

201118005B

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
有害化学物質等の国際標準化試験法及び
受動喫煙対策を主軸とした革新的ながん予防に関する研究
(H21-3次がん一般-005)

平成21年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 稲葉 洋平

平成24(2012)年3月

目 次

I. 総合研究報告

たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質等の国際標準化試験法及び
受動喫煙対策を主軸とした革新的ながん予防に関する研究 …………… 1

稲葉洋平

(資料) 国産たばこ 10 銘柄の主流煙中各種化合物の測定結果

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 …………… 39

I. 総合研究報告

たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質等の国際標準化試験法及び受動喫煙対策を主軸とした
革新的ながん予防に関する研究

研究代表者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

本研究は、喫煙者及び受動喫煙者へのたばこ煙による影響を評価する手法として生体試料中に含有されるたばこ由来の曝露マーカー及び影響マーカーの測定法を開発するとともに、たばこ煙中の粒子・ガスに含有される有害化学物質の測定法開発及び定量を行う。さらに、WHO たばこ研究室ネットワーク (TobLabNet) に参加することにより国際協力研究に貢献でき、加えて、国内のたばこ対策・がん予防に資する科学的情報を発信し、総合的たばこな研究の推進を行なうことを目的とした。これまでの研究成果で得られた重要なことの一つは、日本人喫煙者の喫煙行動は、「代償性補償喫煙行動」を含めカナダ保健省が提案する喫煙法 (HCI 法) に近いことを示唆したことである。また、現在、本研究班が参画している TobLabNet は、FCTC の第 9, 10 条をもとに設立されており、最終的には「たばこ外箱表示にタール・ニコチン以外の有害化学物質を表示する」ことなどを目的として継続的に主流煙中の各有害化学物質を測定している。これまでの全研究成果と TobLabNet の方針を考えると今後、たばこ外箱表示量は、HCI 法によって捕集・測定された値になる可能性は十分にある。さらに本研究班では、一旦高濃度のカルボニル化合物を、カーボンモレキュラーシーブを充填したカートリッジで捕集し、アセトニトリルで溶出を行った後、溶出液に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液を加え、誘導体化する方法 (CX-DNPH 法) を開発し、TobLabNet に新たなカルボニル化合物の分析法として提案している。3年間を通じて、国産たばこ 21 銘柄の各種化学物質の測定を行い、特に 2010 年ウルグアイで開催された COP4 において採択された第 9, 10 条の暫定ガイドラインにある「たばこ製品の魅力を高める添加物の使用を制限または禁止するべき」に該当すると考えられるメンソールたばこ 11 銘柄の主流煙中タール、ニコチン、一酸化炭素そして変異原性の測定を重点的に実施した。また、紙巻たばこばかりではなく、社会問題となった電子たばこ、個人輸入たばこ、そして薬用吸煙剤であるネオシーダーの有害化学物質の分析も行った。さらに、ニコチン代謝物の 3 化合物 (ニコチン、コチニン、3-ヒドロキシコチニン) や 1-ヒドロキシピレン、そして喫煙の影響マーカーとして 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの測定法を確立し、喫煙者への適用を実施した。これら上記測定法を適用して喫煙者の生活習慣が禁煙時の体の状態に及ぼす影響に関する研究も並行して実施している。加えて、受動喫煙評価の一環として、「分煙施設の室内環境と受動喫煙状況」「受動喫煙が両親の喫煙状況に与える影響」についての検討も行った。以上の全研究から、TobLabNet での活動は高く評価され、ホルムアルデヒド等の測定においてはリーダーラボとしての活動が求められた。たばこ主流煙には、各種有害化学物質が発生することが確認され、その曝露量は、喫煙行動、たばこ銘柄によって変動することが分かった。今後、たばこ外箱表示に有害化学物質量を表示義務化などの対応が必要であると考えられた。このように FCTC 第 9, 10 条に基づいたたばこ対策研究の更なる推進が喫煙者を含めた国民のがん予防、喫煙率低下につながると考えている。

研究分担者	所属施設名
稲葉洋平	国立保健医療科学院
遠藤 治	麻布大学
後藤純雄	麻布大学
鈴木 元	国際医療福祉大学
樺田尚樹	国立保健医療科学院
緒方裕光	国立保健医療科学院
内山茂久	国立保健医療科学院
井埜利博	群馬パース大学
三嵩 雄	札幌市衛生研究所
竹田真由	天理医療大学
大庭志野	国立保健医療科学院
平成 21 年度	
吉見逸郎	東京都福祉保健局多摩府中保健所
矢野公一	札幌市保健所

研究協力者	所属施設名
船渡忠男	東北福祉大学
水嶋好清	札幌市衛生研究所
花井潤師	札幌市衛生研究所
立野英嗣	札幌市衛生研究所
大久保忠利	国立保健医療科学院
富澤卓弥	東京薬科大学
杉田和俊	三菱化学アナリテック
大島讓二	久保島クリニック
小林敏宏	こばやし小児科
渋谷友幸	しぶや医院
瀬山邦明	順天堂大学医学部
豊島慶弥	医療法人長慶会 豊島医院
平成 21 年度	
福士 勝	札幌市衛生研究所
大谷哲也	国立成育医療センター

A. 研究目的

2011 年の Lancet 「日本特集号」の中で、日本の予防可能な最大の危険因子は、「喫煙」であると示された。現在、我が国は健康日本 21, 健康増進法、

がん対策基本法そして「たばこ規制枠組条約 (FCTC)」を批准し、それにしたがってたばこ対策を進めている。しかし、がん対策推進基本計画の中間報告では、「国民が喫煙の及ぼす健康影響について十分に認識することが重要」と指摘された。また、近年、喫煙とがんの関連性についての認識が浸透し始めている。一方で、国産たばこの煙及びたばこ葉中の発がん物質をはじめとする有害化学物質量のデータは少なく、日本人喫煙者や受動喫煙者の曝露量の実態報告も少ない。市場では、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が、市販されているたばこのタール・ニコチン表示量は、International Organization for Standardization (ISO) が定める ISO 法で測定された結果であり、実際の喫煙者及び受動喫煙者の曝露状況を示したものではない。

WHO は、FCTC の第 9 条「たばこ製品の含有物に関する規制」と第 10 条「たばこ製品についての情報の開示に関する規制」に基づいてたばこ煙の有害化学物質、たばこ葉中の含有化学物質の測定法の確立を目的としたたばこ研究室ネットワーク (TobLabNet) を組織している。TobLabNet では、主流煙の測定法確立と同時に喫煙法の検討も行っている。現在、カナダ保健省が提案する喫煙法 (HCI 法) が比較的ヒトの喫煙行動に近いと考えられ、評価が進められている。本研究班は、FCTC の第 9, 10 条のガイドラインを作成する TobLabNet に参加し、たばこ葉及びたばこ主流煙に含まれる有害化学物質測定法の開発と FCTC 参加各国の技術向上を推進している。先行研究において喫煙に関する生体への有害性は認められており、有害化学物質の存在も確認されているにも係らず、食品、医薬品さらには農薬と同様の有害化学物質の表示義務及び排出規制がたばこに対しては全く行われていない。また、実際に我が国では、国産たばこの煙、たばこ葉中の発がん物質をはじめとする有

害化学物質量のデータが少なく、喫煙者、受動喫煙者の有害化学物質曝露量の実態報告も少数に留まる現状である。このため、国産たばこ有害物質含有量や日本人喫煙者・受動喫煙者の曝露実態からの健康影響について十分な情報提供することが難しい状況である。

そこで本研究では、第一に、TobLabNet に参加することで、たばこに関連する有害化学物質の測定を可能とした。第二に TobLabNet 参加によって習得したたばこの測定法と研究班で確立した測定法を用いて国産たばこ銘柄の有害化学物質の測定を行った。第三に喫煙者及び受動喫煙者へのたばこ煙による影響を評価する手法として生体試料中に含有されるたばこ由来の曝露マーカー及び影響マーカーの測定法を開発し、生体への影響評価を行なった。そして最後に第四としてたばこ製品と生体影響の研究を推進することで国内のたばこ対策・がん予防に資する科学的情報を発信し、総合的な研究の推進を行なった。

