

平成11年度 日本オリンピック委員会スポーツ医・科学研究報告

No.V スポーツ選手を対象とするドーピング検査法に関する研究

—長野オリンピック参加選手のステロイドプロファイルに関する研究—

財団法人 日本オリンピック委員会
選 手 強 化 本 部

平成11年度 日本オリンピック委員会スポーツ医・科学研究報告

V. スポーツ選手を対象とするドーピング検査法に関する研究 —長野オリンピック参加選手のステロイドプロファイルに関する研究—

研究班長：植木 真琴¹⁾

研究班員：岡野 雅人¹⁾ 佐藤 充彦¹⁾ 池北 紋子¹⁾
高尾 由里子¹⁾

Report of the research project on the testing procedures
for doping control in sports

Steroid profiles of olympic winter athletes

—Results from the XVIII Olympic Winter Games, Nagano 1998—

(Granted by the Japanese Olympic Committee research fund 1999)

Chief : Makoto Ueki

Members : Masato Okano, Mitsuhiko Sato, Ayako Ikekita,
Yuriko Takao

Doping control laboratory, Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc.

3-30-1 Shimura, Itabashi-ku, Tokyo 174-8555, Japan

We have developed an analysis procedure for detection of naturally occurring steroids in urine by means of gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry(GC/C/IRMS) in 1998. In this report, we propose criteria of carbon isotope ratio to indicate doping with naturally occurring steroids that are based on 447 olympic athletes. The parts per thousand difference of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio from the isotope ratio standard (δ -value) of 26 synthetic steroids was -30.1 ± 2.6 , and was significantly lower than that of endogenous testosterone related steroids in human urine of world class athletes who had participated in the XVIII Olympic Winter Games, Nagano 1998. Administration of synthetic steroid resulted in negative shift of δ -value of target steroids and their metabolites. Therefore, negative shift of δ -value of parent steroid and the metabolites in urine is considered to be conclusive evidence for detecting doping with naturally occurring steroids. The carbon isotope methodology was used for doping control during Nagano Olympic games on research basis, and would be applied officially in Sydney Olympic games to be held this year.

¹⁾三菱化学ビーシーエル ドーピング検査室

1. はじめに

1994年に米国で補助栄養食品の規制が緩和されて以降、近年日本においてもホルモン含有補助栄養食品が個人輸入などで出回るようになり、陽性者が増加する傾向を示している。

生体内でも生合成されるテストステロン関連物質の陽性判定に際しては、目的成分が単に尿に検出されただけでなく、外部から摂取したか、あるいは生理的にはあり得ないデータであることを証明する必要がある。日本では過去の五輪において生理的なテストステロン（以下 T）の異常により陽性判定を受けた例があり、この様なドーピング物質の判定に際しては選手の日常のデータに加えて、炭素同位体比などの科学的証拠を収集することが重要である。我々は昨年の本研究の成果により、日本人男女各10例から得られた炭素同位体比を基に、検出されたステロイドの異常が生理的なものであるか、合成品であるかの判定を可能としたが、陽性判定に際して、食生活や人種差など、地域による差異が生ずる可能性がある。

今回の研究では、長野オリンピック参加選手の尿ステロイドプロファイルを詳細に調査・再分析し、濃度分布、炭素同位体比などの判

定に必要な基礎データをまとめたので報告する。

2. 方 法

a. 試薬と装置

使用試薬・装置・分析方法は平成10年度日本オリンピック委員会スポーツ医・科学的研究報告¹⁾によった。

b. 試料

日常検体約4,991例と、既に薬物投与の無いことが確認された長野オリンピック参加選手約450名の尿サンプルを用いた。なお、昨年の母集団は日本人男女各10人であったが、今回の尿サンプルの大部分はコーカサス人種と推測される。

c. 測定方法

測定方法は平成10年度日本オリンピック委員会スポーツ医・科学的研究報告、および既に報告した方法²⁾によった。Etiocholanolone（以下 Etio）の硫酸抱合体画分を加えた4種類の対象ステロイド、dehydroepiandrosterone（以下 DHEA）、 5α -androstane- $3\alpha, 17\beta$ -diol（以下 5α -diol）、 5β -androstane- $3\alpha, 17\beta$ -diol（以下 5β -diol）、Etioの絶対 δ 値および各ステロイドの pregnanediol（以下 P₂）の δ 値に対する相対 δ 値を求め、ドーピングの判定に用いた。

