

たばこ銘柄：セブンスター	ISO	HCI
<b>主流煙</b>		
タール (mg/cig)	15	29
ニコチン (mg/cig)	1.1	2.2
一酸化炭素 (mg/cig)	12	26
変異原性 (revertants/cig)	43,200	58,500
<b>多環芳香族炭化水素 (PAH) (ng/cig)</b>		
ピレン	67	88
ベンゾ[a]アントラセン	21	27
クリセン	29	37
ベンゾ[b]フルオランテン	9.0	12
ベンゾ[k]フルオランテン	5.4	9.2
ベンゾ[j]フルオランテン	5.0	10
ベンゾ[e]ピレン	5.2	9.4
ベンゾ[a]ピレン	13	16
インデノ[123-cd]ピレン	18	22
ベンゾ[ghi]ペリレン	2.5	3.9
総PAH	180	240
<b>たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) (ng/cig)</b>		
4-(メチルニトロソアミノ) 1-(3-ピリジ ル) -1-ブタノン (NNK)	18	40
N'-ニトロソノルニコチン (NNN)	21	55
N'-ニトロソアナタビン (NAT)	36	82
N'-ニトロソアナバシン (NAB)	9.3	22
総TSNA	84	200
<b>たばこ葉</b>		
ニコチン (mg/g)	16.1	
<b>TSNA (ng/g)</b>		
NNK	110	
NNN	380	
NAT	410	
NAB	38	
総TSNA	938	
<b>変異原性 (revertants/g)</b>		
	<b>S9-</b>	<b>S9+</b>
TA100	neg	(3,200)
TA98	neg	neg
YG1024	(400)	(1,400)

## Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	Journal of Health Science	55	421-427	2009
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.	Analytical Chemistry	81	6552-6557	2009
Uchiyama, S.; Inaba, Y.; Matsumoto, M.; Suzuki, G.	Reductive Amination of Aldehyde 2,4-Dinitro- phenylhydrazones Using 2-Picoline Borane and High-Performance Liquid Chromatographic Analysis.	Analytical Chemistry	81	485-489	2009
吉見逸郎	タバコに含まれる有害物質	成人病と生活習慣病	39	977 - 984	2009
後藤純雄, 遠藤治, 内山茂久, 稲葉洋平	たばこ煙中の成分測定	臨床化学	39	123-129	2010
Inaba Y, Koide S, Yokoyama K, Karube I	Development of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) measurement method combined with SPE	Journal of Chromatographic Science	49	303-309	2011
Uchiyama S, Inaba Y, Kunugita N	Derivatization of carbonyl compounds with 2,4-dinitrophenylhydrazine and their subsequent determination by high-performance liquid chromatography	Journal of Chromatography B	879	1282-1289	2011

Uchiyama S, Inaba Y, Kunugita N	A diffusive sampling device for simultaneous determination of ozone and carbonyls	Analytica Chimica Acta	691	119-124	2011
Ino T, Shibuya T, Saito K, Ohtani T	Effects of maternal smoking during pregnancy on body composition in offspring	Pediatrics International			2011 (in press)
稲葉洋平, 内山茂久, 樺田尚樹	日本産たばこの主流煙の化学分析からみるたばこの害	保健師ジャーナル	67	408-413	2011
稲葉洋平, 内山茂久	喫煙と室内環境	空衛	66(3)	56-62	2012
太田和司, 内山茂久, 稲葉洋平, 中込秀樹, 樺田尚樹	ハイドロキノンと2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを含浸させた二連シリカカートリッジを用いる電子タバコから発生するカルボニル化合物の分析	分析化学	60(10)	791-797	2011

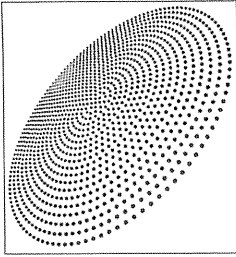
# 臨床化学

Vol.39 No.2 2010 別刷

特集

## 喫煙障害の分子機序

竹田真由, 船渡忠男



# 喫煙障害の分子機序

竹田真由\* 船渡忠男\*

## はじめに

喫煙は、肺がんを始めとするがん、虚血性心疾患、脳梗塞などの循環器疾患、肺気腫などの慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease; COPD)、消化性潰瘍など、多くの疾患の発症リスク因子になりうると考えられている<sup>1)</sup>。最近では、喫煙がメタボリックシンドロームの発症リスク因子であることが明らかとなっており、合併率も増加している<sup>2)</sup>。一方、喫煙障害の発症における分子機序が明らかとなりつつあり、各種疾患との関連性には遺伝子多型が関与するとの報告<sup>3)</sup>が多く、喫煙障害は遺伝子レベルにおける解明が進んでいる。本稿では、喫煙障害を臨床化学の視点から捉えた場合、分子機序と遺伝子多型の関連性に着目し、我々のこれまでの知見を含めて概説する。

## 1. 喫煙障害における酸化ストレスとの関連性

喫煙の健康被害についてのエビデンス (EBM: evidence-based medicine) は、とくに喫煙と肺がんの関連性において多く、1日のたばこの本数の増加が肺がんの死亡率のリスクとなりうる<sup>4)</sup>とされている。しかし、特定の遺伝

子のタイプ (遺伝子多型) が肺がんになりやすいかどうかは、EBMにおいて一定の結論は得られていない<sup>5)</sup>。そこで、遺伝子多型との関連性を解明するため、まず喫煙障害と酸化ストレスとの関連性に着目して、遺伝子多型についての検討を行った。

酸化ストレスは、生体内において酸化反応と抗酸化反応のバランスが崩れ、酸化に偏った状態である。酸化ストレス状態では、ミトコンドリアにおけるエネルギー代謝の過程や、薬剤、紫外線などによって活性酸素が発生する。がんや生活習慣病など多くの疾患では、生体は酸化ストレス状態にあり、活性酸素がこれらの疾患に関わっているとされる<sup>6)</sup>。すなわち、酸化ストレスは過剰な活性酸素が引き起こす状態である。喫煙 (たばこのニコチンなど種々の成分) における酸化ストレスおよび活性酸素との関連も明らかである<sup>7)</sup> (図1)。

喫煙が体内に酸化ストレスを加えていることを実証するため、酸化ストレスマーカーとして標準的に用いられているのは尿であるが、今回は血清 8-OHdG (8-Hydroxy-deoxyguanosine) 測定法にて検討した。8-OHdG は DNA 損傷の度合いを表し、酸化ストレス状態になると、活性酸素により DNA 中のデオキシグアノシンが酸化され産生される<sup>8)</sup>。喫煙者群 (1日20本以上の喫煙を10年以上続けている) は非喫煙者群 (年齢・性別をマッチ) と比較して、喫煙者群

