

Postmortem Degradation and Diffusion of Ethanol-d6 in Animal Bodies and Postmortem Production of Ethanol

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8160

エタノール-d6 の死体内での分解・拡散とエタノールの死後産生

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 永野耐造教授)

福井 宏 有

(平成1年12月6日受付)

死後のエタノールの産生・分解や拡散に関して、これまで、多くの報告がある。しかしながら、これらの研究は、いずれも生前摂取されたエタノールと死後産生されたエタノールとを直接区別できなかったため、死体内におけるエタノールの消長については、相対的变化から推測する域を出なかった。1987年、Takayasu & Nagano は、重水素標識化合物であるエタノール-d6 を用い、ガスクロマトグラフィー質量分析(GC-MS) で天然のエタノールと明確に分離されることを確認し、種々の知見を報告している。本研究はエタノール-d6 を用い、上記問題点解明のため、動物体を用いて GC-MS 法を適用し、実験を行ったものである。ラットにエタノール-d6 を経口投与すると、ヒトへのエタノール投与時と類似の血中濃度曲線を示し、エタノール-d6 臓器濃度/血中濃度比は、Christopoulos らのヒトの剖検例の報告値とほぼ同様であった。生前ウサギにエタノール-d6 を静脈注射後30分で死亡させ、死体を30°Cで放置すると、心内血、および諸臓器中のエタノール-d6 は1日目で降激減し、それと逆に死後産生天然エタノールが急増し、放置2.5日以降は産生エタノールの方が高濃度に達した。ラット屍の胃内にエタノール-d6 を経口的に注入後、5°Cおよび30°Cで0.5~3日間放置し、死後拡散に関して検討を施した。5°C群では、エタノール-d6 は主に胃に接着した臓器(脾臓、左腎、肝左葉)から検出されたが、死後産生の天然エタノールは認められなかった。30°C12時間後には胃接着臓器で5°C放置より高濃度にエタノール-d6 が検出され、1日以降では腹部各臓器(脾臓、肝臓、腎臓)内で検出されたが、その後徐々に減少した。2日目には死後産生天然エタノールとこの拡散エタノール-d6 とがほぼ同レベルの濃度になった。3日目には死後産生天然エタノールの方が高濃度になり、拡散よりも影響が大きかった。しかし、大腿部骨格筋では拡散の影響はほとんどなく、30°C2日以降に死後産生天然エタノールが検出された。また、脳中にエタノール-d6 が、12時間以降両温度群いずれの個体からも0.1~0.9mg/mlの濃度で検出された。ラット屍を開腹し、胃内に直接エタノール-d6 を注入した実験では、胃から心内血への影響は軽微(0.016mg/ml)であったが、胸腔液へは少し影響(0.258mg/ml)が及んでいた。この場合、脳からはすべての例でエタノール-d6 は検出されず、頭蓋腔内への拡散は全くなかった。

Key words エタノール-d6 の体内分布、アルコールの死後産生と分解、アルコールの死後拡散、ガスクロマトグラフィー質量分析

多くの法医学実務の中で、血中その他人体試料についてのアルコール検査は重要な日常業務の一つである。分析試料が新鮮な場合には特別大きな問題はないが、新鮮でない場合幾つかの問題点が含まれている。すなわち、人体の死後変化に伴って、生前摂取されたエタノールの死後拡散や分解、或いは死後のエタノールの産生など多くの困難な問題がある。従って、人体

内のエタノールの正確な評価を行うためには、アルコール濃度の正確な測定はもちろん、上記の点について十分に検討しなければならない。

死後の人体内におけるエタノールの産生については古くから多くの報告があり¹⁻³⁾、死体が置かれた環境条件によっては、0.5~1 mg/mlにも及ぶエタノールの産生が報告されている⁴⁾。一方、エタノールの消化

Abbreviation: EI, Electron impact; GC-MS, Gas chromatography-mass spectrometry; \bar{A} 濃度, アルコール濃度; 血中 \bar{A} 濃度, 心内血アルコール濃度; 大腿筋, 大腿部骨格筋

管などからの死後拡散についても古くから研究されており、胃周囲などに影響を及ぼしていると報告されている⁷⁻⁹⁾。しかしながら、これら死後の分解と産生や拡散についての報告は、いずれも、生前摂取されたエタノールと死後に産生されたエタノールの両者を直接区別することができなかつたため、詳細な分析には限界があった。

近年、エタノールの安定同位体である重水素標識化合物エタノール-d6 が市販され、この物質は天然エタノールと同様の性状を持っているが、ガスクロマトグラフィー質量分析(GC-MS)で両物質は明確に分離される。教室の Takayasu & Nagano¹⁰⁾は、この物質がエタノールの法中毒学的分析の実験に極めて有用なことを報告している。

このような点に着目し、著者は、エタノール-d6 を用いて動物実験を行ない、1) エタノール-d6 の体内分布、2) 生前に投与したエタノール-d6 の死体内での分解と死後のエタノールの産生、3) 死後消化管からのエタノール-d6 の拡散、などについて検討を試みた。

材料および方法

I. 試薬および動物

エタノール-d6 (CEA, フランスおよび MSD ISOTOPES, カナダ) を用いた。

動物はラット (体重 200g 前後, ウイスター系雄) および白色日本ウサギ (体重 2 kg 前後, 雄) を用いた。

II. エタノール-d6 投与・注入方法と放置条件および資料採取、貯蔵

1. ラットへのエタノール-d6 の投与

ラットにエタノール-d6 の 25% (w/v) 水溶液 4ml/kg 体重を金属カテーテルを用いて経口投与し、15, 30, 60, および 90 分後、中枢神経破壊を行い、直ちに心内血および諸臓器 (脳, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓および大腿部骨格筋 (大腿筋)) を採取し、分析時まで 4°C および -20°C でそれぞれ保存した。

2. エタノール-d6 のウサギへの投与と死後の放置条件

ウサギの耳静脈にエタノール-d6 の 25% (w/v) 水溶液 3ml/kg 体重を注射し、30 分後一酸化炭素 (CO) 中毒死させ、30°C の恒温槽に 1, 2.5 および 4 日間放置後、心内血, 脳, 肝臓, および大腿筋を採取し、いずれも -20°C で分析時まで保存した。

3. ラット屍へのエタノール-d6 の注入と放置条件

CO 中毒死させたラットに直ちにエタノール-d6 の 15% (w/v) 水溶液 3.33ml/kg 体重をカテーテルを用

いて、あるいは開腹して、直接胃内に注入した。このラットを 5°C および 30°C の恒温槽内にそれぞれ 12 時間、1, 2, および 3 日間放置した。資料採取については上記 1. と同様に行い、いずれも -20°C で保存した。

III. 分析装置および分析方法・条件

1. 装置

日本電子 (東京都昭島市) 製 JMS-DX303 と JMA-DA5100 データシステム (GC-MS) 装置を用いた。

2. 分析方法

アルコール類の分析は気化平衡法 (head space method)¹¹⁾により GC-MS で行った。すなわち、凍結保存した試料 0.3~0.5g を薄切、バイアル瓶に入れ、秤量後、内部標準として tert-ブタノールの 0.18mg/ml 水溶液 0.5ml を加え密封、55°C で 20~25 分間保温し、気化平衡させた。この気相約 1ml をあらかじめ 50~60°C で保温しておいたガラス製 (2ml) シリンジで採取し、GC-MS 装置に注入、分析した。

