

1 研究課題名

大麻事犯捜査における科学的検査法の高度化に関する研究

2 研究担当者

主担当者氏名 岩田 祐子 法科学第三部化学第一研究室
他研究員 5名

3 研究期間

平成24年4月～平成27年3月（3年計画）

4 研究予算

平成24年度 51,442千円

平成25年度 32,485千円

平成26年度 11,028千円

5 研究の目的

近年乱用の広がり大きな社会問題になっている大麻系薬物について、大量押収時における鑑定の迅速化や異同識別法の開発、合成カンナビノイドとの識別を念頭においた特異性の高い現場予試験法や精密な鑑定手法の開発を目指し、現場予試験から本鑑定までの、各種検査法の高度化を目標に研究を行う。具体的には、三年間で次の5つの細目、（Ⅰ）大麻の検査法の迅速化に関する研究、（Ⅱ）大麻の異同識別鑑定法の開発に関する研究、（Ⅲ）合成カンナビノイドの分析法の開発に関する研究、（Ⅳ）合成カンナビノイドの代謝に関する研究、（Ⅴ）大麻現場予試験法の改良に関する研究を行う。

6 成果

(1) 当初予定していた成果

- （Ⅰ）大麻関連資料の大量押収や合成カンナビノイド添加植物片との識別に対応するため、形態学的検査の各検査工程の効率的な処理方法を検討した。メタノールと水酸化ナトリウムの混液による60℃で10分間の攪拌は、従来法よりも安全、迅速かつ効率の良い脱色法であった。また、プレパラートを作製せず、96ウェルプレート内の植物片の偏光像を顕微鏡で直接観察することにより、大麻の特徴的な剛毛を迅速に観察できた。さらに、Fast Blue B試液による呈色試験は、大麻とその他の植物片との識別に有効なスクリーニング検査であることが明らかとなった。本法により、96試料の形態学的検査を従来法の約1/3の時間で行うことができた。
- （Ⅱ）大麻の異同識別を目的として、安定同位体比質量分析を行った。同じ株の大麻草の複数箇所から葉を採取して乾燥後、凍結粉碎を行い、窒素及び炭素安定同位体

比 ($\delta^{15}\text{N}$ 及び $\delta^{13}\text{C}$) の測定を行い、同一株内の変動を見積もった。さらに、日本で栽培された乾燥大麻についても同様に、 $\delta^{15}\text{N}$ 及び $\delta^{13}\text{C}$ の測定を行った。日本で栽培された乾燥大麻の $\delta^{15}\text{N}$ 及び $\delta^{13}\text{C}$ について、異同識別に資する特徴を明らかにした。

また、本研究で整備したガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析装置 (GC-QTOF/MS) を用い、得られた含有成分プロファイルの類似性について多変量解析によって評価し、二つの押収大麻草資料の関連性の有無を識別する手法を構築した。ワード法を用いたクラスター分析によって資料間のユークリッド距離を算出し、『同一の個体か否か』、『同一の事件に由来するか否か』を識別する二つの閾値を設定することで、90%以上の正確性で、関連性の有無を決定することが可能となった。

(Ⅲ) 検討対象の選択のための合成カンナビノイドの流通状況の調査を行い、合成カンナビノイド標準品を計10化合物合成し、分析法を確立した。

(Ⅳ) 合成カンナビノイドXLR-11及びその熱分解物 (XLR-11 degradant) の代謝について、ヒト肝腫瘍由来細胞株であるHepaRG細胞を用いて検討を行ったところ、XLR-11及びXLR-11 degradantのいずれの場合も、代謝物として脱フッ素 - 水酸化体や脱フッ素 - カルボン酸体に加え、それらの酸化体等が認められた。さらに、XLR-11使用者の尿試料を分析したところ、尿中に検出された主な代謝物は、XLR-11 degradantのHepaRG細胞による代謝物と一致した。上記の結果から、今回の尿試料のケースでは、吸煙で使用される際にXLR-11の大部分が熱分解し、摂取された熱分解物が代謝され、尿中へ排泄されたことが明らかにされた。

