

性が認められた因子は喫煙本数と総吸煙量の2つであった。とくに総吸煙量は、高い相関が認められた。また、パッケージに表示されたニコチン量との関係性は認められないことから、低ニコチンたばこおよび高ニコチンたばこによる8-OHdG濃度への影響は示唆されなかった。このことから、低タールたばこが必ずしも害の少ないたばこではないと考えられる。上記以外の他の因子についても特に高い関連性が認められないことから、喫煙本数と総吸煙量に着目して解析することが重要であると考えられる。これを受けて、さらに多変量解析結果を行い (Table 2)、その結果、唾液中コチニン濃度、呼気中CO濃度共に8-OHdG濃度と関連性は認められず、また、喫煙による8-OHdGの生成は、ニコチン、COの曝露に依存しない化合物の関与の可能性が示唆された。加えて今回の結果をより詳しく解析すると、8-OHdG濃度は低ニコチンたばこ喫煙者の総吸煙量との関連性が強く示唆される結果となった。しかしながら、低ニコチンたばこ喫煙者と高ニコチンたばこ喫煙者の平均尿中8-OHdG濃度は、それぞれ5.0と5.2 ng/mg Creatinineであり有意差は認められなかった。このことは、低ニコチンたばこと定義づけをした0.6 mg/cig.以下のたばこの喫煙とその喫煙パターンが8-OHdGを生成させる化合物を含む吸煙に大きく関与することが示唆された。一方、高ニコチンたばこ喫煙者では、特に8-OHdGの生成に関連する喫煙パターンやバイオマーカーの有無や強い傾向は確認されなかった (Fig. 2)。

今後、たばこ煙中に含まれ生体内でフリーラジカルを発生させる化合物がどのようなものであるか、具体的な抽出方法や化学分析手法の開発およびその反応機構の解明が必要である。

E. 結論

本研究は、日本銘柄たばこのTNCOを機械喫煙にてISO法及びHCI法により測定し、初めてそのデータを開示した。Table 4より、本研究で対象とした日本人喫煙者の平均吸煙量は54.3 mLであり、ISO法よりもHCI法に近似した喫煙法であることが判った。特に、Ultra-low/Low喫煙者の平均吸煙量は58.4 mLであり、よりHCI法

に近い喫煙法であることが明らかとなった。このことより、Ultra-low/Low喫煙者が必要摂取量のニコチンを取り込もうとすると、HCI法におけるニコチンあたりのタール量及びCO濃度 (Fig. 2)から、ISO/FTC法にて測定されたたばこパッケージ表示量よりも、より多くの化学物質に曝露されていることが推察された。また、Ultra-low、Low、Medium、High喫煙者の唾液中コチニン量及び呼気中CO濃度の比較結果からも、Ultra-low/Low喫煙者はMedium/High喫煙者と同程度の化学物質を取り込んでいることが示唆された。これらのことより、日本におけるUltra-low/Lowの銘柄は、たばこ会社が宣伝するように、必ずしもより害の少ないたばこであるとは言えないことが明らかとなった。

今後、日本銘柄たばこや日本人喫煙者の生体試料からTNSAやアクロレインなどの毒性物質を分析し、より詳細に検討することが期待されている。

引用文献

- [1] Burns, D. M.; Dybing, E.; Gray, N.; Hecht, S.; Anderson, C.; Sanner, T.; O'Connor, R.; Djordjevic, M.; Dresler, C.; Hainaut, P.; Jarvis, M.; Opperhuizen, A.; Straif, K., Mandated lowering of toxicants in cigarette smoke: a description of the World Health Organization TobReg proposal. *Tob Control* 2008, 17, (2), 132-41.
- [2] Federal Trade Commission, "Tar," nicotine, and carbon monoxide of the smoke of 1294 varieties of domestic cigarettes for the year 1998, 2000.
- [3] Hammond, D.; Fong, G. T.; Cummings, K. M.; Hyland, A., Smoking topography, brand switching, and nicotine delivery: results from an in vivo study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005, 14, (6), 1370-5.
- [4] Jarvis, M. J.; Boreham, R.; Primates, P.; Feyerabend, C.; Bryant, A., Nicotine yield from machine-smoked cigarettes and nicotine intakes in smokers: evidence from a

representative population survey. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93, (2), 134-8.

[5] Blackford, A. L.; Yang, G.; Hernandez-Avila, M.; Przewozniak, K.; Zatonski, W.; Figueiredo, V.; Avila-Tang, E.; Ma, J.; Benowitz, N. L.; Samet, J. M., Cotinine concentration in smokers from different countries: relationship with amount smoked and cigarette type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006, 15, (10), 1799-804.

[6] Shahab, L.; Hammond, D.; O'Connor, R. J.; Michael Cummings, K.; Borland, R.; King, B.; McNeill, A., The reliability and validity of self-reported puffing behavior: evidence from a cross-national study. *Nicotine Tob Res* 2008, 10, (5), 867-74.

[7] Health Canada, Determination of "tar", nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. In 1999.

[8] Ueda, K.; Kawachi, I.; Nakamura, M.; Nogami, H.; Shirokawa, N.; Masui, S.; Okayama, A.; Oshima, A., Cigarette nicotine yields and nicotine intake among Japanese male workers. *Tob Control* 2002, 11, (1), 55-60.

[9] Froggatt, N. W. a. S. P., *Nicotine, smoking, and low tar programme*. Oxford medical publications: 1989.

[10] Nakazawa, A.; Shigeta, M.; Ozasa, K., Smoking cigarettes of low nicotine yield does not reduce nicotine intake as expected: a study of nicotine dependency in Japanese males. *BMC Public Health* 2004, 4, 28.

[11] Hatsukami, D. K.; Benowitz, N. L.; Rennard, S. I.; Oncken, C.; Hecht, S. S., Biomarkers to assess the utility of potential reduced exposure tobacco products. *Nicotine Tob Res* 2006, 8, (2), 169-91.

[12] Stratton, K.; Shetty, P.; Wallace, R.; Bondurant, S., Clearing the smoke: the science base for tobacco harm reduction--executive summary. *Tob Control* 2001, 10, (2), 189-95.

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsumoto M, Inaba Y, Yamaguchi I, Endo O, Hammond D, Uchiyama S, Suzuki G. Smoking topography and cigarette-related biomarkers in Japanese smokers: Which machine smoking protocol, FTC/ISO or HCI, does simulate actual exposures in Japanese? (in preparation)

2) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking of major Japanese cigarette brands. *Journal of Health Science* (2009) in press

2. 学会発表

1) 松本真理子、遠藤治、山口一郎、稲葉洋平、緒方裕光、鈴木元。日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価。日本薬学会、2009年3月、京都

2) 稲葉洋平、松本真理子、遠藤治、杉田和俊、後藤純雄、緒方裕光、鈴木元。酸化ストレスを指標とした喫煙による生体への影響。日本薬学会第129年会、2009年3月、京都

3) Endo O, Inaba Y, Matsumoto M, Sugita K, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of DMSO extract of mainstream smoke from major cigarettes in Japan with smoking machine: 環境変異原学会、第37回大会、2008年12月、沖縄

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

Table 1 Japanese cigarette of top ten selling brands, 2006.

Brand name	Categorization	Tar (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Filter type ^{a)}	Vent. Hole	Market Share (%)
Pianissimo One	Ultra-low	1	0.1	P	40	1.5
Mild Seven One	Ultra-low	1	0.1	DC	200	4.3 ^{b)}
Mild Seven Extra Lights	Low	3	0.3	DC	100	3
Caster Mild	Low	5	0.4	NC	90	2.7
Mild Seven Super Lights	Low	6	0.5	DC	100	6.8
Cabin Mild	Medium	8	0.6	NC	50	1.9
Mild Seven Lights	Medium	8	0.7	DC	50	6.2
Mild Seven Original	Medium	10	0.8	DC	50	4.9
Hope	High	14	1.1	P	0	1.3
Seven Stars	High	14	1.2	DC	0	6.8 ^{b)}

a) P: plain, DC: dual charcoal, NC: neo charcoal

b) Shares include box type package

Table 2 Characteristics of 101 smokers.