3. 分析条件

質量分析装置: Electron impact (EI) および正イオン検出モード。アクセル電圧 3KV, イオン化電圧 70eV, イオン化電流 0.3mA, イオン化室温度 150°C。

GC 装置: カラム PEG-1000 (15%)-UniportB (2.6 mm φ × 2m), カラム温度 77°C, インジェクション温度 120°C, セパレーター温度 130°C, キャリヤガス (He) 30ml/min。

IV. エタノール-d6, 死後産生天然エタノールおよび n-プロパノールの定量

エタノール-d6 は水溶液中で容易にエタノール-d5 に変換する ($CD_2CD_2OD + nH_2O \rightarrow CD_2CD_2OH + HOD + (n-1)H_2O$)。このためエタノール-d6 の定量には、d5 由来の m/z 33, 49 および 51 の各イオンを用いた。エタノールは m/z 31, 45 および 46, n-プロパノールは m/z 31 および 59, また内部標準の tert-ブタノールは m/z 31, 59 および 60 の各イオンを用いて、内部標準に対する比高または面積比を用いて各物質の定量を行った。

成 績

I. 動物実験資料からのエタノール-d6 およびエタノールの GC-MS による分析

図 1 に生前経静脈投与したウサギの死亡直後 (図 1 a) と 30°C 4 日放置後 (図 1 b) の脳中のエタノール-d6 およびエタノールのマスプロトグラムを例示した。死亡直後のマスプロトグラムにおいては、エ

タノール-d6 (-d5) 由来のピークのみが検出されている。しかし4日放置の資料からはエタノール-d6 (-d5) と死後産生エタノール (m/z: 31,45,46) が明らかに示されている。

II. エタノール-d6, エタノールおよび n-プロパノールの検量線

GC-MS 分析法によるエタノール-d6, エタノールおよび n-プロパノールの検量線を図2に示した。図2aはエタノール-d6 についての内部標準法による検量線を示している。内部標準には tert-ブタノールを用い、エタノール-d6 (-d5) の検量線は、m/z 51, 49および33における値と、tert-ブタノールの m/z 31における値との比高を用いて作成した。このようにすると、いずれも原点を通る直線性を示している。図2bはエタノールについて、エタノール-d6 と同様、m/z 46, 45および31を用いて作成した。いずれも直線性を示している。図2cは n-プロパノールについて同様、m/z 59を用いて作成したものであるが、良好な直線性を示している。

III. エタノール-d6 のラット体内分布について

ラットにエタノール-d6 を経口投与し15~90分後に、その濃度を各臓器組織について測定した(表1)。表1は各3個体の平均値を示している。心内血のエ

タノール-d6 濃度は15, 30, 60および90分放置後において、それぞれ0.808, 0.796, 0.717および0.536mg/mlであった。各臓器中エタノール-d6 濃度は15分後で最高値を示し、その後徐々に低減していった(図3)。エタノール-d6 の心内血に対する比を計算すると表2のようになった。すなわち、15分後、脳、心筋、肺、肝臓、腎臓および大腿筋でそれぞれ、79, 74, 60, 55, 70および89%, また90分後では、それぞれ64, 69, 53, 32, 68および69%であった。

IV. 経静脈投与ウサギ体内エタノールの死後変化

エタノール-d6 を経静脈投与30分後に CO 中毒死させ、30°Cで1, 2.5及び4日放置したウサギの心内血、脳、肝臓および大腿筋についてエタノール-d6 および死後産生エタノール濃度を測定した結果を表3および図4に示した。生前に投与したエタノール-d6 の各臓器組織の濃度(3羽の平均値, mg/g)は心内血0.323, 脳0.284, 肝臓0.156, 大腿筋0.252であった。放置1日後に少し減少、1日後から2.5日後にかけて急激に減少した(図4)。30°C放置4日後には死直後のエタノール-d6 濃度の1/7~1/4に減少し、各臓器0.04~0.05mg/gであった。

これと対照的に、死後産生天然エタノールは1日放置後各臓器から微量検出され、2.5および4日放置し

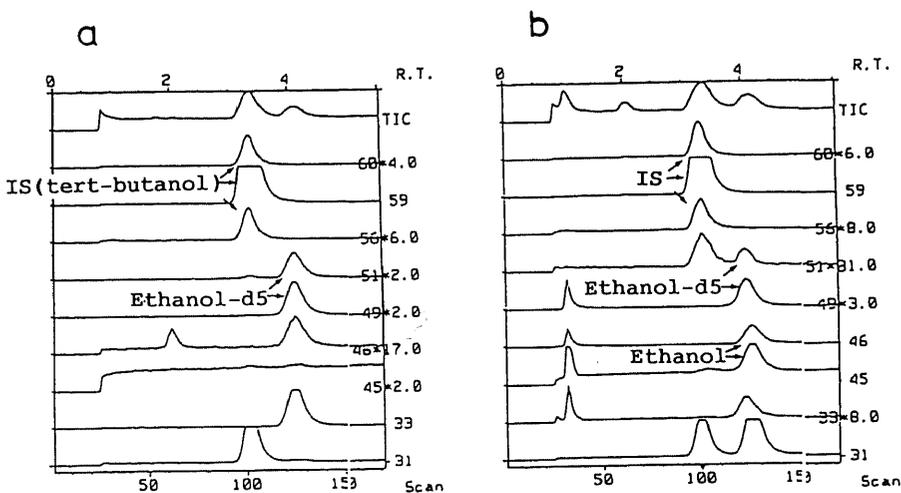


Fig. 1. Mass chromatograms of ethanol(-d6) in the brain of the rabbit carcasses, (a) right after death, and (b) stored at 30°C for 4 days. Abbreviation "IS" indicates internal standard, tert-butanol. Ethanol-d5 was detected, because the d6 is readily converted to d5 in aqueous solution. Ethanol-d5 (monitored at m/z 33, 49 and 51) and ethanol (monitored at m/z 31, 45 and 46) elute at approximately 4 min. Only ethanol-d5 was detected from the specimen right after death (a). Both ethanol-d5 and postmortem produced ethanol were detected from the putrefied specimen (b). The analytical conditions were as follows: GC column, PEG-1000 (15%); column temperature, 77°C; EI mode.

