

厚生労働行政推進調査事業費補助金

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と
受動喫煙による健康影響の評価手法の開発
(H30－循環器等－指定－001)

平成30年度～令和2年度
総合研究報告書

研究代表者 稲葉 洋平

令和3（2021）年 3月

目 次

I. 総合研究報告

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と 受動喫煙による健康影響の評価手法の開発	1
稲葉洋平	

II. 分担研究報告

1. 国内の加熱式たばこ/電子たばこに含まれる有害成分の分析	1 5
戸次加奈江	
2. 加熱式たばこ主流煙に含まれる水銀の研究	2 3
杉田和俊, 稲葉洋平	
3. アルデヒドに起因した生体高分子への影響に関する研究	2 9
中村純	
4. 加熱式タバコなど新しいタバコ製品が政策に及ぼす影響	4 4
樺田尚樹	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	4 9
---------------------------	-----

令和2年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
総合研究報告書

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の評価手法の開発

研究代表者
稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

加熱式たばこは、たばこ産業のパンフレットによると主流煙の有害化学物質の 90-99%が削減と記載されている。最近では、加熱式たばこが紙巻たばこよりも高い成分も報告されるようになった。本研究班は、世界で最も加熱式たばこが普及している我が国において、加熱式たばこの有害化学物質量の調査及び受動喫煙の評価法開発を目的としている。世界に先駆け、これらの新しいタイプの製造たばこに関する科学的な知見を創出していくことが、最も普及している日本に課せられた急務であり世界保健機関（WHO）からも期待されている。本研究班は、改正健康増進法の健康影響評価の一助になるための科学的根拠の積み上げも目的としている。

加熱式たばこ製品から発生する有害化学物質の分析法を確立し、日本市場で毎年新たに投入される加熱式たばこの実態調査を行った。同時に WHO たばこ研究室ネットワークに参画し、加熱式たばこの成分分析法を行い、国際標準化に向けて共同研究を進めた。また、電子たばこについても研究を進めた。また、改正健康増進法で求められている加熱式たばこの受動喫煙による健康影響評価を行うために「加熱式たばこ副流煙捕集法・分析法の開発」を行った。

この3カ年で「フェノール類」「フラン類、ピリジン類」「芳香族アミン類」「金属類、水銀も含む」の分析法を開発してきた。加熱式たばこの新製品に関しては、これまでの加熱装置よりも加熱温度を上昇させ、有害化学物質の発生量が上昇していることが確認された。また、たばこ産業以外から販売されている加熱装置（互換機）の調査も行った。この互換機の温度設定によっては、紙巻たばこに匹敵する有害化学物質が発生する製品が販売されており、購入者には知ることが出来ない状況であった。電子たばこは、出力の大きさによって有害化学物質が発生することを確認した。一方で低出力の電子たばこであっても5日間の使用で、一酸化炭素、フェノール類の発生が確認された。電子たばこの国内販売リキッドに含まれる化学物質を調査したところ、D- α -トコフェロールは含有されていなかった。香料成分に関しては、フレーバーごとに同一成分が検出される傾向が確認された。また、検出された成分の中には、有害性が指摘されるものも含まれていることから、今後は、電子たばこの主流煙中における濃度や喫煙者への曝露の実態についても調査の必要性が考えられた。

加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を評価するための第1段階として、「加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立」を行い、ニコチン、メンソール、たばこ特異的ニトロソアミン類の分析を行った。紙巻たばこの副流煙の分析値より低いものの、加熱式たばこであったとしても発がん性物質が検出された。今後は、この副流煙捕集法を使用して、他の有害化学物質の分析を実施していく計画である。

この3カ年の研究を通して、我が国で販売される加熱式たばこの有害成分量、加熱装置の互換機使用による有害成分量などの調査を複数の成分分析法を開発することによって行ってきた。燃焼による有害化学物質の低減は確認されたが、低減されていない成分もわかった。また、副流煙の分析法も確立した。今後は、新たな加熱式たばこへの対応、受動喫煙に関するリスク評価研究を進める。

研究分担者	所属施設名
高橋秀人	国立保健医療科学院
牛山 明	国立保健医療科学院
戸次加奈江	国立保健医療科学院
中村 純	大阪府立大学
杉田和俊	麻布大学
樺田尚樹	産業医科大学

研究協力者	所属施設名
内山茂久	国立保健医療科学院
野口真由美	千葉大学
石塚美帆	千葉大学
佐藤綾菜	千葉大学
清水萌花	千葉大学
小倉裕直	千葉大学
郡司夏美	東京薬科大学
瀬戸口流星	東京薬科大学

A. 研究背景と目的

現在、我が国は、国際条約である「たばこの規制に関する世界保健機関枠組条約（WHO Framework Convention on Tobacco Control : FCTC）」を批准し、国内の政策として健康日本 21, 健康増進法, がん対策基本法に基づいて、受動喫煙や禁煙支援などのたばこ対策を進めてきた。その成果もあって我が国の喫煙率は、ここ数十年でみると低下が進んでおり、令和元年度国民健康・栄養調査では 16.7%となった。しかし、ここ数年で「加熱式たばこ」という加熱装置を使用した新しいたばこが、日本において急速に普及している。この加熱式たばこは、当初海外では「Heat-not-burn tobacco (HNB)」とされていたが、最近では「Heated tobacco products (HTPs)」に統一されてきている。

現在、この加熱式たばこ製品は健康への影響に関して一定の見解が得られていない。しかしなが

ら加熱式たばこ喫煙者とその家族、飲食店経営者、建築物管理者の中には、加熱式たばこについての認識がたばこ製品の実態と異なって理解しているのではないかと懸念している。それは、加熱式たばこ（IQOS, glo, Ploom TECH）を販売するたばこ産業のパンフレットに原因の 1 つが隠されている。これらには、主流煙の有害化学物質の 90-99%が削減と記載されており、その結果を示唆する論文も公開されている。これらで低減されている化学物質としては、世界保健機関（World Health Organization, WHO）が指定している 9 成分などが挙げられている。この 9 成分は、1, 3-ブタジエン、ベンゼン、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、ベンゾ[a]ピレン、N-ニトロソノルニコチン、4-(メチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノンと一酸化炭素であり、紙巻たばこ主流煙の低減可能な有害化学物質とされている。一方で低減されていない化学物質がある事は、パンフレットには記載・報告されていない。たばこ産業は有害化学物質量が 90%程度削減と報告しているが、発がん率が 90%削減とは表明していない。例えば、フィリップモリス社の IQOS のパンフレットでは『「有害成分の量を約 90%削減」の表現は、本製品の健康に及ぼす悪影響が他製品と比べて小さいことを意味するものではありません。たばこ関連の健康リスクを軽減させる一番の方法は、紙巻たばこも IQOS も両方やめるところです。』と記述している。

我が国の喫煙者における加熱式たばこの使用の割合が、男性 27.2%, 女性 25.2%であり、加熱式たばこのみ使用の割合が、男性 20.3%, 女性 20.4%と令和元年度国民健康・栄養調査で報告された。今回の使用率を評価すると日本は、加熱式たばこ市場の最前線に位置している。

この加熱式たばこは、たばこ葉の燃焼で喫煙す

る紙巻たばこと違い、加熱装置を使用して一定時間、燃焼まで達しない一定の温度でたばこ葉を加熱し喫煙するたばこ製品である。加熱の温度帯（Ploom TECH:30℃, glo:240℃, IQOS:350℃）では有害化学物質の発生が抑制されるために、90%削減を達成としている。さらに加熱式たばこは、ニコチンを含んだ煙を作り出すため、加熱式たばこのバッテリー式加熱装置を使用している。この加熱装置は充電が必要で、喫煙者は各加熱装置を使用して喫煙を行い、口からエアロゾルを吸い込む。加熱式たばこから発生する有害化学物質分析は、たばこ産業からの報告が多く、公衆衛生機関からの報告は少ない。我が国では、毎年、新たな加熱式たばこが市場に投入され、販売が中止となるなど、製品サイクルが2-3年と短い状況になっている。この加熱式たばこの製品の変遷（有害化学物質の変化）を把握することも、今後のたばこ対策を進める上で必要である。

本研究班は、これまでにWHO たばこ研究室ネットワーク（TobLabNet）に参画し、紙巻たばこの「たばこ葉」、「主流煙」の各種有害化学物質の分析法の開発・標準作業手順書の作成を実施してきた。現在も本研究班は、このTobLabNetに参加し分析法の開発を推進している。

本研究では、これまでに開発した紙巻たばこの各種有害化学物質の分析法を加熱式たばこに適用させ、国際標準法になるように改良を行い分析することを目的とした。3カ年の研究を通して、日本で販売されている加熱式たばこから発生する有害化学物質の実態調査、たばこ産業以外のメーカーから販売されているたばこ用加熱装置（互換機）の分析、新たな成分分析法の確立も目的とした。3カ年で、フェノール類、発がん性物質である4-アミノビフェニル、*o*-トルイジンを含む芳香族アミン類と鉛、ヒ素、水銀などをはじめとす

る金属類、フラン類、ピリジン類の実態調査を行った。また、加熱式たばこの有害化学物質の発生の要因は「加熱温度」にある。同じ製品で加熱温度が異なる加熱装置を使用して、有害化学物質の発生量の比較も行った。

次に電子たばこから発生する有害化学物質の分析を行なった。電子たばこは、たばこ事業法の対象となるたばこ製品ではないが、本研究班では、これまでに電子たばこから発生する有害化学物質の発生原理を確認してきた。本研究期間では、電子たばこ（高出力製品）から発生するカルボニル類及びオキシド類の分析も行った。最近、電子たばこも高出力製品の販売を見かけるようになった。販売量は調査が難しいものの、インターネット販売では、多くの種類の販売が認められている。そこで、いくつかの電子たばこ製品を購入し、分析に供した。一方で低出力型の電子たばこの数日間使用による一酸化炭素とフェノール類の発生について調査を行った。さらに電子たばこの健康影響成分と考えられているビタミンEアセート、ニコチン、フラン類の検出を国内で販売される電子たばこリキッドの実態調査も行った。

次に改正健康増進法において経過措置となっている加熱式たばこの受動喫煙による健康影響を評価するために、加熱式たばこ副流煙捕集法の確立を行い、ニコチンと発がん性物質を含むたばこ特異的ニトロソアミン類の分析を行った。加熱式たばこ特有の健康影響マーカーの評価法開発を目的としてアルデヒドによるハイブリッド型蛋白付加体の調査を行った。

以上の調査研究を踏まえつつ、加熱式たばこ、電子たばこの販売が各国のたばこ政策に与える影響について文献調査から取りまとめた。

B. 3カ年の研究成果

国内で販売される加熱式たばこの実態

1. 加熱温度の異なる加熱式たばこ主流煙の有害化学物質量の比較

2019年に販売開始された glo pro は、従来の glo よりも加熱温度が高く設定可能なたばこ製品である。glo pro から誘導加熱技術を採用し、加熱温度が 240℃から 280℃へ上昇した。この温度帯の上昇により化学物質発生量に変化するのかを検証することを目的とした。本研究では、2020年に販売された加熱式たばこ glo pro と従来の glo から発生する有害化学物質の比較を行った。その結果、加熱式たばこの glo と glo pro は、4つのたばこ銘柄の分析結果からニコチン量は、glo が 0.85-1.76mg/stick となり、glo pro が 1.0-2.09 mg/stick と若干高い値となった。また、一酸化炭素量も glo が 0.10-0.11 mg/stick に対して glo pro は 0.23-0.25 mg/stick となり 2倍の上昇率が認められた。また、発がん性物質のたばこ特異的ニトロソアミン (TSNAs) 量は、glo が 25.3-43.3 ng/stick となり、glo pro が 54.8-82.2 ng/stick と若干高い値となった。以上の結果から新製品の glo pro を使用することによって、ニコチン、一酸化炭素、TSNA の分析値が上昇することが分かった。加熱式たばこの新製品が従来品と比較して必ずしも有害化学物質が低減されていないことが確認された。今回のように、一旦、加熱式たばこが喫煙者の中で普及した状況で、有害化学物質の上昇が行われる可能性に注視する必要がある。

2. 新規加熱式たばこ製品から発生する有害化学物質の分析

加熱式たばこは 2013年に日本たばこ産業(JT)から「Ploom」が販売され、2014年にはフィリップモリス社から「IQOS」、2016年にはブリティッシュアメリカンタバコ社から「glo」が販売された。

これまでにこれら 3 製品については、主流煙 (エアロゾル) の分析を行ってきた。しかし 2019年には JT が新たに「Ploom TECH+」と「Ploom S」を販売開始した。そしてインペリアル・タバコ・ジャパンは、2019年6月に「PULZE (パルズ)」を販売すると発表した。このように我が国は、たばこ産業のメジャー各社が加熱式たばこ製品を次々と販売する唯一の国となっている。これらの加熱式たばこ製品について分析結果の報告は、たばこ産業からのデータが大半であり公衆衛生機関からの研究成果が望まれる。また、加熱式たばこ製品間の比較についても報告が少ないのが現状である。本研究では、新たに IQOS3.0, Ploom TECH+と Ploom S, 及び PULZE から発生する有害化学物質を分析した。

エアロゾルのニコチン量は 1.13-1.43 mg/stick (IQOS), 0.17-0.28 mg/stick (Ploom TECH+), 0.35-0.54 mg/stick (Ploom S) と 0.52-0.70 mg/stick (PULZE) となり、ニチコン量の差は 8 倍程度あった。次に 4 種類のたばこ特異的ニトロソアミン (TSNAs) 合算量は 12.1-26.5 ng/stick (IQOS) と 0.68-0.90 ng/stick (Ploom TECH+), 2.14-11.2 ng/stick と 14.0-16.3 ng/stick であった。これらの分析値は、紙巻たばこと比較して低値であった。しかしこの値は、たばこ葉の TSNAs 低減技術を採用したためであり、紙巻たばこも採用すれば、低減可能であると考えられた。燃焼によって発生する多環芳香族炭化水素 (PAHs) とフェノール類の分析結果は加熱式たばこよりも低値であった。しかし、濃度は低減化されたものの、有害化学物質の種類は削減されていない加熱式たばこも存在することから、加熱式たばこの使用によって有害化学物質の複合曝露が生じると考えられた。

3. 加熱式たばこ IQOS 互換機から発生する有害

化学物質の分析

加熱式たばこ「IQOS」喫煙者は、専用のヒートスティック（加工されたたばこ葉）を IQOS に差し込んで喫煙している。IQOS は 1 本喫煙するごとに充電する必要があるため、連続喫煙ができない。そこに注目した企業が連続喫煙可能な IQOS 交換機を販売し、現在では種類も増えている。IQOS の加熱法は金属の加熱ブレードにヒートスティックを差し込みたばこの内側から加熱するが、交換機ではそれと同じタイプや本体の筒状に開いている部分にヒートスティックを差し込み外側から加熱するタイプなどが存在する。また、IQOS の加熱温度は 350℃と報告されているが、交換機では 400℃と説明されている製品も存在する。これら交換機と専用のヒートスティックを組み合わせで喫煙した場合、IQOS と同じ主流煙の組成・発生量であるか検証されていない。そこで本研究は、ヒトの喫煙行動に近いと考えられている喫煙法（Health Canada Intense : HCI 法）で捕集を行い、IQOS と交換機 8 製品（A-H）の主流煙に含まれる有害化学物質の比較を目的とした。

IQOS と交換機の測定値は、タールが 14.4 mg/cig. (IQOS) と 4.9-24.5 mg/cig. (交換機)、ニコチンが 1.27 mg/cig. (IQOS) と 0.64-2.09 mg/cig. (交換機)、CO が 0.47 mg/cig. (IQOS) と 0.21-13.9 mg/cig. (交換機)、グリセロールが 5.74 mg/cig. (IQOS) と 3.24-6.16 mg/cig. (交換機)、TSNAs が 47.3 ng/cig. (IQOS) と 27.4-62.3 ng/cig. (交換機) であった。今回測定した項目の値に関して IQOS と比較すると、交換機のうち B 以外の 7 製品では全項目で 0.3-1.4 倍程度の範囲に収まった。B は加熱温度が 400℃と説明されている製品で、燃焼により発生する成分である CO は 29.6 倍で差が大きく開き、たばこから移行する成分であるニコチンは 1.6 倍、グリセロールは 1.1 倍、TSNAs は 1.0 倍で差があ

まり開かなかった。また、タールは 1.7 倍であった。TSNAs は B より本体の筒状に開いている部分にヒートスティックを差し込み外側から加熱する 2 製品の方が高値であったため、加熱法が TSNAs 値に影響をより与えると考えられた。よって、同じヒートスティックを使用しても加熱装置の加熱温度や加熱法によっては、主流煙に含まれる有害化学物質量が大きく変化することが分かった。

4. 加熱式たばこ IQOS 交換機から発生する多環芳香族炭化水素類の分析

加熱式たばこ「IQOS」喫煙者は、専用のヒートスティック（加工されたたばこ葉）を IQOS に差し込んで喫煙している。IQOS は 1 本喫煙するごとに充電する必要があるため、連続喫煙ができない。そこに注目した企業が連続喫煙可能な IQOS 交換機を販売し、現在では種類も増えている。IQOS の加熱法は金属の加熱ブレードにヒートスティックを差し込みたばこの内側から加熱するが、交換機ではそれと同じタイプや本体の筒状に開いている部分にヒートスティックを差し込み外側から加熱するタイプなどが存在する。また、IQOS の加熱温度は 350℃と報告されているが、交換機では 400℃と説明されている製品も存在する。これら交換機と専用のヒートスティックを組み合わせで喫煙した場合、IQOS と同じ主流煙の組成・発生量であるか検証されていない。そこで昨年度は、IQOS の専用のヒートスティック（加工されたたばこ葉）を用いて喫煙し連続喫煙が可能な IQOS 交換機の分析を行った。今年度は、燃焼によって発生する多環芳香族炭化水素類 (PAHs) を分析し、比較することを目的とした。

たばこ主流煙中の PAHs 合算量は 104 ng/cig. (IQOS) で交換機が 50.1-5012 ng/cig. (交換機) と

なり、IQOS に対して互換機の値は 0.5-48.2 倍となった。よって、主流煙中 PAH 合算量が IQOS と差のある互換機が確認された。この差のある互換機は、昨年度、一酸化炭素とフェノール類が高値である互換機であった。この互換機は、加熱温度が高く設定可能な装置であると共に、製品間のばらつきも大きいことが分かった。今回、IQOS 互換機の実験結果から、正規品との同じ曝露状況になるかは分析を実施しないと証明することは難しいことが確認された。

成分分析法の確立

1. たばこ主流煙に含まれる芳香族アミン類の分析法の確立

たばこ主流煙には、国際がん研究機関のグループ 1（ヒトに対して発がん性のある）に該当する 4-アミノビフェニル、*o*-トルイジン、2-ナフチルアミン等の芳香族アミン類が含まれている。現在、国内で販売される紙巻たばこ銘柄の報告は少ない状況である。また、これまでの芳香族アミン類分析の公定法では、主に 4 種類（1-ナフチルアミン、2-ナフチルアミン、3-アミノビフェニル、4-アミノビフェニル）の芳香族アミンを対象としてきた。そこで本研究では、これまでガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）での報告が多いこれらの芳香族アミンに加えてさらに対象物質を増やし、高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS/MS）を使用した分析法を確立し、国産たばこ銘柄に適用することを目的とした。この手法は、主流煙フィルターから芳香族アミンの前処理を抽出液、CH カラム、K-Solute を組み合わせることによって、測定妨害成分を除去することが可能となった。また、芳香族アミン類は、構造異性体が多いため HPLC 分析カラムを数種類、比較検

討したところ Raptor Fluoro Phenyl カラムが適していた。この手法を先行研究と比較し、国産たばこ銘柄に適用した。測定対象とした芳香族アミン類は、全て検出された。発がん性物質は、*o*-トルイジンが、2-ナフチルアミン、4-アミノビフェニルより高い値であった。また、外箱表示が 0.1 mg ニコチンたばこをヒトの喫煙行動に近い喫煙法で主流煙を分析すると、ニコチン表示量が 1.2 mg たばこの含有量の 1/2 から 1/3 であった。このことから、ニコチン表示量が有害化学物質の曝露量に比例すると考える喫煙者も多いが、そのようにはならないことが確認された。また、加熱式たばこへの適用も検討した。