以上本研究は、上述の 4 本柱を中心に推進した。

B. 研究方法

1. TobLabNet のたばこ成分の分析

たばこ試料: WHO TobLabNet のプログラムに従った 5 銘柄をたばこ試料として評価を行った。

たばこの恒湿化: たばこは、ISO3402 に準じて試験前に 48 時間-10 日間、温度 22 ± 2 °C、湿度 $60 \pm 3\%$ で恒湿化を行った。恒湿化されたたばこを各ラウンドロビン研究に使用した。

たばこ主流煙の捕集: たばこ主流煙の捕集には、ISO 対応型の半自動喫煙装置 (Borgwaldt LM1 ; 独 Borgwaldt KC 社製) を使用した。たばこ主流煙は、ISO の定める機械喫煙方法 (ISO 法) に準じ、吸煙量 35 mL、吸煙時間 2 sec、吸煙間隔 60 sec で Cambridge filter pad (CFP) (44 mm, Borgwaldt KC

社製) に捕集し、これを粗タール量として測定した。粗タール量の測定方法は ISO4387 に準じ、[捕集後 CFP の重量] - [捕集前 CFP の重量] で求めた。重量測定には Mettler Toledo AB265-S (Mettler-Toledo International 社製) を用い、0.01 mg 単位で記録した。また、カナダ保健省が提案する Health Canada Intense (method T-115, HCI 法) も同時に用いた。HCI 法は、吸煙量 55 mL、吸煙時間 2 sec、吸煙間隔 30 sec とし、更にフィルター部に通気孔があるたばこを用いた際はテープで完全に塞いで捕集を行なった。たばこ主流煙測定回数は、ISO 法で 1 銘柄につき 1 日に 4 回で 7 日間 (計 28 試料)、また HCI 法では 1 銘柄につき 1 日に 7 回で 7 日間 (計 49 試料) 行った。なお、CFP1 枚につきたばこ 5 本分 (ISO 法) もしくは 3 本分 (HCI 法) の粒子成分を捕集し、1 試料とした。

主流煙たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) の測定: たばこ主流煙中には、International Agency for Research on Cancer (IARC) の発がん性リスク一覧においてグループ 1 及び 3 に分類される TSNA が 4 種類含まれている。この 4 種類の TSNA を捕集した主流煙から抽出し、高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS/MS) で分析を行った。

カルボニル類分析法の開発: たばこから発生するカルボニル化合物の分析法として、溶液捕集法が用いられてきた。しかしこの方法は、操作が煩雑であり、低濃度の物質を測定できない欠点がある。そこで、本研究では個体捕集法を応用し、高い精度で分析する方法 (二連カートリッジ法) を開発した。また、より効率的な分析方法として、HQ-silica の代わりにカーボンモレキュラーシーブ (Carboxen 564) を用いてたばこ主流煙を捕集し、溶出してから誘導体化する方法も確立した。

たばこ葉中ニコチンの測定: たばこ葉は、たばこ

本体から分離し、ミル付ミキサーで1分間粉碎した。粉碎したたばこ葉試料はすべて、ISO3402に準拠し、抽出実験前、最低48時間—最大10日間、温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $60\pm 3\%$ で恒湿化を行い実験に供した。恒湿化したたばこ葉は、共栓付三角フラスコに入れた。この三角フラスコにMilli-Q水、抽出溶液そして2M NaOHを添加し振とう抽出した。遠心分離後、ヘキサン層を回収し、測定まで 4°C で保存した。なお、ヘキサン層は2-プロパノールで希釈し、ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)へ供した。なお、GC/MS測定は、選択イオン検出法(SIM法)を用い、内部標準法によって定量した。

2. 国産たばこの有害化学物質の測定

たばこ試料: 2006年国産売上上位10銘柄と国産メンソールたばこ11銘柄をたばこ試料として評価を行った。

たばこの恒湿化と主流煙の捕集: WHO TobLabNetのラウンドロビン研究と同様の手法で実施した。

主流煙タール・ニコチン・一酸化炭素(TNCO)の測定: 粗タールを秤量後、2-プロパノールを用いてCFPより室温で振盪抽出を行った。2-プロパノール抽出液中のニコチン濃度はISO 10315に準じて、若干の改良を加えたGC/MS法により測定を行った。2-プロパノール抽出液中の水分量はISO 10362-1に準じて、ガスクロマトグラフ/熱伝導度検出器(GC/TCD)を用いて測定した。ニコチン、水分を定量後、粗タール量からニコチン、水分量を差し引いた値をタール量とした。一酸化炭素はISO8454に準じて、非分散形赤外線分析計(NDIR)を用いて測定した。

主流煙たばこ特異的ニトロソアミン(TSNA)の測定: WHO TobLabNetラウンドロビン研究と同様

に主流煙からTSNAを抽出後、LC/MS/MSで測定を行った。

たばこ主流煙カルボニル類の測定: TobLabNetの共同研究において開発したカルボニル類測定を用いて、主流煙中カルボニル類の測定を行った。

たばこ主流煙重金属の測定: たばこ主流煙を捕集した石英フィルターをマイクロウェーブによって前処理を行い、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP/MS)によって測定を行った。測定対象とした11成分はベリリウム(Be)、クロム(Cr)、マンガン(Mn)、コバルト(Co)、ニッケル(Ni)、銅(Cu)、亜鉛(Zn)、ヒ素(As)、カドミウム(Cd)、水銀(Hg)及び鉛(Pb)とした。

たばこ葉中ニコチンの測定: WHO TobLabNetラウンドロビン研究と同様にたばこ葉からニコチンを抽出後、GC/MSで測定を行った。

たばこ葉中TSNAの測定: たばこ葉中のTSNA抽出は、カナダ保健省が作成したたばこ葉中TSNA測定法(T-309)に改良を加えた手法で実施した。最終的にLC/MS/MSで測定を行った。

たばこ葉中重金属類の測定: たばこ葉をマイクロウェーブによって前処理を行い、ICP/MSで測定した。

変異原性試験: 変異原性測定には、Amesらのプレインキュベーション法を用いた。菌株には、サルモネラ菌TA98、TA100及びYG1024の3種類を用い、S9 mixによる代謝活性化を行った場合と行わなかった場合の両条件下で実施した。変異原性比活性は、用量—反応曲線の直線的な部分から最小自乗法による直線回帰式を求め、その傾きからたばこ1本当たりの復帰突然変異コロニー数

(Revertants/cig.)として算出した。なお結果は、擬陽性例(溶媒対照値の1.5-2倍のコロニー数値が認められ、用量-反応関係が認められるもの)であり、陰性例(コロニー計数値が溶媒対照値の1.5倍未満)はnegとした。

3. その他のたばこ製品の有害化学物質の測定

国産たばこ以外にもたばこ製品の測定を行った。測定対象は、「ネオシーダー」「電子たばこ」「個人輸入たばこ」として、国産たばこと同様の有害化学物質の測定を行った。

4. 喫煙者のバイオマーカー測定

喫煙者・非喫煙者の尿中酸化ストレスマーカーの測定:本研究の被験者は、先行研究(アジア太平洋たばこ研究)によって公募し、最終的に101名の喫煙者を得た。呼気中CO濃度測定は101名分、喫煙行動パターンの計測は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、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については先行研究において終了している。さらに、尿試料採取のため非喫煙者の公募を行なったところ、最終的に47名の参加者を得た。本研究は、国立保健医療科学院研究倫理審査委員会の承認を受けて行われた。

尿中8-OHdGの前処理は、2種類の固相抽出用カラムの組合せで実施した。得られた試料溶液を高速液体クロマトグラフ-電気化学検出器(HPLC-ECD)に供し、8-OHdGの定量を行った。喫煙者と非喫煙者の尿中8-OHdG濃度について一元配置分散分析を行った。さらに、尿中8-OHdG濃度と喫煙行動に関係する因子については単回帰分析も行った。