\* 東北福祉大学 医療経営管理学科

466.8 ± 232pg/mL, 非喫煙者群 434.1 ± 162pg/mL で喫煙者群に血清 8-OHdG 高値およびばらつきの傾向が見られ, 体内の酸化ストレスが増加することが確認された(図2)。しかし, 喫煙指数(本/日 X 年数)の高値群が必ずしも血清 8-OHdG 値と相関はせず, 毎日の喫煙本数が酸化ストレスに影響する可能性は明らかではない。

## 2. 酸化ストレスと解毒

酸化ストレス状態に対し, 生体にはさまざまな防御機能が働く。その一つに挙げられるのが, グルタチオンの作用である。グルタチオンは細胞内の主要な SH 基 (チオール) 化合物であり, 多くの細胞内で還元型グルタチオン (GSH) として存在している。グルタチオンは SH 基にさまざまな物質を結合する。その結合反応を触媒する酵素としてグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)がある。グルタチオンとこれらの物質は, GST を介し結合物 (抱合体) を形成し細胞外に排出される。このように有害物質が取り除かれることによって, 解毒する働きがある<sup>9)</sup> (図1)。

たばこの化学物質は phase- I, phase- II の酵素によって代謝される。phase- I に分類される酵素として, 各種 cytochrome P450 (CYP) が存在し, phase- II には, GST, NADPH quinone oxidoreductase (NQO1), N-acetylttransferase2 (NAT2) などが含まれる。これらの酵素に関わる遺伝子の変異によって, 解毒能力に影響が及ぼされると考えられている。したがって, 喫煙障害における酸化ストレスとの関連性の中で, 体内の化学物質の解毒に深

く関わる制御機構としての抗酸化作用を有する phase- II の酵素である GST に着目した。

## 3. 酸化ストレスと GST 遺伝子多型

### 3.1 GSTA1多型

GST は, 6 番染色体 (p12.1) に存在し, 4 種の異なったクラスをもつ解毒酵素のマルチファミリーに属しており, 幅広い化学物質の代謝に関わる酵素である<sup>10)</sup>。その中でも  $\alpha$  クラスに属する酵素である GSTA1 に着目した。この GSTA1 には, プロモーター領域に -567T, -69C, -52G の塩基配列からなる GSTA1 \*A と -567G-69T-52A の塩基配列からなる GSTA1 \*B の 3 塩基の連関した一塩基変異をもつ多型が存在することが明らかにされている<sup>11)</sup>。最も頻度の高い変異は -69 C > T であり, 肝細胞におけるプロモーター活性は GSTA1 \*A のほうが顕著に高く, GSTA1 \*B の変異型では解毒の効果だけでなく, 発癌物質と毒素に対する個体の感受性を変化させると考えられている<sup>12)</sup>。

さらに, 抗酸化作用のある GSTA1 の多型の検出を行い, 正常型と変異型における 8-OHdG 値を比較した。変異型では酸化ストレスの解毒に対する感受性が変化し, 血清中の 8-OHdG 濃度の上昇を引き起こすという仮定の下で検討を行ったが, 喫煙群において, GSTA1 多型間における血清 8-OHdG 濃度の差は認められなかった (図3)。

### 3.2 GSTM1多型

GST 遺伝子ファミリーの多型性は, たばこによる結腸癌のリスクと考えられており, と

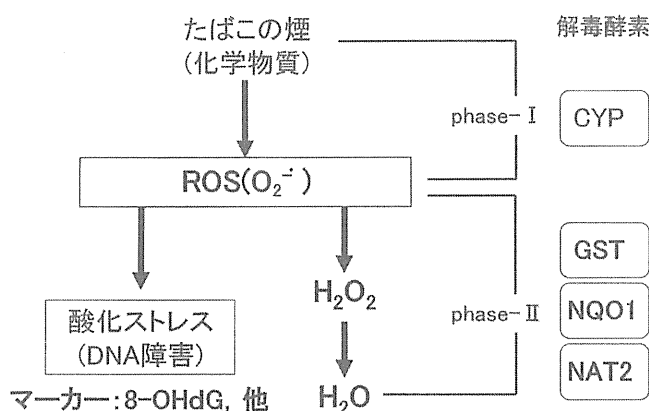


図1 喫煙における酸化ストレスと解毒酵素

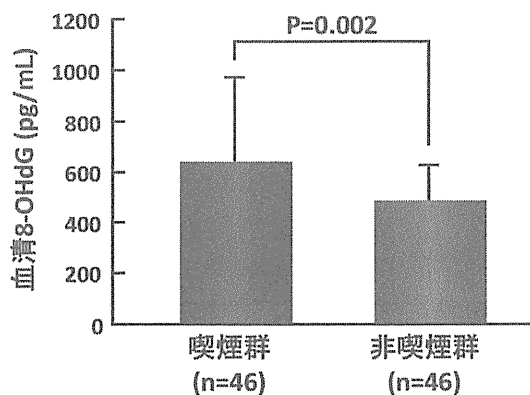


図2 喫煙の有無による血清 8-OHdG 濃度の比較

くに GSTM1 と GSTT1 の欠失型は大腸癌のリスクを増加することが示唆されている<sup>13)</sup>。我々のこれまでの検討では、喫煙群について GSTM1 多型間における血清 8-OHdG 濃度の差は認められなかった (図 4)。

### 3.3 GSTT1多型

GSTT1 多型を有すると、多くのがんにおいてリスクが高くなることが報告されている<sup>14)</sup>。とくに、GSTT1 と GSTM1 の欠失型を有するヘビースモーカー (60 本 / 日) が肺がんのリスクが高くなることが示されている。しかし、GSTM1 多型同様、我々のこれまでの検討では、喫煙群について GSTT1 多型間における血清 8-OHdG 濃度の差は認められなかった (図 5)。GSTT1 および GSTM1 欠失型が血清 8-OHdG (8-Hydroxy-deoxyguanosine) の増加と関連するデータは得られなかった。

## 4. 抗酸化能との関係

たばこの煙には、酸化ストレスの原因となる活性

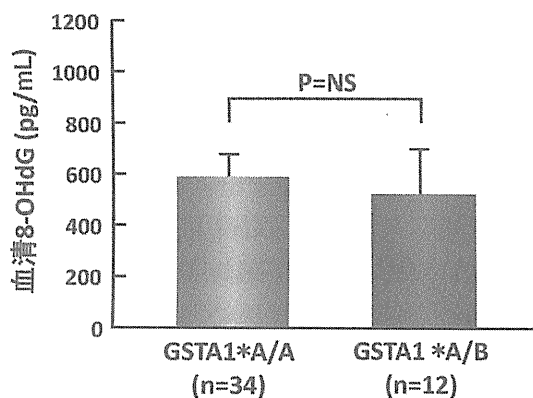


図 3 GSTA1 遺伝子多型による血清 8-OHdG 濃度 (喫煙者)