2. 加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類の分析

新型たばこから発生する主流煙中の有害成分については、従来の紙巻たばこよりも多くのものが低減される傾向にある中で、近年、加熱式たばこからは、香料などの添加物や、添加物の加熱により発生する成分が高濃度検出されている。一般に、フレーバーとして使用される添加物には、安全性が確保された食品添加物が使用されているものの、喫煙による吸入曝露の影響は限られた情報しかなく、その曝露量についても明確とされていない。また、検出された成分の中には、2 (5H) -furanone や 2-furanmethanol (furfuryl alcohol) など発がん性のあるフラン類を初め、ニコチンの熱分解により発生するピリジン類（3/4-ethenylpyridine (3-EP)）が検出されている。これらは喫煙者への曝露による健康リスク因子となるのみでなく、室内汚染の要因にもなることから、その発生量を明確にする必要がある。そこで本研究では、加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類を対象に、フィルターと個体捕集

法を組み合わせたガス状及び粒子状成分の同時捕集法を検討することで、各加熱式たばこからの発生量と曝露量を明らかにし、健康影響や室内汚染への影響を調べる上での基礎データを得ることを目的とする。検討の結果、Tenax GR を用いることで、フラン類とピリジン類を高感度に検出することができた。また、3-EP は紙巻たばこと比較すると低濃度ではあったものの、本研究により加熱式たばこからの発生量が明らかとなった。これらは、特に、3-EP はニコチン由来のたばこ特異的な成分であり、呼出煙により環境中へ排出されることで室内の汚染要因となることから、従来の紙巻たばこと同様に、加熱式たばこにおいても受動喫煙や三次喫煙の評価指標となる可能性が考えられた。

3. 国内の加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類の比較

近年、国内で幅広く使用される加熱式たばこは、フレーバーなどの添加物を使用した多種多様な銘柄が販売され、主流煙中の成分においても従来の紙巻たばことは異なる特徴が報告されている。本研究では、発生する成分の中でも、特に、加熱式たばこに特徴のある成分であり、有害性が指摘されるフラン類とピリジン類を対象に主流煙を対象とした分析法を確立し、喫煙者への曝露量を調べることにした。結果として、フラン類では、対象としたフルフラール、2-フランメタノール、2(5H)-フラノン、5-メチルフルフラールについて、多種類の銘柄を有する glo から標準たばこよりも高く検出される傾向が見られた。また、ピリジン類については、燃焼成分として標準たばこからも高濃度発生するピリジンや環境たばこ煙のマーカー成分として知られるエテニルピリジンの発生が確認された。検出された成分の中でも、

特に、フルフラールについては吸入曝露や経皮曝露により有害性が指摘されていることや、2-フランメタノールとピリジンについては、IARC（国際がん研究機関）により発癌性が危惧される成分でもあることから、加熱式たばこの使用により引き起こされる健康影響の要因として寄与する可能性が考えられた。本研究で検出された成分については、呼出煙や副流煙を介した室内汚染や受動喫煙の原因物質になる可能性が考えられるため、上記の成分による室内汚染への影響についても更なる研究が必要と考えられる。

4. たばこ葉及びたばこ主流煙の金属類の分析

たばこには金属類が含まれていると報告されている。なかでも金属類には国際がん研究機関により、発がん性がある、または、おそらく発がん性があると分類されているカドミウム (Cd)、鉛化合物 (Pb) などが含まれる。そのため、金属類の継続的な定量はたばこ製品の実態を把握するうえで重要である。しかし、国内の分析値は報告が少なく、分析法も標準化されていない。そこで本研究は、分析法の確立とたばこ葉及び主流煙中の金属類の定量、たばこ葉から主流煙中への移行率の分析を行い国内で販売されるたばこ製品の実態把握を目的とした。

たばこ試料は、標準たばこの 3R4F、1R6F の 2 銘柄と、国産たばこ 10 銘柄、外国産たばこ 10 銘柄、リトルシガー 5 銘柄、加熱式たばこの glo、IQOS の 2 種類の計 29 種類を使用した。たばこ葉中の金属類の分析は、たばこ葉を硝酸で一晩反応させ、その後マイクロウェーブ処理により有機物を分解した後、誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MSMS) で分析を行った。たばこ主流煙の捕集は自動喫煙装置を用い、ヒトの喫煙行動に近い HCl 法で行った。金属類の捕集は静電捕集装置を接続

し、ガラス管に捕集を行った。その後、前処理を行い、ICP-MSMS に供した。分析対象は ^9Be , ^{24}Mg , ^{27}Al , ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{58}Ni , ^{60}Ni , ^{59}Co , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{111}Cd , ^{112}Cd , ^{208}Pb とした。

たばこ葉の金属類は、全てのたばこ銘柄、測定対象成分について検出・定量が可能であった。国産たばこ主流煙中の平均値 (ng/cig) は $\text{Al}:329\pm183$, $\text{Cr}:10.5\pm6.00$, $\text{As}:6.60\pm2.37$, $\text{Cd}:76.1\pm36.2$, $\text{Pb}:32.4\pm14.3$, 外国産たばこは $\text{Al}:257\pm153$, $^{52}\text{Cr}:8.44\pm5.56$, $\text{As}:5.00\pm2.01$, $\text{Cd}:71.2\pm44.3$, $\text{Pb}:31.7\pm9.42$, リトルシガーは $\text{Al}:345\pm133$, $\text{Cr}:10.6\pm3.47$, $\text{As}:6.49\pm2.20$, $\text{Cd}:95.5\pm33.8$, $\text{Pb}:34.4\pm7.86$, 加熱式たばこは $\text{Al}:155\pm45.3$, $\text{Cr}:0.23\pm0.10$, $\text{As}:0.60\pm0.28$, $\text{Cd}:0.01\pm0.00$, $\text{Pb}:0.51\pm0.35$ となった。たばこに含まれる金属類は土壌や農薬由来の為、銘柄・産地によって変化することが考えられる。加熱式たばこの健康影響は個別で見ると数値は低い、有害化学物質数は紙巻きたばこと変わらないため、長期的な調査が必要であると考えられる。

5. 加熱式たばこの葉に含有される水銀の分析

近年、加熱式たばこの愛用者が増加し、喫煙者において 20%を超えるシェアを占めるようになった。加熱式たばこは、燃焼を伴わないため、一般に有害性は低いと言われているものの、燃焼条件などが定まらないことから、従来の紙巻きたばことの比較ができていない。また、燃焼温度やフィルターなども加熱式たばこの製品により異なり、加熱式たばこ間の比較も難しい。そこで本研究は、紙巻たばこ、葉巻たばこおよび加熱式たばこの葉に含油される有害金属の 1 つである水銀を測定し、比較することを目的とした。

加熱式たばこの葉に含まれる水銀量は 1 カートリッジあたり 4.3 ng (3.0~6.9 ng) であった。紙巻き

たばこでは 13.8 ng (7.3~27.8 ng), 葉巻きたばこでは 5.7 ng (2.9~10 ng) であり、紙巻たばこと比較すると約 1/3 であり、1 カートリッジが 1 本と換算すると水銀含有量は小さいことが判った。

6. 加熱式たばこ主流煙に含まれる水銀の研究

近年、加熱式たばこの喫煙者が増加し、喫煙者において 20%を超えるシェアを占めるようになった。しかし、販売等の歴史が浅いことから、加熱式たばこの受動喫煙等による健康影響は不明な点も多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要である。そこで、本年度は、有害金属の 1 つである水銀について加熱式タバコのタバコ葉及び主流煙中の含有量を測定し、主流煙への移行率について検討することを目的とした。

本研究では加熱式たばこ 4 社 25 銘柄について、たばこ葉及び主流煙中の水銀量を測定した。その結果、加熱式たばこのたばこ葉中水銀含有量は 1 本あたり平均 3.3 ng (0.6~6.8 ng/cig) であった。また、主流煙中の水銀濃度はデバイスの加熱温度に大きく影響され、デバイスの加熱温度が 40℃の銘柄では 0.15 ng/cig, デバイスの加熱温度が 200℃以上では 1.5 ng/cig と 10 倍の差があることがわかった。これらの結果から、低温加熱式のデバイスでは移行率が約 3%, 高温加熱式のデバイスでは移行率が 40~107%と 10 倍以上異なり、水銀の曝露影響は高温加熱式に比べ低温加熱式デバイスが小さいことが認められた。

7. 加熱式たばこのフェノール類の分析法の確立と適用

国内で販売される加熱式たばこ 3 製品と紙巻たばこのフェノール類の分析をたばこ主流煙について実施し、比較検討を行った。フェノール類は芳香族置換基上にヒドロキシ基を持つ有機化合

物であり、有機物の不完全燃焼や熱分解によって生じる。さらにフェノール類は、心臓血管毒素であり、腫瘍共促進剤として作用し、遺伝毒性活性を示す。そこで本研究は、加熱式たばこ製品の主流煙フェノール、カテコール、レゾルシノール、ヒドロキノン、*o*-, *m*-, *p*-クレゾール、グアイアコール、3-メチルカテコール、4-メチルカテコールと4-クロロフェノールの11成分について分析法を確立し、実態調査を行った。

加熱式たばこ主流煙は、自動喫煙装置(LM4E, ボルグワルド社製)を用いてISO法(一服につき2秒間で35 mL 吸引, 60 秒間隔, 通気孔は開放)及びヘルスカナダ法(HCI法)(一服につき2秒間で55 mL 吸引, 30 秒間隔, 通気孔は全閉鎖)の2種類の方法を採用し捕集した。この主流煙の粒子成分はCambridge filter pad(CFP)で捕集した。CFPを抽出後、高速液体クロマトグラフ-蛍光検出装置に供し、フェノール分析を行った。IQOS と glo の主流煙中フェノール、カテコール、レゾルシノール、ヒドロキノン、*o*-, *m*-, *p*-クレゾール、グアイアコールは全て検出・定量された。一方で、Ploom TECH はフェノール以外の成分は検出されなかった。フェノール類全般において加熱式たばこの分析結果は、紙巻たばこより低減されていた。一方でグアイアコールなど一部の成分では、低減されていないものも確認された。

加熱式たばこの副流煙分析

1. 加熱式たばこの加熱式たばこ副流煙(エアロゾル) 分析法の開発

加熱式たばこは、たばこ葉を携帯型の装置で加熱することによって発生する煙(エアロゾル)を喫煙者が吸引するたばこ製品である。このたばこ製品は、燃焼を伴わないために紙巻たばこから発

生する有害化学物質の発生を抑制する。日本人喫煙者の男性 27.2%と女性 25.2%が加熱式たばこを使用していた。特に、20-40代はさらに使用率が高い。この加熱式たばこは、有害化学物質の発生量が90%削減と報告されている。

2020年4月1日から施行された健康増進法の一部を改正する法律(改正健康増進法)は、「望まない受動喫煙をなくす」、「受動喫煙による健康影響が大きい子ども、患者等に特に配慮」するために、施設の類型・場所ごとに対策を実施することで対応している。この法律において飲食店等は第二種施設に指定され原則屋内禁煙ではあるものの、いくつかの経過措置が取られている。その1つとして「加熱式たばこ」は、専用喫煙室で飲食可能であることが認められている。この対応は、加熱式たばこの受動喫煙による影響が、まだ解明されていない点が多い。そのため、加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を評価する必要がある。そこで、本研究では、まだ確立されていない加熱式たばこ副流煙の捕集法を開発し、副流煙のニコチン・たばこ特異的ニトロソアミン・メンソール分析を行うことを目的とした。

加熱式たばこの副流煙は、加熱式たばこ主流煙捕集用の喫煙装置に適した捕集法の開発を行った。まず、副流煙を捕集するためのガラス器具を2種類製作した。今回の研究では、測定対象をニコチンとした。副流煙の捕集は、ガラス器具、フィルター、XAD-4カートリッジ、インピンジャーの4箇所で行った。ニコチンの分析は、ガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器(GC/FID)で行った。

IQOSの副流煙は、ガラス器具に吸着したニコチン量(mg/stick)が0.0034、フィルターは0.052、カートリッジが0.0015そしてインピンジャーが定量下限値以下であった。IQOS 1本あたりの副

流煙は、0.057mg/stick となった。ニコチン捕集を可能としたガラス器具は、紙巻たばこ副流煙捕集用のガラス器具である「フィッシュテール」に近い構造としている。今後は、他の成分に関しても調査を拡大していく計画である。

電子たばこに関する分析

1. 電子タバコ，加熱式タバコ等非燃焼式タバコ

最近，電子タバコや加熱式タバコなどの非燃焼式タバコが普及している。しかし，これらの安全性に関しての検討は十分ではない。そこで，これらの非燃焼式タバコから発生する化学物質を，我々が開発した固体捕集－2相溶出法により分析し，発生する化学物質等の検討を行った。その結果，電子タバコからホルムアルデヒド，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のカルボニル化合物やプロピレンオキシドやグリシドール等のオキシド類が検出された。電子タバコはE-リキッド（プロピレングリコールとグリセロールの混合物）を加熱し，煙を発生させる喫煙具である。これらの物質は，本来，毒性が低い物質であるが，ニクロム線の過度な加熱による酸化反応でこれらの熱分解物が生成することが推測される。最近流行している“爆煙型電子タバコ”は電力を10W～80Wに変化させることができるが，電力の増加に伴い，上記の分解物の発生量が急激に上昇した。また，電子タバコのプラスチック製マウスピースが熔解するほど高温高密度のタバコ煙が発生する場合もあり，喫煙者の火傷が危惧される。一方，加熱式タバコからは水，プロピレングリコール，グリセロールが多く発生し，総化学物質の大半を占めた。加熱式タバコは，タバコ葉に水，プロピレングリコールとグリセロールを含浸させ，電子タバコと

同様に加熱により“煙”を発生させていることが考えられる。電子タバコと同様にプロピレンオキシドやグリシドールが検出された。この他，フルフラール，ジアセチル，アセトールが検出されたが，加熱式タバコ独特のにおいの原因の一つと思われる。

2. 高電力型電子タバコから発生する熱分解物質の分析

爆炎型電子タバコから発生する化学物質に関して，熱と化学物質発生量の関係について検討を行った。爆炎型電子タバコの多くは電力を200W以上に設定できるが，E-リキッドを入れてなくてもスイッチを入れることが可能である。この時，電熱線コイルの温度は最大1300℃に達し，アトマイザー内の空気温度も1100℃を示した。E-リキッドを充填した場合，電熱線コイル，ミストの温度は280℃を超えることがなかった。電子タバコから発生する化学物質は，加熱式タバコや紙巻タバコと異なり，炭素数が3以下のオキシド類，アルデヒド類が多く発生する。またグリセロールやプロピレングリコールから構成されるエアロゾル（総物質質量）が，他のタバコより一桁程度高い値を示した。また，メッシュタイプのアトマイザーはコイルタイプと比較して，ミスト発生量は少ないが熱分解物質の発生量は多かった。ホルムアルデヒドの場合，最大発生量はメッシュタイプのアトマイザーを使用したとき，ガス状物質は9100 µg/12puff，粒子状物質は2700 µg/12puff 発生しコイルタイプの4.3倍，4.1倍高い値を示した。これは紙巻タバコの約10倍の値である。ほとんどの電子タバコはメーカー推奨電力を超える高電力に設定することが可能であり，E-リキッドが入っていない状態でも稼働するため，安全対策が必要である。

3. 電子たばこ専用リキッドを対象としたビタミン E アセテートの分析（令和元年度）

近年、国内外では、若者を中心とした電子たばこの需要が急激に上昇している。その一方で、米国を中心に電子たばこによる健康被害の増加が問題とされ、アメリカ疾病管理予防センター（Centers for Disease Control and Prevention : CDC）が実施した調査から、カンナビジオールやビタミン E アセテート（D- α -トコフェロール）等の添加物が、電子たばこ製品の使用に関連する肺損傷（electronic-cigarette, or vaping, product use-associated lung injury : EVALI）を引き起こす要因となる可能性が懸念されている。このような実態を踏まえ、本研究では、様々なフレーバーから成る国内の電子たばこ専用リキッド 60 種類において D- α -トコフェロールの使用実態について調査した。結果として、国内で市販される 60 種類の電子たばこ専用リキッドには、D- α -トコフェロールが含まれておらず、健康影響との関連性は見出されなかった。

4. 電子たばこ専用リキッドに含まれる添加物の分析（令和 2 年度）

令和元年度に引き続き、ビタミン E アセテート（D- α -トコフェロール）等の添加物が、電子たばこ製品の使用に関連する肺損傷（electronic-cigarette, or vaping, product use-associated lung injury : EVALI）を引き起こす要因となることが示唆されている。また、電子たばこ専用リキッドに添加される様々な香料成分は、若者への喫煙を誘導する魅惑性がある他、その有害性についても懸念されている。そのため、本研究では、様々なフレーバーから成る国内の電子たばこ専用リキッド（72 種類）を対象に、各成分の使用実態について調査を行った。

調査の結果、どのリキッドも D- α -トコフェロールを含んでいないことが確認された。また、ニコチン入りのリキッドからは 10000-21000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の範囲でニコチンが検出され、香料成分に関しては、フレーバーごとに同一成分が検出される傾向が確認された。また、検出された成分の中には、有害性が指摘されるものも含まれていることから、今後は、電子たばこの主流煙中における濃度や喫煙者への曝露の実態についても調査の必要性が考えられた。

5. 電子たばこから発生する一酸化炭素とフェノール類の変動

本研究班では、これまで電子たばこの高出力タイプの製品の調査結果から、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ことを報告してきた。最近、電子たばこの主流エアロゾルには、一酸化炭素（CO）、フェノール類が含まれると報告があった。そこで本研究では、低出力 100W 以下の電子たばこにおいても CO、フェノール類が発生するのかを検討した。その時に、実際にたばこを使用する環境を想定して、数日間、電子たばこを使用することで分析値に変化するのか？について合わせて評価を行った。実際の電子たばこ使用者を想定して、5 日間使用して分析値を確認した。その結果、使用開始当初は、分析値は低い値であったが、2 日目以降は分析値が上昇する傾向が確認された。特に 70W の電子たばこでは、CO が紙巻たばこよりも高値であることが分かった。28W の電子たばこは、50 回目の喫煙時は 3.90 mg/回となった。70W の電子たばこは、50 回目の喫煙時は、46.9 mg/回となった。この数値は、紙巻たばこ主流煙の CO 量よりも高値であった。次にフェノール類に関しては、28W の電子たばこの特徴は、検出された化合物がフェノール、カテ

コール、4-メチルカテコールの3物質であった。
また、総フェノール類の合計値は、50回目の467 ng/回であった。次に、70Wの電子たばこは、ハイドロキノン、レゾルシノール、3種類のクレゾールなども検出された。最も高い総フェノール量は、15,267 ng/回となった。今回の分析結果から、低出力の電子たばこであっても有害化学物質が発生することが確認された。

アルデヒドに起因した生体高分子への影響に関する研究

加熱式および電子タバコのエアロゾルに含まれるカルボニル化合物の健康におよぼす影響についての懸念が広がっている。エアロゾル中のカルボニル化合物やラジカルは呼吸器組織の酸化ストレスを高めることにより内因性カルボニルをさらに増加させる。カルボニル化合物はお互いに結合し新たな化合物ができる場合がある。しかし、その健康への影響はほとんど知られていない。エアロゾルに含まれるカルボニル化合物の中に既知ヒト発癌物質であるホルムアルデヒド (FA) およびアセトアルデヒド (AA) が相当量含まれていることが明らかになっている。FA あるいは AA は脂質過酸化に由来する内因性カルボニルであるマロンジアルデヒド (MDA) と結合することにより 1,4-dihydropyridine (DHP) 型のハイブリッド型付加体を蛋白のリジン側鎖に作ることをこれまでに報告してきた。DHP 型付加体は炎症性反応を引き起こすことが報告されている。過去3年間の本研究により、DHP 型付加体が蛋白質、脂質、および DNA 上のアミノ基に産生されることを明らかにした。さらに DHP 型付加体に対する抗体が生体内に産生されることを明らかにした。また、アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) が組織

内の FA の解毒に関与している可能性を示唆する結果をマウスを用いて報告した。日本人の約 50% が ALDH2 の低機能変異体である ALDH2*2 対立遺伝子を持っており、野生型と比較して ALDH2*1/*2 (ヘテロ型) から作られる酵素の FA を解毒する機能は著しく低い。低活性型 ALDH2*2 アレルを持つ人が加熱式および電子たばこのエアロゾルに含まれる高濃度の FA および AA に暴露した場合、野生型アレル (ALDH2*1/*1) のみを持つ人に比べ FA および AA に起因した呼吸器毒性が強く出る可能性について今後の調査が必要と思われる。