また、合成カンナビノイド5F-AB-PINACAの代謝についても、同様にHepaRG細胞を用いて調べたところ、代謝物として脱フッ素 - 水酸化体や脱フッ素 - カルボン酸体に加え、末端アミドの加水分解体と考えられる代謝物の生成が認められた。さらに、末端アミドの加水分解体と考えられる代謝物は、5F-AB-PINACA摂取者の尿中にも確認された。

以上のように、今回構築したHepaRG細胞を用いた代謝実験系により、合成カンナビノイドの生体内における代謝を良好に再現することが可能であることを示した。

(Ⅴ) 新規蛍光免疫素子Q-Bodyを大麻の現場予試験に用いるための試験条件の最適化を行った。最適化した条件下で測定を行った場合、適切な判定基準を設けることで大麻草とタバコや合成カンナビノイド添加植物片等との識別が可能であった。

(2) 当初予定していなかったが副次的に (あるいは発展的に) 得られた成果

(Ⅰ) 大麻関連資料の形態学的検査の迅速化を検討する過程で、薄層クロマトグラフィー (TLC) 及びガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) による理化学的検査を効率的に行う方法も考案した。TLCにおいて、40°Cで展開することにより、展開時間の短縮と大麻成分の分離の改善が達成された。GC/MSにおいて、内径が細く

短いカラムを用いて高流速で分析することで、分離能を維持したまま分析時間を大幅に短縮できた。本法により、96試料の理化学的検査を従来法の約1/3の時間で行うことができた。

大麻とその他の植物片が混合された製品（ハーブ混合物）から効率的に大麻片を発見するため、マトリックス支援レーザー脱離イオン化（MALDI）/imaging MSを利用した大麻の探索法を考案した。MALDI/imaging MS用プレートに導電性両面テープを貼付し、その上にハーブ混合物を敷き詰めた。さらに、導電性シートを被せて圧着し、試料が付着したテープ面と試料に接触したシート面にマトリックス試薬を噴霧した後、MALDI/imaging MSを行った。大麻の特有成分THCに由来するイオンが高強度で検出された部位に相当する植物片をピンセットで取り出すことで、大麻である可能性が高い植物片を効率的に選別でき、形態学的検査の迅速化に貢献できた。

大麻の長期的な摂取の証明に毛髪が利用されるが、毛髪中の大麻由来成分THC-COOHの濃度はきわめて低く、煩雑な前処理と高感度な分析装置が必要であった。そこで、迅速・簡便性に優れたマイクロ粉碎抽出と本研究で整備した超高速液体クロマトグラフ／トリプルステージ質量分析装置（LC-TQ/MS）を用いた毛髪中THC-COOHの分析法を開発した。本法により、国際的なガイドラインで推奨されるカットオフ濃度の毛髪中THC-COOHの定量分析が可能となった。

(II) 大麻草の含有成分プロファイルを解析した結果、屋外栽培の大麻と屋内栽培の大麻に差異が認められたため、未知の押収大麻草資料についてその栽培場所を推定する判別モデルが構築できた。

(III) 合成カンナビノイドQUPICの合成品のGC/MSを行った際に、装置注入口で熱分解を起こしたことから、その原因を解明した。

(3) 当初想定していたが得られなかった成果
なし

7 成果の発表

(1) 論文・総説・著書（Publication to academic journals）

- 1) 大麻関連試料の形態学的検査の迅速化. 桑山健次, 辻川健治, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 法科学技術, 18, 135-141 (2013)
- 2) 大麻関連試料の理化学的検査の迅速化, 桑山健次, 辻川健治, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 法科学技術, 18, 143-153 (2013)
- 3) Utilization of matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry to search for cannabis in herb mixtures, Kuwayama et al., Anal. Bioanal. Chem., 406, 4789-4794 (2014)

