

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
分担研究報告書

加熱式たばこの使用による受動喫煙曝露実験

研究分担者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院
研究分担者 樺田 尚樹 国立保健医療科学院
研究協力者 内山 茂久 国立保健医療科学院

研究要旨

2014年に販売開始されたIQOS以降、我が国では加熱式たばこが販売され、その普及率が高くなってきている。加熱式たばこは、たばこ葉を240-350℃で燃焼しない温度帯で加熱し、ニコチンを中心として化学物質類を吸引させている。IQOSを販売するフィリップモリスは主流煙の有害化学物質の低減がされ、受動喫煙環境の成分としてニコチンがわずかにあるだけと報告している。その影響もあって現在では禁煙席でもIQOSの喫煙が可能な飲食店も存在するようになった。しかしながら、IQOSは受動喫煙を引き起こさない科学的根拠は報告されていない。そこで本研究は加熱式たばこ3製品（IQOS, glo, PloomTECH）と紙巻きたばこの受動喫煙曝露実験を実施した。

本研究にあたり開発した分析法の定量範囲はニコチン代謝物であるコチニン、3-ヒドロキシコチニンともに0.005-20 ng/mLであった。尿試料のコチニン、3-ヒドロキシコチニン定量範囲は、0.025-100 ng/mLとなった。また本分析法の同時再現性は、0.8-4.4%と良好な結果が得られた。次にこの分析法をもとにたばこ製品ごとに受動喫煙実験を行ったところ、紙巻きたばこと加熱式たばこ受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物量が上昇した。しかし、ニコチン代謝物の上昇量は、紙巻きたばこの曝露の方が高い結果となった。今後は、ニコチン以外のバイオマーカーを検討し、分析法を開発することで、最終的に健康影響評価を進める計画である。

A. 研究目的

加熱式たばこのIQOSは、2014年に日本市場で販売され現在も販売が継続されている。このIQOSは、これまで有害化学物質の低減が達成できなかった紙巻たばこと異なり、たばこ葉の有害化学物質の低減、加熱温度の制御、ヒトの吸煙量の影響を抑制することで主流煙の有害化学物質の低減がされている(1)。同様に、ブリティッシュアメリカンタバコ社からgloと日本たばこ産業からPloom TECHが販売され、加熱式たばこ喫煙者が増加している。この傾向は、世界でも日本と喫煙者の特徴となっている(2)。

加熱式たばこのたばこ煙発生原理から副流煙の発生量は少ないことが予想され、実際にIQOSを販売するフィリップモリスは受動喫煙環境の成分としてニコチンがわずかに発生することを報告している(3)。IQOSの使用ではニコチンがわずかにだけしか発生しないという情報をもとに現在では禁煙席でもIQOSの喫煙が可能な飲食店も存在するようになった。しかしながら、IQOSは受動喫煙を引き起こさない科学的根拠が報告されていない。また、加熱式たばこの副流煙成分を分析した報告はないため、本研究はこれまでに副流煙に含まれるニコ

チン、多環芳香族炭化水素類 (PAH) の分析を行った。そこで今年度は、我が国で販売される加熱式たばこ 3 製品 (IQOS、glo、Ploom TECH) の受動喫煙曝露実験を実施し、加熱式たばこ喫煙環境下で受動喫煙が生じるのかをニコチン代謝物のコチニンと 3-ヒドロキシコチニンを生体指標として調査を行った。

B. 研究方法

1. 使用たばこ銘柄

IQOS はレギュラー、glo は bright tobacco、Ploom TECH はレギュラーを購入した。

2. 受動喫煙曝露実験

曝露方法

研究対象者は喫煙者 4-6 名 (紙巻きたばこ喫煙者、加熱式たばこ常用者である必要はない) と受動喫煙者 6-8 名とした。なお受動喫煙の対象者は、20 才以上の非喫煙者とする (労働環境において日頃受動喫煙環境に無い非喫煙者で同居者に喫煙者がいないこと、服薬をしていない健康な者、女性の場合は妊娠・授乳中でない者)、職業と男女の割合に制限はしない。対象 IQOS 銘柄は「レギュラー」、glo は「bright tobacco」、Ploom TECH は「レギュラー」とした。加熱式たばこの対照として紙巻たばこでも実施した。サンプリング試料を尿とした。受動喫煙の曝露評価対象化学物質は、サンプリングした尿試料のニコチン代謝物 (コチニン、3-ヒドロキシコチニン) とクレアチニンとした。IQOS の曝露は、換気回数が 0.7 回/h の部屋を準備し、その部屋で IQOS 喫煙者 4-5 名が 1 時間 3-4 本喫煙する (15 分ごとに喫煙、休憩を 4 回繰り返す)。今回の曝露実験では 1 時間に 18 本の IQOS、19 本の glo と Ploom TECH が 8 カートリッジ喫煙された。その時、非喫煙者 6-8 名には加熱式たばこ喫煙者と喫煙開始から 1 時間同じ部屋で過ごしてもらった。曝露実験の部屋