Characteristic	Ultra low n = 14	Low n = 38	Medium n = 27	High n = 22
Male/Female	10/4	33/5	24/3	21/1
Age (year ±SD)	39.2±10.2	40.1±12.6	41.9±11.2	38.0±8.0
Cigarette consumption (cigarette/day)	18.7±8.3	17.8±8.2	18.2±6.6	19.3±8.8
BMI (mean±SD)	22.2±2.6	22.8±3.0	23.9±4.6	23.7±4.5
Self-reported smoking intensity (mean±SD)	56.1±17.3	57.0±15.5	53.6±15.6	65.5±19.5
Time to first morning cigarette (%)				
0 min to 5 mins	21.4%	23.7%	29.6%	18.2%
6 mins to 30 mins	50.0%	36.8%	40.7%	59.1%
31 mins to 60 mins	0.0%	26.3%	22.2%	13.6%
61 mins -	28.6%	13.2%	7.4%	9.1%

Table 3 Multivariable regression results .

A		Partial regression coefficient	Significance probability
		β	p
Explained variable	Salivary cotinine (ng/mL)		
Explaining variable	Puff volume/day (mL)	0.27	0.009
	Nominal brand nicotine yield (mg/cig.)	0.44	0.000
	Self-reported smoking intensity	0.12	0.200
	Time to first morning cigarette	-0.18	0.050

B		Partial regression coefficient	Significance probability
		β	p
Explained variable	CO in expiratory breath (ppm)		
Explaining variable	Puff volume/day (mL)	0.270	0.008
	Nominal brand nicotine yield (mg/cig.)	0.085	0.400
	Self-reported smoking intensity	0.300	0.003
	Time to first morning cigarette	-0.190	0.030

Table 4 Smoking Topography in 100 Japanese smokers.

Mean \pm SD	Total		Ultra-low/Low ^{a)}		Medium/High ^{a)}	
Puff volume (mL)	54.3 \pm	14.1	58.4 \pm	12.7	50.0 \pm	14.2
Puff volume/cigarette (mL)	767.2 \pm	259.5	906.1 \pm	268.2	622.6 \pm	148.6
Puff number/cigarette	14.5 \pm	3.6	15.8 \pm	3.4	13.1 \pm	3.3
Puff volume/day (mL)	14,456.2 \pm	8,769.0	16,662.3 \pm	10,690.5	12,160.0 \pm	5,384.7

a) Significant difference by cigarette brand ($p < 0.01$)

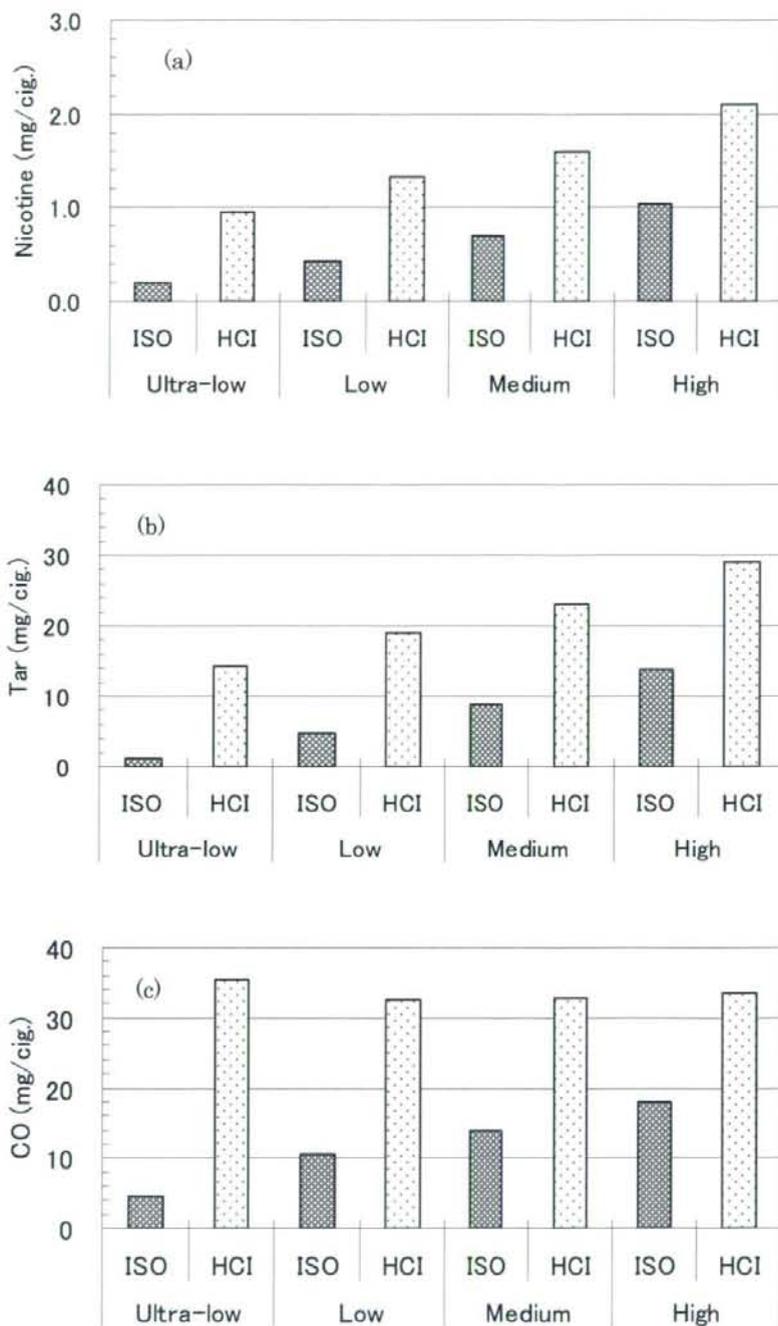


Fig. 1 TNCO yields by machine smoking.

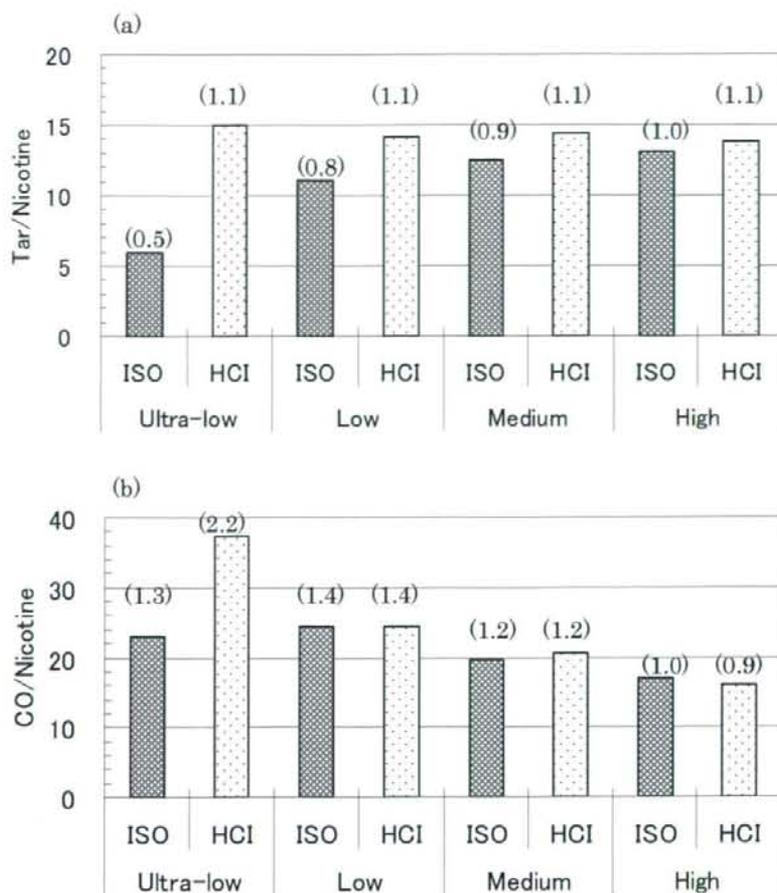


Fig.2 Nicotine standardized tar and CO yields.