加熱式タバコなど新しいタバコ製品が政策に及ぼす影響

2018 年 7 月健康増進法が改正され、受動喫煙対策の義務化が盛り込まれるようになり、順次施行され、2020 年 4 月より全面施行となった。加熱式タバコについては健康影響を引き起こす有害化学物質は含まれていることは明確であるが、販売後間もないこともあり、現時点では科学的知見が十分でないとし、従来の「分煙」と同様な対応下で飲食店等における飲食サービスも可能とする緩やかな対応による経過措置が設けられた。

ここでは、国内外の論文、国際機関等が発表した報告書を参考に、新しい製品群に関連した政策に及ぼす影響について文献的検討を行った。

加熱式タバコは、非常に依存性の高いニコチンを高濃度に含み喫煙継続につながるだけでなく、紙巻タバコとの二重使用を引き起こしている。さらに発がん性物質を含む様々な有害化学物質が、紙巻タバコよりは低い濃度ながら、種類はほぼ同様に含まれている。中には、紙巻タバコより高濃度の化学物質も発生している。

コロナ禍においてもタバコ産業からは販売拡大

戦略としての広告が拡大されるとともに、たばこ規制枠組条約FCTC第5条3項に規定されているが、日本は政策決定に対するタバコ産業からの干渉が最も大きい国と評価されている。

米国FDAは、リスクが修飾（軽減）されたタバコ製品：Modified Risk Tobacco Products (MRTPs)に関する評価において、IQOSを有害物質の曝露が低減されたタバコと評価した。ただし、リスクの低減されたタバコとしては承認していない。WHOでは、加熱式タバコや電子タバコ等の新しいタバコ関連製品群の販売拡大に懸念を示し、科学的エビデンスの提示を進めて来ている。2018年5月に加熱式タバコに関するインフォメーション・シートを発行し、2020年7月に第2版を発行した。

今後も全てのタバコ製品に対し、FCTCに基づいたタバコ対策を継続することが求められる。

C. 結論

本研究班は、加熱式たばこ製品から発生する有害化学物質の分析法を確立し、日本市場で毎年新たに投入される加熱式たばこの実態調査を行った。この3カ年で「フェノール類」「フラン類、ピリジン類」「芳香族アミン類」「金属類、水銀も含む」の分析法を開発してきた。同時にWHOたばこ研究室ネットワークに参画し、加熱式たばこの成分分析法を行い、国際標準化に向けて共同研究を進めた。加熱式たばこの新製品に関しては、これまでの加熱装置よりも加熱温度を上昇させ、有害化学物質の発生量が上昇していることが確認された。また、たばこ産業以外から販売されている加熱装置（交換機）の調査も行った。この交換機の温度設定によっては、紙巻たばこに匹敵する有害化学物質が発生する製品が販売されており、購入者には知ることが出来ない状況であった。

電子たばこについても研究を進めた。電子たばこは、出力の大きさによって有害化学物質が発生することを確認した。一方で低出力の電子たばこであっても5日間の使用で、一酸化炭素、フェノール類の発生が確認された。電子たばこの国内販売リキッドに含まれる化学物質を調査したところ、D- α -トコフェロールは含有されていなかった。香料成分に関しては、フレーバーごとに同一成分が検出される傾向が確認された。また、検出された成分の中には、有害性が指摘されるものも含まれていることから、今後は、電子たばこの主流煙中における濃度や喫煙者への曝露の実態についても調査の必要性が考えられた。

2018年7月健康増進法が改正され、受動喫煙対策の義務化が盛り込まれるようになり、順次施行され、2020年4月より全面施行となった。加熱式タバコについては健康影響を引き起こす有害化学物質は含まれていることは明確であるが、販売後間もないこともあり、現時点では科学的知見が十分でないとし、従来の「分煙」と同様な対応下で飲食店等における飲食サービスも可能とする緩やかな対応による経過措置が設けられた。そこで、加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を評価するための第1段階として、「加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立」を行い、ニコチン、メンソール、たばこ特異的ニトロソアミン類の分析を行った。紙巻たばこの副流煙の分析値より低いものの、加熱式たばこであったとしても発がん性物質が検出された。今後は、この副流煙捕集法を使用して、他の有害化学物質の分析を実施していく計画である。

加熱式および電子タバコのエアロゾルにはホルムアルデヒド(FA)およびアセトアルデヒド(AA)などのカルボニル化合物が検出される。そのカルボニル化合物が脂質過酸化に由来するマロンジ

アルデヒド (MDA) と複雑に反応してハイブリッド型 (1,4-dihydropyridine [DHP] 型) リジン付加体および DNA 付加体が産生されることをわれわれはこれまでに明らかにしてきた。2020 年度の研究では、FA および AA が細胞膜の構成成分であるリン脂質に DHP 型付加体をつくる可能性を検討した。

コロナ禍においてもタバコ産業からは販売拡大戦略としての広告が拡大されるとともに、たばこ規制枠組条約 FCTC 第 5 条 3 項に規定されているが、日本は政策決定に対するタバコ産業からの干渉が最も大きい国と評価されている。米国 FDA は、リスクが修飾 (軽減) されたタバコ製品: **Modified Risk Tobacco Products (MRTPs)**に関する評価において、IQOS を有害物質の曝露が低減されたタバコと評価した。ただし、リスクの低減されたタバコとしては承認していない。今後も全てのタバコ製品に対し、FCTC に基づいたタバコ対策を継続することが求められる。

D. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

研究成果の刊行に関する一覧表に記載

2. 学会発表

各年度の分担研究報告書に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
平成31年度～令和2年度 総合研究報告書

国内の加熱式たばこ/電子たばこに含まれる有害成分の分析

研究分担者 戸次 加奈江 国立保健医療科学院

研究要旨

近年、国内で幅広く使用される加熱式たばこは、フレーバーなどの添加物を使用した多種多様な銘柄が販売され、主流煙中の成分においても従来の紙巻たばことは異なる特徴が報告されている。本研究では、発生する成分の中でも、特に、加熱式たばこに特徴のある成分であり、有害性が指摘されるフラン類とピリジン類を対象に主流煙を対象とした分析法を確立し、喫煙者への曝露量を調べることにした。結果として、フラン類では、対象としたフルフラール、2-フランメタノール、2(5H)-フラノン、5-メチルフルフラールについて、多種類の銘柄を有する glo から標準たばこよりも高く検出される傾向が見られた。また、ピリジン類については、燃焼成分として標準たばこからも高濃度発生するピリジンや環境たばこ煙のマーカー成分として知られるエテニルピリジンの発生が確認された。検出された成分の中でも、特に、フルフラール、2-フランメタノール、ピリジンについては、毒性影響や発癌性が指摘されることから、加熱式たばこの使用により引き起こされる健康影響の要因として寄与する可能性が考えられた。

また、2019年6月以降、米国を中心とした電子たばこの使用者における肺疾患の急増において、アメリカ疾病管理予防センター（Centers for Disease Control and Prevention：CDC）の調査から、カナビジオールやビタミンEアセテート（D- α -トコフェロール）等の添加物と、電子たばこ製品の使用に関連する肺損傷（electronic-cigarette, or vaping, product use-associated lung injury：EVALI）との関連が指摘される報告がなされた。また、電子たばこ専用リキッドには、加熱式たばこと同様に、魅惑性または有害性が指摘される多種類の香料成分が使用されていることを踏まえ、本研究では、国内の電子たばこ専用リキッド（72種類）を対象に、各成分の使用実態について調査を行った。調査の結果、どのリキッドも D- α -トコフェロールを及びニコチンは含んでいないことが確認され、香料成分については、フレーバーごとに同一成分が検出される傾向が見られた。これら検出された香料成分の中には、有害性が指摘されるものも含まれるため、今後は、電子たばこの主流煙中の濃度を調べることで、喫煙者への曝露実態を明らかにする必要性も考えられた。

本研究で検出された成分については、呼出煙や副流煙を介した室内汚染や、受動喫煙の原因物質にもなる可能性が考えられるため、上記の成分による室内汚染の研究についても更なる研究を進めていく必要があるものと考えられる。

研究代表者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院
研究分担者 牛山 明 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

A 目的

近年、たばこ市場においては、従来の紙巻たばこに代わる新型たばこに大きな注目が集まっている。世界的に見ても、新型たばこに分類される

電子たばこや加熱式たばこの需要は、ここ数年の間で大幅に増加しており、2014年に第3世代のタンク型電子たばこが販売されて以降、その売り上げは急上昇している。また同じ2014年以降、電気加熱式の新しいタイプの製造たばこ（製品名 IQOS, Ploom TECH, glo等、以下、加熱式たばこ）の販売が国内で開始され、その人気は未だ静まることの無い勢いである。この様に多くの関心を集める新型たばこ製品の主な特徴として、従来の紙巻たばこに比べて有害成分の大幅な低減化が挙げられる。しかしながら、実際、これらの製品は、市場に出て間もないことから、発がん性等に関する疫学的データは殆どなく、有害性や安全性に関しては未知の問題が多く残されている。

実際に、電子たばこには、これまでの紙巻たばこの種類をうわまわる、様々な香料を用いた専用リキッドが販売されており、近年、加熱式たばこのスティックにおいてもその種類は増加傾向にある。このようなフレーバー付きの製品については、使用される香料由来の成分や、さらにこうした成分が加熱されることで、電子たばこあるいは加熱式たばこ特異的ないくつかの成分が、紙巻たばこよりも高濃度発生することも徐々に明らかにされている。一般に、フレーバーとして使用される添加物には、安全性が確保された食品添加物が使用されていることが殆どであるものの、米国食品香料製造業者協会（FEMA）は、このような食品添加物の中にも、有害性が懸念されるものがある（1037種類）ことを指摘している¹⁾。また中には、糖類の加熱分解成分として食品中などからも検出されるフラン類（2(5H)-フラノン、2-フランメタノール（フルフリルアルコール）etc.）や、ニコチンの熱分解により生成するピリジン類（ex. 3-エテニルピリジン（3-EP）²⁾）が検出されているが、こうした成分に対する安定性の高い捕集法及び分析法は確立されていないため、喫煙者に対する曝露量が明らかとされておらず、より高感度な捕集方法が必要とされている。

2019年6月以降、米国イリノイ州やウィスコン

シン州を中心に電子たばこの使用者における深刻な肺疾患が急増した³⁾。アメリカ疾病管理予防センター（Centers for Disease Control and Prevention : CDC）が実施した調査から、その要因として、電子たばこに含まれる特定の成分との関連性が指摘されている。FDAや州立の公衆衛生研究所では、こうした電子たばこ製品の中で有害性が懸念される成分の中でもビタミンEアセテート（D- α -トコフェロール）、中鎖脂肪酸、脂質等について幅広い調査を実施しており、特にD- α -トコフェロールが多くの製品で検出されたことが報告されている。

さらに、電子たばこが有害性を示す要因の一つに、欧米では多くの若い世代がニコチン入り電子リキッドを使用する実態がある。ニコチンは依存症を引き起こすのみでなく、急性呼吸器疾患などの要因となる可能性もあることから、特に危険性が指摘されている。日本国内では薬機法による規制の基、たばこ製品に由来しないニコチンを含む製品の販売が法的に禁じられているため、個人輸入による入手以外、店頭での販売は許可されていない。しかしながら、国民生活センターによると⁴⁾、多くの違法リキッドが国内でも広まっていることから、消費者への注意喚起や販売停止・回収の指導なども行われてきている。

そこで本研究では、加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類を対象としたフレーバーに関する成分分析及び電子たばこ専用リキッドに含まれるニコチン及びビタミンEアセテート等の添加物について成分分析を行うことで、各製品からの発生量や曝露量を明らかにし、健康影響や室内汚染への影響を調べる上での基礎データをを得ることを目的とした。

B 方法

B.1. 文献調査

本研究では、electronic cigarette、heated tobacco product、flavorのキーワードを基に文献検索を行った結果、228文献を抽出し、そのうち選定した

26文献についてレビューを行った。

B.2. ガス状成分捕集用カートリッジの作製

本研究では、ガス状で存在するニコチンや3-EPの捕集剤として推奨されるTenax TA及びTenax GR (GLサイエンス社製) をそれぞれ200 mgずつポリエチレン製カートリッジ (Rezorian tube, 1 mL) に充填し、2種類のカートリッジを作製した。本カートリッジは、予め抽出溶媒10 mlを通液し洗浄し、窒素ガス2Lを通気し乾燥させた後、捕集までの期間冷暗所にて保管した。

B.3. たばこ主流煙の捕集及び分析

自動喫煙装置 (Borgwaldt Technik GmbH製, LM4E) に、ガス状成分及び粒子状成分の捕集を目的とした固体捕集カートリッジと石英繊維フィルター (ケンブリッジフィルターパッド: CFP) を接続し、たばこ主流煙を捕集した。加熱式たばこの主流煙を捕集する際、各たばこの専用スティックは、フィルターの通気孔を塞ぎ、吸煙量55 mL、吸煙時間2秒、吸煙間隔30秒に準拠して行った。捕集後は、捕集チューブ及びCFPを有機溶媒で抽出し、ガスクロマトグラフィータンデム質量分析装置 (GC-MS/MS) で定量した。本実験で使用した加熱式たばこは、IQOS (IQOS 3, Phillip Molis)、glo (British American Tobacco)、ploom S (日本たばこ産業株式会社) の3製品であり、各製品の専用スティックには以下の銘柄を使用した。IQOSはmenthol、balanced regular、gloではberry boost、dark fresh、ploom techではregular taste、menthol purpleを使用した。

B.4. 電子たばこ専用リキッドに含まれる添加物の分析

市販される電子たばこ専用リキッドをインターネットで購入し、各成分のスクリーニングに用いた。購入した専用リキッドは、Grovy Vape、Vaporever、ARASHI、HiLiQ、HANGBOOのブランドが販売するフレーバー付きのリキッドであり、

全72種類を購入した。各リキッドから100 µlずつ分取し、2-プロパノールで100倍に希釈したものをサンプルとして分析に用いた。また、各成分の分析にはGC-MS/MSを用い、「B.3 たばこ主流煙の捕集及び分析」と同様のメソッドで実施した。

C 結果及び考察

C.1. 新型たばこに含まれる化学成分の特徴

新型たばこから発生する主流煙中の有害成分については、従来の紙巻たばこよりも多くのものが低減される傾向にある中で、紙巻たばこよりも高い濃度を示す、香料等に由来する多種類の成分が検出されている。こうしたものの中には、有害性を示す成分があることも報告されており、中でも2(5H)-フラノンや2-フランメタノールなどを含むフラン類やフラノン類については、発がん性等を示す可能性があることから、新型たばこが示す健康リスクの要因としても懸念されている。また、たばこ葉中の糖やアミノ酸を加熱することで生じるメイラード反応からは、フラン類やフラノン類等の香料成分が生成され、これらは、特に様々な種類のフレーバーからなる専用スティックが販売される加熱式たばこIQOSからも比較的高濃度検出されていることから、加熱式たばこに特徴的な成分となる可能性も考えられ、従来の紙巻たばこと加熱式たばこによる受動喫煙曝露の影響を区別する上でのマーカーとしての利用も期待される。

C.2. 加熱式たばこの主流煙に含まれるフラン類及びピリジン類の分析

検出された成分の結果をTable 1に示す。フラン類では、対象としたフルフラール、2-フランメタノール、2(5H)-フラノン、5-メチルフルフラールについて、多種類の銘柄を有するgloから標準たばこよりも高く検出される傾向が見られた。また、ピリジン類については、燃焼成分として標準たばこからも高濃度発生するピリジンや環境たばこ

煙のマーカー成分として知られるエチルピリジンの発生が確認された。検出された成分の中でも、2-フランメタノールやピリジンについては、発癌性 (IARC: グループ2B) が指摘されていることから、加熱式たばこの使用により引き起こされる健康影響の要因として寄与する可能性が考えられた。

C.3. 電子たばこ専用リキッドに含まれる添加物の分析

検出された成分の結果をTable 2に示す。本調査の結果、対象とした全てのリキッドにおいて、D- α -トコフェロールが含まれていないことが確認された。これまで、D- α -トコフェロールは、カンナビオイルの溶媒として使用されてきたものの、その有害性が指摘されたことで、各国でも使用が規制されることとなった。実際に、イギリスでもD- α -トコフェロールの使用が規制されたため、昨今市場に出回るリキッドからは、いずれもD- α -トコフェロールは検出されていない⁵⁾。また、ニコチン入りのリキッドからは10000-21000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の範囲でニコチンが検出され、フレーバーに関する成分については、フレーバーごとに同一成分が検出される傾向が見られた。また、検出された成分の中には、有害性が指摘されるものも含まれるため、今後、電子たばこの主流煙中での発生量から喫煙者への曝露実態に関する調査の必要性も考えられた。

D 結論

本研究では、加熱式たばこや電子たばこ特異的に検出されるフレーバーに由来する香料成分について、個体捕集カートリッジを用いた捕集及び分析法を確立することで、加熱式たばこの使用による各成分の喫煙者への曝露量を明らかにすることができた。今後は、各成分の有害性に関する情報と総合的に検証することで、従来に比べ、より詳細な健康リスクの算出にも繋げていけるものと思われる。また、本実験結果より、加熱式た

ばこは、喫煙者への曝露の他に、呼出煙や副流煙により環境中へも排出されることで、受動喫煙や三次喫煙の指標となる可能性も考えられた。

また、国内で市販される72種類の電子たばこ専用リキッドを対象に、国内では使用することが違法とされるニコチンやD- α -トコフェロールを初め、フレーバーとして使用される多種類の添加物を対象に成分分析を実施した結果、ニコチンやD- α -トコフェロールなどは定量下限を下回ることが確認され、一方で、健康影響との関連が指摘されるフラン類やピリジン類などの香料成分については、フレーバーごとに数種類のものが検出された。今後は、電子たばこの主流煙中での発生量から喫煙者への曝露実態についても明らかにし、健康被害の未然防止に向けた対応が必要と考えられた。

E 引用文献

- 1 Alert N. Preventing Lung Disease in Workers Who Use or Make Flavorings. NIOSH Publication No. 2004-2110, 2003.
2. Frank, R.L., R.W. Holley, and D.M. Wikholm: 3,2' Nicotyrine. Insecticidal properties of certain azo derivatives; J. Am. Chem. Soc. 64 (1942) 2835-2838.
3. Layden JE, Ghinai I, Pray I, Kimball A, Layer M, Tenforde M, Navon L, Hoots B, Salvatore PP, Elderbrook M, et al. Pulmonary illness related to e-cigarette use in Illinois and Wisconsin—Preliminary report. N Engl J Med. 2020, 382: 903-916.
4. 国民生活センター. 電子たばこの安全性を考える . http://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20100818_1.html.
5. E-cigarette use or vaping: reporting suspected adverse reactions, including lung injury <https://www.gov.uk/drug-safety-update/e-cigarette-use-or-vaping-reporting-suspected-adverse-reactions-including-lung-injury>

F 研究発表

(国内学会)

1. 戸次加奈江, 内山茂久, 稲葉洋平, 牛山明. 加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類の分析. 第57回全国衛生化学技術協議会年会 ; 2020.11.9-10 ; 宮崎 (誌上発表). 同講演集. P252-253

2. 戸次加奈江, 内山茂久, 稲葉洋平, 牛山明. 国内の加熱式たばこから発生するフラン類及びピリジン類の比較. 日本薬学会第141年会 ; 2021.3.26-28 ; 広島 (zoom開催)

G 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 加熱式たばこの主流煙から検出されたフラン類及びピリジン類.