尿中1-Hydroxypyreneの測定法の改良および喫煙・非喫煙者の尿試料への適用:これまで大気汚

染物質である多環芳香族炭化水素のPyreneの代謝物である1-hydroxypyreneを喫煙の曝露マーカーとして適用した。2009年に神奈川県相模原市の麻布大学の学生及び職員のうち喫煙者及び非喫煙者(各10名)合計20名に協力を募り被験者とした。なお、本調査研究は国立保健医療科学院研究倫理審査委員会の承認を受けた。

尿試料とβ-glucuronidaseの反応を行い、グルクロン酸の脱抱合を行った。脱抱合反応後の尿試料を固相抽出カラムに導入し、メタノール/水で洗浄、メタノールで溶出を行った。抽出試料中の1-hydroxypyrene測定は、HPLC/蛍光検出法で行った。

喫煙者の尿中ニコチン代謝物の測定のための固相抽出法の確立:喫煙者の曝露実態を評価するためにニコチン代謝物の測定手法の確立を目的とした。ニコチンの代謝物としてニコチン、コチニン、3-ハイドロキシコチニンとそれら化合物のグルクロン酸抱合体の測定を行った。尿中の各種化合物の前処理法は、ENVI-CarbとOasis MCXの2つの担体を組み合わせた固相抽出を行い、次に、N-(tert-ブチルジメチルシリル)-N-メチルトリフルオロアセトアミド(MTBSTFA)を使用して、3-ハイドロキシコチニンの誘導体化を行った。その試料をGC/MSによって測定した。

尿中変異原を指標とする喫煙の発がんリスク評価:バイオマーカーによる喫煙の曝露・影響評価に関する研究の一環として、尿中代謝物等の迅速簡便な変異原性試験手法の確立を目的とした。喫煙者等の尿中変異原の固相抽出手法の検討を行った。健康な男性喫煙者の1日尿を被験試料とした。ケイソウ土、Sep-Pak tC18、OASIS HLB及びSep-Pak PS2を用いて抽出を行った。変異原性試験はサルモネラYG1024及びYG1029両菌株を用い、ラット肝S9mix添加・無添加両条件下でマイ

クロサスペンション法により行った。

喫煙における酸化ストレスと遺伝子多型の関連性に関する検討：喫煙によって生じる酸化ストレスの変化と遺伝子多型の関連性について検討を行った。これまでの研究において、血清中の8-OHdG濃度とグルタチオン-S-転移酵素（GST）の遺伝子多型における関連性を検討してきたが、血清8-OHdG濃度とGSTファミリーにおける遺伝子多型の相関性は見られなかった。そのため、酸化ストレスマーカーを8-OHdGからd-ROMsという新しいマーカーに変更し、遺伝子多型との関連性を検討した。本研究では、健康診断受診者のうち喫煙群44名、非喫煙群38名を対象とし、酸化ストレスと遺伝子多型について検討を行った。

禁煙による尿中酸化ストレス・バイオマーカー変動に関する研究：複数の尿中酸化ストレス・バイオマーカーが禁煙により変動するのかどうかを検討し、どのマーカーがもっとも禁煙効果を反映するのかを検討した。また、これら測定結果をもって、禁煙外来で患者さんの禁煙モチベーションを増加させる情報提供に役立てることを目的とした。バレニクリン（チャンピックス）を処方された禁煙外来患者より、書面による同意を得た上で、初回（喫煙中）、1週後（バレニクリン服用1週目、喫煙中）、4週後（禁煙3週目）、12週後（禁煙11週目）の4回採尿し、酸化ストレスマーカー8-isoprostane, 5-isoprostaglandin F2 α -VI, 8-OHdGと、ニコチン関連分子としてニコチン、コチニン、3-ヒドロキシコチニンを測定した。なお、本研究は国際医療福祉大学の倫理委員会の承認を受けた。

禁煙外来における治療対象者の特性 たばこ煙の曝露低下の状況を検討する際に考慮を要する**要因の検討：**禁煙外来において治療を受ける人の背景要因及び生活習慣に係る要因を調べ、それが

たばこ煙への曝露状況とバイオマーカーとの関連に与える影響について考察することを目的とした。禁煙外来において治療を開始する人を対象に初診時に背景や行動に係る要因、運動、睡眠習慣及び睡眠の質等の生活習慣に係る要因について調査を行った。なお、本調査研究は国立保健医療科学院研究倫理審査委員会の承認を受けた。

5. 地域における効果的な普及啓発の検討（受動喫煙，がん予防に着目）

分煙施設の室内環境と受動喫煙状況の検討：厚生労働省の取り組みと並行して札幌市が取り組む受動喫煙防止対策の一環として、本市の公共建築物を皮切りに室内環境と受動喫煙の実態調査を行い、将来の全面禁煙化に向けての科学的根拠とすることを目的とした。現在の分煙状況を空気環境及び受動喫煙のバイオマーカーの視点から調査を行った。本研究に当たって、ヒトを対象とする医学研究に該当することから、「札幌市衛生研究所倫理審査委員会」の審査を受けて実施した。

受動喫煙検診の効果と検討：国内複数地域において、1) 調査票、2) バイオマーカー（尿中コチニン）を用いて、特に小児を対象として受動喫煙曝露の状況を検討した。具体例として、神奈川県においては、保健福祉事務所を経由して、市町村の母子保健事業（健診）を活用した質問票と尿中コチニン測定による調査協力を依頼し、4市町より協力を得た。3歳児（地域によっては3歳6か月児：以下「3歳児」とする）健診の残余尿検体を用い抗原抗体反応を測定原理とした尿中コチニンキットを使用した。また、受動喫煙検診が両親の禁煙影響を与えるのか調査を行った。なお本研究は、それぞれの地域で、書面での説明と同意をもって実行する疫学研究である。研究は、公的な競争的研究資金によって行われ、各地域で実施する部分に関して、適宜倫理委員会において審査が行な

われ承認を得た。

C. 結果及び考察

1. TobLabNet のたばこ成分の分析

主流煙たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) の測定：たばこ試料 5 銘柄の主流煙中たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) 測定を実施した。たばこ主流煙捕集は ISO 法及び HCl 法の両手法で行い、たばこ銘柄毎に 7 日間抽出・測定を行った。その結果、TSNA 濃度の範囲は ISO 法で、NNK が 13.5–105.0 ng/cig, NNN が 10.9–150.7 ng/cig, NAT が 19.8–145.8 ng/cig, NAB が 6.0–44.3 ng/cig であり、また HCl 法で NNK が 36.1–279.6 ng/cig, NNN が 25.7–333.1 ng/cig, NAT が 42.5–318.1 ng/cig, NAB が 12.1–95.7 ng/cig であった。これら測定結果を、指定のデータシートに記載し WHO に報告した。今回の測定結果は 2010 年 7 月にシンガポールで開催された会議において、本ラウンドロビン研究の結果として発表され、その有用性が評価・確認された。

たばこ葉中ニコチンの測定：主流煙 TSNA の測定と同様に 5 種類のたばこ試料についてたばこ葉中のニコチン測定が 17 개국 22 研究所で実施された。銘柄ごとに 7 回前処理・測定を行ったところ、5 銘柄のニコチン測定結果は、17.2–20.8 mg/cig. であり、ばらつきは 3.9–4.6% であった。最終的に、指定のデータシートに測定結果を記載し WHO に報告した。2010 年 7 月にシンガポールで開催された会議において、本ラウンドロビン研究の結果が発表され有用な結果を得ることができた。

カルボニル類分析法の開発：本研究では個体捕集法を応用し、高い精度で主流煙中のカルボニル類を分析する方法 (二連カートリッジ法) を開発した。二連カートリッジは、それぞれ試薬を含浸させたシリカゲルから構成される。一段目のカート

