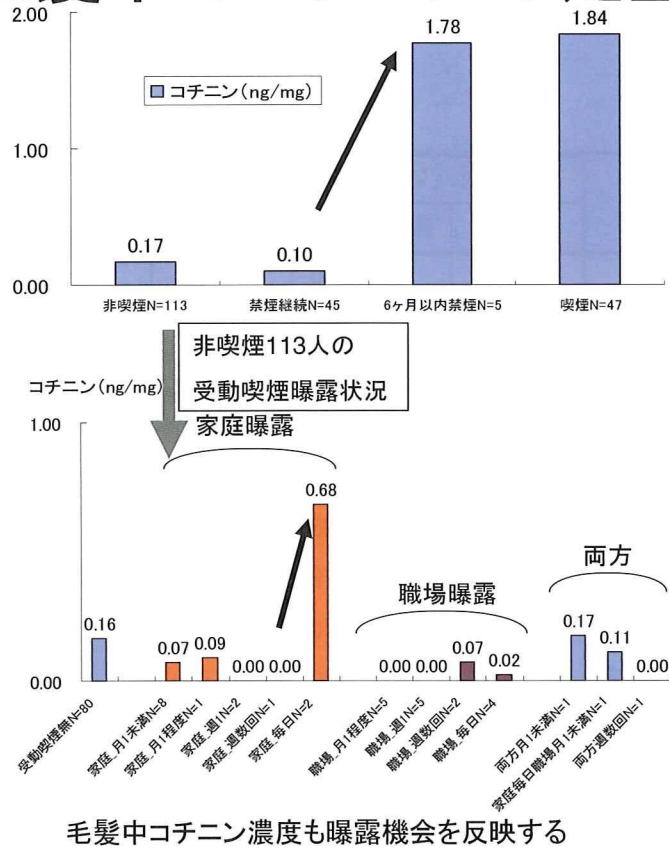


結果 毛髪中のコチニンの定量測定



非喫煙者の毛髪ニコチン値を従属変数とした重回帰分析(共変量は受動喫煙曝露頻度)

モデル		標準化されていない係数		標準化係数	t値	有意確率	Bの95.0%信頼区間	
		B	標準偏差誤差	ベータ			下限	上限
1	(定数)	-0.653	1.359		-0.481	.631	-3.337	2.031
	年齢	.025	.022	.095	1.127	.262	-.019	.069
	家庭受動喫煙頻度逆	.062	.231	.021	.269	.789	-.395	.519
	職場受動喫煙頻度逆	.772	.231	.281	3.346	.001	.316	1.227
	学校受動喫煙頻度逆	-0.094	.662	-.013	-.143	.887	-1.402	1.213
	飲食店受動喫煙頻度逆	.283	.253	.091	1.119	.265	-.216	.782
	遊技場受動喫煙頻度逆	.867	.512	.141	1.693	.093	-.145	1.879
	行政受動喫煙頻度逆	-0.956	.938	-.080	-1.019	.310	-2.809	.897
	保健医療受動喫煙頻度逆	.169	.888	.016	.190	.850	-1.586	1.923
	公共交通受動喫煙頻度逆	-0.585	.630	-.077	-.928	.355	-1.830	.660

職場での受動喫煙曝露頻度が上がると検査値が増大する。遊技場での曝露もその傾向がある(統計学的に有意ではないが)

家庭曝露の変数を毎日曝露の有無に変更

係数^a

モデル	標準化されていない係数		標準化係数	t値	有意確率	Bの95.0%信頼区間	
	B	標準偏差誤差	ベータ			下限	上限
1 (定数)	-.110	.260		-.425	.671	-.623	.402
年齢	.004	.004	.087	.984	.327	-.004	.013
職場受動喫煙頻度逆	.076	.044	.151	1.720	.087	-.011	.163
学校受動喫煙頻度逆	.002	.126	.001	.012	.990	-.248	.251
飲食店受動喫煙頻度逆	.021	.048	.037	.434	.665	-.074	.116
遊技場受動喫煙頻度逆	.045	.098	.041	.464	.643	-.148	.239
行政受動喫煙頻度逆	-.125	.179	-.057	-.699	.485	-.479	.229
保健医療受動喫煙頻度逆	-.027	.170	-.014	-.157	.876	-.362	.308
公共交通受動喫煙頻度逆	-.097	.120	-.070	-.806	.421	-.335	.141
家庭受動喫煙毎日有無	.320	.238	.109	1.348	.180	-.149	.790

職場での受動喫煙曝露頻度増大し家庭内での受動喫煙曝露があると検査値が上がる傾向にある（統計学的に有意ではないが）

現在喫煙者に限った解析

係数^a

モデル	標準化されていない係数		標準化係数	t値	有意確率	Bの95.0%信頼区間	
	B	標準偏差誤差	ベータ			下限	上限
1 (定数)	-15.178	16.299		-.931	.358	-48.204	17.848
年齢	.436	.261	.290	1.671	.103	-.093	.965
紙巻タバコ喫煙本数	.730	.402	.268	1.815	.078	-.085	1.544
家庭受動喫煙頻度逆	-.764	1.578	-.076	-.484	.631	-3.962	2.434
職場受動喫煙頻度逆	.698	1.551	.075	.450	.655	-2.444	3.840
学校受動喫煙頻度逆	-7.152	5.991	-.184	-1.194	.240	-19.292	4.988
飲食店受動喫煙頻度逆	-3.273	2.550	-.219	-1.283	.207	-8.441	1.895
遊技場受動喫煙頻度逆	5.265	2.629	.337	2.002	.053	-.062	10.593
保健医療受動喫煙頻度逆	5.903	24.537	.038	.241	.811	-43.813	55.619
公共交通受動喫煙頻度逆	.359	10.357	.006	.035	.973	-20.627	21.345

喫煙本数が増大すると、あるいは遊技場での曝露が多いと喫煙者の検査値が増大する傾向がある（統計学的に有意ではないが）

結論と課題

- わが国を代表する成人の喫煙実態と問題点が明らかになった＝今後の喫煙対策の方向性
- 受動喫煙のバイオマーカーの測定方法を確立し、多くのサンプルの測定が可能になった
- 受動喫煙のバイオマーカーの値は、調査票による調査内容を反映していた
- 詳細解析を実施するために、来年度は、今年度よりも規模の大きな全国調査と今年度対象者の継続調査が必要（特に女性の喫煙の解析）。＝受動喫煙防止対策の評価が可能

厚生労働省科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）
（分担）研究報告書

喫煙の暴露状態を反映する毛髪中ニコチンおよびコチニンの測定を用いた
集団スクリーニング研究

分担研究者 福島 哲仁 福島県立医科大学医学部衛生学・予防医学講座 教授
神田 秀幸 福島県立医科大学医学部衛生学・予防医学講座 講師

研究要旨

わが国において毛髪を用いた能動喫煙・受動喫煙の暴露状態を反映する測定方法を用いて、全国から集められた毛髪を用いて集団スクリーニング研究を行った。毛髪の採取、毛髪の運搬・保存方法、毛髪測定の方法（前処理から分析・測定まで）について、研究実施あるいは分析実施の条件など昨年度からさらに改良を加えた。また集団スクリーニング調査として、全国から集められた毛髪計 210 人分を喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者に分け、今回我々が開発した方法を実施した。