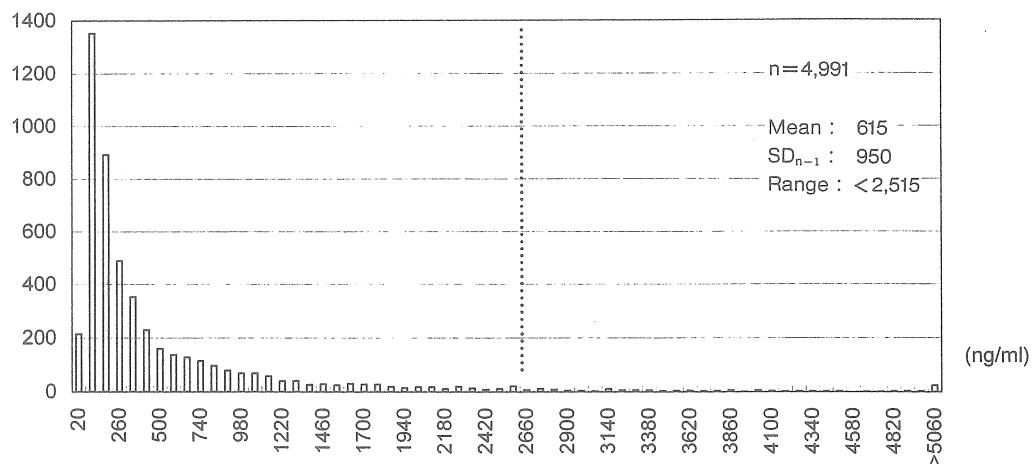


図1 Distribution of DHEA concentration in total fraction

3. 結果と考察

a. DHEA の濃度による測定

日常検査対象の4,991例(男3,174,女1,690,不明127)についてDHEAの濃度を測定した結果を図-1に示した。その結果、平均615ng/ml, SDn-1=950, 基準値範囲2,515以下という結果が得られたが、正常者と異常者との分布は連続的であった。

このように、日本人を含む蒙古系人種では内因性DHEAの高排泄者が高頻度で存在するので、そのドーピング判定には特に注意が

必要であった。

b. 長野五輪参加選手の炭素同位体比測定

得られた各測定値について、Smirnov-Grubbsの棄却検定後、基準値の計算を行った。その平均値および幅は図-2および表-1に示した。それらの平均値は、DHEA, 5 α -diol, 5 β -diol, Etio, P₂で各々-20.3, -17.5, -20.0, -21.7, -21.0であった。 δ 値の平均値は日本人の基準値よりも1~2(%)単位少なかったが、有意の差ではなかった。5 α -diolの δ 値は5 β -diolのそれより¹³C含量が約2(%)多いとの結果が得られたが、これは日本

