

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

加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発

令和3（2021）年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大森久光

令和4年（2022年）3月

目 次

I. 総括研究報告	
加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発	—1
大森久光	
II. 分担研究報告	
1. 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）の尿中ニコチン代謝物の関連の検討	
大森久光 井上博雅 黒澤 一 緒方裕光 樺田尚樹 稲葉洋平 尾上あゆみ 町田健太郎 寒川卓哉	
	—8
2. 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析の検討と日本人喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析	
稲葉洋平 大森久光 樺田尚樹 緒方裕光 尾上あゆみ	
	—16
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—21
IV. 論文	
Association between Fathers' Use of Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children.	
Onoue A, Inaba Y, Machida K, Samukawa T, Inoue H, Kurosawa H, Ogata H, Kunugita N, Omori H.	
<i>International Journal of Environmental Research and Public Health.</i>	
2022, 19, 6275.	

加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発

研究代表者 大森久光 熊本大学

研究要旨

本研究は、加熱式たばこ使用およびその受動喫煙の健康影響を評価することを目的として、使用者および受動喫煙者の生体試料（尿）に含まれているたばこ由来の有害化学物質の代謝物（曝露マーカー）等のバイオマーカーを用いた評価法の開発を行う。

まず、父親の加熱式たばこ使用と非喫煙家族（配偶者、子供）における曝露マーカーである尿中ニコチン代謝物（Total Nicotine metabolites : TNM）との関連について検討した。その結果、加熱式たばこ使用者の非喫煙家族（配偶者、子供）の尿中 TNM 値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族の尿中 TNM 値に比べて有意に高値を示し、受動喫煙による曝露の実態が明らかとなった。

また、父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連について検討した結果、「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中 TNM 値は「受動喫煙なし」の配偶者および子供と比べて有意に高値を示した。

本研究成果は、加熱式たばこ使用による受動喫煙を曝露マーカーにより明らかにした最初の報告として、*International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19, 6275. に掲載された。

さらに、受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析の検討と日本人喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン（4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1- butanol : NNAL）代謝物量の分析より、ニコチン代謝物と NNAL は、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと思われた。

喫煙者を加熱式たばこ、紙巻たばこ、紙巻と加熱式たばこ併用者の3群に分けて傾向を評価した結果、ニコチン代謝物量は、喫煙者、受動喫煙者ともに3群に大きな違いは認められなかった。これは、加熱式たばこ主流煙の分析結果とも合致した。NNAL量は、加熱式たばこ使用者が主流煙の分析値と同様の1/10の曝露量ではなく、紙巻たばこ、併用者の50%程度の曝露差であった。

以上の研究は、国民の加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響に関する認知の向上および今後のわが国における屋内禁煙化の推進に寄与すると考えられた。今後本研究を発展させることで、加熱式たばこ使用による健康影響が明らかとなり、その結果、加熱式たばこの受動喫煙による疾病および喫煙関連疾患の予防に貢献することが期待される。

A. 研究目的

改正健康増進法（2018年7月公布）において、加熱式たばこによる受動喫煙が人の健康に影響を及ぼす調査研究を一層推進し、可能な限り早期に結論を得るよう附帯決議がなされた。

本研究の目的は、加熱式たばこによる受動喫煙が人の健康に及ぼす影響について結論を得ることである。

我が国において、近年、加熱式たばこ使用者が特に若い世代を中心に増加している。国民健康栄養調査（2019年）によると、加熱式たばこ使用者の割合は20歳以上男女全体で26.7%と報告されている。20歳代は38.4%、30歳代は48.1%、40歳代は36.5%、50歳代は29.0%、60歳代は15.9%、70歳以上は6.1%と若い世代での使用率が高い。紙巻たばこと加熱式たばこ併用者の割合は、全体で6.4%と報告されている。加熱式たばこの新製品が発売されており、それらに対する評価も必要となっている。

2020年4月から完全施行された改正健康増進法は、望まない受動喫煙をなくすために施設の類型・場所ごとに対策を実施することで対応している。しかし、「加熱式たばこ」は経過措置として、飲食可能な喫煙室での使用が認められている。その理由として加熱式たばこは日本で販売が開始されてから期間も短く、喫煙者の健康影響、受動喫煙に関しても科学的な根拠の蓄積が少ない状況が上げられる。

そこで本研究では、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、喫煙者・受動喫煙者の生体試料（尿）に含まれているたばこ由来の有害化学物質の代謝物と影響マーカー

（酸化ストレスマーカー）値から健康影響評価を行う。

本研究では、加熱式たばこ使用による受動喫煙の影響を評価するため、本年度は以下の検討を行った。

1. 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）における尿中ニコチン代謝物の評価
2. 父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連
3. 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析の検討と日本人喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析

B. 研究方法

1. 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）における尿中ニコチン代謝物の評価
2. 父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連

（大森班員、井上班員、黒澤班員、緒方班員、樺田班員、稲葉班員、尾上協力者、町田協力者、寒川協力者）

- ・これまでリクルートした41家族、129名を対象として、加熱式たばこ使用による受動喫煙の影響を曝露マーカーである尿中ニコチン代謝物（Total Nicotine metabolites : TNM）により評価した。
- ・父親の加熱式たばこ使用と非喫煙家族（配偶者、子供）における尿中ニコチン代謝物(TNM)との関連について検討した。

・父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連について検討した。

・目標サンプル数の設定

先行研究がない状況であり、明確にサンプルサイズを説明することは困難な状況にあると考えられたため、サンプルサイズは、Cohen の計算法に従って算出した。

Cohen の計算法によると、ANOVA が主の解析方法であることより、有意水準を両側で5%、効果量は0.4で、目指す検出力を0.8とした場合、それぞれのグループでサンプル数21以上が必要と設定された。

紙巻たばこ受動喫煙家族が27名、加熱式たばこ受動喫煙家族66名、非喫煙家族（コントロール）36名をリクルートできしており、基準を満たしているものと考えられた。

Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*, 2nd Edition.; Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates. 1988.

・質問票による受動喫煙の分析

質問票には、喫煙者に対する質問として、紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻と加熱式たばこの併用に関する使用状況（喫煙本数、たばこ銘柄、家庭での喫煙場所など）、その家族（配偶者、子供）（受動喫煙者）に対して、受動喫煙の状況（父親の喫煙状況、曝露場所、曝露時間など）を含む。

【父親の喫煙状況に対する質問項目】

1) 喫煙ご主人に対して：

「あなたは配偶者の前で吸いますか？」

2) 非喫煙家族の配偶者に対して：

「ご主人はあなたの目の前で吸いますか？」

3) 喫煙ご主人に対して：

「あなたは子供の前で吸いますか？」

4) 非喫煙家族の子供に対して：

「お父さんはあなたの前で吸いますか？」

以上の質問より、1)または3)で「はい」と回答した場合「配偶者に対して受動喫煙有」、2)または4)で「はい」と回答した場合「子供に対して受動喫煙有」と判定した。

家族（配偶者および子供）の受動喫煙の有無と尿中TNMとの関連を検討した。

・尿中曝露マーカーの分析

尿中ニコチン代謝物として、コチニンと3-ヒドロキシコチニンを合計した Total nicotine metabolites : TNM を、liquid chromatography [LC] / mass spectrometry [MS] / [MS] (LC-MS/MS)を用いて測定した。Total Nicotine metabolites : TNM の単位は、nmol/mg creatinine で表記した。

その他、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物（たばこ特異的な発がん性物質）:4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物の代謝物17成分（発がん性物質）を分析中である。

（分担者：国立保健医療科学院 稲葉）

詳細に関しては、分担研究報告（国立保健医療科学院 稲葉洋平）を参照。

本研究は、熊本大学倫理委員会の承認（第1510号）、国立保健医療科学院倫理委

員会の承認（NIPH-IBRA#12317）を得て実施した。

3. 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析の検討と日本人喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析

（稲葉班員、大森班員、樺田班員、緒方班員、尾上協力者）

- ・加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、加熱式たばこと紙巻たばこ併用者を含む「喫煙者本人」および「受動喫煙者」について分析をおこなった。
- ・本年度は喫煙者及び受動喫煙者（紙巻たばこのみ、加熱式たばこのみ、両方を使用）の NNK 代謝物である 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) とニコチン代謝物の分析を行った。
- ・研究対象者
 - ・喫煙者本人の分析
加熱式たばこ喫煙者が 8 名、紙巻たばこ喫煙者が 13 名そして併用者が 11 名であった。
 - ・受動喫煙者の分析
加熱式たばこ受動喫煙者が 15 名、紙巻たばこ受動喫煙者が 23 名、併用者の受動喫煙者が 25 名であった。
- ・尿中曝露マーカーの分析
測定については、1. 2. と同様である。

C. 結果

1. 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）における尿中ニコチン代謝物の評価

2. 父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連

- ・対象家族の内訳は、紙巻たばこ喫煙者（9 家族）の非喫煙配偶者（9 名）および子供（18 名）（合計：27 名）、加熱式たばこ使用者（22 家族）の非喫煙配偶者（22 名）および子供（44 名）（合計：66 名）、コントロールとして非喫煙者（10 家族）の非喫煙配偶者（10 名）および子供（26 名）（合計：36 名）である。

本検討では、紙巻たばこおよび加熱式たばこの併用者は、除外した。

- ・加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族の尿中 TNM の値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族の尿中 TNM の値に比べて、有意に高値を示した。
- ・加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族の TNM の値は、紙巻たばこ喫煙者の非喫煙家族と比べて、有意な低値を示したが、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて、有意に高値を示した。
- ・父親からの「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中 TNM 値は、「受動喫煙なし」と比べて有意に高値を示した。
- ・さらに、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ使用者の方が、家族の前で喫煙している割合が高いことがわかった。

3. 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の

高感度分析の検討と日本人喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析

・喫煙者本人の分析

総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の中央値は、加熱式たばこ使用者が 7160, 紙巻たばこ喫煙者が 7928, 併用者が 9423 であった。

ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと予想された。

発がん性物質である NNAL 中央値 (pg/mg creatinine) は、加熱式たばこ喫煙者が 19.1, 紙巻たばこ喫煙者が 38.2, 併用者が 36.1 であった。

・受動喫煙者の分析

総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の中央値は、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.53, 紙巻たばこ受動喫煙者が 4.02, 併用者の受動喫煙者が 3.50 であった。

ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと予想された。

発がん性物質である NNAL 中央値 (pg/mg creatinine) は、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.07, 紙巻たばこ受動喫煙者が 1.12, 併用者の受動喫煙者が 1.26 であった。

喫煙者を加熱式たばこ、紙巻たばこ、併用者の 3 群に分けて傾向を評価した。

ニコチン代謝物量は、喫煙者、受動喫煙者ともに 3 群に大きな違いは認められなかった。

これは、加熱式たばこ主流煙の分析結

果とも合致した。NNAL 量は、加熱式たばこ使用者が主流煙の分析値と同様の 1/10 の曝露量ではなく、紙巻たばこ、併用者の 50%程度の曝露差であった。

D. 考察

我々の知るところでは、本研究が加熱式たばこ使用による受動喫煙を曝露マーカーにより明らかにした最初の報告である。

父親の加熱式たばこ使用による非喫煙家族 (配偶者および子供) の受動喫煙の実態が明らかとなった。特に、我々の調査で「一緒にいる時に使用する。目の前で使用する。」割合が、紙巻たばこ喫煙の場合に比べて、高いこと、その場合「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中 TNM 値は、「受動喫煙なし」の場合に比べて有意に高値であることが明らかとなった。

この背景には、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ使用の方がより安全であるとの認識があるものと考えられた。