今回の研究で、毛髪中のニコチンおよびコチニンの検出にあたり、HPLC を用いた方法の中に、感度が高く測定できるカラムスイッチング法を導入した。喫煙者および受動喫煙者において、この方法で測定したところ、毛髪中のニコチンおよびコチニンが分離・検出できた。集団スクリーニングとして実施したところ、毛髪中のニコチン量は喫煙・受動喫煙・非喫煙の程度を反映する結果を示すことができた。毛髪中のコチニン量は能動喫煙者もしくは禁煙後 6 ヶ月未満と、それ以下の曝露の者を判別することができた。

このことから、喫煙の中～長期的な暴露状態を集団でモニタリングする際に、毛髪中のニコチンは曝露の程度を量的に反映する指標として、コチニンは曝露の定性評価として用いることが適していると考えられた。

研究協力者

森 弥生（福島県立医科大学医学部衛生学・
予防医学講座 医療技師）

A. 目的

喫煙の健康への悪影響が広く認識され、喫煙対策は公衆衛生上の主要な課題である。喫煙者の行う能動喫煙のみならず、周囲への受動喫煙によってもがんや虚血性心疾患等で死亡する危険性が高くなることが報告されており¹⁻²、喫煙対策は喫煙者だけでなく、非喫煙者であっても受動喫煙の可能性のある者やその環境に対しても行っていく必要がある。

こうした状況に関して、喫煙者あるいは受動喫煙者の生物学的モニタリングが重要である。これまで、尿や唾液からニコチンや、

その代謝産物であるコチニンが測定されてきた³⁻⁵。しかしこれらは喫煙の急性期を反映するものであり、受動喫煙を含めたタバコの煙の長期的曝露に関する生物学的モニタリング

として反映される生体試料に関する検討は極めて少ない。

毛髪は、その成長が 1 ヶ月あたり 1.1cm 程度と成長が遅く、長期にわたり頭部において成長をつづけるため、中～長期の生体曝露のモニタリングとして有用である^{6,7}。また、毛髪はもともと外界にさらされている死細胞であるために、それに含まれる物質は室温でも大変安定で、ニコチンとその代謝物質は室温に 1 週間保管しても 1 割より減ることはない⁶。今回この毛髪の特徴に着目し、毛髪中のニコチンや、その代謝産物であるコチニンを測定することにより、毛髪がタバコの煙の長期的曝露の生物学的モニタリング指標と考えた。これまで、毛髪中のニコチンおよびコチニンに関する測定は、欧米を中心に行われているが、わが国ではほとんどない⁸⁻¹⁰。

こうした背景から、わが国において毛髪を用いた能動喫煙・受動喫煙の暴露状態を反映する測定系の確立とその応用について当講座では検討を行ってきている。

昨年度は測定系の確立に取り組み、HPLC/UV 法にて、喫煙者を中心として毛髪中のニコチンおよびコチニンが分離・検出ができた。

今年度は、毛髪を用いた能動喫煙・受動喫煙の暴露状態を反映する測定系にさらに感度を上げるため、カラムスイッチング法を導入し改良を加えた。またその改良した方法を用いて、全国から集められた毛髪計210人分を喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者に分けて毛髪中のニコチン・コチニンを分析することにより、集団スクリーニングとしての有用性を検討した。

B. 研究方法

1. 毛髪の採取、運搬・保存方法

毛髪分析の文献^{6,8,11}を参考に昨年度考案した方法を用いて、対象者に安全かつ容易、さらに美容的外観を損ねないように採取を実施した。毛髪検体の運搬・保管に関しても昨年と同様の方法を用い、変質しないように工夫して実施した。

2. 毛髪測定の方法

2-1. 毛髪中のニコチンおよびコチニンの測定に影響を与える項目の質問票の活用

毛髪中のニコチンおよびコチニンは、毛髪中のメラニンと親和性があることが知られている^{6,12}。したがって、毛髪の状態が測定結果に与える影響が考えられる。そこで、昨年度開発した、毛髪に影響を与える項目を盛り込んだ質問票を毛髪採取時に配布・回収を行うことで、その影響を考慮することとした。

3-2. 毛髪中のニコチンおよびコチニンの主たる測定方法

当講座では、毛髪中のニコチンおよびコチニンの検出にHPLC/UV法を用いた。HPLC/UV法は、前処理が比較的簡便に行うことができ、広く用いられているGC/MSと同等の検出力を出せる方法である。よって本研究では、測定方法としてHPLC/UV法を採用した。測定機器は、日本分光株式会社製 高速液体クロマトグラフLC-2000Plus Seriesを用いた(図1)。

ただし、HPLC/UV法の際に、ニコチンの保持と感度の増強を考慮した。そのため、移動相のpHの調整を行ったことと、カラムスイッチング法を導入し高感度となるよう大容量注

入部品に組み替えを行った。

3-3. 前処理

毛髪分析の文献^{11,12}を参考にした、前処理方法にて行った。この方法は、毛髪表面の汚れの影響を無くし、測定結果が毛髪の一般性を反映する方法である。

前処理は、クロロホルムを用いた液-液抽出法である(図2)。共栓管に毛髪を入れ、3mlジククロロメタンで3回洗浄した。毛髪乾燥後、毛髪重量を測定した。毛髪重量は25~50mgを目安に以降の処理に用いた。これに60 μ gの内部標準液(N-エチルノルコチニン1000ng/ml)を加えた。1.6mlの2.5molの水酸化ナトリウム溶液を加えて、毛髪を完全に溶解させた。溶液を温度40 $^{\circ}$ C、2時間インキュベートした。その後、4mlクロロホルム/イソプロピルアルコール(95:5(v/v))を加え、ボルテックス混合を2分間行った。さらに、混合液を2000rpmで5分間遠心分離器にかけた。上清をドラフト内で吸引廃棄した。次いで、下層であるクロロホルム層に2mlの0.5molの塩酸を加え、ボルテックス混合を2分間行った。混合液を2000rpmで5分間遠心分離を行い、上層をピペットで別の共栓試験管に移した。その上層である水層に、0.4mlの2.5molの水酸化ナトリウム溶液を加えた。さらに、1.6mlの塩化アンモニウム飽和溶液(pH9.5)を加えた。その溶液に、4mlのクロロホルム/イソプロピルアルコール(95:5(v/v))を加え、ボルテックス混合を2分間行った。混合液を2000rpmで5分間遠心分離を行い、上層を吸引し廃棄し、下層のみを用いた。下層部であるクロロホルム層に窒素ガスを吹き付けて乾固させた。乾固させたものを600 μ lの500mmolのギ酸アンモニウム溶液に溶解させ、混合液を2000rpmで1分間遠心分離を行った。注射器を用いて、0.45 μ mフィルターを通した。その溶液を、大容量注入口を組み込んだHPLCに1回200 μ l注入することで測定を開始することとした。

3-4. 測定機器、分析カラム等

HPLCはPU-2089 低圧グラジェントポンプ、AS-2055 オートサンプラー、UV-2070 紫外可視検出器、ChromNAV データ処理装置(いずれも日本分光社製)、カラムオープン(Waters社製)を用いた。

HPLC カラムは2種類用いた。分析カラムとしては AscentisR ExpressC18 Column (スペルコ)、濃縮カラムとしては Develosil ODS-UG Column (野村化学) を使用した。

測定は、前述の機器を用い、濃縮カラムの移動相 (0.5ml/分) は 50mM ギ酸アンモニウム(pH9.0)とし、分析カラムの移動相 (0.4ml/分) は 50mM ギ酸アンモニウム(pH4.3) : アセトニトリル (96:4) とした。いずれの移動相も、流速 1 ml/min、カラムオープン温度 40°C、移動相の UV 検出波長 260nm で行った。標準試薬にはニコチン、コチニン (いずれも Sigma Aldrich 社)、内部標準物質には N - エチルノルコチニン (コスモバイオ社) を希釈して使用した。バッファ、溶離液などの試薬は和光純薬社製のものを用いた。

