

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 2～4 (2020～2022) 年度 総合研究報告書

研究代表者 大森 久光

令和 5 (2023) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	
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	
研究代表者 大森 久光	----- 1
日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカーの分析による健康影響評価	
研究分担者 稲葉 洋平	----- 15
研究代表者 大森 久光	
受動喫煙の健康リスクに関するメタ・アナリシス	
研究分担者 緒方裕光	----- 28
研究代表者 大森 久光	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 51

厚生労働科学研究費（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

総合研究報告書

研究代表者 大森久光 熊本大学大学院生命科学研究部 生体情報解析学講座 教授

研究要旨

本研究は、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た。

第1の目的は、加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態を明らかにすることである。

41 家族、129 名を対象として、父親の加熱式たばこ使用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（Total Nicotine metabolites : TNM）およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物（4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1- butanol (NNAL)）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、加熱式たばこ喫煙者の方が、「家族と一緒に使用し、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。NNAL についても同様の結果を得た。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、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。

尿中ニコチン代謝物の成果は、*International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022, 19, 6275. に掲載された。

第2の目的は、加熱式たばこ使用者・受動喫煙者の健康影響を評価することである。

加熱式たばこ使用者およびその受動喫煙を受けている者の TNM、NNAL、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカー（DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー）の分析による健康影響評価を行なった。その結果、紙巻たばこと比較して低減されることは確認されなかった。「加熱式たばこは受動喫煙を生じさせない」と使用者が考え、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。

酸化ストレスマーカーについては、使用者群のサンプル数が少ないために非喫煙者との分析値に違いが認められなかった。受動喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析結果より、受動喫煙のバイオマーカーとなる可能性のある成分は、2-HPMA と Xylene の代謝物である 2-MHA と 3-MHA, 4-MHA の合算値などが考えられた。今後、サンプル数が1 増えることによってニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物以外のバイオマーカーとして活用の可能性が示唆された。喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析結果とニコチン代謝物量を比較すると喫煙者が紙巻たばこまたは加熱式たばこを使用しているのかが判定できる可能性が示唆された。

さらに、加熱式たばこの健康影響評価として、呼吸機能、炎症などの臨床バイオマーカーの抽出・選定を導き出すことを目的としたが、解析数が限定的であったことより有意なバイオマーカーの選定にはいたらなかった。今後さらにサンプル数を増加し検討するとともに、曝露マーカーの分析に加えて、生体機能の変化を評価し疾患につながり得る幅広いバイオマーカーの分析が必要と考えられた。

本研究では、受動喫煙のリスクに関する研究をメタ・アナリシスの手法を用いて、解析、定量的に統合すること、リスクの高い疾患を明確にすることを目的とした。その結果、受動喫煙と脳卒中、精神疾患、睡眠障害、肺がん、乳がん、COPDには正の関連が認められた。疾病の罹患の危険因子は受動喫煙のみではなく、その他の危険因子の影響も複雑に絡み合っていることを考慮し、受動喫煙対策に取り組む必要があると考えられた。受動喫煙と疾病罹患の用量反応関係を明らかにするのに十分な数の研究が行われておらず、加熱式たばこによる受動喫煙について今後さらなる研究が望まれる。

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。

研究分担者	所属機関名	職名	
大森久光	熊本大学	教授	し、可能な限り早期に結論を得よう附帯決議がなされた。
井上博雅	鹿児島大学	教授	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。
黒澤 一	東北大学	教授	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。
緒方裕光	女子栄養大学	教授	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
樺田尚樹	産業医科大学	教授	
稲葉洋平	国立保健医療科学院	主席 研究員	
研究協力者	所属機関名	職名	
尾上あゆみ	熊本大学	研究員	
町田健太郎	鹿児島大学	講師	
寒川卓哉	医療法人青仁会池田病院	総括診療部長	

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

なく明らかでない。

そこで本研究では、加熱式たばこ使用者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、使用者・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った。

本研究の第1の目的は、加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態を明らかにすることである。そのために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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価
- ・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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

第2の目的は、加熱式たばこ使用者・その受動喫煙者の健康影響を評価することを目的とした。そのために以下の検討を行った。

- ・日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物（4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカー（DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー）の分析による健康影響評価
- 詳細に関しては、総合分担研究報告（国立保健医療科学院 稲葉洋平）を参照。

さらに、受動喫煙によるリスクの高い疾

患を明確にすることを目的として、メタ・アナリシスを行った。

詳細に関しては、総合分担研究報告（女子栄養大学 緒方裕光）を参照。

B. 研究方法

1. 加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態調査（大森班員、井上班員、黒澤班員、緒方班員、樺田班員、稲葉班員、尾上協力員、町田協力員、寒川協力員）

- 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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価
- 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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

1-1 研究対象者

本研究では、下記の研究①から③の3つの研究から、④曝露マーカーによる評価方法の開発および⑤呼吸機能、炎症などの臨床バイオマーカーの抽出・選定を導き出すことを目的とした。

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た。

熊本では熊本産業看護研究会等の協力を得て実施した。リクルートした対象者はすべて日本人であった。

第1の目的を達成するため、3つの研究を通してリクルートした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およびタバコ特異的ニトロソアミン代謝物との関連について検討した。

対象家族の内訳は、紙巻タバコ喫煙者(9家族)の非喫煙配偶者(9名)および子供(18名)(合計:27名)、加熱式タバコ使用者(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。

本検討では紙巻タバコおよび加熱式タバコの併用者は除外した。

1-2 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以上が必要と設定した。

紙巻タバコ受動喫煙家族が27名、加熱式タバコ受動喫煙家族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。

1-3 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、紙巻タバコ、加熱式タバコ、紙巻と加熱式タバコの併用に関する使用状況(喫煙本数、タバコ銘柄、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。

1-4 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) 喫煙ご主人に対して：
「あなたは子供の前で吸いますか？」
- 3) 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？」
- 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。

1-5 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、分担総合研究報告（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

2, 日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物 (4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカー (DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー) の分析による健康影響評価 (大森班員、井上班員、黒澤班員、緒方班員、樺田班員、稲葉班員、尾上協力員、町田協力員、寒川協力員)

2-1 研究対象者

同様に3つの研究を通してリクルートした。対象者はすべて日本人であった。

1) 喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL 酸化ストレスの分析

喫煙者 68 名の尿中ニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった。喫煙者の内訳は、加熱式たばこ使用者 27 名、紙巻たばこ喫煙者 21 名、併用者 20 名、非喫煙者 37 名であった。

2) 喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

喫煙者 68 名、非喫煙者 37 名の尿試料について、VOC 代謝物の分析を行った。喫煙者の内訳は、加熱式たばこ使用者 27 名、紙巻たばこ喫煙者 21 名、併用者 20 名であった。

3) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

受動喫煙者 114 名の尿中ニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった。しかし、喫煙者に近い分析結果となった参加者（加熱式たばこ受動喫煙者 2 名、併用者の受動喫煙者 1 名、紙巻たばこ受動喫煙者 1 名）のデータは除外して評価を行った。受動喫煙者の内訳は、加熱式たばこ受動喫煙者 37 名、紙巻たばこ受動喫煙者 36 名、併用者の受動喫煙者 37 名であった。

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. 受動喫煙の健康リスクに関するメタ・アナリシス

詳細に関しては、総合分担研究報告（女子栄養大学 緒方裕光）を参照。

C. 結果

1. 加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態調査

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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価

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

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。

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。（図1）

加熱式たばこ使用者の非喫煙家族の尿中たばこ特異的ニトロソアミン類（NNAL）の値は、TNMと同様に、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2）

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およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

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）

3) 加熱式たばこの種類別の受動喫煙状況（図3）

IQOS、PloomTECH、glo使用の場合の非喫煙家族の尿中総ニコチン代謝物は、3

群で有意な差を認めなかったが、PloomTECH 使用時に高い傾向を示した。サンプル数を増加しての調査が必要と考えられた。

2. 日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物 (NNAL)、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカー (DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー) の分析による健康影響評価

1) 喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL、酸化ストレスの分析

総ニコチン代謝物量 (コチニンと 3-ヒドロキシコチニンの合算値) (ng/mg creatinine) の範囲より、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。

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。

酸化ストレスマーカーについては喫煙者群のサンプル数が少ないために非喫煙者との分析値に違いが認められなかった。

2) 喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

VOC 代謝物の分析結果を成分に着目すると、紙巻たばこ喫煙者が加熱式たばこ使用者と比較して分析値が高い成分は 3-HPMA、CYMA、2-HPMA、AMCC などが確認された。特に CYMA は紙巻たばこ喫煙者 50.7 ng/mg creatinine に対して加熱式たばこ使用者が 1.81 であった。この分析結果とニコチン代謝物量を比較すると喫煙

者が紙巻たばこまたは加熱式たばこを使用しているのかが判定できる可能性がある。

次に加熱式たばこ喫煙者と非喫煙者の VOC 代謝物量を比較すると加熱式たばこ喫煙者は AAMA, AMCC, 2-HPMA, DHBMA と HPMMA 値が非喫煙者よりも高い結果となっていた。

3) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

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は 40% ほどしか低減されないことがわかった。

4) 受動喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

非喫煙者と受動喫煙者尿中 VOC 濃度は、喫煙者のデータとは違い、全般的に低い値であった

3. 受動喫煙の健康リスクに関するメタ・アナリシス

受動喫煙と脳卒中、精神疾患、睡眠障害、肺がん、乳がん、COPD には正の関連が認められた。

詳細に関しては、総合分担研究報告 (女子栄養大学 緒方裕光) を参照。

D. 考察

本研究の最終目的は、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、加熱式たばこ使用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「受動喫煙有り」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。このことは、「加熱式たばこが紙巻たばこに比べて、受動喫煙を生じさせない、より安全と使用者が考え、非喫煙者である家族の前で使用している可能性があるものと考えられた。加熱式たばこ使用者に対して、得られたエビデンスに基づく啓発が重要と考えられた。

喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL、酸化ストレスの分析結果より、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。

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。酸化ストレスマーカーについては喫煙者群のサンプル数が少ないために非喫煙者との分析値に違いが認められなかった。

喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析結果とニコチン代謝物量を比較すると喫煙者が紙巻たばこまたは加熱式たばこを使用しているのかが判定できる可能性が示唆された。

受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析の結果より、現段階で、加熱式たばこが紙巻たばこよりも健康影響が低いとまで言及することが困難であることが分かった。

受動喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析結果より、受動喫煙のバイオマーカーとなる可能性のある成分は、2-HPMA と Xylene の

代謝物である 2-MHA と 3-MHA、4-MHA の合算値などが考えられた。

今後、サンプル数が増えることによってニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物以外のバイオマーカーとして活用の可能性が示唆された。

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。

受動喫煙の健康リスクに関するメタ・アナリシスの結果、受動喫煙と脳卒中、精神疾患、睡眠障害、肺がん、乳がん、COPD には正の関連が認められた。

疾病の罹患の危険因子は受動喫煙のみではなく、その他の危険因子の影響も複雑に絡み合っていることを考慮し、受動喫煙対策に取り組む必要があると考えられた。

受動喫煙と疾病罹患の用量反応関係を明らかにするのに十分な数の研究が行われておらず、加熱式たばこによる受動喫煙について今後さらなる研究が必要であると考えられた。

本研究の **Limitation** として、一つは対象サンプル数が少ないことがあげられる。また、新型コロナウイルスのパンデミックの飲食店への影響により、研究②の飲食店従業員のリクルートが十分に行えず、本研究では飲食店従業員の単独の分析はできなかった。

しかし、研究①から③の全体を通じた分析をおこない上記の結果を得た。

現在、多種類の加熱式たばこが発売されており、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

める必要があるものと考えられた。

さらに、加熱式たばこの健康影響評価として、呼吸機能、炎症などの臨床バイオマーカーの抽出・選定を導き出すことを目的としたが、解析数が限定的であったことより有意なバイオマーカーの選定にはいたらなかった。今後さらにサンプル数を増加し検討するとともに、曝露マーカーの分析に加えて、生体機能の変化を評価し疾患につながり得る幅広いバイオマーカーの分析が必要と考えられた。

対象サンプル数が少ないことは課題ではあるが、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。

E. 結語

本研究では、曝露マーカーを測定し、家族における加熱式たばこ使用による曝露の実態を明らかにした。

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科学的根拠の一部になると考えられる**。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**。

さらに健康影響の評価のためには、開発した曝露マーカーの分析に加えて、生体機能の変化を評価する必要がある。本研究を進展させることで、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.
- 2) 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. 加熱式たばこ喫煙者と受動喫煙者の尿中バイオマーカーの分析. 第93回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S185.