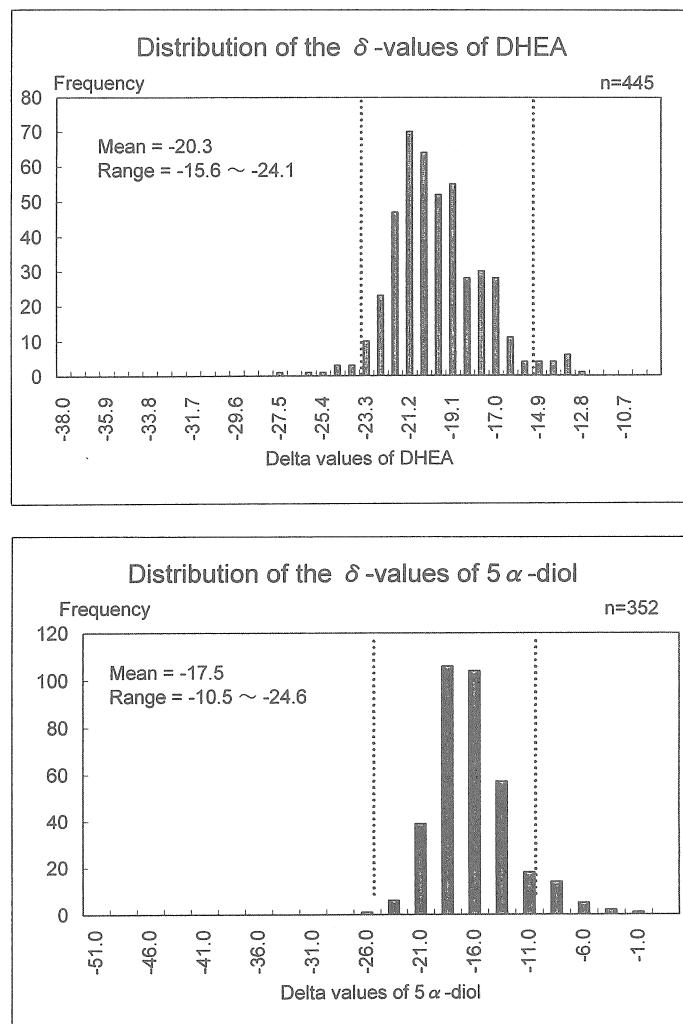


図 2

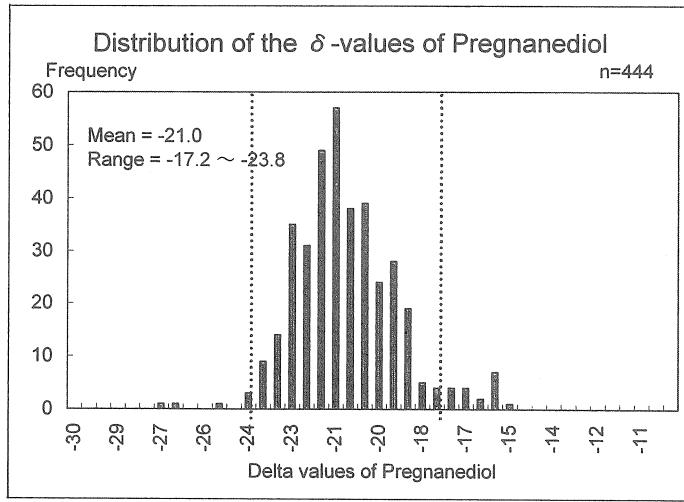
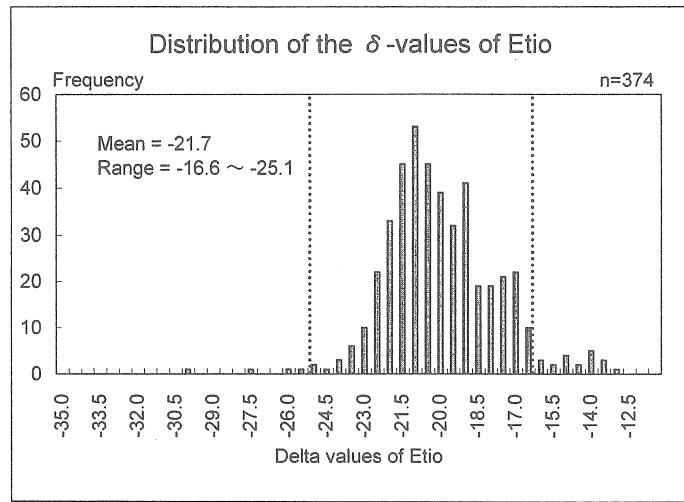
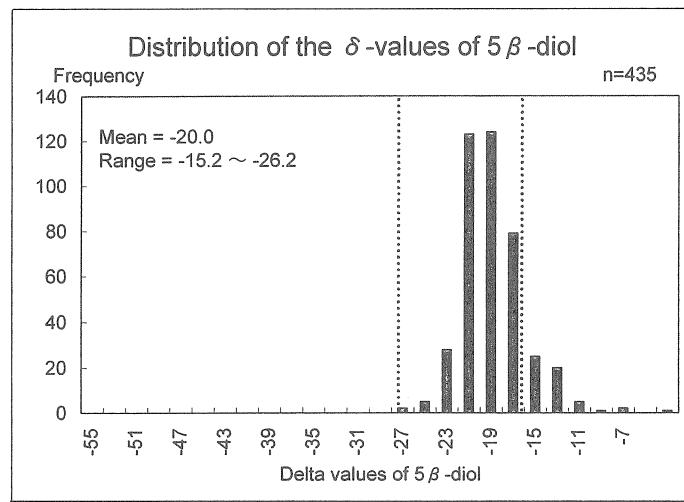


