

息による通院に関するオッズ比が高値を、児の湿疹、食物アレルギーによる通院に関するオッズ比が低値を示した。父親が喫煙することにおいては、児の水痘による通院に関するオッズ比が高値を示した。両親の喫煙行動と児の疾患は密接に関連するという本研究結果を認識するとともに、両親に対する喫煙防止対策をさらに推進していくことが重要である。

原は、佐賀市における妊婦の喫煙状況の年次推移および、低出生体重と早産への影響を明らかにし、今後の母子保健事業に活用することを目的として、平成15年度から18年度の妊娠届時の妊婦への喫煙・飲酒状況の調査と出生児の週数および体重のデータ照合による検討を行った。データ照合のできた4686人のうち喫煙、飲酒、受動喫煙に関する項目をすべてに回答のあった4319人を解析対象とした。妊娠中も喫煙している妊婦の割合は平成15年度の7.4%から平成18年度の5.8%へと減少しているが、妊娠前に禁煙あるいは妊娠を機に禁煙した喫煙経験者の割合が増え、その結果、非喫煙者の割合は平成15年度の66.7%から平成18年度の62.2%へと減少していた。妊娠届時に非喫煙群に対する喫煙継続群の低出生体重、早産のオッズ比はそれぞれ1.9(95%信頼区間:1.3-2.8)、1.7(95%信頼区間:1.1-2.7)、喫煙継続群に対する妊娠を機にした禁煙群の低出生体重、早産のオッズ比は0.5(95%信頼区間:0.3-0.7)、0.6(95%信頼区間:0.3-1.0)と推定された。家庭での受動喫

煙、妊娠中の飲酒は妊娠を機にした禁煙と負の関連が認められ、オッズ比はそれぞれ0.7(95%信頼区間:0.5-1.1)、0.5(95%信頼区間:0.3-0.8)であった。本調査結果より、妊婦とその家族も含めた禁煙支援や、より早期からの喫煙開始防止のための啓発普及といったたばこ対策が重要である。

井植は、今までの熊谷市で実施されている受動喫煙検診の結果から尿中コチニンが高い児童は肥満になる傾向があり、またメタボリック症候群になりやすいことを指摘した。一方、最近では欧米から母親の妊娠中における喫煙はその母親から生まれた児が成長した時に肥満になるとの報告が散見されている。すなわち、児の肥満は現在の受動喫煙の結果であるのか母親の妊娠中喫煙の影響であるのか不明点が多かった。そのため過去の論文を調査・収集し、母親の妊娠中喫煙と児の肥満についてDerSimonian法を用いてメタアナリシスを行なった。その結果、PubMedから444英文論文のうち17論文がこの趣旨に合致し、メタアナリシスの対象とされた。17論文の全てにおいて母親の妊娠中喫煙と児の肥満の関係で正の相関が得られた。統合オッズ比は1.64(95% C. I. =1.42-1.90)であった。公開バイアスで調整した結果、調整オッズ比は1.52(95% C. I. =1.36-1.70)であった。これらの結果から母親の妊娠中喫煙はその母親から生まれた児が3歳~33歳の間に約1.5倍肥満になる危険性が高いと結論できた。しかし、母親の妊娠中

喫煙をしていたものは分娩後も喫煙を継続しているものが多く、児の肥満の危険因子として断定はできない。

4) 禁煙支援策、喫煙開始防止策の検討・普及啓発

加治らが中心となって、世界各国の文献から未成年者、妊産婦への禁煙治療・禁煙支援に関するエビデンスを集め、わが国の未成年喫煙者、妊産婦喫煙者に対する禁煙治療・禁煙支援のガイドラインを作成する作業を進めた。喫煙の疫学関連情報、禁煙治療関連、未成年、妊産婦、胎児、周産期をキーワードとして、Medline、Cochrane Centralデータベースおよび医学中央雑誌より抽出された計4018件の医学論文のうち、平成19年度に研究分担者および研究協力者42組のペアによる一次チェックで選択した440件の論文について、3組の臨床医、疫学者ペアによる二次チェックを行い、151の論文を採択し、三次チェックを経て124件の論文を選択した。これらについて構造化抄録を作成し総論的なまとめを作成している。今後、総論的なまとめと本研究班の個別研究の成果などを基にして、わが国の未成年喫煙者、妊産婦喫煙者に対する禁煙治療・禁煙支援の指針をまとめ、関連学会や団体を通じて普及させる必要がある。

D. まとめ

平成20年度は、昨年度に引き続き、バイオマーカーを用いた喫煙及び受動喫煙の実態調査を

中心とした個別研究や既存データ分析による研究が報告された。また、研究班と既存の母子保健事業との連携体制を構築し、これまでの成果や調査実績を元に、効率的・効果的な受動喫煙曝露の実態把握、及び受動喫煙対策の普及啓発を実施する方法を模索した。

1) バイオマーカーを用いた調査・分析

① ニコチン代謝酵素の多型によりコチニンに代謝されない例があるため、GC-MSを用いて尿中のコチニン、ニコチンおよびそれらのグルクロニドの同時定量を行い、たばこ煙曝露をより詳細に検討した。また、国内で受動喫煙の把握に使用されているELISA法の測定キットの妥当性についても検討したところ、受動喫煙状況について十分定量評価できることが確認できた。

② 非喫煙者の1ヶ月間のたばこ煙曝露による乾燥濾紙尿及び唾液中コチニンの変動を調べたところ、両者の濃度はパラレルに変動していた。曝露後96時間を経過するとコチニンレベルは唾液で0.5ng/mL以下、乾燥濾紙血液で5ng/mgCre以下とほぼ一定となった。

③ 就学前園児471人（札幌）の乾燥濾紙尿中のコチニン値（中央値）は、同居家族全員が非喫煙群（37.8%）で2.60 ng/mgCreに対し、父のみ喫煙群（26.3%）で4.58 ng/mgCre、母のみ喫煙群（10.8%）で13.87 ng/mgCre、父母ともに喫煙群（20.0%）で11.59 ng/mgCre、その他の

同居家族及び父あるいは母喫煙群で8.30 ng/mg Creと高値を示した。乾燥濾紙尿コチニンレベル5ng/mgクレアチニンを受動喫煙の基準値とすると、家族全員非喫煙群で13.5%、母非喫煙で家族に喫煙者がいる群で44.9%、母のみ喫煙群で84.3%、母喫煙に加えて家族に喫煙者がいる群で79.8%が陽性であった。