酸素種 (ROS: reactive oxygen species) が含まれている (図 1)。ROS の消去酵素であるスーパーオキシド・デスムターゼ superoxide dismutase (SOD) 活性が、酸化ストレスとのバランスで影響するのか、それは SOD の遺伝子多型に規定されているかという疑問がある。血清 SOD 活性測定は、テトラゾリウム塩還元法を用い、キサンチン (XA) -キサンチンオキシダーゼ (XOD) 系により生成するスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) が SOD により分解される割合をホルマザンの阻害率、すなわち SOD 無添加時のホルマザン生成の吸光度に対する減少率: SOD 阻害率 (%) で求めた<sup>15)</sup>。血清 SOD は、喫煙者で  $8.6 \pm 3.9$  U/mL と非喫煙者の  $6.9 \pm 2.7$  U/mL と比べて有意に高値を示した (図 6)。

### 4.1 SOD遺伝子多型

SOD は主たる抗酸化酵素として、活性酸素種が細胞レベルで増加すると抗酸化として作用して制御する。SOD の遺伝子は、SOD1, SOD2, SOD3 のファミリーがあり、それぞれ

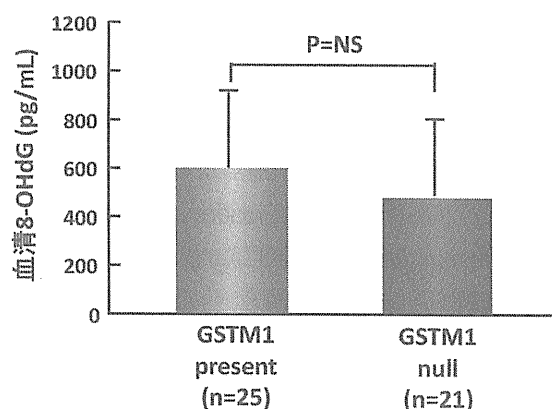


図 4 GSTM1 遺伝子多型による血清 8-OHdG 濃度 (喫煙者)

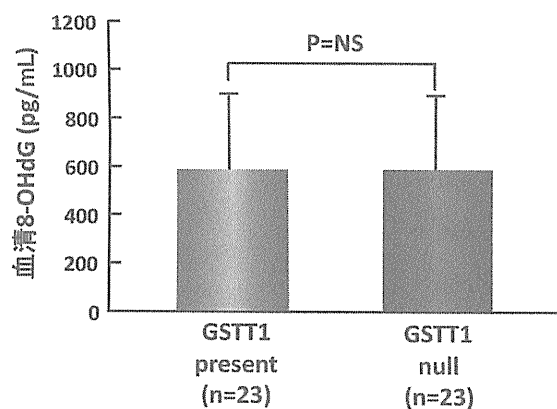


図 5 GSTT1 遺伝子多型による血清 8-OHdG 濃度 (喫煙者)

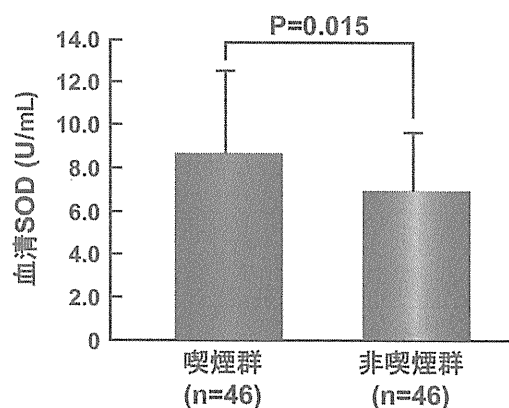


図 6 喫煙の有無による SOD 活性の比較



種々の疾患の病因と関連している<sup>16)</sup>。抗酸化に深く関連する。その中でSOD2は、Mn(マンガン)-SODとして知られ、金属との結合性からROSの制御に関連するため、SOD遺伝子多型としてSOD2遺伝子多型に着目した。SOD2遺伝子多型は、PCR-RFLP法により分析した。しかしながら、SODの遺伝子多型と血清SOD活性との関連は認められなかった(図7)。

#### 4.2 PON1遺伝子多型

他に抗酸化作用を示す酵素にパラオキシナーゼ paraoxonase があり、抗動脈硬化性の役割を有する<sup>17)</sup>。paraoxonaseにはPON1, PON2, PON3の遺伝子ファミリーがあり、それぞれ多型がある。PON1の抗動脈硬化性は、動脈硬化をリポ蛋白の酸化修飾から保護する(抗酸化作用)にある。paraoxonase遺伝子の内、PON1遺伝子多型が酸化ストレスと関連が深いことから、血清8-OHdG濃度に影響するかどうかを検討した。その結果、喫煙群において、PON1遺伝子多型の違いによって、血清8-OHdG濃度には差が認められなかった(図8)。

### 5. 喫煙と遺伝子多型との関連

喫煙者群と非喫煙者群における血清8-OHdG濃度の測定の検討から、喫煙により酸化ストレスが増強することが示唆された。また、喫煙者群では血清SOD活性が亢進しており、抗酸化作用も増強していることが示唆された。このことは、喫煙者はROSによる酸化ストレスに曝

され、これを抗酸化するために血清SOD活性が上昇しているものと考えられた。すなわち、血清SOD活性は、8-OHdGを主とする酸化ストレスにより規定されているものと考えられる。しかしながら、SOD遺伝子多型と酸化ストレス濃度には関連は認められなかった(図7)。

喫煙と解毒の関連におけるGST遺伝子多型は、GSTA1, GSTM1, GSTT1いずれかの欠損型において血清8-OHdG濃度が増加することを推定したが、これまでの検討では非喫煙者群と比較しても、有意な増加は認められなかった。

喫煙障害として肺におけるCOPDは、たばこによる気管支への長期曝露がROSの増加を来し、抗酸化低下による酸化ストレスの増加と考えられている。さらに、抗酸化の低下にGSTM1, GSTP1, SOD3遺伝子多型が関連するとの報告がある<sup>18)</sup>。

また、喫煙障害を臨床化学から捉えたと、問題点として以下の点が列挙される。1) 酸化ストレスマーカーとしての血清8-OHdGは、尿中濃度と異なり、多種の蛋白が混入するため、測定法での他の影響がないか、十分に吟味する必要がある。2) GSTおよびSOD, PON1などは、まず血中濃度と遺伝子多型との関連性を解明する必要がある。3) 抗酸化を有する酵素は、生体系には多数存在するため、1つの酵素活性が低下していても、他の酵素が補い、酸化ストレスの極端化が抑制されている可能性が強い。今後、喫煙障害を酸化ストレスに着目した分子機序から解明していくにあたっては、これらの