図 2 つづき

表1 Reference intervals of δ -values

Steroids	n	mean	Range
DHEA	445	-20.3	-15.6 to -24.1
5 α -diol	352	-17.5	-10.5 to -24.6
5 β -diol	435	-20.0	-15.2 to -26.2
Etio	374	-21.7	-16.6 to -25.1
P ₂	444	-21.0	-17.2 to -23.8

Unit: δ ^{13}C ‰表2 Reference intervals of relative δ -values ($/P_2$)

Ratio	n	mean	Range
DHEA/P ₂	375	0.97	0.77 to 1.13
5 α -diol/P ₂	349	0.86	0.47 to 1.12
5 β -diol/P ₂	433	0.96	0.73 to 1.12
Etio/P ₂	336	1.03	0.86 to 1.15

人の結果と同様であり、判定上問題になる差異ではなかった。

b. プレグナンジオール(P₂)による補正

男性ステロイド使用の影響を受けないP₂の δ 値は個人の δ 値を代表すると考えられ、食事の差異による炭素同位体比への影響を除外する補正係数として利用できる。表-2に示したようにP₂補正された相対 δ 値の平均値はDHEA/P₂, 5 α -diol/P₂, 5 β -diol/P₂, Etio/P₂で各々0.97, 0.86, 0.96, 1.03と前回報告した日本人の基準値と同様の結果が得られ、相対 δ 値には人種差の無いことが確認された。また、図3 aに示したように絶対 δ 値では正常者群とドーピング群との間に一部交叉があり、灰色領域が存在するが、図3 bに示した相対 δ 値の分布では両群の交叉はほとんどなく、2成分以上の δ 値による判定によってほぼ完全に偽陽性が排除できることが確認された。

c. 炭素同位体比測定による検出例

過去2年の間に発見されステロイド使用の可能性があると予想される症例について炭素同位体比測定結果を考察した。今回対象としたステロイドでは以下3点が確認されている。

1. ステロイド投与により未変化体、代謝物の δ 値の低下が認められるが、前駆体にはその変化は無視し得る¹⁾。
2. 5 α -diolと5 β -diolの相互変換は起こらず³⁾、5 β -diolの δ 値はジヒドロテストステロン(以下DHT)投与の影響を受けない。
3. T投与後にはT/ET比が上昇するが、アンドロステンジオン(以下A₂one)投与時には必ずしも上昇しない。

以上の3点から表3に示した症例を考察すると、No.1からNo.3ではP₂を除く対象としたすべての成分で δ 値の低下が認められることからDHEA陽性と判定された。また、No.3ではT濃

Group 6: DHT服用尿



図 3 a

Group 5: テストステロン服用尿 (DHEA高排泄者)

