

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
分担研究報告書

他者危害性の理解につながる受動喫煙の新しい曝露指標の検討

研究分担者 河井 一明 産業医科大学 産業生態科学研究所 教授

研究要旨：受動喫煙の他者危害性の理解につながる曝露指標に関する既存文献を調査したところ、受動喫煙の曝露指標に関する報告（4953 報）のうち、ニコチンまたはコチニンを曝露指標としたものが約 87%を占めていた。その理由として、検出感度・精度ならびにたばこ特異性の高さが挙げられる。しかし、体内吸収、代謝などの個体差や、たばこの有害作用との因果関係など、問題点も指摘されている。近年、たばこ煙に特異的な発がん性ニトロソアミン類が測定されるが、高度な分析技術や装置を必要とすることから、報告数は 153 報に限られている。また分析対象は、短期曝露の評価に適する尿や血液が多い。一方、長期曝露影響を評価する目的で毛髪の利用が増加傾向にある。受動喫煙レベルの定量的評価と健康影響の予測を目指して、曝露指標の検索がさらに必要と考える。また、疫学研究で喫煙との相関が示された、尿中 7-methylguanine (7-mG) の受動喫煙曝露指標としての有用性を検討した。禁煙外来患者の尿を分析した結果、禁煙開始後に 7-mG レベルの低下が認められた。さらに、尿中 7-mG 量はコチニン量と相関する傾向が見られた。今後、個人レベルで受動喫煙の影響を評価できる可能性を期待したい。本研究は、産業医科大学倫理審査委員会の承認を得て行った。

A. 研究目的

受動喫煙の防止に向けて、たばこ煙の曝露量を評価できる指標の開発が望まれる。これまで、血中及び尿中のニコチンやコチニンのレベルが、たばこ煙の評価指標として用いられてきた。しかし、ニコチンやコチニンは、たばこ煙の有害影響に直接影響する物質でないことから、受動喫煙の他者危害性を考えるときに適切な評価指標を検索する意義は大きい。本研究では、はじめに他者危害性の理解につながるたばこの曝露指標に関するレビューを文献調査により行って、現状を把握したい。さらに新たな曝露指標として尿中 7-methylguanine (7-mG) 量に着目し、たばこ煙の曝露量の評価指標としての有用性について検討したい。尿中 7-mG 量については、これまでの疫学研究によって、喫煙との相関が報告されている。

B. 研究方法

1. 受動喫煙の他者危害性の理解につながる曝露指標に関するレビュー

文献データベース Scopus を用いて、1960 年から 2016 年までに出版された受動喫煙の曝露指標に関する論文を検索し、検索結果の解析を行った。

2. 尿中 7-mG 量を用いた能動喫煙、受動喫煙の曝露量の把握

尿中 7-mG は、254nm の UV 検出器を用いてイオン交換カラムを装着した HPLC で定量を行った。同時に、尿の濃度補正を行う目的で、235nm の UV 検出器でクレアチニンの定量を行った。測定に用いた検体は、禁煙外来を実施しているクリニックの協力を得て、禁煙外来を受診した患者から採取し、測定時まで -20°C で凍結保存した。研究計画は、図 1 に示したとおり、禁煙外来の初診日と禁煙開始後 2 週間後ならびに 8 週間後に採尿を行う。合わせて、適宜アンケート調査により生活習慣の情報を得る。今年度の測

定は、現時点で検体が得られた初診時と禁煙 2 週間後の尿について行い、結果を比較検討した。また、初診時の尿については、たばこ煙の曝露量を評価する目的で、コチニンレベルを GC-MS を用いて定量した。8 週目のサンプリング及び被験者数の増加について、継続して研究を行っている。

(倫理面への配慮)

本研究は、産業医科大学倫理審査委員会の承認を得ている (承認番号 : H26-239)。

C. 研究結果

1. 受動喫煙の他者危害性の理解につながる曝露指標に関するレビュー

受動喫煙の曝露評価に関する論文数は、1970 年～2016 年の調査時点までの約 46 年間で 4953 報に及ぶ。また、年間に報告される数は最近では 300 報を超え、年を追って増加傾向を示している、受動喫煙の曝露に対する関心の高さが伺える (図 1)。報告に用いられている曝露指標については、ニコチン及びその代謝物であるコチニンが最も多く、全体の 89% を占めている。特にコチニンが指標として用いられることが多い。その理由として、検出感度が比較的高く受動喫煙のレベルでも検出が可能であることや血液、尿、唾液など幅広い試料を測定対象にできることが挙げられる (表 1)。その一方で、ニコチンからコチニンへの代謝が遺伝的に個体差があること、たばこ煙の健康有害影響のうちニコチンやコチニンに直接起因する割合が低いこと、分析の前処理の過程ではらつきが大きくなる等といった問題点も多く指摘されている。近年では、分析技術の進歩に伴って、たばこ特異的ニトロソアミン類 (NNN: N' -nitrosornicotine、NNK:

4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone、NNAL: 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol)を指標とした報告が増えてきた(図2)。これらのニトロソアミン類は、たばこ特異性が高く、健康有害影響との関連性も高いことから、受動喫煙の他者危害性を考慮した曝露指標として優れている。しかし、存在量が微量であることから高度な分析技術と高額な分析装置を必要とし、測定できる機関に限られる。また、受動喫煙曝露指標の測定検体としては尿、血液が用いられることが多い。最近では、より採取が容易と考えられる唾液や長期的な曝露影響が検出できる毛髪の利用も検討されている(図3)。本研究で調査した文献の中で用いられていた曝露指標とそれぞれの特徴を表1に示した。受動喫煙の他者危害性の理解につながる曝露指標として十分なものは少なく、新たな曝露指標を検索する意義は大きい。

2. 尿中 7-mG 量を用いた能動喫煙、受動喫煙の曝露量の把握

本研究では、禁煙外来を受診した患者を対象に禁煙の前後で尿中 7-mG レベルの変動を測定した。現在、2週目まで測定が終了した5名の結果を表2に示す。その結果、初診時(0週目)の尿中 7-mG の値は、当研究室で以前測定した非喫煙者の平均値と比べていずれも高かった。さらに、初診時に比べ2度目の診察日(2週目)では、5名中4名が低い値となった。また、初診時に採取した尿のコチニンと 7-mG の間には正の相関が示唆される結果を得た(図4)。これらの結果は、現時点までに得られた検体の測定結果であり、禁煙を始めて8週後の検体の測定を含め被験者の数を増やして解析を継続中である。

D. 考察

たばこ煙の曝露指標として、検出感度の高さや検出の容易さから血中や尿中のニコチン、コチニンが広く測定されていると考えられる。しかし、受動喫煙の際の健康危害性を考慮した指標としては、よりたばこ煙の健康有害性に直接関与する指標が望ましい。そうした観点から、発がん性を有するたばこ煙特異的なニトロソアミン類が着目され、分析例が増えつつあるが、分析の難易度が高いことから、容易に利用できる指標では無い。これらニトロソアミンのうちで NNK や NNAL は、DNA と反応しメチル付加体を生成する。この DNA のメチル化が、ニトロソアミン類による変異・発がん機構として考えられている。本研究では、たばこ煙に存在するニトロソアミン類をはじめとしたメチル化剤によって生体内で生成され、尿中に排泄される DNA のメチル付加体を測定した。DNA のメチル付加体の1つである 7-mG が喫煙者の尿中で高いレベルにあったこと、従来から広く用いられてきたコチニンのレベルとの相関が示唆されたこと、禁煙に伴ってその値が低下したことなどから、7-mG が他者危害性の理解につながる受動喫煙の新しい曝露指標として有用性が期待される。今後、禁煙外来患者に加えて、受動喫煙者の尿についても解析し、7-mG の曝露指標としての感度、精度について検討を進めたい。

E. 結論

他者危害性の理解につながる受動喫煙の新しい曝露指標として、たばこ煙に含まれる発がん性ニトロソアミン類によって生成する DNA のメチル付加体が有用である可能性が示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 川崎祐也、李 云善、葛西 宏、渡邊晋太郎、河井一明. 禁煙による酸化ストレスマーカー尿中 8-OHdG 値の変動. 平成 28 年度日本産業衛生学会九州地方会学会. 2016 年 7 月, 北九州.

2) 河井 一明、李 云善、葛西 宏. Effect of smoking cessation on oxidative stress status. 第 75 回日本癌学会学術総会. 2016 年 10 月, 横浜.