の仕様は 3.8 x 6 x 3 m の会議室でエアコン、館内空調が完備されている。

尿試料のサンプリングは、加熱式たばこ受動喫煙者から受動喫煙開始直前に尿試料を採取した。また受動喫煙後、1、3、5、7、24 時間後にも採尿を行った。なお、拘束は加熱式たばこ曝露の 1 時間のみで、曝露実験終了後、参加者には自由に過ごしてもらい、1 回あたりの採尿量は、20 mL 以上とした。得られた尿試料は、鍵のかかった-20℃の冷凍庫で分析実験まで保管し、分析時に尿試料の解凍を行い、それぞれの分析法に供した。尿中ニコチン代謝物の分析結果は、加熱式たばこ受動喫煙前と曝露後の経時変化を比較することによって、受動喫煙の有無を評価した。曝露が確認された場合は、さらに、過去の先行研究の分析結果と比較する。

(倫理面での配慮)

本研究計画「非燃焼・加熱式たばこによる受動喫煙曝露調査」は、国立保健医療科学院の倫理委員会で審査され、承認 (承認番号 NIPH-IBRA#12162) された。

尿中ニコチン代謝物の分析

受動喫煙者尿試料 0.5 mL を酢酸緩衝液 (pH4.5) で希釈後、ENVI-Carb (250 mg/6 mL) に添加し固相抽出処理を行った。得られた前処理試料の尿中コチニン、3-ヒドロキシコチニン分析には、Waters 社製の ACQUITY UPLC を使用した。分析用カラムは、Atlantis HILIC Silica カラム (2.1 × 100 mm、3.0 μm、Waters 社製) を使用した。カラムオープン温度は 40℃とし、試料注入量は 5 μL とした。また、移動相には 10mM ギ酸アンモニウム溶液 (A 液) とアセトニトリル (B 液) を用いた。送液プログラムは流速を 0.3mL/分とし、0-1 分 (A 液 : 20%、B 液 : 80%)、1-7 分 (A 液 : 45%、B 液 : 55%)、7-12 分 (A 液 : 45%、B 液 : 55%)、12-12.5 分

(A 液 : 20%、B 液 : 80%) と設定し、分析時間は 22 分とした。質量分析にはタンデム四重極 (トリプル四重極) 質量分析計 Vevo TQ-S

(Waters 社製) を用いた。イオン化モードは ESI ポジティブを用い、キャピラリー電圧は 2.0 kV とし、コリジョンエネルギーとコーン電圧は分析対象物質ごとに条件を設定した。

C. 結果及び考察

1. 受動喫煙曝露実験

受動喫煙曝露の生態指標分析

開発した尿中ニコチン代謝物の前処理法は、人工の球状カーボン粒子を使用した ENVI-Carb を採用し、これまでの逆相の C18 カラム、陽イオンミックスモードの OASIS-MCX とは異なる原理で尿中のコチニン、3-ハイドロコチニンと分析妨害物質を分離した。尿中コチニン、3-ハイドロキシコチニン分析の検量線と定量範囲を Table 1 に示す。本分析法は、HILIC カラムで分析を実施し、定量範囲はコチニン、3-ハイドロキシコチニンともに 0.005-20 ng/mL であった。尿試料のコチニン、3-ハイドロキシコチニン定量範囲は、0.025-100 ng/mL となり、分析時間は 22 分であった。本分析法の同時再現性は、0.8-4.4% と良好な結果が得られた (Table 2)。回収率実験結果もコチニンが平均 86.4% (80.2-93.4%)、3-ハイドロキシコチニンが平均 92.9% (70.2-104.8%) と良好な結果を得られた。この開発した分析法を使用して加熱式たばこ及び紙巻きたばこ受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の分析を行った。

IQOS の受動喫煙実験

IQOS の受動喫煙実験は、喫煙者 5 名、受動喫煙者 6 名で実施した。IQOS 受動喫煙者の尿中コチニンと 3-ハイドロコチニンは全ての尿試料から検出された (Fig. 1)。曝露実験開始から 7 時間までに緩やかなコチニン上昇は 5 名の

参加者で確認された。一方で 3-ハイドロコチニンは、上昇が確認されたのは 2 名であった。特に参加者 F のコチニン上昇量は開始後 7 時間までに 1.4 ng/mg creatinine、3-ハイドロキシコチニンは 24 時間後に 2.5 ng/mg creatinine の上昇が確認された。一方で、分析値がほぼ変動しない参加者もいた。

glo の受動喫煙実験

次に glo の受動喫煙曝露実験結果を Fig. 2 に示す。glo の受動喫煙実験は、喫煙者 5 名、受動喫煙者 8 名で実施した。glo の受動喫煙のコチニンは 3 名ほど上昇していたが、その上昇量は 0.7 ng/mg creatinine であった。3-ハイドロキシコチニンに関しては変動がなかった。