また、検出感度を上げるため、カラムスイッチング法を導入した (図 3)。カラムスイッチング法とは、短いプレ濃縮用カラムに試料溶液を多量に流し、その中に含まれる微量成分をトラップし、その後、適当な溶離液にてプレ濃縮カラムより成分を溶離し、分離カラムにて分離する方法である。この方法により、希釈試料を精度よく分析できるため、今回採用した。

提出された毛髪は室温で調査員が保管し、郵送にて当講座に届けられた。当講座では、すぐに-80°Cの冷凍庫で保存し、前述した前処理方法と測定方法により分析された。

3-5. 毛髪中ニコチンおよびコチニンの測定を用いた集団スクリーニング調査

対象者は、日本国内在住の成人を住民基本台帳に基づいて全国から無作為に抽出した 5,000 名のうち、調査員が毛髪及び爪の検体提供を依頼して同意の得られた方とした。調査の方法は、調査実施を委託した会社により調査地域を無作為に抽出し、調査員がその自治体の住民基本台帳を閲覧し、調査対象者を無作為に抽出した。調査協力に同意した調査対象者の自宅へ訪問面接調査 (質問紙調査) を実施した。調査に際して、対象者から調査に関する同意書を取り、調査を実施した。この際さらに、検体提出に同意した研究協力者の検体 (毛髪もしくは爪) をその場で採取し、連結匿名化して検査担当である福島県立医科大学衛生学・予防医学講座に送付し、タバコ成分およびその代謝物であるニコチン・コチ

ニンを測定した。

今年度の調査では、毛髪かつ/または爪の検体 344 人分が当講座に届いた。そのうち、毛髪が含まれる 250 人分について分析を行ったところ、40 人分で毛髪量不足や毛髪染料の影響等により十分な値を検出できず、解析には 210 人分の測定結果を用いた。

毛髪中のニコチンおよびコチニンの測定結果と、質問紙から得られた対象者の喫煙状況を突合せ、喫煙状況別のニコチンあるいはコチニン量の算術平均を算出し、各区分に属する集団の結果として用いた。喫煙状況は、喫煙/6ヶ月以内禁煙/禁煙継続(6ヶ月を越える)/非喫煙に大別した。さらに非喫煙者では、受動喫煙の程度別に区分した。受動喫煙の程度の区分は、家庭もしくは職場での曝露、およびその両方において、曝露の頻度に分けて区分した。

C. 研究結果

1. 毛髪中のニコチン・コチニンの測定に関する改良結果

毛髪中のニコチン・コチニンの測定は、HPLC/UV 法に、カラムスイッチング法を導入した方法を用いた (図 4)。図は、今回の測定法と昨年度に行ったフェニルカラムを用いた従来の測定方法にて、ほぼ同じ標準液 (従来測定法はカフェイン含、今回の測定法はカフェインを含まず、その他の成分は同一) を測定したときの比較結果である。従来の測定方法のニコチンの面積値と比べ、今回の測定方法ではニコチンの面積は 12.9 倍になった。コチニンの場合は、従来の測定方法より今回の測定方法で 16.9 倍となった。内部標準においても、従来の測定方法と比べ、今回の測定方法で 12.2 倍となった。また測定時間は、内部標準検出まで約 8 分間の短縮がみられた。

毛髪検体の状況であるが、白髪もしくは黒髪の差異については、結果に大きな差がみられず、分別しなかった。染髪をしている者については、ニコチン・コチニンの検出ができなかった。なぜなら、染色剤の成分と思われるピークが、ニコチンあるいはコチニン、もしくは内部標準物質のピークと重なり、同定ができなかったことによるためである。

2. 毛髪中ニコチンおよびコチニンの測定を用いた集団スクリーニング調査結果

2-1. 毛髪中ニコチンの測定を用いた集団スクリーニング結果

毛髪中ニコチン平均量は、喫煙状況別（喫煙/6ヶ月以内禁煙/禁煙継続（6ヶ月を越える）/非喫煙）の4区分においては、非喫煙で0.93ng/mg、禁煙継続で2.3ng/mg、6ヶ月以内禁煙で13.66ng/mg、喫煙で19.23ng/mgと、喫煙状態が毛髪中のニコチン量に反映する結果が得られた（図5）。

さらに非喫煙者のうち受動喫煙の程度別区分における毛髪中ニコチン平均量は、家庭および職場の両方で曝露がある人は曝露の頻度が多いほど毛髪中ニコチン平均量が増加した。また、職場のみでの受動喫煙曝露がある人においても、同様に曝露の頻度が多いほど毛髪中ニコチン平均量が増加した。家庭のみでの受動喫煙曝露がある人のうち、毎日曝露がある人は他の頻度に比べ毛髪中ニコチン平均量が高かった。（図6）。

2-2. 毛髪中コチニンの測定を用いた集団スクリーニング結果

毛髪中コチニン平均量は、喫煙状況別（喫煙/6ヶ月以内禁煙/禁煙継続（6ヶ月を越える）/非喫煙）の4区分において、非喫煙で0.17ng/mg、禁煙継続で0.10ng/mgであったが、6ヶ月以内禁煙で1.78ng/mg、喫煙で1.84ng/mgと、喫煙状態が毛髪中のコチニン量に反映する結果が得られた（図7）。

さらに非喫煙者のうち受動喫煙の程度別区分における毛髪中コチニン平均量は、家庭および職場の両方で曝露がある人、あるいは職場のみでの受動喫煙曝露がある人においては、明確な増加はみられなかった。しかし家庭のみでの受動喫煙曝露がある人のうち、毎日曝露がある人は他の頻度に比べ毛髪中コチニン平均量が突出して高かった（図8）。

D. 考察

今回の研究で、毛髪中のニコチンおよびコチニンの検出にあたり、HPLC/UV法にカラムスイッチング法を導入し、高い感度で毛髪中のニコチンおよびコチニンを検出する方法を確立した。また、この方法を用いて全国から無作為に抽出された一般住民集団において毛髪中のニコチンおよびコチニンを測定したと

ころ、毛髪中のニコチン・コチニンが分離・検出できることが明らかとなった。さらに、毛髪中のニコチン量は喫煙・禁煙・非喫煙の程度、および非喫煙者においては受動喫煙曝露の頻度を反映する結果を示すことができた。毛髪中のコチニン量は能動喫煙者もしくは禁煙後6ヶ月未満と、それ以下の曝露の者を判別することができた。

喫煙者あるいは受動喫煙者の生物学的モニタリングが重要である。特に我々は、毛髪に着目して、受動喫煙を含めたタバコの煙の長期的曝露に関する生物学的モニタリングを試みた。急性期のニコチン曝露を反映しやすい血液、尿、唾液に比べ、毛髪は安定的な検体である。しかし、毛髪中に存在するニコチン・コチニンは微量であり、その検出にはより高い精度が求められる。化学分析では、HPLC法が普及している方法である。この方法の特徴は、他の方法と比較して前処理が簡便であるが、感度と特異度の点で十分でないとされてきた。しかし、これまでの我々の検討ではHPLC/UV法にすることで、ノイズレベルの低い検出器や理論段数が高く高速分析が可能なカラムを選択することにより、以前より優れた特異度で毛髪中のニコチンやコチニンの検出が可能であることを昨年度明らかにした。しかし、スクリーニングに応用させるため、より高い精度での検出を今年度検討した。そのため、ニコチンの保持と感度の増強を考慮した。これらに対して、移動相のpHの調整を行ったことと、カラムスイッチング法を導入し高感度となるよう大容量注入部品に組み替えを行うことで対応した。結果、いずれの物質でも、感度が10倍以上高まったのは、今回fused-core構造のカラムを使用したこと、カラムスイッチング法により大容量注入が可能となったことが考えられた。結果の比較で留意すべき点としては、インジェクション量がちがうため、従来の測定方法と単純に比較はできない可能性がある。しかし、検体から、注入の大容量である200 μ lの抽出液を得ることは難しくなく、抽出液を有効に使った結果として高い感度が得られる意義は大きい。

