフロキサシンの測定)

## 論文内容の要旨

我々は先の研究で、長期間服用される抗精神病薬ハロペリドールのコンプライアンスを知る一つの方法として、毛髪が利用できることを報告した。すなわち、毛髪の生長速度を1 cm/monthと仮定し、数本の毛髪を1 cm毎に切り分けてそれぞれの毛髪切片の薬物濃度を測定すると、毛髪を採取した時点から遡った1ヶ月毎の服用量を推定することが可能であった。しかし、毛髪の生長速度を一律に1 cm/monthと仮定すると、毛髪内薬物分布と服薬歴がずれる場合があった。これは、毛髪の生長に、生長し続ける生長期、生長を停止している休止期といった周期があり、毛髪1本毎の生長速度が異なっているためと考えられる。そこで、毛髪1本だけで濃度測定ができ、毛髪の生長速度が分かれば、より正確な情報が得られるはずである。本研究では、メラニン親和性の強いオフロキサシン (OFLX) に注目し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による毛髪内微量薬物濃度測定法を開発、毛髪の生長速度や周期を知る方法について検討した。

〔方法〕 1. 毛髪内 OFLX 濃度測定：毛髪を界面活性剤と蒸留水で良く洗浄した後、毛根側から連続切断し、各切片を水酸化ナトリウム溶液中で加温、溶解し、クロロホルムで抽出した。OFLX 濃度は蛍光検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。2. 服用量と毛髪内濃度：OFLX の総投与量として100、300 (いずれも1日間で服用) 及び900mg (3日間で服用) を服用した成人男子12人の毛髪を服用2週間後に採取し、OFLX 濃度を測定した。3. 毛髪の生長速度の測定：OFLX の総投与量として200-1200mgを服用 (1-4日間) した成人男女7人から、服用2.7-5.3ヶ月後に毛髪を採取し、1本の毛髪を2mm間隔で切断して各切片に含まれる薬物濃度を測定した。毛髪内の薬物出現部位と、服用してから採取までの期間を対応させて毛髪の生長速度を算出した。

〔結果〕 1. 本測定法による検量線は、良好な直線性 ( $r=0.99$ ) を示し、検出限界は0.5ng/tubeであった。また、OFLX の回収率は90%以上であった。2. OFLX の総投与量として100、300及び900mgを服用した被験者12人のうち、100mgを服用した1人を除き、全員の毛髪から OFLX が検出された。この時、総投与量と毛髪内濃度は有意な相関 ( $r=0.87$ ) を示した。3. OFLX は1本の毛髪の2mm切片、1-3個以内にのみ検出された。7人の毛髪1本毎の生長速度は0.84-1.37cm/month (平均1.12 cm/month) であった。

これらの結果は頭皮から引き抜いて採取した毛髪によって得られたが、自然に脱落した毛髪では、服用数ヶ月後でも全く検出されないか、毛根付近にのみ検出された。

〔考察〕 HPLC による毛髪内 OFLX 微量濃度測定法を開発し、300mgを1日間だけ服用すれば毛髪より確実に検出できることが判明した。また、毛髪内 OFLX 濃度は総投与量と相関することより、本薬物の服薬歴の推定も毛髪内濃度から可能である。毛髪内に移行した OFLX は、服用時期に生長した毛髪内に保持されて、服用数ヶ月後でも、拡散する傾向は認められなかった。この性質を利用して毛髪の生長速度を算出した結果、毛髪1本毎に生長速度が異なることが明らかになった。また、自然に脱落した毛髪は休止期にあることが推定された。毛髪は過去の服薬歴を長期にわたり記録している大変有用な生体試料である。しかし、毛髪1本毎の生長速度が異なるため、正確な服薬歴の把握には毛髪の生長速

度と共に、周期を知ることが重要である。本測定法は、OFLX の通常使用量の服用で、毛髪1本の数mm単位での薬物濃度測定が可能で、毛髪1本毎の生長速度や周期を知ることができる。毛髪分析に本法を併用すれば、より正確な情報が得られると考えられる。また、OFLX の服薬歴で個人を特定することもできるため、法医学などの分野にも応用が期待できる。

## 論文審査の結果の要旨

ニューキノロン系抗菌剤はその多くが日本で開発され、従来の抗生物質耐性菌に対しても抗菌作用が高く副作用も比較的少ないことから、現在世界中で広く使用されている薬剤である。申請者らのグループはコンプライアンスを知る一つの方法として毛髪が利用できることに着目し、各種薬剤に関して研究を行い報告を行ってきた。今回の研究ではニューキノロン系薬剤の一つであるオフロキサシン (OFLX) の毛髪内での存在に注目した。毛髪を試料として用いる利点としては1) 毛髪内薬物はかなり長期間保存される。2) 毛髪の採取は容易であり、患者への侵襲も少ない。3) 毛髪のセグメント分析を行うことにより、服薬期間や服薬量を推定できる場合もある。

本研究の第一歩として、毛髪中 OFLX の抽出法、HPLC による定量法の詳細を確立設定した。申請者の方法によれば、OFLX は毛髪アルカリ加熱処理中も安定で分解されず、回収率も90%以上と良好で、しかも検出限界は0.5ng/tube と高感度であった。HPLC クロマトグラム上においても、不純物やエノキサシン、ノルフロキサシンやシプロフロキサシン等の類似薬剤ピークとよく分離された。

以上の基礎実験をふまえた上で、12人のボランティアに各種投与量の OFLX を服用してもらい、最終服薬2週間後に前頭部毛髪を抜去し、毛根より2cmの部分の OFLX 分析を行ったところ、毛髪内 OFLX 濃度と投与量との間には良好な ( $r=0.868$ ) 相関が認められた。

さらに副論文においては、7人の被検者を用い、数日間 OFLX を投与し、数カ月経過後、同様に毛髪を得て、2mmごとに分画切断して、詳細に定量したところ、OFLX が服用時に相当する毛髪部分に、拡散することなく局限して検出された。

以上の結果から OFLX は服薬時に血中より毛髪中に蓄積保持され、数カ月後にも、該当毛髪部分から確実に検出定量できることから、本薬物のコンプライアンスはおろか、服薬時期や服薬量の推定も比較的長期間さかのぼって行える事が分かった。ニューキノロン系薬剤の毛髪分析に関する研究報告は本研究が最初のものであり、OFLX の毛髪分析は臨床薬理学上有用であるのみならず、法医学の分野での応用も期待できるものとして高く評価された。

申請者の発表に対し次のような質疑が行われた。

- 1) 服用薬物が血中より毛髪内に至るルートについて
- 2) 毛髪に蓄積されやすい薬物はどのような性質のものか。またそれらのメラニンとの親和性について
- 3) HPLC 分析の移動相に pH2.6 のリン酸緩衝液を使用した理由は
- 4) 抽出にクロロホルムを用いた理由とそのメリットとデメリットについて
- 5) 蛍光検出の励起波長範囲の不適切性について
- 6) 毛髪中、尿中の OFLX 代謝産物の存在について
- 7) 毛髪分析前処理洗浄中における OFLX のロスについて
- 8) in vitro での OFLX とメラニンとの親和性に関する実験報告はあるか。メラニンと OFLX の結合様式は
- 9) メラニンだけでなくケラチンと OFLX との結合や親和性について

## 10) 白毛と黒毛での OFLX の蓄積の差について

以上の質問に対する申請者の解答はほぼ適切であり、研究内容も博士（医学）の学位論文にふさわしいものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 鈴木 修

副査 教授 瀧川 雅浩 副査 教授 橋本 久邦

副査 助教授 小田 敏明 副査 助教授 松島 肇