④ 母親教室受講の妊婦413人（札幌）の唾液中のコチニン値(中央値)は、妊婦と同居家族全員が非喫煙群（53.3%）で0.3 ng/ml、同居家族が喫煙群（40.7%）で0.4 ng/ml対し、妊婦喫煙群（6.1%）で57.2 ng/mlと高値を示した。唾液中コチニンレベル0.5ng/mlを受動喫煙の基準値とすると、家族に喫煙者がいなくても23.2%が陽性であった。

⑤ 上記の①、②、③、④より受動喫煙の影響がない場合のコチニンの暫定基準値として、乾燥濾紙尿で5ng/mgクレアチニン、唾液中で0.5ng/mlが妥当と考えられた。

⑥ 幼稚園児507人（熊谷市）を対象に、受動喫煙の実態と関連する要因を検討した結果、19%の幼稚園児が受動喫煙の被害を受けている（尿中コチニン値5ng/ml以上）と言え、子の受動喫煙と関連する要因は、両親の喫煙、目の前で喫煙すること、戸外、換気扇の下、寝室、台所、居間での喫煙、以上の要因であった。

⑦ 本班の先行事例を検討し、自治体での母子保健事業と連携し、既存の事業との組み合わせにより、効率的に受動喫煙対策のための曝露評価を実施することができた。

⑧ 短期大学部歯科衛生学科の喫煙しない学生の約3割が、受動喫煙を受けていた（尿中コチニン値5ng/ml以上）。

⑨ 妊婦の尿中コチニン濃度を測定したところ、受動喫煙の程度が増す毎に尿中コチニン濃度は高値に分布している事が確認された。家庭での受動喫煙なし群でも尿中コチニン濃度が相対的に高値を示す例があり、自宅以外での受動喫煙の機会が否定できないと考えられた。

2) 喫煙状況、意識、喫煙対策等の実態調査

① 妊婦95名（愛知）のうち、早産1名（36週）、低出生体重1名（2,295g）であり、共に非喫煙者、軽症仮死2名の妊婦は、非喫煙者と前喫煙者であったが、いずれも家庭内の受動喫煙を認め、歯肉出血を自覚していた。

② 小学校高学年生の喫煙についての意識は、地域や学校敷地内禁煙の状況に影響を受けていた。

③ 歯科衛生士を目指す学生や勤務歯科衛生士の社会的（心理的）ニコチン依存度は、講義直後に低下し、時間の経過に伴い戻る傾向にある

が、再度の講義で講義前より低い値を維持できる可能性が示唆された。

④ 日本と台湾の歯学部学生を比較すると、日本の方が喫煙率が高く、家庭内での受動喫煙率や喫煙率が高く、社会的（心理的）ニコチン依存度を示唆するKTSND得点も高値となった。

⑤ 愛知県内の遊園地、公園等24施設の禁煙状況を調査・点数化した昨年度の結果を通知後に、本年度も調査を実施したところ、5施設は同点数、12施設（50.0%）は点数が増加したが、7施設は、点数が低下した。脱タバコ対策度50点以下の対策の極めて不十分な5施設の内、3施設は、2回目の調査で50以上に改善されたが、1施設は点数が変わらず、1施設は、さらにより悪化した。

3) 既存データの分析

① 厚生労働省が実施した第1回～第5回21世紀出生児縦断調査および人口動態調査出生票の集計データを分析し結果、母親の喫煙は、児の水痘、風疹、麻疹、喘息による通院に関するオッズ比が高値を、父親の喫煙は、児の水痘による通院に関するオッズ比が高値を示した。

② 平成15年度～18年度の妊娠届時の妊婦の喫煙・飲酒状況の調査と出生児の週数および体重のデータを照合により検討したところ、喫煙妊婦は低出生体重、早産のリスクが高い事が示され、

家庭での受動喫煙や妊娠中の飲酒があると妊娠を機に禁煙しにくいことが確認された。

③ 母親の妊娠中喫煙と児の肥満について、Der Simonian法を用いてメタアナリシスを行なったところ、母親の妊娠中喫煙と児の肥満の関係で正の相関が得られた。

4) 禁煙支援策、喫煙開始防止策の検討・普及啓発

① 未成年者、妊産婦への禁煙治療・禁煙支援に関する4018編の論文の中から主要文献124編を選択し、構造化抄訳集を作成した。総合的なまとめを行いガイドライン作成のための作業をすすめている。

E. 結論

未成年者や妊産婦における受動喫煙防止対策や禁煙支援などのたばこ対策を推進するために、調査分析（バイオマーカーを用いた喫煙・受動喫煙の調査分析、対策に関する実態調査）、既存データの分析、禁煙支援策、喫煙開始防止策の検討、普及啓発に関する研究を行った。本研究班の成果に基づく提言および今後の課題は、

1) 家庭での受動喫煙曝露の影響を喫煙者に知らせ、家庭や自家用車の環境を禁煙とするための教育キャンペーンの実施、2) 母子保健手帳交付時や健診、乳児訪問などの機会を利用した喫煙・受動喫煙状況の把握と情報提供、および妊産婦とその家族の禁煙支援への連携の確立、3) 小

児科、産科医療機関での情報提供や禁煙支援の実施、4) 未成年喫煙者を禁煙治療や支援に結び付けるための、教育現場、保健行政、医療機関における連携の構築である。

F. 健康危険情報

タバコ煙曝露の事実そのものや、未成年者や妊産婦への有害性に関しては過去から知られていることではあるが、幼小児や妊産婦における曝露の程度の大きさは、想定されている以上のケースがありうることは、国レベルでも注意喚起が必要ではないかと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 矢野公一、福士勝、花井潤師、他。乳幼児・妊婦のタバコ曝露の実態—バイオマーカーを用いた検討。北海道小児保健研究会誌(平成20年度)2008;19-23.
2. 稲垣幸司、野口俊英、大橋真弓、細井延行、森田一三、中垣晴男、埴岡隆、栗岡成人、遠藤明、大谷哲也、磯村毅、吉井千春、加濃正人：妊婦の口腔衛生、喫煙および受動喫煙に対する意識と社会的ニコチン依存度。禁煙会誌 3(6): 120-129, 2008
3. 遠藤明、加濃正人、吉井千春、相沢政明、国友史雄、磯村毅、稲垣幸司、天貝賢二：中学生の喫煙に対する認識と禁煙教育の効果 禁煙会誌 3(3):48-52, 2008
4. 家田重晴、村松常司、中川恒夫：日本学校

保健学会と東海学校保健学会の子どもをタバコから守る活動 東海学校保健研究 32(1):53-65, 2008.