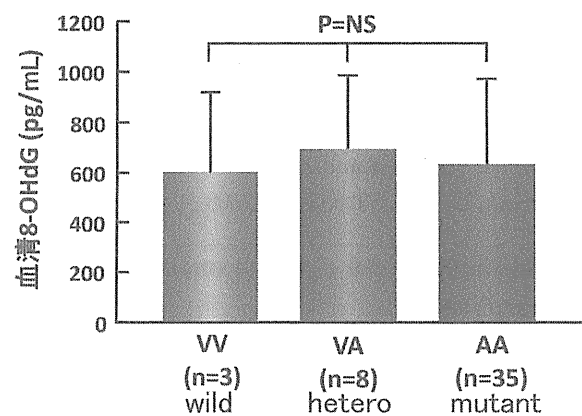


図7 SOD遺伝子多型による血清8-OHdG濃度(喫煙者)

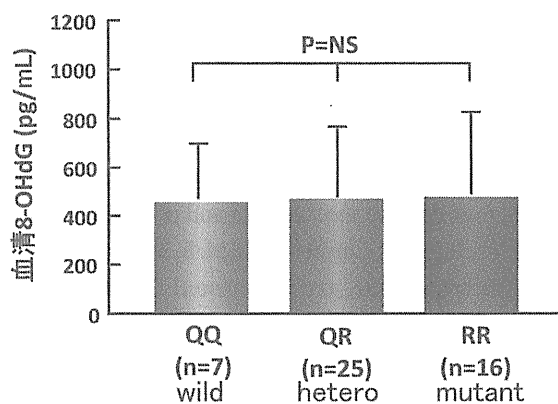


図8 PON1遺伝子多型による血清8-OHdG濃度(喫煙者)

問題を解決していく必要がある。さらに、喫煙者群という対象の妥当性、最適な酸化ストレスマーカーの測定系の検討など、多くの課題をクリアする必要がある。

以上のことより、喫煙者における酸化ストレス濃度測定と遺伝子多型との関連性を明らかにすることが、喫煙障害の解明につながると考え、さらに詳細な検討が必要である。

## おわりに

喫煙と活性酸素との関連に関して、酸化ストレスが生体に影響を与えている可能性が明らかとなった。喫煙における制御機構としては解毒作用および抗酸化作用があり、これらの酵素の遺伝子多型の検討を行ったが、現時点では関連性が明らかではない。今後、喫煙障害の分子機序を論ずる際に解決すべき課題を整理した。

## ■文献

- 1) 三原華子, 中山健夫: 能動喫煙による健康リスク-相対リスクと寄与リスク. 禁煙指導・支援者のための禁煙科学(日本禁煙科学会編), p14-17. 文光堂, 東京, 2007.
- 2) Berlin I: Smoking-induced metabolic disorders: a review, *Diabetes Metab*, **34**: 307-314, 2008.
- 3) Kotnis A, Sarin R, Mulherkar R: Genotype, phenotype and cancer: role of low penetrance genes and environment in tumour susceptibility. *J Biosci*, **30**: 93-102, 2005.
- 4) Doll R, Peto R: Cigarette smoking and bronchial carcinoma: dose and time relationships among regular smokers and lifelong non-smokers. *J Epidemiol Community Health*, **32**: 303-313, 1978.
- 5) 竹田真由, 船渡忠男: 喫煙障害における酸化ストレスの意義-文献的考察に基づくエビデンス (Evidence-based Medicine) -, 東北福祉大学研究紀要, **33**: 465-474, 2009.
- 6) Förstermann U: Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies, *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, **5**: 38-49, 2008.
- 7) Adamopoulos D, van de Borne P, Argacha JF: New insights into the sympathetic, endothelial and coronary effects of nicotine, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **35**: 458-463, 2008.
- 8) Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis, *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, **27**: 120-139, 2009.
- 9) Salinas AE, Wong MG: Glutathione S-transferases-a review, *Curr Med Chem*, **6**: 279-309, 1999.
- 10) McIlwain CC, Townsend MC, Tew KD: Glutathione S-transferase polymorphisms; cancer incidence and therapy, *Oncogene*, **25**: 1639-1648, 2006.
- 11) Ekhardt C, Rodenhuis S, Smits PH, Beijnen JH, Huitema AD: An overview of the relations between polymorphisms in drug metabolising enzymes and drug transporters and survival after cancer drug treatment. *Cancer Treat Rev*, **35**: 18-31, 2008.
- 12) Morel F, Rauch C, Coles B, Le Ferrec E, Guillouzo A: The human glutathione transferase alpha locus: genomic organization of the gene cluster and functional characterization of the genetic polymorphism in the hGSTA1 promoter, *Pharmacogenetics*, **12**: 277-286, 2002.
- 13) Ateş, NA, Tamer L, Ateş C, Ercan B, Elipek T, Ocal K, Camdeviren H: Glutathione S-transferase M1, T1, P1 genotypes and risk for development of colorectal cancer. *Biochem Genet*, **43**: 149-163, 2005.
- 14) Schneider J, Bernges U, Philipp M, Weitowitz HJ: GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer Lett*, **208**: 65-74, 2004.
- 15) 花田寿朗, 茂手木皓喜: 血清(漿)スーパーオキシドジムスターゼ(SOD)測定法の基礎的検討と臨床的意義. 機器・試薬, **8**: 629-635, 1985.
- 16) Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ: Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*, **33**: 337-349, 2002.
- 17) Li HL, Liu DP, Liang CC: Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med*, **81**: 766-779, 2003.
- 18) Bentley AR, Emrani P, Cassano PA: Genetic variation and gene expression in antioxidant related enzymes and risk of COPD: a systematic review. *Thorax*, **63**: 956-961, 2008

---

## Relationship between cigarette smoking and gene polymorphisms

Mayu Takeda\*, Tadao Funato\*

\* Division of Healthcare Economics and Quality Management, Tohoku Fukushi University

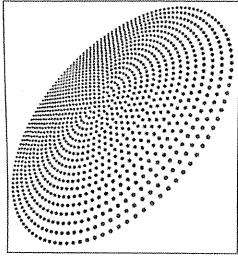
# 臨床化学

Vol.39 No.2 2010 別刷

特集

## たばこ煙の曝露評価法

稲葉洋平, 鈴木 元, 櫻田尚樹



# たばこ煙の曝露評価法

稲葉洋平\* 鈴木 元\*\* 櫻田尚樹\*

## 1. はじめに

我が国では、たばこの外箱側面に、たばこ事業法施行規則に基づき「財務大臣の定める方法により測定したたばこ煙中に含まれるタール量及びニコチン量」が印字されている。この数値は、国際標準化機構(International Organization for Standardization ; ISO) の定める測定法に基づいて、機械喫煙装置を用いてたばこの末端(吸い口)部より放出されるたばこ煙をガラスフィルターに捕集した後、化学分析した結果である。この際の喫煙方法は、吸煙量が35 mL、吸煙時間が2秒、吸煙間隔が1分と指定されている。この吸煙法によるたばこ1本あたりの吸煙回数は、6-8回となる。

しかしながら、過去の先行研究による指摘では、喫煙者の吸煙行動は、上記ISOで定められた方法とは必ずしも一致しない。同様に我々の研究グループが、日本人喫煙者を対象としてその吸煙量を調査したところ、ニコチン表示量