海外での既存研究^{6,13}で、非能動喫煙かつ非受動喫煙者で我々の結果と同程度（ニコチンで1ng/mg前後、コチニンで0.2ng/mg前後）の毛髪中のニコチンやコチニン濃度の検出が報告されており、今回導入した方法の検

出精度は高いと思われる。

また今回行った毛髪中ニコチンおよびコチニンの測定を用いた集団スクリーニング調査 210 人の結果から、毛髪中のニコチン量は喫煙曝露の頻度を反映し、毛髪中のコチニン量は能動喫煙者もしくは禁煙後 6 ヶ月未満と、それ以下の曝露の者を判別することができた。毛髪中のニコチンは、喫煙者の習慣的なニコチンの曝露を量-影響関係として示す指標になり得ると考えられた。従って毛髪中のニコチンは、喫煙状態あるいは受動喫煙状態を量的に反映する指標と考えられた。毛髪中のニコチンによって、対象者の喫煙曝露状態がある程度推測されるようにするためには今後さらに検討を要するが、この関係を明らかにしたことは特筆すべき事項である。一方、毛髪中のコチニンは、喫煙者の習慣的なニコチンの曝露を受け、生体内代謝経路を経た結果としての証であると考えられた。従って毛髪中のコチニンは、現在およびそれに近い状態の喫煙状態を反映する、閾値をもつような指標と考えられた。喫煙/非喫煙を区分する明確な閾値を示すには今後さらに検討を要するが、閾値の存在の可能性を示唆した結果として今回の成果の意義は大きいと思われる。

今回本件に関するいくつか研究の限界がみられた。まず、受動喫煙の状況は、場所（家庭か職場）と頻度だけで区分した。受動喫煙の曝露の程度（曝露量）は把握できていない。しかしながら、場所と頻度だけで、毛髪中のニコチンは量-影響関係を示したことから、正確な曝露量がわからなくとも関係性が明らかになったことから大きな限界となりえないかもしれない。次に、非喫煙者のうち、受動喫煙の機会を持つ対象が、各区分において少なかった。本研究で示唆した結果から、喫煙あるいは受動喫煙曝露の普遍性を証明したとまだいえない。今後対象者数を拡大していくことが必要と思われる。また、非喫煙者や受動喫煙無の対象からも、毛髪中のニコチンやコチニンが検出された。各区分の集団としての平均値を用いたことや、自己申告による非喫煙者や受動喫煙無を区分したことによることから、ある程度の数値を示したことが考えられる。微量な点での喫煙以外の影響も今後考慮しなければならないかもしれない。

一方、本研究の成果として、開発した方法を採用することによって、喫煙の中～長期的な曝露状態を集団でモニタリングする際に、毛髪中のニコチンは曝露の程度を量的に反映する指標として、コチニンは曝露の定性評価として用いることが適している可能性が示唆された。

E. 結論

本研究は、喫煙の曝露状態を反映する毛髪中ニコチンおよびコチニンの測定を用いた集団スクリーニング研究である。今回の研究結果から、喫煙の中～長期的な曝露状態を集団でモニタリングする際に、毛髪中のニコチンは曝露の程度を量的に反映する指標として、コチニンは曝露の定性評価として用いることが適していると考えられた。これは、喫煙に対する集団スクリーニングとして、定量かつ定性の喫煙曝露の中～長期的な評価指標を示すことが確認できたことは意義深い。今後、対象者を増やし、本研究結果の普遍性を確認していく必要があると考えられた。

参考文献

1. 厚生省編. 喫煙と健康 喫煙と健康問題に関する報告書第 2 版. 東京: 健康体力づくり事業財団, 1993; 205.
2. Whincup PH, Gilg JA, Emberson JR, Jarvis MJ, Feyerabend C, Bryant A, Walker M, Cook DG. Passive smoking and risk of coronary heart disease and stroke: prospective study with cotinine measurement. *BMJ*. 2004;24;329(7459):200-5.
3. 東栄吾, 指熊文子, 井谷舜郎ら. ガスクロマトグラフィーによる尿中ニコチン, コチニンの同時定量法について. *衛生化学*. 32(4), 276-280, 1986.
4. Heinrich J, Holscher B, Seiwert M, Carty CL, Merkel G, Schulz C. Nicotine and cotinine in adults' urine: The German Environmental Survey 1998. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 15(1), 74-80, 2005

5. 山本蒔子, 柴田佳子, 麦倉正敏, 五十嵐孝之, 佐藤研. コチニン測定による正しい喫煙状況の把握. 交通医学 54(5-6), 142-146, 2000.

6. Al-Delaimy WK. Hair as a biomarker for exposure to tobacco smoke. Tob Control. 11(3):176-82, 2002.

7. Klein J, Blanchette P, Koren G. Assessing nicotine metabolism in pregnancy--a novel approach using hair analysis. Forensic Sci Int. 145(2-3):191-4, 2004.

8. Pichini S, Altieri I, Pellegrini M, Pacifici R, Zuccaro P. The analysis of nicotine in infants' hair for measuring exposure to environmental tobacco smoke. Forensic Sci Int. 84(1-3):253-8, 1997.

9. Al-Delaimy WK, Crane J, Woodward A. Is the hair nicotine level a more accurate biomarker of environmental tobacco smoke exposure than urine cotinine? J Epidemiol Community Health. 56(1):66-71, 2002.

10. Fujii Junko, Higashi Akimasa, Matsuda Ichiro, Nakano Masahiro. Measurement of Concentrations of Nicotine and Cotinine in Maternal and Neonatal Hair. 臨床薬理. 32(4), 119-125, 2001.

11. 中村洋監修. 分析試料前処理ハンドブック. 東京: 丸善株式会社, 2003; 615.

12. Mizuno A, Uematsu T, Oshima A, Nakamura M, Nakashima M. Analysis of nicotine content of hair for assessing individual cigarette-smoking behavior. Ther Drug Monit. 15(2):99-104, 1993.

13. Florescu A, Ferrence R, Einarson TR, Selby P, Kramer M, Woodruff S, Grossman L, Rankin A, Jacqz-Aigrain E, Koren G. Reference values for hair cotinine as a biomarker of active and passive smoking in women of reproductive age, pregnant women, children, and neonates: systematic review and meta-analysis. Ther Drug Monit. 29(4):437-46, 2007.

F. 健康危機情報
特記すべきものなし

G. 研究発表
特記すべきものなし

H. 知的所有権の取得状況
特記すべきものなし

図 1.