リッジには、アクロレインの重合を防ぐために重合禁止剤ヒドロキノン (HQ) を含浸させたシリカを充填し、二段目のカートリッジにはカルボニル化合物の誘導体化試薬 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) を含浸させたシリカゲルを充填した。測定時に、タバコ煙は最初に HQ を含浸させたシリカゲル (HQ-silica) を通過してから、二段目の DNPH を含浸させたシリカゲル (DNPH-silica) を通過する。このとき、タバコ煙中のアクロレイン等 α, β -不飽和アルデヒドは一段目の HQ-silica に完全に捕捉されるため過剰の DNPH が付加することは無い。アセトアルデヒドの一部は、HQ-silica を通過するが二段目の DNPH-silica に完全に捕捉され、ヒドラゾン誘導体を生成する。溶出は捕集時とは逆に DNPH-silica 側から行う。溶出液中には、HQ-silica に捕捉されたアクロレインを含むカルボニル化合物と未反応の DNPH が含まれるので、誘導体化反応が開始する。タバコ煙に含まれる全てのカルボニル化合物は、DNPH と反応して対応するヒドラゾン誘導体を生成する。そして、これらのヒドラゾン誘導体は高速液体クロマトグラフィーで分析することが可能である。本研究で開発した HQ-DNPH 法は、アクロレインなどの α, β -不飽和アルデヒドばかりでなく、広範囲のカルボニル化合物を分析できる。また、より効率的な分析方法として、HQ-silica の代わりにカーボンモレキュラーシープ (Carboxen 564) を用いてタバコ主流煙を捕集し、溶出してから誘導体化する方法も確立した。既に、以上の結果を TobLabNet に報告しており、今後の公定法として使用される予定である。

現在も TobLabNet のラウンドロビン研究は、継続されており次の有害化学物質の予備検討を行っている途中である。

2. 国産たばこの有害化学物質の測定

国産たばこ売上上位 10 銘柄の有害化学物質の評価：

たばこ主流煙 TSNA の測定：各たばこ外箱表示タール量を基に Ultra low (1 mg), Low (3~6 mg), Medium (8~10 mg), High (14 mg) の 4 区分に分類した。ISO 法による Ultra low, Low, Medium および High の平均 TSNA 測定結果は、各々 31, 72, 130 および 89 ng/cig であった。また、HCl 法の測定結果は各々 210, 240, 330 および 180 ng/cig であった。主流煙中 TSNA 濃度が高い区分は、Medium であった。また、HCl 法で捕集した Ultra low と High の TSNA 測定結果は、210 と 180 ng/cig であり、喫煙法によっては必ずしも High たばこが有害化学物質の濃度が高くなることはなかった。

たばこ主流煙カルボニル類の測定：国産たばこ 10 銘柄について、HQ-LDNPH-カートリッジを用いて、ISO 法、HCl 法でたばこ主流煙の分析を行った。その結果、HCl 法による測定値は ISO 法より 2~24 倍高い値を示した。銘柄間のバラツキ（変動係数）は、HCl 法が 7.1%、ISO 法が 49%であった。HCl 法で喫煙した場合のカルボニル類の曝露量は、たばこ銘柄間にける差は、たばこ外箱表示量から推測されるほどではないことが確認された。

たばこ主流煙重金属の測定：主流煙から検出された主な成分は Ni, Cu, Zn, As, Cd 及び Pb であり、中でも Zn は、ISO 法で 73~248 ng/本、HCl 法では 163~379 ng/本で最も高い結果となった。また、たばこ葉では主成分の 1 つであった Mn やその他 Cr, Co は主流煙ではほとんど検出されなかった。また、主流煙で検出された重金属含有量は HCl 法が ISO 法に比べ高濃度であり、粗タール量と同様の傾向を示した。また、主流煙中重金属含有量はたばこ葉中重金属含有量と組成比が大きく異なることから、元素の物性や喫煙状態によって重金属のたばこ葉から主流煙への移行率

に差があることが示唆された。

たばこ葉中ニコチンの測定：国産たばこ 10 銘柄のたばこ葉中ニコチン測定を行ったところ、含有量は 13.7~17.2 mg/g の範囲であり、平均値は 15.7 mg/g であった。本研究によって得られた結果は、低ニコチンたばこであっても、外箱ニコチン表示量が高いたばこと同等のたばこ葉ニコチン量が認められていた。よって、たばこ葉ニコチン量は、先行研究でのたばこ主流煙中のニコチン量が、喫煙法によって変動する原因の一つであると考えられる。

たばこ葉中の TSNA の測定：4 種類の TSNA 濃度が最も低かったのは、Seven Stars であり、今回の研究において最も高いタール・ニコチン表示量のたばこ銘柄であった。一方で、タール・ニコチン表示量が低い Pianissimo One は、NNN が 980, NNK が 410, NAT が 930 と NAB が 110 ng/g で今回の研究では比較的高ちであった。その他の測定結果を合わせて評価を行なったところ、たばこ葉中 TSNA 量は、たばこ外箱表示タール・ニコチン量と関連性は認められず、低タール・低ニコチンたばこであっても他のたばこと変わらない TSNA 濃度が確認された。

たばこ葉中の重金属の測定：測定対象とした 11 元素のうちクロム (Cr), マンガン (Mn), コバルト (Co), ニッケル (Ni), 銅 (Cu), 亜鉛 (Zn), ヒ素 (As), カドミウム (Cd) 及び鉛 (Pb) の 9 元素が全ての被検銘柄のたばこの葉から検出され、ベリリウム (Be) と水銀 (Hg) はどの銘柄からも検出されなかった。これらの重金属類うち労働環境での曝露で肺がん発生原因と認められている重金属 4 元素では、Cr の含有量は 1.1~1.8 µg/g 乾燥重量, Ni では 1.2~1.7 µg/g 乾燥重量, As は 0.2 µg/g 乾燥重量, Cd では 0.9~1.2 µg/g 乾燥重量となった。

また、Co の含有量は 0.4–0.6 µg/g 乾燥重量、Pb では 0.6–1.2 µg/g 乾燥重量であった。また、今回の 10 銘柄のたばこ間での 9 種の重金属含有量の大きな差は認められなかった。

メンソールたばこの化学物質曝露評価：現在、低タール・低ニコチン量のたばこの販売量は全体の 1/4 にまでなった。またこれらたばこ銘柄にはメンソール入りのものも少なくなく、メンソールたばこの販売量も全体の 20% を占めている。そこで、本研究ではメンソールたばこのヒトへの健康影響を評価するため、国内販売 11 銘柄の主流煙と葉中含有物質の化学分析及び変異原性測定を行った。その結果、主流煙中タール量は 0.78–7.95 mg/cig (ISO) 及び 13.5–26.1 mg/cig (HCl) であり、ニコチン量は 0.10–0.74 mg/cig (ISO) 及び 0.98–2.07 mg/cig (HCl) となり、一酸化炭素 (CO) 量は 0.25–6.34 mg/cig (ISO) 及び 17.0–27.4 mg/cig (HCl) となった。また主流煙の変異原活性は TA98 及び YG1024 株の S9mix 添加条件下で陽性を示した。さらにたばこ葉中ニコチン量は銘柄による大きな差はなく、たばこ葉抽出物の変異原活性も殆ど認められなかった。

3. その他のたばこ製品の有害化学物質の測定

電子たばこ：電子たばこは、紙巻たばこに似せた形状をしており、専用カートリッジに充填された溶液が熱電線により気化され、発生した煙が直接使用者の気管に吸い込まれる装置である。その吸引方法もたばこの使用に似ている。2010 年に国民生活センターが電子たばこカートリッジの化学分析を行ったところ、いくつかの製品には微量であるがニコチンが含有されていた。現在、含有を指摘された製品については、販売の停止が確認されている。一方で、本研究班はこの HQ-DNPH 法を用いて電子たばこから発生する煙の成分を測定し、発生する化学物質、生成メカニズム等の検討を

行った。電子たばこから発生する気体を分析した結果、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサール等、多くの有害なカルボニル化合物が高濃度で検出され、ホルムアルデヒドの場合、最大で 260 mg/m³ の濃度が測定された。さらにカルボニル類の生成メカニズムを評価したところ、電子たばこのカートリッジに含有される液体の主成分であるグリコール類が酸化されグリオキサール等のカルボニル化合物が生成するという酸化反応が示唆される。また、同じ銘柄の電子たばこでもカルボニル化合物がほとんど発生しない場合も見受けられたが、これは、ニクロム線とグリコール類の接触状況や電圧変化によることが推測される。