Ploom TECH の受動喫煙実験

次に Ploom TECH の受動喫煙曝露実験結果を Fig. 3 に示す。Ploom TECH の受動喫煙実験は、喫煙者 6 名、受動喫煙者 8 名で実施した。Ploom TECH のコチニンと 3-ハイドロキシコチニンの上昇は、1 名上昇が高い参加者がいたが、Ploom TECH の主流煙から考えると高すぎるため除外して考察を行った。コチニンの最大上昇量は、0.5 ng/mg creatinine で 3-ハイドロキシコチニンは 1.5 ng/mg creatinine であった。Ploom TECH の上昇が確認された要因は、0 時間のコチニン、3-ハイドロキシコチニン量の低いことにあると考えられる。今回の参加者 7 名は、0 時間のコチニン、3-ハイドロキシコチニン量が 0.5 ng/mg creatinine であった。このバックグラウンドの低さが加熱式たばこの受動喫煙実験には必要であった。

紙巻たばこの受動喫煙実験

最後に紙巻きたばこについても同様に実施した (Fig. 4)。喫煙者 4 名、受動喫煙者 8 名で実施した。曝露実験開始から 7 時間までに緩や

かなコチニン上昇は全ての参加者で確認された。コチニンの最大上昇量は5.8 ng/mg creatinineで最小が1.5 ng/mg creatinineであった。3-ヒドロキシコチニンは最大で8.5 ng/mg creatinine、最小上昇量は0.2 nng/mg creatinineであった。これらの結果から、紙巻たばこの受動喫煙は、加熱式たばこの受動喫煙よりも曝露量が多いことは確認された。一方で、加熱式たばこにおいてもニコチンを指標とする曝露は確認された。しかしながら、今回の研究は参加者が少ないため統計解析を実施する試料数が少ないと考えられる。今後は、バックグラウンドの尿中コチニン、3-ヒドロキシコチニン量が低い参加者をリクルートし、ニコチン代謝物以外のバイオマーカー（曝露マーカー、健康影響のマーカー）を分析し、健康影響評価を進める必要がある。

D. 結論

加熱式たばこは、たばこ葉の加熱温度が240-350°Cと紙巻たばこの500-900°Cと比較すると低い。この温度帯の違いが有害化学物質の発生に影響を与えている。本研究班の研究成果では、加熱式たばこの主流煙からは、有害化学物質が定量されている。そこで本研究では、加熱式たばこの受動喫煙の有無についてたばこ由来のマーカーニコチンの代謝物であるコチニン、3-ヒドロキシコチニンを尿から分析した。その結果は、紙巻きたばこの受動喫煙の曝露量と比較するとわずかに上昇または上昇が確認されない参加者も存在した。本研究結果は、加熱式たばこの副流煙や呼出煙の有害化学物質量が少ないと予測されるため、その健康影響を評価するためには、たばこ煙の曝露が低い参加者から尿中ニコチン代謝物の分析、その他のバイオマーカーの分析も行うことによって評価が可能となる。

E. 参考文献

- (1) Schaller JP, Keller D, Poget L. et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;81; Suppl 2:S27-S47.
- (2) Tabuchi T, Kiyohara K, Hoshino T, Bekki K, Inaba Y, Kunugita N. Awareness and use of electronic cigarettes and heat-not-burn tobacco products in Japan. *Addiction.* 2016;111:706-13.
- (3) Mitova MI, Campelos PB, Goujon-Ginglinger CG. Comparison of the impact of the Tobacco Heating System 2.2 and a cigarette on indoor air quality. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;80:91-101.

F. 研究発表

1. 論文発表
[1] 稲葉洋平, 櫻田尚樹. WHO たばこ規制枠組条約と各国の二次喫煙対策について 化学物質と環境 特集 喫煙問題と現状と今後 2017;142:4-5.
2. 学会発表
[1] 稲葉洋平, 金勲, 内山茂久, 林基哉, 櫻田尚樹. 非燃焼・加熱式たばこ iQOS の副流煙の分析と受動喫煙曝露実験. 第76回日本公衆衛生学会総会 ; 2017.10.31-11.2 ; 鹿児島. 同抄録集. p.445.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