また、新型コロナウイルス感染症の拡大により、在宅勤務が増加しており、家庭内において、加熱式たばこによる非喫煙家族への受動喫煙の影響が懸念される。詳細については、今後の質問票の調査で明らかにする予定である。

これらの科学的根拠は、2020 年 4 月から完全施行された改正健康増進法において、経過措置として定められている飲食可能な喫煙室での使用可能の場合、同室で飲食する非喫煙者に対する望まない受動喫煙の危険性を示唆するものと考えられた。

・曝露マーカーによる評価方法の開発

本研究におけるバイオマーカー分析値によって、加熱式たばこによる受動喫煙の状況を客観的に評価することが可能となった。

加熱式たばこ受動喫煙者の曝露量の高感度化は、受動喫煙の有無を曝露実態ベースで評価する上で欠かせない。

本年度の研究では、加熱式たばこ受動喫煙者の曝露量を検出するためには、高感度分析が必要であることから、尿試料を酵素処理した上で分析した。

これらの結果より、ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと予想された。

今後、紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻および加熱式たばこ使用者およびその家族のリクルートを増加しサンプル数が増えることによって、現在の日本人喫煙者のたばこ製品における全体の曝露状況が判明すると考える。

紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻および加熱式たばこ使用者およびその家族を対象として、尿中バイオマーカーの探索を行い、ニコチン代謝物 (TNM) および NNAL などの曝露マーカーに加えて影響マーカー (酸化ストレスマーカー) の分析も進めており、新たな評価方法の開発につながると期待される。

詳細に関しては、分担研究報告 (国立保健医療科学院 稲葉洋平) を参照。

- ・ 飲食店従業員 (アルバイト含む：非喫煙者であれば受動喫煙者) を対象とした曝露の実態調査

[1] 紙巻たばこ可能な飲食店、[2] 加熱式たばこのみ可能な飲食店、[3] 全面禁煙

店で働く非喫煙者を対象として曝露マーカーの比較を行うことにより、受動喫煙の状況を評価することができると考える。

令和 3 年度は、新型コロナウイルス感染防止の緊急事態宣言が令和 3 年 4 月～9 月に発令され、飲食店の営業制限等の影響で実地調査が出来ない状況にあったため、リクルートに遅れを生じている。

コロナ感染による制限が一部緩和されている現在、リクルートを再開し徐々にリクルート数が増加している。コロナ前と比べて、アクリル板の設置、換気設備の充実等の変化を考慮した調査を実施している。令和 4 年度も引き続きリクルートを継続し、目標数のリクルートの完了を目指す。

- ・ 加熱式たばこ喫煙者およびその家族 (受動喫煙者) の追跡調査 (コホート研究)

本研究は継続中であり、順次リクルート中であり、分析中である。令和 3 年 4 月～9 月のコロナ禍による緊急事態宣言による制限のため遅れを生じたが、今後、測定例を増やして喫煙と受動喫煙の有無と他の曝露マーカーおよび臨床バイオマーカーとの関連について解析を進める。

E. 結語

加熱式たばこ使用による受動喫煙を曝露マーカーにより明らかにした。父親の加熱式たばこ使用による非喫煙家族 (配偶者および子供) の受動喫煙の実態が明らかとなった。

加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族の尿中 TNM の値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族の尿中 TNM の値に比べて、有意に高値を示

した。父親からの「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中 TNM 値は、「受動喫煙なし」と比べて有意に高値を示した。

さらに、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ使用者の方が、家族の前で喫煙している割合が高いことがわかった。

本研究成果の発信により、国民の加熱式たばこによる受動喫煙防止に対する認知の向上に寄与すると考えられる。

さらに、「改正健康増進法」で経過措置として店内を喫煙可能としている施設において屋内禁煙化の推進に寄与するとともに、望まない受動喫煙を防止することにつながることを期待される。

今後本研究を発展させることで、加熱式たばこ使用による健康影響が明らかとなり、その結果、受動喫煙による疾病および喫煙関連疾患の予防に貢献することが期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表（本研究に関連するもの）

- 1) Onoue A, Inaba Y, Machida K, Samukawa T, Inoue H, Kurosawa H, Ogata H, Kunugita N, Omori H. Association between Fathers' Use of Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children. *International Journal of Environmental Research and Public Health*.

2022, 19, 6275.

2. 学会発表

- 1) 稲葉洋平, 尾上あゆみ, 緒方裕光, 井上博雅, 黒澤一, 寒川卓哉, 町田健太郎, 樺田尚樹, 大森久光.

たばこ製品喫煙者の有害化学物質の曝露量評価の検討.

第 92 回日本衛生学会学術総会
(オンライン) 2022.3.21-23.

H. 知的財産権の出願・登録状況

この研究において、知的財産権に該当するものはなかった。

令和3年度 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)
「加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発」
分担研究報告書

父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）の尿中ニコチン代謝物の関連の検討

研究代表者	大森久光	熊本大学	研究協力者	尾上あゆみ	熊本大学
研究分担者	井上博雅	鹿児島大学	研究協力者	町田健太郎	鹿児島大学
研究分担者	黒澤 一	東北大学	研究協力者	寒川卓哉	鹿児島大学
研究分担者	緒方裕光	女子栄養大学			
研究分担者	樺田尚樹	産業医科大学			
研究分担者	稲葉洋平	国立保健医療科学院			

研究要旨

本研究では、これまでリクルートした41家族、129名を対象として、加熱式たばこ使用による受動喫煙の影響を曝露マーカーである尿中ニコチン代謝物により評価した。

まず、父親の加熱式たばこ使用と非喫煙家族（配偶者、子供）における尿中ニコチン代謝物（Total Nicotine metabolites：TNM）との関連について検討した。その結果、加熱式たばこ使用者の非喫煙家族（配偶者、子供）の値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて有意に高値を示し、曝露の実態が明らかとなった。

また、父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連について検討した結果、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ喫煙の方が、「家族と一緒に使用する、前で使用する」割合が高いこと、その場合「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中TNM値は「受動喫煙なし」の配偶者および子供の尿中TNMと比べて有意に高値を示した。このことは、「加熱式たばこが紙巻たばこと比べてより安全との認識がある」ものと考えられ、加熱式たばこ使用による受動喫煙の啓発が重要と考えられた。

以上の研究は、今後のわが国における屋内禁煙化の推進に寄与すると考えられた。

また、国民の加熱式たばこによる受動喫煙防止に対する認知の向上だけでなく、最終的には受動喫煙による疾病および喫煙関連疾患の予防に貢献することが期待される。

本研究成果は、*International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19, 6275. に掲載された。

A. 研究目的

改正健康増進法（2018年7月公布）において、加熱式たばこによる受動喫煙が人の健康に影響を及ぼす調査研究を一層推進し、可能な限り早期に結論を得るよう附帯決議がなされた。

本研究の目的は、加熱式たばこによる受動喫煙が人の健康に及ぼす影響について結論を得ることである。

我が国において、近年、加熱式たばこ使用者が特に若い世代を中心に増加している。国民健康栄養調査（2019年）によると、加熱式たばこ使用者の割合は20歳以上男女全体で26.7%と報告されている。20歳代は38.4%、30歳代は48.1%、40歳代は36.5%、50歳代は29.0%、60歳代は15.9%、70歳以上は6.1%と若い世代での使用率が高い。紙巻たばこと加熱式たばこ併用者の割合は、全体で6.4%と報告されている。

これまで、加熱式たばこによる健康影響および受動喫煙等の周囲への影響について、我々の知る限り、我々の先行研究しかなく明らかでない。

本研究では、加熱式たばこ使用による受動喫煙の影響を評価するため、本年度は以下の検討を行った。

- ・父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）における尿中ニコチン代謝物の評価
- ・父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連

B. 研究方法

B-1 研究対象者

本研究では、研究①：紙巻たばこ、加熱

式たばこ、紙巻および加熱式たばこ使用者およびその家族を対象とした曝露の実態調査、研究②：飲食店従業員（アルバイトを含む）を対象とした曝露の実態調査、研究③：加熱式たばこ喫煙者およびその家族の1年後追跡調査（AMED研究）の3つの研究を通して対象者のリクルートのリクルートを実施してきた。熊本、鹿児島、宮城、埼玉の地域で主に職域の方々を中心にリクルートを行っている。熊本では熊本産業看護研究会、協会けんぽ熊本支部等の協力を得て実施している。

これまでリクルートした41家族、129名を対象として、父親の喫煙と非喫煙配偶者および子供における尿中ニコチン代謝物との関連について検討した。

対象家族の内訳は、紙巻たばこ喫煙者（9家族）の非喫煙配偶者（9名）および子供（18名）（合計：27名）、加熱式たばこ使用者（22家族）の非喫煙配偶者（22名）および子供（44名）（合計：66名）、コントロールとして非喫煙者（10家族）の非喫煙配偶者（10名）および子供（26名）（合計：36名）である。

本検討では、紙巻たばこおよび加熱式たばこの併用者は、除外した。

B-2 目標サンプル数の設定に関して

先行研究がない状況であり、明確にサンプルサイズを説明することは困難な状況にあると考えられたため、サンプルサイズは、Cohen の計算法に従って算出した。

Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*, 2nd Edition.; Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates. 1988.

Cohen の計算法によると、ANOVA が主

の解析方法であることより、有意水準を両側で5%、効果量は0.4で、目指す検出力を0.8とした場合、それぞれのグループでサンプル数21以上が必要と設定された。

紙巻たばこ受動喫煙家族が27名、加熱式たばこ受動喫煙家族66名、非喫煙家族（コントロール）36名をリクルートできしており、基準を満たしているものと考えられた。

B-3 質問票による受動喫煙の分析

質問票には、喫煙者に対する質問として、紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻と加熱式たばこの併用に関する使用状況（喫煙本数、たばこ銘柄、家庭での喫煙場所など）、その家族（配偶者、子供）（受動喫煙者）に対して、受動喫煙の状況（父親の喫煙状況、曝露場所、曝露時間など）を含む。

B-4 父親の喫煙状況に対する質問項目（表1）

- 1) 喫煙ご主人に対して：
「あなたは配偶者の前で吸いますか？」
- 2) 非喫煙家族の配偶者に対して：
「ご主人はあなたの目の前で吸いますか？」
- 3) 喫煙ご主人に対して：
「あなたは子供の前で吸いますか？」
- 4) 非喫煙家族の子供に対して：
「お父さんはあなたの前で吸いますか？」

以上の質問より、1)または3)で「はい」と回答した場合「配偶者に対して受動喫煙有」、2)または4)で「はい」と回答した場合「子供に対して受動喫煙有」

と判定した。

家族（配偶者および子供）の受動喫煙の有無と尿中TNMとの関連を検討した。

B-5 尿中曝露マーカーの分析

尿中ニコチン代謝物として、コチニンと3-ヒドロキシコチニンを足し合わせた Total Nicotine metabolites : TNM を、liquid chromatography [LC] / mass spectrometry [MS] / [MS] (LC-MS/MS)を用いて測定した。Total Nicotine metabolites : TNM の単位は、nmol/mg creatinine で表記した。

その他、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物（たばこ特異的な発がん性物質）:4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物の代謝物17成分（発がん性物質）を分析中である。

（分担者：国立保健医療科学院 稲葉）

詳細に関しては、分担研究報告（国立保健医療科学院 稲葉洋平）を参照。

本研究は、横断研究の指針である「The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement」に従って実施した。

Vandenvbroucke, J.P. et al. STROBE Initiative. *Epidemiology* 2007, 18, 805–835

本研究は、熊本大学倫理委員会の承認（第1510号）、国立保健医療科学院倫理委員会の承認（NIPH-IBRA#12317）を得て実施した。

C. 結果

C-1 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族（配偶者および子供）における尿中ニコチン代謝物の評価