Compound (μg/stick)	IQOS		glo		ploom S		3R4F
	Regular	Menthol	Berry boost	Dark fresh	Regular taste	Menthol purple	
<i>Furans</i>							
Furfural	98 ± 16	1.7 ± 0.17	170 ± 8.4	180 ± 16	11 ± 0.49	2.0 ± 0.16	86 ± 22
2-Furanmethanol	15 ± 5.1	0.11 ± 0.010	34 ± 4.5	46 ± 5.6	2.4 ± 0.18	2.1 ± 0.11	4.2 ± 0.74
2(5 <i>H</i>)-Furanone	3.0 ± 0.98	n.d.	12 ± 1.8	14 ± 1.1	1.4 ± 0.10	n.d.	6.6 ± 0.91
5-Methylfurfural	33 ± 6.8	0.35 ± 0.030	55 ± 4.3	70 ± 8.2	2.7 ± 0.17	1.0 ± 0.07	12 ± 2.3
<i>Pyridines</i>							
Pyridine	5.2 ± 0.84	6.1 ± 0.85	2.7 ± 0.33	3.1 ± 0.20	0.75 ± 0.020	0.41 ± 0.02	33 ± 4.1
2,6-Dimethylpyridine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.5 ± 0.28
2,5-Dimethylpyrazine	0.78 ± 0.013	0.010 ± 0.0	0.42 ± 0.030	0.53 ± 0.0	0.73 ± 0.020	0.22± 0.03	4.0 ± 0.62
2-Ethenylpyridine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.59 ± 0.10
3-Ethylpyridine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.4 ± 0.93
4-Ethenylpyridine	1.5 ± 0.30	0.67 ± 0.14	2.5 ± 0.26	0.94 ± 0.030	0.65 ± 0.010	1.1 ± 1.0	6.3 ± 1.4
3-Ethenylpyridine	0.50 ± 0.13	n.d.	0.15 ± 0.010	0.55 ± 0.080	0.31 ± 0.020	0.19 ± 0.060	3.7 ± 0.36
2,3,5-Trimethylpyrazine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Additives</i>							
Benzyl Alcohol	0.30 ± 0.080	0.080 ± 0.010	0.62 ± 0.12	1.0 ± 0.050	0.22 ± 0.020	n.d.	4.2 ± 0.31
Linalool	0.52 ± 0.36	0.020 ± 0.0	13 ± 1.4	0.05 ± 0.010	0.020 ± 0.0	3.4 ± 0.18	0.12 ± 0.11
Menthol	2.5 ± 0.22	1100 ± 64	1700 ± 200	1500 ± 41	0.93 ± 0.18	720 ± 12	4.5 ± 3.9
4-Ethyl guaiacol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.79 ± 0.090
Eugenol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10 ± 0.01	n.d.
<i>Others</i>							
Nicotine (mg/stick)	1.2 ± 0.059	1.3 ± 0.082	1.0 ± 0.0037	1.2 ± 0.022	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.0	1.8 ± 0.0
Water (mg/stick)	27 ± 7.7	26 ± 4.4	15 ± 1.0	17 ± 1.7	16 ± 0.3	18 ± 0.6	10 ± 2.3
Tar (mg/stick)	13 ± 3.0	10 ± 5.3	22 ± 2.4	18 ± 2.5	13 ± 8.5	12 ± 9.8	27 ± 1.8
Total (mg/stick)	42 ± 1.3	38 ± 0.42	38 ± 2.3	37 ± 2.8	30 ± 3.3	31 ± 3.3	49 ± 3.7

n=3, n.d. means not

Table 2 電子たばこ専用リキッドに含まれる添加物

NO	Bland	Flavor	Furfural	2-Furan-methanol	2,5-Dimethyl-pyrazine	2(5H)-furanone	2-Ethenyl-pyridine	5-Methyl-furfural	4-Ethenyl-pyridine	3-Ethenyl-pyridine	2,3,5-Trimethyl-pyrazine	Benzyl Alcohol	Linalool	Menthol	Nicotine	Eugenol	α -Tocopherol
1	HANGBOO	green apple	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	HANGBOO	green lemon grapefruit	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.031	n.d.	n.d.	n.d.	15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	HANGBOO	coffee	n.d.	n.d.	0.56	n.d.	n.d.	6.1	n.d.	n.d.	4.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	HANGBOO	sevenstar	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5	HANGBOO	hyper menthol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.83	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4300	n.d.	n.d.	n.d.
6	HANGBOO	passion fruit	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
7	HANGBOO	blueberry	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	HANGBOO	muscat ice	29	n.d.	0.42	n.d.	n.d.	n.d.	0.0075	n.d.	n.d.	n.d.	1.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9	HANGBOO	marlboro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.019	n.d.	1.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10	HANGBOO	menthol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.58	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4200	n.d.	n.d.	n.d.
11	HANGBOO	lychee	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
12	HANGBOO	redbull ice	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1100	n.d.	n.d.	n.d.
13	ARASHI	Black Coffe	n.d	n.d	0.38	n.d	n.d	2.3	0.42	n.d	1.1	41	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
14	ARASHI	Blueberry	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	2.8	1.9	n.d	8.5	15	1600	n.d	n.d	n.d
15	ARASHI	Grapefruit	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.19	n.d	n.d	n.d	7.8	1	n.d	n.d	n.d
16	ARASHI	Green Apple	n.d	14	n.d	n.d	n.d	n.d	0.19	n.d	n.d	5.2	1.2	390	n.d	n.d	n.d
17	ARASHI	Hard Mind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.0050	n.d	n.d	n.d	n.d	2600	n.d	n.d	n.d
18	ARASHI	Ice Cola	n.d	n.d	n.d	n.d	0.41	n.d	0.25	n.d	n.d	13	14	11	n.d	29	n.d
19	ARASHI	Koyoho Grape	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.017	n.d	n.d	n.d	6.3	n.d	n.d	n.d	n.d
20	ARASHI	Lemon Passion fruit	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.1	n.d	n.d	3.2	15	0.82	n.d	n.d	n.d
21	ARASHI	Mango Smoothie	n.d	n.d	n.d	n.d	4.9	n.d	0.059	n.d	n.d	n.d	4.5	n.d	n.d	n.d	n.d
22	ARASHI	Mix Fruits	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.36	n.d	n.d	3.9	11	380	n.d	n.d	n.d
23	ARASHI	Muscat	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.018	n.d	n.d	n.d	2.3	250	n.d	n.d	n.d
24	ARASHI	Pineapple	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0.83	n.d	n.d	7.4	18	670	n.d	n.d	n.d
25	Pharma Hemp	strawberry flavor	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.69	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
26	Pharma Hemp	vanilla cream flavor	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.94	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
27	Pharma Hemp	cannabis flavor	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3.4	2.0	n.d.	n.d.	n.d.
28	Pharma Hemp	apple flavor	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	52	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
29	CANNAPRESSO	strawberry	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2.3	n.d.	n.d.	4.2	2.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
30	CANNAPRESSO	mango	n.d.	6.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.88	n.d.	n.d.	59	4.6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
31	CANNAPRESSO	cherry mint	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8.4	n.d.	n.d.	27	n.d.	830	n.d.	n.d.	n.d.
32	CANNAPRESSO	straw-melon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.2	n.d.	n.d.	31.3	2.3	46	n.d.	n.d.	n.d.
33	VAPE SERIES	blue rasberry	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.33	n.d.	n.d.	n.d.	15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
34	VAPE SERIES	strawberry kiwi	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.8	n.d.	n.d.	21	8.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
35	VAPE SERIES	strawberry milk	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.4	n.d.	n.d.	150	92	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
36	VAPE SERIES	wild watermelon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	n.d.	n.d.	n.d.	6.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
37	HiLIQ	STARLIGHT nicotine salt liquid 30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5.7	n.d.	n.d.	380	220	6.3	11000	n.d.	n.d.
38	HiLIQ	SUPERBLAST nicotine salt liquid 30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	33	3.8	7700	10000	9.5	n.d.
39	HiLIQ	STARLIGHT nicotine salt liquid 35	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3.6	n.d.	n.d.	450	260	7.7	21000	n.d.	n.d.
40	HiLIQ	SUPERBLAST nicotine salt liquid 35	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2.4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	49	5.7	10000	21000	15	n.d.
41	ABSK Vape	Coffee	n.d.	n.d.	0.58	0.28	n.d.	5.0	n.d.	n.d.	2.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Table 2 continued

NO	Bland	Flavor	Furfural	Furfuryl-Alcohol	2,5-Dimethyl-pyrazine	2(5H)-furanone	2-Ethenyl-pyridine	5-Methyl-furfural	4-Ethenyl-pyridine	3-Ethenyl-pyridine	2,3,5-Trimethyl-pyrazine	Benzyl Alcohol	Linalool	Menthol	Nicotine	Eugenol	α -Tocopherol
42	ABSK Vape	Double Menthol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10	n.d.	2.8	n.d.	n.d.	52	0.94	8700	n.d.	n.d.	n.d.
43	ABSK Vape	Double Apple	n.d.	12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.2	n.d.	n.d.	n.d.
44	ABSK Vape	Ice Mint	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10	1.8	6800	n.d.	n.d.	n.d.
45	ABSK Vape	Pink Lemon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1	n.d.	0.65	n.d.	n.d.	9.3	82	n.d.	n.d.	2.4	n.d.
46	ABSK Vape	Strawberry Crea	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5.0	n.d.	n.d.	970	12	0.72	n.d.	24	n.d.
47	ABSK Vape	Tobacco (sevenstar flavor)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
48	ABSK Vape	VK Mint Blueberry	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2	n.d.	n.d.	680	40	3500	n.d.	n.d.	n.d.
49	TORIDO	strawberry watermelon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12	n.d.	n.d.	690	130	48	n.d.	n.d.	n.d.
50	TORIDO	green apple mint	n.d.	64	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.89	4600	n.d.	n.d.	n.d.
51	TORIDO	Pineapple	4.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11	n.d.	n.d.	270	280	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
52	TORIDO	banana	n.d.	n.d.	n.d.	0.49	n.d.	n.d.	0.89	n.d.	n.d.	n.d.	57	2.2	n.d.	750	n.d.
53	TORIDO	Peach	n.d.	n.d.	n.d.	0.32	n.d.	n.d.	29	n.d.	n.d.	250	1000	24	n.d.	n.d.	n.d.
54	TORIDO	muscat	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.4	n.d.	n.d.	97	1.6	1.00	n.d.	n.d.	n.d.
55	TORIDO	mix fruits	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.0	n.d.	270	n.d.	n.d.	590	150	n.d.	n.d.	39	n.d.
56	TORIDO	tangerine lemon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.5	n.d.	1.0	n.d.	n.d.	4.5	190	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
57	TORIDO	melon vanilla	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	14	1.3	33	n.d.	n.d.	n.d.
58	TORIDO	menthol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.62	n.d.	0.66	n.d.	n.d.	7.1	4.2	23000	n.d.	2.5	n.d.
59	TORIDO	lychee	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11	n.d.	n.d.	2200	140	140	n.d.	4.7	n.d.
60	TORIDO	palm	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2.1	n.d.	n.d.	790	n.d.	4.8	n.d.	n.d.	n.d.
61	Ciberae	Blackcurrant (cassis)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.61	n.d.	n.d.	5.6	3.4	7.0	n.d.	n.d.	n.d.
62	Ciberae	Brueberry	n.d.	n.d.	n.d.	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5.5	n.d.	4.1	n.d.	n.d.	n.d.
63	Ciberae	Cherry	n.d.	n.d.	n.d.	0.21	n.d.	n.d.	8.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8.7	n.d.	n.d.	n.d.
64	Ciberae	Grape	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5.8	6.8	n.d.	n.d.	n.d.
65	Ciberae	Green Apple	n.d.	6.1	n.d.	0.19	n.d.	n.d.	0.74	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6.5	n.d.	n.d.	n.d.
66	Ciberae	Ice Menthol	n.d.	n.d.	n.d.	0.19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7700	n.d.	n.d.	n.d.
67	Ciberae	Melon	n.d.	n.d.	n.d.	0.20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2.7	9.9	n.d.	n.d.	n.d.
68	Ciberae	Orange	n.d.	n.d.	n.d.	0.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	80	10	n.d.	n.d.	n.d.
69	Ciberae	Peach	n.d.	n.d.	n.d.	0.19	n.d.	n.d.	0.68	n.d.	n.d.	n.d.	88	3.4	n.d.	n.d.	n.d.
70	Ciberae	Raspberry	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	170	2.7	36	n.d.	n.d.	n.d.
71	Ciberae	Strawberry	n.d.	n.d.	n.d.	0.19	n.d.	n.d.	1.0	n.d.	n.d.	n.d.	0.61	1.4	n.d.	n.d.	n.d.
72	Ciberae	Water Melon	n.d.	n.d.	n.d.	0.18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6.5	2.5	n.d.	n.d.	n.d.
73	Koil killaz Salt		n.d.	n.d.	0.48	n.d.	0.55	0.85	n.d.	n.d.	n.d.	7.9	2.4	1.4	4800	n.d.	n.d.
74	ORO Salt	LIMONADA	n.d.	n.d.	0.4	n.d.	0.73	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	220	12	60	3300	n.d.	n.d.
75	Lemon Drop Salt Peach	PEACH	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.3	5.9	1.0	3200	n.d.	n.d.
76	Blackwood Salt	DUKE	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.82	n.d.	n.d.	7.6	n.d.	n.d.	n.d.	4500	n.d.	n.d.
77	HiLIQ	Virginia	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	28	n.d.	n.d.	n.d.	3800	n.d.	n.d.
78	HiLIQ	ICE APPLE	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3500	n.d.	n.d.
79	Bandito	pure strong menthol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1200	860	n.d.	n.d.
80	Horny Flava	Red Apple	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.07	n.d.	520	n.d.	n.d.
81	Chunky Juice	Orange Soda	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	16	n.d.	550	n.d.	n.d.
82	Feukin' Flava	Yummay Guava	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	28	0.84	n.d.	290	3.9	n.d.

令和2年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
総合研究報告書

加熱式たばこ主流煙に含まれる水銀の研究

研究分担者 杉田 和俊 麻布大学 獣医学部講師
研究代表者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

近年、加熱式たばこの愛用者が増加し、喫煙者において20%を超えるシェアを占めるようになった。しかし、販売等の歴史が浅いことから、加熱式たばこの受動喫煙等による健康影響は不明な点も多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要である。そこで、本年度は、有害金属の1つである水銀について加熱式たばこのたばこ葉及び主流煙中の含有量を測定し、主流煙への移行率について検討することを目的とした。

本研究では加熱式たばこ4社 25 銘柄について、たばこ葉及び主流煙中の水銀量を測定した。その結果、加熱式たばこのたばこ葉中水銀含有量は1本あたり平均3.3ng (0.6~6.8ng/cig)であった。また、主流煙中の水銀濃度はデバイスの加熱温度に大きく影響され、デバイスの加熱温度が40℃の銘柄では0.15ng/cig、デバイスの加熱温度が200℃以上では1.5ng/cigと10倍の差があることがわかった。これらの結果から、低温加熱式のデバイスでは移行率が約3%、高温加熱式のデバイスでは移行率が40~107%と10倍以上異なり、水銀の曝露影響は高温加熱式に比べ低温加熱式デバイスが小さいことが認められた。

A. 研究目的

健康増進法が2020年4月に改定され、国は受動喫煙の防止に関する施策の策定に必要な調査研究を推進するように努めることとされている。加熱式たばこについては、紙巻たばこに比べ販売等の歴史が浅いことから、加熱式たばこの受動喫煙による将来的な健康影響は不明な点も多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。加熱式たばこは、2013年以降に日本国内での販売が開始され、すでに喫煙者において20%を超えるシェアを占めるようになった。加熱式たばこは、紙巻たばこのような燃焼を伴わないため、一般に有害性は低いと言われている。また、吸引デバイスや加熱温度なども製品により異なり、加熱式たばこ間の比較も難しい。他方、水銀は、日本では水俣病に代表

される有機水銀汚染、世界では金鉱山や金属製錬などに伴う無機水銀汚染などが報告されており、未だに世界では代表的な環境汚染物質である。水銀には発がん性は報告されていないものの、メチル水銀では神経毒性による健康影響が、水銀蒸気の場合では、主に腎臓に蓄積するとともに血液-脳関門を通過し脳内に運ばれ、その結果として胸の痛み、呼吸困難、咳、咯血を続発し、間質系肺炎の引き起こすことが報告されている。たばこ主流煙中の水銀は蒸気として吸引されるため、上記の影響が考えられる。そこで、喫煙による水銀曝露量を推定することを目的として、紙巻たばこ、「リトルシガー」と呼ばれる葉巻たばこ及び加熱式たばこに含有される水銀及び主流煙に含まれる総水銀量を測定した。

B. 研究方法

1. 使用たばこ銘柄

分析に供したたばこは国内で販売されている紙巻きたばこ 15 銘柄、葉巻たばこ 5 銘柄及び加熱式たばこ 25 銘柄とした。

2. 主流煙中水銀の捕集及び前処理

たばこ主流煙中の水銀は、水銀マニュアル(環境省)を若干変更し、0.6%過マンガン酸カリウム(試薬特級 富士フィルム 和光純薬株式会社)水溶液と硫酸水溶液(有害金属測定用 富士フィルム和光純薬工業株式会社)(1+15)を等量今後したもの吸収液とし、その 15ml をインピンジャー1 本に入れ、HCI モードで機械喫煙により発生したたばこ 3 本分の主流煙を捕集した。捕集後、ホットプレート上で過マンガン酸カリウム溶液を加えながら、過マンガンカリウムの紫色が消えなくなるまで加熱分解した。水銀測定の直前に 10%ヒドロキシルアミン塩酸塩(試薬特級 和光純薬工業)溶液を添加し、過マンガン酸カリウム溶液の紫色を脱色し、水銀測定試料とした。

たばこ葉中の水銀は水銀マニュアル(環境省)を若干変更し、肉厚のメスフラスコ(50mL)に試料約 0.5g を計り取り、水、硝酸(電子工業用含有率 61% 関東化学株式会社製)-過塩素酸(有害金属測定用特級試薬 60% ナカライテスク株式会社製)を等量混合したものと硫酸(有害金属測定用 富士フィルム和光純薬工業株式会社)を加え、ホットプレート上で 1 時間の加熱分解を行った。冷却後、水を加え 50mL に定容し、水銀測定用試料とした。

水銀の測定は、水銀測定用試料 20mL をガラス製測定容器に入れ、硫酸(富士フィルム和光純薬株式会社、有害金属測定用)(1+1) 1mL 及び 10%塩化すず(塩化すず(Ⅱ)二水和物、富士フィルム和光純薬株式会社、有害金属測定用)水溶液 1mL を添加し、発生した Hg 蒸気を空気でセル

に導き吸光度を測定した。水銀の吸光度測定は Mercury Analyzer HG400 (平沼産業株式会社)を用いた。水銀の定量には水銀標準試薬(Hg 100, 富士フィルム和光純薬株式会社)を適宜希釈して用いた。

C. 研究成果

1. 紙巻たばこの水銀含有量

国外では紙巻たばこでは、たばこ 1 本当たり 10ng 程度の Hg が含まれていることが報告され(1, 2)Kowalski et al. 2009, Panta et al. 2008), 喫煙による水銀の暴露影響が懸念されている。本研究で得られた紙巻きたばこのたばこ葉中水銀及び主流煙中(HCI モード)水銀含有量を Table 1 に示す。たばこ葉の水銀含有量はたばこ 1 本当たり平均 13.8ng (7.3ng~27.8ng)と約 4 倍の開きが認められた。主流煙中水銀含有量は 1 本当たり平均 3.9ng (1.6ng~5.9ng)で、水銀含有量は Tar や Nicotine の量とは関係は認められなかった。また、たばこ葉から主流煙への移行率は平均 32.9% (14.1%~62.1%)であった。

2. 葉巻たばこの水銀含有量

今回、試験に供した葉巻たばこは「リトルシガー」と呼ばれるもので、通常葉巻たばこと異なり、構造的には紙巻たばこと同じであるが、たばこ葉を巻いている紙の代わりに「たばこ葉を原料とした専用の巻紙」が使われていることである。そのため、税法上は葉巻たばこに分類され、1 本あたりで計算されるたばこ税が 1g 当たりで計算され、高価になった紙巻たばこに代わり、販売量が押下しているものである。葉巻たばこのたばこ葉中水銀及び主流煙(HCI モード)中水銀の測定結果を Table 2 に示す。本研究では、葉巻たばこの巻紙はタバコ葉試料として含めなかった。紙巻たばこに比べると銘柄が少ないため本研究では 5 銘柄について測定した。たばこ葉中の水銀含有量は平均で 1 本当たり 5.7ng (2.9ng~10.0ng), 主流煙中水銀含有量は平