The same data in Figure 1 were processed to show tar and CO yields standardized to nicotine yields. The values in parentheses indicated the fold-increment compared with the nicotine-standardized tar-yield (a) or CO-yield (b) of High yield brand by the ISO regiment.

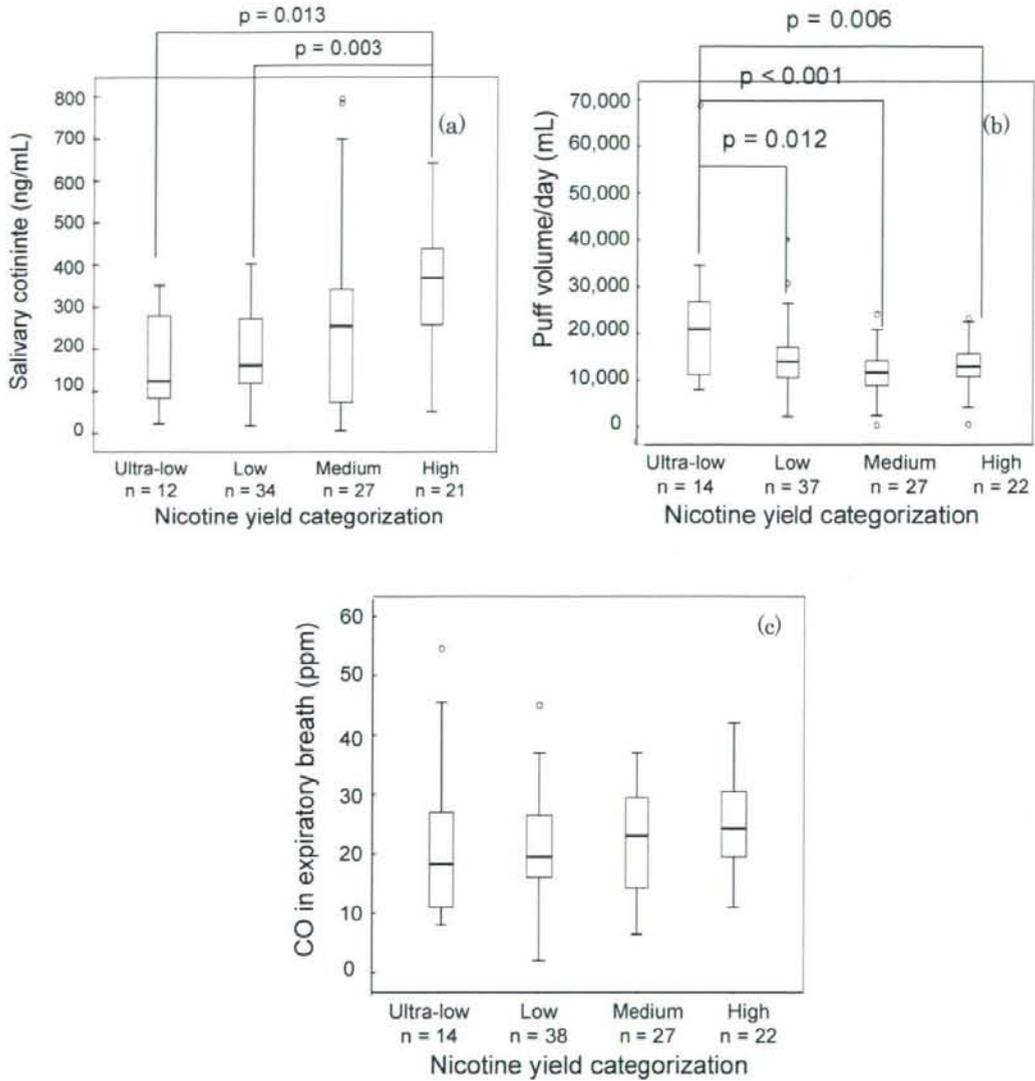


Fig.3 (a) Salivary cotinine concentrations; (b) Puff volume/day; and (c) CO concentrations in expiratory breath by cigarette nicotine yield categorization.

The participant number was 94 for saliva samples, 100 for puff volume/day measurements, and 101 for CO in expiratory breath samples.

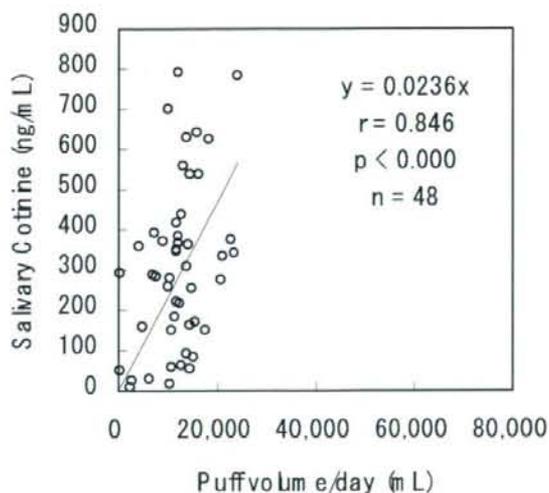
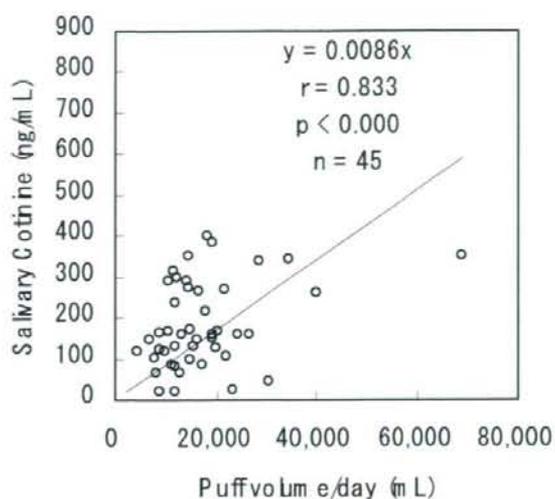


Fig. 4 Correlation between puff volume/day and salivary cotinine for Ultra-low/Low nicotine yield smokers (above) and for Medium/High nicotine yield smokers (below).

When subject $(x, y) = (68764.8, 351.4)$ is excluded in low nicotine yield cigarette smokers (above), $y = 0.0097x$, $r = 0.845$, $p < 0.000$, $n = 44$.

アジア太平洋たばこ研究
—日本人喫煙者の酸化ストレスマーカーの予備的検討—

分担研究者 稲葉洋平 国立保健医療科学院
研究協力者 David Hammond、山口一郎

研究要旨

本研究は、「より害の少ないたばこ」を定義づけるための基礎的な研究として、国際共同研究であるアジア太平洋たばこ研究の一環として実施された。今日、喫煙のリスク低減を意図し低タール・低ニコチンたばこを使用する喫煙者が増加している。販売されているたばこのタール・ニコチン表示量は、国際標準化試験法（ISO）で測定された数値であるが、それらの喫煙者への影響や曝露実態は明らかでない。そこで本研究では、たばこ煙による喫煙者への曝露影響を評価する手法として尿中に含有される酸化ストレスマーカー（8-OHdG）を測定し、更にたばこ由来の曝露マーカーと1日当たりの吸煙量の測定も行なった。尿試料は、日本産たばこ銘柄を吸っている喫煙者98名から得た。尿中8-OHdGは、固相抽出後に高速液体クロマトグラフィー（電気化学検出）により測定を行なった。また、喫煙後の呼気中一酸化炭素（CO）濃度測定は簡易型測定器を用いて行い、唾液中コチニン濃度の測定はELISA法により行なった。さらに喫煙者の1日の総吸煙量は、CReSSmicro装置を用いて測定した。喫煙者の尿中8-OHdG濃度の平均は、5.14 ng/mg Creatinineであった。これまで尿中8-OHdG濃度については、男女間、年齢によって差があると報告されているが、今回の結果では有意な差が認められなかった。さらに8-OHdG濃度は、たばこのパッケージ表示ニコチン量、唾液中コチニン濃度及び呼気中一酸化炭素濃度との関連性がなかった。よって、この結果より尿中8-OHdG濃度は、パッケージに表示されたニコチン量との関連性が認められず、酸化ストレスによる生体への影響は、低ニコチンたばこ喫煙者と高ニコチンたばこ喫煙者でリスクが同程度であった。また、1日の総吸煙量と8-OHdG濃度との間には、正の相関（ $p < 0.001$ ）が認められた。特に0.6 mg/cig. 以下のニコチン表示たばこの喫煙者において強い相関（重回帰分析； $\beta = 0.658$, $p < 0.001$ ）が認められた。以上の結果より、これまでのニコチンとCO由来とは異なり活性酸素種を生成させる原因物質の存在が示唆された。