C-1-1 対象者の属性（表2）

紙巻たばこ喫煙者（9家族）の非喫煙配偶者（9名）および子供（18名）（合計：27名）、加熱式たばこ使用者（22家族）の非喫煙配偶者（22名）および子供（44名）（合計：66名）、コントロールとして非喫煙者（10家族）の非喫煙配偶者（10名）および子供（26名）（合計：36名）である。

グループ間での年齢に差はなかった。

C-1-2 父親からの受動喫煙状況による尿中TNM値（表3）

Total Nicotine metabolites：TNMの平均濃度（nmol/mg creatinine）を以下に示す。

・紙巻たばこ喫煙者の非喫煙家族（合計：27名）のTNMの平均値（SE）：

0.0107 nmol/mg creatinine (SE: 0.0021)

・加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族（合計：66名）のTNMの平均値（SE）：

0.0058 nmol/mg creatinine (SE: 0.0011)

・非喫煙・非使用者の非喫煙家族（コントロール）

（合計：36名）のTNMの平均値（SE）：

0.0012 nmol/mg creatinine (SE: 0.0003)

加熱式たばこ使用者の非喫煙家族のTNMの値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて、有意に高値を示した。（図1）

加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族のTNMの値は、紙巻たばこ喫煙者の非喫煙家族と比べて、有意に低値を示した。（図1）

C-2 受動喫煙状況（質問票による分析）と尿中ニコチン代謝物との関連

紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ喫煙者の方が、「家族と一緒に使用する、家族の前で喫煙している」割合が高いことが分かった。（表3）

父親からの「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中TNMは、「受動喫煙なし」と比べて有意に高値を示した。（表3）

D. 考察

本研究の目的は、加熱式たばこによる受動喫煙が人の健康に及ぼす影響について結論を得ることにある。

本研究では、加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族の尿中ニコチン代謝物（TNM）の値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて、有意に高値を示した。

父親からの「受動喫煙有」の配偶者および子供の尿中ニコチン代謝物（TNM）の値は、「受動喫煙なし」の配偶者および子供に比べて有意に高値を示した。

さらに、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ喫煙者の方が、家族の前で喫煙している割合が高いことがわかった。このことは、「加熱式たばこが紙巻たばこに比べて、より安全との認識があるものと考えられた。加熱式たばこに関するエビデンスに基づく啓発が重要と考える。

本研究は継続中であり、今後、測定例を増やして喫煙と受動喫煙の有無と他の曝露マーカーおよび臨床バイオマーカーとの関連について解析を進める。

E. 結語

本研究の成果は、「改正健康増進法」で経過措置として店内を喫煙可能としている施設において屋内禁煙化の推進に寄与すると考えられた。また、国民の加熱式たばこによる受動喫煙防止に対する認知の向上につながるものと期待される。

さらに本研究を発展させることで、加熱式たばこ使用による健康影響が明らかとなり、その結果、受動喫煙による疾病および喫煙関連疾患の予防に貢献することが期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表（本研究に関連するもの）

- 1) Onoue A, Inaba Y, Machida K, Samukawa T, Inoue H, Kurosawa H, Ogata H, Kunugita N, Omori H. Association between Fathers' Use of Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022, 19, 6275.

2. 学会発表

- 1) 稲葉洋平, 尾上あゆみ, 緒方裕光, 井上博雅, 黒澤一, 寒川卓哉, 町田健太郎, 樺田尚樹, 大森久光. たばこ製品喫煙者の有害化学物質の曝

露量評価の検討.

第 92 回日本衛生学会学術総会
(オンライン) 2022.3.21-23.

H. 知的財産権の出願・登録状況

この研究において、知的財産権に該当するものはなかった。

表 1. 父親の喫煙状況に対する質問項目

Table 1 A self-reporting questionnaire for SHS exposure and definitions of SHS.

- (1) "Have you smoked during the time with your spouse? " (yes/no) for the father
- (2) "Have you smoked during the time with your children? " (yes/no) for the father
- (3) "Has your husband smoked during the time with you? " (yes/no) for the spouse
- (4) "Has your father smoked during the time with you? " (yes/no) for the children

Definition of SHS exposure

For spouses, If the participant answered "yes" in response to questions (1) or (3), their spouses were classified as being exposed to SHS.

For children, If the participant answered "yes" in response to the questions (2) or (4), their children were classified as being exposed to SHS.

Abbreviations: SHS, secondhand smoke exposure

表 2. 対象者の属性

Table 2 The characteristics of the study participants.

Characteristics	Total Participants (41 Families)	SHS Exposure status from Fathers			p-Value
		Fathers Who Only Smoke combustion cigarettes (9 Families)	Fathers Who Only Use HTPs (22 Families)	Fathers Who Are Never-Smokers and Non-Users (10 Families)	
Total non-smoking spouses and children	n=129	n=27	n=66	n=36	
Age, years, M (SD)	18.1 (14.1)	18.8 (14.5)	18.3 (14.3)	17.3 (13.5)	0.93
Male, n (%)	43	7	23	13	
Female, n (%)	86	20	43	23	0.28
Non-smoking spouses	n=41	n=9	n=22	n=10	
Age, years, M (SD)	37.6 (6.0)	37.7 (7.5)	37.5 (6.3)	37.7 (4.4)	0.99
Female, n (%)	41 (100)	9 (100)	22(100)	10 (100)	
Non-smoking children	n=88	n=18	n=44	n=26	
Age, years, M (SD)	9.1 (4.4)	9.3 (4.8)	8.8 (3.9)	9.4 (4.9)	0.83
Male, n (%)	43 (48.9)	7 (38.9)	23 (52.3)	13 (50.0)	
Female, n (%)	45 (51.1)	11 (61.1)	21 (47.7)	13 (50.0)	0.63

Notes: Data are expressed as means (standard deviation). or as number (n) (percentage).
Abbreviations: HTPs, heated tobacco products

表3. 父親からの受動喫煙状況による尿中ニコチン代謝物 (TNM) 値

Table 3. The urinary levels of TNMs after creatine normalization according to the SHS exposure status from fathers

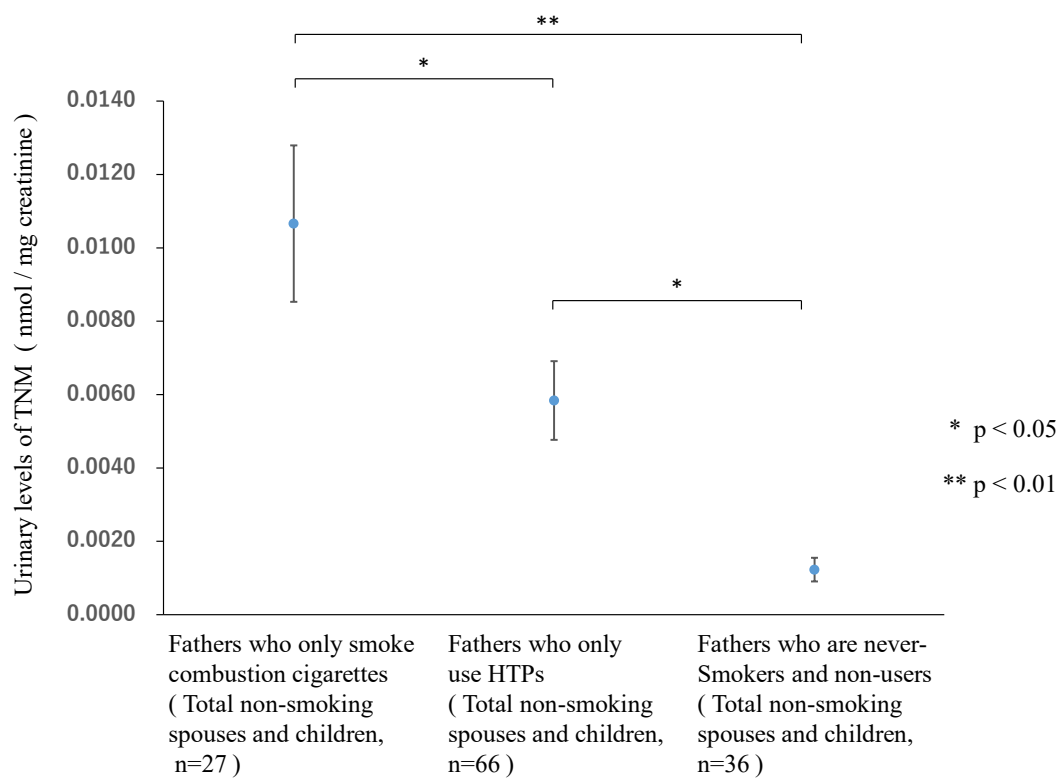
Characteristics	Total Participants (41 Families)	SHS Exposure Status from Fathers			p-value
		Fathers Who Only Smoke Combustion Cigarettes, (9 Families)	Fathers Who Only Use HTPs, (22 Families)	Fathers Who Are Never-Smokers and Non-Users, (10 Families)	
Total non-smoking spouses and children	n=129	n=27	n=66	n=36	
TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)		0.0107 (0.0021) **	0.0058 (0.0011) *	0.0012 (0.0003)	<0.001
SHS exposure, Yes		n=15 0.0107 (0.0025) **	n=49 0.0063(0.0014)*	n=0	<0.001
SHS exposure, No		n=12 0.0106 (0.0038) **	n=17 0.0045 (0.0015)	n=36 0.0012 (0.0003)	<0.001
Non-smoking spouses	n=41	n=9	n=22	n=10	
TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)		0.0083 (0.0035) *	0.0027 (0.0005)	0.0010 (0.0004)	0.01
SHS exposure, Yes		n=6 0.0087 (0.0052) *	n=19 0.0029(0.0006)	n=0	0.028
SHS exposure, No		n=3 0.0074 (0.0034) **	n=3 0.0018 (0.0009)	n=10 0.0010 (0.0004)	0.008
Non-smoking children	n=88	n=18	n=44	n=26	
TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)		0.0119 (0.0027) **	0.0074 (0.0015) *	0.0013 (0.0004)	<0.001
SHS exposure, Yes		n=9 0.0121 (0.0024) **	n=30 0.0084 (0.0021) *	n=0	0.001
SHS exposure, No		n=9 0.0116 (0.0050) **	n=14 0.0051 (0.0017)	n=26 0.0013 (0.0004)	0.003

Notes: Data are expressed as means (standard error).

Abbreviations: SHS, second-hand smoke; HTPs, heated tobacco products; TNM, total nicotine metabolites; SE, standard error.