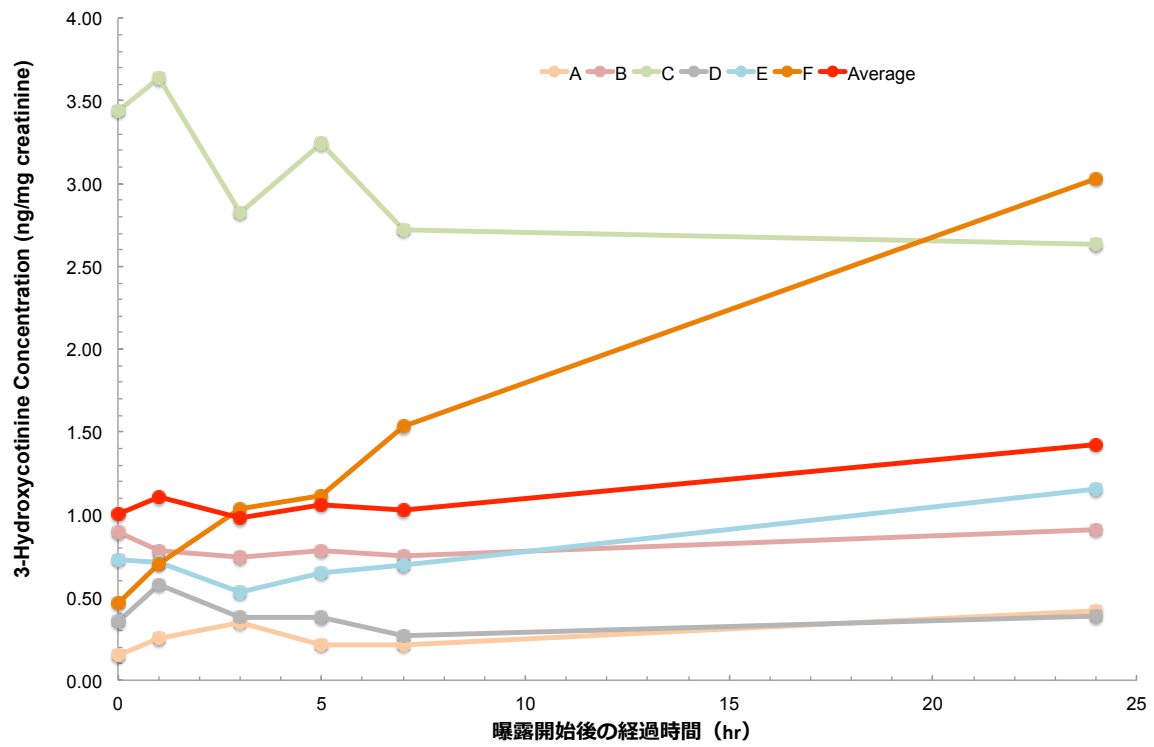
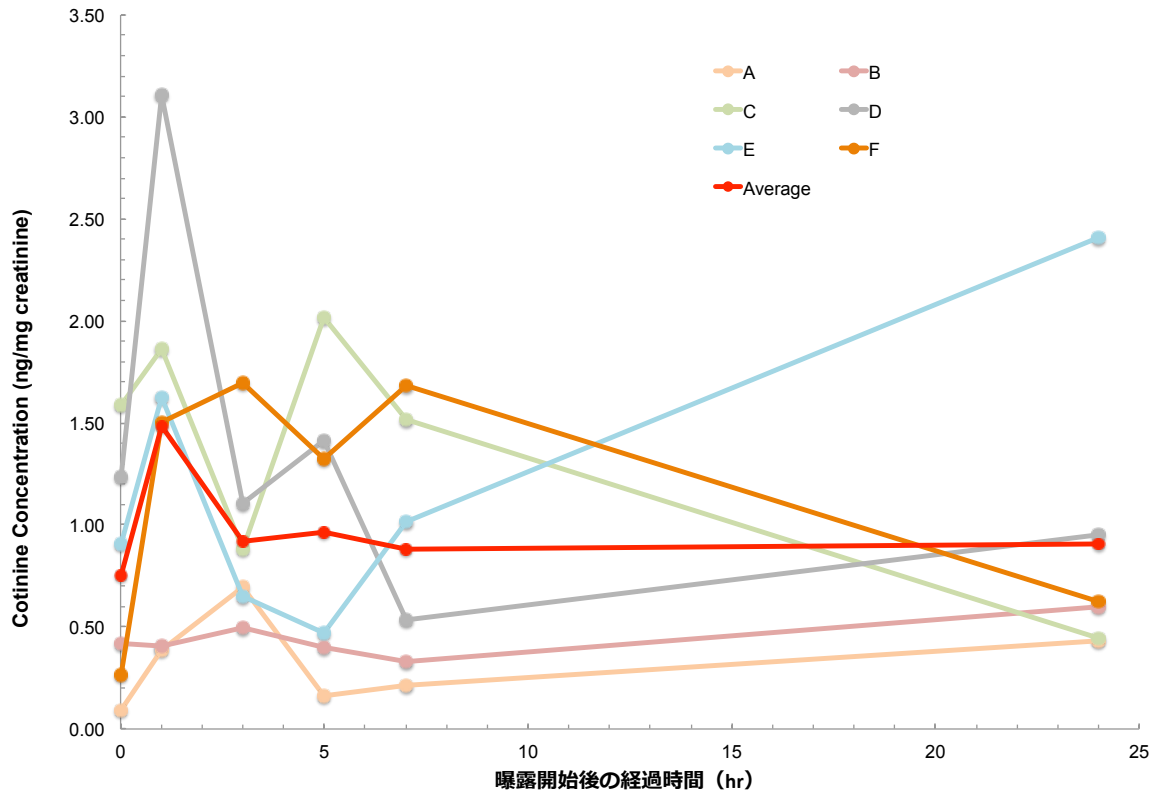