- 4) Thermal degradation of a new synthetic cannabinoid QUPIC during gas chromatography/mass spectrometry, Tsujikawa, K., Kuwayama, K., Kanamori, T., Iwata, Y.T., Inoue H., Forensic Toxicol., 32, 201-207 (2014)
 - 5) Detection of main metabolites of XLR-11 and its thermal degradation product in human hepatoma HepaRG cells and human urine, Kanamori, T., Kanda, K., Yamauro, T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Iwata, Y. T., Inoue, H., Drug Test. Anal., 7, 341-345 (2015)
 - 6) Micro-pulverized extraction pretreatment for highly sensitive analysis of 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in hair by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Kuwayama, K., Miyaguchi, H., Yamamuro, T., Tsujikawa, K., Kanamori, T., Iwata, Y.T., Inoue, H., Rapid Commun. Mass Spectrom., 29, 2158-2166 (2015)
 - 7) 階層型クラスター分析を用いた大麻異同識別法の検討, 山室匡史, 桑山健次, 辻川健治, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 法科学技術 (in press)
- (2) 学会における口頭発表 (Oral presentation at the academic meeting and conference)
- 1) 合成カンナビノイドXLR-11の代謝, 金森達之, 神田康司, 山室匡史, 桑山健次, 辻川健治, 岩田祐子, 井上博之, 日本法中毒学会第33年会, 講演要旨集, 45 (2014)
 - 2) 毛髪中大麻成分THC-COOHの高感度定量分析, 桑山健次, 山室匡史, 辻川健治, 宮口一, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 日本法科学技術学会第20回学術集会, 要旨集, 41 (2014)
- (3) 学会におけるポスター発表 (Poster presentation at the academic meeting and conference)
- 1) 大麻関連試料の形態学的検査および薄層クロマトグラフィーによる理化学的検査の迅速化, 桑山健次, 辻川健治, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 日本薬学会第133年会, Program, 29pmE-116 (2013)
 - 2) 肝細胞スフェロイドアレイ培養キットの新規乱用薬物代謝予測への応用, 金森達之, 桑山健次, 辻川健治, 岩田祐子, 井上博之, 日本法中毒学会第32年会, 講演要旨集, 65 (2013)
 - 3) In vitro metabolism study of designer drugs using a hepatocyte spheroid array kit, Kanamori, T., Yamamuro, T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Iwata, Y.T., Inoue, H., 10th International ISSX Meeting, Meeting Proceedings and Abstracts, 208 (2013)
 - 4) Thermal degradation of a new synthetic cannabinoid QUPIC during gas chromatography/mass spectrometry, Tsujikawa, K., Clandestine Laboratory

- Investigating Chemists Association, 23rd Annual Technical training Seminar, Program (2013)
- 5) Stable carbon and nitrogen isotopic compositions of Cannabis cultivated and seized in Japan, Iwata, Y.T., Yamamuro, T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Kanamori, T., Inoue, H., 5th FIRMS Network Conference, Book of Abstracts, 76 (2013)
 - 6) Hepatocyte spheroid array kit as a tool for predicting in vivo drug metabolism, Kanamori, T., Yamamuro, T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Iwata, Y.T., Inoue, H., PITTCON 2014, 75 (2014)
 - 7) マイクロ粉砕抽出とLC/MS/MSによる毛髪中大麻代謝物THC-COOHの定量分析, 桑山健次, 山室匡史, 辻川健治, 宮ロー, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 日本薬学会第134年会, Program, 28amL-072 (2014)
 - 8) ハーブ混合物中の大麻の探索におけるマトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析の利用, 桑山健次, 山室匡史, 辻川健治, 宮ロー, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 日本法中毒学会第33年会, 講演要旨集, 49 (2014)
 - 9) Highly sensitive analysis of 11-nor-9-carboxy- Δ 9-tetrahydrocannabinol in hair by micro-pulverized extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Kuwayama, K., Yamamuro, T., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kanamori, T., Iwata, Y., Inoue, H., 20th International Mass Spectrometry Conference, Program, TPS42-03 (2014)
 - 10) 多変量解析を用いた大麻異同識別法の検討, 山室匡史, 桑山健次, 辻川健治, 金森達之, 岩田祐子, 井上博之, 日本薬学会第135年会, Program, 28PA-pm059 (2015)