H. 知的財産権の出願・登録状況

本研究で知的財産権に該当するものはなかった。

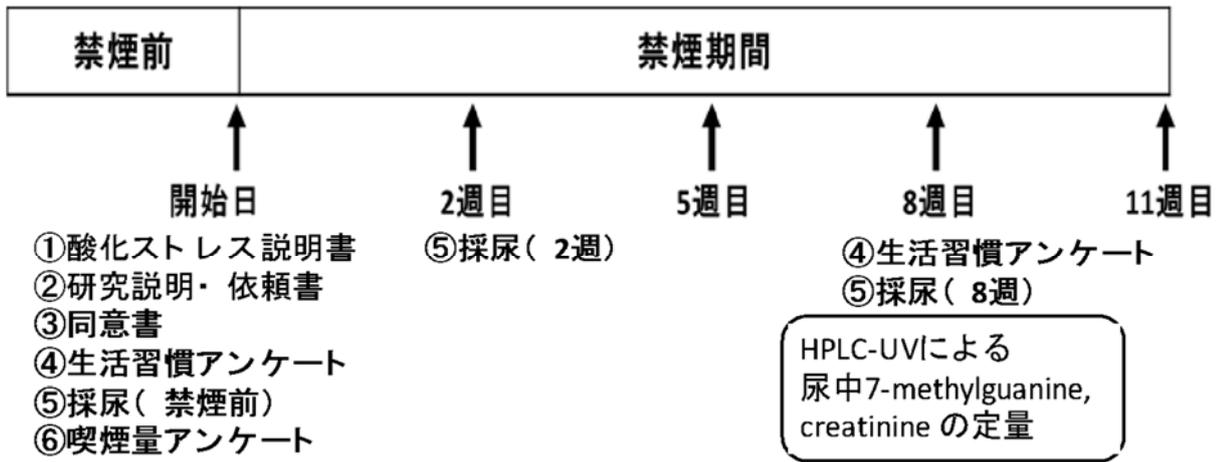


図1 禁煙外来患者の尿中7-methylguanineの測定

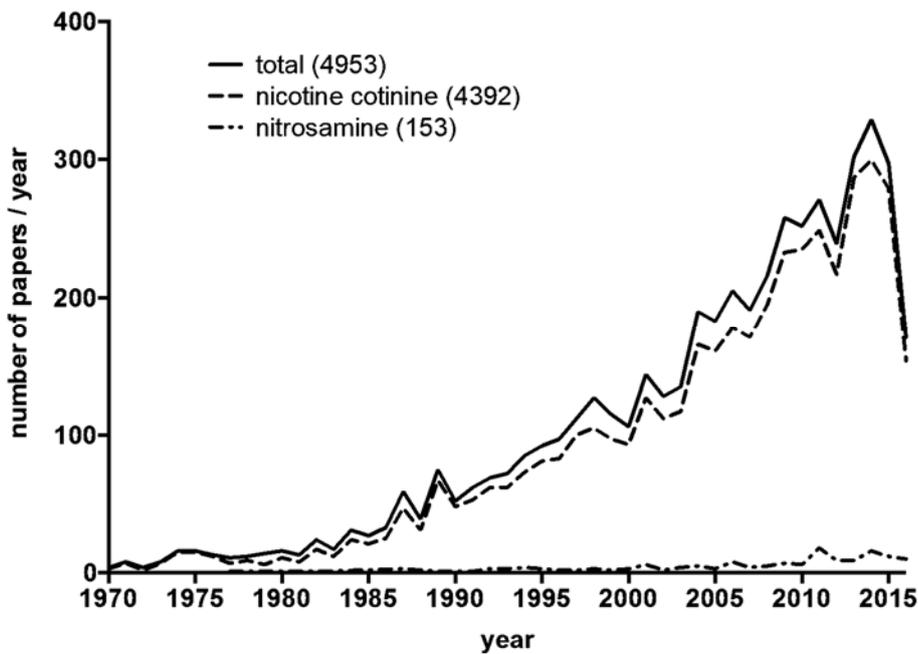


図2 受動喫煙の曝露指標に関する論文数

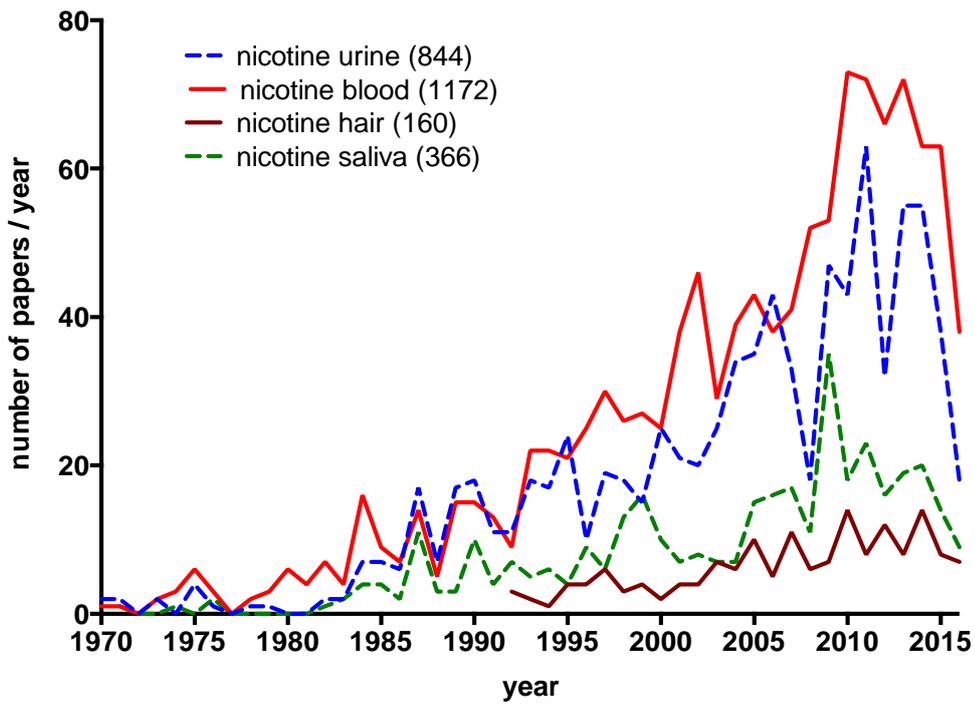


図3 ニコチンを受動喫煙の曝露指標とした測定試料別論文数

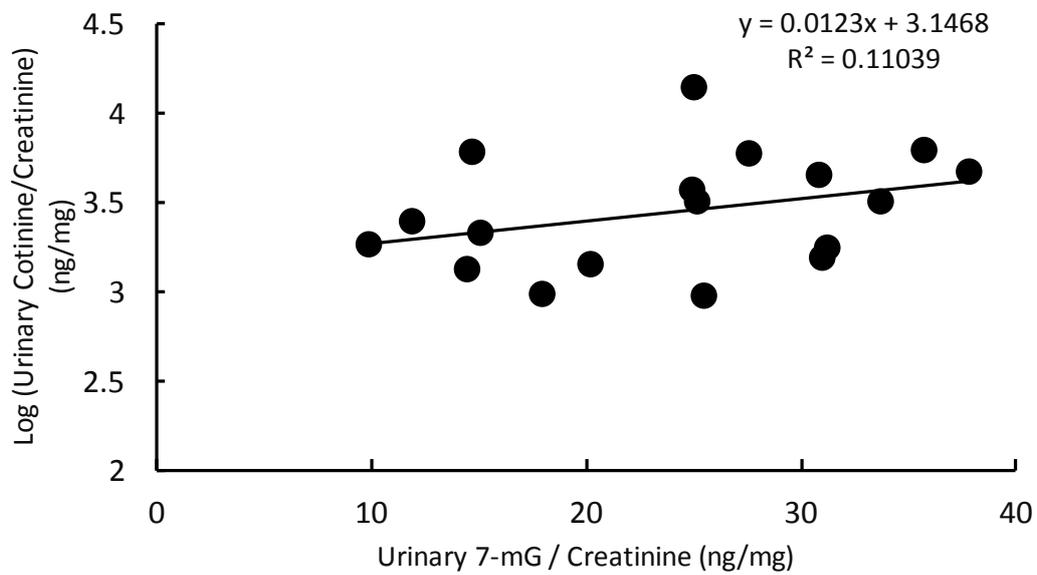


図4 尿中7-methylguanine とクレアチニン量の関係

表1 他者危害性の理解につながる受動喫煙の曝露指標

バイオマーカー	特異性	感度	検出可能期間	検体	その他
コチニン	高	高	3-4日	尿、血液、毛髪	喫煙の代表的マーカー
ニコチン	高	高	数時間	尿、毛髪	毛髪は長期曝露マーカー
アナバシン	高	中	数時間	尿	低含有量
チオシアネート	低	低	数週間	唾液	喫煙以外の要因多い
4-アミノピフェニル-ヘモグロビン付加体	中	中	数ヶ月	血液	高度な分析技術
ベンゾ[a]ピレン-DNA付加体	低	低	数ヶ月	血液(DNA)	高度な分析技術
PAH-アルブミン付加体	中	中	数週間	血液	高度な分析技術
たばこ特異的ニトロソアミン	高	中	数時間	尿、血液、毛髪	高度な分析技術
ヒドロキシプロリン	低	低	数時間	尿	喫煙以外の要因多い
変異原性	低	低	数時間	尿	喫煙以外の要因多い
7-メチルグアニン	低?	低?	数時間	尿	喫煙以外の要因?
8-ヒドロキシデオキシグアニン	低?	低?	数時間	尿、血液(DNA)	喫煙以外の要因多い

表2 禁煙による尿中7-methylguanineレベルの変化

age	sex	week	7-mG (ng/mg cre)
64	M	0	20.25
		2	15.94
30	M	0	33.73
		2	29.74
37	M	0	31.24
		2	7.45
29	F	0	25.51
		2	25.98
30	M	0	25.16
		2	16.63
非喫煙者 (参考値)			13.05 ± 6.18