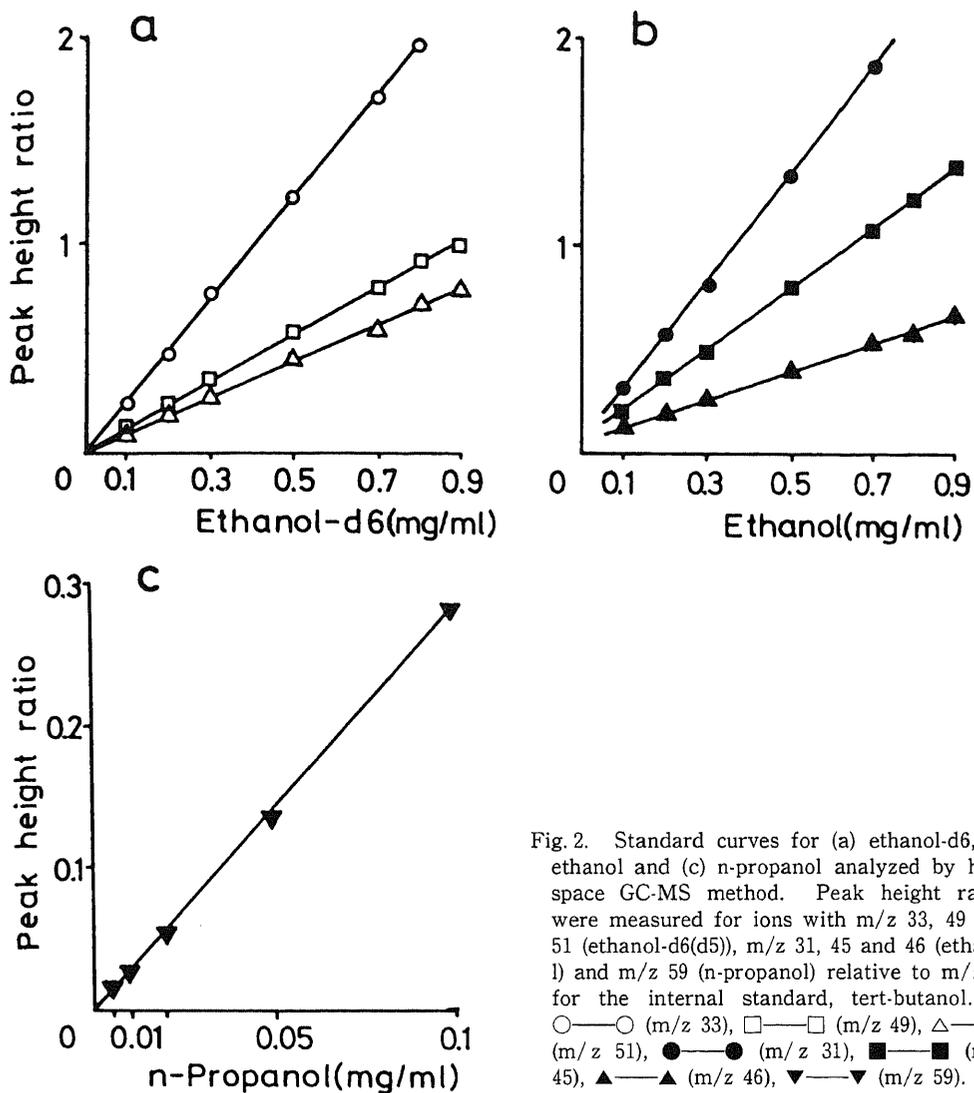


Fig. 2. Standard curves for (a) ethanol-d6, (b) ethanol and (c) n-propanol analyzed by head space GC-MS method. Peak height ratios were measured for ions with m/z 33, 49 and 51 (ethanol-d6(d5)), m/z 31, 45 and 46 (ethanol) and m/z 59 (n-propanol) relative to m/z 59 for the internal standard, tert-butanol. ○—○ (m/z 33), □—□ (m/z 49), △—△ (m/z 51), ●—● (m/z 31), ■—■ (m/z 45), ▲—▲ (m/z 46), ▼—▼ (m/z 59).

Table 1. Measured values of ethanol-d6 in the rat heart blood and organ tissues after oral administration

	Ethanol-d6 concentration in blood (mg/ml) and organs (mg/g)			
	After 15	30	60	(min) 90
Heart blood	0.808	0.796	0.717	0.536
Brain	0.645	0.619	0.547	0.352
Heart muscle	0.609	0.512	0.536	0.367
Lung	0.486	0.467	0.488	0.281
Liver	0.431	0.416	0.308	0.175
Kidney	0.563	0.544	0.520	0.362
Femoral skeletal muscle	0.731	0.605	0.566	0.371

Mean values (n=3) are shown.

たウサギ各臓器から0.15~0.50mg/g 検出され、いずれも残存エタノール-d6 よりも高濃度を示した(表3および図4)。同様に、死後産生 n-プロパノール濃度も測定したところ、肝臓で放置1日より、他臓器は放置2.5日より出現し、2.5日および4日後には各臓器で6.3~14.8 μ g/g の範囲であった(表3)。

V. ラット屍胃内注入後のエタノール-d6 の死後拡散と死後産生天然エタノール

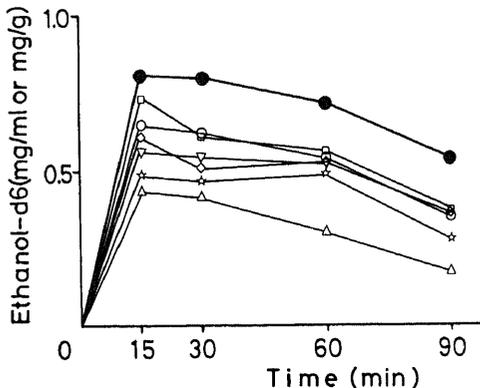


Fig. 3. Ethanol-d6 concentration in the blood and organs of rats after oral administration (25% w/v ethanol-d6, 4ml/kg body weight). The blood and organs were taken from 15 to 90 min after administration. Mean Values (n=3) of the concentration are plotted. Heart blood (●—●), brain (○—○), heart muscle (◇—◇), lung (☆—☆), liver (△—△), kidney (▽—▽), femoral muscle (□—□).

Table 2. Ratios of ethanol-d6 concentration between the organ tissues and the heart blood of the rats after oral administration

	Tissue/heart blood ratio (percentage) of ethanol-d6 concentration			
	After 15	30	60	(min) 90
Heart blood (mean concentration, (0.808mg/ml) n=3)	100%	100%	100%	100%
Brain	79%	77%	76%	64%
Heart muscle	74	64	75	69
Lung	60	59	68	53
Liver	55	52	40	32
Kidney	70	68	73	68
Femoral skeletal muscle	89	75	75	69

Mean values (n=3) are shown.

図5にラットの胃と資料を採取した各臓器の位置関係を示している。エタノール-d6 を死後経口的に胃内に注入し、5°C放置群および30°C放置群各臓器内の生前注入エタノール-d6 と死後産生エタノールを測定した結果(3個体の平均値)をそれぞれ表4および5に示す。すなわち以下のような結果が得られた。

1. 胃内エタノール-d6 濃度

注入直後の値(平均 20mg/g)を100%とすると、5°C放置12時間、1、2および3日後にはそれぞれ約100%、70%、50%および30%になった。30°C放置群では、同様に、それぞれ45%、10%、3%および1%に減少した。

2. 各臓器組織のエタノール-d6 濃度

5°C12時間放置群の脾臓、左腎および肝左葉でそれぞれ2.04、1.32および0.41mg/g 測定され、また5°C3日放置後でも、同様、1.54、0.45および0.51mg/g 検出された。右腎や肝方形葉でも少量(0.1mg/g 以下)検出された。しかし大腿筋は5°C3日間の放置では検出されなかった。胃からの拡散の影響があるかどうかを調べるため、エタノール-d6 濃度の臓器/胃内容比を計算すると、5°C1日放置後の脾臓で0.17、左腎で0.07および肝左葉で0.05であった。

30°C放置群では、12時間後のエタノール-d6 濃度(mg/g)は脾臓2.6、左腎1.8および肝左葉1.1検出され、以後減少した(表5)。この30°C12時間後の各臓器濃度は5°C放置群よりもいずれも高値であった。しかし放置2日以降は逆に5°C放置群の各臓器の濃度よりも低値であった。右腎や肝方形葉では30°C12時間後から、腹腔液も1日後以降および大腿筋も1日後以降エ

タノール-d6 が低濃度検出された (表 5). 30°C 1 日放置群でエタノール-d6 濃度の臓器/胃内容比は脾臓で 0.8, 左腎で 0.5, 肝左葉で 0.5, 右腎で 0.07, 肝方形葉で 0.3, 腹腔液で 0.4 および大腿筋で 0.005 であった.