Fig. 1 IQOS の受動喫煙曝露実験によるニコチン代謝物の変動

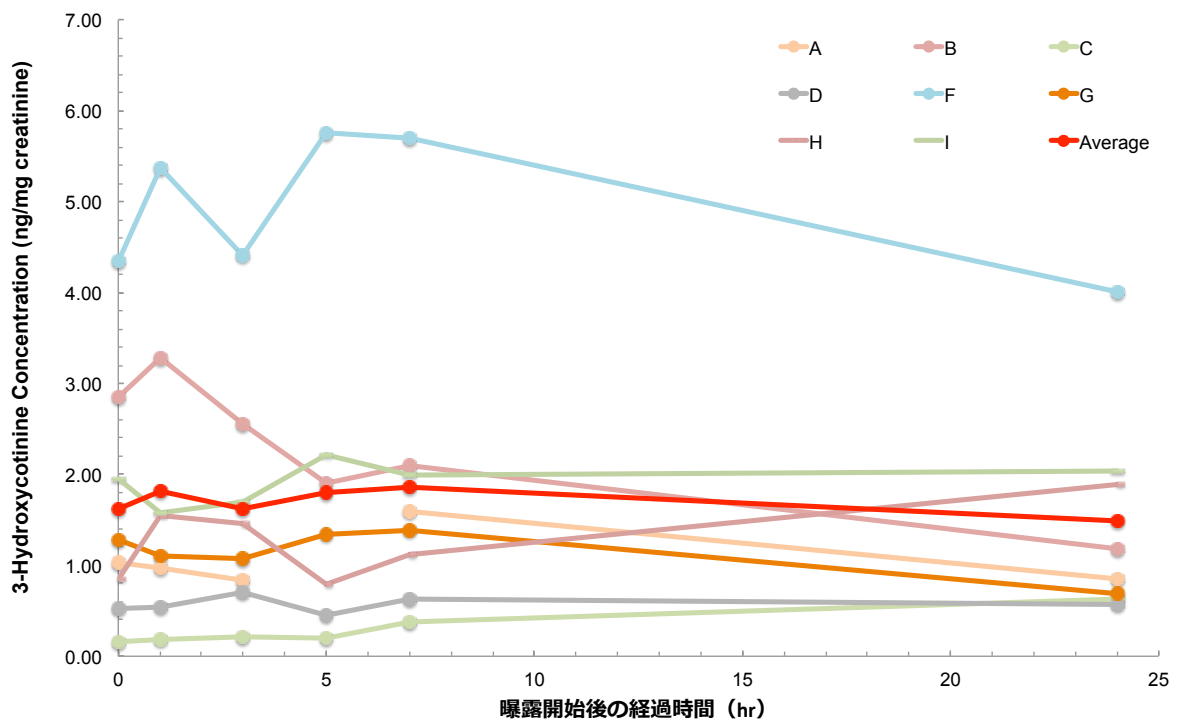
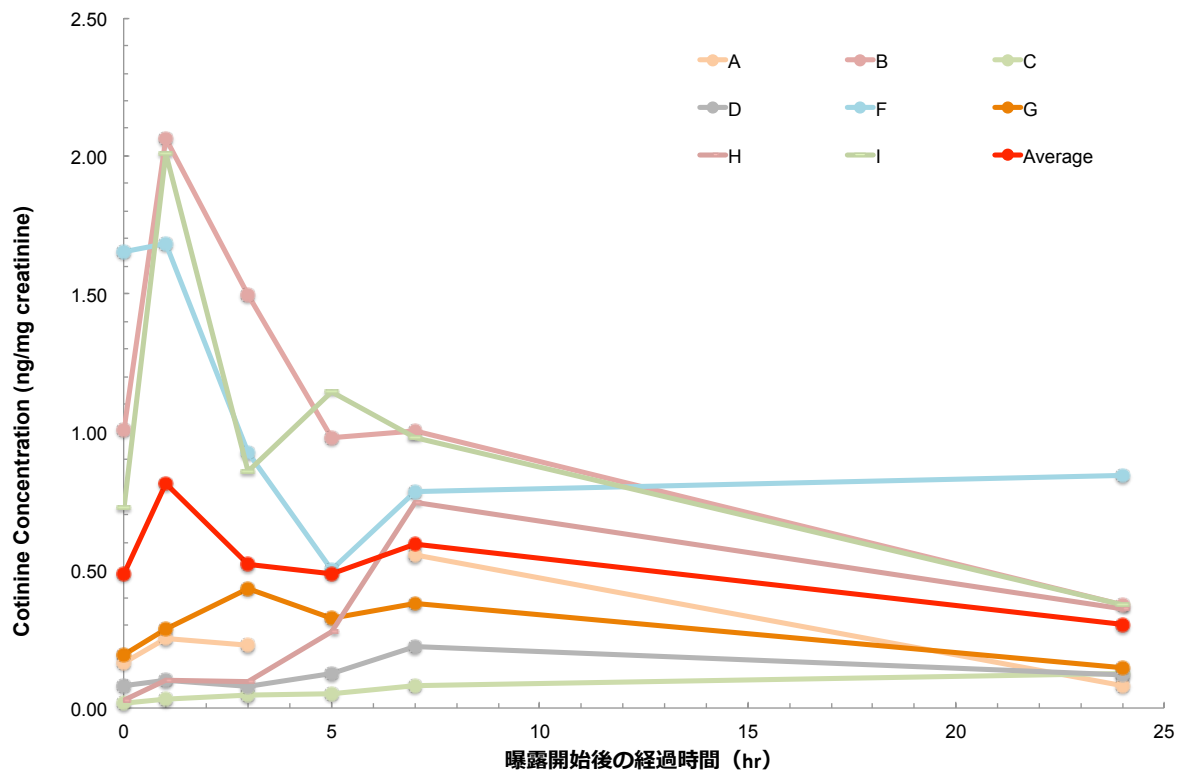