毛髪中のニコチン・コチニンの測定方法 HPLC/UV



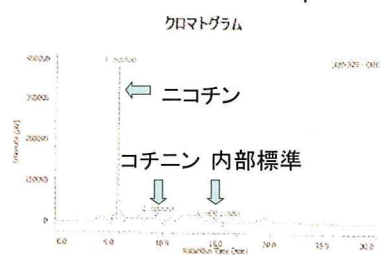
1. 検体の保存(-80°C)



3. HPLC/UV法による測定
(日本分光LC-2000 plus)



2. 抽出作業(クロロホルムによる液液抽出)



4. 測定結果(クロマトグラム)

図 2

毛髪中のニコチン・コチニン濃度測定法 毛髪の前処理フローチャート

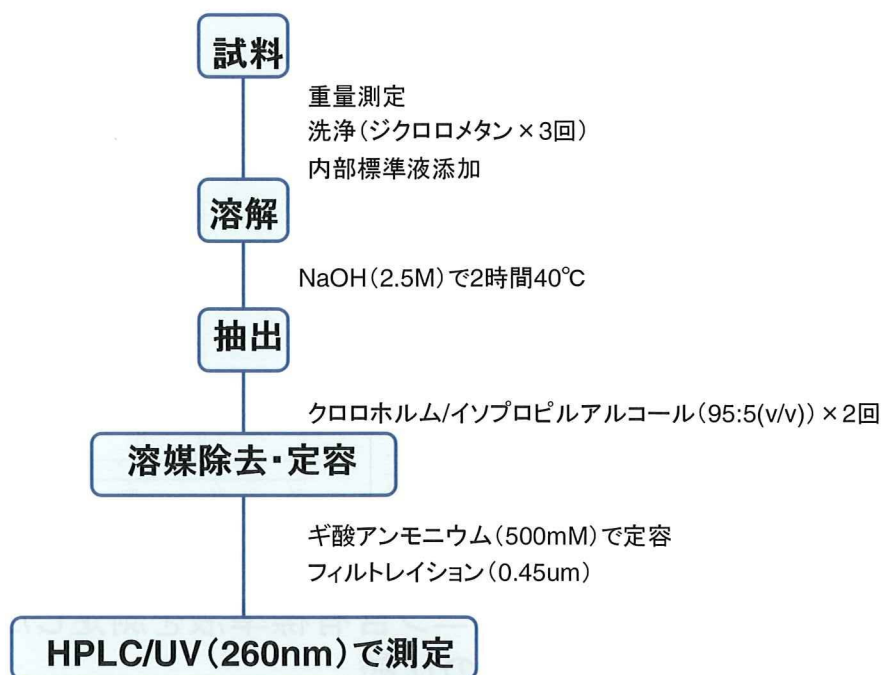
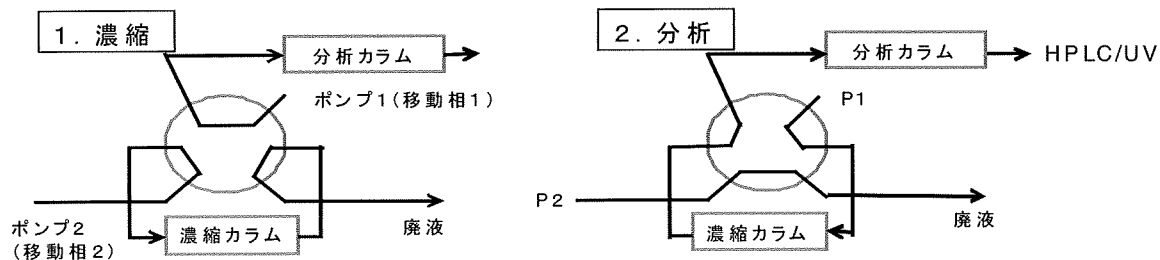


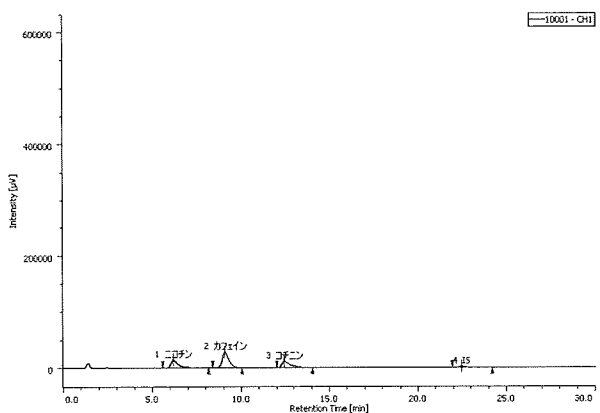
図 3. 毛髪中のニコチン・コチニン濃度測定法 カラムスイッチング法（自動プレカラム濃縮）

毛髪中に含まれる微量成分を精度よく分析するため、試料の大量注入、および成分濃縮を行う必要があり、カラムスイッチング法（自動プレカラム濃縮）を利用した。



- 分析条件
- 濃縮カラム: Develosil ODS-UG Column (野村化学)
 - 分析カラム: AscentisR ExpressC18 Column (スペルコ)
 - 温度: 40°C
 - 移動相 1: 50mM ギ酸アンモニウム (pH4.3): アセトニトリル/96:4
 - 移動相 2: 50mM ギ酸アンモニウム (pH9.0)
 - 試料注入量: 200ul
 - 流量: 0.4ml/min
 - 検出: UV (260nm)
 - 濃縮時間: 3.5分
 - 測定試料: 毛髪抽出液