A. 研究目的

たばこ煙には、多くの有害化学物質が含まれていることが報告されており、その生体への影響が議論されている。そのため国内たばこの外箱には、たばこ1本当たりのニコチン、タール量が表示されている。この数値は、米国連邦取引委員会（FTC）及び国際標準化機構で定められた機械喫煙法（ISO法）と機器分析から得られている。しかし、この機械喫煙法は、人間の喫煙に沿ってい

ないとの指摘を受けており、カナダ保健省（Health Canada）から新たな機械喫煙法（HCI法）も提案されている。

近年、日本では低ニコチンたばこが販売されているが、このたばこはISO法でのニコチン量などを低減させるためにフィルター部分に多くの通気孔が設けられている。このように設計された低ニコチンたばこの喫煙者はたばこからの満足感を得るためにISO法以上の吸い込み量、吸煙本数にな

ると考えられる報告がされている [1]。そのため低ニコチンたばこの喫煙者の体内への曝露量は、たばこパッケージに表示されているニコチン量とタール量を反映してないと考えられ、低ニコチンたばこが害の少ないたばこであるとは言えない。そこで、喫煙者における実際の曝露量を定量的に評価する方法として、呼気や血液、尿、唾液中のバイオマーカーの測定が頻繁に用いられてきた。主なバイオマーカーとしては、呼気中一酸化炭素濃度 (CO) や血液、尿、唾液中のニコチン量及びコチニン量であった [2]。CO 濃度およびコチニン量は、たばこ煙の曝露量の実態を評価することは可能であるが、その影響を評価することは難しい。よって、本研究では喫煙による人体への影響を酸化ストレスマーカーを用いて評価することを試みた。

生体内の酸化・抗酸化レベルは、活性酸素産生系とその消費系のバランスで規定され、通常はほぼ一定に保たれている。しかし薬物、放射線、虚血など、さまざまな要因でこのバランスが崩れ、酸化傾向に傾くことを酸化ストレス状態と呼ぶ。この酸化ストレス状態になることで、がん、動脈硬化、糖尿病などの生活習慣病になるリスクが高まると報告されている [3, 4]。酸化ストレスマーカーの 1 つである DNA 損傷型の 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) は細胞内において活性酸素種と deoxyguanosine (dG) の反応から生成される。この 8-OHdG は、その後、化学修飾をうけることなく尿中へ排泄され、排泄後も尿中で安定している。この尿中 8-OHdG の定量が、生体内酸化ストレス状態の評価を可能とする。これまでの研究では ELISA 法 [5]、高速液体クロマトグラフィーカラムスイッチング法 [6] による測定が多く報告されている。今回、固相抽出法を尿中 8-OHdG に対し実施し、得られた処理溶液を高速液体クロマトグラフィー電気化学検出器 (HPLC-ECD) に供することで比較的簡便に測定可能となった。この手法の特徴は、固相抽出法により測定干渉物質を除去し、8-OHdG の測定誤差を低減することを可能としている [7]。本研究では、喫煙の影響により生体内で活性酸素種が多く生成されて、酸化ストレスが増加すると仮説をたてた。

本研究班では、機械喫煙方法に ISO 法と HCl 法をそれぞれ実施し、タール、ニコチン量の比較も同時に行なっている。加えて日本の喫煙者の喫煙状態を CReSSmicro 装置を用いて、喫煙量などの各種測定を行い日本人喫煙行動様式の評価を行なった。さらにこれまでの先行研究と同様にバイオマーカーとして同時に体内に吸い込んだニコチン、タール、ガス状物質の影響を評価するために、唾液中コチニン、呼気中一酸化炭素の測定も行なった。

本研究では、アジア太平洋たばこ研究 [8] の一環として、日本人喫煙者 98 名の尿中 8-OHdG 測定を行ない、同時に得られた各測定数値と質問表より得られた結果から喫煙と酸化ストレスの関係性を評価・検討した。

B. 研究方法

(1) 被験者

本研究に参加した被験者は、アジア太平洋たばこ研究 [9] によって公募し、最終的に 101 名の参加者を得た。呼気中 CO 濃度測定は 101 名分、喫煙行動パターン計測は 100 名分、唾液中コチニン量の測定は 94 名分、そして尿試料は、98 名分を得た。

なお、喫煙習慣に関するアンケート、唾液の採取、唾液中コチニン量の測定、呼気中 CO 濃度の測定喫煙行動パターンの計測および統計解析については、鈴木らと同様に行った [9]。

(2) クレアチニン測定

尿中クレアチニンの測定は、和光純薬製クレアチニン-テストワコー (Jaffe 法) を適用した。

(3) 尿中 8-OHdG の測定

尿中 8-OHdG の前処理には、タニタ製 8-OHdG 前処理キット (US-001) を使用した。尿試料は、前処理キットの操作法に従って 8-OHdG 抽出を行い、得られた試料溶液を高速液体クロマトグラフィー電気化学検出器 (HPLC-ECD) に供し、8-OHdG の定量を行った。HPLC-ECD の分析条件は、A 液を 35 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に終濃度が 30 μ M EDTA、5% アセトニトリルになるように調整した。また B 液を 35 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に終濃度が 30 μ M EDTA、

70%アセトニトリルになるように調整し、それぞれを移動相とした。送液のプログラムは、A液；0→19 min 100%、19→24 min 0%、24→45 min 100%、B液；0→19 min 0%、19→24 min 100%、24→45 min 0%とした。使用カラムは Develosil C30 (4.6×250 mm, 5 μm, 野村化学製)、カラム温度は 27°C、流速は 0.7 mL/min、試料注入量は 20 μL に設定した。電気化学検出器には、ED-623B (GLサイエンス製) を使用した。作用電極は、+550 mV vs Ag/AgCl に設定し測定を行った。なお、1回の測定時間は 45 分であった。

C. 研究結果

(1) 尿中 8-OHdG の測定

アジア太平洋たばこ研究において得られた 98 名の尿試料について 8-OHdG の測定を行ったところ、平均値が 5.14 ± 2.56 ng/mg Creatinine であった (Fig. 1)。

(2) 各因子との相関関係

尿中 8-OHdG 濃度は、有意確立 $p = 0.003$ で 1 日あたりの喫煙本数と正の相関を示した (Table 1)。また、有意確立 $p < 0.0001$ で 1 日の総吸煙量と高い相関を示した。なお、年齢、BMI、パッケージのニコチン表示量、たばこの吸い方の強度、唾液中コチニン量および呼気中 CO 濃度は、8-OHdG との関連性が認められなかった。

(3) 尿中 8-OHdG 濃度および喫煙パターンとバイオマーカーの相関関係

尿中 8-OHdG 濃度とたばこの吸い方の強度、総吸煙量、唾液中コチニンおよび呼気中 CO 濃度を多変量回帰分析で検討した (Table 2A)。その際に、パッケージニコチン表示が 0.6 mg/cig. 以下のたばこ喫煙者を低ニコチン喫煙者、0.7 mg/cig. 以上のたばこ喫煙者を高ニコチンたばこ喫煙者として 2 つのグループに振り分け、同様に多変量回帰分析を行った。喫煙者全体では、尿中 8-OHdG 濃度が総吸煙量 ($\beta = 0.334, p = 0.002$) と正の相関を示した。喫煙の曝露マーカーである唾液中コチニン濃度、呼気中 CO 濃度との関連性は認められなかった。さらに、低ニコチン喫煙者グループでは、尿中 8-OHdG 濃度と総吸煙量の相関関係は、 $\beta = 0.658, p < 0.001$ となり正の相関が認められたが