胸腔内の心内血, 心筋および肺においても 5°C および 30°C 両群とも 12 時間後よりいずれの個体からも検出され, そのエタノール-d6 の濃度は 0.002~0.32mg/g の範囲であった (表 4 と表 5). また脳においてもエタノール-d6 が 5°C および 30°C 両群の 12 時間後よりいずれの個体からも検出され, その濃度は 0.06~0.73mg/g の範囲であった (表 4 と表 5).

3. 死後産生エタノール

5°C 放置群では 3 日後までは検出されなかった. 30°C 放置群では, エタノールは 1 日後から検出され (0.01~0.17mg/g), 2 日および 3 日後で 0.3~0.9mg/g の濃度を示した (表 5).

VI. ラット屍開腹, 胃内に直接注入後のエタノール-d6 の死後拡散と死後天然エタノール産生

ラット屍を開腹し直接胃内にエタノール-d6 を注入後 30°C 24 時間放置したラット屍についての成績 (3 個体の平均値) を, 前述 V 項の実験と同様カテーテルを

用い経口的に胃内に注入した場合と比較し表 6 に示している. 経口的にカテーテルで胃内に注入した場合, 30°C 1 日放置後心内血, 肺および頭蓋内の脳からもエタノール-d6 が検出された. しかし, 開腹し直接胃内にエタノール-d6 を入れた場合, 同一放置条件下では脳内からエタノール-d6 は全く検出されなかった. また, 胸腔内液は 0.26mg/g 検出されたが, 心内血, 心筋および肺でそれぞれ 0.02, 0.02, 0.06mg/g と低濃度であった.

エタノール-d6 を投与・注入していないすべての対照例において, エタノール-d6 (-d5) は検出されなかった.

考 察

非放射性同位体のエタノール-d6 を使用したエタノール代謝などについての実験的検討は今まで行われていない. 本研究は, エタノール-d6 の有する特性を利用し, 1) エタノール-d6 の体内分布, 2) 生前エタノール-d6 を投与された動物死体のアルコール類の死後の変化, 3) エタノール-d6 の消化管からの死後拡散と天然エタノールの死後産生, について実験的に検

Table 3. Measured values of antemortem administered ethanol-d6, and postmortem produced ethanol and n-propanol in the tissues of rabbit carcasses stored at 30°C

	Storage period of carcasses (days)	Mean concentration (mg/g) of		
		Ethanol-d6	Ethanol	n-Propanol
Heart blood	0	0.323	0.000	0.0000
	1	0.174	0.009	0.0000
	2.5	0.034	0.147	0.0084
	4	not collectable		
Brain	0	0.284	0.001	0.0000
	1	0.220	0.010	0.0000
	2.5	0.107	0.393	0.0124
	4	0.040	0.262	0.0064
Liver	0	0.156	0.001	0.0000
	1	0.134	0.006	0.0006
	2.5	0.066	0.499	0.0121
	4	0.042	0.421	0.0148
Femoral skeletal muscle	0	0.218	0.000	0.0000
	1	0.189	0.001	0.0000
	2.5	0.065	0.258	0.0063
	4	0.047	0.262	0.0098

Mean values (n=3) are shown.

討したものである。すなわち、エタノール-d6 と死後産生天然エタノールを GC-MS を用いて明確に分離測定した結果から、今までの多数のエタノールを用いた報告について再検討し、これまで明らかでなかった生前摂取されたアルコール (エタノール-d6) の死後分解や消化管からの死後拡散と腐敗現象に伴うエタノールの死後産生について検討した。

1. アルコールの生体内分布について

アルコールの代謝は主に肝で行われている¹³⁾¹²⁾。もちろんヒトとラットでは種が異なるので代謝速度や体

内分布係数等は異なると考えられている¹³⁾。ヒト肝のアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) 活性は $2.0 \mu\text{mol/g肝/分}$ 、ラット (雄) では同 1.2 であり、体重当りの肝重量比はヒトで 2.3% 、ラット (雄) で 3.6% とされ、ヒト肝のエタノール代謝速度は 130mg/kg 体重/時間 、ラット (雄) では 120 と予想されている¹³⁾。従ってヒトとラットではエタノールの代謝速度には大差がないものと見做してよい。