従来の測定法



今回の測定法

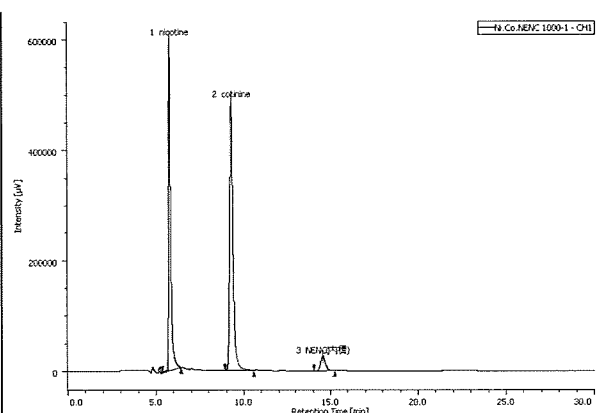


図 4. 同じニコチン・コチニン含有標準液を測定した場合の
従来方法と今回の方法の比較

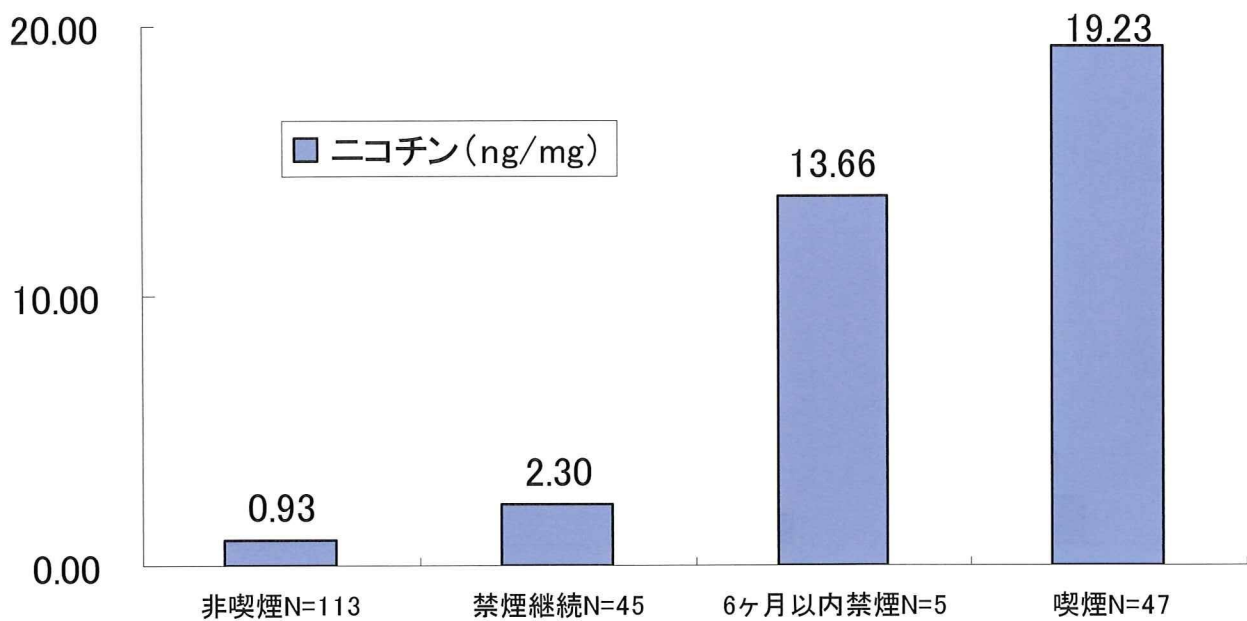


図 5. 喫煙区分毎の毛髪中含有ニコチン平均量

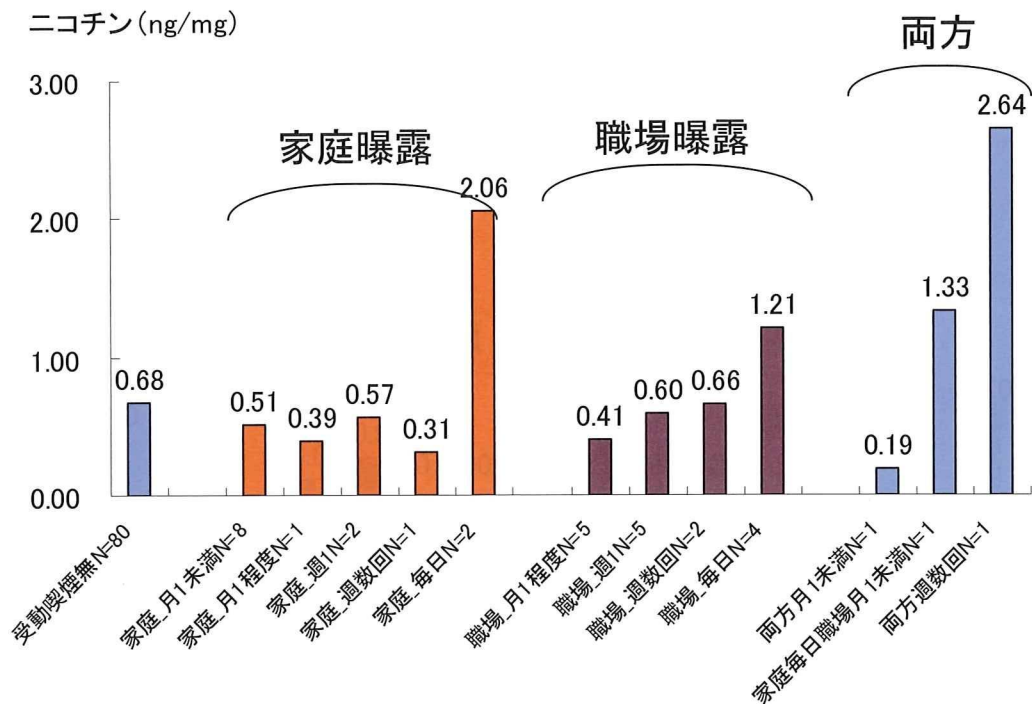


図 6. 非喫煙者 113 人における受動喫煙区分毎の毛髪中含有ニコチン平均量

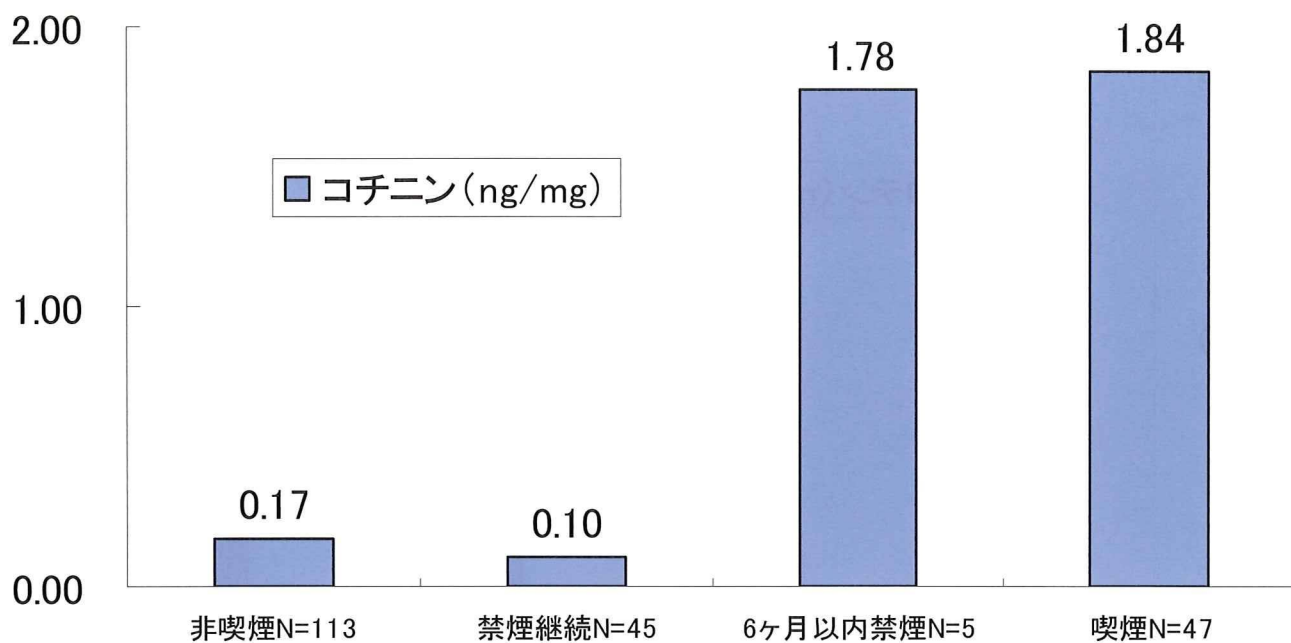


図 7. 喫煙区分毎の毛髪中含有コチニン平均量

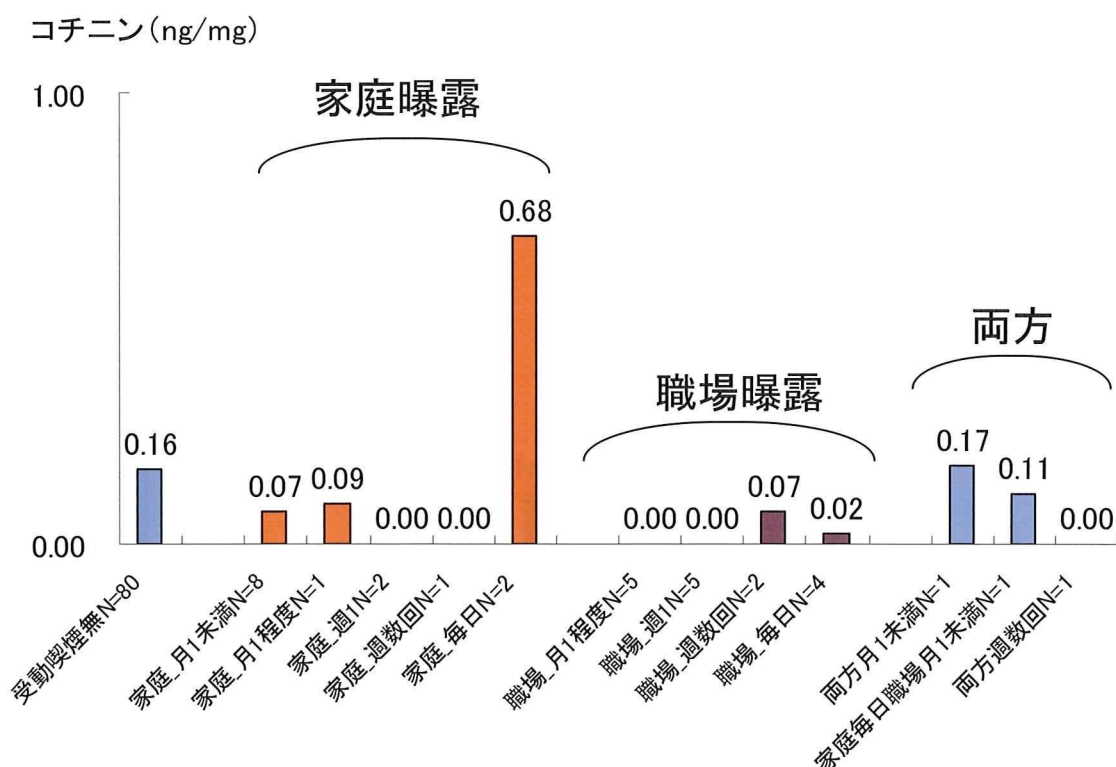


図 8. 非喫煙者 113 人における受動喫煙区分毎の毛髪中含有コチニン平均量

調查票一式

健康と生活習慣に関する調査

2009年11月

〈調査企画〉 わが国の成人の喫煙行動及び受動喫煙曝露
の実態に関する全国調査研究班

〈調査実施〉 社団法人 中央調査社

支局番号		地点番号			対象番号		点検

1. 健康状態について

Q1〔回答票1〕あなたは、現在の自分の健康状態をどう思っていますか。この中から1つだけお答えください。

- | | |
|-----------------|-------------|
| 1 (ア) とても良い | 4 (エ) 悪い |
| 2 (イ) 良い | 5 (オ) とても悪い |
| 3 (ウ) どちらとも言えない | 6 わからない |

Q2〔回答票2〕あなたは、現在の自分の健康状態に満足していますか。この中から1つだけお答えください。

- | | |
|-----------------|-------------------|
| 1 (ア) とても満足している | 4 (エ) あまり満足していない |
| 2 (イ) 満足している | 5 (オ) まったく満足していない |
| 3 (ウ) どちらとも言えない | 6 わからない |

Q3〔回答票3〕過去1年間に、かかった病気をお答えください。

現在かかっている病気も含めて、当てはまるものすべてあげてください。(M. A.)