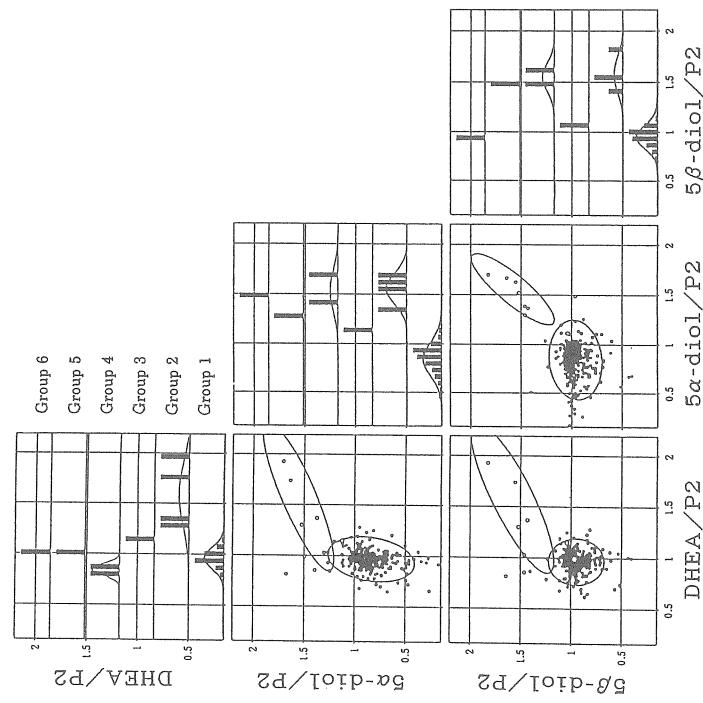


図 3 b

表3 炭素同位体質量分析計による内因性ホルモンドーピング検出例

No.	SEX	Concentration(ng/ml)										Absolute δ -value(%o)						Ratio of δ -value(P_2)		
		T	ET	A	Eto	DHT	5 α -diol	5 β -diol	DHEA	5 α -diol	5 β -diol	Eto	P ₂	DHEA/P ₂	5 α -diol/P ₂	5 β -diol/P ₂	Eto/P ₂			
1	M	3	33	10,860	17,100	2	550	389	1,635	-27.9	-30.6	-31.0	-28.6	-20.1	1.39	1.52	1.54	1.42		
2	F	111	45	19,040	4,442	7	76	81	193	-24.6	-29.8	-30.6	-28.9	-18.6	1.32	1.60	1.65	1.55		
3	M	437	12	9,481	19,150	27	388	1,604	5,424	-27.9	-28.7	-29.9	-29.2	-20.0	1.39	1.44	1.49	1.46		
4	M	11	74	2,101	12,098	8	138	450	493	-14.7	-30.0	-29.5	-31.6	-18.0	0.82	1.67	1.64	1.76		
5	M	67	36	4,417	4,020	1	80	281	3,374	-16.8	-15.9	-17.9	-17.3	-17.1	0.98	0.93	1.05	1.01		

T: Testosterone
 ET: Epitestosterone
 A: Androsterone
 Eto: Etiocholanolone

DHT: Dihydrotestosterone
 5 α -diol: 5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol
 5 β -diol: 5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol
 DHEA: Dehydroepiandrosterone

度の上昇と T/ET 比上昇から T についても陽性と判定され、その結果は正式に受理された。一方、No.4 では DHEA の δ 値は正常であり T/ET 比が正常なことから A₂one 陽性と判定された。これらに対し、DHEA 濃度が高値であることからドーピングが疑われたNo.5 では全成分の δ 値が正常であり、生理的 DHEA 高排泄者であることが明らかとなった。このようにして、複数の成分の δ 値の評価により、従来判定基準が設定されていなかった DHEA, A₂one についても陽性判定が可能となった。詳細については国際誌²⁾に報告した。

4. 結 論

以上の結果から、炭素同位体比測定の判定方法においては人種差は無視できる程度であり、P₂補正により食生活などによる個人差を補正できることが確認された。

本法は生理的なステロイドの由来を炭素同位体比の違いから調べる方法であり、テスト

ステロンおよびその関連ステロイドの生理的異常とドーピングによる異常と明確に判定できる。このことは、1999年の IOC アンチドーピング規程⁴⁾で明記され、2000年のシドニー五輪では正式実施される見込みとなった。

5. 文 献

- 1) 平成10年度日本オリンピック委員会スポーツ医・科学研究報告 スポーツ選手を対象とするドーピング検査法に関する研究
- 2) Makoto Ueki and Masato Okano Rapid Commun. Mass Spectrom. ; 13, 2237–2243, 1999
- 3) Ueki M, Okano M.J.Toxicol. Toxin Reviews ; 18 : 177, 1999
- 4) IOC Medical Commission, Olympic Movement Anti-Doping Code, Prohibited Classes of Substances and Prohibited Methods, Appendix A, 33-43, Lausanne, 1999

海外出張報告

本研究期間中以下の海外出張を実施した。

Meeting of the heads of IOC accredited laboratories for doping control analyses
主 催：IOC 医事委員会

対 象：IOC 認定ドーピング検査機関責任者
(27名), IOC 医事委員会ドーピング
担当委員(委員長, 医事部長, 秘書,
他 2 名)

場 所：Abela Hotel モンテカルロ

日 時：1999年10月5日から6日

参加者：植木 真琴

本会議は、各認定検査機関の責任者を対象として IOC の招きで隔年開催される非技術的会議で、その時点の重要案件について討議し、以後の方針を策定し、検査機関間の意識統一を計ることを目的とする。