*p < 0.05, **p < 0.01 compared with fathers who were never smoker and non-user

図 1. 紙巻たばこ、加熱式たばこ、非喫煙
 家族の尿中 TNM 値の比較



令和3年度 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

受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析の検討と日本人喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物量とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析

研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院
研究代表者 大森久光 熊本大学
研究分担者 樺田尚樹 産業医科大学
研究分担者 緒方裕光 女子栄養大学
研究協力者 尾上あゆみ 熊本大学

研究要旨

昨年度に引き続き本研究では、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、喫煙者・受動喫煙者の生体試料（尿）に含まれているたばこ由来の有害化学物質の代謝物と影響マーカー（酸化ストレスマーカー）の分析を行っている。今年度は、追加の喫煙者と受動喫煙者のニコチン代謝物とたばこ特異的ニトロソアミン代謝物（NNK 代謝物）である 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) の分析を行なった。

喫煙者の分析結果は、加熱式たばこ喫煙者が 8 名、紙巻たばこ喫煙者が 13 名そして併用者が 11 名であった。総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の中央値は、加熱式たばこ喫煙者が 7160、紙巻たばこ喫煙者が 7928、併用者が 9423 であった。ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと思われた。次に発がん性物質である NNAL 中央値 (pg/mg creatinine) は、加熱式たばこ喫煙者が 19.1、紙巻たばこ喫煙者が 38.2、併用者が 36.1 であった。受動喫煙者の分析結果は、加熱式たばこ受動喫煙者が 15 名、紙巻たばこ受動喫煙者が 23 名そして併用者の受動喫煙者が 25 名であった。総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の中央値は、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.53、紙巻たばこ受動喫煙者が 4.02、併用者の受動喫煙者が 3.50 であった。ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこを使用しても曝露量が低減されることはないと思われた。次に発がん性物質である NNAL 中央値 (pg/mg creatinine) は、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.07、紙巻たばこ受動喫煙者が 1.12、併用者の受動喫煙者が 1.26 であった。喫煙者を加熱式たばこ、紙巻たばこ併用者の 3 区分に分けて傾向を評価した。ニコチン代謝物量は、喫煙者、受動喫煙者ともに 3 区分に大きな違いは認められなかった。これは、加熱式たばこ主流煙の分析結果とも合致した。NNAL 量は、加熱式たばこ喫煙者が主流煙の分析値と同様の 1/10 の曝露量ではなく、紙巻たばこ、併用者の 50%程度の曝露差であった。

A. 研究目的

昨年度に引き続き、日本人喫煙者に加えて受

動喫煙者のバイオマーカー分析を行った。

たばこ煙には、多くの有害化学物質が含まれ

ており、その有害化学物質の曝露による生体への影響が結論づけられている。2004年に世界保健機関 (WHO) の附属機関である国際がん研究機関 (IARC) は、発がん性の網羅的な分類において「喫煙」、「たばこ煙」と「受動喫煙」は、分類最上位のグループ 1 の「発がん性がある」とした[1]。

現在までにたばこの主流煙には 5,300 種類以上の化学物質が含まれていると報告されている[2]。さらに主流煙は、IARC の発がん性リスク一覧のグループ 1 とされた「ヒトに対する発がん性が認められる」化合物が確認されている。このグループ 1 には、厚生労働省によって室内濃度指針値が定められているホルムアルデヒド、多環芳香族炭化水素類のベンゾ[a]ピレンとたばこに特有の有害物質であるたばこ特異的ニトロソアミンである *N*'-ニトロソノルニコチン (NNN) および 4-(*N*-ニトロソメチルアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノン (NNK) などが含まれ

ている[1]。これら有害化学物質以外にもたばこの依存性に大きく関与する化学物質として「ニコチン」がある。ニコチンは、たばこ特異的な化学物質であり、現在では、依存症の原因物質として認識されている。このニコチンは、生体内に取り込まれるとコチニンまたは 3-ヒドロキシコチニンやそのグルクロン酸抱合体などのニコチン代謝物に変換され、最終的には尿へ排泄される (Fig. 1) [3]。

加熱式たばこは、加工された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。2014年に販売開始された IQOS をはじめとする加熱式たばこの主流煙 (エアロゾル) は、燃焼由来の有害化学物質が 90%近く削減されている。しかし、低減されていない有害化学物質が存在している。また、加熱式たばこのエ

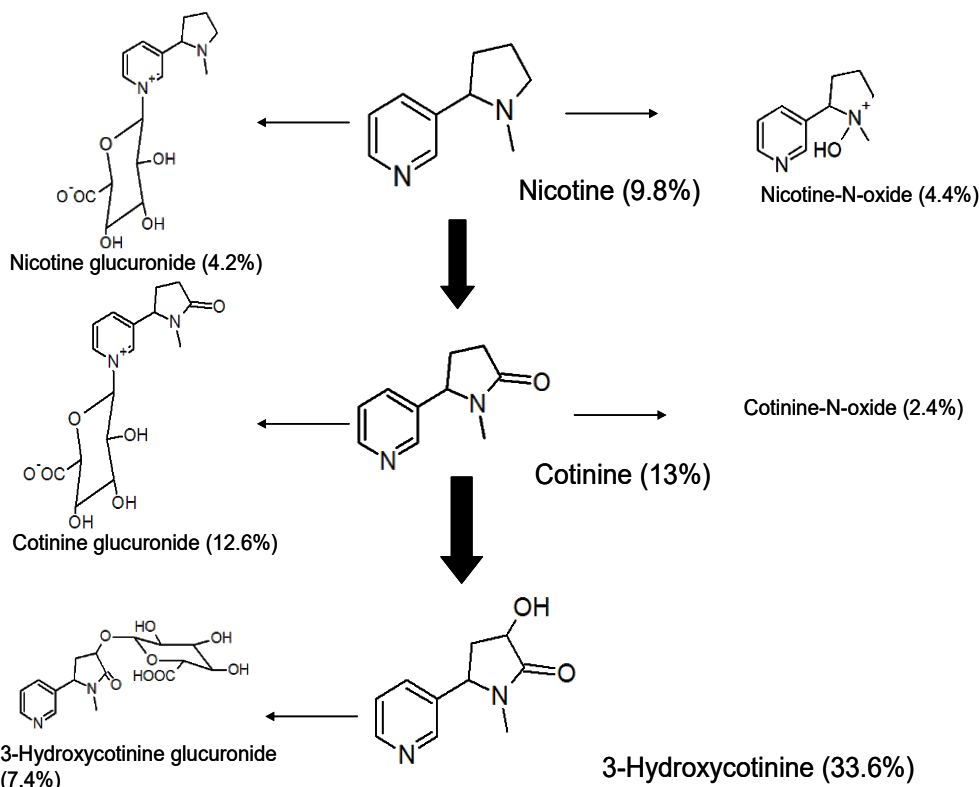


Fig.1 Quantitative scheme of nicotine metabolism, based on estimates of average excretion of metabolites as percent of total urinary nicotine [3].

アロゾルの有害化学物質の成分数は大幅に低減されていないため、加熱式たばこを使用する限り化学物質の複合曝露は継続されている。

2020年4月から完全施行された改正健康増進法は、望まない受動喫煙をなくすために施設の類型・場所ごとに対策を実施することで対応している。しかし、「加熱式たばこ」は経過措置として、飲食可能な喫煙室での使用が認められている。その理由として加熱式たばこは日本で販売が開始されてから期間も短く、喫煙者の健康影響、受動喫煙に関しても科学的な根拠の蓄積が少ない状況が上げられる。

そこで本研究では、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、喫煙者・受動喫煙者の生体試料（尿）に含まれているたばこ由来の有害化学物質の代謝物と影響マーカー（酸化ストレスマーカー）値から健康影響評価を行う。今年度は喫煙者及び受動喫煙者（紙巻たばこのみ、加熱式たばこのみ、両方を使用）の NNK 代謝物である 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) とニコチン代謝物の分析を行なった。

B. 研究方法

(1) 被験者

本研究の被験者は、今年度の本研究班の研究に参加した喫煙者・受動喫煙者の尿試料を使用した。本研究計画「加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発」（受付番号 倫理第 2150 号）は、熊本大学の倫理委員会で審査され、2020年11月12日付けで承認された。さらに本研究を実施するために、国立保健医療科学院においても倫理委員会で審査され、承認された（NIPH-IBRA#12317）。

(2) クレアチニン測定

尿中クレアチニンの測定には、クレアチニン測定用キットである和光純薬製クレアチニンテー

ストワコー（Jaffé 法）を適用した。

(3) 尿中ニコチン代謝物の測定

尿中ニコチン代謝物の固相抽出には、ENVI-Carb (250 mg/6 mL; SUPELCO 社製) を用いた。また、受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物の高感度分析を評価するために、 β -グルクロニダーゼ処理を行なったのちに、ENVI-Carb 処理を行う手法の検討も行なった。

ニコチン代謝物の分析は、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) を使用した。また、HILIC カラムを使用することで、移動相のアセトニトリル比率を 70%あたりにすることで、成分の高感度化を行なった。なお、前処理時に、Nicotine- d_4 と Cotinine- d_4 と 3-Hydroxycotinine- d_4 を内標準物質として添加した。ニコチン代謝物の定量下限値は、5 pg/mL (LC/MS/MS) であり、尿試料では 50 pg/mL であった。

(4) NNAL 分析法

尿試料は、クエン酸緩衝液及び β -グルクロニダーゼ溶液を添加し、脱抱合処理を行った。次に、得られた処理溶液は、ケイソウ土カラム、Envi-Carb, Oasis-MCX の順に処理し、LC/MS/MS に供して測定を行った。なお、前処理時に、NNAL- d_4 を内標準物質として添加した。NNAL の定量下限値は、2 pg/mL (LC/MS/MS) であり、尿試料では 0.08 pg/mL であった。

C. 研究結果及び考察

(1) 喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

日本人喫煙者 33 名の尿試料について、ニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった (Table 1)。喫煙者の内訳は、加熱式たばこ喫煙者が 8 名、紙巻たばこ喫煙者が 13 名そして併用者が 12 名であった。総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の範囲は、加熱式たばこ喫煙者が 99.4 から 27200、紙

巻たばこ喫煙者が 58.9 から 21700, 併用者が 386 から 34808 であった。ニコチン代謝物に関して, 中央値を比較すると紙巻たばこ喫煙者が 7928、加熱式たばこ喫煙者が 7160 そして併用者が 11800 となり、加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと思われた。次に発がん性物質である NNAL 量 (pg/mg creatinine) は, 加熱式たばこ喫煙者が 1.9 から 64.6, 紙巻たばこ喫煙者が 4.0 から 267, 併用者が 8.4 から 235 であった。各喫煙者群の最大値で比較すると加熱式たばこ喫煙者の曝露量が低い結果であった。一方で, その中央値の曝露量は紙巻たばこが 38.2、加熱式たばこが 19.1 そして併用者が 35.1 であった。まず、併用者は加熱式たばこを使用することによって発がん性物質の曝露量が低下することは確認されなかった。加熱式たばこ喫煙者についても主流煙中の TSNAs は紙巻たばこの 90%削減であるとたばこ産業は報告しているが、実際の曝露量は半減している程度であった。

(2) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

日本人喫煙者 63 名の尿試料について, ニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった (Table 2)。受動喫煙者の内訳は, 加熱式たばこ受動喫煙者が 15 名, 紙巻たばこ受動喫煙者が 23 名そして併用者の受動喫煙者が 25 名であった。総ニコチン代謝物量 (ng/mg creatinine) の範囲は, 加熱式たばこ受動喫煙者が 1.06 から 14.6, 紙巻たばこ受動喫煙者が 1.81 から 19.2, 併用者の受動喫煙者が 1.31 から 318.5 であった。ニコチン代謝物に関して, 中央値を比較すると紙巻たばこ受動喫煙者が 4.02、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.53 そして併用者の受動喫煙者が 3.53 となり、受動喫煙の曝露に関して加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと考えられた。次に発がん性物質である NNAL 量 (pg/mg creatinine) は, 加熱式たばこ受動喫煙者が 0.5 から 14.6, 紙巻たばこ受動喫煙者が 0.34 から 13.3, 併用者の受動喫煙者が 0.45 から 235 であった。NNAL に関して, 中央値を比較すると紙

Table 1 日本人喫煙者のニコチン代謝物及びたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析結果

	Amounts											
	ng/mg creatinine									pg/mg creatinine		
	Cotinine			3-hydroxycotinine			Total nicotine metabolites			NNAL		
	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median
紙巻たばこ n=13	49.6	5,110	2,691	9.3	16,600	4,131	58.9	21,700	7,928	4.0	267	38.2
併用者 n=11	89.3	8,160	3,232	34.7	26,700	5,779	386.3	34,800	9,423	8.4	235	36.1
加熱式たばこ n=8	90.0	17,600	3,930	9.4	18,400	3,980	99.4	27,200	7,160	1.9	64.6	19.1