(Table 2B)、高ニコチン喫煙者グループでは、 $\beta = -0.080, p = 0.636$ とはっきりとした関連性は認められなかった (Table 2C)。

D. 考察

本研究で測定を行った酸化ストレスマーカー 8-OHdG は、生体内の活性酸素種によって DNA より生成され尿中に排泄される安定な化合物である。そのため、喫煙による生体への影響を定量的に測定することに適した化合物であるとも云える。特に通気孔の開いたフィルターを使用する等の独特な国産たばこの喫煙環境への適用は有意義だと考えられる。そこで、喫煙時の各種行動 (喫煙パターン) や同時測定の可能な各バイオマーカーとの関連性を解析することは、国産たばこの喫煙影響を推察するのに大いに有用であるものと考えられる。そこで、日本人喫煙者における 8-OHdG 濃度と各種要因との単回帰分析を行った結果、関係性が認められた因子は喫煙本数と総吸煙量の 2 つであった。とくに総吸煙量は、高い相関が認められた。また、パッケージに表示されたニコチン量との関係性は認められないことから、低ニコチンたばこおよび高ニコチンたばこによる 8-OHdG 濃度への影響は示唆されなかった。このことから、低タールたばこが必ずしも害の少ないたばこではないと考えられる。上記以外の他の因子についても特に高い関連性が認められないことから、喫煙本数と総吸煙量に着目して解析することが重要であると考えられる。これを受けて、さらに多変量解析結果を行い (Table 2)、その結果、唾液中コチニン濃度、呼気中 CO 濃度共に 8-OHdG 濃度と関連性は認められず、また、喫煙による 8-OHdG の生成は、ニコチン、CO の曝露に依存しない化合物の関与の可能性が示唆された。加えて今回の結果をより詳しく解析すると、8-OHdG 濃度は低ニコチンたばこ喫煙者の総吸煙量との関連性が強く示唆される結果となった。しかしながら、低ニコチンたばこ喫煙者と高ニコチンたばこ喫煙者の平均尿中 8-OHdG 濃度は、それぞれ 5.0 と 5.2 ng/mg Creatinine であり有意差は認められなかった。このことは、低ニコチンたばこ定義づけをした 0.6 mg/cig. 以下のたばこの喫煙とその喫煙パタ

ーンが 8-OHdG を生成させる化合物を含む吸煙に大きく関与することが示唆された。一方、高ニコチンたばこ喫煙者では、特に 8-OHdG の生成に関連する喫煙パターンやバイオマーカーの有無や強い傾向は確認されなかった (Fig. 2)。

今後、たばこ煙に含まれ生体内でフリーラジカルを発生させる化合物がどのようなものであるか、具体的な抽出方法や化学分析手法の開発およびその反応機構の解明が必要である。

E. 結論

本研究は日本人喫煙者 98 名の尿中 8-OHdG の測定を行った。これまでに本研究班が、この日本人喫煙者において行った質問、測定結果を利用して尿中 8-OHdG との関連性について解析を行った。尿中 8-OHdG 濃度は、パッケージに表示されたニコチン量との関連性が認められないことから、酸化ストレスによる生体への影響は、低ニコチンたばこ喫煙者と高ニコチンたばこ喫煙者でよりリスクが同程度であった。また尿中 8-OHdG 濃度は、総吸煙量と相関関係が認められ、特に 0.6 mg/cig. 以下のニコチン表示たばこの喫煙者において強い相関が認められた。同時に、唾液中コチニン濃度と呼気中 CO 濃度との重回帰分析を行ったが、関連性は認められなかった。これまで評価の指標となってきたコチニン、CO といったバイオマーカーとは異なる化学物質によって尿中 8-OHdG は生成されることが示唆された。8-OHdG は、生体内中に発生する活性酸素種が DNA に作用して生成されるため、今後は活性酸素種を発生させる原因化合物に着目していく必要がある。さらに非喫煙者の尿中 8-OHdG 濃度測定および比較をすることで喫煙と酸化ストレスとの関係性が解明されると考えている。

[引用文献]

- [1] Hammond D, Fong GT, Cummings KM and Hyland A, Smoking topography, brand switching, and nicotine delivery: results from an in vivo study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* (2005) 14, 1370-1375.
- [2] Jarvis MJ, Boreham R, Primatesta P, Feyerabend C

and Bryant A, Nicotine yield from machine-smoked cigarettes and nicotine intakes in smokers: evidence from a representative population survey. *J Natl Cancer Inst* (2001) 93, 134-138.

- [3] Piliger A, Rüdiger HW, 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environment exposure. *Int Arch. Occup. Environ. Health* (2006) 80, 1-15.
- [4] 大澤俊彦、大東肇、吉川敏一、がん予防食品、シーエムシー (1999)
- [5] 齋藤秀、山内博、蓮井ゆり、蔵重淳、越智宏倫、吉田勝美、ELISA 法による尿中 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの定量法、*臨床検査* (2000) 44, 913-916.
- [6] Lengger C, Schoch G and Topp H, A high-performance liquid chromatographic method for the determination of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in urine from man and rat. *Anal. Biochem.* (2000) 287, 65-72
- [7] Inaba Y, Mizushima N, Kimura J, Ito N, Yokoyama K and Karube I, Improvement of urinary 8-OHdG measurement method which combines solid phase extraction. *Chemical Sensors.* (2007) 23, 118-120.
- [8] 鈴木元、アジア太平洋たばこ研究—研究の概要とアンケート集計結果—、厚生労働科学研究費補助金 (第 3 次対がん総合戦略研究事業) たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質の新しい国際標準化試験法に関する研究平成 19 年度総括・分担研究報告書 (2008) 12-44.
- [9] 鈴木元、アジア太平洋たばこ研究—日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価—、厚生労働科学研究費補助金 (第 3 次対がん総合戦略研究事業) たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質の新しい国際標準化試験法に関する研究平成 20 年度総括・分担研究報告書 (2009)

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto M, Inaba Y, Yamaguchi I, Endo O, Hammond D, Uchiyama S, Suzuki G. The exposure assessment in Japanese smokers using smoking behavior and biomarkers. (in preparation)

2. 学会発表

- 1) Endo O, Inaba Y, Matsumoto M, Sugita K, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of DMSO extract of mainstream smoke of major cigarettes in Japan with smoking machine.; 環境変異原学会、第 37 回大会、2008 年 12 月、沖縄
- 2) 松本真理子、遠藤治、山口一郎、稲葉洋平、緒方裕光、鈴木元. 日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価. 日本薬学会、第 129 年会、2009 年 3 月、京都
- 3) 稲葉洋平、松本真理子、遠藤治、杉田和俊、後藤純雄、鈴木元. 酸化ストレスを指標とした喫煙による生体への影響. 日本薬学会、第 129 年会、2009 年 3 月、京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

**Table 1 尿中8-OHdG濃度と諸因子の
相関関係（単回帰分析）**

因子	相関係数	有意確率(両側)
年齢	0.320	0.757
BMI	-0.410	0.686
喫煙本数/日	0.294 **	0.003
パッケージ表示ニコチン 量 (mg/cig.)	0.008	0.938
タバコの吸い方の強度	0.198	0.050
唾液中コチニン量 (ng/mL)	0.141	0.181
呼気中CO濃度 (ppm)	0.150	0.140
総吸煙量/日	0.355 **	0.000