均で1本当たり4.0ng(2.7ng~5.8ng)であった。
また、たばこ葉から主流煙への移行率は平均で73.7%(58.6%~99.0%)であった。

3. 加熱式たばこの水銀含有量

最近、販売数が増加している加熱式たばこは、加熱温度がデバイス(喫煙する装置)により異なっているのが大きな特徴である。今回の検討では4種類(40℃、200℃、240-280℃及び300-350℃)の温度のデバイスを用いた。その結果をTable 3に示す。たばこ葉中の水銀含有量は平均で1本当たり3.3ng(0.6ng~6.8ng)であり、ばらつきはあるものの、製造社やブランドによる差は認められなかった。次に、主流煙中の水銀含有量は加熱温度別に示した。低温加熱式(40℃)のデバイスでは主流煙中の水銀は平均0.15ng/cigと高温加熱式デバイスの中でも200℃と300-350℃ではそれぞれ平均が1.3及び1.4ng/cigと同様の結果であったが、240-280℃では2.8ng/cigと高い結果になった。しかし、240-280℃のデバイスはメーカーも異なることから、たばこ葉やその加工方法、加熱方法も異なることが考えられ、詳細な検討が必要である。低温加熱式(40℃)では高温加熱式に比べ約1/10の含有量であり、葉の含有量からの移行率も3.0%と非常に小さく、高温加熱式では移行率は40-107%と大きく異なることが判った。

D. 考察

本研究結果から、たばこ1本当たりの水銀含有量は、紙巻たばこ>葉巻たばこ>加熱式たばこの順で少なく、紙巻たばこと葉巻たばこ、紙巻たばこと加熱式たばこで有意な差($p<0.05$)が認められた。葉巻たばこや加熱式たばこでは1本当たりのたばこ葉量が0.25gと紙巻たばこ(たばこ葉量は約0.6g)に比べると半分以下であることが要因であると考えられる。葉巻たばこと加熱式たばこではたばこ葉中の水銀含有量に

ついては有意な差は認められなかった。

一方、主流煙中水銀含有量を比較すると、紙巻たばこで1本当たり3.9ng、葉巻たばこで1本当たり4.0ngとほぼ同様の含有量であった。加熱式たばこではデバイスの加熱温度により主流煙中水銀の含有量は大きく異なり、加熱温度40℃のものでは1本当たり平均0.15ng、200℃以上のもので1本当たりの平均は1.5ngと有意な差が認められた($p<0.05$)。さらに、紙巻たばこの主流煙中水銀と加熱温度が200℃以上の加熱式たばこでも有意な差が認められた($p<0.05$)。これらの結果から主流煙中の1本当たりの水銀含有量は紙巻たばこ≒葉巻たばこ>加熱式たばこ(加熱温度>200℃)>加熱式たばこ(加熱温度40℃)となり、主流煙中の水銀含有量は加熱式たばこでは有意に低く、デバイスの加熱温度が主流煙中の水銀濃度に大きく影響することがわかった。低温加熱式(加熱温度40℃)では移行率が3%と高温加熱式(>200℃)に比べると1/10以下であった。水銀の曝露影響の観点からすると、紙巻たばこよりも加熱式たばこ、その中でも低温加熱式による喫煙の方が健康影響は少ないことが考えられた。加熱式たばこに関しては様々な香料を添加したたばこや新しいデバイスも販売されていることから、引き続き調査・監視を続ける必要がある。

E. 結論

本研究では紙巻たばこ15銘柄、葉巻たばこ5銘柄及び加熱式タバコ25銘柄のたばこ葉及び主流煙中の水銀を測定した。その結果、全ての試料(たばこ葉、主流煙)から水銀を検出した。たばこ葉中1本当たりの水銀含有量は加熱式たばこが最も少なかった。主流煙への移行率は葉巻たばこが最も高く、紙巻たばこでは14.1%~62.1%とばらつきがあった。加熱式たばこの移行率では加熱温度により大きく差があり、3%からほぼ全量移行するものまで認められた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Kazutoshi SUGITA, Hiroshi SATO, Sample Introduction Method in Gas Chromatography (Review), Anal. Sci. Vol.37. pp159-165, 2021.

Kazutoshi SUGITA, Junpei YAMAMOTO, Kimika KANESHIMA, Chika KITAOKA-SAITO, Masashi SEKIMOTO, Osamu ENDO, Yukihiro TAKAGI, Yuko KATO-YOSHINAGA, Acrylamide in dog food, Fundam. Toxicol. Sci. Accepted.

2. 学会発表

小野史礼, 杉田和俊, 高木敬彦, FO-20 土壌の塩素処理に伴う変異原性挙動の変化. 公益財団法人日本獣医学会 第 163 回日本獣医学会学術集会 (2020).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

Table 1 Mercury contents in leaves and mainstream smoke of cigarette

No.	Tobacco	Tar (mg)	Nicotin (mg)	Hg in tobacco Leaves (ng/cig)	Hg in maintream smoke (ng/cig)	Transfer ratio (%)
1	KENT1 100's	1	0.1	10.3	3.4	32.7
2	MEVIUS ONE 100's-1	1	0.1	8.7	2.5	28.6
3	xs CASTER	5	0.4	24.0	3.4	14.1
4	CABIN	8	0.6	27.8	4.7	16.9
5	COOL Natural	8	0.6	23.4	3.7	15.8
6	LARK MILDS 9	9	0.8	7.9	1.6	20.8
7	PARLIAMENT	9	0.7	7.3	3.7	50.3
8	MEVIUS ORIGINAL 10	10	0.8	9.3	3.9	41.6
9	The Peace	10	1.0	12.2	4.5	37.0
10	AMERICAN SPIRIT (Turquoise)	12	1.4	18.3	4.2	23.0
11	Marlbro Box	12	1.0	8.5	3.5	41.5
12	HOPE	14	1.1	9.4	5.9	62.1
13	SEVEN STARS	14	1.2	12.1	5.3	43.7
14	echo (Orenge package)	15	1.0	9.9	-	
15	Wakaba (Green package)	19	1.4	14.5	-	
	average			13.8	3.9	32.9
	sd			7.1	1.1	14.7
	min			7.3	1.6	14.1
	max			27.8	5.9	62.1

The calculation of the statistics did not include the results of ECHO and Wakaba.

Table 2 Mercury contents in tobacco leaves and mainstream smoke of little cigar

No.	Little Cigars	Hg in tobacco Leaves (ng/cig)	Hg in maintream smoke (ng/cig)	Transfer ratio (%)
1	CAMEL CIGARS ORIGINAL	6.2	4.1	66.9
2	echo CIGARS	5.7	4.3	76.1
3	Forte Lights	2.9	2.9	99.0
4	Forte ORIGINAL	3.9	2.7	68.0
5	WAKABA (Brown package)	10.0	5.8	58.6
	average	5.7	4.0	73.7
	sd	2.7	1.3	15.4
	min	2.9	2.7	58.6
	max	10.0	5.8	99.0

Table 3 Mercury content in tobacco leaves and mercury concentration in mainstream smoke of heated cigarettes

Heated Tobacco	device	company	Temperature (°C)	Hg in tobacco leaves (ng/cig)	Ave. tobacco leaves (ng/cig)	Hg in Mainstream(MS) (ng/cig)	Ave. MS (ng/cig)	apparatus transfer ratio (%)
MEVIUS CLEAR MINT	Ploom Tech Plus	JT	40	5.4		0.16		
MEVIUS GOLD CLEAR MINT	Ploom Tech Plus	JT	40	6.8		0.09		
MEVIUS ROAST BLEND	Ploom Tech Plus	JT	40	Not measured	4.9	0.15	0.15	3.0
MEVIUS GOLD ROAST	Ploom Tech Plus	JT	40	6.0		0.17		
MEVIUS ROAST (PLOOM TECH+)	Ploom Tech Plus	JT	40	1.1		0.17		
MEVIUS MENTHOL PURPLE	Ploom S	JT	200	2.5		1.4		
MEVIUS REGULAR	Ploom S	JT	200	2.3		1.4		
CAMEL Regular	Ploom S	JT	200	0.6	2.0	1.1	1.3	63.9
CAMEL Menthol	Ploom S	JT	200	2.6		1.2		
KENT bright tobacco	Glo	BAT	240-280	2.9		2.9		
KENT mint boost	Glo	BAT	240-281	2.4	2.7	2.8	2.8	107.2
MARLBORO REGULAR	IQOS	Philip Morris	300-350	3.1		2.7		
Marlbore MENTHOL	IQOS	Philip Morris	300-350	2.7		2.4		
MARLBORO RICH REGURALER	IQOS	Philip Morris	300-350	4.9		1.3		
MARLBORO BLANCED REGULAR	IQOS	Philip Morris	300-350	Not measured	3.7	1.1	1.5	40.9
MARLBORO SMOOTH REGULAR	IQOS	Philip Morris	300-350	4.8		1.2		
MARLBORO PURPLE MENTHOL	IQOS	Philip Morris	300-350	3.3		1.2		
MARLBORO BLACK MENTHOL	IQOS	Philip Morris	300-350	3.6		1.2		
MARLBORO MINT	IQOS	Philip Morris	300-350	Not measured		1.1		
HEETS DEEP BRONZE	IQOS	Philip Morris	300-350	1.9		1.3		
HEETS CLEAR SILVER	IQOS	Philip Morris	300-350	3.0		1.2		
HEETS FRESH EMERALD	IQOS	Philip Morris	300-350	2.4		1.1		
HEETS FROST GREEN	IQOS	Philip Morris	300-350	2.1	3.0	1.2	1.2	39.2
HEETS BALANCED YELLOW	IQOS	Philip Morris	300-350	5.3		1.1		
HEETS FRESH PURPLE	IQOS	Philip Morris	300-350	3.1		1.0		
Average				3.3				
SD				1.6				
min				0.6				
max				6.8				

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
総合研究報告書

アルデヒドに起因した生体高分子への影響に関する研究

研究分担者 中村 純 大阪府立大学

研究要旨

加熱式および電子タバコのエアロゾルに含まれるカルボニル化合物の健康におよぼす影響についての懸念が広がっている。エアロゾル中のカルボニル化合物やラジカルは呼吸器組織の酸化ストレスを高めることにより内因性カルボニルをさらに増加させる。カルボニル化合物はお互いに結合し新たな化合物ができる場合がある。しかし、その健康への影響はほとんど知られていない。エアロゾルに含まれるカルボニル化合物の中に既知ヒト発癌物質であるホルムアルデヒド (FA) およびアセトアルデヒド (AA) が相当量含まれていることが明らかになっている。FA あるいは AA は脂質過酸化に由来する内因性カルボニルであるマロンジアルデヒド (MDA) と結合することにより 1,4-dihydropyridine (DHP) 型のハイブリッド型付加体を蛋白のリジン側鎖に作ることをこれまでに報告してきた。DHP 型付加体は炎症性反応を引き起こすことが報告されている。過去3年間の本研究により、DHP 型付加体が蛋白質、脂質、および DNA 上のアミノ基に産生されることを明らかにした。さらに DHP 型付加体に対する抗体が生体内に産生されることを明らかにした。また、アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) が組織内の FA の解毒に関与している可能性を示唆する結果をマウスを用いて報告した。日本人の約 50% が ALDH2 の低機能変異体である ALDH2*2 対立遺伝子を持っており、野生型と比較して ALDH2*1/*2 (ヘテロ型) から作られる酵素の FA を解毒する機能は著しく低い。低活性型 ALDH2*2 アレルを持つ人が加熱式および電子タバコのエアロゾルに含まれる高濃度の FA および AA に暴露した場合、野生型アレル (ALDH2*1/*1) のみを持つ人に比べ FA および AA に起因した呼吸器毒性が強く出る可能性について今後の調査が必要と思われる。

A. 目的

燃焼タバコ煙あるいは環境中の微粒子の慢性的な暴露が動脈硬化などの生活習慣病の発症に深く関与していることが疫学および実験的に証明されている [1-4]。さらに、機序は未だ不明だが、慢性的な肺の炎症が心血管系疾患を引き起こすことも明らかになってきている [5]。一方、電子タバコと加熱式タバコ製品から産生されるエアロゾル中には従来のタバコ煙よりも変異原性物質を含む毒性物質の生成が少ないと考えられている。しかし、その電子タバコと加熱式タバコ製品のエアロゾルから種々のカルボニル化合物が

高濃度に検出されることが報告されている [6]。そのカルボニル化合物には既知ヒト発癌物質であるホルムアルデヒド (FA) およびアセトアルデヒド (AA) が含まれる。これらのカルボニル化合物はプロピレングリコール (PG) およびグリセロール (VG) が加熱されることによって産生される。カルボニル化合物は生体内高分子 (DNA、およびタンパク質など) に直接反応し付加体を形成したり [7]、間接的に酸化ストレスを引き起こしたりすることで毒性を示す。酸化ストレスはさらに脂質過酸化を引き起こし、マロンジアルデヒド (MDA) を含む内因性の反応性アル

デヒドの形成をもたらす。すなわち、電子タバコと加熱式タバコ製品から発生するエアロゾルを吸い込んだ肺にはこのような種々のカルボニル化合物が混在する条件下で炎症などの健康障害が発生すると考えられる。

これまでに、MDA と FA あるいは AA が複雑に反応することによってリジン側鎖にあるアミノ基に抗原性の高い炎症性 1,4-ジヒドロピリジン (DHP) 型の付加体の M2FA あるいは M2AA を作ることを明らかにしてきた [8,9] (図 1)。この DHP 型付加物は、1 分子の FA あるいは AA と 2 分子の MDA がアミノ基と反応することで作られる。そこで我々は、電子タバコと加熱式タバコ製品のエアロゾル中に存在する種々のアルデヒドが MDA の存在下でタンパク質、DNA および脂質と反応することで DHP 型付加体を作るか否かを検討した (図 2)。さらに、DHP 型付加体に対する抗体価を測定する方法を確立した。

また、FA の生体内における毒性学的影響に及ぼすアルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) の重要性に関してノースキャロライナ大学 (米国) と共同研究を実施した。ALDH2 の主たる基質はアルコール飲料に含まれるエタノールが代謝される時に大量に産生される AA である。ALDH2 はその AA を酢酸塩に代謝、無害化する。ALDH2 には、一塩基多型 (ALDH2*2) が存在し、特に日本を含めた東アジア諸国の人口の約 50% で不活性型の ALDH2*2 のアレルを持つ人がいる。ALDH2 は試験管内で FA の代謝にも関与していることが報告されていることから、我々は FA の主たる代謝酵素であるアルコール脱水素酵素 5 (Adh5) に加え Aldh2 を共に欠損したマウスを作製し、ALDH2 の FA 代謝の重要性を生体レベルで検討を行った。

FA あるいは AA などのアルデヒド化合物は直接生体高分子と反応する [10]。一方、メタノールあるいはエタノールなどの水酸基を持つ化合物は生体内でアルコール脱水素酵素 (ADH) により FA あるいは AA などのアルデヒド化合物に変わる。電子タバコと加熱式タバコ製品のエアロゾル中に存在するグリシドールはエポキシ

基と水酸基を合わせ持つ化合物である。グリシドールの水酸基も ADH によりアルデヒド基に変換される可能性があり、このタイプの化合物はエポキシ基が存在することより、アルデヒド基が代謝により新たに作られることで 2 官能基性の代謝体が産生され、遺伝毒性が強まる可能性がある。そこで、エポキシ基と水酸基を合わせ持つ化合物の遺伝毒性の新たなメカニズムを理解する目的で、細胞を用いた研究を行った。我々は、モデル化合物として、燃焼タバコ煙および電子タバコと加熱式タバコ製品のエアロゾル中に含まれるブタジエンのエポキシ化代謝体の 1 つである 1,2-dihydroxy-3,4-epoxybutane (EBD) を用いて遺伝毒性の検討を行った。

B. 方法

ハイブリッド型リジン付加体の精製 : MDA の存在下でリジンアナログであるアミノカプロン酸 (6ACA) とカルボニル化合物 (FA、AA、メチルグリオキサール (MGO)、グリオキサール (GO)、ジアセチルおよびシナムアルデヒド) を生理食塩水中で 37°C、7 日間反応させた。その後、反応物からリジン付加体の精製物および部分精製物を HPLC-ダイオードアレイ検出器 (DAD) を用いて分離した。DHP 型付加体と思われるピークが検出された場合は最終的にノースキャロライナ大学の質量解析研究室にて LC-MS 法を用い質量を解析した。

FA/AA に由来する DHP-DNA 塩基付加体の形成 : FA および AA を 37°C、弱酸性リン酸緩衝液 (pH 5.8) 中で MDA の存在下で、グアニンあるいはアデニンと反応させた。反応液から HPLC-DAD 法を用いいくつかのピークを分離し、UV 吸収スペクトルと蛍光特性の両方から DHP 型付加体および他のハイブリッド型付加体と思われるピークを精製した。さらに上述のようにノースキャロライナ大学の質量解析研究室にて質量を解析した。

FA/AA による DHP 型リン脂質付加体の形成 : FA あるいは AA、MDA とエタノールアミン (EA) とを 37°C で PBS 中に反応させた。反応後、DHP-EA を含む

反応液は HPLC-DAD 法を用い、いくつかのピークを分離し、さらに UV 吸収スペクトルと蛍光特性の両方をもとに DHP-EA 付加体と思われるピークを精製した。同様に、FA あるいは AA、MDA とジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE) とを 37°C でクロロフォルム/水 (1/1) 中にて反応させた。修飾された DPPE は 1 あるいは 10N の塩酸または 1N の水酸化カリウムを用いて加水分解し、EA 付加体を解離させた。また、ホスホリパーゼ D (PL-D) を用いて同様に DPPE から EA 付加体を加水分解させた。その後、上述と同様に HPLC-DAD 法にて DHP-EA を検出した。

付加体を用いた抗原の作製：AA および FA 由来の DHP 型リジン付加体 (M2AA-6ACA および M2FA-6ACA) を精製後、キャリアー蛋白である牛血清アルブミン (BSA) ないしはキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) に結合させ、さらに透析を行い、Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) に用いる抗原を作製した。

リジン付加体抗原を用いた ELISA：DHP 型付加体抗原は一定量 96 穴プレートに固相化し、スキンミルクを用いてブロッキングした後、血清と一晚反応させた。その後、パーオキシダーゼをラベルした二次抗体に反応させ、最後にパーオキシダーゼの基質と反応させ、プレートリーダーで定量を行った。

血清サンプル：粥状動脈硬化感受性マウスの ApoE 欠損マウスと野生型マウスの血清は米国ノースキャロライナ大学の Xianwen Yi 博士から入手した。マウス実験は、ノースキャロライナ大学動物実験施設の施設内動物管理使用委員会の審査委員会によって承認され実施された。

FA に対する感受性と ALDH2 機能：

我々はマウスを用いて FA 代謝の主要経路と代償経路の両方の遺伝子を欠損させた。すべてのマウス実験は、ノースキャロライナ大学動物実験施設の施設内動物管理使用委員会の審査委員会によって承認され実施された。マウスは、病原体のない、温度および光が制御された動物施設に、12 時間の明/暗サイクルで飼育さ

れ、標準的な餌と水が自由に与えられた。C57BL/6J バックグラウンドの *Aldh2 ko* マウス[11]および *Adh5 ko* マウス[12]を入手した。*Aldh2^{-/-}/Adh5^{-/-}*マウスを交配することにより、*Aldh2/Adh5* 両遺伝子欠損 (*dko*) マウスの樹立を試みた。

ブタジエンの代謝体の遺伝毒性検出法：EBD の新たな遺伝毒性のメカニズムを明らかにするため、遺伝子修復酵素を欠損した細胞 (DT40 細胞の変異株) を用いた遺伝毒性検出アッセイを行った [13,14]。浮遊細胞 (ウェルあたり 75μl あたり約 1200 細胞) を 96 穴プレートに播種し、ブタジエン (BD) のエポキシ化代謝物に曝露した。使用した被験物質を滅菌 1XPBS で段階希釈し、細胞に暴露した。被験物質への暴露後、細胞は約 7~8 細胞周期の間培養した。次に、細胞生存率を XTT アッセイで測定した。プレートリーダーを使用した吸光度による LC₅₀ の定量を行った。GraphPad Prism 5 (La Jolla, CA, USA) を使用して、野生型と DNA 修復欠損変異細胞の LC₅₀ を比較し、解析を行った。遺伝毒性プロファイルは相対 LC₅₀ として表した。