が0.6 mg未満のたばこを吸う喫煙者は、平均で58.4 mLの吸煙量であり、0.6 mg以上の場合は、同値50.0 mLであった<sup>1)</sup>。一方、日本たばこ協会の統計によると2008年度タール・ニコチン量(パッケージ表示)の平均値は、それぞれ6.6 mgと0.55 mgであり、1994年度の9.5 mgと0.78 mgから徐々に低下してきている。これに呼応するかのように日本では、低タール・低ニコチンたばこの喫煙者が増えている傾向が認められる。このように、日本では数多くの低ニコチンたばこが販売されているが、これらたばこはISO法での測定および検定の際に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法で定められた以上の吸い込み量、吸煙本数になると考えられる報告がされている<sup>2)</sup>。以上の実態を鑑みると喫煙者の曝露量は、たばこの銘柄以上に個人により大きな差があると考えられる。そのため喫煙による障害を評価するには、個人の曝露実態およびその評価を正確に行うことが重要になってくる。本論文では、曝露実態およびその

\* 国立保健医療科学院

\*\* 国際医療福祉大学

表1 Biomarkers useful in evaluating tobacco use

Biomarkers	Measurement of
<b>Exposure markers</b>	
NNAL and NNAL-glucuronide in urine	Carcinogen (NNK) uptake
3-Aminobiphenyl-, 4-aminobiphenyl, and other aromatic amine-Hb adducts	Carcinogen (aromatic amine) uptake plus metabolic activation
Nicotine/cotinine	Chemical uptake and metabolism
Carbon monoxide	Chemical uptake
Urine mutagenicity	Mutagen uptake
<b>Effect markers</b>	
Sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes	DNA damage
Flow-mediated dilation	Endothelial function
Circulating endothelial precursor cells	Endothelial function
Fibrinogen	Hypercoagulable state
Homocysteine	Hypercoagulable state
Macrophages	Inflammation
White blood cell count	Inflammation
C-reactive protein	Inflammation
sICAM1	Inflammation
Glucose-clamping studies	Insulin resistance

Source: modified from reference 5.

評価法について提案していく。

まず、個人の曝露評価を行うためには、3つの情報が必要となる。

1. 喫煙習慣に関する聞き取り調査
2. 吸煙行動パターンの測定
3. 曝露指標マーカーの測定（ニコチン関連物質、粒子相、ガス相）

さらに、得られた各喫煙者の曝露評価結果に基づき他の臨床検査を実施することで、喫煙障害の原因がより明確になると考えている。

## 2. 喫煙習慣に関する聞き取り調査

まず、喫煙者の喫煙状況を知るために喫煙者の喫煙本数、喫煙年数、ファーガストロームのニコチン依存度指数（Fagerström Test for Nicotine Dependence; FTND）<sup>3)</sup>、喫煙銘柄のタール・ニコチン値といった基礎情報を得る。FTNDは、ニコチンの依存度を判定するために開発された質問評価表である。起床後何分で最初の喫煙をおこなうか？などの質問に答え、数値化する。これによりニコチンの依存度が推定できる。また、喫煙本数と喫煙年数を掛け合わせた値（喫煙指数）が、ブリンクマン指数（Brinkman Index）である。喫煙銘柄のデータは、実際の曝露マーカー測定結果との関連性を

評価するために必要である。以上の調査により、喫煙者のニコチン依存度と曝露歴を把握する。

## 3. 吸煙行動パターンの測定

喫煙行動を知ることは、曝露実態を把握するうえで重要な因子になると考えている。近年、携帯型の吸煙行動をモニタリングする Clinical Research Support System smoking topography machine (CRSSmicro 装置) が開発された。この装置をたばこの吸い口に設置して喫煙することで、吸煙行動（一回吸煙（パフ）の回数、パフの容量、流速、パフ持続時間、パフ間隔、吸ったたばこ煙の総量）の数値が、1本当たりおよび総量として求められる。Strasser らの報告によるとレギュラーたばこ喫煙者の1本あたりの平均吸煙量が594.3 mLであり、ライト/ウルトラライト喫煙者は、742.3 mLであった。よってタール・ニコチン表示の低いたばこを吸う喫煙者ほど、吸煙量が多くなる傾向が認められた<sup>4)</sup>。また、日本人喫煙者において吸煙量と呼気中の一酸化炭素（CO）濃度または、唾液中コチニン濃度の間に相関関係が認められている<sup>1)</sup>。すなわち、タール・ニコチン表示の低いたばこ喫煙者で、吸煙量が多い場合は、ガス曝露マーカーに注意する必要があるといった喫煙

障害の要因の考察の一助になると考えられる。よって喫煙行動の曝露量を把握する上では、重要な測定項目になり、個人の喫煙実態を把握するためには、大きな情報となる。

#### 4. 曝露マーカーの測定

表1は、WHOが提案しているたばこ使用における有用な生体指標類を記載している<sup>5)</sup>。このうち特に曝露指標に関しては、たばこ煙中に含まれる化学成分を軸に評価を行う必要があることを明記している。このたばこ主流煙は、大きく分けると2種類の化学物質群が存在する。1つは、粒子相であり、多環芳香族炭化水素類とニトロソアミン類をはじめとする発がん性物質などが含有されている。もう1つがガス相である。このガス相にも、ベンゼン、ホルムアルデヒドなど発がん性物質が含まれている。同時に毒性の高い一酸化炭素やアクロレインなども含有されている。この主流煙中に含有される化学物質の特性および代謝物を理解して曝露評価を行うことが必要であると考えられる。

##### 4.1 ニコチン関連物質

ニコチンの摂取を評価する方法として、尿中のニコチン、その代謝物であるコチニンと3-ヒドロキシコチニンの測定を実施する。ニコチンは、たばこの葉中に含有されるアルカロイドであり、依存性の高い物質である。古くは、昭和16年に刊行された「煙草の科学」においても煙草とニコチンの関係性が記載されている。2006年からはニコチン依存の根拠をもとに禁煙治療に対する保険適用が開始されている。このニコチンは、吸収後2時間程度でコチニンに代謝され、さらに17時間後に3-ヒドロキシコチニンへ代謝される。尿中には主にその3物質が排泄されている。問診で行えるFTNDテストのスコアが高い対象者ほどニコチン関連物質の濃度も高いと推測される。しかも、ニコチン代謝関連物質を定量することによって、正確な曝露または依存度が評価できると考えられる。一連の代謝物の測定法は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC - UV)<sup>6)</sup>、HPLCと質量分析機器を組み合わせたもの(LC-