Table 2 日本人受動喫煙者のニコチン代謝物及びたばこ特異的ニトロソアミン代謝物量の分析結果

	Amounts											
	ng/mg creatinine									pg/mg creatinine		
	Cotinine			3-hydroxycotinine			Total nicotine metabolites			NNAL		
	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median
紙巻たばこ n=23	0.70	16	2.66	0.42	3.18	1.13	1.81	19.2	4.02	0.34	13.3	1.12
併用者 n=25	0.88	70.7	2.22	n.d.	248	1.31	1.31	318.5	3.50	0.45	29.1	1.26
加熱式たばこ n=15	0.63	12.7	2.36	0.43	6.11	1.83	1.06	14.6	4.53	0.5	14.6	4.07

巻たばこ受動喫煙者が 1.12、加熱式たばこ受動喫煙者が 4.07 として併用者の受動喫煙者が 1.26 となり、受動喫煙の曝露に関して加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと考えられた。これまでの結果を総合すると、その加熱式たばこ受動喫煙者の曝露量に差は認められない。よって現段階で、紙巻たばこが加熱式たばこよりも健康影響が低いまで言及することが困難であることが分かった。

今回は、初年度のよりもサンプル数が増えて少しずつではあるが、喫煙者、受動喫煙者の曝露実態が見えてきた。今後、さらにサンプル数が増えることによって、現在の日本人喫煙者のたばこ製品における曝露状況が判明する。最終年度は、この曝露マーカーに加えて酸化ストレスマーカーの分析も進めていく計画である。

D. 結論

本研究では、喫煙者及び受動喫煙者のニコチン代謝物と発がん性物質の代謝物 NNAL の分析を行い、加熱式たばこ、紙巻たばこ及び併用者の比較を行うことを目的とした。現在、リクルートの途中ではあるが、さらにサンプル数が増加することによって加熱式たばこ喫煙者及び受動喫煙者の曝露実態が分かってくる。この成果が改正健康増進法の見直しに使用するための科学的根拠の一部になると考えている。日本人喫煙者と受動喫煙者のニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった。喫煙者を加熱式たばこ、紙巻たばこと併用者の 3 区分に分けて傾向を評価した。ニコチン代謝物量は、喫煙者、受動喫煙者ともに 3 区分に大きな違いは認められなかった。これは、加熱式たばこ主流煙の分析結果とも合致した。NNAL 量は、加熱式たばこ喫煙者が主流煙の分析値と同様の 1/10 の曝露量ではなく、紙巻たばこ、併用者の 50%程度の曝露差であった。また、受動喫煙者の分析結果は、加熱式たばこ受動喫煙者の曝露量が紙巻た

ばこ受動喫煙者よりも高い値であった。まだまだサンプル数が少ないこともあるが、加熱式たばこは受動喫煙を生じさせないと喫煙者が考え、受動喫煙者の近くにおいて喫煙をしている可能性もあると考えられた。

[引用文献]

- [1] IARC. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 83: 1-1438, 2004.
- [2] Rodgman A, Perfetti TA. Alphabetical Component Index. In: The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke. Rodgman A, Perfetti TA, editors. Boca Raton, FL: CRC Press, 1483-1784, 2009.
- [3] Benowitz NL, Jacob P 3rd, Fong I, Gupta S. Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. J Pharmacol Exp Ther. 268, 296-303. 1994.

F. 研究発表

稲葉洋平, 尾上あゆみ, 緒方裕光, 井上博雅, 黒澤一, 寒川卓哉, 町田健太郎, 樺田尚樹, 大森久光. たばこ製品喫煙者の有害化学物質の曝露量評価の検討. 第 92 回日本衛生学会学術総会 (オンライン) 2022.3.21-23.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当なし							

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
Onoue A, Inaba Y, Machida K, Samukawa T, Inoue H, Kurosawa H, Ogata H, Kunugita N, Omori H.	Association between Fathers' Use of Heat ed Tobacco Products and Urinary Cotinin e Concentrations in Their Spouses and C hildren.	International Journal of Environment and Public Health.	19	6275	2022



Article

Association between Fathers' Use of Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children

Ayumi Onoue ^{1,†}, Yohei Inaba ^{2,†}, Kentaro Machida ³, Takuya Samukawa ⁴, Hiromasa Inoue ³ , Hajime Kurosawa ⁵, Hiromitsu Ogata ⁶, Naoki Kunugita ⁷ and Hisamitsu Omori ^{1,*}

- ¹ Department of Biomedical Laboratory Sciences, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, 4-24-1 Kuhonji, Chuo-ku, Kumamoto 862-0976, Japan; ayumi.onoue@gmail.com
 - ² Department of Environmental Health, National Institute of Public Health, Minami, Wako-shi 351-0197, Japan; inaba.ya@niph.go.jp
 - ³ Department of Pulmonary Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, Kagoshima 890-8520, Japan; machida@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp (K.M.); inoue@m2.kufm.kagoshima-u.ac.jp (H.I.)
 - ⁴ Ikeda Hospital, Kanoya 893-0024, Japan; samukawa07@ikedahp.com
 - ⁵ Department of Occupational Health, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai 980-8575, Japan; kurosawa-thk@m.tohoku.ac.jp
 - ⁶ Graduate School of Nutrition Sciences, Kagawa Nutrition University, 3-9-21, Sakado 350-0288, Japan; ogata.hiromitsu@eiyo.ac.jp
 - ⁷ School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu 807-8555, Japan; kunugita@med.uoeh-u.ac.jp
- * Correspondence: omorih@gpo.kumamoto-u.ac.jp
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Onoue, A.; Inaba, Y.; Machida, K.; Samukawa, T.; Inoue, H.; Kurosawa, H.; Ogata, H.; Kunugita, N.; Omori, H. Association between Fathers' Use of Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 6275. <https://doi.org/10.3390/ijerph19106275>

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 7 April 2022
Accepted: 18 May 2022
Published: 21 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Heated tobacco products (HTPs) have become increasingly popular among smokers, especially among young adults in Japan in recent years. Assessments of secondhand tobacco smoke (SHS) exposure due to HTPs are scarce. The present study aimed to assess the urinary levels of total nicotine metabolites (TNMs) of non-smoking spouses and their children following SHS exposure due to their fathers' use of HTPs. A total of 41 families including 129 participants were recruited between 2018 and 2021. The number of non-smoking spouses and children of the fathers who smoke combustion cigarettes, the fathers who use HTPs, and the fathers who are non-users or have never smoked was 27, 66, and 36, respectively. The urinary levels of TNMs, including cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot), were measured using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). The spouses and children of fathers who use HTPs had significantly higher levels of TNMs in their urine compared to those with fathers who were non-smokers or non-users. The current study is the first to assess SHS exposure due to HTP use, and to suggest the importance of strategies to prevent exposure to SHS from HTP use in public places and educational strategies to protect non-smokers from secondhand HTP aerosol exposure in households and other private places.

Keywords: heated tobacco products; secondhand smoke; cotinine; biomarker

1. Introduction

Heated tobacco products (HTPs) are tobacco products that produce aerosols by heating tobacco in battery-powered heating systems at lower temperatures than in conventional tobacco-burning cigarettes (generally < 600 °C) [1,2]. HTPs contain nicotine, which is a highly addictive substance, and other chemicals that are inhaled by users through the mouth [1,2]. HTPs have been sold in Japan since November 2014. Tabuchi et al. reported that 4.7% of the population used HTPs or e-cigarette products in 2017 [3]. HTPs have become increasingly popular among smokers, especially among young adults in Japan in

recent years. The JASTIS study estimated the prevalence of HTP use to be 11.3% among the entire Japanese population, and over 30% among current cigarette smokers in 2019 [4]. Data from the National Health and Nutritional Examination Survey conducted by the Ministry of Health, Labour, and Welfare, revealed that the prevalence of HTP use was 26.7% among current smokers in 2019 [5].

The Framework Convention on Tobacco Control (WHO FCTC) effectively protects the public from the harmful effects of tobacco smoke [6]. HTPs are subject to the provisions of the WHO FCTC. In contrast, partial smoking bans are ineffective [7,8]. The implementation of comprehensive smoke-free policies by the WHO FCTC is the only way to effectively protect the public from the harms of SHS. New regulations from the revised Health Promotion Law in Japan allow the use of HTPs in areas where people eat and drink [8,9].

There is currently no evidence indicating that HTPs are less harmful than conventional tobacco products [1,2]. Furthermore, there is insufficient evidence regarding the potential health effects of secondhand emissions produced by HTPs, though the emissions are known to contain some harmful and potentially harmful constituents [1,2].

HTPs contain nicotine, a highly addictive substance found in tobacco which, in turn, makes HTPs addictive [1,2]. The concentrations of nicotine in tobacco filters and mainstream HTP smoke are similar to those in conventional combustion cigarettes [10]. The biomonitoring of urine nicotine metabolites has been used extensively to assess the extent of tobacco smoke exposure [11] and is suitable for the assessment of secondhand tobacco smoke (SHS) exposure [9,11,12]. It is highly predictive of adverse health outcomes among children [13–15]. Accurate and reliable measurements of HTP exposure are essential for identifying and confirming the patterns of HTP use and for assessing their potential biological effects in human populations [14,16].

SHS exposure among people living with a combustion cigarette smoker is currently a popular topic [17–19]. However, assessments of SHS exposure due to HTP use are scarce. Therefore, the present study was designed to assess the urinary levels of total nicotine metabolites (TNMs) of non-smoking spouses and their children following SHS exposure due to their fathers' use of HTPs.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Participants

The present cross-sectional study was conducted between April 2018 and March 2021 in Japan. Participants were recruited from the following regions in Japan: Kumamoto, Kagoshima, and Miyagi Prefecture. Men who worked in and around these regions, their spouses and their children were recruited for the study. In the Kumamoto region, workers were recruited through the Kumamoto research and study group for occupational health nursing. Participants included families with spouses and children under 20 years of age. In this study, we excluded fathers who smoked combustion cigarettes and those who co-used HTPs. We also excluded families in which both the fathers and spouses smoked.

A total of 129 participants were enrolled. The study population consisted of nine fathers who smoked combustion cigarettes, their non-smoking spouses ($n = 9$), and their non-smoking children ($n = 18$); 22 fathers who used heated tobacco products (HTPs), their non-smoking spouses ($n = 22$), and their non-smoking children ($n = 44$); and 10 fathers who have never smoked combustion cigarettes and were non-HTP users, their non-smoking spouses ($n = 10$), and their non-smoking children ($n = 26$). In the present study, we defined current combustion cigarette smokers as participants who only smoke cigarettes daily, and current HTP users as participants who only use HTPs daily, and have done so for at least 2 weeks.

For the main analysis, we used an analysis of variance. An ANOVA with a significance level of 5%, a power of 0.8, and an effect size of 0.4 resulted in a sample size of 21 [20]. We required a sample size of over 21 in each of the three groups.

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and was approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of Kumamoto University (protocol code 1510). All subjects provided written informed consent to participate in the present study.

2.2. Measurement

2.2.1. Questionnaire for SHS Exposure and Definitions

SHS exposure was assessed using a self-report questionnaire (Table 1). The core questionnaire contained information on demographics, smoking behavior, and exposure to SHS. Data were obtained at the time of urine sample collection. The questions included in the questionnaire were: (1) “Have you smoked during the time with your spouse?” (yes/no) for the father; (2) “Have you smoked during the time with your children?” (yes/no) for the father; (3) “Has your husband smoked during the time with you?” (yes/no) for the spouse, and (4) “Has your father smoked during the time with you?” (yes/no) for the children.

Table 1. A self-report questionnaire for SHS exposure and definitions of SHS.