C. 結果および D. 考察

ハイブリッド型リジン付加体の精製：カルボニル化合物 (FA、AA、MGO、GO、ジアセチルおよびシナナムアルデヒド) を MDA の存在下で 6ACA と生理食塩水中で 37°C、7 日間反応させ、安定な DHP 型リジン付加体ができるか否かを HPLC-DAD 法で検討した。その結果、AA、FA、MGO 由来の DHP 型リジン付加体 (それぞれ、M2AA、M2FA、M2MGO) が検出および精製された (図 3)。MGO は PG および VG のエアロゾル化に伴って産生される α-ジカルボニル化合物である [6]。α-ジカルボニル化合物の中にはバター風味を示すジアセチルが含まれ、ジアセチルは吸入暴露によって有毒な影響を呼吸器にもたらすことが知られている。これまでに、バター風味の蒸気にさらされた電子レンジ用ポップコーン工場の労働者に重症の閉塞性細気管支炎が発症している [15]。最近の研究では、ジアセチルのエアロゾルの吸入がラットに閉塞性細気管支

炎様病変を引き起こすことも実証されている[16]。さらに、ラットにジアセチルを暴露することにより生じる気道上皮壊死は、MGO でも認められ、炭素鎖が短い MGO の方がジアセチルより肺毒性が強いことが報告された [16]。MGO が炎症性のある DHP 型リジン付加体 M2MGO を作ることが明らかになったことより、MGO により作られる M2MGO に起因する呼吸器への影響を理解することが必要と思われる。

FA/AA に由来する DHP-DNA 塩基付加体の形成：DHP 型付加体は DNA の環外アミノ基にも産生される可能性がある。DHP 型の付加体の構成要素である MDA は単独でグアニン塩基と反応して 3 環型の付加体 (M₁G) を作ることを我々を含むいくつかの研究グループが報告している [17–20]。FA および AA もまた DNA 塩基の環外アミノ基と反応し、不安定な DNA 付加体や DNA-蛋白クロスリンクを作ること報告してきた [7,21,22]。そこで、グアニンあるいはアデニンを MDA の存在下で FA あるいは AA と反応させた後に HPLC-DAD で精製し、LC-MS で質量解析を行った。実験は DHP 型付加体が産生されやすい弱酸性環境で反応を行った。その結果、M2FA-アデニン (図 4 および図 5) および M2AA-グアニン付加体 (図 6) が産生されることが明らかになった。しかし、今回の質量解析において検出された M2AA-グアニン付加体は DHP 型付加体 M2AA-グアニン II なのか 3 環型付加体 M2AA-グアニン I (図 6) なのかを区別することはできなかった。また、DHP 型付加体以外にもハイブリッド型の付加体として M1FA-グアニン (図 7) および M1AA-グアニン付加体 (図 8) が検出された。これら DHP 型塩基付加体および 3 環型の塩基付加体は生理的条件下でかなり安定と考えられる。今後、中性環境下でこれらの塩基付加体が産生されるかを検討する必要がある。

FA/AA による DHP 型リン脂質付加体の形成：反応性が高いアルデヒドの 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) がホスファチジルエタノールアミン (PE) などのアミノリン脂質 (図 2) の求核部位に共有結合

する結果生ずる付加体について最近報告されている [23]。しかし、その病態生理学的影響はほとんど理解されていない。本研究では、PE 分子のアミノ基にも DHP 型付加体が産生されるのではないかと考え、まず PE の 1 つである DPPE を MDA の存在下で FA あるいは AA と 37°C にて反応させた (図 9)。反応液は黄色となり、DHP-リジンの励起波長に近い 365nm の波長で蛍光性の物質が検出された。このことから、DHP 型の付加体 (DHP-DPPE) が産生されている可能性が考えられた。DHP-DPPE から DHP が付加した EA を切り出す方法には、PL-D、強酸あるいは強塩基による加水分解がある (図 9)。そこで、EA を MDA の存在下で FA あるいは AA と反応させ、DHP-EA が検出されるかを検討した。生理食塩水を用いて EA を MDA の存在下で FA あるいは AA を 37°C にて反応させ、その反応液中に DHP-EA が存在するか否かを HPLC-DAD 法を用いて検討した。その結果、UV 吸光度スペクトラムをもとに M2FA-EA および M2AA-EA と考えられるピークが検出された。さらに、365nm の波長で蛍光性が検出されたことから、M2FA-EA および M2AA-EA がそれぞれ分離されたものと考えられた。

DHP-EA は強酸にはある程度の安定性を示したが、強塩基によって不安定な性状が確認できた。そこで、DHP-DPPE からの DHP-EA の解離反応には PL-D による酵素反応あるいは強酸による加水分解を用いることとした。次に、M2FA-DPPE および M2AA-DPPE を PL-D 処理あるいは強酸処理した後、その反応液を HPLC による分析にかけた。その結果、精製された M2FA-EA および M2AA-EA のピークと同じ保持時間にピークを検出できた。これらの結果より、加水分解処理により、DHP-PE から DHP-EA が切断されることが明らかになった (図 10)。今後さらに検討を加え、定量的な解析ができるよう研究を行う。

ハイブリッド型リジン付加体に対する抗体価の上昇と動脈硬化：タバコ煙あるいは環境中の微粒子を ApoE 欠損マウスに吸入暴露させることで粥状動脈硬化が悪化することが報告されている [24,25]。ApoE

欠損マウスを用いてタバコ煙と加熱式タバコのエアロゾルの粥状動脈硬化への影響を比較した結果も報告されている[26]。この様に **ApoE** 欠損マウスは環境中の大気汚染物質の動脈硬化への影響を明らかにするために頻繁に使われている疾患モデル動物である。我々はこれまでに、**ApoE** 欠損マウスの3か月齢の血液中に **M2AA** および **M2FA** に対する **IgG** および **IgM** 抗体が動脈硬化発症時に上昇することを明らかにした[8,9]。本研究では、3から5か月齢の野生型マウスおよび **ApoE** 欠損マウスの血液中の抗 **M2AA** 抗体 (**IgG**、**IgM**、**IgG1**、**IgG2a**) を調べた。その結果、**IgG**、**IgM**、**IgG1**、**IgG2a** の抗体価は特に3から4か月齢において **ApoE** 欠損マウスの血清中において上昇していることが明らかになった (図 11)。抗 **M2AA** 抗体および抗 **M2FA** 抗体の測定は、マウスのみならず、ラットおよびヒトの検体についても確立に成功しており、今後臨床サンプルを使ったヒトにおける影響について検討する予定である。

FAに対する感受性と **ALDH2**機能 : **FA** の生体内における毒性学的影響に及ぼす **ALDH2** の重要性に関してノースキャロライナ大学 (米国) とマウスを用いて共同研究を実施し、その結果を報告した[27]。**FA** の主たる代謝酵素である **Adh5** に加えバックアップ酵素と考えられる **Aldh2** を共に欠損したマウスを作製し、**ALDH2** の **FA** 代謝の重要性を生体レベルで検討を行った。その結果、**Adh5** および **Aldh2** をともに欠損したマウスは離乳前にほぼ前例死に至ることが明らかになり、動物体内に存在する **FA** の解毒に **Aldh2** が関与していることが強く示唆された[27]。最近の研究によって、ヒトでもこの2遺伝子が機能的に変異した場合、骨髄障害、白血病、精神疾患を伴う重篤な遺伝子疾患が生じることが明らかになった[28–30]。これらの新たな情報から、ヒトが高濃度の **FA** に暴露された場合、**ALDH2** の不活性型遺伝子多型 (**ALDH2*2**) を持つヒトは活性型遺伝子 (**ALDH2*1**) のみを持つヒトに比べて **FA** に対する感受性が高くなる可能性があることが考えられた (図 12)。今後、**ALDH2*2** アレルを持つ人が電子タバコな

いしは加熱式タバコのエアロゾルに暴露された場合の健康への影響を注意して解析する必要があると考える。

エポキシ基と水酸基の両方持つ化合物の遺伝毒性のメカニズムの解明 : **ブタジエン (BD)** は加熱式タバコのエアロゾルなどにも含まれるヒトの既知発癌性物質である。**BD** は二つの炭素-炭素二重結合をもつ化合物である (図 13)。ヒトでは、主として **CYP2E1** などによって1つの炭素-炭素二重結合がエポキシ化されて、さらにミクロゾームエポキシドヒドロラーゼ (**mEH**) によって加水分解される。さらに、**CYP2E1** などによって、もう一つ炭素-炭素二重結合がエポキシ化されることでエポキシ基と水酸基の両方持つ **3,4-epoxybutan-1,2-diol (EBD)** を生成する。我々は、この1官能基 (エポキシ基) 化合物である **EBD** が2官能基様のクロスリンク型の遺伝毒性を引き起こすことを最近報告した[31]。**EBD** はヒトの体内で他の **BD** 由来のエポキシ化代謝体と比べて最も弱い遺伝毒性をもつと報告されている。その一方で、**EBD** は最も多量に作られるエポキシ化代謝体と考えられている。本研究では、**EBD** を **DNA** 修復機能を欠落した細胞 (**DT40** 細胞ミュータント) に暴露したところ、特に **DNA** 鎖間架橋を修復するファンコニー貧血 (**FANC**) 関連遺伝子を欠損した細胞に高感受性を示した。このことは **EBD** が代謝過程において鎖間架橋を作る代謝物に変換される可能性を示唆するものである。**EBD** に類似した構造のグリシドールはエポキシ基と水酸基の両方持つ化合物である。グリシドールは加熱式タバコや電子タバコの保湿剤の **VG** が過熱されることによりエアロゾル内に産生される化合物である[6]。このグリシドールはこれまで1官能基化合物と考えられてきているが、**EBD** と同じように **ADH** により水酸基がアルデヒドとなることで2官能基化合物になり、遺伝毒性が強い鎖間架橋を引き起こす可能性が考えられる。

E. 結論

加熱式および電子タバコのエアロゾルには種々のカルボニル化合物が含まれる。そのカルボニル化合物は **DNA** などの生体内高分子に直接反応し付加体を形成したり、酸化ストレスを引き起こしたりすることで毒性を示す。酸化ストレスはさらに脂質過酸化を引き起こし、**MDA** を含む内因性の反応性アルデヒドの形成をもたらす。加えて、加熱式および電子タバコのエアロゾル中にはグリシドールなどのエポキシ基と水酸基を持つ化合物があり、体内の代謝によって生体内でアルデヒド基を持つ代謝体に変化する可能性がある。すなわち、電子タバコと加熱式タバコ製品から発生するエアロゾルを吸い込んだ肺にはこのような種々のカルボニル化合物が混在する条件で炎症などの健康障害が発生すると考えられる。本研究において、カルボニル化合物の中でもヒトにおける発癌性が証明されている **FA** が酸化ストレス下で **MDA** と反応し **DNA**、蛋白、および脂質に炎症性のある **DHP** 型 **M2FA** 付加体を産生することを明らかにした。さらに、ヒトが高濃度の **FA** に暴露した場合、**ALDH2** の不活性型遺伝子多型 (**ALDH2*2**) を持つヒトは活性型遺伝子 (**ALDH2*1**) のみを持つヒトに比べて **FA** に対する感受性が高くなる可能性を示唆する研究結果がマウスを用いた実験で得られた。日本人の約 **50%** で不活性型の **ALDH2*2** のアレルを持つ人がいることから、今後、電子タバコと加熱式タバコ製品から産生されるペーパー中の **FA** ないしは **AA** に対する感受性を **ALDH2** の遺伝子多型を踏まえて調査する必要があると考えられる。

引用文献

1. Auerbach O, Hammond EC, Garfinkel L. Smoking in relation to atherosclerosis of the coronary arteries. *N Engl J Med* [Internet]. 1965;273:775–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5829021>
2. Sackett DL, Gibson RW, Bross ID, Pickren JW. Relation between aortic atherosclerosis and the use of cigarettes and alcohol. An autopsy study. *N Engl J Med* [Internet]. 1968;279:1413–20.

Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5722916>

3. Künzli N, Jerrett M, Mack WJ, Beckerman B, LaBree L, Gilliland F, et al. Ambient air pollution and atherosclerosis in Los Angeles. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2005;113:201–6. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15687058>

4. Sun Q, Wang A, Jin X, Natanzon A, Duquaine D, Brook RD, et al. Long-term air pollution exposure and acceleration of atherosclerosis and vascular inflammation in an animal model. *JAMA* [Internet]. 2005;294:3003–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16414948>

5. Van Eeden S, Leipsic J, Paul Man SF, Sin DD. The relationship between lung inflammation and cardiovascular disease. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2012;186:11–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22538803>

6. Uchiyama S, Noguchi M, Sato A, Ishitsuka M, Inaba Y, Kunugita N. Determination of Thermal Decomposition Products Generated from E-Cigarettes. *Chem Res Toxicol* [Internet]. 2020;33:576–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31950825>

7. Nakamura J, Nakamura M. DNA-protein crosslink formation by endogenous aldehydes and AP sites. *DNA Repair (Amst)* [Internet]. Elsevier B.V.; 2020 [cited 2020 Mar 12];88:102806. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32070903>

8. Shimomoto T, Collins LB, Yi X, Holley DW, Zhang Z, Tian X, et al. A purified MAA-based ELISA is a useful tool for determining anti-MAA antibody titer with high sensitivity. *PLoS One*. 2017;
9. Nakamura J, Shimomoto T, Collins LB, Holley DW, Zhang Z, Barbee JM, et al. Evidence that endogenous formaldehyde produces immunogenic and atherogenic adduct epitopes. *Sci Rep* [Internet]. 2017 [cited 2019 Nov 17];7:10787. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2888>

3613

10. Nakamura J, Nakamura M. DNA-protein crosslink formation by endogenous aldehydes and AP sites. *DNA Repair (Amst)* [Internet]. 2020;88:102806. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568786419303805>
11. Kitagawa K, Kawamoto T, Kunugita N, Tsukiyama T, Okamoto K, Yoshida A, et al. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) 2 associates with oxidation of methoxyacetaldehyde; in vitro analysis with liver subcellular fraction derived from human and Aldh2 gene targeting mouse. *FEBS Lett* [Internet]. 2000 [cited 2020 Mar 12];476:306–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913633>
12. Yang Z, Wang Z-E, Doulias P-T, Wei W, Ischiropoulos H, Locksley RM, et al. Lymphocyte development requires S-nitrosoglutathione reductase. *J Immunol* [Internet]. The American Association of Immunologists; 2010 [cited 2020 Mar 12];185:6664–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20980633>
13. Ridpath JR, Takeda S, Swenberg JA, Nakamura J. Convenient, multi-well plate-based DNA damage response analysis using DT40 mutants is applicable to a high-throughput genotoxicity assay with characterization of modes of action. *Environ Mol Mutagen. Environ Mol Mutagen*; 2011;52:153–60.
14. Ridpath JR, Nakamura A, Tano K, Luke AM, Sonoda E, Arakawa H, et al. Cells deficient in the FANC/BRCA pathway are hypersensitive to plasma levels of formaldehyde. *Cancer Res*. 2007;67:11117–22.
15. Kreiss K, Gomaa A, Kullman G, Fedan K, Simoes EJ, Enright PL. Clinical bronchiolitis obliterans in workers at a microwave-popcorn plant. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 [cited 2020 Apr 17];347:330–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12151470>
16. Hubbs AF, Kreiss K, Cummings KJ, Fluharty KL, O'Connell R, Cole A, et al. Flavorings-Related Lung Disease: A Brief Review and New Mechanistic Data. *Toxicol Pathol* [Internet]. SAGE Publications Inc.; 2019 [cited 2020 Apr 17];47:1012–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31645208>
17. Basu AK, O'Hara SM, Valladier P, Stone K, Mols O, Marnett LJ. Identification of adducts formed by reaction of guanine nucleosides with malondialdehyde and structurally related aldehydes. *Chem Res Toxicol* [Internet]. 1988 [cited 2020 Apr 17];1:53–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2979712>
18. Jeong Y-C, Sangaiah R, Nakamura J, Pachkowski BF, Ranasinghe A, Gold A, et al. Analysis of M1G-dR in DNA by aldehyde reactive probe labeling and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chem Res Toxicol* [Internet]. 2005 [cited 2019 Nov 17];18:51–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15651849>
19. Mao H, Schnetz-Boutaud NC, Weisenseel JP, Marnett LJ, Stone MP. Duplex DNA catalyzes the chemical rearrangement of a malondialdehyde deoxyguanosine adduct. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1999 [cited 2019 Nov 19];96:6615–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359760>
20. Jeong Y-C, Nakamura J, Upton PB, Swenberg JA. Pyrimido[1,2-a]-purin-10(3H)-one, M1G, is less prone to artifact than base oxidation. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2005 [cited 2020 Apr 17];33:6426–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16282591>
21. Lu K, Craft S, Nakamura J, Moeller BC, Swenberg JA. Use of LC-MS/MS and stable isotopes to differentiate hydroxymethyl and methyl DNA adducts from formaldehyde and nitrosodimethylamine. *Chem Res Toxicol* [Internet]. 2012 [cited 2019 Nov 17];25:664–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22148432>
22. Swenberg JA, Lu K, Moeller BC, Gao L, Upton PB, Nakamura J, et al. Endogenous versus exogenous DNA adducts: their role in carcinogenesis, epidemiology, and risk assessment.

Toxicol Sci [Internet]. 2011 [cited 2020 Apr 19];120 Suppl 1:S130-45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163908>

23. Jovanović O, Škulj S, Pohl EE, Vazdar M. Covalent modification of phosphatidylethanolamine by 4-hydroxy-2-nonenal increases sodium permeability across phospholipid bilayer membranes. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2019;143:433–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31461663>

24. Lo Sasso G, Schlage WK, Boué S, Veljkovic E, Peitsch MC, Hoeng J. The ApoE(-/-) mouse model: a suitable model to study cardiovascular and respiratory diseases in the context of cigarette smoke exposure and harm reduction. *J Transl Med* [Internet]. 2016;14:146. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207171>

25. Fetterman JL, Pompilius M, Westbrook DG, Uyeminami D, Brown J, Pinkerton KE, et al. Developmental exposure to second-hand smoke increases adult atherogenesis and alters mitochondrial DNA copy number and deletions in apoE(-/-) mice. *PLoS One* [Internet]. 2013;8:e66835. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23825571>

26. Phillips B, Szostak J, Titz B, Schlage WK, Guedj E, Leroy P, et al. A six-month systems toxicology inhalation/cessation study in ApoE-/- mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of modified risk tobacco products, CHTP 1.2 and THS 2.2, compared with conventional cigarettes. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2019;126:113–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30763686>

27. Nakamura J, Holley DW, Kawamoto T, Bultman SJ. The failure of two major formaldehyde catabolism enzymes (ADH5 and ALDH2) leads to partial synthetic lethality in C57BL/6 mice. *Genes Environ* [Internet]. *Genes Environ*; 2020 [cited 2020 Jun 16];42:21. Available from: <https://genesenvironment.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41021-020-00160-4>

28. Oka Y, Hamada M, Nakazawa Y,

Muramatsu H, Okuno Y, Higasa K, et al. Digenic mutations in ALDH2 and ADH5 impair formaldehyde clearance and cause a multisystem disorder, AMeD syndrome. *Sci Adv* [Internet]. 2020;6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33355142>

29. Dingler FA, Wang M, Mu A, Millington CL, Oberbeck N, Watcham S, et al. Two Aldehyde Clearance Systems Are Essential to Prevent Lethal Formaldehyde Accumulation in Mice and Humans. *Mol Cell* [Internet]. 2020;80:996-1012.e9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33147438>

30. Mu A, Hira A, Niwa A, Osawa M, Yoshida K, Mori M, et al. Analysis of disease model iPSCs derived from patients with a novel Fanconi anemia-like IBMFS ADH5/ALDH2 deficiency. *Blood* [Internet]. 2021; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33512438>

31. Nakamura J, Carro S, Gold A, Zhang Z. An unexpected butadiene diepoxide-mediated genotoxicity implies alternative mechanism for 1,3-butadiene carcinogenicity. *Chemosphere* [Internet]. 2021;266:129149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33310515>

F. 研究発表

1. 論文発表 (7 件)

(1) Tian X, Chen Y, Nakamura J. Development of a novel PIG-A gene mutation assay based on a GPI-anchored fluorescent protein sensor. *Genes Environ*. 2019 Dec 10;41:21. PMID: 31867084.

(2) Ridpath JR, Nakamura J. Acid-specific formaldehyde donor is a potential, dual targeting cancer chemotherapeutic/chemo preventive drug for FANC/BRCA-mutant cancer. *Genes Environ*. 2019 Dec 27;41:23. PMID: 31890056.

(3) Nakamura J, Nakamura M. DNA-protein crosslink formation by endogenous aldehydes and AP sites. *DNA Repair (Amst)*. 2020 Apr;88:102806. PMID: 32070903.