** 相関係数は1%水準で有意(両側)です。

* 相関係数は5%水準で有意(両側)です。

**Table 2 尿中8-OHdG濃度と喫煙行動および
バイオマーカーとの関係(重回帰分析)**

全体		標準化係数 β	有意確率 p
被説明変数	尿中8-OHdG濃度 (ng/mg Cre.)		
説明変数	タバコの吸い方の強度	0.085	0.439
	呼気中CO濃度 (ppm)	-0.38	0.763
	唾液中コチニン濃度 (ng/mL)	0.075	0.518
	総吸煙量 (mL/day)	0.344	0.002
低ニコチンタバコ喫煙者		標準化係数 β	有意確率 p
被説明変数	尿中8-OHdG濃度 (ng/mg Cre.)		
説明変数	タバコの吸い方の強度	0.059	0.667
	呼気中CO濃度 (ppm)	0.012	0.935
	唾液中コチニン濃度 (ng/mL)	-0.081	0.591
	総吸煙量 (mL/day)	0.658	0.000
高ニコチンタバコ喫煙者		標準化係数 β	有意確率 p
被説明変数	尿中8-OHdG濃度 (ng/mg Cre.)		
説明変数	タバコの吸い方の強度	0.106	0.522
	呼気中CO濃度 (ppm)	-0.081	0.681
	唾液中コチニン濃度 (ng/mL)	0.159	0.414
	総吸煙量 (mL/day)	-0.080	0.636

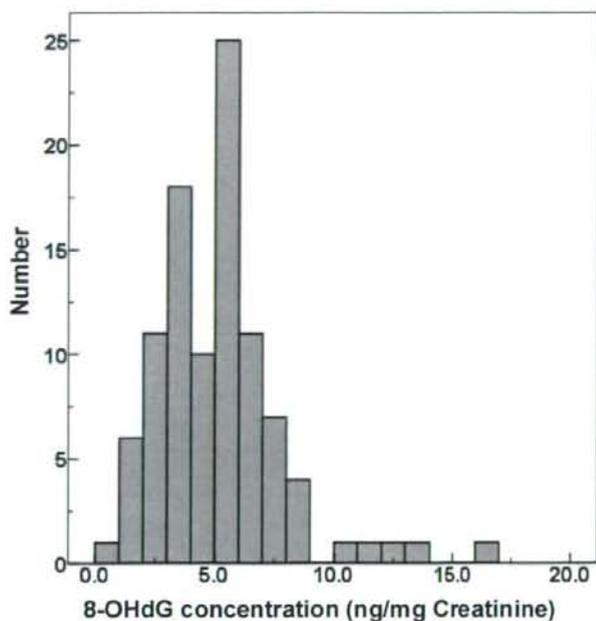


Fig. 1 日本人喫煙者の尿中8-OHdG濃度

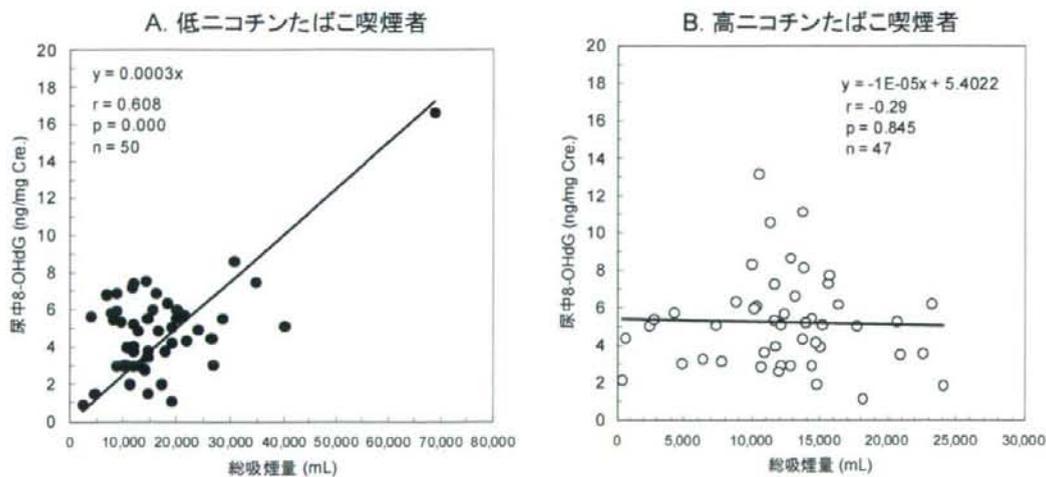


Fig. 2 尿中8-OHdG濃度と総吸煙量の関係

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

TobLabNet ラウンドロビン研究
—HCI 法によるタール、ニコチン、一酸化炭素の測定バリデーション—

分担研究者 緒方裕光 国立保健医療科学院 研究情報センター

分担研究者 後藤純雄 麻布大学 生命・環境科学部

研究協力者 David L. Ashley Chief, Emergency Response and Air Toxicants Branch, US CDC

研究要旨

たばこ規制枠組条約に基づくWHOたばこ研究室ネットワークによる国際共同研究の一環として、たばこ対策に有用な測定データを得ることを目的とするラウンドロビン研究に参加した。その第2回目として、5種類のたばこ試料（標準たばこ 3R4F、同 1R5F、同 CM6、英国銘柄マルボロゴールド、及び米国銘柄マルボロレッド）についてカナダ保健省のインテンス（HCI）法によるタール、ニコチン、及び一酸化炭素の測定法バリデーションを目的とする二段階構成のラウンドロビンが実施された。第一段階として、1種類の標準たばこ（3R4F）を用いたバリデーション能力の評価が実施され、国立保健医療科学院は参加基準をクリアし、第二段階のバリデーションに参加した。第二段階として、さらに4種類のたばこ試料（標準たばこ 1R5F、同 CM6、英国銘柄マルボロゴールド、及び米国銘柄マルボロレッド）が配布され測定法のバリデーションが行われた。全体のバリデーション結果については現在 WHO で解析が行われており、第4回 TobLabNet 会議で討議されることになっているが、国立保健医療科学院の結果から、今回のバリデーション結果は概ね妥当なものであると考えられることが強く示唆された。また、3種類の研究用標準たばこも、市販銘柄とほぼ比較可能な数値を与え、分析可能であることも明らかとなった。今後、標準たばこ試料の基礎データを蓄積していくとともに、バリデーションが予定されているたばこ特異的ニトロソアミンやベンゾ[a]ピレンなど、たばこ由来の発がん性物質の測定に関連する QA/QC の取り組みが必要不可欠と考えられる。

A. 研究目的

WHO たばこ研究室ネットワーク（TobLabNet）は、たばこ規制枠組条約（FCTC）第9条「たばこ製品の含有物に関する規制」に基づいて進められているたばこ製品の含有物及び排出物の新しい国際標準化試験法に関する研究室ネットワークであり、たばこ企業とは独立した各国の研究機関が連携を図り、国際的な共同研究を実施することにより、科学的により正確で、より客観的な測定手法を確立し、たばこ対策に有用な測定データを得ることを目的としている。

ラウンドロビン研究は共通のたばこ試料を用いて繰り返し実験を行い測定手法の比較検討を行う

もので、すでに第1回ラウンドロビンとして2種類の研究用標準たばこ（フル・フレイバーCM4及びウルトラ・ライト 1R5F）について従来型の国際標準試験法である ISO 法及び、カナダ保健省が提唱するインテンス法（HCI 法）の比較測定が行われており、その結果は平成 18 年度本研究報告等で紹介した。

今回は第2回ラウンドロビンとして、HCI 法による TNCO 測定手法のバリデーションを目的とする二段階で構成されるラウンドロビンが実施された。ここでは国立保健医療科学院の測定結果を中心に報告する。

B. 研究方法

1. たばこ試料

5種類のたばこ試料(標準たばこ3R4F、同1R5F、同CM6、英国銘柄マルボロゴールド、及び米国銘柄マルボロレッド)を測定対象とした。Table 1に測定対象となったたばこ試料の概要を示す。試料はいずれもTobLabNet事務局が一括購入し、サンプルを無作為に抽出・混合した後、ラウンドロビン参加機関に発送する直前に再包装された。測定手法のバリデーションを目的とするため、すべてのたばこ試料について重量測定が行われ、測定に供するサンプルは誤差±5%以内とし、逸脱したサンプルは除外することとした。