(1) “Have you smoked during the time with your spouse?” (yes/no) for the father
(2) “Have you smoked during the time with your children?” (yes/no) for the father
(3) “Has your husband smoked during the time with you?” (yes/no) for the spouse
(4) “Has your father smoked during the time with you?” (yes/no) for the children
Definition of SHS exposure
For spouses, if the participant answered “yes” in response to questions (1) or (3), their spouses were classified as being exposed to SHS.
For children, if the participant answered “yes” in response to questions (2) or (4), their children were classified as being exposed to SHS.

Abbreviations: SHS, secondhand smoke.

If the participant answered “yes” in response to questions (1) or (3), their spouses were classified as having been exposed to SHS. If the participant answered “yes” in response to questions (2) or (4), their children were classified as having been exposed to SHS.

2.2.2. Determination of Urinary Total Nicotine Metabolites

All spouses and children provided the first-morning urine samples. One urine sample was collected from each participant. The samples were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The urinary levels of TNMs, including those of cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot), were measured primarily based on the results of liquid chromatography [LC]/mass spectrometry [MS]/[MS] (LC-MS/MS). This was performed in the Department of Environmental Health in the National Institute of Public Health, which is a member of the WHO Collaborating Centers for tobacco control.

Urine creatinine-corrected values were calculated in this study because this correction helps to avoid the confounding effects of overly diluted or hyper-concentrated urine [14]. The results were expressed as cotinine/creatinine ratios in ng/mg creatinine. [21]

2.2.3. LC/MS/MS System

Apparatus

A liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) system (Waters Corporation, Milford, MA, USA) was used with an ultra-performance LC (Acquity series) and a mass spectrometer (VEVO TQ-S).

Data were acquired and processed using MassLynx version 4.1 software (Waters Corporation, Milford, MA, USA). A CORTECS UPLC HILIC analytical column with a particle size of $1.6\text{ }\mu\text{m}$ and an i.d. of $100\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ (Waters Corporation, Milford, MA, USA) was also used. Solution A and solution B for the mobile phase mixture comprised 100 mmol/L ammonium formate/0.03% formic acid (10/90 v/v) and acetonitrile, respectively. HPLC elution was conducted using 20% A for 1 min, followed by a linear gradient from 20% A

to 100% B for 50 min, and maintenance for 10 min. The flow rate of the mobile phase was 0.3 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 2 µL.

Mass spectrometric detection was conducted in positive ESI mode. The mass spectrometric parameters were optimized for the following protonated ions: m/z 177.2→98.0 [cotinine], m/z 180.3→80.0 [cotinine- d_3], m/z 193.2→80.0 [3-hydroxycotinine], and m/z 196.3→80.0 to attain maximum sensitivity. The MS conditions were set as follows: nitrogen desolvation gas, 1000 L/h; nitrogen cone gas, 150 L/h; source temperature, 150 °C; desolvation temperature, 550 °C; capillary voltage, 2.4 kV; and cone voltage, 30 V. Cotinine and 3-hydroxycotinine determination was set at 0.005 ng/mL. Calibration curves for cotinine and 3-hydroxycotinine were prepared in the 0.005–10 ng/mL range.

Sample Preparation

A 0.25 mL urine sample was mixed with 0.75 mL of water, 2 mL of buffer (pH 4.5), 0.25 mL of I.S. (100 ng/mL cotinine- d_3 and 3-hydroxycotinine- d_3), and 0.065 mL of 2N NaOH. The mixture was added to an activated ENVI-Carb solution (250 mg/6 mL), which was washed with 2 mL of water followed by 3 mL of 20% methanol. Cotinine and 3-hydroxycotinine were eluted with acetonitrile (2.5 mL). The elution was then transferred to the sample vials.

Creatinine Assay

Urinary creatinine levels were determined using the LabAssay Creatinine assay (Wako, Japan). The kit was mixed with diluted urine and reagents using the Jaffe reaction. Urinary creatinine levels were quantified by measuring the absorbance at 520 nm using a microplate reader (SUNRISE) from TECAN (Tecan Group Ltd., Männedorf, Switzerland).

2.3. Ethical Considerations

All subjects provided written informed consent to participate in the present study, which was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and the Ethical Guidelines for Epidemiological Research (partially revised on 1 December 2008 by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology and the Ministry of Health, Labour, and Welfare). The human ethics committee of Kumamoto University approved the research protocol (no. 1510).

2.4. Data Analysis

Data are presented as the number of cases (n) (percentage), means (standard deviation: SD), or means (standard error: SE). The normality of the distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test. One-way analysis of variance (ANOVA) and the Kruskal-Wallis test were used to assess the differences in characteristics, and the urinary levels of total nicotine metabolites (TNMs), namely cotinine and 3'-hydroxycotinine, among the three groups: only combustion cigarette smokers, only HTP users, and never-smokers and non-users. The post hoc Scheffe's test was used to assess the differences in the urinary levels of TNM among the 3 groups. The chi-square test was used to assess categorical variables. Statistical significance was set at $p < 0.05$. All statistical analyses were conducted using IBM SPSS Statistics software (version 27.0, IBM Japan, Tokyo, Japan). There were no missing data in the present study.

3. Results

3.1. Study Population Characteristics

Table 2 summarizes the characteristics associated with the SHS exposure status from fathers. This study included a total of 41 families (129 participants). The number of non-smoking spouses and children of the fathers who smoke combustion cigarettes, non-smoking spouses and children of the fathers who use HTPs, and non-smoking spouses and children of the fathers who are non-users or have never smoked was 27, 66, and 36, respectively. The study population consisted of 41 non-smoking spouses and 88 non-

smoking children. The numbers of non-smoking spouses and non-smoking children of the fathers who only smoke combustion cigarettes, fathers who only use HTPs, and fathers who are never-smokers and non-users were 9 and 18, 22 and 44, and 10 and 26, respectively. The mean ages of the participants did not differ significantly among the three groups.

Table 2. The characteristics of the study participants.

Characteristics	SHS Exposure Status from Fathers				p-Value
	Total Participants (41 Families)	Fathers Who Only Smoke Combustion Cigarettes (9 Families)	Fathers Who Only Use HTPs (22 Families)	Fathers Who Are Never-Smokers and Non-Users (10 Families)	
Total non-smoking spouses and children	<i>n</i> = 129	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 66	<i>n</i> = 36	
Age, years, M (SD)	18.1 (14.1)	18.8 (14.5)	18.3 (14.3)	17.3 (13.5)	0.93
Male, <i>n</i> (%)	43	7	23	13	
Female, <i>n</i> (%)	86	20	43	23	0.28
Non-smoking spouses	<i>n</i> = 41	<i>n</i> = 9	<i>n</i> = 22	<i>n</i> = 10	
Age, years, M (SD)	37.6 (6.0)	37.7 (7.5)	37.5 (6.3)	37.7 (4.4)	0.99
Female, <i>n</i> (%)	41 (100)	9 (100)	22(100)	10 (100)	
Non-smoking children	<i>n</i> = 88	<i>n</i> = 18	<i>n</i> = 44	<i>n</i> = 26	
Age, years, M (SD)	9.1 (4.4)	9.3 (4.8)	8.8 (3.9)	9.4 (4.9)	0.83
Male, <i>n</i> (%)	43 (48.9)	7 (38.9)	23 (52.3)	13 (50.0)	
Female, <i>n</i> (%)	45 (51.1)	11 (61.1)	21 (47.7)	13 (50.0)	

Notes: Data are expressed as means (standard deviation), or as number (*n*) (percentage). Abbreviations: HTPs, heated tobacco products.

3.2. SHS Exposure in Spouses and Children from Fathers Defined by Urinary Levels of TNMs

Table 3 shows the urinary levels of TNMs after creatine normalization according to the SHS exposure status from fathers. Figure 1 shows the comparison of TNM urinary levels after creatine normalization among the three groups (total non-smoking spouses and children, *n* = 129). In this study, the non-smoking spouses and children of the fathers who smoke combustion cigarettes (*n* = 27) had an average urinary TNM concentration of 0.0107 nmol/mg creatinine (SE = 0.0021). The non-smoking spouses and children of the fathers who use HTPs (*n* = 66) had an average urinary TNM concentration of 0.0058 nmol/mg creatinine (SE = 0.0011). The non-smoking spouses and children of the fathers who are non-users or never-smokers (*n* = 36) had an average urinary TNM concentration of 0.0012 nmol/mg creatinine (SE = 0.0003). The urinary TNM concentrations among the non-smoking spouses and children of the fathers who smoked combustion cigarettes were significantly higher than the urinary TNM concentrations among the families in which the fathers were never-smokers or non-users (Table 3 and Figure 1). The urinary TNM concentrations among HTP users tended to be lower than those among combustion cigarette smokers. The urinary TNM concentrations in the non-smoking spouses and children of the fathers who use HTPs were significantly higher than those among the non-smoking spouses and children of the fathers who were never-smokers or non-users (Table 3 and Figure 1).

Table 3. The urinary levels of TNMs after creatine normalization according to the SHS exposure status from fathers.

Characteristics	Total Participants (41 Families)	SHS Exposure Status from Fathers			<i>p</i> -Value
		Fathers Who Only Smoke Combustion Cigarettes, (9 Families)	Fathers Who Only Use HTPs, (22 Families)	Fathers Who Are Never-Smokers and Non-Users, (10 Families)	
Total non-smoking spouses and children TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)	<i>n</i> = 129	<i>n</i> = 27 0.0107 (0.0021) **	<i>n</i> = 66 0.0058 (0.0011) *	<i>n</i> = 36 0.0012 (0.0003)	<0.001
SHS exposure, Yes		<i>n</i> = 15 0.0107 (0.0025) **	<i>n</i> = 49 0.0063 (0.0014) *	<i>n</i> = 0	<0.001
SHS exposure, No		<i>n</i> = 12 0.0106 (0.0038) **	<i>n</i> = 17 0.0045 (0.0015)	<i>n</i> = 36 0.0012 (0.0003)	<0.001
Non-smoking spouses TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)	<i>n</i> = 41	<i>n</i> = 9 0.0083 (0.0035) *	<i>n</i> = 22 0.0027 (0.0005)	<i>n</i> = 10 0.0010 (0.0004)	0.01
SHS exposure, Yes		<i>n</i> = 6 0.0087 (0.0052) *	<i>n</i> = 19 0.0029 (0.0006)	<i>n</i> = 0	0.028
SHS exposure, No		<i>n</i> = 3 0.0074 (0.0034) **	<i>n</i> = 3 0.0018 (0.0009)	<i>n</i> = 10 0.0010 (0.0004)	0.008
Non-smoking children TNM, nmol/mg creatinine, M (SE)	<i>n</i> = 88	<i>n</i> = 18 0.0119 (0.0027) **	<i>n</i> = 44 0.0074 (0.0015) *	<i>n</i> = 26 0.0013 (0.0004)	<0.001
SHS exposure, Yes		<i>n</i> = 9 0.0121 (0.0024) **	<i>n</i> = 30 0.0084 (0.0021) *	<i>n</i> = 0	0.001
SHS exposure, No		<i>n</i> = 9 0.0116 (0.0050) **	<i>n</i> = 14 0.0051 (0.0017)	<i>n</i> = 26 0.0013 (0.0004)	0.003

Notes: Data are expressed as means (standard error). Abbreviations: SHS, secondhand smoke; HTPs, heated tobacco products; TNMs, total nicotine metabolites; SE, standard error. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with fathers who were never-smokers and non-users.

In this study, the percentage of spouses and children exposed to SHS in the HTP group was higher than in the combustion cigarette group (Table 3). The urinary TNM concentrations for the children of the fathers who answered “yes” to questions indicating SHS exposure from HTPs were significantly higher than for those with fathers who were never-smokers or non-users (Table 3).