(4) Nakamura J, Holley DW, Kawamoto T, Bultman SJ. The failure of two major formaldehyde catabolism enzymes (ADH5 and ALDH2) leads to partial synthetic lethality in C57BL/6 mice. *Genes Environ.* 2020 Jun 3;42:21. PMID: 32514323.

(5) Tian S, Nakamura J, Hiller S, Simington S, Holley DW, Mota R, Willis MS, Bultman SJ, Luft JC, DeSimone JM, Jia Z, Maeda N, Yi X. New insights into immunomodulation via overexpressing lipoic acid synthase as a therapeutic potential to reduce atherosclerosis. *Vascul Pharmacol.* 2020 Oct-Nov;133-134:106777. PMID: 32750408.

(6) Nakamura J. Potential Doxorubicin-Mediated Dual-Targeting Chemotherapy in FANC/BRCA-Deficient Tumors via Modulation of Cellular Formaldehyde Concentration. *Chem Res Toxicol.* 2020 Oct 19;33(10):2659-2667. PMID: 32876438.

(7) Nakamura J, Carro S, Gold A, Zhang Z. An unexpected butadiene diolepoxide-mediated genotoxicity implies alternative mechanism for 1,3-butadiene carcinogenicity. *Chemosphere.* 2021 Mar;266:129149. PMID: 33310515.

2. 学会発表 (5 件)

(1) 米国毒性学会 (SOT) 年次総会、J. Nakamura J, Kawanishi M, Okada T, Yagi T, and Kunugita N. Blood Titers of Antibody against Complex Malondialdehyde-Acetaldehyde-Lysine Adducts as a Biomarker for the Very Early Stage of Metabolic Syndromes, Such as Atherosclerosis. March, 2019.

(2) 米国毒性学会 (SOT) 年次総会 (COVID-19 により開催中止) J. Nakamura J, Kawanishi M, Yagi T, Okada T, and Kunugita N. Antigenic, Inflammatory DHP-Lysine Adducts Are Induced by Aldehydes in the Vapor of Both Flavored and Unflavored E-cigarettes and Heated Tobacco Products. March, 2020.

(3) 米国環境変異原学会 (Environmental Mutagenesis & Genomics Society Virtual Annual Meeting) Jun Nakamura, Sujey Carro, Avram, Zhenfa Zhang. Unexpected 3-Butene-1,2-Diol-Mediated Genotoxicity Implies Alternative

Mechanism of 1,3-Butadiene Carcinogenesis. September, 2020.

(4) 日本環境変異原学会年次大会. 中村純, Sujey Carro, Avram Gold, Zhenfa Zhan. エポキシブタンジオールの遺伝毒性の解析により明らかになったブタジエンの新たな発癌メカニズム. 2020 年 11 月.

(5) 日本分子生物学会年会フォーラム (環境因子と生体防御機構をイメージする!). 中村純, ホルムアルデヒド/アセトアルデヒドにより産生される蛍光性付加体と免疫反応. 2020 年 12 月.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

A Formaldehyde (FA) <chem>C=O</chem> Acetaldehyde (AA) <chem>CC=O</chem> Acrolein <chem>C=CC=O</chem>	Glyoxal (GO) <chem>O=C=O</chem> Methylglyoxal (MGO) <chem>CC(=O)C=O</chem>
Cinnamaldehyde (CA) <chem>c1ccccc1/C=C/C=O</chem> Vanillin <chem>COc1ccc(C=O)cc1O</chem>	Flavored chemicals Diacetyl (Dac) <chem>CC(=O)C(=O)C</chem>

+ O=CC=O + NCCCCCCC(=O)O
MDA + **Lys analog (6ACA)**

A: Carbonyl compounds

FA + **2 MDA**

不可逆的/安定

蛋白付加体
(ApoB-100/サーファクタント
蛋白)

リジン

DNA付加体

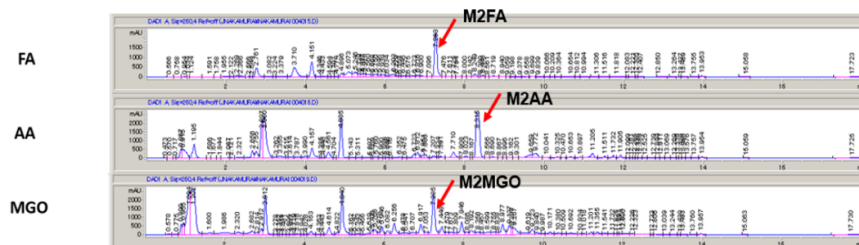
アデニン

脂質付加体
(細胞膜/サーファクタント
のリン脂質)

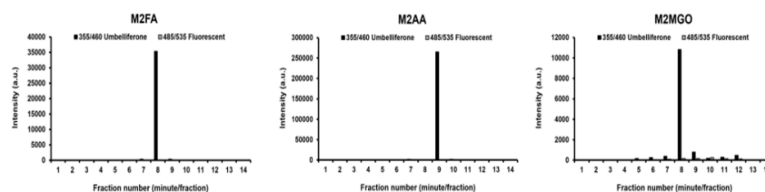
アミノリン脂質

図3 M2FA、M2AA、および M2MGO の構造、特徴および HPLC を用いた精製

A. HPLC Purification



B. Fluorescence detection



C. Adduct structure

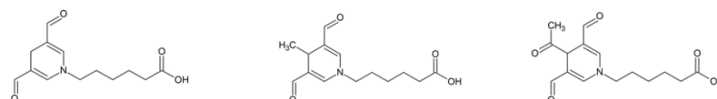


図4 M2FA-アデニン (A) 付加体の産生メカニズム

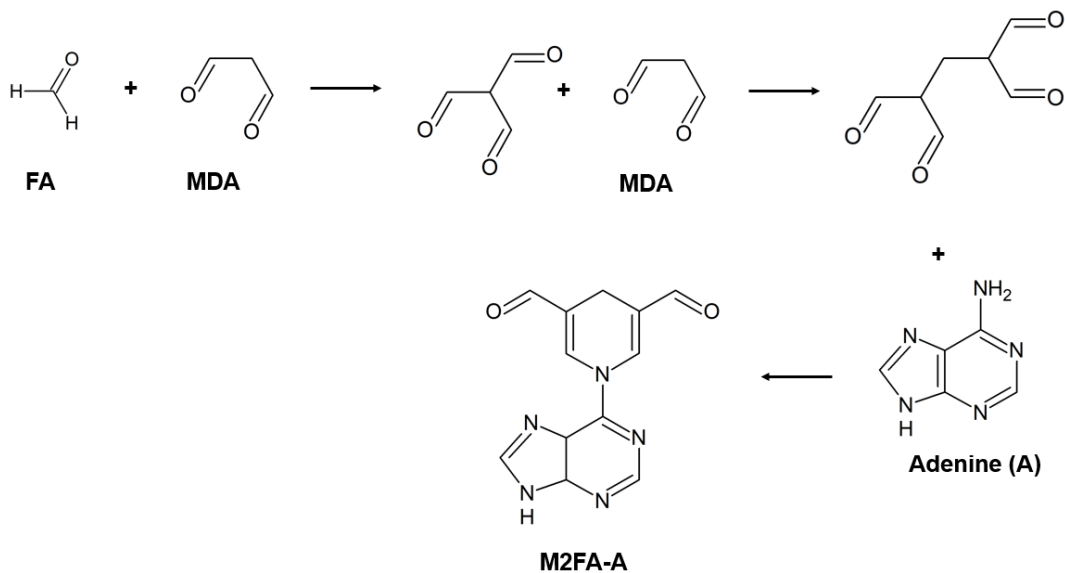


図5 M2FA-Aの質量解析

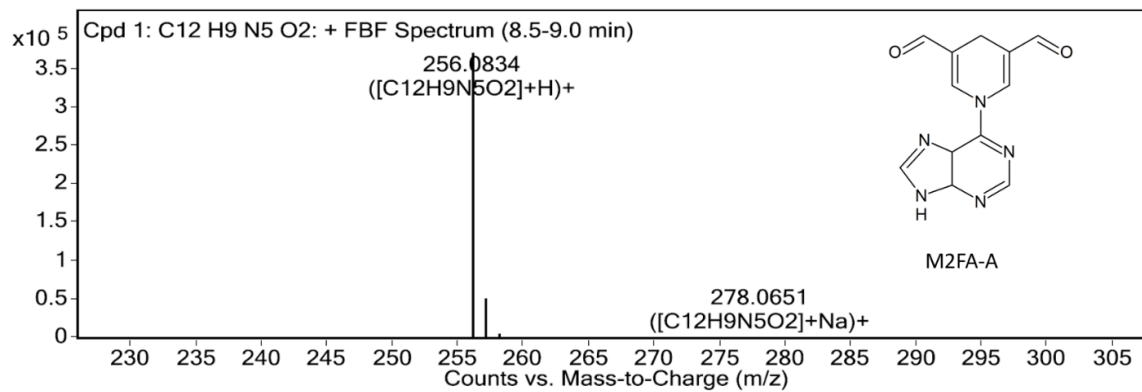


図6 M2AA-GI および M2AA-GII の質量解析

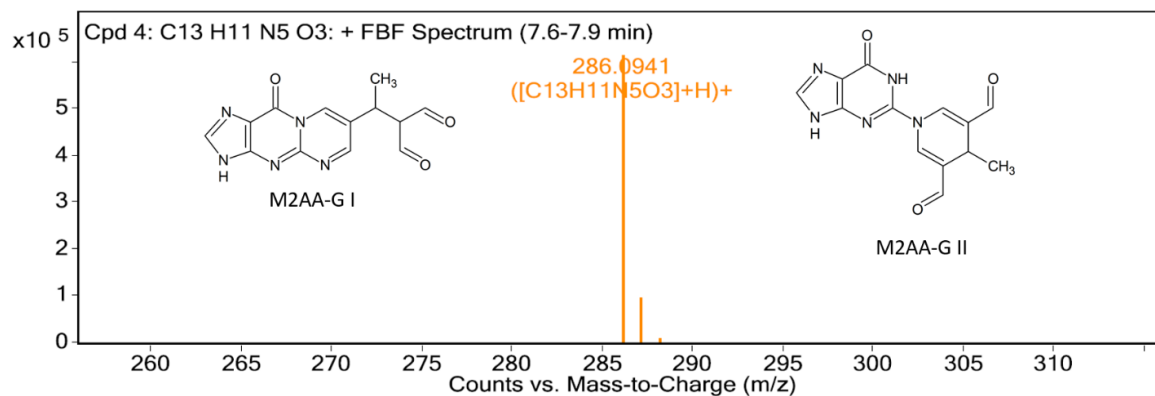


図7 M1FA-Gの質量解析

MS Zoomed Spectrum

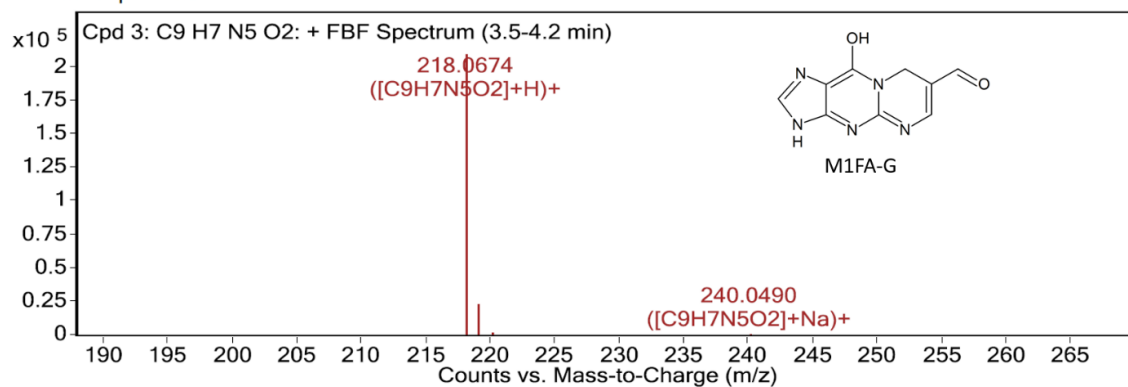


図8 M1AA-G の質量解析

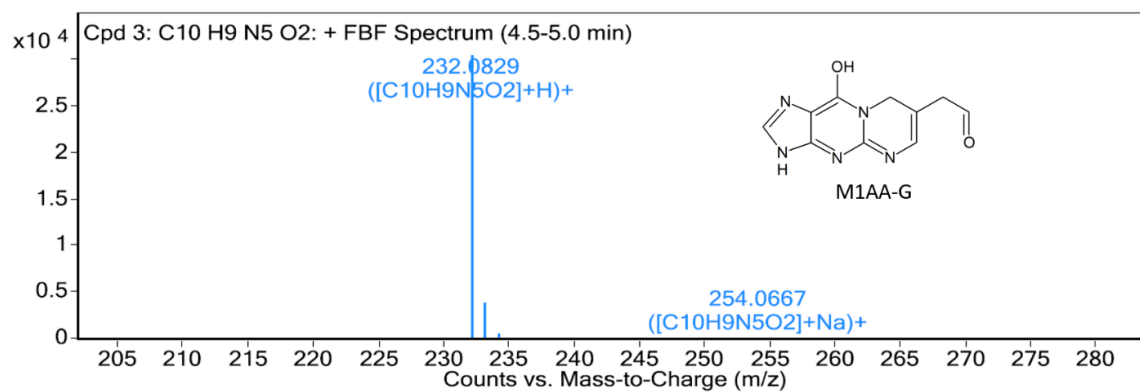


図9 アミノリン脂質に作られる DHP 型付加体

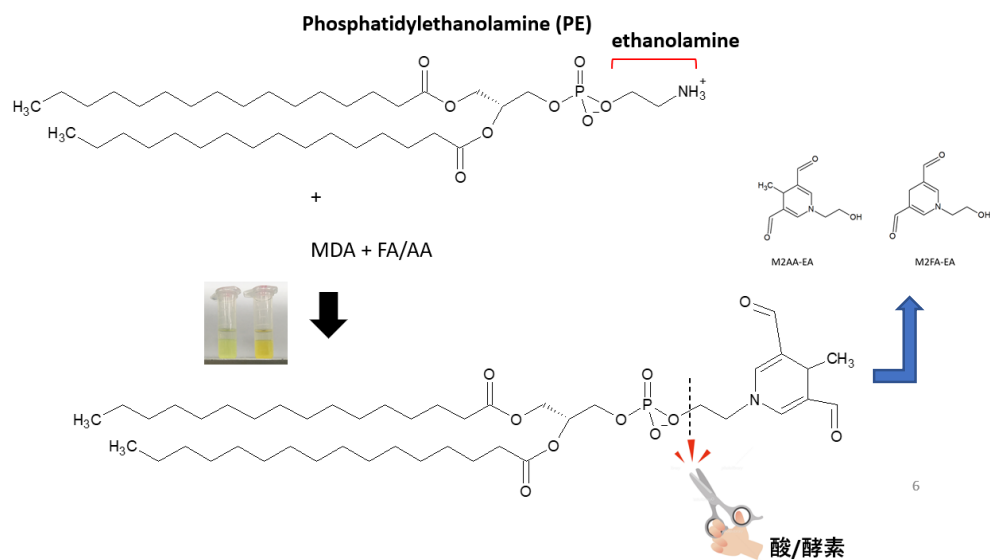
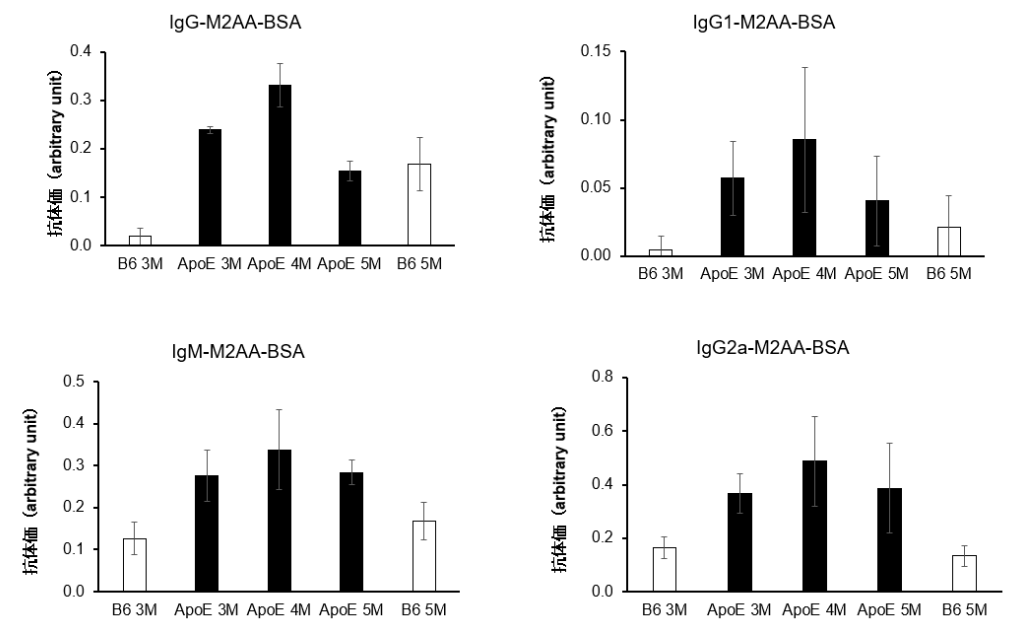


図 1 0 精製された M2FA-EA と M2FA-DPPE から加水分解された M2FA-EA

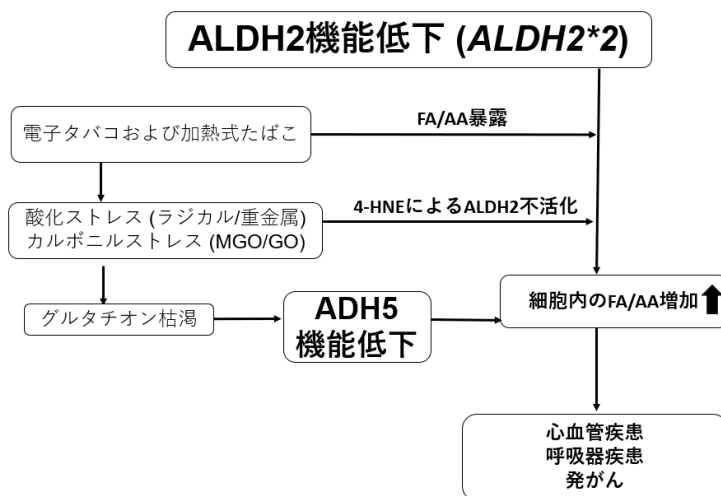


図 1 1 ApoE 欠損マウス (ApoE) と野生型マウス (C57/B6) の抗 M2AA 抗体価 (IgG、IgM、IgG1、および IgG2)



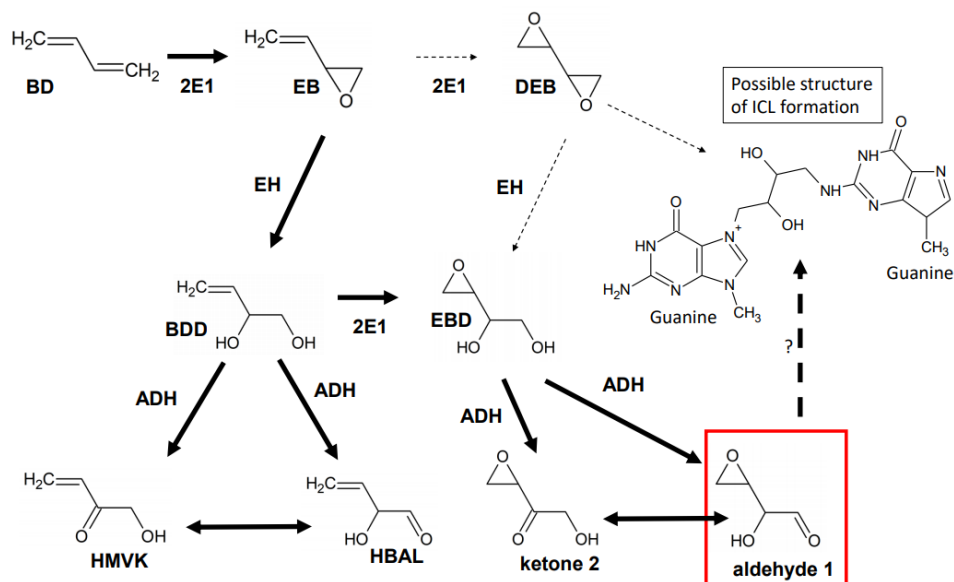
注) 3 M : 3 か月齢 ; 4 M : 4 か月齢 ; 5 M : 5 か月齢