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

夫が加熱式たばこ使用の配偶者および子供の尿中総ニコチン代謝物（Total Nicotine Metabolite：TNM）は、夫が非喫煙者の配偶者および子供に比べて有意に高値を示した。加熱式たばこ使用による受動喫煙が明らかになった。

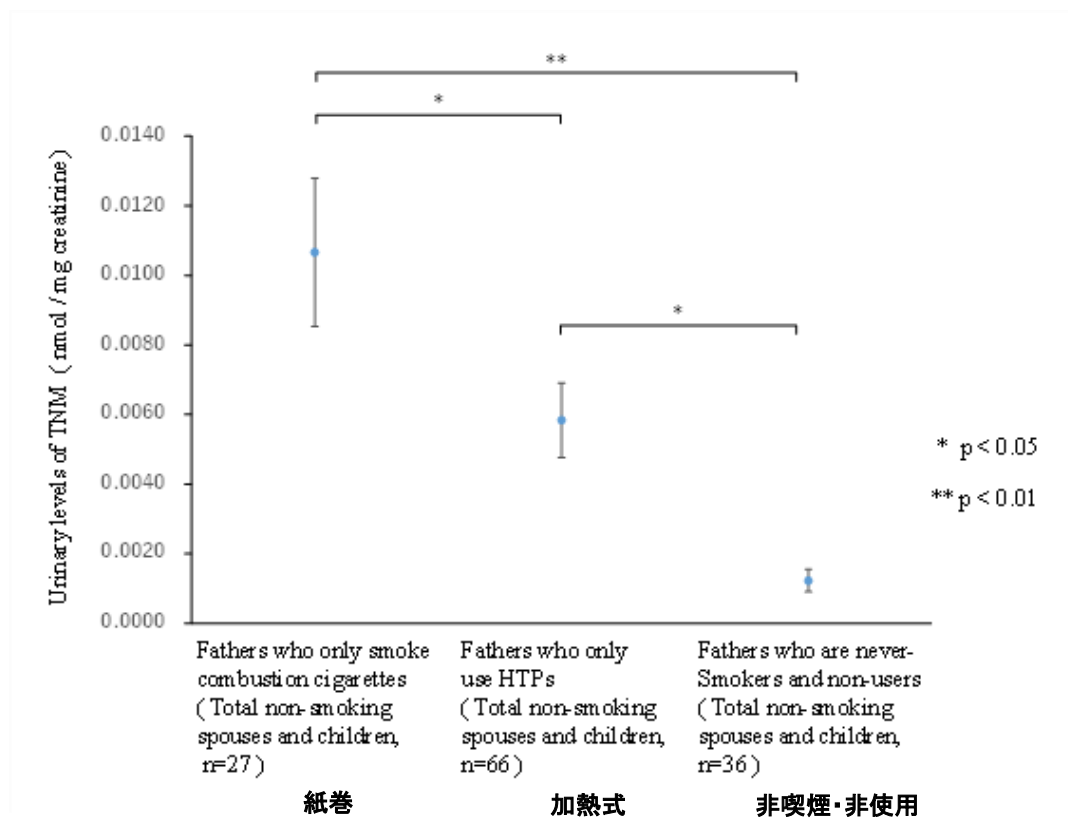


図2. 紙巻たばこ、加熱式たばこ、非喫煙家族の尿中 NNAL 値の比較
 NNAL : 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone.

尿中たばこ特異的ニトロソアミン類 (NNAL) 値も同様に高値を示した。

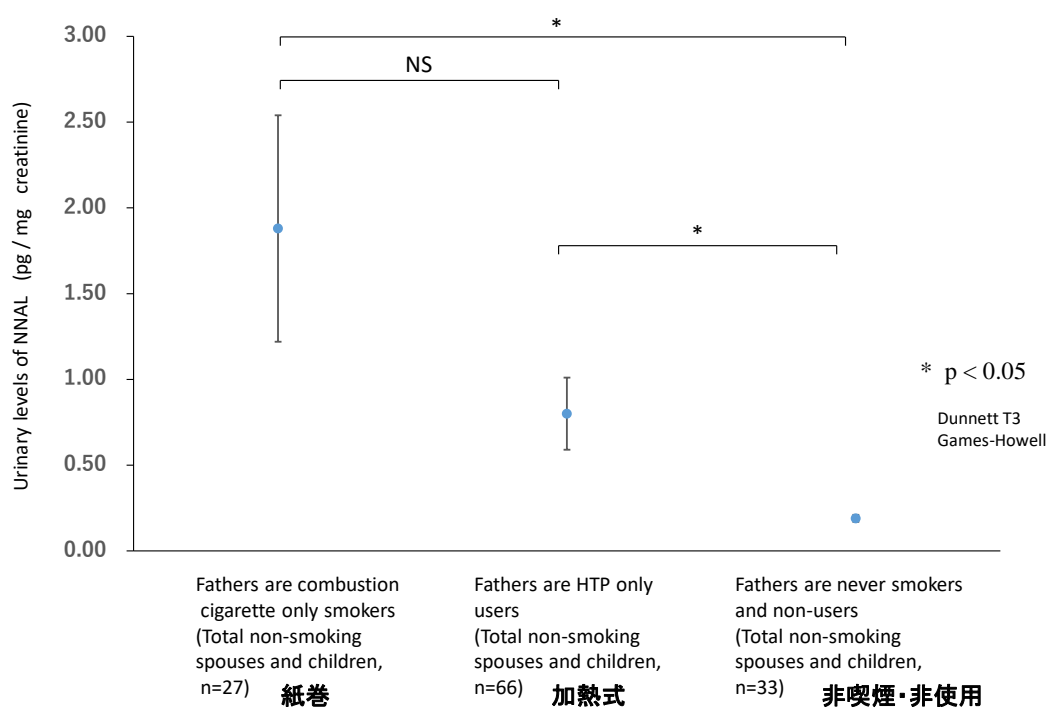
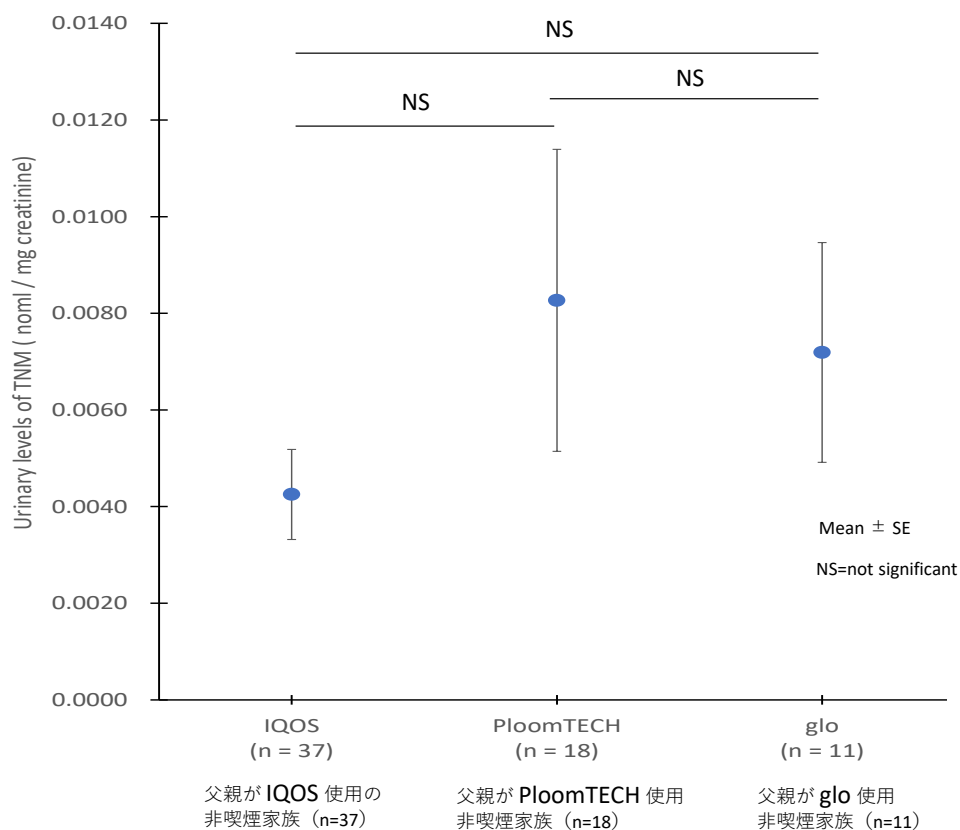


図3. 加熱式たばこ（HTPs）の種類別の受動喫煙状況

父親が IQOS のみ使用、PloomTECH のみ使用、glo のみ使用の場合の非喫煙家族（配偶者、子供）の尿中総ニコチン代謝物（total Nicotine Metabolite: TNM）

対象者は、大森班の以下の論文（尾上、他）の父親が加熱式たばこ使用の場合の非喫煙家族（配偶者、子供）全体 66 名。

IQOS、PloomTECH、glo 使用の場合の非喫煙家族の尿中総ニコチン代謝物は、3 群で有意な差を認めなかったが、PloomTECH 使用時に高い傾向を示した。サンプル数を増加しての調査が必要と考えられた。



令和 2～4 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)
総合分担研究報告書

日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物、
揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカーの分析による健康影響評価

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

研究要旨

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。分析対象成分は、ニコチン代謝物（コチニン、3-ヒドロキシコチニン）、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）、揮発性有機化合物代謝物（17 成分）と酸化ストレスマーカー（8-OHdG、8-isoprostane）の分析を行なった。

喫煙者のニコチン曝露量の中央値は、加熱式たばこ喫煙者が 9810、紙巻たばこ喫煙者が 8390、併用者が 9923 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かった。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 17.7、紙巻たばこ喫煙者が 38.2、併用者が 35.1 であった。VOC 代謝物の分析結果から、紙巻たばこ喫煙者が加熱式たばこ喫煙者と比較して分析値が高い成分は 3-HPMA, CYMA, 2-HPMA, AMCC などが確認された。特に CYMA は紙巻たばこ喫煙者 50.7 ng/mg creatinine に対して加熱式たばこ喫煙者が 1.81 であった。燃焼によって発生する揮発性有機化合物に関しては加熱式たばこ喫煙者の曝露量が低い結果となった。