現在市販されている全ての電子たばこは、偶発的に、非意図的に高濃度のカルボニル化合物を発生する危険性を有していることが明らかになった。

ネオシーダー：ネオシーダーは薬用吸煙剤の名称で喫煙者の鎮咳・去痰を目的とした一般用医薬品（第 2 類医薬品）として薬局等で販売されている。その形状及び使用方法は紙巻たばこ同様である。近年まで本剤は上記目的のため販売や使用がされてきたが、最近本剤にタールとニコチンが含まれているとの報告があり、たばこ同様の健康への影響も懸念されるようになった。また、2010 年 10 月 1 日よりたばこ 1 箱の価格は 100 円近く高くなっており、ネオシーダーは増税の対象ではない（たばこではない）ため値上がりしていない。そのため喫煙者が低価格のたばこ代替品として購入する可能性がある。そこで、本研究では本剤のヒトへの健康影響を評価するため、本剤主流煙と葉中抽出物の化学分析及び変異原性試験を行った。その結果、本剤主流煙からタール、ニコチン、一酸化炭素 (CO)、たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA)、多環芳香族炭化水素 (PAH) 及びカルボニル類が検出され、また変異原活性も認められ

た。さらに本剤葉中もニコチン、TSNA 及びアンモニアが含有されていたが、変異原活性は示さなかった。ネオシーダーは、本研究においてニコチンばかりでなく、TSNA も含まれていることが分かった。またそれ以外の有害化学物質もたばこ変わらない曝露量であることも確認された。

個人輸入たばこ：2011年10月に国内でのたばこ製品の値上げが行われた。このため、日本よりもたばこ税が軽く安価な海外製品を個人でインターネット上の輸入代行業者を通じて購入することが行われている。前記のような経緯で購入したたばこ製品は、必ずしも国産品と同一の原材料や製法での製品であるとは限らないため、使用した場合喫煙者への健康影響も未知数となる。そこで、国内で販売されている製品と同一銘柄の海外産たばこ製品を上記と同様の手段で購入し、その成分測定を行った。その結果、たばこ主流煙中タール、ニコチン及び一酸化炭素量(CO)量はそれぞれタール量が7.27–11.3 mg/cig (ISO)及び22.2–30.7 mg/cig (HCl)となり、ニコチン量が0.69–0.92 mg/cig (ISO)及び1.52–1.98 mg/cig (HCl)であり、CO量が5.91–8.52 mg/cig (ISO)及び18.8–21.9 mg/cig (HCl)となった。さらにたばこ葉中のニコチン量とたばこ特異的ニトロソアミン(TSNA)量はニコチン量が15.1–20.3 mg/gとなり、銘柄間での大きな差異は認められなかったものの、TSNA量は、NNNが885–1388 ng、NNKが186–744 ng、NATが770–1279 ng、NABが77.4–148 ngとなり、銘柄間で2倍近い差があった。以上のように個人購入したたばこ製品が必ずしも国産品と同等の品質でないことから、これらによる健康影響を評価するにはさらに測定項目を増やし、詳細な測定値を得る必要がある。

4. 喫煙者のバイオマーカー測定

喫煙者・非喫煙者の尿中酸化ストレスマーカーの

測定：尿中には、無数の測定検出器の電極と反応する化合物が含まれている。そこで、HPLC-ECDの移動相に0.05% Cyclopentyl Methyl Ether (CPME)を添加することにより、8-OHdGの分離向上を図った。

得られた喫煙者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 4.85 ± 2.54 ng/mg creatinineであった。一方、非喫煙者47名の尿中8-OHdG濃度平均値は、 3.58 ± 1.90 ng/mg creatinineであった。喫煙者と非喫煙者の尿中8-OHdG濃度の有意確率は、 $p = 0.03$ であった。たばこのパッケージ表示ニコチン量から、喫煙者をUltra low, Low, Medium, Highの4群に分け分析した結果、表示ニコチン量と尿中8-OHdG濃度は無関係であることが確認された。さらに解析を行ったところ、尿中8-OHdG濃度は、有意確率 $p < 0.001$ で1日あたりの喫煙本数と正の相関($r = 0.331$)を示した。また、有意確率 $p = 0.005$ でプリンクマン指数(喫煙指数)と正の相関($r = 0.280$)を示した。さらに、有意確率 $p < 0.001$ で1日あたりの総吸煙量と正の相関($r = 0.384$)を示した。

尿中 1-Hydroxypyrene の測定法の改良および喫煙・非喫煙者の尿試料への適用：ブルーレーヨン及び固相抽出法の検討を実施した。その結果、ブルーレーヨン抽出では平均で73%と比較的良好な回収率が得られたが、固相抽出では更に高い回収率95.7%が得られ、この回収率から求めた変動係数も2.7%となり極めて良好であった。本固相抽出法を用いて非喫煙者10名及び喫煙者10名の尿試料を測定した。得られた結果から、非喫煙者の尿中1-OHP濃度と喫煙者のそれらとの差が認められ、喫煙者尿の1-OHP濃度は0.07–0.51 $\mu\text{g/g creatinine}$ (平均値:0.21 $\mu\text{g/g creatinine}$)となり、非喫煙者の0.04–0.24 $\mu\text{g/g creatinine}$ (平均値:0.09 $\mu\text{g/g creatinine}$)よりも2倍程度高い値となった。さらに、1日のたばこ喫煙本数と1-OHP濃度との

直線回帰を行ったところ、相関係数 $r=0.664$ と良好な値が得られた。

喫煙者の尿中ニコチン代謝物の測定のための固相抽出法の確立：尿中の各種化合物の前処理法は、ENVI-Carb と Oasis MCX の2つの担体を組み合わせた固相抽出を行い、次に、N-(tert-ブチルジメチルシリル)-N-メチルトリフルオロアセトアミド (MTBSTFA) を使用して、3-ヒドロコチニンの誘導体化を行った。得られた抽出液を GC/MS によって測定した。定量範囲は、50–12,000 ng/mL であり、CV は、1.2–7.6%であった。また回収率は、70–149%であった。禁煙外来患者の尿中測定を実施したところ、ほとんど参加者においてニコチン代謝物の低減が確認された。

尿中変異原を指標とする喫煙の発がんリスク評価：尿中変異原性物質の前処理法を評価したところ、Sep-Pak tC18 では主に YG1024 株 S9mix 添加条件下で変異原性が認められ、被験尿試料は異なるが昨年と同様の結果が得られた。今回比較した固相抽出手法の中では OASIS HLB/ジクロロメタン抽出が、比較的高い陽性率と比活性を示したが、再現性試験では若干大きい変動が認められた。被験尿試料によっては Sep-Pak PS2 抽出物でのみ明瞭な陽性を示す場合もあり、抽出される変異原性成分の多様性も示唆された。

喫煙における酸化ストレスと遺伝子多型の関連性に関する検討：遺伝子多型については、解毒関連酵素であるグルタチオン-S-転移酵素 (GST) の中でも、とくに酸化ストレスと関連性のある GSTM1, GSTT1 に着目し、遺伝子多型の解析を行った。その結果、d-ROMs テストは、喫煙の有無による差異がみられなかった。

禁煙による尿中酸化ストレス・バイオマーカー変

動に関する研究：平成 23 年 4 月から平成 24 年 2 月現在、13 名が研究に参画した。このうち 11 名 (2 名途中脱落) の対象者のサンプルに関し、解析が終了した。ニコチン代謝物のニコチン、コチニンと 3-ヒドロキシコチニンは禁煙後有意に減少したが、8-isoprostane, 5-isoprostaglandin F2 α -VI は、変化がなかった。8-OHdG は、今後測定する。酸化ストレス・バイオマーカーのゴールドスタンダードと謂われる 8-isoprostane に関しては、先行研究と異なり、禁煙 11 週で有意な変化は認められなかった。しかしながら、予定したサンプル数には届いていないため、最終的な結論は出ていない。