1. 低濃度筋肉増強剤にまつわる最近のドーピング訴訟(ナンドロロンと関連物質)
対策

2. 新 IOC 医事規程について

3. ISO ガイド25認定の取得状況

4. 陽性結果の報告方法(内容と連絡)

5. 研究プロジェクト(IOC とヨーロッパ共同体)

6. その他

a. 分析の料金

b. IOC 認定検査機関に対する訴訟について

内 容

1. 最近のドーピング訴訟

今年に入って世界的な選手がナンドロロン関連物質の陽性判定を受け、控訴審で検査実施側が敗訴するという事件が増加している。

リンフォード・クリスティーの例では、過去にドーピング訴訟で敗訴し慰謝料支払いのために破産したイギリス陸上競技連盟が、裁判を避けるために処分を撤回するなど問題とな

っている。

昨年8月に、IOC のワーキンググループによって低濃度陽性検体の報告基準が出されているが、今回種々の再討議の結果、その基準の有効性を再度確認し、マスコミ、各国スポーツ連盟および担当省に宛てたコミュニケとして公表することになった。

「27の IOC 認定検査機関責任者が10月5日から6日にモナコで会合を開き、1998年8月に配布した報告ガイドラインの有効性を確認した。IOC は常に筋肉増強剤の使用に反対しており、禁止リストにはナンドロロンとその関連化合物、特にノルアンドロステンジオンとノルアンドロステンジオールが含まれている。IOC は、薬物使用の判断は常に医学責任者の適切な監視のもとにすることとしており、選手に責任があるにせよ、また容器ラベルに含有物の表示があるなしに係わらず、スポーツ指導者が上記禁止物質を含む未承認補助栄養食品の販売、製造、輸入の防止策をとることを強く要請する。」

競技連盟・担当省宛コミュニケ(和訳)

「27の IOC 認定検査機関責任者が10月5日から6日にモナコで会合を開き、最近問題になっているノルアンドロステロンに関する疑惑について評価を行った。そして1998年8月に各 IOC 認定検査機関にアドバイスとして公布された報告ガイドラインに記載された報告基準が適切であることを確認した。最近多くの出版物が、天然の(内因性)ナンドロロン代謝物(すなわち19-ノルアンドロステロン)の生成と IOC 認定機関が採用している報告許容値に関する疑問について報告している。昨年の CAS(スポーツ裁定裁判所)の決定以来、極めて高感度の測定技術を使って測定された 19-ノルアンドロステロンの男子尿中平均濃度は、報告許容値の20分の1以下であることを示すいくつかの出版物が学術論文として報告されている。文献に投稿された中で最も高

い値でも、この報告許容値の1／3以下である。男女選手から採取された多数のサンプルについてIOC認定検査機関で実施された検査結果の評価によると、この代謝物が、日常的に用いられる検査方法では尿からは通常検出されないことを示している。すなわち最近問題とされているナンドロロン陽性例は、高分解能質量分析計やタンデム質量分析計など、より高感度な分析方法の使用による結果ではない。」

以上のように、ナンドロロンの報告許容値を緩和する必要があるか否かについて検討したが、従来の許容値をそのまま採用して差し支えない、という結論で合意された。

2. 新IOCアンチドーピング規程

先に配布された2000年版の規程では、ISOガイド25認定取得をIOC認定ドーピング検査機関に対する要求事項とすることが明記され、その期限として2000年1月1日発効と記載された。今回の改訂の最重要点は、検査機関にスポーツから独立した第三者機関である国際標準化機構(ISO)のガイド25への適合が義務づけられたことと、IOCが世界的なアンチドーピング活動の融和を目的として設立を進めている国際アンチドーピングエージェンシーの明記である。禁止薬物リストに関しては大きな変更はない。

後者については当初1999年6月までに具体的なアクションをとる予定であったが、IOCのリストラと組織改訂プロジェクトであるIOC2000が手間取り、未だ実態は明確でない。IOC委員、スポーツ功労者、法律家、非IOCファミリー、各国内調整機関代表(組織のある国から)、および学識経験者などによって構成される予定であると、メローデ委員長から説明があった。