5. 稲垣幸司、林潤一郎、丁群展、野口俊英、千田彰、花村肇、森田一三、中垣晴男、小出龍郎、謝天渝、栗岡成人、遠藤明、大谷哲也、天貝賢二、原めぐみ、Boyen Huang、吉井千春、加濃正人：日本と台湾の歯学部学生の喫煙状況と社会的ニコチン依存度 禁煙会誌 3(5):81-85, 2008

2. 学会発表

1. 矢野公一：家庭内喫煙による乳幼児の受動喫煙の現状と対策 平成20年度北海道公衆衛生学会研究集会、札幌、2008.
2. 矢野公一：乳幼児・妊婦のタバコ曝露の実態—バイオマーカーを用いた検討—埼玉県民フォーラム 受動喫煙検診の普及に向けて、埼玉、2008.
3. 矢野公一、福士勝、花井潤師、他：1歳6か月児のタバコ曝露の実態—バイオマーカーを用いた検討—日本小児科学会北海道地方会第273回例会、札幌、2008.
4. 矢野公一：乳幼児・妊婦のタバコ曝露の実態—バイオマーカーを用いた検討—第5回北海道禁煙フォーラム、札幌、2008.
5. 矢野公一：胎児・乳幼児のタバコ曝露の実態—バイオマーカーを用いた検討 第8回子どもの防煙研究集会、東京、2008.
6. 松本明子、松本茜子、大石浩隆、市場正

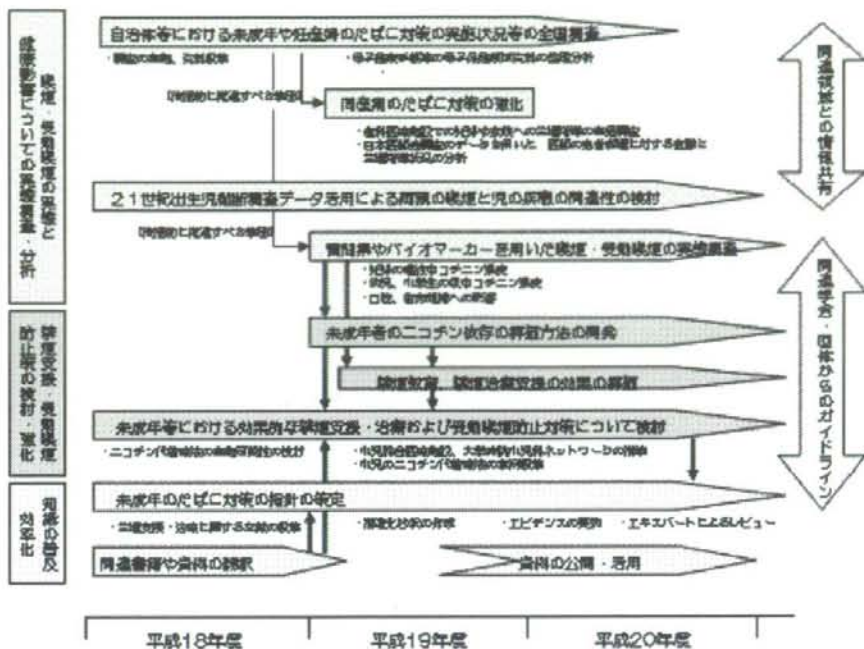
- 良, 原めぐみ, 喫煙・受動喫煙量のバイオリジカルモニタリング. 日本産業衛生学会九州地方会2008年7月: 産業衛生学雑誌50(5)153.
7. 松本明子, ニコチン摂取のバイオリジカルモニタリング. 平成20年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会2008年9月 日本アルコール・薬物医学会雑誌43(4)406-407.
 8. 松本茜子, 原めぐみ, 松本明子, 仁志蘭子, 大石浩隆, 市場正良. タバコ煙の生物学的モニタリング. 日本産業衛生学会第41回生物学的モニタリング・バイオマーカー研究会2008年11月
 9. 大谷哲也, 井埜利博, 原めぐみ, 原田正平, 稲垣幸司, 吉井千春, 加濃正人, 磯村毅, 小山 洋: 親の社会的ニコチン依存度と子の尿中コチニン濃度 第17回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会 (2008年2月10日、横浜)
 10. 高阪利美, 稲垣幸司, 長谷川純代, 山田和代, 向井正視, 野口俊英, 森田一三, 中垣晴男, 原田崇, 大森みさき, 両角祐子, 佐藤聡, 埴岡隆, 王宝禮, 花田祥子: 某大学短期大学部歯科衛生学科学学生の喫煙に対する意識の評価と大学禁煙化に対する姿勢 第51回春季日本歯周病学会 (2008年4月26日、大宮) 日歯周誌 50 (春季特別号):158, 2008.
 11. 高阪利美, 稲垣幸司, 長谷川純代, 山田和代, 犬飼順子, 向井正視, 小出龍郎, 野口俊英, 花村肇, 森田一三, 中垣晴男, 原田崇: 短期大学部歯科衛生学科学学生の喫煙に対する意識の評価と大学禁煙化に対する姿勢 第72回愛院大歯学会 (2008年6月1日、名古屋) 愛院大歯誌 46 (2):301, 2008.
 12. 喫瀬恵子, 稲垣幸司, 高阪利美, 長谷川純代, 山田和代, 向井正視, 林 潤一郎, 野口俊英, 森田一三, 中垣晴男, 原田崇, 大森みさき, 佐藤 聡, 埴岡隆, 王宝禮, 花田祥子: 歯科衛生専門学校学生の喫煙に対する意識と唾液および尿中コチニンによる受動喫煙の評価 第51回秋季日本歯周病学会 (2008年10月19日、四日市) 日歯周誌 50 (秋季特別号):200, 2008.
 13. Inagaki K, Noguchi T, Morita I, Nakagaki H, Hanioka T: Oral health, recognition to smoking and second-hand smoke in Japanese pregnant women, The 4th Meeting of the Association of Basic Science Teachers in Dentistry (Sep 9, 2008, London, UK)
 14. Inagaki K, Noguchi T, Morita I, Nakagaki H, Hanioka T: Oral health and social nicotine dependence in Japanese pregnant women, The 4th Meeting of the Pan European Federation Annual Meeting of the Continental

European Division of the International Association for Dental Research
(Sep 11, 2008, London, UK)