- 1 (ア) 呼吸器系疾患 (かぜ、気管支炎、COPD (肺気腫等の慢性閉塞性肺疾患) など)
- 2 (イ) 高血圧
- 3 (ウ) 高脂血症
- 4 (エ) 糖尿病
- 5 (オ) 狭心症その他の心臓疾患
- 6 (カ) 胃・十二指腸潰瘍
- 7 (キ) 肝炎、肝硬変
- 8 (ク) うつ、統合失調症、ストレス症候群等の精神障害
- 9 (ケ) 更年期疾患その他 婦人科疾患
- 10 (コ) ムシ歯、歯周炎などの歯科疾患
- 11 (サ) その他の疾患 ()
- 12 (シ) 過去1年間にはない
- 13 わからない

(次ページSQ1へ)

(次ページQ4へ)

【Q3で「1（ア）」から「11（サ）」と答えた方に】

SQ1 【回答票3】今お答えいただいた病気の中で、過去1年間に受診したものをお答えください。
現在受診している病気を含めて、当てはまるものすべてあげてください。(M.A.)

- 1 (ア) 呼吸器系疾患 (かぜ、気管支炎、COPD (肺気腫等の慢性閉塞性肺疾患) など)
- 2 (イ) 高血圧
- 3 (ウ) 高脂血症
- 4 (エ) 糖尿病
- 5 (オ) 狭心症その他の心臓疾患
- 6 (カ) 胃・十二指腸潰瘍
- 7 (キ) 肝炎、肝硬変
- 8 (ク) うつ、統合失調症、ストレス症候群等の精神障害
- 9 (ケ) 更年期疾患その他 婦人科疾患
- 10 (コ) ムシ歯、歯周炎などの歯科疾患
- 11 (サ) その他の疾患 ()
- 12 (シ) 過去1年間にはない
- 13 わからない



【SQ1で「1（ア）」から「11（サ）」と答えた方に】

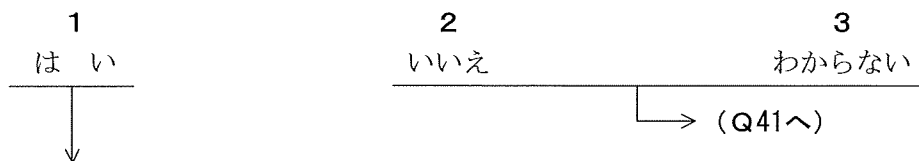
SQ2 今お答えいただいた受診の際に、医師から禁煙をすすめられましたか。

- | | |
|--------|-----------|
| 1 | 2 |
| すすめられた | すすめられなかった |

2. 喫煙状況について

【全員の方に聞く】

Q4 あなたは今までに、タバコを1本でも吸いましたか (かみタバコ、かぎタバコ、パイプなどもふくめて)。



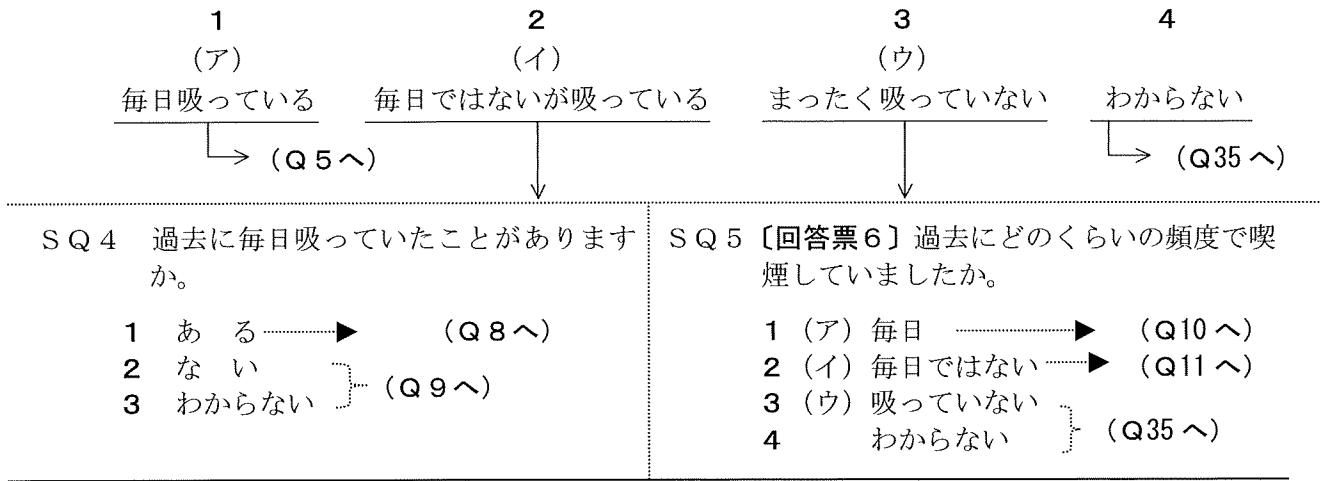
SQ1 好奇心でちょっとだけ吸ってみたのは別にして、あなたがたばこを吸い始めたのは何歳の時ですか。