受動喫煙者の分析結果は、加熱式たばこ受動喫煙者が 39 名、紙巻たばこ受動喫煙者が 37 名そして併用者の受動喫煙者が 38 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 2.65、紙巻たばこ受動喫煙者が 4.33、併用者の受動喫煙者が 3.72 であった。ニコチン代謝物に関しては、加熱式たばこと加熱式たばこの受動喫煙曝露量を比較すると曝露量が 40%ほど低減されていた。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 1.10、紙巻たばこ受動喫煙者が 1.14、併用者の受動喫煙者が 1.02 であった。受動喫煙者の分析結果は、加熱式たばこと紙巻たばこ受動喫煙者の曝露量には大きな差は認められなかった。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。

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）の付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揮発性有機化合物（Volatile Organic Compound:VOC）のホルムアルデヒド、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

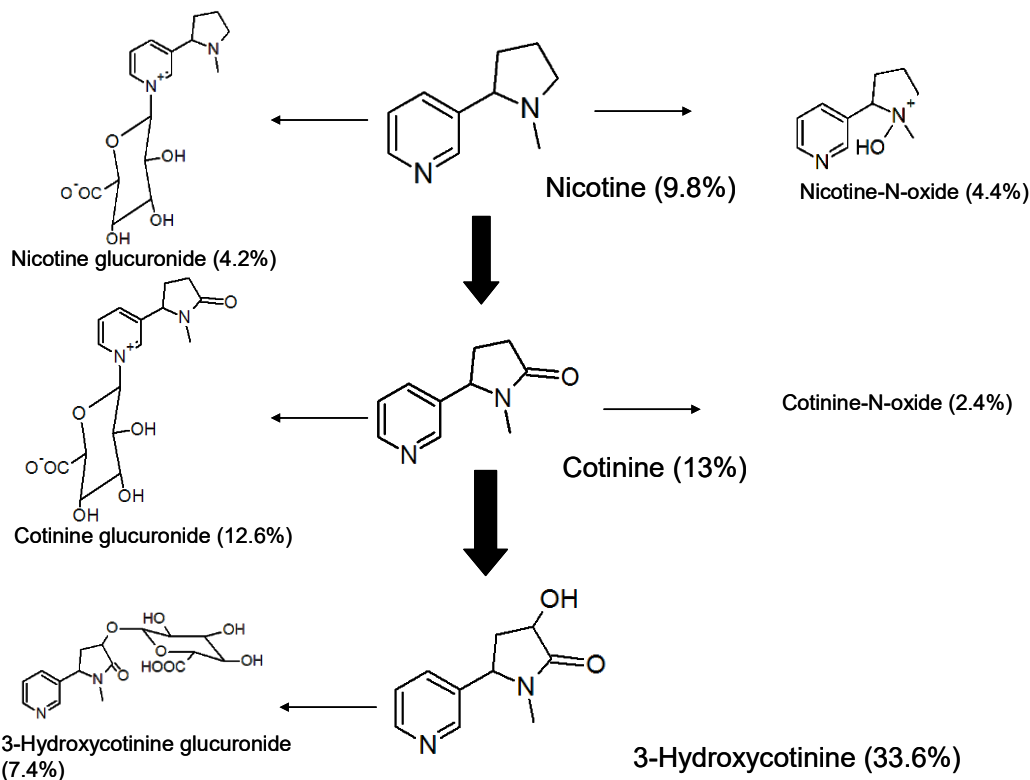


Fig.1 Quantitative scheme of nicotine metabolism, based on estimates of average excretion of metabolites as percent of total urinary nicotine [3].

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、加熱式たばこのエアロゾルの有害化学物質の成分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[4]。

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。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。3カ年で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)、ニコチン代謝物、VOC 代謝物と酸化ストレスマーカー (DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー) 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、くえん酸緩衝液及び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、2pg/mL (LC/MS/MS) であり、尿試料では 0.08 pg/mL であった。

(5) 尿中 VOC 代謝物の分析

揮発性有機化合物 (VOC) 代謝物は、Table 1 に示す 17 成分を分析対象とした。尿中 VOC 代謝物の固相抽出には、MonoSpin®C18-CX (GL サイエンス社製) を用いた。VOC 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 ; Qtrap5500, SCIEX 社製) を使用した。LC 条件は Alwis らの方法[5]を採用した。なお、LC/MS/MS の検量線範囲は Table 2 に示した。

(6) 酸化ストレスマーカーの分析

酸化ストレスマーカーは DNA 損傷体である 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine と脂質のマーカーである 8-isoprostane を分析対象成分とした。分析法は、過去の先行研究論文を

もとに実施した[INABA]

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、NNAL 酸化ストレスの分析

日本人喫煙者 68 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 3)。喫煙者の内訳は、加熱式たばこ喫煙者が 27 名、紙巻たばこ喫煙者が 21 名そして併用者が 20 名、非喫煙者が 37 名であった。総ニコチン代謝物量(コチニンと 3-ハイドロキシコチニンの合算値) (ng/mg creatinine) の範囲は、加熱式たばこ喫煙者が 99.4 から 32821、紙巻たばこ喫煙者が 58.9 から 40100、併用者が 386 から 41474 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 8390、加熱式たばこ喫煙者が 9810 そして併用者が 9923 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 1.28 から 100、紙巻たばこ喫煙者が 4.04 から 267、併用者が 6.01 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 17.7そして併用者が 35.1 であった。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 TSNA 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。酸化ストレスマーカー

一については喫煙者群のサンプル数が少ないために非喫煙者との分析値に違いが認められなかった。

(2) 喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

日本人喫煙者 68 名、非喫煙者 37 名の尿試料について、VOC 代謝物の分析を行った (Table 4)。喫煙者の内訳は、加熱式たばこ喫煙者が 27 名、紙巻たばこ喫煙者が 21 名そして併用者が 20 名であった。VOC 代謝物の分析結果を成分に着目すると、紙巻たばこ喫煙者が加熱式たばこ喫煙者と比較して分析値が高い成分は 3-HPMA、CYMA、2-HPMA、AMCC などが確認された。特に CYMA は紙巻たばこ喫煙者 50.7 ng/mg creatinine に対して加熱式たばこ喫煙者が 1.81 であった。この分析結果とニコチン代謝物量を比較すると喫煙者が紙巻たばこまたは加熱式たばこを使用しているのかが判定できる可能性がある。次に加熱式たばこ喫煙者と非喫煙者の VOC 代謝物量を比較すると加熱式たばこ喫煙者は AAMA、AMCC、2-HPMA、DHBMA と HPMMA 値が非喫煙者よりも高い結果となっていた。

(3) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

日本人受動喫煙者 114 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 5)。しかし、喫煙者に近い分析結果となった参加者 (加熱式たばこ受動喫煙者 2 名、併用者の受動喫煙者 1 名、紙巻たばこ受動喫煙者 1 名) のデータは除外して評価を行った。受動喫煙者の内訳は、加熱式たばこ受動喫煙者が 37 名、紙巻たばこ受動喫煙者が 36 名そして併用者の受動喫煙者

が 37 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 0.50 から 14.6、紙巻たばこ受動喫煙者が 0.96 から 37.7、併用者の受動喫煙者が 1.28 から 16.4 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 4.33、加熱式たばこ受動喫煙者が 2.65 そして併用者の受動喫煙者が 3.72 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は 40%ほど歯科提言されないことが分かった。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 0.22 から 23.7、紙巻たばこ受動喫煙者が 0.34 から 28.5、併用者の受動喫煙者が 0.39 から 29.1 であった。NNAL に関して、中央値を比較すると紙巻たばこ受動喫煙者が 1.14、加熱式たばこ受動喫煙者が 1.10 そして併用者の受動喫煙者が 1.02 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、加熱式たばこ受動喫煙者の曝露量は、紙巻たばこと比較しても差が認められない。よって現段階で、加熱式たばこが紙巻たばこよりも健康影響が低いとまで言及することが困難であることが分かった。

(4) 受動喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

非喫煙者と喫煙者尿中 VOC 濃度は、喫煙者のデータとは違い、全般的に低い値であった (Table 6)。

受動喫煙のバイオマーカーとなる可能性のある成分は、2-HPMA と Xylene の代謝物である 2-MHA と 3-MHA、4-MHA の合算値

などが考えられた。しかしながら受動喫煙者のバイオマーカーを VOC 代謝物で評価するためには、サンプル数が少ないことが課題としてあげられた。

最終年度は、たばこ特異的なバイオマーカーではなく、燃焼によって発生する揮発性有機化合物 (VOC) の代謝物を分析対象として評価を行った。VOC は家庭用品、家屋の床材、壁紙からも放散する成分のため非喫煙者からも検出された。今後、サンプル数が増えることによってニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物以外のバイオマーカーとして活用の可能性が示唆された。

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。本研究の対象サンプル数が少ないことは課題ではあるが、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 (紙巻たばこと加熱式たばこ) 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、加熱式たばこと紙

巻たばこ受動喫煙者の曝露量には大きな差は認められなかった。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.
- [4] 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 Jul 16;31(7):585-593.
- [5] Alwis KU, Blount BC, Britt AS, Patel D, Ashley DL. Simultaneous analysis of 28 urinary VOC metabolites using ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry (UPLC-ESI/MSMS). Anal Chim Acta. 2012 Oct 31;750:152-60.

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.