発送と受領:TobLabNet事務局から参加各機関に、たばこ1銘柄につき120本が発送された。測定に必要な本数より余分に発送されたのは、測定期間中にトラブルが発生した場合の予備である。発送作業終了後、TobLabNetから参加機関にその旨通知された。参加各機関は受領後、受領確認及び破損その他の問題がないか、電子メールによりTobLabNet事務局に報告した。もし輸送中に問題が生じた場合、TobLabNetから2週間以内に代替サンプルが再発送されることになっていた。参加機関はサンプル受領後1ヶ月以内に測定を完了し、直ちに測定データを報告することが義務付けられた。また、破損あるいは減量が明瞭なたばこは廃棄されることになっていた。

保存方法:受領後のサンプルはすべてプラスチック製の袋に入れて、-20℃以下の冷凍庫内に保存した。

2. 試料調製

コンディショニング:たばこ試料はすべて、ISO3402(1999)に準拠し、喫煙実験前、最低48時間~最大10日間、温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $60\pm 3\%$ でコンディショニングを行い実験に供した。

マーキング:現行のISOに準拠し、吸殻長をマーキングした。測定手法のバリデーションを目的とした今回の測定においては、各たばこ試料のフィルター末端からの吸殻長としてTable 1のように設定され、その位置にマーキングを行うこととした。

テープによる通気孔の閉塞:たばこフィルター部分にある通気孔を完全に閉塞するため、3/4インチ(20mm)幅のセロファンテープ(Scotch tape, 3M, Maplewood, MN)を用いてたばこ試料の当該部分を取り巻いた。テープ素材の共通性を確保するため、テープもたばこ試料と同梱された。このテープによる通気孔の閉塞操作を実施した経験のない参加機関に対しては、測定を始める前に、予備のたばこを使用して練習することが推奨された。たばこ1本当たり使用するセロファンテープの長さは50~55mmに指定された。たばこフィルターの吸い口(端)から1mm以内となるように、またテープ切り口がたばこの長軸方向に対して平行になるようにテープを貼り付けた。通気孔が完全に閉塞されるよう、しわや空隙が入らないように慎重に、たばこフィルターにテープを巻きつけた。しわや空隙が生じた場合、このたばこ試料は廃棄し、分析には供しないこととした。テープはたばこを二周し、さらに5mm以内の僅かな重複が認められるように巻かれた。またたばこフィルターの吸い口(端)を超えた部分にテープがかからないようにした。

3. 機械喫煙

実験環境:喫煙装置を稼働させる実験環境は、ISO3308(2000)に従い、温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $60\pm 5\%$ に調整した。

喫煙装置:ISOに準拠した機械喫煙が可能な装置を使用し、個々の喫煙ポートにおける気流速度は $200\pm 50\text{ mm/sec}$ 、ポート全体の平均で $200\pm 30\text{ mm/sec}$ に設定された。国立保健医療科学院ではISO対応型リニア式喫煙装置であるBorgwaldt LM1喫煙装置(ドイツBorgwaldt KC社製)を用いた。

喫煙条件:吸煙量は $55\pm 0.1\text{ mL}$ となるように設定した。吸煙間隔は30秒とした。個々の機械喫煙は、前述のマーキング位置に燃焼が及ぶと自動的に停止するようにプログラムした。

喫煙本数:リニア式喫煙装置を用いる場合、CFP1枚当たり3本のたばこを喫煙し、CFP30枚(喫煙総数90本)を分析に供した。ロータリー式喫煙装置を用いる場合、CFP1枚当たり10本のたばこを喫煙し、CFP10枚(喫煙総数100

本)を分析に供した。

問題発生時の対処方法：着火失敗あるいは途中消火など測定中に明らかな問題が生じた場合、当該 CFP は廃棄することとした。明らかな問題が生じた場合、追加実験を実施することとし、問題の生じた当初実験は報告データには使用しないこととした。

4. 分析方法

TPM 重量の測定：TPM 重量の測定方法は ISO4387 (2000) に従った。国立保健医療科学院では Mettler Toledo AT 201 を用いた。重量は 0.01 mg 単位で報告することとした。

水分量：TPM 中の水分量測定方法は ISO10362-1 (1999) に従った。参加機関は、ISO10362-1 (1999) に記載された操作が実施可能な機器を構成し、これを使用して測定法の実施が求められた。国立保健医療科学院では ISO 10362-1 に準じて、ガスクロマトグラフィー熱伝導度検出器 (GC/TCD；島津製作所 GC-2014) を用いた。測定結果は 0.01 mg 単位で報告することとした。

なお、ISO 代替法である ISO10362-2 を用いた場合、本共同研究全体の中で同等の手法として評価することとし、HCI 喫煙条件による ISO10362-1 のバリデーション評価からは除外して統計処理されることとなった。

ニコチン量：TPM 中のニコチン量測定方法は ISO10315 (2000) に従った。参加機関は、ISO10315 (2000) に記載された操作が実施可能な機器を構成し、これを使用して測定法の実施が求められた。国立保健医療科学院では若干の改良を加えたガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) 法を用いた。GC は Hewlett Packard HP6890、MS は Agilent MSD5973、キャピラリーカラムは J&W Scientific DB-17 (30m x 0.25mm ID x 0.25mm) を用いた。測定結果は 0.01 mg 単位で報告することとした。

一酸化炭素：たばこ煙気相成分中の一酸化炭素濃度測定方法は ISO8454 (1995) に従った。参加機関は、ISO8454 (1995) に記載された操作が実施可能な機器を構成し、これを使用して測定法の実施が求められた。国立保健医療科学院では非

分散型赤外線吸収装置を用いた。測定結果は 0.01 mg 単位で報告することとした。

タール量の算出：タール量は TPM 重量から水分量及びニコチン量を差し引いて算出した。測定結果は 0.01 mg 単位で報告することとした。

5. 精度管理

分析実験ごとに、毎回精度管理用のブランク試験及び既知物質添加試験の実施が義務付けられた。精度管理試験データは、実験室内の精度管理用とし、WHO への報告対象から除外された。

6. TobLabNet へのデータ報告

TobLabNet へのデータ報告は、分析に供した CFP 1 枚ごとの分析値とした。各研究機関のプロトコルに準ずる方法を用いてデータ補正を行うこととした。結果の報告には Microsoft Excel が使用された。Microsoft Excel が使用できない場合、ASCII フォーマットの電子ファイル、さらにこれも使用できない場合は紙媒体による報告も可とされていた。Excel 形式のテンプレートファイルは各実験室に電子メールで送られた。報告データに含まれる情報内容を Table 2 に示す。

C. 研究結果

Table 3 ~ 7 に国立保健医療科学院で行なわれたラウンドロビン測定結果を示す。また、これらの測定結果から、たばこ銘柄ごとに TPM、CO、水分、ニコチン、及びタール量の基本統計量 (平均、標準偏差、最大、最小) を Table 8 にまとめた。Table 3 及び Table 8 から、標準たばこ 3R4F の平均吸煙回数は 8.7~10.0 (平均 9.39±標準偏差 0.37) 回/本、TPM 量は 30.02~35.69 (平均 33.99±標準偏差 1.39) mg/本、CO 濃度は 35.53~40.75 (平均 38.02±標準偏差 1.61) mg/本、水分含量は 7.08~11.43 (平均 9.78±標準偏差 0.91) mg/本、ニコチン量は 1.67~2.06 (平均 1.85±標準偏差 0.09) mg/本となり、タール量は 20.45~23.65 (平均 22.36±標準偏差 0.81) mg/本であった。Table 4 及び Table 8 から、標準たばこ 1R5F の平均吸煙回数は 5.9~6.6 (平均 6.24±0.19) 回/本、TPM 量は 20.28~24.32 (平均 22.25±0.89) mg/本、CO 濃度は 27.65~32.01 (平均 29.57±1.12) mg/本、水分含量は 5.65~7.48 (平均 6.49