禁煙外来における治療対象者の特性：たばこ煙の曝露低下の状況を検討する際に考慮を要する要因の検討：禁煙外来において治療を開始する人を対象に初診時に背景や行動に係る要因、運動、睡眠習慣及び睡眠の質等の生活習慣に係る要因について調査を行った。その結果、喫煙歴の指標であるブリンクマン指数のみならず、現在の喫煙量及び喫煙期間の双方を個別に検討する必要性が示唆された。また、年齢による運動量の調整が必要であった。女性においては、喫煙への依存に対する感受性の高さが示唆され、また睡眠の質と喫煙との関連が男性とは異なることが示唆された。現段階において本研究の対象者数は科学的な検討を行うために充分であるとはいえない。しかしながら、このような検討を試みた研究例は少なく、本研究のデータを提供することは価値あることと考える。今後本研究のデータを継続する形で、研究が行われることが望まれる。

5. 地域における効果的な普及啓発の検討(受動喫煙, がん予防に着目)

分煙施設の室内環境と受動喫煙状況の検討：札幌市において2年間にわたり調査研究を行った。調査対象を完全分煙施設3庁舎10箇所とし、喫煙実

態と浮遊粉じん濃度のモニタリング及びニコチン濃度測定等を行った結果、喫煙室における時間平均の浮遊粉じん濃度が厚生労働省ガイドラインに示す基準値を超えた施設は3箇所、非喫煙場所における時間平均の浮遊粉じん濃度がWHOの指針値 0.025 mg/m^3 (人体に影響のない24時間平均濃度) を超えた施設は1箇所、喫煙室内の一酸化炭素濃度がガイドラインに示す基準値を超えた施設は1箇所であった。

その他の評価指標については、喫煙室から非喫煙場所へ環境たばこ煙(ETS)を排出させないための排気風量を確保できない施設は1箇所、喫煙室内の浮遊粉じん濃度をガイドラインに示す基準値以下とするための排気風量を確保できない施設は3箇所であり、浮遊粉じんを指標とした場合に限っては、計5箇所が不適合であった。喫煙室の最大喫煙許容人数については、1分間平均喫煙者数との比較では不適合の箇所はないものの、1分間最大喫煙者数との比較では、いずれの箇所においても不適合であった。

2ヵ年目は、調査対象を完全分煙施設1箇所とし、調査対象施設及び対照とした庁舎内禁煙施設で執務を行う非喫煙者の受動喫煙状況調査として、午前10時及び午後4時に唾液を採取し、唾液中コチニンを測定した。一方、室内環境調査として、浮遊粉じん濃度、一酸化炭素濃度、炭素ガス濃度について6時間のモニタリングを行うとともに、厚生労働省が室内濃度指針値を定めている揮発性有機化合物(VOC)6物質についても試料採取及び分析を行った。また、唾液中コチニン測定による非喫煙者の受動喫煙状況については、両施設の平均コチニン濃度には有意差はなく、また、採取時間による差も認められなかった。また、執務環境の違いによる受動喫煙状況の有無を示す傾向は認められなかった。室内環境調査において、浮遊粉じんは、 $0.001-0.007 \mu\text{g/m}^3$ 、一酸化炭素はすべて10ppm以下、炭酸ガスについては1,000-1,500

ppmであり、特に問題のある結果ではなく、喫煙所からの影響も認められなかった。一方、トルエン、キシレンなどのVOCについては、いずれも指針値の1/10以下の濃度であり、通常の執務室環境であった。

受動喫煙検診の効果と検討: 札幌市、熊谷市(埼玉県)、神奈川県下4市町、においてそれぞれ調査を計画・実施した。父母の喫煙状況については、父のみ喫煙が29%、母のみ喫煙が4%、父母喫煙が10%、父母非喫煙が57%であった。よって、父の喫煙は39%、母の喫煙は14%となる。尿中コチニンが検出された検体での中央値は 5.78 ng/mgCre (範囲: $0.86-297 \text{ ng/mgCre}$) であった。次に、父母の喫煙状況と尿中コチニン量についての中央値は、父母非喫煙では検出限界以下が半数以上を占め、父のみ喫煙では 3.07 ng/mgCre 、母のみ喫煙では、 12.34 ng/mgCre 、両親喫煙では 16.2 ng/mgCre であった。地域での小児における受動喫煙曝露が広範である実態が明らかとなった。地域における小児の受動喫煙曝露状況は、質問票調査により間接的に把握されることが多いが、バイオマーカーを用いて評価することができた。

次に熊谷市における受動喫煙検診の目的の一つである検診によって両親への禁煙動機づけに役立っているかを検討するためにアンケート調査を行った。全ての父親および母親に対して受動喫煙が禁煙に役立っているかどうかは、喫煙している父親のみ役立っていると回答したのは38.8%と低かった。受動喫煙検診は児童個々の受動喫煙の実態を調査する手法としては満足した成績が得られたが、両親の禁煙動機づけをもたらずには更なる改良が必要であると思われる。

D. 結論

1. TobLabNetのたばこ成分の分析

現在、FCTC加盟国数は、170カ国近くになって

いるが、WHO TobLabNet へ参加している国は、20カ国程度でしかない。本研究班は、TobLabNet の一員としてラウンドロビン研究への参加及びたばこ主流煙のカルボニル類の測定法の開発によって、FCTC の第 9 条「たばこ製品の含有物に関する規制」と第 10 条「たばこ製品についての情報開示に関する規制」のガイドライン作成に大きく貢献した。さらに我が国において FCTC 第 9, 10 条に基づいたたばこ政策を実施する際に、本研究で測定したたばこ銘柄ごとの有害化学物質の測定結果は、規制値を決定するための有効的な資料になると考えられる。また、たばこに関する有害化学物質の測定法を公平性の高い国立公衆衛生機関においても実施可能にしたことは情報開示されたときの評価を行なう上でも有用である。

2. 国産たばこの有害化学物質の測定

ラウンドロビン研究と並行して国産たばこ銘柄についても同様の測定を行った。主な成果として、低タール・低ニコチンたばこはの HCI 法で捕集した各有害化学物質の測定結果が、他のたばこ銘柄と比較しても ISO 法に基づきたばこ外箱表示されている値ほど大きな濃度差が認められなかった。また、2010 年ウルグアイで開催された COP4 において採択された第 9, 10 条の暫定ガイドラインにある「たばこ製品の魅力を高める添加物の使用を制限または禁止するべき」に該当すると考えられるメンソールたばこの各種有害化学物質の測定を実施した。2010 年メンソールたばこのシェア率は、21%まで上昇しており、このたばこの主流煙中有害化学物質の情報提供は、今後、重要になると考えている。たばこ製品は毎年、無煙たばこを初め、フィルターにメンソールカプセルを組み込んだたばこなどの新しい銘柄が次々と市場に投入されている。本研究班がこの 3 ヶ年で実施した 22 のたばこ銘柄の有害化学物質量の測定結果は、たばこの有害性を国民に伝える

上でも必要不可欠であると考えている。今後も新たなたばこ製品が市場に投入されることを考慮すると継続的な測定は非常に重要である。

3. その他のたばこ製品の有害化学物質の測定

本研究班はこの 3 ヶ年で、害性が懸念された電子たばこ、鎮咳剤であるネオシーダー（第 2 類医薬品）の各種有害化学物質の測定し、公表してきた。電子たばこは、ホルムアルデヒドをはじめとするカルボニル類が発生するといった研究成果を 2011 年 TobLabNet 第 5 回会議において参加各国に報告した。また、ネオシーダーは医薬品であることを考慮すると TSNA とその他の有害化学物質が検出されたことから有害物質の排出量規制等が必要であると考えられる。本研究成果は、その際の判断材料の一つになると考えられる。最終年度は、昨年なたばこ増税によって社会問題となった個人輸入たばこの有害化学物質の測定を行った。また、個人輸入たばこに関しては、主流煙のタール、ニコチン、一酸化炭素は国産たばこ同等であったが、今後、海外の事例を考慮すると更なるたばこ増税によって、個人輸入たばこや密造品が出回る懸念があるため、先行研究を進める必要性もあると考えられた。現在、参画している TobLabNet では、米国から密造品に関する情報等も提供されている。この点からも継続的な TobLabNet への参加が望まれる。