図 1 2 ALDH2 * 2 対立遺伝子を持つヒトの加熱式たばこに対する感受性（仮説）



加熱式たばこのエアロゾルに含まれる化合物は ALDH2*2 アレルを持つ日本人の FA/AA の解毒に大きな負荷をかける。さらに、グルタチオンの枯渇を介した ADH5 の FA 解毒機能低下を引き起こし、細胞内の FA 濃度を増加する可能性がある。

図 1 3 1,3-ブタジエン（BD）の代謝活性化経路および EBD の代謝活性化による鎖間架橋形成の仮説スキーム。



厚生労働行政推進調査事業費補助金（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

加熱式タバコなど新しいタバコ製品が政策に及ぼす影響

研究分担者 樺田尚樹 産業医科大学 産業保健学部 産業・地域看護学 教授

研究要旨

2018年7月健康増進法が改正され、受動喫煙対策の義務化が盛り込まれるようになり、順次施行され、2020年4月より全面施行となった。加熱式タバコについては健康影響を引き起こす有害化学物質は含まれていることは明確であるが、販売後間もないこともあり、現時点では科学的知見が十分でないとし、従来の「分煙」と同様な対応下で飲食店等における飲食サービスも可能とする緩やかな対応による経過措置が設けられた。

ここでは、国内外の論文、国際機関等が発表した報告書を参考に、新しい製品群に関連した政策に及ぼす影響について文献的検討を行った。

加熱式タバコは、非常に依存性の高いニコチンを高濃度を含み喫煙継続につながるだけでなく、紙巻タバコとの二重使用を引き起こしている。さらに発がん性物質を含む様々な有害化学物質が、紙巻タバコよりは低い濃度ながら、種類はほぼ同様に含まれている。中には、紙巻タバコより高濃度の化学物質も発生している。

コロナ禍においてもタバコ産業からは販売拡大戦略としての広告が拡大されるとともに、たばこ規制枠組条約FCTC第5条3項に規定されているが、日本は政策決定に対するタバコ産業からの干渉が最も大きい国と評価されている。

米国FDAは、リスクが修飾（軽減）されたタバコ製品：Modified Risk Tobacco Products (MRTPs) に関する評価において、IQOSを有害物質の曝露が低減されたタバコと評価した。ただし、リスクの低減されたタバコとしては承認していない。WHOでは、加熱式タバコや電子タバコ等の新しいタバコ関連製品群の販売拡大に懸念を示し、科学的エビデンスの提示を進めて来ている。2018年5月に加熱式タバコに関するインフォメーション・シートを発行し、2020年7月に第2版を発行した。

今後も全てのタバコ製品に対し、FCTCに基づいたタバコ対策を継続することが求められる。

A. 研究目的

喫煙は予防可能な最大の健康阻害要因であり、国内で能動喫煙により年間約13万人、受動喫煙により1.5万人が死亡していると報告されている。WHOの報告では、世界中で毎年800万人以上がタバコにより死亡し、そのうち120万人が受動喫煙による被害者である。国内では、財務省・たばこ事業法に基づいて製造タバコは販売されているが、様々な新しい製品群が、タバコ対策施策が実

施されるたびに対抗するかのようにより日本をテストマーケットにして販売されてきた経緯がある。

このような状況下において、タバコ対策、禁煙支援に従事する保健医療福祉職が正しい知識を獲得し、日々の活動の中で少しでもタバコ関連の情報を提供できるようになることが重要である。

ここでは、新しい製品群に関連した政策に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

国内外の論文、国際機関等が発表した報告書を参考に文献的検討を行った。

C. 研究結果

C-1) 成分分析における課題

これまでの本研究班成果はWHO TobLabNetとも連携し、今回のCOPに向けた加熱式タバコに関するドキュメントの準備を進めるとともに、国内の関連学会のシンポジウム等で報告してきた。なお、その中で成分分析のプロトコール作成においては吸煙プロファイル (puffing topography) の確認が必須であるが、文献調査からは、タバコ産業側の報告であるが、紙巻タバコの吸煙プロトコールであるISO法、HCI法に比べ加熱式タバコ使用者では1服の吸煙量が大きく、吸煙間隔が短いことが報告されていた[1,2]。

今後の分析法の標準化において主流煙・主流エアロゾルの捕集法の検討が必須と思われる。

C-2) IQOS に対する米国 FDA の評価

米国では、FDAにタバコ製品規制に関する権限を与えられており、市販されている通常のタバコ製品より有害性が低く、タバコ関連疾患のリスクが低い、有害物質への曝露が低減されている、あるいは、有害物質を含んでいない製品であることを科学的なエビデンスとともに示すことができる製品群を、リスクが修飾（軽減）されたタバコ製品：Modified Risk Tobacco Products (MRTPs)として申請、承認する制度が設けられている[3]。フィリップモリスはIQOSについて2016年末にMRTPsとしての申請を行ったが、FDAの諮問委員会においては有害成分の発生量の低減は認められるが、健康リスクが低減されたMRTP製品であるとの主張は否定された。その後、2019年4月、米国内でもタバコ製品としての販売を許可すると、FDAが発表した。MRTPに関しては、審議が継続され、2020年7月7日、FDAがIQOSを有害成分の発生量の低下

は認められるとして「有害物質曝露低減タバコ製品」としての販売を許可した。ただし、「リスクが低減されたタバコ製品」として販売することは認めていない。この中でFDAが「安全な製品として承認した訳では無く」、消費者が誤解を招くような表現は許可しないとしている。さらに、若人の喫煙率増加につながる事が無いモニターを継続するとともに、現在タバコ製品を使用していない若人が新たにタバコ製品を使用し始めることがないようにすることが重要としている[4]。これに対して、WHOは、加熱式タバコが従来のタバコに比べて有害化学物質への曝露を減少させるという主張は誤解を招く可能性があり、すべてのタバコ製品は健康にリスクをもたらすものであり、FCTCの完全な実施を強く求めるとともに、それによって、若人をはじめとしたタバコ製品を使用したことがない人々の新規の使用開始を防ぐことができるとしている。さらに、適切な禁煙介入を推奨するなどとした声明を発出している[5]。

C-3) タバコ関連広告

このような中、2020年初頭からのコロナ禍において新聞紙上等で加熱式タバコを中心とした広告を目にする機会が増加している。定量的に評価されたタバコ関連広告の変動は、2020年における新聞広告は過去10年で最大であり、広告全体に占める割合も急増し最大であった。雑誌においては、広告の全体数は低下しているが、広告全体に占めるタバコ関連広告の割合は、やはり過去10年で最大であったと報告されている[6]。

C-4) タバコ産業による干渉指数

加熱式タバコの販売が、世界のテストマーケットとして日本での全国展開が繰り返されてきたように、様々な新規タバコ製品群が世界に先駆けて国内で販売されてきた歴史を繰り返している。また前項で述べたように、コロナ禍でのタバコ広告の拡大や、健康増進法の改正時の混乱など、タ

バコ政策を推進する過程において様々な障壁が生じている。その背景に、たばこ規制枠組条約 FCTC 第 5 条 3 項で述べられている「たばこ規制に関する公衆衛生政策の策定と実施にあたり、国内法に従い、たばこ産業の商業上及び他の既存の利益からそのような政策を擁護するために行動する」ことの実施状況が影響していると考えられる。

現在定期的に、タバコ産業の干渉指数が報告されているが、日本は、FCTC 第 5 条 3 項の実施状況が最も弱い国と評価されてきている [7]。

D. 考察

加熱式タバコや電子タバコといった新しいデバイスはタバコの有害性が広く認知され、喫煙率が低下して来た社会において、タバコ関連産業により喫煙を改めて再正規化する動きにつながり様々な障害を生み出して来ている。

WHO では、加熱式タバコや電子タバコ等の新しいタバコ関連製品群の販売拡大に懸念を示し、科学的エビデンスの提示を進めて来ている。2018 年 5 月に加熱式タバコに関するインフォメーション・シートを発行し、2020 年 7 月に第 2 版を発行した[8]。加熱式タバコから発生する有害化学物質量は一般的に紙巻タバコに含まれるよりは少ないものの、一部は紙巻たばこ主流煙に含まれないものやより高濃度のものがある。また加熱式タバコ特有の有害物質を有する。これら事実、現時点では長期的な健康影響が不明であり、必ずしも健康リスクが紙巻タバコより低減されるものでないことを示している。さらに依存性の高いニコチンに加えその他のフレーバーも含まれており、全てのタバコ製品は有害であり、たばこ規制枠組条約 FCTC に基づいた規制が必要である、と示された。引き続き、2019 年には FCTC に基づく各国の政策の実施状況を報告する MPOWER 報告書の中で、初めて加熱式タバコと電子タバコの項目が設けられ政策提言がなされている。

The UNION 国際結核肺疾患予防連合[9]は、

2018 年に、WHO の見解と同様な意見に加え、加熱式タバコから得られる公衆衛生に対する潜在的な利益やリスクについては、未だ明確にされていないものの、初期に発表された研究報告によると、タバコ会社は既にそのリスクを認識していたことも明示されている。UNION は、政府側への要望として、将来的な予防のためにも、加熱式タバコの使用を規制することを推奨している。加えて加熱式タバコを使用することによって、禁煙する意欲が低減したり、紙巻タバコとの二重使用が蔓延する可能性に対する懸念があるといった見解を示している。

国内の学協会等からも、加熱式タバコに関する解説・注意喚起を含め声明等が出されており[10]、健康リスクの評価に今後も独立した研究が必要である。

E. 結論

今後も FCTC に基づいたタバコ対策を継続することが求められる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 中村正和, 田淵貴大, 尾崎米厚, 大和 浩, 樺田尚樹, 他. 加熱式たばこ製品の使用実態, 健康影響, たばこ規制への影響とそれを踏まえた政策提言, 日本公衆衛生雑誌. 2020;67:3-14.
2. Hori A, Tabuchi T, Kunugita N. Rapid increase in heated tobacco product (HTP) use from 2015 to 2019: from the Japan 'Society and New Tobacco' Internet Survey (JASTIS). Tob Control. 2020; tobaccocontrol-2020-055652. doi:10.1136/tobaccocontrol-2020-055652.

2. 学会発表

1. 樺田尚樹. 新型タバコを含むタバコ煙に含ま

- れる有害成分と健康影響. 第 42 回日本分子生物学会年会ワークショップ 1AW-09 環境因子と生体修復反応(2019 年 12 月 3 日)福岡
2. 山西大輔, 樺田尚樹. 大学生における加熱式タバコに対する意識調査. 第 37 回産業医科大学学会総会(2019 年 10 月 12 日)北九州
 3. 樺田尚樹. 加熱式タバコと電子タバコに含まれる有害成分. 第 8 回日本タバコフリー学会学術大会・教育講演 (2019 年 9 月 22 日) 東京
 4. Kunugita N, Uchiyama S, Bekki K, Inaba Y. Concentrations of hazardous chemicals in mainstream aerosol generated by heated tobacco products. The 29th China Korea Japan Conference on Occupational Health (April/21–23/2019) Nanjing China
 5. 樺田尚樹, 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久. 有害化学物質濃度評価から加熱式タバコおよび電子タバコのリスクを考える. 日本産業衛生学会 シンポジウム 7 「これからの職場の喫煙対策 ～改正健康増進法施行後の戦略」 WEB 開催 ; 2020 年 6 月 12 日 ~ 6 月 28 日.
 6. 樺田尚樹, 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久. 今, 流行の加熱式タバコって安全なんですか? 第 84 回日本循環器学会学術集会 JCS 2020 ; 「人生 100 年時代の健康長寿」セッション 2. もっと知ろう! たばこの健康被害と禁煙のすべて. WEB 配信 ; 2020 年 7 月 27 日
 7. 樺田尚樹. 加熱式タバコのエアロゾルの有害成分について. 第 60 回日本呼吸器学会学術講演会 ; シンポジウム「新型タバコの健康被害について」 WEB 開催 ; 2020 年 9 月 20 日 ~ 9 月 22 日
 8. 樺田尚樹. 指定発言 : 改正健康増進法の全面施行後の改善方策について. 第 79 回日本公衆衛生学会総会. シンポジウム S. [A4-5] 「改正健康増進法, 全面施行! 進捗評価と今後の推進方策」 WEB 開催 ; 2020 年 10 月 20 日
 9. 樺田尚樹, 加熱式タバコから発生する有害化学物質と政策の動向. 日本禁煙学会 シンポジウム 2 今こそ新型タバコを考える. 2020 年 11 月 14 日 ~ 11 月 15 日 (郡山市 & WEB 開催)
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし
- 引用文献**
1. Gelbke HP, Ellis-Hutchings R, Müllerschön H, Murphy S, Pemberton M. Toxicological assessment of lower alkyl methacrylate esters by a category approach, Regul Toxicol Pharmacol. 2018;92: 104-127. doi: 10.1016/j.yrtph.2017.11.013.
 2. Gee J, Prasad K, Slayford S, Gray A, Nothel K, Cunningham A, Mavropoulou E, Proctor C. Assessment of tobacco heating product THP1.0. Part 8: Study to determine puffing topography, mouth level exposure and consumption among Japanese users, Regul Toxicol Pharmacol. 2018; 93:84-91. doi: 10.1016/j.yrtph.2017.08.005.
 3. FDA. Modified Risk Tobacco Products, <https://www.fda.gov/tobacco-products/advertising-and-promotion/modified-risk-tobacco-products>
 4. FDA NEWS RELEASE. FDA Authorizes Marketing of IQOS Tobacco Heating System with 'Reduced Exposure' Information, (July 07, 2020) <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes->

- [marketing-iqos-tobacco-heating-system-reduced-exposure-information](#)
5. WHO. WHO statement on heated tobacco products and the US FDA decision regarding IQOS, (July 27, 2020) <https://www.who.int/news/item/27-07-2020-who-statement-on-heated-tobacco-products-and-the-us-fda-decision-regarding-iqos>
 6. Ichikawa M, Inada H, Hori A, Tabuchi T, Tobacco Advertising During the COVID-19 Pandemic in Japan, J Epidemiol. 2021; doi.org/10.2188/jea.JE20210151
 7. Mary Assunta. Global Tobacco Industry Interference Index 2019. Global Center for Good Governance in Tobacco Control (G GTC). Bangkok, Thailand. Nov 2020.
 8. WHO. Heated tobacco products: information sheet-2nd edition. (2020年7月) <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HEP-HPR-2020.2>
 9. The Union; International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. THE UNION'S POSITION ON HEATED TOBACCO PRODUCTS (HTP). (2018年1月) <https://www.theunion.org/what-we-do/publications/official/body/Heated-Tobacco-Product-Union-Position-Statement-Final-25.01.18.pdf>
 10. 中村正和, 田淵貴大, 尾崎米厚, 大和 浩, 樺田尚樹, 他. 加熱式たばこ製品の使用実態, 健康影響, たばこ規制への影響とそれを踏まえた政策提言, 日本公衆衛生雑誌. 2020;67:3-14.

別紙 4

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
Inaba Y, Uchiyama S, Kunugita N	Spectrophotometric determination of ammonia levels in tobacco fillers of and sidestream smoke from different cigarette brands in Japan.	Environ Health Prev Med.	23	15	2018
Uchiyama S, Noguchi M, Takagi N, Hayashida H, Inaba Y, Ogura H, Kunugita N.	Simple Determination of Gaseous and Particulate Compounds Generated from Heated Tobacco Products.	Chem Res Toxicol.	31	585-593	2018
樺田尚樹, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 内山茂久	加熱式タバコのエアロゾル成分と健康影響	小児保健研究	77	615-620	2018
樺田尚樹	新型タバコと健康影響 どう考えればよい か?	臨床栄養	133	10-11	2018
樺田尚樹	【呼吸器疾患と喫煙への対策(1)】 タバコ対策の新たな火種 加熱式タバコへの対策	健康管理	65	21-34	2018
樺田尚樹	加熱式タバコ 本当に害が少ない? 加熱式タバコの実態	歯科衛生士	42	66-67	2018
樺田尚樹	新型タバコに含まれる成分【ミニ特集】タバコの害から子どもたちを守るために—新型タバコの登場をふまえ—	小児科臨床	72	13-18	2019
内山茂久	加熱式タバコから発生する化学物質	現代化学	10	21-24	2018

Bando M, Inaba Y, Yunokawa T.	Challenges and action on environmental health for the Tokyo Olympic Games and Paralympic Games in 2020.	J. Natl. Inst. Public Health.	68	17-26	2019
WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet)	WHO TobLabNet SOP 8 - Standard operating procedure for determination of aldehydes in mainstream cigarette smoke under ISO and intense smoking conditions	(https://www.who.int/tobacco/publications/prod_regulation/standard-operation-validation-08/en/)			2018
WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet)	WHO TobLabNet SOP 9 - Standard operating procedure for determination of volatile organics in mainstream cigarette smoke under ISO and intense smoking conditions	(https://www.who.int/tobacco/publications/prod_regulation/standard-operation-validation-09/en/)			2018
Uchiyama, S.; Noguchi, M.; Sato, A.; Ishitsuka, M.; Inaba, Y.; Kumugita, N.	Determination of Thermal Decomposition Products Generated from E-cigarettes.	Chemical Research in Toxicology	33	576-583	2020
中村正和, 田淵貴大, 尾崎米厚, 大和 浩, 樺田尚樹, 他.	加熱式たばこ製品の使用実態, 健康影響, たばこ規制への影響とそれを踏まえた政策提言	日本公衆衛生雑誌	67	3-14	2020
稲葉 洋平	加熱式たばこの調査研究からわかってきた課題	ビルと環境	165	38-43	2019
稲葉洋平	たばこの煙の健康影響と受動喫煙のエビデンス	公衆衛生情報	49	8-9	2020
稲葉洋平	「身近な “? “の科学 加熱式タバコ」	Newton	12	114-115	2019

Tian X, Chen Y, Nakamura J.	Development of a novel PIG-A gene mutation assay based on a GPI-anchored fluorescent protein sensor.	Genes Environ	41	21	2019
Ridpath JR, Nakamura J.	Acid-specific formaldehyde donor is a potential, dual targeting cancer chemotherapeutic/chemopreventive drug for FANCD1/BRCA1-mutant cancer.	Genes Environ	41	23	2019
Nakamura J, Nakamura M	DNA-protein crosslink formation by endogenous aldehydes and AP sites.	DNA Repair (Amst).	88	102806 PMID: 31890056.	2020
稲葉洋平、牛山明	加熱式たばこ製品の有害性	保健医療科学	69	144-152	2020
戸次加奈江、稲葉洋平、牛山明	喫煙による室内汚染 ― 三次喫煙という新たな課題	保健医療科学	69	138-143	2020
内山茂久、樺田尚樹	電子タバコから発生する化学物質と健康影響	現代化学	3	54-57	2020
内山茂久	加熱式タバコ、電子タバコ等非燃焼式タバコから発生する化学物質の分析	ファルマシア	56	729-732	2020
Hori A, Tabuchi T, Kunugita N.	Rapid increase in heated tobacco product (HTP) use from 2015 to 2019: from the Japan 'Society and New Tobacco' Internet Survey (JASTIS)	Tob Control.	tobaccocontrol-2020-055652.	doi:10.1136/tobaccocontrol-2020-055652	2020

Nakamura J, Holley DW, Kawamoto T, Bultman SJ.	The failure of two major formaldehyde catabolism enzymes (ADH5 and ALDH2) leads to partial synthetic lethality in C57BL/6 mice.	Genes Environ	42	21	2020
Tian S, Nakamura J, Hiller S, Simington S, Holley DW, Mota R, Willis MS, Bultman SJ, Luft JC, Desimone JM, Jia Z, Maeda N, Yi X.	New insights into immunomodulation via overexpressing lipoic acid synthase as a therapeutic potential to reduce atherosclerosis.	Vascul Pharmacol	133-134	106777	2020
Nakamura J.	Potential Doxorubicin-Mediated Dual-Targeting Chemotherapy in FANC/BRCA-Deficient Tumors via Modulation of Cellular Formaldehyde Concentration.	Chem Res Toxicol	33(10)	2659-2667	2020
Nakamura J, Carrero S, Gold A, Zhang Z.	An unexpected butadiene diepoxide-mediated genotoxicity implies alternative mechanism for 1,3-butadiene carcinogenicity. Chemosphere.	Chemosphere	266	129149	2021