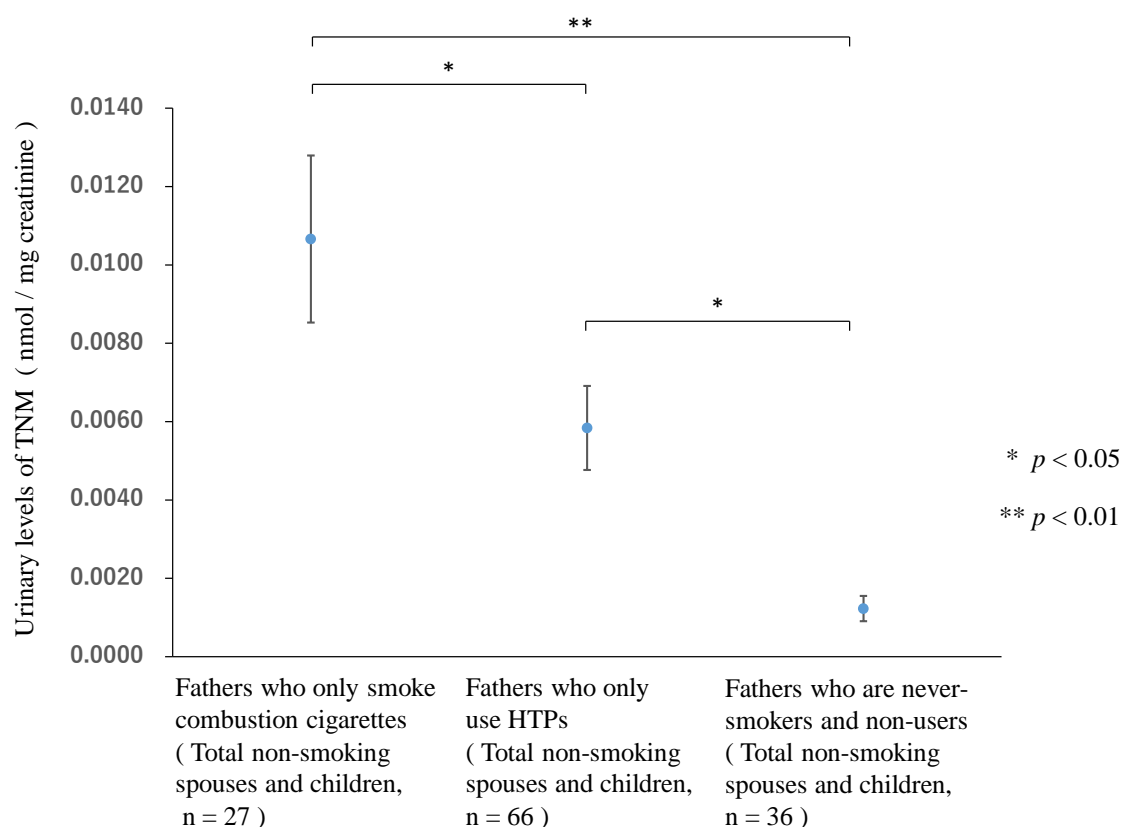


Figure 1. Comparison of total nicotine metabolite (TNM) urinary levels after creatine normalization among the three groups. (conc. Creatine).

4. Discussion

To the best of our knowledge, the current study was the first to assess SHS exposure due to HTP use. We assessed the association between SHS exposure (due to the fathers' use of HTPs) and urinary TNM concentrations (obtained using LC-MS/MS assays) in non-smoking spouses and children.

We found that urinary TNM concentrations in the spouses and children of fathers who use HTPs were significantly higher, especially in the group who answered “yes” to questions indicating SHS exposure, than for those whose fathers were never-smokers and non-users.

The biomonitoring of urine cotinine levels has been used to assess SHS exposure [11]. In the current study, urinary levels of TNMs, including cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot), were measured. Cotinine is metabolized to 3-OHCot, which is the most abundant nicotine metabolite and accounts for 38% of all urinary metabolites in humans [22,23]. It is well known that cotinine levels are highly dependent on the duration of time since the last cigarette was smoked. The half-lives of cotinine and hydroxycotinine are 6–22 h and 4.6–8.3 h, respectively [24–26]. The sum of cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot) is a useful biomarker for estimating daily nicotine intake [27]. In this study, the internal estimated daily nicotine intake could not be calculated. Further studies are required to estimate the daily nicotine intake for this population. Based on the results of the urinary levels of TNMs, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL), which has a longer half-life than TNMs, may also be a suitable biomarker for SHS exposure. Further research on NNAL is necessary.

In the current study, the percentage of spouses and children exposed to SHS in the HTP group was higher than in the combustion cigarette group. A recent study by Imura et al. in Japan reported that 32.6% of individuals aged 15–19 years were exposed to secondhand HTP aerosols [28]. Gravely et al. reported that nearly half of all smokers believed HTPs to be less

harmful than combustion cigarettes [29]. Furthermore, HTP users were significantly more likely to believe that HTPs are less harmful than cigarettes compared to non-HTP users [29]. Therefore, the fathers who used HTPs in this study were likely to believe that HTPs could be used safely during the time they spend with their spouses and children. Ohmomo and their colleagues observed that HTP users (who switched from using combustible tobacco <2 years prior) displayed abnormal DNA methylation and transcriptome profiles, albeit to a lesser extent than those who used combustible tobacco [30]. Long-term molecular epidemiologic studies are needed.

Several studies suggest that secondhand HTP aerosol exposure may have harmful side effects [10,31–33]. The levels of some harmful substances were lower in HTPs than in combustible cigarettes, however, several substances were higher [33]. A recent study found that non-smoking women (aged 40 years or older) who were exposed to ETS due to their husbands' combustion cigarette smoking had the lowest FEV₁/FVC [34]. Another study reported that cumulative exposure to SHS at work may contribute to the deterioration of pulmonary function in non-smoking employees [35]. Imura et al. reported that the incidence of asthma attacks and chest pain due to HTP aerosol exposure was higher than that caused by cigarette smoke, suggesting that secondhand HTP aerosol exposure may lead to respiratory and cardiovascular abnormalities [28]. These findings suggest that cumulative exposure to secondhand HTP aerosols may contribute to the deterioration of pulmonary function in non-smoking spouses and children. Large-scale prospective studies are required to confirm these findings.

Igarashi et al. reported that younger or more affluent people tend to use HTPs [36]. Our findings strongly suggest that educational strategies are also necessary to protect non-smokers from secondhand HTP aerosol exposure in households and other private places.

New regulations from the revised Health Promotion Law in Japan stipulate that the use of HTPs is allowed in areas where people eat and drink [8,9]. The present results suggest that secondhand HTP aerosol exposure may be associated with an increased risk of health deterioration. Therefore, the Health Promotion Law in Japan should be revised again to prohibit the use of HTPs in environments where aerosol exposure is likely such as public spaces (e.g., restaurants).

To the best of our knowledge, no previous studies have described an association between SHS exposure due to HTP use and urinary cotinine concentrations. The strengths of the current study lie in the quantification of individual levels of SHS exposure using the LC/MS/MS system. The urinary levels of TNMs, including those of cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot), were measured mainly based on LC-MS/MS in the Department of Environmental Health in the National Institute of Public Health, which is a member of the WHO Collaborating Centers for tobacco control. To the best of our knowledge, no previous studies have described a link between a families' exposure to SHS due to HTP use and urinary levels of TNMs.

The present study had several limitations. First, the number of participants enrolled in this cross-sectional study was relatively small. This was of particular concern when analyzing the sample according to participants' SHS exposure status, which may involve weak statistical precision. In this study, the non-smoking spouses and children of the fathers who smoke combustion cigarettes ($n = 27$) had an average urinary TNM of 2.0 ng/mg creatinine (SD = 2.0). The non-smoking spouses and children of the fathers who use HTPs ($n = 66$) had an average urinary TNM concentration of 1.1 ng/mg creatinine (SD = 1.62). The non-smoking spouses and children of the fathers who are non-users or have never smoked ($n = 36$) had an average urinary TNM concentration of 0.23 ng/mg creatinine (SD = 2.16) (data not shown). Assuming a pooled SD of approximately 2.0, this study has over 80% statistical power for the ANOVA (analysis of variance) with a 5% significance level. Thus, the target sample size is estimated to be sufficient for the analysis [20].

For the t-test of the mean difference between the non-smoking spouses and children of the fathers who use HTPs and the non-smoking spouses and children of the fathers who

are non-users or have never smoked, the study had about 90% statistical power with a 5% significance level [20]. Thus, the target sample size was estimated to be sufficient for the total analysis.

Second, since self-reported SHS exposure was used, participants' recall and reporting bias regarding HTP use could not be disregarded. In this study, the question of "How many times have you smoked in front of your spouse or children?" was not included. However, self-reported SHS exposure correlates well with biomarker concentrations [37]. Third, we could not define other sources of SHS exposure (e.g., spending time with other smokers). In the present study, the mean age of the children was 9.1 years, suggesting that they are preschool or school-age children. School-age children appear to spend a lot of time at home [18].

Fourth, information regarding the last exposure before sample collection was missing. However, all spouses and children provided the first-morning urine samples. Cotinine (Cot) is the major metabolite of nicotine, and its longer half-life (16–18 h) makes it a good biomarker for nicotine uptake [14]. The measurement of urine TNM levels, including those of cotinine (Cot) and 3'-hydroxycotinine (3-OHCot), is believed to provide a reliable index for recent nicotine exposure (over the past several days) [38]. Differences in the duration of time since the last exposure may not influence the differences observed among three groups. Further studies related to this point are necessary.

Fifth, the internal estimated daily nicotine intake could not be calculated. Further studies are needed to estimate the daily intake of nicotine in this population. Sixth, in this study, information regarding participants' socioeconomic status was missing. Socioeconomic status may be related to the type of consumption and the prevalence of SHS. Further studies are needed to explore this point.

Despite these limitations, these data may contribute to the development of evidence-based recommendations for more effective smoke-free laws to protect non-smokers from secondhand HTP aerosol exposure. Large-scale prospective studies are needed to confirm the potential health deterioration risks associated with HTPs.

5. Conclusions

The urinary cotinine concentrations of the spouses and children of the fathers who use HTPs were significantly higher compared to those with fathers who were non-users. To our knowledge, this is the first study to examine families' exposure to SHS due to HTP use and to suggest the importance of strategies to prevent exposure to SHS from HTPs. The findings of this study indicate that public health policymakers should both enact and enforce a more comprehensive smoking ban for HTP use in public places, and also implement educational strategies to protect non-smokers from secondhand HTP aerosol exposure in households and other private places.

Author Contributions: A.O., Y.I., K.M., T.S., H.I., H.K., H.O. (Hiromitsu Ogata), N.K. and H.O. (Hisamitsu Omori) participated in the design and interpretation of this survey and the development of this manuscript. A.O., Y.I., K.M., T.S., H.I., H.K., H.O. (Hiromitsu Ogata), N.K. and H.O. (Hisamitsu Omori) had full access to the data and gave the final approval before submission. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported in part by the practical research project for lifestyle-related diseases, including cardiovascular diseases and diabetes mellitus, from the Japan Agency for Medical Research and Development, AMED (18059293), and the Health and Labour Science Research Grants from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of the Japanese Government (20FA1004).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and was approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of Kumamoto University (protocol code 1510).

Informed Consent Statement: All subjects provided written informed consent to participate in the present study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We would like to thank Takuya Kitagawa for their excellent technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Strobe Statement: The authors have read the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement [39], and the manuscript was prepared according to the STROBE statement checklist of items.