15. 国友史雄, 稲垣幸司, 今野美紀, 加濃正人, 吉井千春: 加濃式社会的ニコチン依存度調査票 (KTSND) 施行が小学校喫煙防止教育の効果に与える影響についての検討 第17回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会 (2008年2月10日, 横浜)
16. 稲垣幸司, 小出龍郎, 野口俊英, 森田一三, 中垣晴男, 長野寛志, 谷口千枝, 遠藤明, 磯村毅, 吉井千春, 加濃正人, 原田正平, 大谷哲也, 家田重晴, 中川恒夫: 小学校6年生の喫煙についての意識の評価と地域差 第17回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会 (2008年2月11日, 横浜)
17. 天貝賢二, 国友史雄, 遠藤明, 稲垣幸司, 大谷哲也, 吉井千春, 加濃正人: 小学生の喫煙行動と喫煙に関する意識調査: 喫煙防止講話前後に加濃式社会的ニコチン依存度調査票を用いて 第17回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会 (2008年2月11日, 横浜)
18. 稲垣幸司, 林潤一郎, 野口俊英, 森田一三, 中垣晴男, 小出龍郎, 長野寛志, 谷口千枝, 遠藤明, 磯村毅, 吉井千春, 加濃正人, 原田正平, 大谷哲也, 家田重晴, 中川恒夫: 小学校6年生の喫煙についての意識の評価と地域差平成19年度 愛知県小児保健協会学術研修会 (2008年2月17日, 大府). 小児保健あいち 6:23-24, 2008
19. 竹内あゆ美, 稲垣幸司, 大河内ひろみ, 森智恵美, 安藤和枝, 山口みどり, 山本弦太, 林潤一郎, 野口俊英, 森田一三, 中垣晴男: 歯科衛生士の社会的ニコチン依存度と禁煙教育の効果 日歯周誌. 50(3):185-192, 2008
20. 稲垣幸司, 林潤一郎, 丁群展, 野口俊英, 千田彰, 花村肇, 森田一三, 中垣晴男, 小出龍郎: 愛知学院大学と高雄醫學大學歯学部学生の喫煙に対する意識の評価 第72回愛院大歯学会 (2008年6月1日, 名古屋) 愛院大歯誌 46(2):301, 2008
21. 稲垣幸司, 林潤一郎, 丁群展, 野口俊英, 千田彰, 花村肇, 森田一三, 中垣晴男, 小出龍郎, 謝天渝, 栗岡成人, 遠藤明, 大谷哲也, 天貝賢二, 原めぐみ, 吉井千春, 加濃正人: 歯学部学生の喫煙に対する認識の国際比較—愛知学院大学と高雄醫學大學歯学部学生の比較— 第3回日本禁煙学会 (2008年8月10日, 広島).
22. Inagaki K, Huang B, Noguchi T, Yoshimura F, Morita I, Nakagaki H, Koide T, Hanioka T, Yoshii C, Kano M: "Social Nicotine Dependence" of dental undergraduates in Japan, The 56th Annual Meeting of the Japanese Association for Dental

- Research (JADR) (Nov 29, 2008, Nagoya, Japan)
23. Huang B, Inagaki K, Yoshii C, Kano M, Nakagaki H, Noguchi T.: Implementation of the KTSND questionnaire on Australian dental undergraduates, The 56th Annual Meeting of the Japanese Association for Dental Research (JADR) (Nov 29, 2008, Nagoya, Japan)
24. 谷口千枝、中川恒夫、稲垣幸司：愛知県内の遊園地、公園等の禁煙状況調査 第1回子どもをタバコから守る会・愛知報告会（2008年1月12日、名古屋）
25. 稲垣幸司、谷口千枝、家田重晴、磯村毅、大沢功、中川恒夫、埴岡隆、原めぐみ、森田一三、中垣晴男、野口俊英：愛知県内の遊園地、公園等の脱タバコ対策に関する調査 第18回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会（2009年2月7日、和歌山）
26. 稲垣幸司、谷口千枝、家田重晴、磯村毅、大沢功、中川恒夫、埴岡隆、原めぐみ、森田一三、中垣晴男、野口俊英：愛知県内の遊園地、公園等の脱タバコ対策に関する調査 平成20年度 愛知県小児保健協会学術研修会（2009年2月15日、大府）。小児保健あいち 7:8-9, 2009
- 井埜利博、渋谷友幸、斉藤洪太：母親の妊娠中喫煙と子どものメタボリック症候群の関連性についてのメタアナリシス 日児誌 2008;112:267
27. 井埜利博、渋谷友幸、斉藤洪太：母親の妊娠中喫煙は将来の子どもの肥満を招く 日小循会誌 2008;24:287
28. Ino T, Okada R: A Meta-analysis of a association with maternal smoking during pregnancy and body weight and blood pressure in 9 year old offspring Circ J 2008
29. 井埜利博、渋谷友幸、斉藤洪太：学童の受動喫煙検診によって得られた新しいエビデンス 第3回日本禁煙学会学術総会 東京、2008年
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

研究の流れ図



II. 分担研究報告書

タバコ煙のバイオロジカルモニタリング手法に関する研究

研究分担者 松本 明子 佐賀大学医学部社会医学講座環境医学分野

研究協力者 松本 茜子 佐賀大学医学部社会医学講座環境医学分野

研究要旨

タバコ煙の生物学的モニタリング手法について評価することを目的に GC-MS による尿中ニコチン、ニコチン、ニコチングルクロニド、コチニン、コチニングルクロニドの同時定量を行った。非喫煙者では喫煙者と比較しコチニン/ニコチン比が低い検体が多く ($p < 0.01$)、従来行われているコチニンのみの測定よりも有用性が高いと考えられた。また、同研究班の井埜らが実施している幼児の受動喫煙健診で ELISA 法による IR コチニン濃度が同定ずみの検体の一部について、コチニン濃度とコチニン+コチニングルクロニド（総コチニン）濃度を GC-MS 法にて定量した。IR コチニンは GC-MS によるコチニンの約 3 倍の濃度で検出された ($y = 0.31x + 1.27, r = 0.91$)。尿中ニコチン代謝物濃度と両親の喫煙状況別の順位相関を検討したところ GC-MS によるコチニン濃度、総コチニン（コチニン+コチニングルクロニド）濃度、ELISA による IR コチニン濃度の順に相関係数が高かった (Spearman's correlation coefficients by ranks: 0.28 ($p < 0.01$), 0.37 ($p < 0.01$) and 0.49 ($p < 0.01$) in free cotinine, total cotinine and IR-cotinine, respectively)。これにより ELISA 法が受動喫煙健診で有用であることが示唆された。また本研究班で適用されている ELISA 法は 3 ヒドロキシコチニンとそのグルクロニドに高い交差反応性があることが示された(それぞれ 101%, 202%)。