4. 喫煙者のバイオマーカー測定

本研究班はこれまでに、低タール・低ニコチンたばこ喫煙者は HCI 法に近い体内にニコチンを補完しようするために深く吸い込む吸煙行動である「代償性補償喫煙」をすることを報告してきた。また、この 3 ヶ年のたばこに関する有害化学物質の測定からも分かるように、過去のたばこ製品と比較すると喫煙者への有害化学物質の曝露量に変化していることが推測される。特に、

低タール・低ニコチンたばこのシェア率が24%と高い現状では、今後、ニコチン代謝物をはじめとする有害化学物質の曝露量の実態調査が必要になってくる。そこで本研究で開発したニコチン代謝物の3化合物（ニコチン、コチニン、3-ヒドロキシコチニン及び各化合物のグルクロン酸抱合体）、1-Hydroxypyreneは、より詳細な曝露状況を把握する上で有効である。また、影響マーカーの1つとして酸化ストレスマーカーを取り上げ、現在までにDNA損傷の8-Hydroxyguanosineの測定を実施し、喫煙による影響を評価・検討した。加えて、脂質損傷のマーカーである8-isoprostaneの測定法を確立した。さらに、上記測定法を適用して喫煙者の生活習慣が禁煙時の体の状態に及ぼす影響に関する研究も並行して実施している。

5. 地域における効果的な普及啓発の検討（受動喫煙，がん予防に着目）

受動喫煙環境の評価では、母子保健領域から児童の尿中コチニン、生化学検査を行なった。背景として、地域での小児の受動喫煙曝露についての意識が不十分であることが懸念された。また、受動喫煙についての普及啓発であっても一層の対策が求められることが明らかとなった。母子保健にまつわる機会を通じて、改めて受動喫煙についての周知を通じて、家族はじめ地域関係者、広く地域の意識の向上が必要と考えられた。

今後、他地域の受動喫煙曝露状況を把握しつつ比較するとともに、明確な受動喫煙ありと判断できる水準の検討や、関連する要因の検討などを進めていくことが意義があると考えられた。さらに、母子保健にまつわる機会を通じ、家族や地域に普及啓発を行う上で、効果的な方法の模索も必要と考えられた。

また、2年間にわたって札幌市有施設における受動喫煙環境下の調査を行った。「職場における喫煙対策のためのガイドライン」の基準を越える施

設が確認された。一方で、喫煙室から非喫煙場所へのETS漏洩を確認する目安となるニコチン漏洩率は $1.2 \pm 1.3\%$ と比較的良好であった。さらに、受動喫煙者の唾液中コチニン濃度は喫煙室を設けていない施設と変わらない結果となった。しかし、調査した職員の中にやや高値を示す例があるなど、受動喫煙の有無を判断するにはさらに詳しい調査が必要であると思われた。

以上の結果から、より精度の高い尿中ニコチン代謝物及び受動喫煙環境下の測定を行なうニコチンサンプラー開発の必要性が認められた。今後、両手法を確立することが、受動喫煙の評価に貢献すると考えている。さらに1~4の研究成果をたばこ対策研修に利用し、各地域への効果的な普及・啓発を行った。

まとめ

- 1) 国内で唯一 WHO たばこ研究室 (TobLabNet) に参加する研究班として国際協力を果たし、たばこの有害成分について分析、公開してきた。
- 2) TobLabNet での活動は高く評価され、ホルムアルデヒド等の測定においてはリーダーラボとしての活動が求められている。
- 3) これらによるたばこ煙中有害化学物質の分析から、健康影響を予防するためにはたばこ外箱表示に ISO 法による分析だけでなく、HCI 法による結果の表示が望まれることが示された。合わせて、現在のニコチン、タールの表示だけでなく、たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA)、ホルムアルデヒドなどを含めた化学物質の表示が求められる。
- 4) ネオシーダーは、50年以上にわたって鎮咳剤として販売されているが、若干のニコチンを含むほか、TSNA、ホルムアルデヒド、COなどの有害成分を発生し、実態はたばこと同様の健康影響が懸念され規制対象とすべきである。

5) たばこ会社は、毎年、メンソールたばこをはじめとするたばこ製品を次々と市場に発表しているが、国内で最大の健康阻害要因であるたばこに関して、その有害性の調査研究を継続して提示していくことが重要である。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

平成21年度

1. 論文発表

- 1) Uchiyama S, Inaba Y, Matsumoto M, Suzuki G. Reductive Amination of Aldehyde 2,4-Dinitrophenylhydrazones Using 2-Picoline Borane and High-Performance Liquid Chromatographic Analysis. Anal. Chem. 2009, 81, 485-489.
- 2) Uchiyama S, Naito S, Matsumoto M, Inaba Y, Kunugita N. Improved Measurement of Ozone and Carbonyls Using a Dual-Bed Sampling Cartridge Containing trans-1,2-Bis(2-pyridyl)ethylene and 2,4-Dinitrophenylhydrazine- Impregnated Silica. Anal. Chem. 2009, 81, 6552-6557.
- 3) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Nicotine, Tar, and Mutagenicity of Mainstream Smoke Generated by Machine Smoking with International Organization for Standardization and Health Canada Intense Regimens of Major Japanese Cigarette Brands. J. Heath Sci. 2009, 55, 421-427.
- 4) Suzuki G, Cullings H, Fujiwara S, Ohishi W, Matsuura S, Kishi T, Akahoshi M, Hayashi T, and

Tahara E: LTA 252GG and GA genotypes are associated with diffuse type noncardia gastric cancer risk in Japanese population. Helicobacter, 2009,14(6), 571-9.

- 5) 嵐谷奎一, 秋山幸雄, 櫻田尚樹. 室内環境に関する研究. 室内環境 2009; 12(2):71-86.
- 6) Yoshida Y, Nakano Y, Ueno S, Liu J, Fueta Y, Ishidao T, Kunugita N, Yanagihara N, Sugiura T, Hori H, Yamashita U. Effects of 1-bromopropane, a substitute for chlorofluorocarbons, on BDNF expression. International immunopharmacology 2009; 9(4):433-438.
- 7) 吉見逸郎. 【新しい禁煙方法とタバコ】 タバコに含まれる有害物質. 成人病と生活習慣病 39巻9号 977-984(2009)
- 8) Ino T. A Meta-Analysis of Association between Maternal Smoking during Pregnancy and Offspring Obesity. Pediatr Int 2010;52:94-9. [Epub ahead of print]
- 9) 花井潤師, 太田優, 福士勝, 矢野公一, 他. 妊婦の禁煙・乳幼児の受動喫煙防止に向けた啓発用 DVD.北海道小児保健研究会誌(平成21年度) 2009 ; 21-25.
- 10) 竹田真由, 船渡忠男, 他. 「臨床化学からみた喫煙障害 喫煙障害の分子機序」臨床化学, in press

2. 学会発表

- 1) 内山茂久, 稲葉洋平, 松本真理子, 鈴木元. 2-ピコリンボランを用いたカルボニル 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの還元的アミノ化と高速液体クロマトグラフ分析 日本化学会第89春季年会, 2009年3月, 日本大学, 日本化学会第89春季年会講演予稿集(CD-ROM)
- 2) 内山茂久, 松本真理子, 稲葉洋平, 鈴木元. アルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン

- の還元的アミノ化と高速液体クロマトグラフ分析 第 18 回環境化学討論会, 2009 年 6 月, つくば国際会議場, 第 18 回環境化学討論会講演要旨集 P120-121.
- 3) 内山茂久, 内藤季和, 稲葉洋平, 櫻田尚樹. trans-1,2-ビス (2-ピリジル) エチレンと 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをういた空气中オゾンとカルボニル化合物の同時分析 第 50 回大気環境学会, 2009 年 9 月, 慶應義塾大学, 第 50 回大気環境学会年会講演要旨集, p.321
- 4) 樽見和枝, 内山茂久, 稲葉洋平, 櫻田尚樹. trans-1,2-ビス (2-ピリジル) エチレンを用いた拡散サンプラーによる空气中オゾンの分析 第 50 回大気環境学会, 2009 年 9 月, 慶應義塾大学, 第 50 回大気環境学会年会講演要旨集, p.322
- 5) 山田智美, 樽見和枝, 内山茂久, 稲葉洋平, 櫻田尚樹, 後藤純雄. 室内環境におけるオゾンとアルデヒド類、およびギ酸の挙動 第 50 回大気環境学会, 2009 年 9 月, 慶應義塾大学, 第 50 回大気環境学会年会講演要旨集, p.323
- 6) 稲葉洋平, 松本真理子, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 吉見逸郎, 緒方裕光, 櫻田尚樹, 鈴木元. 低タール・低ニコチン韓国産たばこと日本産たばこの比較. 日本環境変異原学会; 2009 年 11 月; 静岡. 第 38 回大会 プログラム・要旨集. p. 134.
- 7) 越田英史, 荒井理沙, 稲葉洋平, 太田敏博. タバコ副流煙に紫外線照射することで新たに現れる変異原性. 日本環境変異原学会; 2009 年 11 月; 静岡. 第 38 回大会 プログラム・要旨集. p. 134.
- 8) 遠藤治, 稲葉洋平, 松本真理子, 杉田和俊, 後藤純雄, 緒方裕光, 鈴木元. 喫煙装置を用いて捕集された国産主要銘柄たばこ副流煙 DMSO 抽出物の変異原性. 日本環境変異原学会; 2009 年 11 月; 静岡. 第 38 回大会 プログラム・要旨集. p. 135.
- 9) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 吉見逸郎, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 薬用吸煙剤の化学分析および変異原性. 日本環境変異原学会; 2009 年 11 月; 静岡. 第 38 回大会 プログラム・要旨集. p. 135.
- 10) 稲葉洋平, 内山茂久, 松本真理子, 櫻田尚樹, 遠藤治, 緒方裕光, 鈴木元. 8-OHdG 分析条件の改良および喫煙者・非喫煙者の尿中濃度の解析 日本薬学会 第 130 回年会, 2010 年 3 月, 岡山, CD 要旨集
- 11) 杉山晃一, 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 高木敬彦, 櫻田尚樹. 日本産たばこ主流煙の Tobacco specific-nitrosamine 測定法の検討 日本薬学会 第 130 回年会, 2010 年 3 月, 岡山, CD 要旨集
- 12) 大久保忠利, 稲葉洋平, 内山茂久, 櫻田尚樹, 後藤純雄. 尿中 1-hydroxypyrene の測定法の改良および喫煙・非喫煙者への適用 日本薬学会 第 130 回年会, 2010 年 3 月, 岡山, CD 要旨集
- 13) 内山茂久, 稲葉洋平, 櫻田尚樹. ハイドロキノン含浸シリカおよび 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン含浸シリカを充填したカートリッジによる α, β -不飽和アルデヒドの分析 日本化学会第 90 春季年会, 2010 年 3 月, 近畿大学, 日本化学会第 90 春季年会講演予稿集 (CD-ROM)
- 14) 松本陽子, 戸塚ゆ加里, 増田修一, 加藤達也, 能美健彦, 後藤純雄, 杉村隆, 若林敬二: ナノ粒子により誘発される in vivo 遺伝毒性, 日本環境変異原学会第 38 回大会, 静岡, 2009 年 11 月 26・27 日, プログラム・要旨集, p. 134.
- 15) Win-Shwe T, Kunugita N, Yamamoto S, Arashidani K, Fujimaki H. Effect of perinatal toluene exposure at different developmental

- phases on memory function-related gene expressions in mouse brain, 第 50 回大気環境学会年会, 平成 21 年 9 月 16~18 日, 横浜市(慶應義塾大学 日吉キャンパス), 第 50 回大気環境学会年会講演要旨集 p342
- 16) 秋山幸雄, 嵐谷奎一, 櫻田尚樹, 加藤貴彦, 山野優子, 内山巖雄. ホテルの室内空気汚染及び従業員の曝露調査, 第 50 回大気環境学会年会, 平成 21 年 9 月 16~18 日, 横浜市(慶應義塾大学 日吉キャンパス), 第 50 回大気環境学会年会講演要旨集 p574
- 17) 吉田安宏, Ding Ning, 野口順子, 櫻田尚樹, 杉浦勉. 化学物質過敏反応における新規バイオマーカーの探索, 第 27 回 産業医科大学学会, 平成 21 年 10 月 6 日, 北九州市,
- 18) 内山茂久, 稲葉洋平, 櫻田尚樹. ハイドロキノン含浸シリカを用いた空気中のアクロレインの分析, 室内環境学会 2009 年度総会, 平成 21 年 12 月 14~15 日, 東大阪市, 2009 年度室内環境学会総会講演集 p180~181
- 19) 加來知寿重, 秋山幸雄, 櫻田尚樹, 嵐谷奎一. 自動二輪車使用者の個人曝露調査, 大気環境学会九州支部第 10 回研究発表会、室内環境学会九州支部第 3 回研究発表会, 平成 26 年 1 月 27 日, 福岡市 (アクロス福岡),
- 20) 北田雅子, 稲葉洋平, 内山茂久, 吉見逸郎, 浅野牧茂, 櫻田尚樹. 手製イタドリタバコの標準的試験法によるタール量・ニコチン量について, 第 19 回日本禁煙推進医師歯科医師連盟総会・学術総会, 平成 22 年 2 月 27~28 日, 新潟市,
- 21) 内山茂久. カルボニル-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体の 2-ピコリンボランによる還元的アミノ化と高速液体クロマトグラフ分析 第 70 回分析化学討論会, 2009 年 5 月, 和歌山大学, 第 70 回分析化学討論会講演要旨集
- 22) 内山茂久, 松本真理子, 稲葉洋平, 鈴木元. 大気中のオゾンとアルデヒドの同時分析 第 18 回環境化学討論会, 2009 年 6 月, つくば国際会議場
- 23) 大坪泰文, 橋本真吾, 内山茂久. 拡散サンプラーによる大気中硫化水素の測定 第 19 回環境工学総合シンポジウム 2009, 2009 年 9 月, 沖縄県男女共同参画センター
- 24) 内山茂久. trans-1,2-ビス (2-ピリジル) エチレン含浸シリカと 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン含浸シリカを 2 層に充填したカートリッジを用いたオゾンとカルボニル化合物の同時分析 日本分析化学会第 58 年会, 2009 年 9 月, 北海道大学
- 25) Desorcie J, Sidisky L, Uchiyama S. Determination of Airborne Ozone and Carbonyls Using a Two-Bed Sampling Cartridge Containing trans-1,2-Bis(2-pyridyl)ethylene and 2,4-Dinitrophenylhydrazine. Pittsburgh Conference 2010, February 28 - March 5, 2010, Orlando, USA.
- 26) 吉見逸郎, 谷畑健生, 原めぐみ, 原田久, 岡本直幸, 緒方裕光. 地域における小児の受動喫煙曝露の実態について. 日本公衆衛生学会総会抄録集 68回 p405(2009)
- 27) 井埜利博. 子どもの喫煙・受動喫煙と循環器疾患 東京都大田区地域連携学術集会 Meet the Expert 2009 年 1 月 東京
- 28) Ino T, Okada R, Shibuya T, Kohta S, 他. Significance of Environmental Tobacco Smoke Screening in Children. 第 73 回日本循環器学会学術集会 2009 年 3 月 大阪
- 29) 井埜利博. 熊谷市禁煙推進システムの中での禁煙外来 越谷市医師会講演会 2009 年 3 月 埼玉
- 30) 井埜利博, 渋谷友幸, 斉藤洪太, 小林敏宏. 幼稚園児における受動喫煙が酸化ストレスに及ぼす影響 第 112 回日本小児科学会学