References

1. *Heated Tobacco Products (HTPs) Information Sheet*, 2nd ed.; World Health Organization (WHO): Geneva, Switzerland, 2020. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HEP-HPR-2020.2> (accessed on 31 December 2021).
2. WHO Study Group on Tobacco Product Regulation: Report on the Scientific Basis of Tobacco Product Regulation: Eighth Report of a WHO Study Group. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240022720> (accessed on 6 December 2021).
3. Tabuchi, T.; Gallus, S.; Shinozaki, T.; Nakaya, T.; Kunugita, N.; Colwell, B. Heat-not-burn tobacco product use in Japan: Its prevalence, predictors and perceived symptoms from exposure to secondhand heat-not-burn tobacco aerosol. *Tob. Control* **2018**, *27*, e25–e33. [CrossRef] [PubMed]
4. 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**, *30*, 474–475. [CrossRef] [PubMed]
5. National Institute of Health and Nutrition. The National Health and Nutrition. Available online: https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_14156.html (accessed on 6 December 2021).
6. World Health Organization. WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2021: Addressing New and Emerging Products. 27 July 2021. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240032095> (accessed on 31 December 2021).
7. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Handbook of Cancer Prevention vol.14. 2011. Available online: <https://handbooks.iarc.fr> (accessed on 31 December 2021).
8. Ministry of Health. Outline of the Act on the Partial Revision of the Health Promotion Act (No.78 of 2108). Available online: <https://www.mhlw.go.jp/english/policy/health-medical/health/dl/201904kenko.pdf> (accessed on 6 December 2021).
9. Sansone, G.; Fong, G.T.; Meng, G.; Craig, L.V.; Xu, S.S.; Quah, A.C.K.; Ouimet, J.; Mochizuki, Y.; Yoshimi, I.; Tabuchi, T. Secondhand Smoke Exposure in Public Places and Support for Smoke-Free Laws in Japan: Findings from the 2018 ITC Japan Survey. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 979–988. [CrossRef] [PubMed]
10. Bekki, K.; Inaba, Y.; Uchiyama, S.; Kunugita, N. Comparison of Chemicals in Mainstream Smoke in Heat-not-burn Tobacco and Combustion Cigarettes. *J. UOEH* **2017**, *39*, 201–207. [CrossRef]
11. Torres, S.; Merino, C.; Paton, B.; Correig, X.; Ramirez, N. Biomarkers of Exposure to Secondhand and Thirdhand Tobacco Smoke: Recent Advances and Future Perspectives. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 2693–2718. [CrossRef]
12. Levine, H.; Berman, T.; Goldsmith, R.; Gönen, T.; Spungen, J.; Novack, L.; Amitai, Y.; Shohat, T.; Grotto, I. Exposure to tobacco smoke based on urinary cotinine levels among Israeli smoking and nonsmoking adults: A cross-sectional analysis of the first Israeli human biomonitoring study. *BMC Public Health* **2013**, *13*, 1241–1249. [CrossRef]
13. Benowitz, N.L. Biomarkers of environmental tobacco exposure. *Environ. Health Perspect.* **1999**, *107*, 349–355.
14. Schick, S.F.; Blount, B.C.; Jacob, P., 3rd; Saliba, N.A.; Bernert, J.T.; Hellani, A.E.; Jatlow, P.; Pappas, R.S.; Wang, L.; Foulds, J.; et al. Biomarkers of exposure to new and emerging tobacco delivery products. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **2017**, *313*, L425–L452. [CrossRef]
15. Wang, Y.; Yang, M.; Huang, Z.; Tian, L.; Niu, L.; Xiao, S. Urinary cotinine concentrations in preschool children showed positive associations with smoking fathers. *Acta Paediatr.* **2017**, *106*, 67–73. [CrossRef]
16. De Jesús, V.R.; Bhandari, D.; Zhang, L.; Reese, C.; Capella, K.; Tevis, D.; Zhu, W.; Del Valle-Pinero, A.Y.; Lagaud, G.; Chang, J.T.; et al. Urinary Biomarkers of Exposure to Volatile Organic Compounds from the Population Assessment of Tobacco and Health Study Wave 1 (2013–2014). *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 5408. [CrossRef]
17. Park, M.-B. Living with parents who smoke predicts levels of toxicant exposure in children. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11173. [CrossRef] [PubMed]
18. Jeong, S.H.; Na Jang, B.; Kang, S.H.; Joo, J.H.; Park, E.-C. Association between parents’ smoking status and tobacco exposure in school-age children: Assessment using major urine biomarkers. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 4536. [CrossRef] [PubMed]
19. Yang, J.; Hashemi, S.; Han, W.; Song, Y.; Lim, Y. Exposure and Risk Assessment of Second- and Third-Hand Tobacco Smoke Using Urinary Cotinine Levels in South Korea. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 3746. [CrossRef] [PubMed]
20. Cohen, J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, 2nd ed.; Lawrence Erlbaum Associates: Hillsdale, NJ, USA, 1988.
21. Feng, J.; Sosnoff, C.S.; Bernert, J.T.; Blount, B.C.; Li, Y.; Del Valle-Pinero, A.Y.; Kimmel, H.L.; van Bommel, D.M.; Rutt, S.M.; Crespo-Barreto, J.; et al. Urinary Nicotine Metabolites and Self-Reported Tobacco Use Among Adults in the Population Assessment of Tobacco and Health (PATH) Study, 2013–2014. *Nicotine Tob. Res.* **2022**, *24*, 768–777. [CrossRef]
22. Benowitz, N.L.; Jacob, P.; Fong, I.; Gupta, S. Nicotine metabolic profile in man: Comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *68*, 296–303.

23. Tutka, P.; Mosiewicz, J.; Wielosz, M. Pharmacokinetics and metabolism of nicotine. *Pharmacol. Rep.* **2005**, *57*, 143–153.
24. Benowitz, N.L.; Hukkanen, J.; Jacob, P., III. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2009**, *192*, 29–60. [[CrossRef](#)]
25. Hukkanen, J.; Jacob, P., III; Benowitz, N.L. Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 79–115. [[CrossRef](#)]
26. Miller, E.I.; Norris, H.K.; Rollins, D.E.; Tiffany, S.T.; Wilkins, D.G. A novel validated procedure for the determination of nicotine, eight nicotine metabolites and two minor tobacco alkaloids in human plasma or urine by solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2010**, *878*, 725–737. [[CrossRef](#)]
27. Benowitz, N.L.; Helen, G.S.; Nardone, N.; Cox, L.S.; Jacob, P. Urine Metabolites for Estimating Daily Intake of Nicotine From Cigarette Smoking. *Nicotine Tob. Res.* **2020**, *22*, 288–292. [[CrossRef](#)]
28. Imura, Y.; Tabuchi, T. Exposure to Secondhand Heated-Tobacco-Product Aerosol May Cause Similar Incidence of Asthma Attack and Chest Pain to Secondhand Cigarette Exposure: The JASTIS 2019 Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 1766. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Gravely, S.; Fong, G.T.; Sutanto, E.; Loewen, R.; Ouimet, J.; Xu, S.S.; Quah, A.C.K.; Thompson, M.E.; Boudreau, C.; Li, G.; et al. Perceptions of harmfulness of heated tobacco products compared to combustible cigarettes among adult smokers in Japan: Findings from the 2018 ITC Japan survey. *J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 2394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Ohmomo, H.; Harada, S.; Komaki, S.; Ono, K.; Sutoh, Y.; Otomo, R.; Umekage, S.; Hachiya, T.; Katanoda, K.; Takebayashi, T.; et al. DNA methylation abnormalities and altered whole transcriptome profiles after switching from combustible tobacco smoking to heated tobacco products. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2021**, *25*, 207–211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. 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.* **2018**, *31*, 585–593. [[CrossRef](#)]
32. Simonavicius, E.; McNeill, A.; Shahab, L.; Brose, L.S. Heat-not-burn tobacco products: A systematic literature review. *Tob. Control* **2018**, *28*, 582–594. [[CrossRef](#)]
33. St Helen, G.; Jacob Iii, P.; Nardone, N.; Benowitz, N.L. IQOS: Examination of Philip Morris International’s claim of reduced exposure. *Tob. Control* **2018**, *27*, s30–s36. [[CrossRef](#)]
34. Suyama, K.; Kozu, R.; Tanaka, T.; Ishimatsu, Y.; Sawai, T. Exposure to environmental tobacco smoke from husband more strongly impacts on the airway obstruction of nonsmoking women. *Int. J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* **2017**, *13*, 149–155. [[CrossRef](#)]
35. Parro, J.; Aceituno, P.; Droppelmann, A.; Mesías, S.; Muñoz, C.; Marchetti, N.; Iglesias, V. Secondhand tobacco smoke exposure and pulmonary function: A cross-sectional study among non-smoking employees of bar and restaurants in Santiago, Chile. *BMJ Open* **2018**, *7*, e017811. [[CrossRef](#)]
36. Igarashi, A.; Aida, J.; Kusama, T.; Tabuchi, T.; Tsuboya, T.; Sugiyama, K.; Yamamoto, T.; Osaka, K. Heated tobacco products have reached younger or more affluent people in Japan. *J. Epidemiol.* **2021**, *31*, 187–193. [[CrossRef](#)]
37. Johansson, A.; Halling, A.; Hermansson, G.; Ludvigsson, A.J. Assessment of smoking behaviors in the home and their influence on children’s passive smoking: Development of a questionnaire. *Ann. Epidemiol.* **2005**, *15*, 453–459. [[CrossRef](#)]
38. Wang, L.; Bernert, J.T.; Benowitz, N.L.; Feng, J.; Jacob, P., III; McGahee, E.; Caudill, S.P.; Scherer, G.; Scherer, M.; Pluym, N.; et al. Collaborative Method Performance Study of the Measurement of Nicotine, its Metabolites, and Total Nicotine Equivalents in Human Urine. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2018**, *27*, 1083–1090. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Vandenvbroucke, J.P.; von Elm, E.; Altman, D.G.; Gotzsche, P.C.; Mulrow, C.D.; Pocock, S.J.; Pool, C.; Schlesselman, J.; Egger, M. STROBE Initiative. *Epidemiology* **2007**, *18*, 805–835.

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 国立大学法人熊本大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 小川 久雄

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発

3. 研究者名 (所属部署・職名) 熊本大学大学院生命科学研究部・教授

(氏名・フリガナ) 大森久光・オオモリヒサミツ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	熊本大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項) 廃止前の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を準拠

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 国立大学法人 鹿児島大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 佐野 輝

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発 (20FA1004)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 呼吸器内科学分野 ・ 教授
(氏名・フリガナ) 井上 博雅 ・ イノウエ ヒロマサ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立大学法人 鹿児島大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 東北大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 大野 英男

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発

3. 研究者名 (所属部署・職名) 事業支援機構・教授

(氏名・フリガナ) 黒澤 一・クロサワ ハジメ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

研究準備段階のため

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (有の場合はその内容: 研究実施の際の留意点を示した)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 女子栄養大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 香川 明夫

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発 (20FA1004)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 栄養学部 ・ 教授
(氏名・フリガナ) 緒方 裕光 ・ オガタ ヒロミツ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立大学法人熊本大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 産業医科大学

所属研究機関長 職 名 学 長

氏 名 尾辻 豊

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発 (20FA1004)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 産業保健学部・産業・地域看護学講座・教授
(氏名・フリガナ) 櫻田 尚樹・クヌギタ ナオキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 曾根 智史

次の職員の令和3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこの健康影響評価のためのバイオマーカーを用いた評価手法の開発

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生活環境研究部・上席主任研究官

(氏名・フリガナ) 稲葉 洋平・イナバ ヨウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立保健医療科学院	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。