±0.54) mg/本、ニコチン量は 0.91~1.17 (平均 1.03±0.07) mg/本となり、タール量は 13.70~16.39 (平均 14.73±0.59) mg/本であった。Table 5 及び Table 8 から、標準たばこ CM6 の平均吸煙回数は 11.6~12.7 (平均 12.19±0.33) 回/本、TPM 量は 36.99~39.77 (平均 38.31±0.66) mg/本、CO 濃度は 33.67~37.52 (平均 35.26±0.92) mg/本、水分含量は 7.59~10.11 (平均 8.52±0.63) mg/本、ニコチン量は 2.57~2.95 (平均 2.74±0.09) mg/本となり、タール量は 25.62~28.01 (平均 27.05±0.59) mg/本であった。Table 6 及び Table 8 から、英国製マルボロゴールドの平均吸煙回数は 7.2~8.1 (平均 7.73±0.25) 回/本、TPM 量は 28.92~32.94 (平均 30.78±1.13) mg/本、CO 濃度は 29.40~34.14 (平均 31.71±1.05) mg/本、水分含量は 7.08~10.49 (平均 8.68±0.69) mg/本、ニコチン量は 1.46~1.75 (平均 1.61±0.06) mg/本となり、タール量は 19.38~22.12 (平均 20.49±0.69) mg/本であった。Table 7 及び Table 8 から、米国製マルボロレッドの平均吸煙回数は 8.8~10.4 (平均 9.76±0.35) 回/本、TPM 量は 42.07~49.60 (平均 45.89±1.92) mg/本、CO 濃度は 34.18~39.88 (平均 35.87±1.52) mg/本、水分含量は 11.27~15.05 (平均 13.55±1.01) mg/本、ニコチン量は 2.20~2.52 (平均 2.39±0.08) mg/本となり、タール量は 26.80~32.41 (平均 29.94±1.22) mg/本であった。これらの結果から、TNCO 測定値の相対標準偏差 (RSD 変動係数%) はいずれのたばこ試料も水分含量を除いてほぼ 5%以内となり、変動の少ない良好な測定結果が得られた。また水分含量測定値の RSD もすべて 10%以内となっており、従来の測定結果と比較して良好な測定結果であることが判った。

D. 考察

平成 18 年度の本研究で報告したように、TobLabNet 第 1 回ラウンドロビン測定結果から、主流煙中の TNCO は、いずれも ISO 法より HCI 法で高い濃度であり、測定精度の指標となる RSD も、ISO より HCI 法が優れていることが明らかとなっている。同様の結果が様々な文献値からも得られており、WHO はカナダ保健省が規定する

HCI 法を推奨している。今回の第 2 回ラウンドロビンは、HCI 法による測定手法のバリデーションを目的としており、二段階で構成されるラウンドロビンが実施された。

第一段階として、参加を表明した機関に標準たばこ 3R4F が配布され、バリデーション能力の試験が行われた。この第一段階に参加した機関名称等は公表されていないが、フィードバックされた 3R4F の結果から、少なくとも 14 機関が参加したと思われる。国立保健医療科学院で行なわれた 3R4F の測定結果は Table 3 及び Table 8 に示したとおりであるが、無事参加基準をクリアし、第二段階のバリデーションに参加することとなった。第二段階には 12 機関が参加している。

続いて第二段階として、さらに 4 種類のたばこ試料 (標準たばこ 1R5F、同 CM6、英国銘柄マルボロゴールド、及び米国銘柄マルボロレッド) が配布され測定法のバリデーションが行われた。この全体のバリデーション結果については現在 WHO で解析が行われており、2009 年 3 月下旬にブラジル・リオデジャネイロで開催予定の第 4 回 TobLabNet 会議で討議されることになっている。

本稿執筆時点において、全体のバリデーション結果から TNCO の予備的検討結果のみが参加機関にフィードバックされているが、その公表については留保されている。国立保健医療科学院で行なわれた測定結果は、CO が若干高めとなっているが、ニコチン及びタールは大部分が全体平均の 1 標準偏差 (σ) 以内 (1R5F のタール及びマルボロレッドのニコチンのみ 2 σ 以内) の範囲に含まれており、新しい国際標準化試験法によるバリデーション結果として、ほぼ平均的な結果が得られたものと考えられる。CO については 1R5F のみ 2 σ の範囲内であったが、いずれの試料も全体平均より高い値を示していた。この原因については WHO からの正式な結果公表を待たねばならないが、測定に使用した国立保健医療科学院の CO 測定装置の関係 (高感度) で約 1000 倍に希釈して測定する必要が生じたことも一因となっている可能性があり、今後この新しい国際標準化試験法に対応した機器を検討する必要があるかもしれない。

今回バリデーションに使用された5種類のたばこ試料のうち、3種類(3R4F、1R5F、及びCM6)は研究用の標準たばこである。3R4F及び1R5Fは、米国ケンタッキー大学農学部にあるたばこ研究開発センターから「標準紙巻たばこ計画」の一環として、提供されている。一方CM6は、たばこ業界が中心となって設立されたCORESTAが公認するモニター用の標準たばこである。これらについては、いずれもISO/FTC法による分析結果が公表されている。公表値からTNCO関連の数値をTable 9にまとめた。この表には、またマルボロ銘柄のパッケージに表示されているニコチン及びタール量も一緒にまとめている。Table 9から、ISO/FTC法によるニコチン及びタール量は、1R5F < マルボロゴールド < 3R4F < マルボロレッド < CM6の順であった。これらの数値をTobLabNet研究活動の一環として行っている国産主要銘柄のタール及びニコチン量測定結果と比較すると、1R5Fはマイルドセブンワン、マルボロゴールドはキャビンマイルド、3R4Fはマイルドセブンライトないしマイルドセブンオリジナル、マルボロレッドはマイルドセブンオリジナル、CM6はセブンスターにほぼ相当することが判った。

そこで今回ラウンドロビンに使用した5銘柄についてHCl法による実測結果とそれぞれの銘柄について公表されているISO/FTC法による分析結果の比率を算出した。またこれら5銘柄に相当する上記国産銘柄について、昨年度実施した実測結果からHCl/ISO比を算出した。その結果をTable 10に示す。この表では、比較しやすいように、それぞれの銘柄をISO法によるニコチン及びタール量の昇順に並び替えてある。Table 10から、HCl/ISO比はISO法によるニコチン及びタール量の低い銘柄ほど大きくなることや、その比率は相当する国産銘柄のそれとほぼ同様の数値、傾向を示すことが判った。これらの結果から、今回のバリデーション結果は概ね妥当なものであると考えられることが強く示唆された。また、3種類の研究用標準たばこも、市販銘柄とほぼ比較可能な数値で分析可能であることも明らかとなった。近年、共通の標準化試料を用いることにより、測定

法や測定データの精度保証/精度管理(QA/QC)を実施することが重要視されている。特に、たばこ試料やたばこ煙のように多種多様な化学物質から構成される試料については、このようなQA/QCがより一層重要なものとなると考えられる。

今後、このような標準たばこ試料の基礎データを蓄積していくとともに、バリデーションが予定されているたばこ特異的ニトロソアミンやベンゾ[a]ピレンなど、たばこ由来の発がん物質の測定に関連するQA/QCの取り組みが必要不可欠と思われる。

E. 結論

TobLabNetラウンドロビン研究の第2回目として5種類のたばこ試料(標準たばこ3R4F、同1R5F、同CM6、英国銘柄マルボロゴールド、及び米国銘柄マルボロレッド)についてカナダ保健省が推奨するHCl法による測定手法のバリデーションを目的とする、二段階構成のラウンドロビンが実施された。第一段階として、1種類の標準たばこ(3R4F)を用いたバリデーション能力の評価が実施され、国立保健医療科学院は参加基準をクリアし、第二段階のバリデーションに参加した。第二段階として、さらに4種類のたばこ試料が配布され測定法のバリデーションが行われた。全体のバリデーション結果については現在WHOで解析中であるが、国立保健医療科学院の測定結果から、今回のバリデーション結果は概ね妥当なものであることが強く示唆された。また、3種類の研究用標準たばこも、市販銘柄とほぼ比較可能な数値で分析可能であることも明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

(緒方裕光)

- 1) Nakajima H, Mizuta N, Fujiwara I, Sakaguchi K, Ogata H, Magae J, Yagita H and Koji T. Blockade of the Fas/Fas ligand interaction suppresses hepatocyte apoptosis in ischemia-reperfusion rat liver. *Apoptosis* 13: 1013-1021 (2008).
- 2) Otsuka K, Koana T, Tomita M, Ogata H