3. ISOガイド25取得状況

現時点で認定を取得しているのはロンドン、シドニー、東京の3カ所のみである。大部分

のラボは2000年1月-2月にかけて査察を受ける予定であると報告した。従って認定取得は東京ラボの例から考えても2000年4-5月頃と推定される。東南アジアのラボは経済的な問題をかかえており、準備が遅れているという。現在バンコクラボなどから、NATA認定に関して技術的な問い合わせを受けており、情報提供などの協力をしている。期限までに認定をとれない検査機関24カ所をすべて資格停止にすることはあり得ないが、新医事規程で要求事項となっている以上、非取得検査機関が担当したドーピング検査関連訴訟で問題視される可能性は大きく、今からその影響が危惧される。

4. 陽性結果の報告方法(内容と連絡)

従来より、各認定ラボは四半期ごとにIOC医事委員会ドーピング小委員会事務局(旧事務局はケルンの故ドニケ博士)に検査統計の報告を行っていたが、このたび新事務局のバルセロナラボで処理ソフトが出来上がり、近日中に登録E-mailアドレスと配布されたパスワードを用いた統計数値のオンライン報告や処理結果のリモート参照ができるようになる予定である。その情報は各国際スポーツ連盟にも提供される見込みである。

5. 研究プロジェクト (IOCとヨーロッパ共同体)

IOCは1999年9月末まで、ドーピングの判定方法が未だ確立していないEPO(造血ホルモン)とhGH(ヒト成長ホルモン)のドーピング判定方法に関する研究(250万\$規模)を公募している。

IOCはEUからの研究費を受け、ヨーロッパ地区における一般人のドラッグテスト体制確立に協力してきたが、今回はその予算の一部を利用し、EUメンバー国にあるIOCラボ間でコントロールサーベイを実施しようという案が出されている。

一方この話に対してペナン、バンコックが自分たちの練習のためにこのプログラムに参加させてもらえないかという要望を出したが、研究費のポリシーの問題からEUメンバー国以外の国からの参加は難しい状況である。会議の後、マレーシア、タイ、韓国、中国の各認定ラボが集まってアジア太平洋地区の技術協力体制を作りたいので、日本（私）に幹事役をやってもらえないかとの話があった。現在UCLAのラボ責任者であるDr. Don CatlinはIOC医事委員を兼ねているので、環太平洋とオセアニアも含め、日本、西アメリカ、オーストラリアを入れれば経験の長い3カ国が加わり、IOC医事委員会内部の情報も得られるので、より協力の幅が広がるということで米・豪も加えたらどうかという提案をし帰国した。

6. その他の

ドーピング検査の検査料金が国によって大幅に異なり、換算レートの関係から開発途上国では低価格・高収益で外国からの検査を集中して受託している（例えば中国）。一方、アジアではかつて検査のほとんどが日本に依頼されていたが、最近では資格制限中の外国ラボからの依頼や、外国選手の日本での抜き打ちテストに限られている。公定価格は300イスフラン／1検体であるが、マドリッド（国立）は無料というように検査費用の考え方にも大きな差異があり、かつてスペインの検査はIOC事務局のバルセロナには依頼されないという時期があった。メローデIOC医事委員長からは重ねてディスカウントをせず、得た収入で研究費を増やすよう必要と要請があった。

（前回のローマ会議でメロード委員長は「研究を行わないで検査で商売だけを考えているラボは淘汰されるべきである」と発言している。）

また、委員長より「スケールメリットを出すため、日本は検査数を増すべきである」との指摘を受けた。

昨年8月にカナダでパンアメリカンスポー

ツ大会が開催され、高飛び世界記録保持者のソトマヨール選手を含めてコカイン1名、筋肉増強剤3名、合計4名のキューバ選手が失格するという事態になった。この事態に怒ったカストロ議長は、「これは検査機関のインチキによりキューバを陥れようとする国際的陰謀であり、4人を処罰することを禁ずる」との声明を発表し、国内のスポーツ医学関係者を強制的に従わせるという事態となった。さらに検査を担当したモントリオールラボを非難すると共に、今後自国の選手を保護するためにキューバに独自の認定ラボを設置する準備を開始した。4人が無実であることの根拠としてキューバ側が挙げた理由は、大会後4人から再度採尿し直した尿をヨーロッパの3カ所の検査機関で検査したところ、いずれも陰性だった、というものである。スポーツ界の常識では、取り直した尿はこの種の薬物の陽性判定上考慮されず、再採尿に第三者が立ち会っていない点も問題である。本件についてのメローデ委員長のアドバイスは、このような感情的な問題は当事者同士で解決することが不可能であり、ラボが政治的な事に巻き込まれるのは好ましくないので、CAS（国際スポーツ裁判所）に提訴して解決を計るのがベストである、というものであった。