飲酒又は投与された場合の血中アルコール濃度曲線は摂取アルコール濃度・速度、と同時に摂取した食物

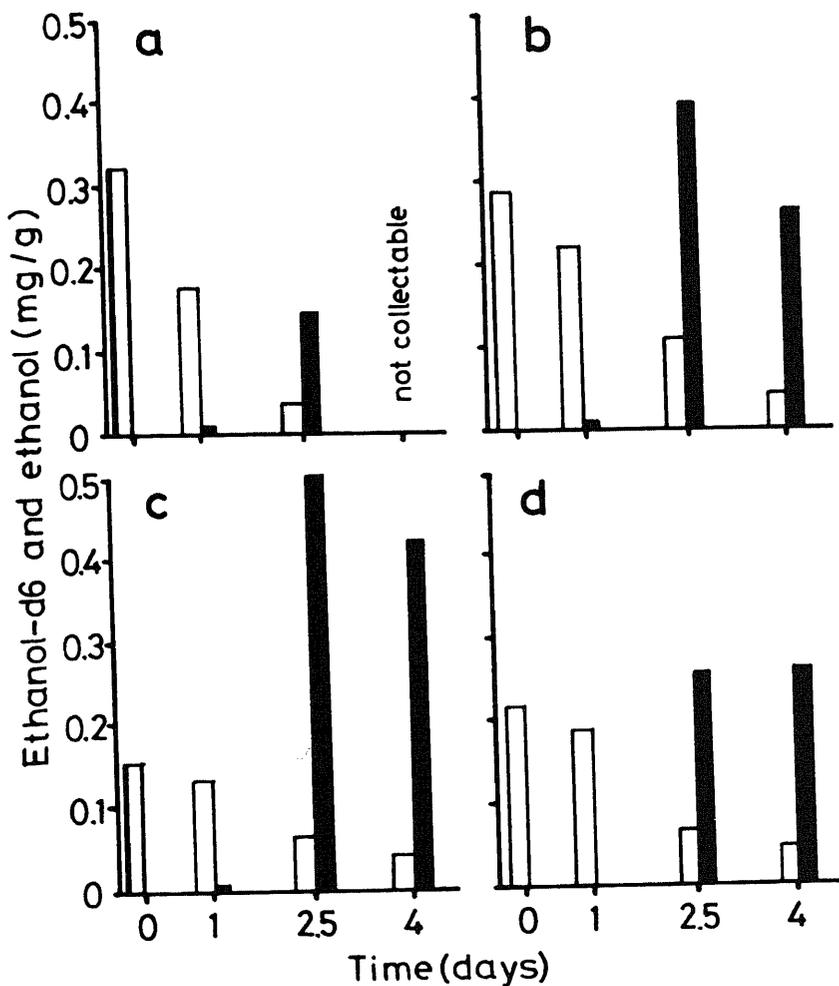


Fig. 4. Measured values of ethanol-d6 and ethanol in the organs of the rabbit carcasses. The rabbits were sacrificed 30 min after intravenous administration of ethanol-d6 solution (25% (w/v), 3ml/kg body weight). The carcasses were stored at 30°C for 1 to 4 days in a moist chamber. (a) heat blood, (b) brain, (c) liver, (d) femoral skeletal muscle. Open bar and closed bar show ethanol-d6 and postmortem produced ethanol, respectively.

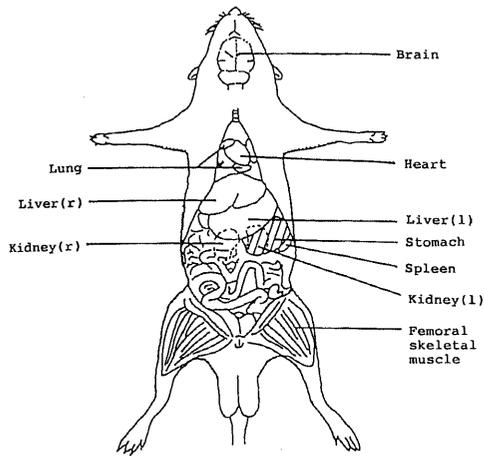


Fig. 5. A schematic illustration which shows the location of each examined organ of the rat.
liver (l), left lobe of the liver; liver (r), right lateral lobe of the liver; kidney (l), the left kidney; kidney (r), the right kidney.

あるいは空腹かどうか等によっても異なると思われる¹⁹⁾。本実験における、血中濃度の時間的推移は、図3に示しているように、15分で最高値を示し、その後徐々に低減していった。これはヒトの血中推移と類似の曲線であった¹⁹⁾。

心内血アルコール濃度(血中ア濃度)を100%として各臓器中のア濃度との血中ア濃度に対する比(以下血液・臓器比とする)を表1に示した。その比は脳で15, 30, 60および90分後にそれぞれ79, 77, 76および64%となった。ヒトの剖検例での血液・臓器比についての統計値(平均)を見ると、Van Hecke ら73%¹⁹⁾, Christopoulos 62%²⁰⁾, Krauland ら²¹⁾82%, Backer ら86%²²⁾, Bonventre ら76%²³⁾であったと報告されている。この比は吸収期かあるいは後吸収期(代謝期)によっても影響を受けると指摘されている²³⁾。本実験はラットの結果ではあるが類似の分布を示していた。

同様に、肝臓の濃度について血液との比をみると、15, 30, 60および90分後それぞれ55, 52, 40および32%であった(表2)。ヒトの剖検例の平均値では Van Hecke ら52%¹⁹⁾, Christopoulos ら²⁰⁾43%, Krauland

Table 4. Distribution of ethanol-d6 postmortem injected into the stomach in the rat carcasses stored at 5°C

	Ethanol-d6 concentration (mg/g)				
	After 0.5~1	12	24	48	72 (hr)
Brain	0	0.19	0.73	0.41	0.91
Heart blood	0	0.32	0.17	0.13	0.31
Heart muscle	0	0.09	0.05	0.02	0.18
Lung	0	0.30	0.07	0.04	0.14
Liver left lobe	Trace	0.41	0.75	0.78	0.51
Liver right lateral lobe	N.C.	0	0	N.C.	0.08
Kidney left	Trace	1.32	0.98	0.78	0.45
Kidney right	0	0	0	0.05	0.10
Spleen	Trace	2.04	2.38	1.47	1.54
Abdominal fluid	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
Femoral skeletal muscle	0	0	0	0	0
Stomach contents	20.48	20.64	14.18	11.14	6.45

N.C., not collectable.
Mean values (n=3) are shown.

ら²⁰57%であった。この様に肝臓における濃度が他の諸臓器より低値を示す原因については、死後のアルコール脱水素酵素による酸化反応が問題になるという指摘もある²³⁾が、一方では酸化反応の影響はそれほど問題にならないとする報告も見られ²⁴⁾、この問題にはなお確定的結論はでていない。今回著者の実験ではエタノール-d6由来のアセトアルデヒドは検出されておらず、少なくとも本実験条件下では上記の酸化反応の関与を積極的に示唆するものは認められなかった。

他の臓器における臓器/心内血濃度比は表2に示され、ヒトの剖検例の平均値と類似の値であった²⁰⁾²¹⁾²³⁾。

2. エタノールの死後の分解と産生について

本問題については、多数の実験的報告や事例がある

が、いずれも生前に飲用(投与)されたエタノールと、死後生産されたエタノールと区別ができなかったため、生前にエタノールを飲用した実験は、いずれも両者の合計された結果を示していたにすぎなかった^{4)~6)25)~28)}。

生前に投与されたエタノール-d6の死後の変化についてウサギを用いて実験した結果を表3および図4に示した。30°C放置1日以後は死体の腐敗現象が著しく、これと同時に生前投与されたエタノール-d6は急激に低下することが認められた。これと対照的に、死後産生された天然エタノール濃度は比較的速やかに増加した。このことは、生前に投与されたエタノールは死後腐敗現象の開始により可なり急速に分解し減少す

Table 5. Distribution of ethanol-d6 postmortem injected into the stomach and postmortem production of ethanol in the rat carcasses stored at 30°C

	Concentration of ethanol-d6 and ethanol (mg/g)				
	After 0.5~1	12	24	48	72 (hr)
Brain	0	0.69	0.51	0.38	0.06
	0	0	0.05	0.85	0.71
Heart blood	0	0.22	0.19	0.14	0.12
	0	0	0	0.04	0.50
Heart muscle	0	0.09	0.23	0.23	0.09
	0	0	0.02	0.50	0.58
Lung	0	0.11	0.26	0.20	0.12
	0	0	0.02	0.33	0.57
Liver left lobe	Trace	1.06	0.96	0.50	0.16
	0	0	0.10	0.41	0.39
Liver right lateral lobe	N.C.	0.11	0.57	0.35	0.12
		0	0.09	0.43	0.48
Kidney left	Trace	1.80	1.05	0.61	0.22
	0	0	0.10	0.43	0.69
Kidney right	0	0.08	0.13	0.30	0.16
	0	0	0.04	0.53	0.58
Spleen	Trace	2.61	1.64	0.61	0.12
	0	0	0.17	0.51	0.57
Abdominal fluid	N.C.	N.C.	0.88	0.61	0.24
			0.12	0.74	0.82
Femoral skeletal muscle	0	0	0.01	0.04	0.07
	0	0	0.01	0.04	0.36
Stomach contents	20.48	9.26	1.96	0.71	0.25
	0	0	0.43	0.47	0.58

Upper row, ethanol-d6 concentration; lower row, ethanol concentration; N.C., not collectable. Mean values (n=3) are shown.