A. 研究目的

たばこ対策に関する研究の基礎となるタバコ煙の生物学的モニタリング手法について評価、検討を行う。また、最も実用的と考えられ、本研究班でもすでに導入されている ELISA 法について評価を行う。

B. 研究方法

タバコ煙の生物学的モニタリング手法としてすでに国際的に評価を得ている尿中コチニンの GC-MS を用いた定量法を応用し、尿中ニコチン、ニコチングルクロニド、コチニン、コチニングルクロニド (図 1) の同時測定を行いその

有用性を検討した。検体は随時尿とし非喫煙者 115 名喫煙者 102 名の協力のもと採取した。

また、井埜らが実施した幼児の受動喫煙健診で ELISA 法を用いて尿中のニコチン代謝物濃度を測定された検体と禁煙外来受診者尿について GC-MS や HPLC による二重測定を行い測定法の評価を行った。幼児の両親の自記式調査票にて調査した両親の喫煙状況とバイオマーカーとの相関を検討した。

さらに、本研究班で使用している ELISA 法の交差反応性を検討した。

(倫理面への配慮)

尿の提供者者に対し研究の概要を十分説明した

うえ同意を得られた場合に限り尿の採取を行った。また、禁煙外来受診者尿については研究の概要の説明を行っていないが個人情報との連結が不可能な状態のものを用いた。

C. 結果

喫煙者に較べて非喫煙者では尿中ニコチン濃度がコチニン濃度よりも高い場合が多く、とくに非喫煙者においてニコチンとコチニンの同時定量の有用性が高いと考えられた(図2)。また、脱グルクロニド処理を行った検体ではニコチン、コチニンともに定量が容易となることが確認された。

同検体における GC-MS によるコチニン濃度と ELISA 法による IR コチニン濃度では IR コチニン濃度が 3 倍程度高濃度に検出された(図3)。尿中ニコチン代謝物濃度と幼児の両親の喫煙状況別の順位相関を検討したところ GC-MS によるコチニン濃度、総コチニン(コチニン+コチニングルクロニド)濃度、ELISA による IR コチニン濃度の順に相関係数が高かった(図4、5)。これにより ELISA 法が受動喫煙健診で有用であることが示唆された。

本研究班での ELISA 法では 3 ヒドロキシコチニンとそのグルクロニドに高い交差反応性があることが示された(表)。また、喫煙者尿の解析を HPLC 法と ELISA 法で行い両者の結果を比較したところ良好な相関関係が見られた(図6)。

D. 考察

CYP2A6 の遺伝子多型によりニコチンからコチニンへの代謝活性が弱いヒトが一定の割合で存在していることが知られており、これまでに CYP2A6 の活性が低いヒトで喫煙習慣が獲得しにくいことが報告されている。本研究では非喫煙者のコチニン/ニコチン比が比較的高くニコチンとコチニンの同時定量が特に非喫煙者で有用であることが示唆された。このコチニン/ニコ

チン比の差は一部 CYP2A6 遺伝子多型により生じている可能性がある。

本研究班で適用している ELISA 法による IR コチニン指示値は幼児の両親の喫煙状況や喫煙態度と良好に相関していた。よって IR コチニン値が、すでに国際的に認められている GC-MS による尿中コチニン濃度よりもバイオマーカーとして優れていることが示唆された。3 ヒドロキシコチニン(ニコチンの代謝物のなかで最も多く排泄される代謝物)に対する交差反応性が受動喫煙量の反映に有利であったものと考えられた。

E. 結論

GC-MS による総ニコチン、総コチニンの同時定量と ELISA 法による IR コチニン定量の有用性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

1. 松本明子, 松本茜子, 大石浩隆, 市場正良, 原めぐみ, 喫煙・受動喫煙量のバイオロジカルモニタリング, 日本産業衛生学会九州地方会 2008 年 7 月; 産業衛生学雑誌 50(5)153
2. 松本明子, ニコチン摂取のバイオロジカルモニタリング, 平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会 2008 年 9 月 日本アルコール・薬物医学会雑誌 43(4)406-407
3. 松本茜子, 原めぐみ, 松本明子, 仁志蘭子, 大石浩隆, 市場正良, タバコ煙の生物学的モニタリング, 日本産業衛生学会第 41 回生物学的モニタリング・バイオマーカー研究会 2008 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

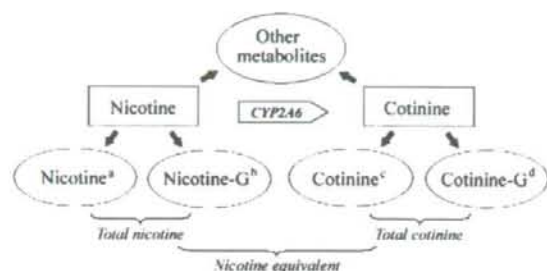


図1 ニコチンの代謝図

○で囲われた化学物質は尿中に排泄されるもの。およそ80%のニコチンがCYP2A6によってコチニンに酸化されると考えられている。Nicotine-Gはニコチングルクロニド、Cotinine-Gはコチニングルクロニドを表す。本研究ではグルクロニドは脱抱合処理を行い総ニコチン量と総コチニン量の測定を行った。

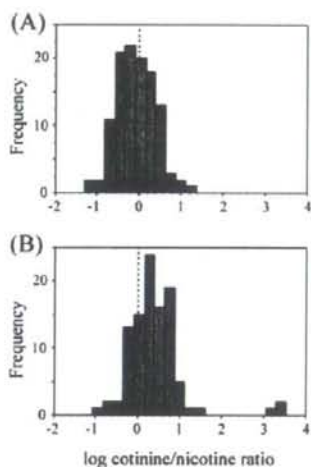


図2 非喫煙者(A)と喫煙者(B)の尿中コチニン/ニコチン比(対数)

非喫煙者(-0.06 ± 0.47)では半数以上がコチニン/ニコチン比が0(実数で1)以下であり喫煙者(0.41 ± 0.66)と比較してニコチンの尿中排泄比率が高かった。

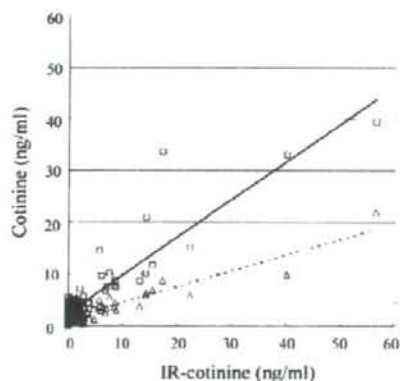


図3 幼稚園児尿におけるGC-MS法によるコチニン濃度とELISA法によるIRコチニン濃度の比較

△はGC-MSによるフリーコチニンレベルとIRコチニン、□は総コチニン濃度とIRコチニンレベルを表す。それぞれの回帰式(r)は $y = 0.31x + 1.27$ ($r=0.91$)と $y = 0.73x + 2.44$ ($r=0.91$)。