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. 加熱式たばこ喫煙者と受動喫煙者の尿中バイオマーカーの分析. 第93回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S185.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 分析対象の揮発性有機化合物代謝物と曝露化合物

曝露化合物	略称	代謝物名称
Acrolein	3-HPMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(3-hydroxypropyl)cysteine,Dicyclohexylammonium
Acrolein	CEMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(2-carboxyethyl)-L-cysteine Bis(dicyclohexylamine) Salt
Crotonaldehyde	CMEMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(3-carboxy-2-propyl)-L-cysteine disodium Salt
Crotonaldehyde	HPMMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(3-hydroxypropyl-1-methyl)-L-cysteine
Acrylamide	AAMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(cabamoylethyl)-L-cysteine
<i>N,N</i> -Dimethylformamide	AMCC	<i>N</i> -Acetyl-S-(<i>N</i> -methylcarbamoyl)-L-cysteine
Acrylonitrille	CYMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(2-cyanoethyl)-L-cysteine Ammonium Salt
Propylene oxide	2-HPMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(2-hydroxypropyl)cysteine Dicyclohexylammonium
1,3-Butadiene	DHBMA	<i>N</i> -Acetyl-S-(3,4-dihydroxybutyl)-L-cysteine (Mixture of Diastereomers)
1,3-Butadiene	MHBMA 1	<i>N</i> -Acetyl-S-(1-hydroxymethyl-2-propen-1-yl)-L-cysteine
1,3-Butadiene	MHBMA 2	<i>N</i> -Acetyl-S-(2-hydroxy-3-buten-1-yl)-L-cysteine (Mixture)
1,3-Butadiene	MHBMA3	<i>N</i> -Acetyl-S-(2-hydroxy-2-buten-1-yl)-L-cysteine
Ethylbenzen,Styrene	PGA	Phenylglyoxylic Acid (Benzoylfomic Acid)
Xylene	2MHA	2-Methylhippuric acid
Xylene	3MHA	3-Methylhippuric acid
Xylene	4MHA	4-Methylhippuric acid
Benzene	PMA	S-Phenylmercapturic Acid
Toluene	SBMA	<i>N</i> -Acetyl-S-benzyl-L-cysteine

Table 2 揮発性有機化合物代謝物の内部標準物質と検量線範囲

曝露物質	代謝物	内部標準	検量線濃度範囲 (ng/mL)
Acrolein	3-HPMA	3HPMA-d3	1-200
Acrolein	CEMA	CEMA-d3	1-200
Crotonaldehyde	CMEMA	CMEMA-d3	1-200
Crotonaldehyde	HPMMA	HPMMA-d3	1-200
Acrylamide	AAMA	AAMA-d3	1-200
<i>N,N</i> -Dimethylformamide	AMCC	AMCC-d3	1-200
Acrylonitrile	CYMA	CYMA-d3	0.05-100
Propylene oxide	2-HPMA	2HPMA-d3	1-200
1,3-Butadiene	DHBMA	DHBMA-d7	1-200
1,3-Butadiene	MHBMA 1	MHBMA-d6	0.1-100
1,3-Butadiene	MHBMA 2	MHBMA-d6	0.1-100
1,3-Butadiene	MHBMA3	MHBMA3-d3	0.1-100
Ethylbenzen,Styrene	PGA	PGA-d5	0.2-100
Xylene	2MHA	2MHA-d7	1-100
Xylene	3MHA	3MHA-d7	1-100
Xylene	4MHA	4MHA-d7	1-100
Benzene	PMA	PMA-d5	0.01-100
Toluene	SBMA	SBMA-d3	0.01-200

Table 3 日本人喫煙者の尿中バイオマーカー分析結果

Metabolites		Amounts			
		喫煙者			非喫煙者
		加熱式たばこ n=27	併用者 n=20	紙巻きたばこ n=21	n=37
Cotinine (ng/mg creatinine)	Median	2,934	3,182	2,989	0.58
	Min.	90.0	89.3	49.6	0.10
	Max.	17,559	10,004	7,094	30.8
3-hydroxycotinine (ng/mg creatinine)	Median	5,840	5,911	4,616	0.40
	Min.	9.40	34.7	9.29	0.09
	Max.	26,472	31,470	36,382	162
Total nicotine metabolites (ng/mg creatinine)	Median	9,810	9,923	8,390	0.97
	Min.	99.4	386	58.9	0.41
	Max.	32,821	41,474	40,100	193
NNAL (pg/mg creatinine)	Median	17.7	35.1	38.2	
	Min.	1.28	6.01	4.04	
	Max.	100	235	267	
8-OHdG (ng/mg creatinine)	Median	3.33	3.39	3.29	3.72
	Min.	1.47	0.75	0.73	1.05
	Max.	20.5	7.22	22.1	7.64
8-isoprostane (ng/mg creatinine)	Median	0.20	0.32	0.37	0.16
	Min.	0.10	0.03	0.08	0.07
	Max.	0.51	0.63	0.82	0.48
5-iPF2a (ng/mg creatinine)	Median	0.73	0.87	0.98	0.49
	Min.	0.17	0.01	0.22	0.21
	Max.	1.61	1.78	1.80	1.05

Table 4 日本人喫煙者のたばこ製品別の揮発性有機化合物代謝物分析結果

曝露化合物	Amounts (ng/mg creatinine)																				
	Acrolein		Crotonaldehyde		Acrylamide		N,N'-Dimethylformamide		Acrylonitrile		Propylene oxide		1,3-Butadiene			Ethylbenzene, Styrene		Xylene		Benzene	
代謝物名	CEMA	3-HPMA	CMEMA	HPMMA	AAMA	AMCC	CYMA	2-HPMA	DHBMA	MHBMA	MHBMA	MHBMA	MHBMA	MHBMA	MHBMA	PGA	2MHA	3MHA+4MHA	PMA	PMA	SBMA
加熱式たばこ (n=27)	130	516	1,356	360	45.6	240	1.81	21.1	466	0.57	0.24	6.71	108	20.5	15.2	<0	<0	<0	<0	1.77	
併用者 (n=20)	181	1,082	1,571	551	64.7	374	43.5	74.7	540	0.70	0.59	11.5	137	29.2	43.7	<0	<0	<0	<0	2.49	
紙巻たばこ n=21	275	1,138	1,771	677	61.7	412	50.7	60.7	577	0.54	1.35	9.05	143	25.0	35.1	<0	<0	<0	<0	2.10	
非喫煙者 (n=37)	142	320	1,174	187	26.5	119	0.94	12.8	363	0.11	0.08	5.39	102	15.5	7.11	<0	<0	<0	<0	2.67	

Table 5 日本人受動喫煙者の尿中バイオマーカー分析結果

Metabolites		Amounts			
		受動喫煙者			非喫煙者
		加熱式たばこ n=37	併用者 n=37	紙巻きたばこ n=36	n=37
Cotinine (ng/mg creatinine)	Median	1.27	2.37	2.13	0.58
	Min.	0.25	0.88	0.48	0.10
	Max.	12.7	11.1	16.0	30.8
3-hydroxycotinine (ng/mg creatinine)	Median	1.35	1.48	1.63	0.40
	Min.	0.17	n.d.	n.d.	0.09
	Max.	7.06	7.19	26.5	162
Total nicotine metabolites (ng/mg creatinine)	Median	2.65	3.72	4.33	0.97
	Min.	0.50	1.28	0.96	0.41
	Max.	14.6	16.4	37.7	193
NNAL (pg/mg creatinine)	Median	1.10	1.02	1.14	
	Min.	0.22	0.39	0.34	
	Max.	23.7	29.1	28.5	

Table 6 日本人受動喫煙者のたばこ製品別の揮発性有機化合物代謝物分析結果

曝露化合物	Amounts (ng/mg creatinine)															
	Acrolein	Crotonaldehyde	Acrylamide	N,N-Dimethylformamide	Styrene	Acrylonitrile	Propylene oxide	1,3-Butadiene	Ethylbenzene, Styrene	Xylene	Benzene	Toluene	CEMA	3-HPMA		
加熱たばこ 受動喫煙者 n=39	127	838	29.4	70.9	10,247	0.68	23.5	417	0.38	0.14	5.87	117	19.9	10.4	<0	2.33
併用者 受動喫煙者 n=38	114	949	20.3	91.6	10,487	1.14	94.1	344	0.33	0.07	3.59	126	28.6	16.6	<0	2.32
紙巻たばこ 受動喫煙者 n=37	118	968	24.1	96.0	11,720	1.21	88.1	413	0.79	0.13	4.63	141	32.3	14.5	<0	2.97
非喫煙者 n=37	142	1,174	26.5	119	8,675	0.94	12.8	363	0.11	0.08	5.39	102	15.5	7.11	<0	2.67

令和 2～4 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)
総合分担研究報告書

受動喫煙の健康リスクに関するメタ・アナリシス

研究分担者 緒方裕光 女子栄養大学
研究協力者 水村綾奈 女子栄養大学
研究協力者 市村麻美 女子栄養大学
研究代表者 大森久光 熊本大学

研究要旨

[目的]平成 30 年国民健康・栄養調査では、喫煙率の低下が報告された一方、受動喫煙率の減少はみられなかった。受動喫煙と脳卒中、精神疾患、睡眠障害、肺がん、乳がん、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の罹患との関連について、これまでに数多くの報告がなされているが、定量的に統合した報告は多くない。そこで本研究では、受動喫煙のリスクに関する研究をメタ・アナリシスの手法を用いて、解析、定量的に統合すること、リスクの高い疾患を明確にすることを目的とした。

[方法]「受動喫煙」「健康アウトカム」を示すキーワードを組み合わせて、Google Scholar から抽出した結果について、表題と抄録を精査し、本研究における採択基準(①原著論文、②1990 年～2020 年に発表、③対象者が受動喫煙に曝露している、あるいは曝露していた、④研究内容に受動喫煙に関する項目を含み、受動喫煙への曝露がない者のオッズ比が 1.0、⑤研究内容に健康アウトカムに関する項目を含む、⑥統計的指標にオッズ比と 95%信頼区間が示されている、⑦英語論文、⑧有料ではない、⑨基礎研究ではない、⑩システムティックレビューやメタ・アナリシスの文献ではない)を満たさない論文を除外し、最終的に採択した論文について、メタ・アナリシスによる解析を行った。

[結果]採択論文は、脳卒中=7 件、精神疾患=28 件、睡眠障害=11 件、肺がん=13 件、乳がん=12 件、COPD=9 件であった。定義や研究方法の違いにより、健康アウトカムと正の関連を示すものと示さないものがあつたが、メタ・アナリシスの結果、受動喫煙と 6 つの健康アウトカムには正の関連が認められた。さらに、受動喫煙曝露量と疾患罹患のリスクとの用量反応関係を示した論文があつた。

[考察]受動喫煙と脳卒中、精神疾患、睡眠障害、肺がん、乳がん、COPD には正の関連が認められた。疾病の罹患の危険因子は受動喫煙のみではなく、その他の危険因子の影響も複雑に絡み合っていることを考慮し、受動喫煙対策に取り組む必要がある。受動喫煙と疾病罹患の用量反応関係を明らかにするのに十分な数の研究が行われておらず、今後さらなる研究が望まれる。

A. 研究目的

受動喫煙とは、「本人は喫煙していなくても身の回りのたばこの煙を吸わされてしまうこと」と厚生労働省により定義されており、先行研究によりその危険性が示唆されて

いる。平成 30 年国民健康・栄養調査では、受動喫煙の機会を有する者(現在喫煙者を除く)の割合が場所別に報告されているが、「飲食店」36.9%、「路上」30.9%、「遊技場」30.3%、「家庭」男性 33.0%、女性

49.2%であり、いずれの場所においても3割を超えていた²⁾。平成30年7月に健康増進法の一部を改正する法律が成立、令和2年4月1日より全面施行となり、受動喫煙対策に力を入れる方針が強まっている一方、未だ受動喫煙の危険性の意識や対策の必要性・重要性が認識されておらず、さらなる意識づけが必要である。受動喫煙による精神疾患、乳がん、肺がん、睡眠障害、慢性閉塞性肺疾患(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 以下 COPD)、脳卒中などの健康影響に関し、これまでに多くの研究報告がなされているが、それらを定量的に統合した報告はあまり多くない。よって本研究では、世界に現存する知見の対象者や受動喫煙の定義、具体的に明らかにされている知見を、メタ・アナリシスの手法を用いて解析、定量的に統合すること、リスクの高い疾患を明確にすることで、今後の受動喫煙対策へとつなげることを目的とした。

B. 研究方法

1. 論文の検索方法

検索には Google scholar のデータベースを用いた。検索式は、表1に示す受動喫煙を示すキーワードと OR を示すキーワードを共通とし、各疾患を示すキーワードを掛け合わせ、1990年から2020年に公表されている論文について文献検索を行った。