MS-MS)<sup>7)</sup>、ガスクロマトグラフィー-質量分析計 (GC-MS)<sup>8)</sup>が報告されている。Uedaらの報告では日本人喫煙者246名に対しての尿中のニコチン代謝物の合計量調査でパッケージ表示0.1 mgニコチンたばこ喫煙者は3,583  $\mu\text{g/g}$  creatinineであったのに対し、1 mg以上のニコチンたばこ喫煙者は、7,716  $\mu\text{g/g}$  creatinineであった<sup>9)</sup>。すなわち喫煙者は、高ニコチンたばこ喫煙者と比較してパッケージ表示が1/10量の低ニコチンたばこ喫煙者でも約半分ものニコチン曝露量があることが分かる。これ故ニコチン代謝物の測定は、ニコチンの摂取量を知るために有効である。なお、通常、随時尿検査における尿中濃度は尿の濃度を補正するためにクレアチニン補正を行って示されることが一般的である。

##### 4.2 粒子相由来物質

主流煙には、ニトロソアミン類が含まれており、特に tobacco specific *N'*-nitrosamines (TSNA) として4種が存在する。TSNAはたばこ葉のアルカロイドである nicotine, nornicotine, anatabine, anabasine と亜硝酸や硝酸が反応して、4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), *N'*-nitrosonornicotine (NNN), *N'*-nitrosoanatabine (NAT) と *N'*-nitrosoanabasine (NAB) が生成される<sup>10)</sup>。また、たばこの発酵、製造過程により生成されるものや、たばこの燃焼時に熱合成により生成されるものもある<sup>11)</sup>。4種のTSNAのうち、NNKとNNN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 (ヒトに対する発がん性が認められる) に分類されている。このうちNNKは、体内に吸収された後、代謝されたものが尿中に排泄される。この代謝物が4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) とそのグルクロン酸抱合体である NNAL-Glu である。この NNAL, NNAL-Glu の測定により曝露実態を評価する。NNAL の測定法は、 $\beta$ -グルクロナダーゼによってグルクロン酸抱合を脱抱合し、前処理を行って LC-MS-MS による測定が一般的となっている<sup>12)</sup>。しかしながら、尿中の含有量が微量であるためによりよい分析法の開発が望まれて

いる。それ故、日本人喫煙者での報告は少なく、今後の曝露実態解明が望まれている。海外では、Bernertらの報告によるとレギュラーたばことライト/ウルトラライトたばこ喫煙者のNNAL, NNAL-Gluの合計濃度は、各々319.4, 332.5 pg/mLでありタール表示量による曝露量の差は認められなかった<sup>13)</sup>。最近ではKavvadiasらが、NNAL, NNAL-Gluばかりでなく、代謝されずに尿に排泄されたNNN, NNK, NAT, NABも合わせて測定することにより曝露評価を行っている<sup>14)</sup>。

多環芳香族炭化水素類 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH) は、一般的に炭化水素のみで構成された環状不飽和化合物 (芳香環) が2つ以上縮合したものの一群を指し、有機物質の不完全燃焼により発生することが知られており、たばこ主流煙にも含まれている。このようなPAHの代表的なものとしてBenzo[a]pyrene (BaP) があり、これら化合物は発がん性、変異原性、内分泌かく乱作用を示すことも知られている。Pyreneは上記BaPの主骨格を構成し、またこれ以外の変異原性を有するBenzo[e]pyrene、変異原性及びがん原性の可能性があるDibenzo[a,e]pyreneなどの主構造となる。それ故、Pyreneは燃焼により発生するこれら化合物の生成時に主反応物質となり、またこれら化合物を含むたばこ主流煙においてもその存在量は多い。このためPyrene等が多く発生する環境において、その体内代謝物質である1-Hydroxypyrene (1-OHP) は1980年代から大気や土壌、たばこ煙中等のPAHのヒトへの曝露影響調査の指標として測定されてきた。

上記の環境の中で喫煙によるPAHへの曝露は労働環境によるPAHへの曝露調査と同等に重要な課題となっている。このため主に喫煙によるPAH曝露調査は主流煙、つまり喫煙者を対象としたものが多い。これら調査からは喫煙本数と1-OHPとの関連などが示唆されている。日本人喫煙者の測定報告は、早川らの非喫煙者と喫煙者の比較があり、0.06と0.12  $\mu\text{mol/mol}$  creatinineであった。また、Hechtらの報告によるとレギュラー、ライト、ウルトラライトたばこ喫煙者の1-OHP濃度は、タール表示量に

よる曝露量の差は認められなかった<sup>15)</sup>。

1-OHPの測定方法としては、ほとんどが高速液体クロマトグラフィー-蛍光検出法 (HPLC-FLD) を用いている。これは1-OHPのグルクロン酸抱合体や硫酸抱合体を脱抱合した上でSolid phase extraction (SPE) とHPLC-FLDによる簡易測定法をJongeneelenらが開発したため、多くの研究者が参考に行っていることに起因している<sup>16)</sup>。これ以外では上記グルクロン酸および硫酸抱合体のまま測定するため、LC-MS-MSやGC-MSを利用した分析方法も開発されている<sup>17,18)</sup>。

### 4.3 ガス相関連物質

たばこの燃焼によって一酸化炭素 (CO) が発生する。曝露されたCOは呼気から測定できる。COは、たばこ特異的な成分ではないが、喫煙者のCO濃度は、非喫煙者と比較すると高値である<sup>19)</sup>。呼気中CO濃度は、これまでの研究で喫煙者のたばこパッケージに表示されるニコチン・タール量に依存することなく一定の濃度である。さらに、最近では米国を中心として販売されており、有害性を低減する可能性のあるたばこ製品 (Potential Reduced Exposure Products; PREP) でも、ニコチン表示が0.05, 0.3, 0.6 mgに関らず、CO曝露量はほぼ一定であることが報告されている<sup>20)</sup>。このようにCO濃度は、タール・ニコチンの表示量に係らないことが分かってきている。なおCO濃度の測定には比較的簡便であり、その多くが高精度の携帯型のCO計が用いられている。

主流煙のガス相成分の代表は、COではあるが、ベンゼンをはじめとする揮発性有機化合物も含まれている。中でもベンゼンは、喫煙時の不完全燃焼により発生し、IARCの発がん性リスク一覧においてグループ1に分類されている。このベンゼンの代謝物としてtrans,trans-muconic acid (t,t-MA) とS-phenylmercapturic acid (S-PMA) が尿中に排泄される<sup>21)</sup>。t, t-MAとS-PMAの測定法は、陰イオン交換処理を行って、HPLC-UV, LC-MS-MSによる測定が一般的となっている<sup>21, 22, 23)</sup>。Melikianらの報告では、上記2代謝物について非喫煙者と喫煙者との比較を行っている。S-PMA濃度は、非喫

煙者が 4.8  $\mu\text{g}/\text{g}$  creatinine, 喫煙者が 9.1  $\mu\text{g}/\text{g}$  creatinine であった. t, t-MA 濃度は, 0.07 および 0.15  $\text{mg}/\text{g}$  creatinine といずれも喫煙者が高い濃度であった<sup>21)</sup>. さらに Melikian らは, コチニンを測定し, ベンゼン代謝物とコチニンとの関連性も報告している<sup>22)</sup>. ベンゼンは, たばこ特異的な成分ではないが, 他の曝露指標と合わせて評価することにより有効な指標になると考えている.