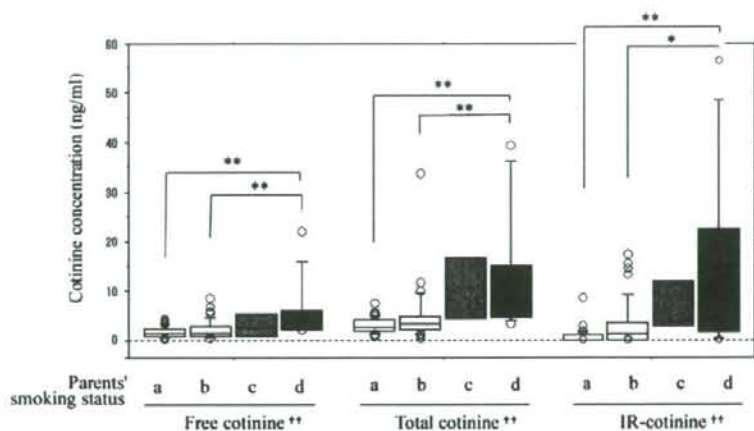


図4 GC-MS法、ELISA法による幼稚園児尿中コチニン濃度と両親の喫煙状況
 a: 両親とも非喫煙者 (n=36), b: 父親が喫煙者 (n=44), c: 母親が喫煙者 (n=3), d: 両親とも喫煙者 (n=10). スピアマンの順位相関係数: 0.28 (p<0.01) (コチニン), 0.37 (p<0.01) (総コチニン), 0.49 (p<0.01) (IRコチニン)

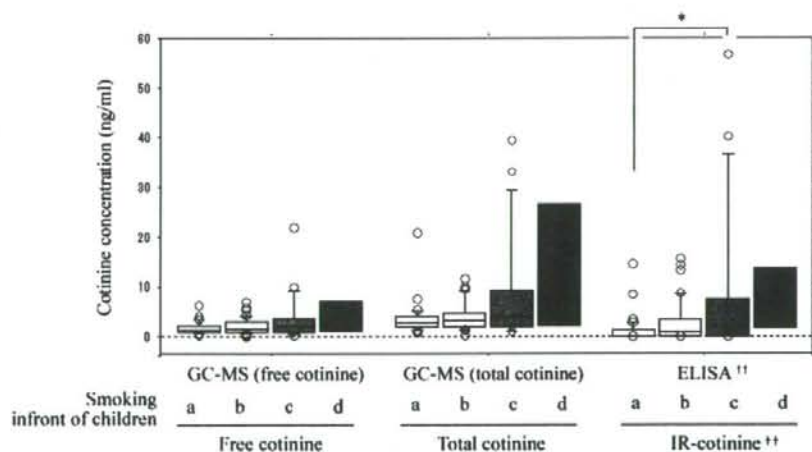


図5 GC-MS法、ELISA法による幼稚園児尿中コチニン濃度と両親の喫煙態度
 a: 両親とも非喫煙者 (n=36), b: 両親とも子供のの前では喫煙しない (n=37), c: 両親のいずれかが子供のの前で喫煙する (n=17), d: 両親とも子供のの前で喫煙する (n=3). スピアマンの順位相関係数: 0.14 (p=0.17) (コチニン), 0.16 (p=0.13) (総コチニン), 0.34 (p<0.01) (IRコチニン)

表 交差反応性の評価

	MW	ED50(ng/mL)	ED50(M)	Cross-reactive ratio
cotinine	176.22	5.2	2.95×10^{-8}	100.0%
nicotine	162.23	2140.8	1.32×10^{-5}	0.2%
nicotineglucuronide	338.36	37919.8	1.12×10^{-4}	0.0%
cotinineglucuronide	352.34	3764.2	1.07×10^{-5}	0.3%
3'-hydroxycotinine	192.21	5.6	2.91×10^{-8}	101.3%
3'-hydroxycotinineglucuronide	368.34	4.9	1.33×10^{-8}	221.8%

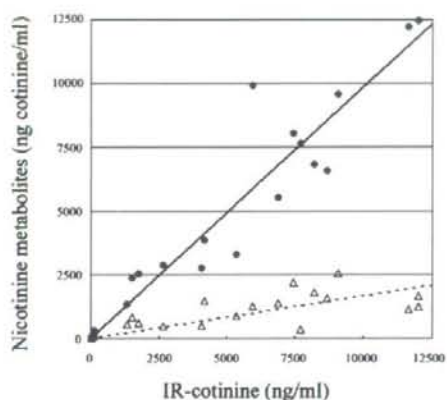


図 6 喫煙者尿における HPLC 法によるニコチン代謝物濃度と ELISA 法による IR コチニン濃度の比較

●は HPLC によるニコチン代謝物濃度*と IR コチニン、△は GC-MS によるフリーコチニンレベルと IR コチニンレベルを表す。それぞれの回帰式 (r) は $y = 0.99x$ ($r = 0.94$) と $y = 0.17x$ ($r = 0.63$)。 $n = 19$ 。*ニコチン代謝物濃度 (ng cotinine/ml) = コチニン (ng/ml) $\times 1.013$ + 3 ヒドロキシコチニン (ng cotinine/ml) $\times 1.013$ + 3 ヒドロキシコチニン グルクロニド (ng cotinine/ml) $\times 2.218$

受動喫煙評価のための乾燥濾紙尿及び唾液コチニンレベルの検討

研究分担者	矢野 公一	札幌市衛生研究所
研究協力者	福士 勝	札幌市衛生研究所保健科学課
	花井 潤師	札幌市衛生研究所保健科学課
	吉永 美和	札幌市衛生研究所保健科学課
	田上 泰子	札幌市衛生研究所保健科学課
	藤倉 かおり	札幌市衛生研究所保健科学課
	野町 祥介	札幌市衛生研究所保健科学課
	太田 優	札幌市衛生研究所保健科学課