Fig. 2 glo の受動喫煙曝露実験によるニコチン代謝物の変動

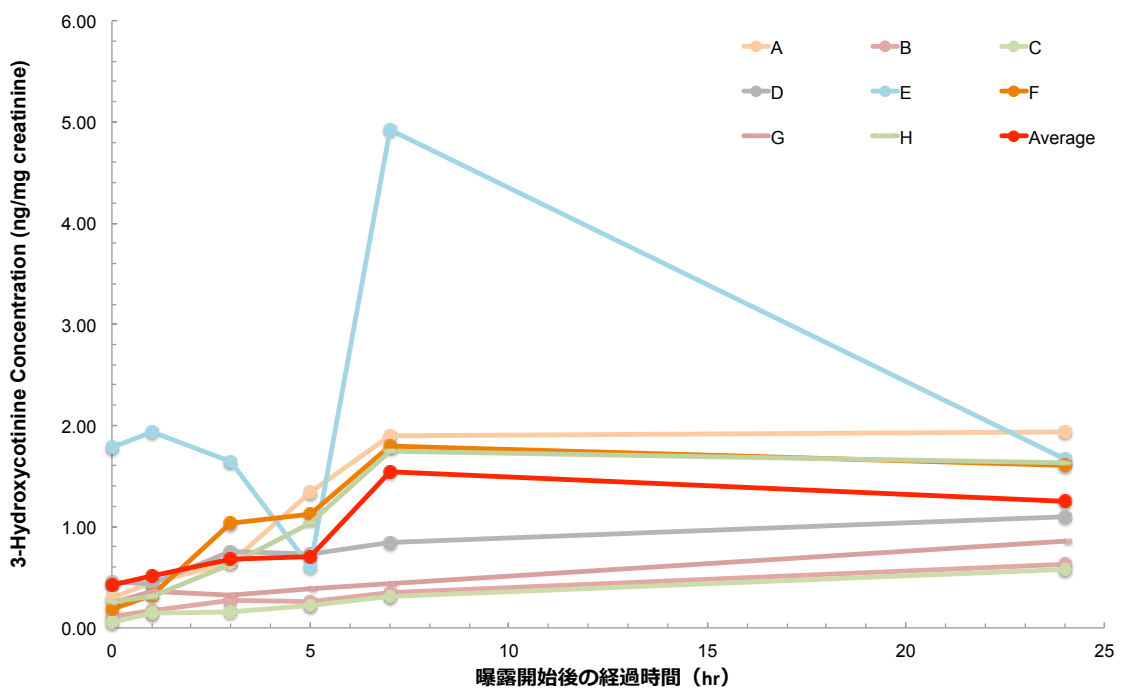
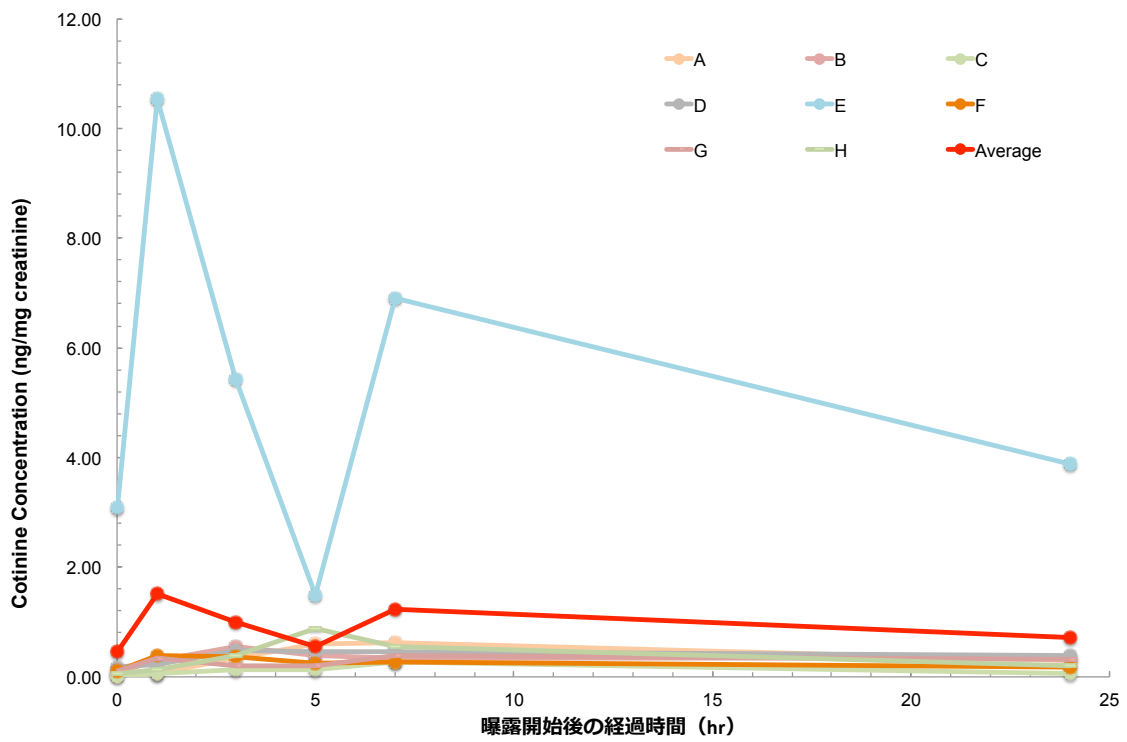