## 5. おわりに

喫煙者のたばこ煙の曝露実態は, 個人差がある. その理由は, 喫煙銘柄に起因した喫煙行動の変化, さらにはニコチン依存による変動に加えて社会状況における喫煙場所の変化などいくつかの要因が挙げられる. また, 喫煙銘柄名の変更はないが, その成分含有量の変化も海外では報告されている. それを評価するためには, 1 種類の化学成分により曝露評価することは難しい. 今回提案した手法は, 喫煙行動による吸煙量, 喫煙者の曝露状態を依存性のあるニコチン関連物と煙成分の粒子相に由来する化合物, 最後にガス相に由来する化合物を生体試料から測定することで総合的な曝露評価を行う方法である. 今回注目した成分以外でも, タール相, ガス相を反映する成分であれば曝露評価は, 行うことが可能であると考えている.

今回提案した曝露評価法をさらに発展させれば, 喫煙による健康障害, 既に喫煙に関連した初期の症状があると診断された患者への曝露実態に基づく適切な治療計画や行動変様に役立つ. さらに, 曝露状態から, 症状の推測または臨床検査の組み合わせによる診断にも応用できると考えられる.

## 謝辞

本総説は, 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およ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」により実施された.

## ■文献

- 1) 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. 平成20年度厚生労働省科学研究費補助金 第3次対がん総合戦略事業「たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質等の新しい国際標準化試験法に関する研究」平成20年度分担報告書 (主任研究者 遠藤治). 2009
- 2) 浅野牧茂. たばこ煙に含まれる物質: 成人病と生活習慣病, **33**: 769-778, 2003
- 3) Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Fagerström KO: The Fagerström test for nicotine dependence, a revision of the Fagerström tolerance questionnaire; *Br J Addict*, **86**: 1119-1127, 1991
- 4) Strasser AA, Malaiyandi V, Hoffmann E, Tyndale RF, Lerman C: An association of CYP2A6 genotype and smoking topography; *Nicotine Tob Res*, **9**: 511-518, 2007
- 5) WHO Study Group; The scientific basis of tobacco product regulation: 4 Biomarkers of tobacco exposure and of tobacco smoke-induced health effects, *World Health Organ Tech Rep Ser*, 945, 47-48, 2007.
- 6) Rop PP, Grimaldi F, Oddoze C, Viala A: Determination of nicotine and its main metabolites in urine by high-performance liquid chromatography, *J Chromatogr*, **612**: 302-309, 1993.
- 7) Tuomi T, Johnsson T, Reijula K: Analysis of nicotine, 3-hydroxycotinine, cotinine, and caffeine in urine of passive smokers by HPLC-tandem mass spectrometry, *Clin Chem*, **45**: 2164-2172, 1999
- 8) Matsuki H, Hashimoto K, Arashidani K, Akiyama Y, Amagai T, Ishizu Y, et al.: Studies on a simultaneous analytical method of urinary nicotine and its metabolites, and their half-lives in urine, *J UOEH*, **30**: 235-252, 2008.
- 9) Ueda K, Kawachi I, Nakamura M, Nogami H, Shirokawa N, Masui S, et al.: Cigarette nicotine yields and nicotine intake among Japanese male workers, *Tob Control*, **11**: 55-60, 2002.
- 10) Anderson RA, Kasperbauer MJ, Burton HR, Hamilton JL, Yoder EE: Changes in chemical composition of homogenized leaf-cured and air-cured burley tobacco stored in controlled environments, *J Agri Food Chem*, **30**: 663-668, 1982.
- 11) Wu W, Zhang L, Jain RB, Ashley DL, Watson CH: Determination of Carcinogenic Tobacco-Specific Nitrosamines in Mainstream Smoke from U.S.-brand and non-U.S.-brand Cigarettes from 14 Countries, *Nicotine Tob Res*, **7**: 443-451, 2005.
- 12) Xia Y, McGuffey JE, Bhattacharyya S,



- Sellergren B, Yilmaz E, Wang L, Bernert JT: Analysis of the Tobacco-Specific Nitrosamine 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol in Urine by Extraction on a Molecularly Imprinted Polymer Column and Liquid Chromatography/ Atmospheric Pressure Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Anal Chem*, **77**: 7639-7645, 2005.
- 13) Bernert JT, Jain RB, Pirkle JL, Wang L, Miller BB, Sampson EJ: Urinary tobacco-specific nitrosamines and 4-aminobiphenyl hemoglobin adducts measured in smokers of either regular or lights cigarettes, *Nicotine Tob Res*, **7**: 729-738, 2005.
- 14) Kavvadias D, Scherner G, Cheung F, Errington G, Shepperd J, McEwan M: Determination of tobacco-specific N-nitrosamine in urine of smokers and non-smokers, *Biomarkers*, **14**: 547-553, 2009.
- 15) Hecht SS, Murphy SE, Carmella SG, Li S, Jensen J, Le C, et al.: Similar uptake of carcinogens by smokers of regular, light, and ultralight cigarettes, *Cancer Epidemiol biomarkers Prev*, **14**: 693-698, 2005.
- 16) Jongeneelen FJ, Anzion RBM, Henderson PTh: Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine, *J Chromatogr*, **413**: 227-232, 1987.
- 17) Kakimoto K, Toriba A, Ohno T, Ueno M, Kameda T, Tang N, et al.: Direct measurement of the glucuronide conjugate of 1-hydroxypyrene in human urine by using liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **867**: 259-263, 2008.
- 18) Jonsson G, Beyer J, Wells D, Ariese F: The application of HPLC-F and GC-MS to the analysis of selected hydroxyl polycyclic hydrocarbons in two certified fish bile reference materials, *J Environ Monit*, **5**: 513-520, 2003.
- 19) 川根博司: 呼気中 CO 濃度測定を利用した禁煙指導, *日医雑誌*, **116**: 361-364, 1996.
- 20) Strasser AA, Lerman C, Sanborn PM, Pickworth WB, Feldman EA: New lower nicotine cigarettes can produce compensatory smoking and increased carbon monoxide exposure, *Drug Alcohol Depend*, **86**: 294-300, 2007.
- 21) Melikian AA, O'Connor R, Prahalad AK, Hu P, Li H, Kagan M, et al.: Determination of the urinary benzene metabolites S-phenylmercapturic acid and trans, trans-muconic acid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Carcinogenesis*, **20**: 719-726, 1999.
- 22) Melikian AA, Prahalad AK, Hoffmann D: Urinary trans, trans-muconic acid as an indicator of Exposure to benzene in cigarette smokers, *Cancer Epidemiol biomarkers Prev*, **2**: 47-51, 1993.
- 23) 井上修, 葛西清美: ppb レベルにおける職業的ベンゼン曝露の尿中 t, t-ムコン酸とフェニルメルカプツール酸の曝露指標としての比較, *日職災医誌*, **53**: 6-11, 2005.