2. 論文の採択基準

論文の採択基準は以下の通りとした。1)論文の種類は原著論文である。2)1990年～2020年に発表された論文である。3)研究対象は受動喫煙に曝露している、あるいは曝露していたヒトである。4)研究内容に“受動喫煙”に

関する項目を含む。受動喫煙への曝露がない者のオッズ比を1.0とし、受動喫煙への曝露がある者との比較がされている内容である。5)研究内容に“精神疾患”、“乳がん”、“肺がん”、“睡眠障害”、“COPD”、“脳卒中”に関する項目を含む。なお、精神疾患は“抑うつ”や“抑うつ症状”、睡眠障害は“睡眠不足”や“不眠症”を含めた。6)研究に使われる統計的指標に“odds ratios”(以下 OR)が使われているものである、さらに OR とその 95%信頼区間(以下 95%CI)が示されているものである。7)英語で書かれた論文である。8)フリーアクセスでき、有料でない論文である。9)動物実験などの基礎研究でない。10)システマティックレビューやメタ・アナリシスの論文でない。

2. 論文採択のプロセス

論文採択のためのフローチャートを図1-1から図1-6に示す。データベース検索により抽出された論文について、前述の10の採択基準を用いてスクリーニングを行った。具体的には、タイトルおよび抄録から採択基準を満たしていないものを除外した。次に、本文を精読したのち、最終的に精神疾患28件、乳がん12件、肺がん13件、睡眠障害11件、COPD9件、脳卒中7件の論文を採択した。

最終的に採択された論文から、国、研究者、研究公開年、研究対象者、データの収集方法(受動喫煙の調査項目や定義、各疾患に関する調査項目や定義)、統計指標である OR と 95%CI の値の情報を得た。それらの情報についてエビデンステーブルを作成し、疾患別に整理した。(表2-1から2-6)

表1 検索キーワード

グループ	キーワード
共通— “受動喫煙” “オッズ比”	passive smoking second hand smoking third hand smoking environmental tobacco smoke odds ratio OR
“精神疾患” “うつ病” “抑うつ症状” “ストレス”	mental health poor mental health depressive disorder depressive symptoms psychiatric distress
“乳がん”	breast cancer
“肺がん”	lung cancer
“睡眠障害” “不眠症” “睡眠不足”	sleep disturbance sleep quality sleep outcomes insufficient sleep
“COPD”	chronic obstructive pulmonary disease / COPD
“脳卒中”	stroke

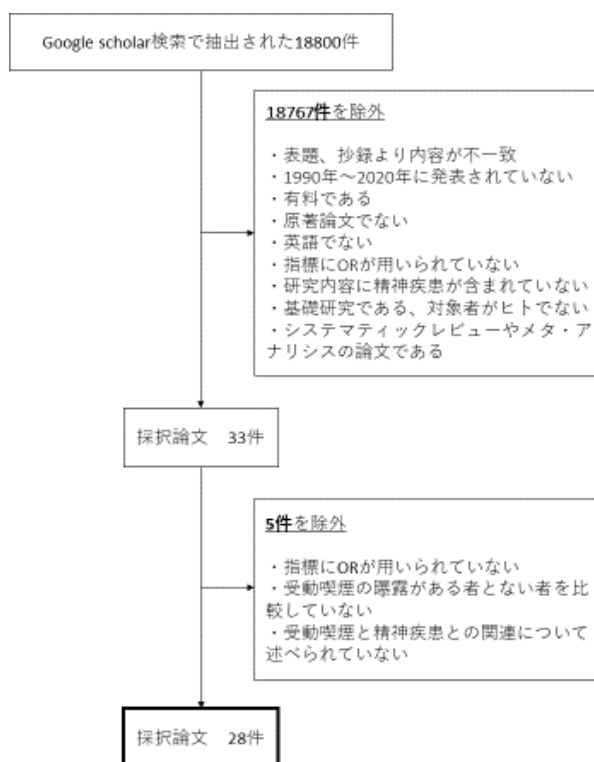


図1-1 論文採択におけるフローチャート—精神疾患

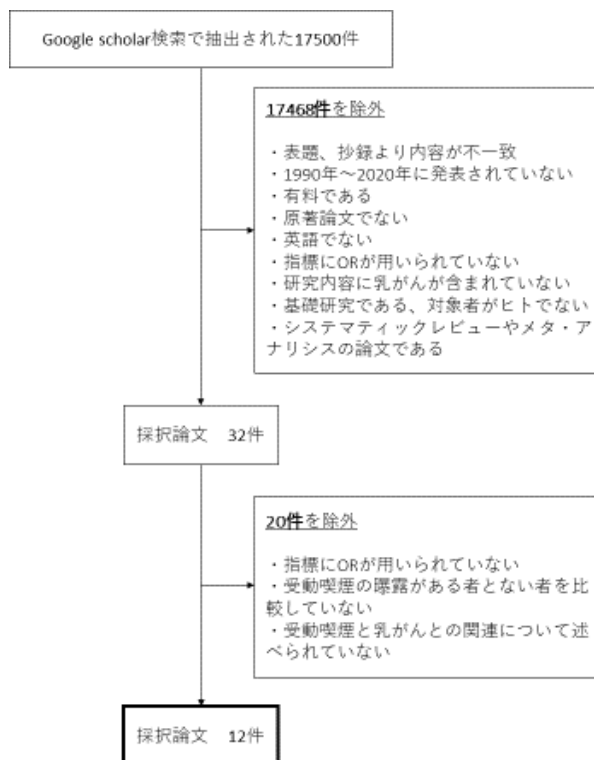


図1-2 論文採択におけるフローチャート—乳がん

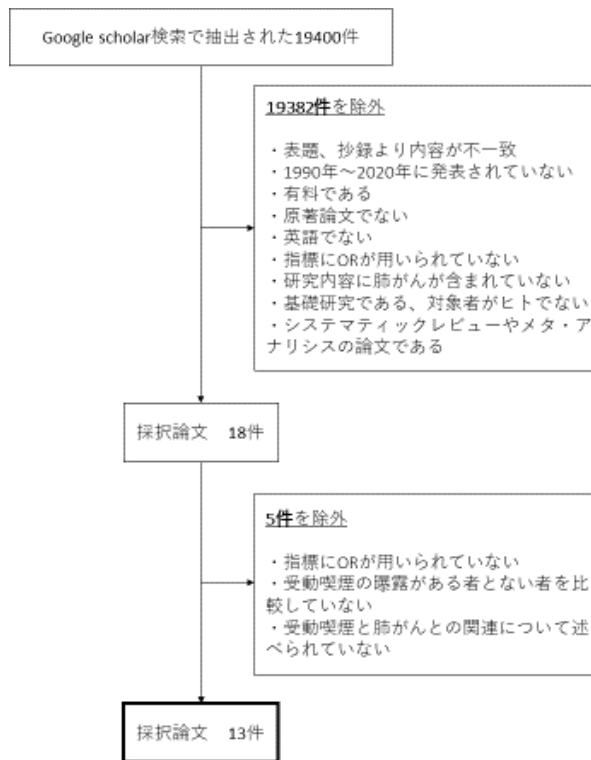


図1-3 論文採択におけるフローチャートー肺がん

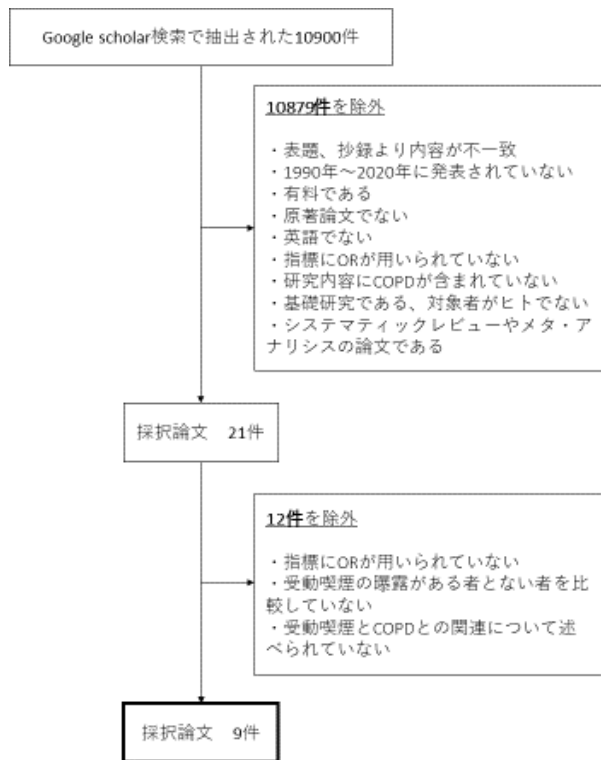


図1-5 論文採択におけるフローチャートー慢性閉塞性肺疾患(COPD)