ま　と　め

近年益々ドーピングの法的側面が問題になってきており、1994年にアメリカにおける補助栄養食品規制の緩和によって始まったホルモン含有食品によるドーピングが、現在のアンチドーピング活動に色濃く影響していることを伺わせる会議であった。ドーピング物質がどこから由来するにしても、尿に禁止物質が排泄されれば一義的に違反が成立することに代わりがないが、マグワイアが流行のきっかけを作ったアンドロステンジオンのようなホルモン含有補助栄養食品は、アメリカおよびその統治領の社会法では合法であり、禁止

する根拠はスポーツ界のルールだけである。しかも、インターネット販売による不正品の流通によって、選手がドーピングを認識していない場合も多いことがよけい問題を複雑にし、訴訟が増える原因の一つになっている。このような製品はたとえ医学専門家であっても完璧には未然防止できないので、日本国内では、正規の許可を受け、内容物を明記して販売されているものだけを選んで注意深く適切に使用することが唯一の解決策である。欧米の状況は日本国内において必ずしも周知されているとは限らないので、スポーツ団体を通じて一層の啓蒙・広報活動に勤める必要がある。

〈ドーピング分析に関するケルンワークショッピング発表およびラボ技術責任者会議(2回)
(2月21-24日：ドイツケルン体育大学、ケルン市) 参加者：植木眞琴

一連のIOCスキャンダルや、近年のドーピングにまつわる訴訟問題に関連して、選手委員会やIOCと一線を画す複数の政府機関の強いロビー活動により、ドーピング問題に関するイニシアティブを統括組織であると同時にオリンピック競技会を開催する母体でもあるIOCから切り離すという方向性が出てきている。具体的には昨年3月のアンチドーピングローザンヌ国際会議においてドーピング問題全体を統括する世界アンチドーピング機構(WADA: World Anti-Doping Association)設立が採択された。文部省による日本アンチドーピング機構(ADO-Japan)の設立もこれに同調している。また、シドニー五輪のドーピング検査もオリンピック委員会が運営するのではなく、WADAがイニシアティブをとる予定と噂されている。将来的には、現在IOC医事委員会のドーピング小委員会に属する5人のラボ責任者によって審査されている検査機関の認定もWADAに移管され、全検査機関が等しく第三者審査を受けるようになる。

WADAの構成 (会長はカナダのパウンド弁護士: IOC副会長)

各国政府組織代表者、オリンピックムーブメント(IOCではない。五輪運動に関わる選手、組織等の代表)の各々50%ずつから構成される。

ドーピング検査科学者連合の設立

WADAに対して検査機関の意見を反映し影響力を維持する必要性から、従来の医事委員会メンバー5人が中心となって、認定ラボの技術責任者からなる連合設立の準備が進められている。現在、ラボ間ではインターネットで相互交流を進めているが、入会は訴訟時の手助けを得るために保険というように考えることもできる。年一回の会合を持つとされている(実質的な賠償金の補填などは期待できない)。

新検査統計処理システム(Extranet)

IOCの情報処理スポンサーがIBMからSEMAに代わることになり、これまでIOCに対して送っていた文書による四半期統計報告が、今後インターネットによる随時報告となる。IOCはシステム開発費の負担と引き替えにリアルタイムの検査情報をいち早く入手できることになり、これによりIOCはWADAや国際陸上連盟などの各国際競技連盟への差別化も可能となるので影響力維持には重要である。これについて同意しない検査機関はIOC認定を失うというアナウンスが医事部長からあった。

今回のワークショップ参加者

38ヵ国105人

参 加 国	数
アジア大陸	7
アフリカ大陸	3
アメリカ大陸	3
ヨーロッパ	24
オーストラリア大陸	1