---

#### Exposure evaluation method of tobacco smoke

Yohei Inaba\*, Gen Suzuki\*\*, Naoki Kunugita\*

\*National Institute of Public Health

\*\*International University of Health and Welfare

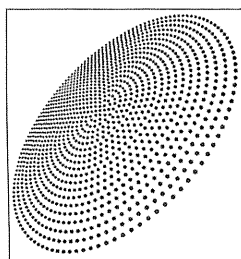
# 臨床化学

Vol.39 No.2 2010 別刷

特集

## たばこ煙中の成分測定

後藤純雄, 遠藤 治, 内山茂久, 稲葉洋平



# たばこ煙中の成分測定

後藤純雄\* 遠藤 治\* 内山茂久\*\* 稲葉洋平\*\*

## 1. はじめに

喫煙者はたばこの葉に含まれるニコチンを効率よく摂取するため、たばこの葉を400-700℃で燃焼させ、発生したニコチンを煙（主流煙）やガスとともに経気道摂取する。しかし、同時にニコチン以外の有害な化合物も取り込んでいる。市販たばこのパッケージには主流煙のニコチン量とタール量が表示されている。このタールには疾病と関連した有害な化合物が多く含まれ、数千種の化合物が検出されている。特に、肺がんとたばこ喫煙との関連性が見いだされてから様々なタイプの発がん物質が検出されるようになり定量的測定もなされている。本稿では、これまでに測定されてきた発がん関連物質のうち、多環芳香族炭化水素類（polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH）、たばこ特異的ニトロソアミン類（tobacco specific *N*-nitrosamines, TSNA）およびアルデヒド類を取り上げそれらの分析法、更に遺伝子への影響を調べる手法である変異原性試験法についてたばこ煙の測定結果などを紹介しながら概説する。

## 2. たばこ煙中の多環芳香族炭化水素類 (PAH) の分析法

多環芳香族炭化水素類 (PAH) は、Benzo[a]pyrene に代表される重要な発がん関連物質群である。有機物の不完全燃焼や熱分解に伴って容易に発生するため自動車排ガス、石炭燃焼ガス、ストーブ排ガス、ろうそくや線香の煙、たばこの煙などからも検出され、空気、土壌、河川水から食品に至るまで様々な環境媒体からも検出されている。たばこの煙にも多種類の PAH が含まれており、そのうち幾つかは表 1 に示してあるように 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 (The agent is carcinogenic to humans. ; ヒトに対する発がん性が認められる) とグループ 2A (The agent is probably carcinogenic to humans. ; ヒトに対する発がん性がおそらくある) とグループ 2B (The agent is possibly carcinogenicity to humans. ; ヒトに対する発がん性が疑われる) とグループ 3 (The agent is not classifiable as to its carcinogenicity to humans. ; ヒトに対する発がん性が分類できない) に分類され、たばこ 1 本当たりの発生量が報告されている PAH が 10 種ある<sup>1)</sup>。

\* 麻布大学 生命・環境科学部

\*\* 国立保健医療科学院 生活環境部

表1 たばこ主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素 (PAH) の測定結果<sup>1)</sup>

Agent	Amount in mainstream		
Benz[a]anthracene	20-70	ng/cig	IARC Group 2B
Benzo[b]fluoranthene	4-22	ng/cig	IARC Group 2B
Benzo[j]fluoranthene	6-21	ng/cig	IARC Group 2B
Benzo[k]fluoranthene	6-12	ng/cig	IARC Group 2B
Benzo[a]pyrene	8.5-11.6	ng/cig	IARC Group 1
Dibenzo[a,h]anthracene	4	ng/cig	IARC Group 2A
Dibenzo[a,i]pyrene	1.7-3.2	ng/cig	IARC Group 2B
Dibenzo[a,e]pyrene	present		IARC Group 3
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	4-20	ng/cig	IARC Group 2B
4-Methylchrysene	ND-0.6	ng/cig	IARC Group 3

表2 これまでに提案されたたばこ自動喫煙装置の喫煙モード<sup>1)</sup>

Protocol	Puff duration (sec)	Puff interval (sec)	Puff volume (mL)	Butt length (mm)	Filter ventilation holes
Tobacco Research Council	2	60	35	25	not applicable
Federal Trade Commission	2	60	35	23*	open
International Standards Organization	2	60	35	23*	open
Massachusetts	2	30	45	23*	half blocked
Health Canada 1998-99	2	26	56	23*	fully blocked
Health Canada 2000	2	30	55	23*	fully blocked
International Committee for Cigar Smoke Study	1.5	40	20	33	open

\*Cigarettes smoked to a 23mm butt length or, if in excess of 23mm, to the length of the filter and overwrap plus 3mm.

たばこの煙中の PAH の分析は、通常、たばこの煙発生→煙の採取→抽出・濃縮→分離→検出測定 of 各ステップで進められている。分析に供するたばこの煙の発生にはヒトの喫煙状況 (燃焼条件) を一定にするため、たばこ自動喫煙装置が用いられる。しかし、想定した喫煙状況の違いにより表2のように幾種かの喫煙モードが提案されている<sup>1)</sup>。喫煙モードにより、パフ時間、パフ間隔、パフ容量、吸い殻長、フィルターに付けてある穴の塞ぎ具合が異なっており、主流煙と副流煙の採取量が異なるばかりでなく空気吸引速度の違いにより着火部分の燃焼温度が異なってくる。このため有害成分の発生量などが異なってくるが、最近のヒトの喫煙習慣を考慮したカナダ法が推奨されつつある<sup>2)</sup>。このカナダ法は、カナダ保健省が提唱する喫煙法で、低タール・低ニコチンたばこを喫煙するたばこの喫煙者はニコチンを体内に取り込むた

めに「代償性補償喫煙」を行う傾向があるため、その喫煙行動に近い喫煙法となっている。

発生した煙中の粒子状物質には分子量の高い有害物質が比較的多く含まれ、これらはガラス繊維、石英繊維、テフロンコーテッド繊維などのフィルターで採取される。分子量の低い成分を含むガス状試料は、フィルターで粒子状試料を採取した後にテナックス、XAD、PUF 樹脂などをカートリッジにセットして吸着採取する。フィルターで採取した試料中の PAH は、一般に扱いやすい有機溶剤を用いて抽出するが、有機溶剤を使用しない方法も開発されている。PAH の昇華性を利用して真空昇華し抽出する方法もあり、空気浮遊粉じん中の夾雑物から PAH を直接抽出した例がある<sup>3)</sup>。たばこなどの燃焼で発生する PAH は低分子量のものから高分子量のものまで数 10 種に及ぶため揮発性の高い低分子量の PAH も含めて分析する場合に