ることがはじめて明らかにされ、また同時にエタノールが死後に産生されることが再確認されたことを示している。

死後産生エタノールは、放置2.5～4日後には0.26～0.50mg/gとラットの実験の場合(0.33～0.85mg/g)(表5)よりやや低い傾向を示したが、ほぼ同レベルであり、また今までの腐敗実験の報告、ラット25℃、3～5日(0.35～1.55mg/g)²⁶⁾、ウサギ25℃、3日(0.05～0.61mg/g)⁶⁾、ウサギ、30℃2日(0.09～0.41mg/g)、同3日(0.23～0.72mg/g)²⁷⁾などとほぼ同レベルであった。

死体が死後変化を起し、腐敗時のエタノールの産生は微生物によるという多くの報告がある^{25)29)～31)}。すなわち無菌的な条件では死後産生エタノールは検出されていない²⁹⁾。エタノールを産生する菌として、*E. coli*²⁵⁾³⁰⁾、*Citrobacter*²⁵⁾、*Alcaligenes faecalis*²⁴⁾²⁹⁾、*Aspergillus Cryzae*²⁵⁾、*Proteus*²⁵⁾³⁰⁾、*Candida albicans*³⁰⁾³¹⁾、*Klebsiella-Aerobacter* SP.³⁰⁾が知られている。

糖尿病患者の血液や尿を保存した場合、その中の高いグルコース濃度から、高濃度のエタノールの産生が予想されたが、実験的に糖尿病患者の新鮮血液を4日間室温に保存した場合産生エタノールは見られなかった³²⁾。また実験的にウサギの新鮮血液にグルコースと腐敗した肝臓を加え室温(15～30℃)に放置した場合、1日で2mg/mlという高濃度のエタノールが産生された²⁶⁾。しかし腐敗した肝臓を入れない場合は2日で0.29mg/ml、3日以降7日まで約0.4mg/mlと、腐敗した組織を入れた場合に比べかなり低値を示した。また、血液のみで何も添加していない場合は2日～7日間とも0.05～0.10mg/mlと極めて低いことが報告されている²⁶⁾。このように、死後腐敗によるエタノールの産生は放置される死体側の条件によってもかなり変動幅があるものと思われる。

エタノールの減少・分解に関して、血液を保存した試験管内の実験で、Somogyiら³³⁾は+4℃でNaFを添加しない資料はほぼ一定の割合で減少すると報告し

Table 6. Comparison of distribution of ethanol-d6 in the rat carcasses stored at 30°C for 24hr after postmortem injection into the stomach orally by catheter and directly by laparotomy

	Ethanol-d6 concentration (mg/g) after injection		
	Orally by catheter (1)	Directly by laparotomy (2)	
Brain	0.509	0.168	0
Heart blood	0.189	0.038	0.016
Heart muscle	0.229	0.154	0.024
Lung	0.262	0.144	0.055
Pleural fluid	N.C.	0.287	0.258
Liver left lobe	0.957	0.543	0.616
Liver right lateral lobe	0.575	0.266	0.368
Kidney left	1.047	0.838	1.339
Kidney right	0.132	0.318	0.358
Spleen	1.638	1.099	1.761
Abdominal fluid	0.879	0.845	0.332
Femoral skeletal muscle	0.010	0.005	0
Stomach contents	1.960	1.543	2.570

N.C., not collectable. Mean values (n=3) are shown.

ている。また Dick & Stone³⁴⁾は血液資料を保存中にアルコール濃度が減少した資料から微生物 (*Serratia marcescens* と *Pseudomonas* SP.) を分離している。

エタノールの産生や分解には微生物の活動が関与し、そのため温度、湿度、好氣的・嫌氣的かといった条件が主な因子となる^{4)~6)25)26)29)~31)35)}。これらの条件は、実験上設定されたものは別として、実際の実務例では様々であり、現に外観上腐敗が進行している死体についてのアルコール濃度の評価にあたっては十分注意しなければならない。

何川ら²⁴⁾²⁶⁾は、この死後の産生アルコール(エタノール)量についてほぼ同時に産生してくる n-プロパノール量からの推定を試みている。すなわち、産生エタノール量は n-プロパノール量の25倍をおおむね越えないとしているが、正確な量を算出することは一応限界がある模様である²⁶⁾。

本実験においても、心内血についてはエタノール/n-プロパノール濃度比は18/1であった。しかし、他の臓器ではその比は28/1~42/1と比も大きく、可成りのばらつきもみられた。

3. エタノール-d6 の消化管からの死後拡散と天然エタノールの死後産生について

死後のヒト死体内での拡散について、Gifford & Turkel⁷⁾は、ヒトの死体11例を用いて実験を行っている。すなわち、死亡1~55時間後に胃内へ86ブルーフ(43%)のウイスキー3又は6オンス注入し、6°Cで10.5~24時間放置したのち解剖して、アルコール濃度は右心血で0.08~1.06 mg/ml、左心血で0~1.03 mg/mlを示し、あらかじめ心のう液や左胸腔液を除いたのち心臓の大血管を切断し、心のうまたは左胸腔にブルーした血液を採取した場合のアルコール濃度はそれぞれ0.36~2.96 mg/ml および0.50~3.12 mg/mlであったことを報告している。Plueckhahn⁹⁾は20例ヒトの死体を用いて、死亡1~34時間後にアルコール(10%液250ml~25%液500ml)を胃内注入し6~50時間後に解剖して、死後の胃からのアルコールの拡散状態を実験的に観察している。その結果心臓内血液のアルコール濃度は0~0.30 mg/mlで拡散の影響は極くわずかであるが心のう液では0.18~5.54 mg/ml および胸腔液では0~1.78 mg/ml でしばしば影響を受けると報告している。これらのことから両者とも剖検時心内血と股静脈血を採取、検査すべきであると指摘している^{7)~9)}。これらは、エタノールを用いた実験であり、前者は6°Cと比較的低温で保存した点、後者は温度の記載がなく、温度が比較的高い場合は死後産生等の変化も考慮しなければならないため、なお不明確な

点が残っている。そこで著者は、エタノール-d6 を用いて、死後産生エタノールと分離してラットを用いて実験したわけであるが、得られた結果を表4および5に示している。ラット屍を5°Cで放置した場合は、胃内のエタノール-d6 はゆっくり減少しているが、胃周囲の脾臓、左腎、肝左葉で12時間後からエタノール-d6 が検出され、3日間はほぼ同レベルの量のエタノール-d6 が検出されたが、それ以外の臓器では極微量で、腹腔外の大腿筋では全く検出されなかった。30°C放置では胃内エタノール-d6 は急速に減少することが認められた。胃周囲の脾臓、左腎、肝左葉では5°C放置の場合より高いエタノール-d6 値(2.6~1.1 mg/g)を示したがその後徐々に低減していった。腹腔液も1日目より検出(0.88mg/g)され、その後徐々に減少した。30°C放置群では、胃周囲に5°C群より早く拡散の影響が見られ、2日後には腹腔内諸臓器がほぼ同レベルの濃度(0.3~0.6mg/g)になり、拡散の影響は広範囲に及んだ。大腿筋は1日目より痕跡的に検出されたが、3日目でも0.07mg/gという低値であった。これらのことから、エタノールの死後拡散現象は、殆んど腹腔内のみにとまり、四肢、頭蓋内には殆んど到達しておらず、拡散の影響は無視できると考えられた。このことは Gifford ら又は Plueckhahn ら^{7)~9)}の股静脈血は胃からの拡散に影響を受けないという報告と一致している。