研究要旨

【目的】非喫煙者から得られた乾燥濾紙尿及び唾液中コチニン濃度を用いて受動喫煙の影響の有無によるコチニンレベルの基準値を設定する。【方法】非喫煙者から乾燥濾紙尿及び唾液を1ヶ月間連続して採取し、そのコチニンレベルの変化をたばこへの暴露と時間経過により比較検討した。さらに、札幌市内の保育園児470人から乾燥濾紙尿を得るとともに、保護者に家族の喫煙状況に関するアンケート調査を実施し、家族の喫煙状況と児のコチニンレベルを比較検討した。【結果】非喫煙者の乾燥濾紙尿のコチニンレベルは1.8-4.2ng/mgクレアチニンから、たばこの煙暴露後24時間以内で8.4-29.2ng/mgクレアチニンまで著増し、その後96時間で5.8-12.0ng/mgクレアチニンまで低下した。唾液でも同様の傾向を認めた。保育園児の乾燥濾紙尿コチニンレベルは5ng/mgクレアチニンを基準値とすると、その陽性率は家族全員非喫煙群で13.5%、母非喫煙で家族に喫煙者がいる群で44.9%、母のみ喫煙群で84.3%、母喫煙に加えて家族に喫煙者がいる群で79.8%であった。【結論】受動喫煙の影響がない場合のコチニンの暫定基準値として、乾燥濾紙尿で5ng/mgクレアチニン、唾液で0.5ng/mlが妥当である。

A. 研究目的

尿や唾液中のコチニンの高感度測定法の開発により受動喫煙レベルでのコチニン濃度の測定が可能となった。しかし非喫煙者の日常生活におけるたばこ煙暴露によるコチニンレベルの変動は明らかになっていない。そこで、非喫煙者から得られた乾燥濾紙尿及び唾液中コチニンの濃度を用いて受動喫煙の有無によるコチニンレベルの基準値を検討した。

B. 研究方法

1. 対象

- 1) 喫煙しない当所職員の乾燥濾紙尿と唾液を1ヶ月間連続して採取するとともに、その期間の受動喫煙の機会の有無を記録した。
- 2) 札幌市内の保育園15施設で協力が得られた3歳から6歳の園児470人の乾燥濾紙尿の採取とその家族の喫煙状況を調査した。
- 3) 札幌市の母親教室受講者で協力が得られた

413 人の唾液の採取とその家族の喫煙状況の調査を調査した。

2. コチニン及び尿クレアチニン測定

1) コチニン測定試薬は受動喫煙用コチニン測定 ELISA キット(コスミック社製)を使用した。本法の測定感度は使用するサンプル量が $25\mu\text{L}$ では 0.06ng/mL であり、その再現性は同一アッセイ内での CV は 15%以下、異なるアッセイ間で 20%以下であった。乾燥濾紙尿コチニン値はクレアチニン補正により元の尿と良好な相関が得られ ($r=0.963$)、その値もほぼ一致していた。

2) 乾燥濾紙尿コチニンの測定は、直径 5mm ディスク 2枚を精製水 $150\mu\text{L}$ で 1時間振とう溶出し、その溶出液 $25\mu\text{L}$ を用いてキットに示された手順で行った。

3) 唾液コチニンの測定は、唾液 $25\mu\text{L}$ を用いてキットに示された手順で行った。

4) 乾燥濾紙尿クレアチニン測定

尿クレアチニンは Jaffe 法により測定した(「クレアチニンテスト」ワコー; 和光純薬製)。すなわち、上記 2) の溶出液 $50\mu\text{L}$ を 96 穴マイクロプレートウェルに分注し、反応液(ピクリン酸溶液:アルカリ溶液=4:1) $150\mu\text{L}$ を加えて 20 分後、その吸光度を 510nm で測定した。

5) 乾燥濾紙尿コチニン値の表示単位

乾燥濾紙尿コチニン値はクレアチニン 1mg 当りで表示した (ng/mgCre)。

(倫理面への配慮)

本研究は「バイオマーカーを用いた幼児における受動喫煙状況の実態調査に関する研究」として平成 20 年 11 月に札幌市衛生研究所倫理審査委員会にて承認を受けた研究の一環として実施しており、研究対象者の研究への参加は本人及び保護者の承諾が得られ、十分倫理的に配慮されている。

C. 結果

1. 非喫煙者(家庭内に喫煙者がいなく、建物内禁煙職場に勤務)のたばこ煙暴露による唾液及び乾燥濾紙尿コチニンレベルの変動

1) 非喫煙者の 1ヶ月間のたばこ煙暴露による乾燥濾紙尿及び唾液中コチニンの変動を図 1 に示した。たばこ煙暴露が室内などの密閉された場所であった場合は 10 分程度の暴露でもコチニン濃度は確実に増加し、暴露時間とともにコチニン濃度はさらに増加した。また、唾液と乾燥濾紙尿コチニン濃度はパラレルに変動していた。暴露後 96 時間を経過するとコチニンレベルは唾液で 0.5ng/mL 以下、乾燥濾紙尿血液で 5ng/mgCre 以下とほぼ一定となった。

2) 非喫煙者で受動喫煙の影響をたばこ煙暴露後 24 時間以内、25 時間から 96 時間、97 時間以上の 3 群で比較すると、その中央値・範囲は唾液コチニンで $1.1 \cdot 0.7-2.3$ 、 $0.7 \cdot 0.6-0.8$ 、 $0.2 \cdot 0.1-0.3\text{ng/mL}$ 、濾紙尿コチニンで $11.6 \cdot 8.4-29.2$ 、 $11.4 \cdot 5.8-12.0$ 、 $3.0 \cdot 1.8-4.2\text{ng/mg Cre}$ であった(表 1)。

2. 保育園児の乾燥濾紙尿コチニンレベルと受動喫煙(表 2)

乾燥濾紙尿コチニンの受動喫煙による影響の基準値を 5ng/mg Cre とすると、保育園児 470 人での陽性率は家族全員非喫煙群($n=178$)で 13.5%、母が非喫煙で家族に喫煙者がいる群($n=138$)で 44.9%、母喫煙で家族が非喫煙群($n=51$)で 84.3%、母を含めて家族に喫煙者がいる群($n=103$)で 79.8%であり、家族全員非喫煙群の陽性率は他群の $1/3$ から $1/6$ 以下であった。

3. 妊婦の唾液コチニンレベルと受動喫煙(表 3)