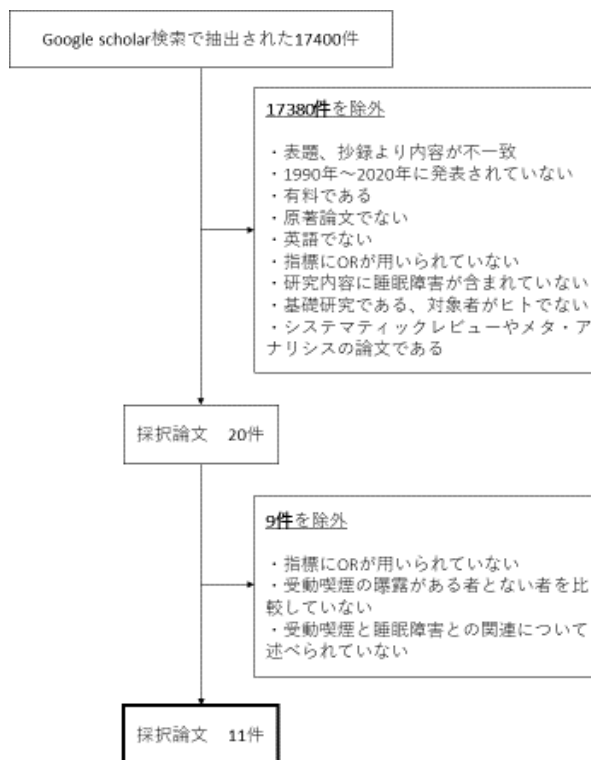


図1-4 論文採択におけるフローチャートー睡眠障害

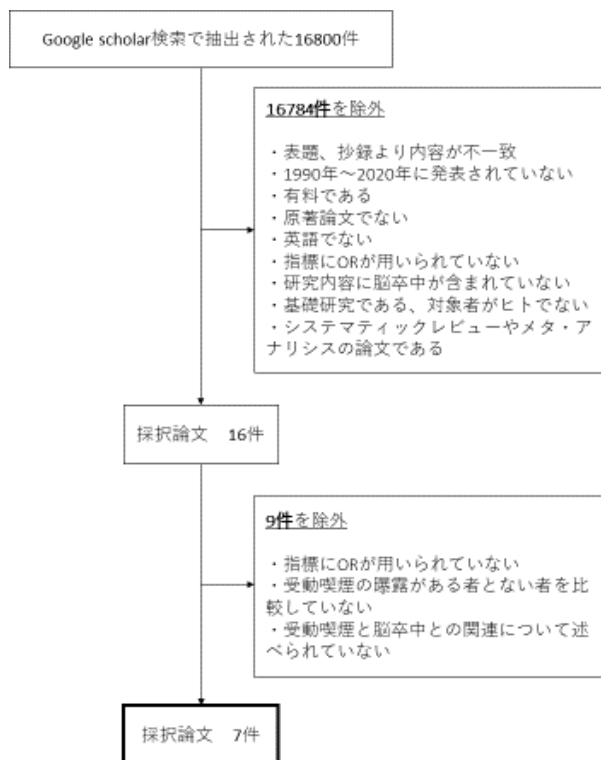


図1-6 論文採択におけるフローチャートー脳卒中

表2-1 受動喫煙と精神疾患との関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
中国	Wanら	2016	3	n=12987	1.24 (1.12, 1.37)
韓国	Bangら	2017	4	n=62708	1.34 (1.29, 1.39)
韓国	Hamerら	2010	5	n=123665	1.44 (1.14, 1.74)
スコットランド	Hamerら	2010	6	n=8155	1.62 (1.23, 2.12)
日本	Kawasakiら	2017	7	n=1745	1.51 (1.00, 2.12)
中国	Huangら	2018	8	n=3657	1.27 (1.00, 1.61)
アメリカ	Jacobら	2020	9	n=37505	1.63 (1.44, 1.84)
韓国	Gimら	2015	10	n=6043	1.21 (0.93, 1.59)
韓国	Kimら	2015	11	n=989	1.24 (1.12, 1.37)
韓国	Jungら	2015	12	n=34693	1.43 (1.04, 1.96)
アメリカ	Khanら	2015	13	n=6884	1.49 (1.23, 1.75)
スロバキア	Sevcikovaら	2018	14	n=1478	1.00 (0.58, 1.72)
中国	Yangら	2015	15	n=11206	1.24 (1.12, 1.37)
台湾	Wengら	2016	16	n=3867	1.55 (1.20, 1.90)
韓国	Kyung-Jaeら	2014	17	n=75634	1.26 (1.21, 1.31)
韓国	Kimら	2015	18	n=1201	1.70 (1.25, 2.25)
中国	Wangら	2018	19	n=973	1.70 (1.12, 2.59)
日本	Nakataら	2008	20	n=2770	1.43 (0.82, 2.50)
韓国	Heeら	2019	21	n=3417	1.34 (0.93, 1.96)
アメリカ	Tahaら	2014	22	n=2357	1.32 (0.61, 2.46)
韓国	Kimら	2015	23	n=33728	1.44 (1.33, 1.55)
韓国	Seong-Jinら	2016	24	n=19879	1.59 (1.42, 1.76)
中国	Wangら	2019	25	n=17571	1.63 (1.47, 1.80)
アメリカ	Sobotovaら	2011	26	n=18180	0.89 (0.80, 0.99)
アメリカ	Bauerら	2015	27	n=2441	2.00 (0.60, 6.60)
イラン	Kelishadiら	2015	28	n=13486	1.39 (1.28, 1.50)
タイ	Tranら	2015	29	n=40874	1.29 (1.10, 1.50)
スコットランド	Shiue	2014	30	n=27998	1.12 (0.97, 1.28)

表2-2 受動喫煙と乳がんとの関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
中国	Chang-Mingら	2013	31	n=1351	1.47 (1.18, 1.84)
アメリカ	Lashら	1999	32	n=765	2.00 (1.10, 3.70)
ドイツ	Kroppら	2002	33	n=1093	1.61 (1.08, 2.39)
スイス	Morabiaら	1996	34	n=1276	2.30 (1.50, 3.70)
アメリカ	Gammonら	2004	35	n=2736	1.04 (0.81, 1.35)
ドイツ	Chang-Claudeら	2002	36	n=1309	2.02 (0.99, 4.10)
ドイツ	Lillaら	2005	37	n=1309	1.69 (0.89, 3.21)
中国	Liuら	2000	38	n=372	2.14 (0.88, 5.25)
中国	Shrubsoleら	2004	39	n=2350	0.70 (0.40, 1.20)
中国	Liら	2015	40	n=1851	1.35 (1.11, 1.65)
リトアニア	Strumylaiteら	2017	41	n=1379	3.02 (1.89, 4.84)
マレーシア	Zahaliら	2020	42	n=161	1.22 (1.02, 1.48)

表2-3 受動喫煙と肺がんとの関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
アメリカ	Bennettら	1999	43	n=106	2.60 (1.10, 6.10)
アメリカ	Fonthamら	1994	44	n=1906	0.99 (0.73, 1.35)
独/英/伊/瑞/西/仏/葡	Boffettaら	1998	45	n=2192	1.16 (0.93, 1.44)
瑞/仏/露/羅/伊/独/白/波	Pursiainenら	2000	46	n=157	2.00 (0.50, 8.70)
ドイツ	Kreuzerら	2000	47	n=1630	0.99 (0.73, 1.34)
アメリカ	Millerら	2003	48	n=2200	1.38 (0.78, 2.43)
ロシア	Zaridzeら	1998	49	n=547	1.53 (1.06, 2.21)
カナダ	Johnsonら	2001	50	n=832	1.63 (0.80, 3.50)
アメリカ	Kabatら	1995	51	n=414	1.08 (0.60, 1.94)
中国	Wangら	2000	52	n=1765	1.19 (0.70, 2.00)
中国	Kim	2016	53	n=28730	1.31 (1.17, 1.47)
中国	Liangら	2019	54	n=3258	2.33 (1.99, 2.72)
アメリカ	Butlerら	2018	55	n=562	1.53 (1.00, 2.36)

表2-4 受動喫煙と睡眠障害との関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
日本	Ohidaら	2007	56	n=35782	1.31 (1.20, 1.43)
カナダ	Schwartzら	2014	57	n=1592	2.51 (1.59, 3.98)
カナダ	Zandyら	2020	58	n=10806	1.41 (1.02, 1.95)
カナダ	Changら	2018	59	n=12174	2.54 (1.25, 5.16)
中国	Zhouら	2018	60	n=1630	1.34 (1.00, 1.79)
中国	Xuら	2017	61	n=2345	1.43 (1.10, 1.86)
BRFSS調査	Sabanayagamら	2011	62	n = 83,072	1.29 (1.02, 1.63)
アメリカ	Davilaら	2010	63	n=4123	1.03 (0.83, 1.26)
イラン	Khorasanchiら	2019	64	n=940	1.70 (1.20, 2.30)
オーストラリア	O'Callaghanら	2019	65	n=7223	1.23 (1.04, 1.46)
アメリカ	Bauerら	2015	27	n=2441	3.40 (0.80, 14.8)

表2-5 受動喫煙とCOPDとの関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
中国	Yinら	2007	66	n=20430	0.88 (0.72, 1.08)
シリア	Mohammadら	2013	67	n=788	3.20 (1.11, 9.23)
トルコ	Yildizら	2010	68	n=348	5.37 (2.86, 10.0)
アメリカ	Eisnerら	2005	69	n=2113	1.88 (1.35, 2.61)
中国	Zhouら	2009	70	n=13459	1.31 (1.06, 1.61)
韓国	Leeら	2015	71	n=3473	1.10 (0.70, 1.70)
スウェーデン	Hagstadら	2013	72	n=2118	2.03 (1.23, 3.34)
ノルウェー	Johannessenら	2012	73	n=758	1.38 (0.84, 2.25)
イングランド	Jordanら	2011	74	n=27653	1.25 (0.90, 1.72)

表2-6 受動喫煙と脳卒中との関連についてのエビデンステーブル

国	著者	発行年	文献番号	サンプル	OR ± 95%CI
アメリカ	Bonitaaら	1999	75	n=521	1.82 (1.34, 2.47)
中国	Zhangら	2005	76	n=60377	1.47 (1.22, 1.77)
中国	Heら	2008	77	n=1209	1.65 (1.17, 2.31)
中国	Houら	2017	78	n=16205	1.11 (1.04, 1.18)
アメリカ	Linら	2016	79	n=27836	1.21 (0.82, 1.81)
オーストラリア	Youら	1999	80	n=452	1.70 (0.98, 2.94)
スコットランド	Shiue	2014	81	n=27998	1.53 (0.41, 5.97)

3. 分析方法（統計解析）

最終的に採択されたそれぞれの疾患に関する論文について、論文で明らかにされたORと95%CIを整理した。それらのデータをメタ・アナリシスにより統合し、受動喫煙による疾患別のORとその95%CIを算出した。ORと95%CIは小数点以下第3位を四捨五入し、小数点以下第2位までとした。採択論文の公表バイアスの有無については、funnelプロットを用いて検討を行った。

C. 研究結果

採択論文のメタ・アナリシスによる統合の結果とfunnelプロットを図2~7に示す。

1. 精神疾患

研究地域は、韓国 10 件⁴⁾⁵⁾¹⁰⁾¹²⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²¹⁾²³⁾²⁴⁾、中国 5 件³⁾⁸⁾¹⁵⁾¹⁹⁾²⁵⁾、アメリカ 5 件⁹⁾¹³⁾²²⁾²⁶⁾²⁷⁾、スコットランド 2 件⁶⁾³⁰⁾、日本(九州・沖縄 1 件、東京 1 件)⁷⁾²⁰⁾、スロバキア 1 件¹⁴⁾、台湾 1 件¹⁶⁾、イラン 1 件²⁸⁾、タイ 1 件²⁹⁾だった。研究方法は、コホート研究が 2 件⁷⁾¹³⁾²⁹⁾、基幹統計調査が 1 件¹²⁾、横断研究が 9 件³⁾⁵⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁵⁾²²⁾²⁴⁾²⁶⁾²⁸⁾³⁰⁾、症例対象研究が 16 件⁴⁾⁶⁾⁸⁾¹¹⁾¹⁴⁾¹⁶⁾²¹⁾²³⁾²⁵⁾²⁷⁾だった。対象者については、成人が 18 件³⁾⁵⁾⁷⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁸⁾⁻²¹⁾²³⁾²⁶⁾²⁹⁾³⁰⁾、そのうち女性のみが 6 件⁷⁾¹³⁾¹⁶⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁶⁾だった。未就学児や学生が 9 件⁴⁾⁸⁾⁹⁾¹¹⁾¹⁴⁾¹⁷⁾²²⁾²⁷⁾²⁸⁾だった。受動喫煙の曝露状況については、自宅・同居者の喫煙によるものが 20 件³⁾⁴⁾⁸⁾¹⁰⁾¹²⁾⁻¹⁴⁾¹⁶⁾⁻²³⁾²⁵⁾⁻²⁷⁾²⁹⁾³⁰⁾、職場の者の喫煙によるものが 14 件³⁾⁷⁾¹⁰⁾¹²⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁸⁾⁻²¹⁾²³⁾²⁴⁾²⁹⁾³⁰⁾だった。精神疾患について、うつ病が 9 件⁴⁾⁵⁾¹²⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²¹⁾²²⁾²⁷⁾²⁸⁾、精神的苦痛が 3 件³⁾⁶⁾³⁰⁾、抑うつ症状が 6 件⁷⁾⁻¹¹⁾²⁰⁾、ストレスが 2 件²³⁾²⁹⁾、精神障害・心理的健康状態は 2 件²⁴⁾²⁵⁾、産後うつ病は 3 件¹³⁾¹⁶⁾¹⁹⁾、その他(自殺念慮、自殺計画、自殺企画が 1 件⁴⁾、感情のおよび行動的機能障害が 1 件¹⁴⁾だった。精神疾患の評価に用いられたモデルについて、独自の質問紙が 12 件⁴⁾⁵⁾⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾¹⁴⁾¹⁷⁾²⁰⁾⁻²³⁾²⁶⁾、GHQ-12(General Health Questionnaire-12)が 4 件³⁾⁶⁾¹⁵⁾³⁰⁾、GES-D が 2 件⁷⁾⁸⁾、BDI(Beck Depression Inventory)が 2 件¹¹⁾¹⁸⁾、エジンバラ産後うつ病スケール (EPDS) が 2 件¹⁶⁾¹⁹⁾、PPDS (Pachinko-Pachislot Playing Disorder Scale)が 1 件¹³⁾、SDQ(Strength and Difficulties Questionnaire:子どもの強さと困難さアンケート)が 1 件²⁵⁾、WHO-Five