Iffland と Saternus³⁰⁾はヒトの剖検例で、心内血、尿、胃内容および胃に近い小腸上部、小腸中部、胃から離れた小腸下部のアルコール濃度を測定し含水率により補正して比較すると、60例中2例で明らかに胃からの浸透があったと報告している。このことから小腸各部のエタノールの分布が、胃からの拡散の影響の指標になると指摘していた。ラットによる本実験の腹腔内各臓器濃度の分布も胃からの遠近に一致しており、この傾向は彼らの実験成績とも一致するものである。

肺、心筋および心内血等からの5°C及び30°Cいずれの放置条件でも12時間後から検出され、エタノール-d6 が胃より上部の食道等から拡散してゆくことが示唆された。そこで、開腹し直接胃内にエタノール-d6 を注入し、噴門部で結紮したのち30°Cで1日放置した。この結果、胸腔液からは0.26mg/g とやや高いエタノール-d6 が検出されたが、肺、心筋および心内血では0.06、0.024および0.016mg/g と低値を示し(表6)、胃からの拡散に関して、あまり影響を受けないことが示された。

ラットの実験結果が直接ヒトに適用できるわけではないが、上記ヒト死体を用いた Plueckhahn ら⁹⁾の実

験結果とほぼ一致していた。胃からの拡散によりエタノール濃度が胸腔液でやや高値を示していることから、解剖時、心内血を採取するときは十分注意を要することを指摘したい。また、腹腔外の大腸筋は胃からの拡散はほとんど影響を受けていないことから、この大腸筋あるいは股静脈血⁷⁻⁹を採取し、心内血中の値と矛盾がないかどうかを確かめる必要がある。

Saternus¹⁰らはヒトの口腔等からの拡散実験で脳の一部にアルコールが検出されることを、ヒト死体で確認している。

経口注入による本実験では(表4および表5)脳よりエタノール-d6が検出され、口腔等からの拡散が考えられた。しかし開腹し直接胃内にエタノール-d6を注入した実験では全く検出されていない(表6)。このようなことから、死後脳内へも口腔等からの拡散によるものと判断すべきであり、同氏らの観察結果の正しいことを実験的に明かにした、と推察した。

ラット屍を30°Cで放置すると1日目よりエタノールが検出され、死後産生されていることが明白になった。すなわち30°C放置条件では死後拡散と死後産生が同時に進行していることが明らかとなった。本実験条件では、12時間から1日までには死後拡散の影響が大きく、30°C2日後腹腔内臓器で拡散および死後産生両者が同レベルで影響を及ぼし、30°C3日後にはいずれの臓器も死後産生のエタノールの影響の方が大きかった。以上の事実はいずれも新発見であり、今後更に詳細に検討したい。

結 論

1. エタノールの安定同位体標化合物エタノール-d6を用いて、ラットに投与し、体内分布について調べた。
2. 生前に投与されたエタノール-d6は肉眼的な腐敗の進行とともに急に減少し、それとともに死後産生エタノールが急増し、30°C、2.5日以後はエタノール-d6よりも高濃度になった。
3. エタノール-d6をラット屍に注入し、5°Cおよび30°Cで12時間から3日放置した実験で、5°Cでは胃周囲の臓器に拡散の影響は限定され、少なくとも3日間はかなりの影響を与えていた。30°Cでは5°Cよりも速く強く、胃周囲臓器に影響を与え、2日後には腹腔内全体に少し影響を及ぼしていた。大腸筋は胃からの拡散の影響はほとんどなかった。
4. 上記3の実験において、5°Cでは腐敗による産生エタノールは全くなかったが、30°Cでは1日目より産生エタノールが検出されたが、腹腔内臓器では拡散

の影響の方が大きく、2日目には両者はほぼ同レベルの濃度になり、両者の影響が見られ、3日目には腐敗の影響の方が大きかった。

5. エタノール-d6を直接胃内に注入した実験から、30°C1日では胃からの拡散は心内血において影響は極小であったが、しかし、胸腔液、心筋、肺では少し影響が見られた。

謝 辞

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました永野耐造教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究遂行に際して御助言御協力を戴きました前田均助教授、高安達典博士はじめ本教室の教室員の各位に厚く御礼申し上げます。

なお本論文の要旨は第10回日本法医学会中部地方会(1988年、甲府)および第73次日本法医学会総会(1989年、岡山)で発表した。

文 献

- 1) Elbel, H. & Schleyer, F.: Blutalkohol, 2nd., Pl-26, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1956.
- 2) Landsberg, A.: Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 41, 505-523 (1904).
- 3) Gordon, I. & Shapiro, H. A.: Forensic Medicine, 2nd ed., P393-437, Charchill Livingstone, Edinburgh, 1982.
- 4) 中林幸三: 死体の血液、髄液および尿のアルコール濃度について。日法医誌, 21, 174-203 (1967).
- 5) 小西洋一: 死体 Alcohol に関する研究。日法医誌, 24, 32-47 (1970).
- 6) Nanikawa, R. & Kotoku, S.: Medico-legal evaluation of the ethanol levels in cadaveric blood and urine. Yonago Acta Med., 15, 61-69 (1971).
- 7) Gifford, H. & Turkel, H. W.: Diffusion of alcohol through stomach wall after death. JAMA, 161, 866-868 (1956).
- 8) Turkel, H. W. & Gifford, H.: Erroneous blood alcohol findings at autopsy. JAMA, 164, 1077-1079 (1957).
- 9) Plueckhahn, V. D., Path, M. C. & Ballard, B.: Diffusion of stomach alcohol and heart blood alcohol concentration at autopsy. J. Forens. Sci., 12, 463-470 (1967).
- 10) Takayasu, T. & Nagano, T.: Analysis of ethanol and toluene from the experimentally decomposed animal carcasses. Proc. 24th The International Association of Forensic Toxicologists.

ts, p15 (1987).