Fig. 3 PloomTECH の受動喫煙曝露実験によるニコチン代謝物の変動

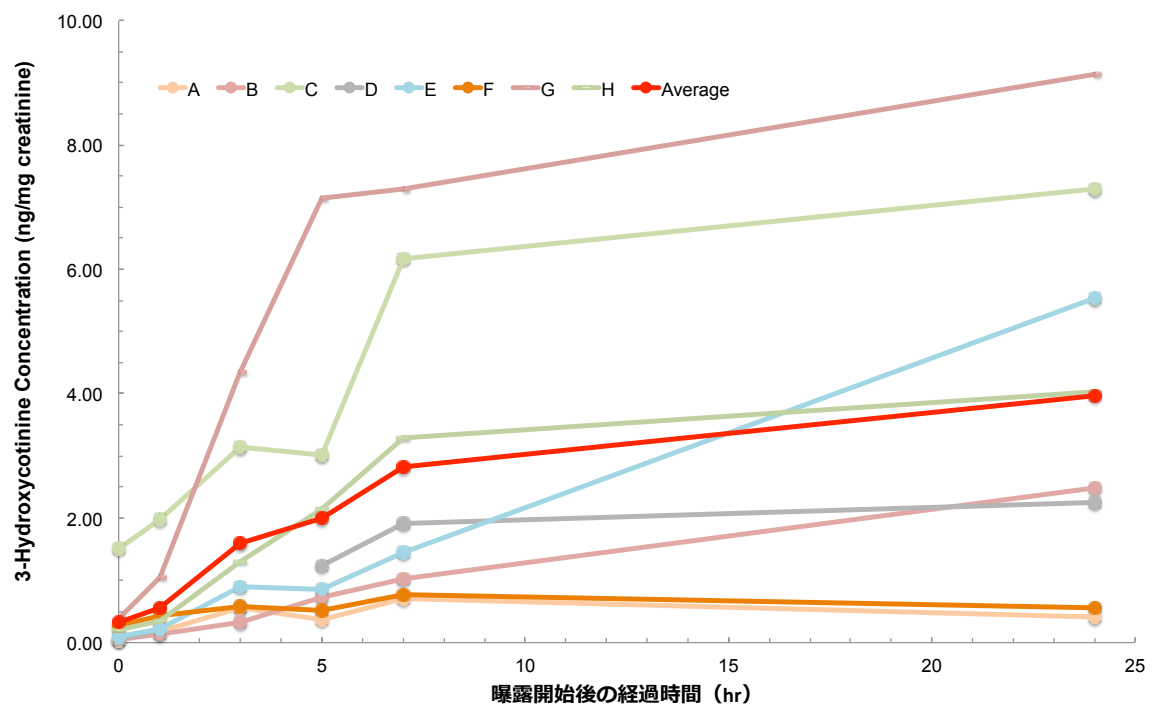
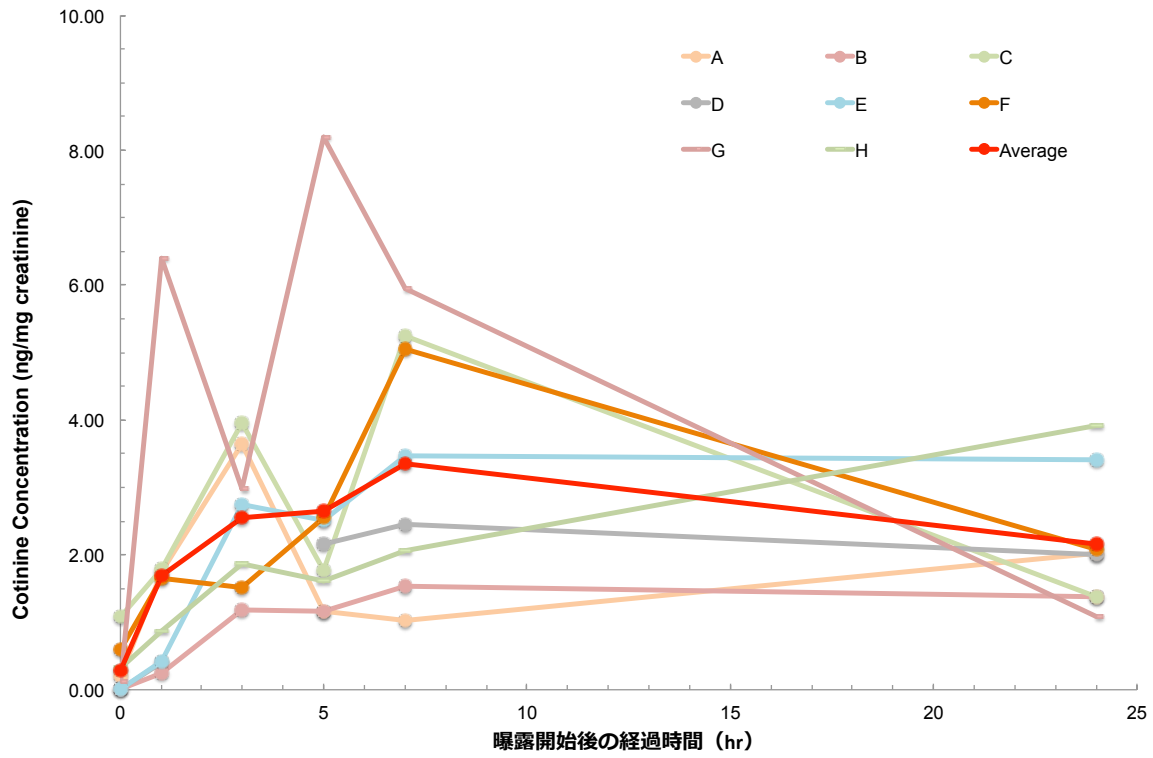


Fig. 4 紙巻たばこの受動喫煙曝露実験によるニコチン代謝物の変動

Table 1 コチニン、3-ヒドロキシコチニン検量線

ニコチン代謝物	検量線	相関係数 r^2	定量範囲 ng/mL
cotinine	$y = 0.367381x + 0.00151865$	0.999	0.05 - 20
3-Hydroxycotinine	$y = 0.873796x - 0.00144638$	0.999	0.05 - 20

Table 2 同時再現性の評価

Urine No.	Cotinine				3-hydroxycotinine			
	Mean	±	SD	CV(%)	Mean	±	SD	CV(%)
1	0.66	±	0.0	4.4	6.9	±	0.3	3.8
2	5.32	±	0.1	1.4	12.6	±	0.3	2.4
3	24.3	±	0.2	0.8	15.3	±	0.3	1.6
4	31.2	±	0.5	1.5	40.5	±	1.0	2.4