Well-Being Index が 1 件²⁴⁾, CHICA が 1 件²⁷⁾, WHO グローバルスクールベースの学生健康調査が 1 件²⁸⁾, ケスラー6(K6)が 1 件²⁹⁾だった。用量反応関係がみられたものは 12 件³⁾⁻⁵⁾⁸⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁷⁾⁻²⁰⁾²⁵⁾で, そのうち疾病のリスクの有意な増加を認めたものは 11 件⁴⁾⁵⁾⁸⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁷⁾⁻²⁰⁾²⁵⁾だった。これらの文献より得られた OR および 95%CI を統合した値は, 1.32(1.29,1.35)となり, 受動喫煙に曝露していない者と比較して, 曝露のある者のほうが 1.32 倍の精神疾患罹患リスクがあることを示した。(図 2)

2. 乳がん

研究地域は, 中国 4 件³¹⁾³⁸⁾⁻⁴⁰⁾, ドイツ 3 件³³⁾³⁶⁾³⁷⁾, アメリカ 2 件³²⁾³⁵⁾, スイス 1 件³⁴⁾, リトアニア 1 件⁴¹⁾, マレーシア 1 件⁴²⁾だった。研究方法は, 症例対象研究が 12 件(全て)だった。対象者については, 成人が 12 件(全て), そのうち女性のみが 11 件³¹⁾⁻⁴²⁾だった。小児期の受動喫煙曝露歴を含むものが 3 件³³⁾³⁶⁾³⁷⁾だった。受動喫煙の曝露状況については, 自宅・同居者の喫煙によるものが 11 件³¹⁾⁻³³⁾³⁵⁾³⁶⁾⁻⁴²⁾, そのうち配偶者(夫)によるものが 5 件³¹⁾³³⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁹⁾だった。職場の者の喫煙によるものが 8 件³³⁾³⁶⁾⁻⁴²⁾だった。これらの文献より得られた OR および 95%CI を統合した値は, 1.51(1.25,1.81)となり, 受動喫煙に曝露していない者と比較して, 曝露のある者のほうが 1.51 倍の乳がん罹患リスクがあることを示した。(図 3)

3. 肺がん

研究地域は, 多数の国や都市による合同研究が 2 件⁴⁵⁾⁴⁶⁾, アメリカ 5 件⁴³⁾⁴⁴⁾⁴⁸⁾⁵¹⁾⁵⁵⁾, 中国 3 件⁵²⁾⁻⁵⁴⁾, ドイツ 1 件⁴⁷⁾, ロシア 1 件⁴⁹⁾, カナダ 1 件⁵⁰⁾だった。研究方法は,

症例対象研究が 12 件⁴³⁾⁻⁵¹⁾⁵³⁾⁻⁵⁵⁾, 横断研究が 1 件⁵²⁾だった。対象者については, 女性のみが 4 件⁴³⁾⁴⁴⁾⁴⁹⁾⁵⁰⁾だった。小児期の受動喫煙曝露歴を含むものが 8 件⁴³⁾⁻⁴⁷⁾⁴⁹⁾⁵¹⁾⁵²⁾だった。受動喫煙の曝露状況については, 自宅・同居者の喫煙によるものが 11 件⁴³⁾⁴⁵⁾⁻⁵²⁾⁵⁴⁾⁵⁵⁾, 職場の者の喫煙によるもの 9 件⁴³⁾⁴⁵⁾⁻⁵¹⁾⁵⁴⁾だった。これらの文献より得られた OR および 95%CI を統合した値は, 1.44(1.34,1.55)となり, 受動喫煙に曝露していない者と比較して, 曝露のある者のほうが 1.44 倍の肺がん罹患リスクがあることを示した。(図 4)

4. 睡眠障害

研究地域は, カナダ 3 件⁵⁷⁾⁻⁵⁹⁾, アメリカ 2 件⁶³⁾²⁵⁾, 中国 2 件⁶⁰⁾⁶¹⁾, 日本 1 件⁵⁶⁾, イラン 1 件⁶⁴⁾, オーストラリア 1 件⁶⁵⁾, BRFSS 調査が 1 件⁶²⁾だった。研究方法は, コホート研究が 2 件⁵⁷⁾⁶⁵⁾, 横断研究が 6 件²⁷⁾⁵⁶⁾⁵⁸⁾⁶²⁾⁻⁶⁴⁾, 症例対象研究が 3 件⁵⁹⁾⁻⁶¹⁾だった。対象者については, 成人が 4 件⁵⁸⁾⁻⁶⁰⁾⁶²⁾, そのうち女性および妊婦が 3 件⁵⁶⁾⁶¹⁾⁶⁴⁾だった。未就学児や学生が 4 件²⁵⁾⁵⁷⁾⁶⁴⁾⁶⁵⁾だった。受動喫煙の曝露状況については, 自宅・同居者の喫煙によるものが 6 件⁵⁶⁾⁵⁹⁾⁶²⁾⁻⁶⁵⁾, 職場の者の喫煙によるものが 3 件⁵⁶⁾⁶²⁾⁶³⁾だった。睡眠障害について, 睡眠時間の不足が 9 件²⁵⁾⁵⁶⁾⁻⁵⁹⁾⁶¹⁾⁻⁶³⁾⁶⁵⁾, 寝つきの悪さ・睡眠の質が 1 件⁶⁰⁾, 不眠症が 1 件⁶⁴⁾だった。睡眠障害の評価に用いられたモデルについて, 独自の質問紙が 5 件⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁶¹⁾⁶²⁾⁶⁵⁾, ガイドラインの推奨睡眠時間と比較したものが 2 件⁵⁸⁾⁵⁹⁾, PSQI(ピッツバーグ睡眠品質指数)が 1 件⁶⁰⁾, ISI(不眠症重症度指数)が 1 件⁶⁴⁾, YSR(Youth Self-Report)が 1 件²⁵⁾, 医師の診断が 1 件⁶³⁾だ

った。用量反応関係がみられたものは1件⁵⁷⁾で、疾病のリスクの有意な増加を認めた。これらの文献より得られたORおよび95%CIを統合した値は、1.38(1.23,155)となり、受動喫煙に曝露していない者と比較して、曝露のある者のほうが1.38倍の睡眠障害罹患リスクがあることを示した。(図5)

5. COPD

研究地域は、中国2件⁶⁶⁾⁷⁰⁾、シリア1件⁶⁷⁾、トルコ1件⁶⁸⁾、アメリカ1件⁶⁹⁾、韓国1件⁷¹⁾、スウェーデン1件⁷²⁾、ノルウェー1件⁷³⁾、イングランド1件⁷⁴⁾だった。研究方法は、コホート研究が3件⁶⁶⁾⁶⁷⁾⁷²⁾、横断研究が2件⁷³⁾⁷⁴⁾、症例対象研究が4件⁶⁸⁾⁷¹⁾だった。対象者については、成人が5件⁶⁶⁾⁶⁸⁾⁶⁹⁾⁷¹⁾⁷⁴⁾、そのうち女性のみが1件⁶⁷⁾、男性のみが2件⁶⁸⁾⁷⁴⁾だった。小児期の受動喫煙曝露歴を含むものは3件⁶⁹⁾⁷²⁾⁷³⁾だった。受動喫煙の曝露状況については、同居者の喫煙によるものが6件⁶⁶⁾⁶⁹⁾⁷³⁾、職場の者の喫煙によるものが6件⁶⁶⁾⁶⁹⁾⁷³⁾、その他(カフェ)が1件⁶⁸⁾だった。これらの文献より得られたオッズ比および95%CIを統合した値は、1.29(1.16,1.44)となり、受動喫煙に曝露していない者と比較して、曝露のある者のほうが1.29倍のCOPD罹患リスクがあることを示した。(図6)

6. 脳卒中

研究地域は、中国3件⁷⁶⁾⁷⁸⁾、オークランド1件⁷⁹⁾、アメリカ1件⁷⁵⁾、オーストラリア1件⁸⁰⁾、スコットランド1件⁸¹⁾だった。研究方法は、コホート研究が1件⁷⁶⁾、横断研究が1件⁷⁵⁾、症例対象研究が5件⁷⁷⁾⁸¹⁾だった。対象者については、成人が7件(全て)で、そのうち女性のみが2件⁷⁶⁾⁷⁷⁾だった。受動喫煙の曝露状況については、同居者の

喫煙によるものが7件(全て)で、そのうち配偶者によるものに限定しているものが3件⁷⁶⁾⁷⁸⁾⁸⁰⁾あった。職場の者の喫煙によるものが3件⁷⁵⁾⁷⁷⁾⁸¹⁾あった。

これらの文献より得られたORおよび95%CIを統合した値は、1.42(1.16,1.73)となり、受動喫煙に曝露していない者と比較して、曝露のある者のほうが1.42倍の脳卒中罹患リスクがあることを示した。(図7)

D. 考察

本研究の目的は以下であった。1) 世界に現存する受動喫煙と健康影響へのエビデンスを、メタ・アナリシスの手法を用いて解析・統合すること。2) 受動喫煙によりリスクの高まる疾病を明らかにし、今後の受動喫煙対策へとつなげること。

1) 受動喫煙と精神疾患、乳がん、肺がん、睡眠障害、COPD、脳卒中の関連について述べられた研究論文のうち、正の関連を示すものも示さないものも存在していた。メタ・アナリシスによる統合の結果、これらの疾病は受動喫煙により有意に罹患のリスクが上昇することが明らかとなった。またこれらの採択論文の公表バイアスの有無について検討した結果、採択論文はほぼ左右にプロットされたことから、今回の研究では公表バイアスが少なかったといえる。

受動喫煙における健康リスクを数値化して示すことで、漠然とした危険性を伝えるより、危機感を持ってもらうことができると考えられる。特に精神疾患や睡眠障害は、人間の内部に潜む心の病であり、罹患していても顕在化されにくく、他の疾患と比べると疾患そのものの数値化が難しい。また