<input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	歳ごろ	X わからない
--	-----	---------

SQ2 【回答票4】あなたは、タスポを持っていますか。使っていますか。この中から1つだけお答えください。

- 1 (ア) 持っていない
- 2 (イ) 持っているが使わない
- 3 (ウ) 時々使う
- 4 (エ) よく使う
- 5 (オ) 存在を知らない・わからない

S Q 3 【回答票5】 現在タバコを吸っていますか。



【Q5は、現在毎日吸っている人(Q4SQ3「1(ア)」と答えた人に)】

Q5 毎日、吸うようになったのは何歳ですか。

		歳
└─>		

X わからない

└─> (Q6へ)

S Q 1 毎日、吸うようになったのは何年前ですか。

		年前
--	--	----

X わからない

Q6 【回答票7】 1日平均どのくらいの本数を吸いますか。ここにあげるタバコそれぞれについてお答えください。毎日吸わないものは1日あたりの平均でお答えください。

(ア) 紙巻タバコ (普通のタバコ)	1日		本	X 吸わない
(イ) 葉巻	1日		本	X 吸わない
(ウ) パイプ	1日		本	X 吸わない
(エ) その他のタイプ (煙を吸うもの)	1日		本	X 吸わない

Q7 【回答票8】 朝起きたとき、起床後どのくらいの時間でタバコを吸いますか。

- 1 (ア) 5分以内
- 2 (イ) 6～30分のうち
- 3 (ウ) 31分から60分のうち
- 4 (エ) 60分以降
- 5 わからない

(次はQ12へ進む)

【Q8は、過去に毎日吸っていた人（Q4SQ4「1ある」と答えた人に）】

Q8 毎日、吸うようになったのは何歳ですか。

歳
↓

X わからない
↳ (Q9へ)

SQ1 毎日、吸うようになったのは何年前ですか。

年前

X わからない

Q9【回答票9】1日平均どのくらいの本数を吸いますか。ここにあげるタバコそれぞれについてお答えください。この30日間の1日平均をお答えください。

(ア) 紙巻タバコ (普通のタバコ)

1日 本 X 吸わない

(イ) 葉巻

1日 本 X 吸わない

(ウ) パイプ

1日 本 X 吸わない

(エ) その他のタイプ (煙を吸うもの)

1日 本 X 吸わない

(次はQ12へ進む)

【Q10は現在吸っていないが過去に毎日吸っていた人（Q4SQ5「1（ア）」と答えた人に）】

Q10 毎日、吸うようになったのは何歳ですか。

歳
↓

X わからない
↳ (Q11へ)

SQ1 毎日、吸うようになったのは何年前ですか。

年前

X わからない

Q11 タバコを吸うのをやめてから、どのくらいの期間がたっていますか。(何年、何か月、何週間、何日などでお答えください)

1 年

4 日

2 か月

5 1日未満

3 週間

6 わからない

タバコの購入について

Q12 いちばん最近、あなたがタバコを買ったとき、何本買いましたか。

--	--	--	--

 本

X わからない

Q13 それは、合計でいくらでしたか。

--	--	--	--

 円

X わからない

Q14 いちばん最近、あなたが買ったタバコの銘柄名を正確にお答えください。わかれば、ニコチン量とタール量をお答えください。

タバコの名前：

X わからない

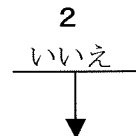
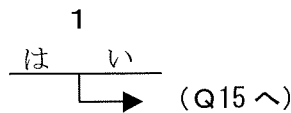
ニコチン量		.		mg
-------	--	---	--	----

X わからない

タール量			mg
------	--	--	----

X わからない

SQ1. 今、お答えいただいたタバコの銘柄は、この30日間あなたが一番良く吸った銘柄ですか。



SQ2. それが、この30日間あなたが一番良く吸った銘柄でないなら、一番良く吸った銘柄をお答えください。

タバコの名前：

Q15 [回答票 10] いちばん最近、あなたがタバコを買った方法をお答えください。

- 1 (ア) コンビニエンスストアで買った
- 2 (イ) スーパーマーケット、ガソリンスタンド等の店で買った
- 3 (ウ) 自動販売機で買った
- 4 (エ) タバコ屋で買った
- 5 (オ) インターネット等を介して通信販売で買った
- 6 (カ) 誰かからもらった
- 7 その他の方法で ()
- 8 わからない

Q16 [回答票 10] この30日の間で、あなたが、主にタバコを入手する方法をお答えください。

- 1 (ア) コンビニエンスストアで買った
- 2 (イ) スーパーマーケット、ガソリンスタンド等の店で買った
- 3 (ウ) 自動販売機で買った
- 4 (エ) タバコ屋で買った
- 5 (オ) インターネット等を介して通信販売で買った
- 6 (カ) 誰かからもらった
- 7 その他の方法で ()
- 8 30日の間にタバコを入手していない
- 9 わからない

Q17〔回答票 11〕もしあなたが吸っているタバコの値段が1箱20円値上がり(例:300円→320円)したら、あなたはどうしますか。この中から1つだけお答えください。

- 1 (ア) 同じ銘柄で、同じ本数を吸い続ける
- 2 (イ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、同じ本数を吸い続ける
- 3 (ウ) 同じ銘柄で、吸う本数を減らす
- 4 (エ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、本数を減らす
- 5 (オ) タバコをやめる
- 6 わからない

Q18〔回答票 12〕もしあなたが吸っているタバコの値段が1箱2倍(例:300円→600円)になったら、あなたはどうしますか。この中から1つだけお答えください。

- 1 (ア) 同じ銘柄で、同じ本数を吸い続ける
- 2 (イ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、同じ本数を吸い続ける
- 3 (ウ) 同じ銘柄で、吸う本数を減らす
- 4 (エ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、本数を減らす
- 5 (オ) タバコをやめる
- 6 わからない

Q19〔回答票 13〕もしあなたが吸っているタバコの値段が1箱1000円になったら、あなたはどうしますか。この中から1つだけお答えください。

- 1 (ア) 同じ銘柄で、同じ本数を吸い続ける
- 2 (イ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、同じ本数を吸い続ける
- 3 (ウ) 同じ銘柄で、吸う本数を減らす
- 4 (エ) 今吸っている銘柄より安い銘柄に変え、本数を減らす
- 5 (オ) タバコをやめる
- 6 わからない

Q20 あなたの吸っているタバコの値段が、1箱いくらぐらいであればやめると思えますか。

1箱

--	--	--	--	--

円くらい

X わからない

喫煙の習慣性について

Q21 喫煙を禁じられている場所(図書館、映画館、寺院など)で禁煙することが難しいですか。

- 1 はい
- 2 いいえ

Q22 1日の喫煙の中で、どちらが一番やめにくいですか。

- 1 朝、最初の1本
- 2 その他(具体的に)
- 3 わからない

Q23 1日に何本タバコを吸っていますか。

- | | |
|----------|---------|
| 1 10本以下 | 4 31本以上 |
| 2 11~20本 | 5 わからない |
| 3 21~30本 | |