- 11) 何川 涼, 古徳 迪: Gas chromatography による生物試料中 Alcohol の迅速定量法, アルコール研究, 4, 27-33 (1969).
- 12) Jacobsen, E.: The metabolism of ethyl alcohol. *Pharmacol. Rev.*, 4, 107-135 (1952).
- 13) 中西穎央: アルコール代謝の種差と個体差. 代謝, 14, 823-828 (1977).
- 14) Widmark, E. M. P.: Die Theoretischen Grundlagen und die Praktische Verwendbarkeit der Gerichtlich-Medizinischen Alkoholbestimmung, 1st ed., P10-29, Urban & Schwarzenberg, Berlin, 1932.
- 15) 溝井泰彦: 酪酐の個人差に関する研究. 日法医誌, 30, 137-168 (1976).
- 16) 井尻 巖, 丸山 準, 貴島哲香, 朝倉 哲, 溝井泰彦: 血中アルコール濃度から見たアルコール代謝の個人差について. アルコール研究, 11(suppl), 115-116 (1976).
- 17) Schmidt, V. & Oehmichen, M.: Alkoholkinetik und Nahrungszufuhr. *Blutalkohol*, 21, 403-421 (1984).
- 18) Schuster, R., Schewe, G., Wenzlitschke, S. & Zehmer, D.: Über den Verlauf der Blutalkoholkurve nach dem Genuß von Bier und Weinbrand zusammen mit "alkoholfreiem" Bier. *Blutalkohol*, 22, 304-320 (1985).
- 19) Van Hecke, W., Handovsky, H. & Thomas, F.: Analyse statistique de 597 dosages d'alcool éthylique pratiqués dans le sang, les humeurs et les organes d'un total de 93 cadavres. *Ann. Med. leg.*, 31, 289-338 (1951).
- 20) Christopoulos, G., kirch, E. R. & Gearien, J. E.: Determination of ethanol in fresh and putrefied post mortem tissues. *J. Chromatogr.*, 87, 455-472 (1973).
- 21) Krauland, W., Klug, E & Toffel, P.: Zur Bestimmung der Alkoholkonzentration in Leichenorganen. *Blutalkohol*, 16, 290-299 (1979).
- 22) Backer, R. C., Pisano, R. V. & Sopher, I. M.: The comparison of alcohol concentrations in postmortem fluids and tissues. *J. Forens. Sci.*, 25, 327-331 (1980).
- 23) Bonventre, J., Valanju, S. & Bastos, M.: Evaluation of ethanol analysis on brain and liver by head-space gas chromatography. *Forens. Sci. Int.*, 19, 75-83 (1982).
- 24) 何川 涼: アルコールと法医学. *メディカルコンパニオン*, 3, 841-844 (1983).
- 25) 藤東俊雄: 死体並びに保存血における Ethanol および関連物質の産生に関する研究. *十全医会誌*, 83, 577-596 (1974).
- 26) Nanikawa, R., Ameno, K., Hashimoto, Y. & Hamada, K.: Medicolegal studies on alcohol detected in dead bodies—alcohol levels in skeletal muscle. *Forens. Sci. Int.*, 20, 133-140 (1982).
- 27) Winek, C. L., Matejczyk, R. J. & Buddie, E. G.: Blood, bone marrow and eye fluid ethanol concentrations in putrefied rabbits. *Forens. Sci. Int.*, 22, 151-159 (1983).
- 28) 長島 洋: 死体および保存臓器におけるアルコール産生とその機序に関する研究. *岡山医誌*, 98, 669-685 (1986).
- 29) Davis, G. L., Leffert, R. L. & Rantanen, C. N. W.: Putrefactive ethanol sources in postmortem tissues of conventional and germ-free mice. *Archives of Pathology*, 94, 71-74 (1972).
- 30) Plueckhahn, V. D. & Path, M. C.: The significance of alcohol and sugar determinations in autopsy blood. *Med. J. Australia*, 1, 46-51 (1970).
- 31) Chang, J. & Kollman, S. E.: The effect of temperature on the formation of ethanol by *Candida Albicans* in blood. *J. Forens. Sci.*, 34, 105-109 (1989).
- 32) Eckes, K., Haffner, H.-T. & Leithoff, H.: Untersuchungen zur Neubildung von Äthanol in Frischblutproben von Diabetikern. *Blutalkohol*, 21, 302-307 (1984).
- 33) Somogyi, G., Buris, L. & Nagy, F. I.: Veränderung der Blutalkoholkonzentration während der Lagerung. *Blutalkohol*, 23, 208-213 (1986).
- 34) Dick, G. L. & Stone, H. M.: Alcohol loss arising from microbial contamination of drivers' blood specimens. *Forens. Sci. Int.*, 34, 17-27 (1987).
- 35) Weinig, E., Schwerd, W. & Lantenbach, L.: Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen im Leichenblut und ihre forensische Bedeutung. *Beitr. Gerichtl. Med.*, 21, 114-126 (1961).
- 36) Iffland, R. & Saternus, K. S.: Zur Alkoholkonzentration von Magen-und Darminhalten und deren Bedeutung für eine postmortale Diffusion.

Blutalkohl, 21, 347-362 (1984).

37) Saternus, K. -S., Langenberg, K., Iffland, R. & Staak, M. : Untersuchungen zur postmorta-

len Diffusion von Äthanol in den intracraniellen Raum. Blutalkohl, 19, 171-180 (1982).

Postmortem Degradation and Diffusion of Ethanol-d6 in Animal Bodies and Postmortem Production of Ethanol Hirotoimo Fukui, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 1198—1211 (1989)

Key words Distribution of ethanol-d6, postmortem production and degradation of alcohol, postmortem diffusion of alcohol, gas chromatography-mass spectrometry

Abstract

In the field of legal medicine, there are some problems in alcohol determination; that is, postmortem ethanol production and degradation, and diffusion from the digestive tracts such as the stomach. There have been many reports which aimed to solve these problems. The degradation and production of ethanol in cadavers, however, could be only inferred from the relative changes of its concentration, because it was impossible to discriminate the ethanol taken antemortem from ethanol produced postmortem. Takayasu & Nagano reported in 1987 that deuterium labeled ethanol-d6 could be detected separately by GC-MS analysis from "natural" ethanol. From this point of view, these animal experiments were carried out to solve the problems by using deuterium labeled ethanol-d6. As to distribution of ethanol-d6 in rat organ tissues after oral administration, both of the blood ethanol curve and the distribution in the organs were similar to those in cases of human after alcohol ingestion. In rabbit carcasses stored at 30°C, the ethanol-d6 which had been administered antemortem markedly decreased in concentration one day later and then after, as the carcasses putrefied. In contrast, the concentration of postmortem produced ethanol increased steadily, and it reached to a concentration higher than ethanol-d6 2.5 days later and then after. To clarify the postmortem diffusion from the digestive tracts to neighbouring organs, ethanol-d6 solution was injected orally into the stomach of rat carcasses by catheter, and then the carcasses were stored for 0.5 to 3 days at 5 or 30°C. At 5°C, ethanol-d6 was detected in organs adjacent to the stomach, but no postmortem production of "natural" ethanol was detected. At 30°C, 12 hr later, ethanol-d6 was detected in the concentration higher than that of the same organs at 5°C, and then decreased gradually. Ethanol-d6 was distributed in all examined abdominal organs of the carcasses stored at 30°C, one day later, and showed a concentration level similar to that of postmortem produced ethanol 2 days later. Three days later, the postmortem produced "natural" ethanol showed a level higher than the ethanol-d6. The influence of diffusion from the stomach, however, was scarcely noticed in the femoral skeletal muscles both at 5°C and at 30°C. When ethanol-d6 solution was directly injected into the stomach of rat carcasses by laparotomy, the diffusion of ethanol-d6 into the heart blood was insignificant, but the pleural fluid was slightly affected. In this condition, diffusion into the cranial cavity did not occur.