唾液コチニンレベルの受動喫煙による影響の基準値を 0.5ng/ml とすると、妊婦 413 人での陽性率はアンケートで家族に喫煙者がいない

と回答した群 220 人では 23.2%が陽性となった。

一方、家族に喫煙者がいる群 168 人では 34.5%、妊婦が喫煙している群 25 人では 100%陽性であった。

D. 考察

受動喫煙の実態調査にはアンケート調査とともに受動喫煙のバイオマーカーである尿や唾液のコチニン測定が有用である。尿中コチニン測定の検体として乾燥濾紙尿を用いる方法は、検体の郵送が可能なることから乳幼児などを対象として家庭で検体採取が可能であり、検体の採取・収集が簡便であること、さらには検査法として ELISA を用いることで大量検体の処理が正確かつ容易に行うことができ、尿そのものを用いるよりもより大規模・広域的な調査に有用である。また、唾液は専用の採取容器を使用することにより母親教室や集団検診などを利用して容易に採取できるためその応用範囲は広く大規模調査に有用である。

受動喫煙レベルの乾燥濾紙尿及び唾液コチニンを適切に評価するため、日常生活で受動喫煙を受ける機会がある非喫煙成人の尿と唾液を 1 ヶ月間連続して採取し、たばこ煙暴露との関係を検討したところ、喫茶店や飲食店などでの短時間の暴露でも乾燥濾紙尿及び唾液中のコチニンの増加が認められ、本研究で用いた ELISA 法によるコチニン測定は受動喫煙の実態調査方法として極めて有用であることが確認された。また、乾燥濾紙尿及び唾液中コチニンレベルはたばこ煙暴露後 97 時間以降でほぼ一定となることから、乾燥濾紙尿及び唾液中コチニンの基準値はそれぞれ一定となる 5ng/mgCre 以下及び 0.5ng/mL 以下に設定するのが妥当と考えられた。乾燥濾紙尿コチニンの基準値を 5ng/mgCre とすると、3 歳から 6 歳の保育園児のアンケートで家族に喫煙者が全くいないと回

答した群でも 13.5%が陽性となったが、これはアンケートの回答の真偽と外食などでの家庭外での暴露による影響が考えられる。一方、母及び家族に喫煙がある群では約 80%の児がたばこ煙暴露の影響を受けていることになり、受動喫煙実態調査への応用においても本法の有用性が確認できた。また、妊婦の唾液コチニンの調査で基準値を 0.5ng/ml とすると、妊婦本人が非喫煙で家族にも喫煙者がいないと回答した群で 23.2%が陽性となり、保育園児での結果と同様にアンケートの回答の真偽と外食などでの家庭外での暴露による影響も考えられた。今後より適切な基準値を設定するためには、日常生活における受動喫煙の機会を確実に確認できる対象での調査が必要である。

E. 結論

受動喫煙の影響がない場合のコチニンの暫定基準値として、乾燥濾紙尿で 5ng/mg クレアチニン、唾液で 0.5ng/ml が妥当である。今後より適切な基準値を設定するためには、日常生活における受動喫煙の機会を確実に確認できる対象での調査が必要である。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

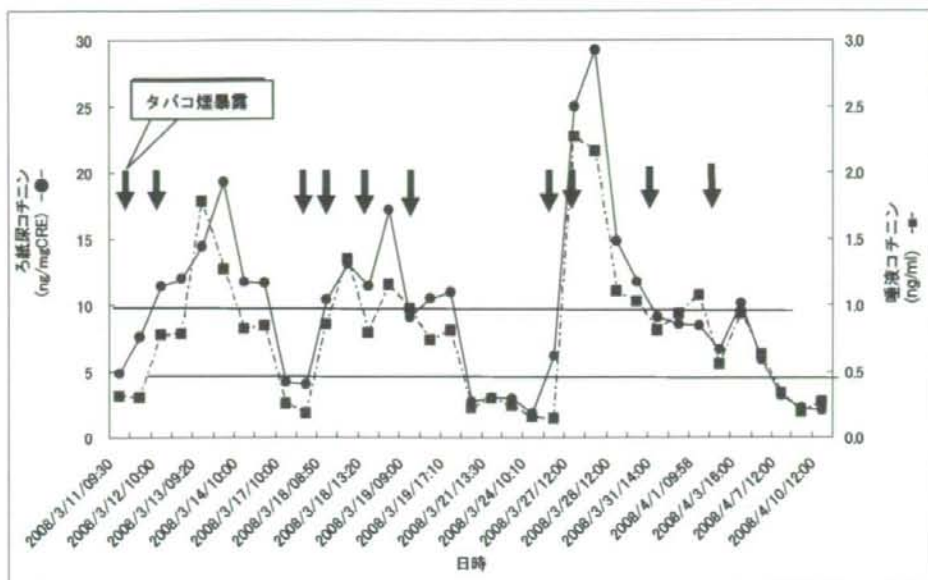


図1 非喫煙者の受動喫煙による唾液・濾紙尿中コチニンの変化

表1 たばこに暴露する機会があった非喫煙者の暴露後時間経過と乾燥濾紙尿及び唾液コチニン濃度

暴露後採尿までの時間	N	唾液 (ng/ml)		濾紙尿 (ng/mgCre)	
		Mean±SD	Median (Range)	Mean±SD	Median (Range)
<24時間	14	1.2±0.5	1.1 (0.7-2.3)	14.0±6.0	11.6 (8.4-29.2)
25-96時間	7	0.7±0.1	0.7 (0.6-0.8)	9.8±2.6	11.4 (5.8-12.0)
>97時間	12	0.2±0.1	0.2 (0.1-0.3)	3.7±1.7	3.0 (1.8-4.2)

表 2 保育園児の家族の喫煙状況と乾燥濾紙尿コチニン基準値別の陽性率と各群の中央値

コチニン (ng/mgCre)	家族の喫煙状況			
	家族全員 非喫煙 (178)	母非喫煙 家族喫煙 (138)	母喫煙 家族非喫煙(51)	母喫煙 家族喫煙 (103)
4.0	25.3	62.5	88.2	84.6
5.0	13.5	44.9	84.3	79.8
6.0	10.7	38.4	72.5	74.0
7.0	9.0	34.0	66.7	66.3
中央値	2.6	4.6	13.9	11.6

(単位：陽性率；%，中央値；ng/mgCre)

表 3 妊婦とその家族の喫煙状況による唾液コチニン陽性率

コチニン 基準値 (ng/ml)	妊婦・家族 全員非喫煙 (220)	妊婦非喫煙・ 家族喫煙 (168)	妊婦喫煙 (25)
0.5	23.2	34.5	100
0.6	14.1	28.6	100
0.7	8.6	25.0	100
0.8	7.3	19.0	100
0.9	5.9	15.5	100
1.0	5.5	13.1	100
中央値	0.3	0.4	57.2

(単位：陽性率；%，中央値；ng/ml)