日常的に受動喫煙に曝露されている人でも、受動喫煙そのものが精神の不安定さや睡眠の障害を引き起こしていると思う人は多くはおらず、仕事や人間関係などのよく言われているストレス要因を心当たりを感じる人が多いのではないかと考える。確かに様々な要因が重なることで病を発症していることは変わらないが、本研究結果より、受動喫煙がメンタルヘルスに悪い影響を有意に与えることが示唆された。よって、受動喫煙に少量曝露されただけでも、実はメンタルヘルスに与える影響はそれ以上に大きいのではないかと考える。ただし、受動喫煙による影響といえど、受動喫煙に対する嫌悪感の有無が影響しているのか、副流煙に含まれる成分が脳やホルモンバランスへ影響を与えているのかなど、様々な背景が考えられ、本研究ではその点までは明らかにすることができていない。

しかし、受動喫煙がメンタルヘルスに与える影響を数値化することができ、受動喫煙とメンタルヘルスとの関連を示す一つの結果となったといえる。

2) 6つの健康アウトカムは、受動喫煙の曝露がない者と比較して、曝露のある者のほうがそれぞれ1~2倍の罹患リスクがあることが分かった。先に述べたように、受動喫煙だけが要因(危険因子)となりこれらの疾患に罹患することは考えにくい。本研究からは受動喫煙が要因(危険因子)の一つとなり得るといえる。これらの疾患は、受動喫煙以外の要因にも強い影響を受けていると考えられる。そのため、受動喫煙とその他の危険因子とを同時に考えながら対策へつなげていくことが、最終的に疾患の罹患を減らすこととなると考えられ

る。

受動喫煙の定義、期間・回数・本数、場所などが研究により異なり、受動喫煙の曝露を一定の基準で測定することができなかった。受動喫煙の定義を1年以上の曝露とするもの、1ヶ月以上の曝露とするもの、2週間の曝露とするものなど様々であった。また場所に関しても、家庭、職場、その両方、公共の場などばらつきがあった。これらを一定にしてもなお疾患罹患のリスクがあると示すことができると、より良いと考える。さらに、用量反応関係について示した研究論文が少なく、曝露量の増加に伴い罹患リスクも増加するのかどうかまで、本研究で明らかにすることはできなかった。受動喫煙に関する研究が増えるとともに、今後は用量反応関係まで検討された研究が活発に行われる必要があるといえる。

E. 結語

受動喫煙と精神疾患、乳がん、肺がん、睡眠障害、COPD、脳卒中との関連について述べられた論文は、それぞれ正の関連を示すもの、示さないものが混在していることが分かった。本研究の方法であるメタ・アナリシスにより統合した結果、本研究で対象とした6つの疾病において、全ての罹患リスクを上昇させるという結果となった。よって、受動喫煙はこれらの健康影響のリスクを有意に高くし、罹患リスクの要因(危険因子)となることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

なし.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

I. 参考文献

- 1) 厚生労働省:なくそう！望まない受動喫煙 (<https://jyudokitsuen.mhlw.go.jp/>), 2020/11/2 アクセス可能
- 2) 厚生労働省:平成 30 年国民健康・栄養調査結果の概要 (<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000688863.pdf>) 2020/11/23 アクセス可能
- 3) Wang R, Zhang P, Lv X, Gao C, Song Y, Li Z, Yu Y, Li B; Association between passive smoking and mental distress in adult never smokers: a cross-sectional study, *BMJ Open*, 6(7), 1-6(2016)
- 4) Bang I, Jeong Y, Park Y, Moon N, Lee J and Jeon T; Secondhand Smoking Is Associated with Poor Mental Health in Korean Adolescents, *Tohoku J. Exp. Med*, 242(4), 317-326(2017)
- 5) Kim NH, Choi H, Kim NR, Shim JS, Kim HC; Secondhand smoke exposure and mental health problems in Korean adults, *Epidemiology and Health*, 38, 1-12(2016)
- 6) Hamer M, Stamatakis E; Batty GD; Objectively Assessed Secondhand Smoke Exposure and Mental Health in Adults Cross-sectional and Prospective Evidence From the Scottish Health Survey, *Archives of General Psychiatry (ARCH GEN PSYCHIAT)*, 67(8): 850-855(2010)
- 7) Kawasaki Y, Miyake Y, Tanaka K,

- Furukawa S and Arakawa M; Smoking and secondhand smoke exposure and prevalence of depressive symptoms during pregnancy in Japan: baseline data from the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study, *Tobacco Induced Diseases*, 15(34), 1-7(2017)
- 8) Huang J, Xu B, Guo D, Jiang T, Huang W, Liu G and Ye X; Dose-Response Relationships between Second-Hand Smoke Exposure and Depressive Symptoms among Adolescents in Guangzhou, China, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 985(2018)
 - 9) Jacob L, Smith L, Jackson SE, Haro JM, Shin JI, Koyanagi A; Secondhand Smoking and Depressive Symptoms Among In-School Adolescents, *American Journal of Preventive Medicine*, 58(5): 613-621(2020)
 - 10) Gim W, Yoo JH, Shin JY, Goo AJ; Relationship between Secondhand Smoking with Depressive Symptom and Suicidal Ideation in Korean Non-Smoker Adults: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2012, *Korean Journal of Family Medicine*, 37, 97-104(2016)
 - 11) Kim NH, Park JH, Choi DP, Lee JY, Kim HC; Secondhand Smoke Exposure and Depressive Symptoms among Korean Adolescents: JS High School Study, *The JS High School study (JSHS)*, 30: 11(12), 1-11(2016)
 - 12) Jung SJ, Shin A and Kang D; Active

- smoking and exposure to secondhand smoke and their relationship to depressive symptoms in the Korea national health and nutrition examination survey(KNHANES), *BMC Public Health*, 15(1053), 1-11(2015)
- 13) Khan S, Arif AA, Laditka JN, Racine EF; Prenatal exposure to secondhand smoke may increase the risk of postpartum depressive symptoms, *Journal of Public Health*, 37(3), 406–411(2015)
- 14) Sevcikova L, Babjakova J, Jurkovicova J, Samohyl M, Stefanikova Z, Machacova E, Vondrova D, Janekova E, Hirosova K, Filova A, Weitzman M, Argalasova L; Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Effects on Physical and Mental Health of Slovak School Children, *International Journal of Environmental Research and Public Health* , 15(1374), 1-25(2015)
- 15) Yang T, Cao C, Cottrell RR, Wu D, Yu L, Lin H, Jiang S and Young KJ; Second hand smoke exposure in public venues and mental disorder: a representative nationwide study of China, *Tobacco Induced Diseases*, 13(18), 1-8(2015)
- 16) Weng SC, Huang JP, Huang YL, Lee TS and Chen YH; Effects of tobacco exposure on perinatal suicidal ideation, depression, and anxiety, *BMC Public Health*, 16(623), 1-9(2016)
- 17) Lee KJ; Current smoking and secondhand smoke exposure and depression among Korean adolescents: analysis of a national cross-sectional survey, *BMC Public Health*, 4(2), 1-7(2014)
- 18) Kim NH, Kim HC, Lee JY, Lee J, Suh I; Association between environmental tobacco smoke and depression among Korean women, *BMC Public Health*, 5(6), 1-8(2015)
- 19) Wang L, Fu K, Li X, Kong B, Zhang B; Exposure to third-hand smoke during pregnancy may increase the risk of postpartum depression in China, *Tobacco Induced Diseases*, 16(17), 1-7(2018)
- 20) Nakata A, Takahashi M, Ikeda T, Hojou M, Nigam JA, Swanson NG; Active and passive smoking and depression among Japanese workers, *Preventive Medicine*, 46, 451–456(2008)
- 21) Jung S, Lee IS, Kim SB, Moon CS, Jung JY, Kang YA, Park MS, Kim YS, Kim SK, Chang J, Kim EY; Urine Cotinine for Assessing Tobacco Smoke Exposure in Korean: Analysis of the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES), *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 73(4), 210-218(2012)
- 22) Taha F, Goodwin RD; Secondhand smoke exposure across the life course and the risk of adult-onset depression and anxiety disorder, *Journal of Affective Disorders*, 168, 367–372(2014)
- 23) Kim SJ, Han KT, Lee SY, Chun SY and Park EC; Is secondhand smoke associated with stress in smokers and non-smokers? , *BMC Public Health*, 15(1249),1-10(2015)
- 24) Kim SJ, Lamichhane DK, Park SG, Lee BJ, Moon SH, Park SM, Jang HS and Kim HC; Association between second-hand

- smoke and psychological well-being amongst nonsmoking waged workers in Republic of Korea, *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 28(49), 1-9(2016)
- 25) Wang H, Li F, Zhang Y, Jiang F and Zhang J; The association between exposure to secondhand smoke and psychological symptoms among Chinese children, *BMC Public Health*, 19(923), 1-7(2019)
- 26) Sobotova L, Liu YH, Burakoff A, Sevcikova L and Weitzman M; Household exposure to secondhand smoke is associated with decreased physical and mental health of mothers in the USA, *Matern Child Health J*, 15(1), 128-137(2011)
- 27) Bauer NS, Anand V, Carroll AE and Downs SM; Secondhand smoke exposure, parental depressive symptoms and preschool behavioral outcomes, *Journal of Pediatric Nursing*, 30(1), 227-235(2015)
- 28) Roya K, Amir ESB, Mostafa Q, Zeinab A, Ramin H, Mohammad EM, Gelayol A, Asal AJ, Hamid A, Rasool M; Joint Association of Active and Passive Smoking with Psychiatric Distress and Violence Behaviors in a Representative Sample of Iranian Children and Adolescents: the CASPIAN-IV Study, *International Journal of Behavioral Medicine*, 22(5), 652-61(2015)
- 29) Tran TT, Yiengprugsawan V, Chinwong D, Seubsman SA and Sleigh A; Environmental tobacco smoke exposure and health disparities: 8-year longitudinal findings from a large cohort of Thai adults, *BMC Public Health*, 15(1217), 1-11(2015)
- 30) Shiue I; Modeling the Effects of Indoor Passive Smoking at Home, Work, or Other Households on Adult Cardiovascular and Mental Health: The Scottish Health Survey, 2008–2011, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 3096-3107(2014)
- 31) Gao CM, Ding JH, Li SP, Liu YT, Qian Y, Chang J, Tang JH, Tajima K; Active and Passive Smoking, and Alcohol Drinking and Breast Cancer Risk in Chinese Women, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention (APJCP)*, 14 (2), 993-996(2013)
- 32) Lash TL and Aschengrau A; Active and Passive Cigarette Smoking and the Occurrence of Breast Cancer, *American Journal of Epidemiology*, 149(1), 5-12(1999)
- 33) Kropp S and Chang-Claude J; Active and Passive Smoking and Risk of Breast Cancer by Age 50 Years among German Women, *American Journal of Epidemiology*, 156(7), 616-626(2002)
- 34) Morabia A, Bernstein M, Heritier S and Khatchatrian N; Relation of Breast Cancer with Passive and Active Exposure to Tobacco Smoke, *American Journal of Epidemiology*, 143(9), 918-928(1996)
- 35) Gammon MD, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, Kabat GC, Hatch M, Paykin AB, Neugut AI and Santella RM; Environmental tobacco smoke and breast cancer incidence, *Environmental*

- Research, 96, 176–185(2004)
- 36) Chang-Claude J, Kropp S, Jager B, Bartsch H and Risch A; Differential Effect of NAT2 on the Association between Active and Passive Smoke Exposure and Breast Cancer Risk, 11, 698–704(2002)
- 37) Lilla C, Risch A, Kropp S and Chang-Claude J; SULT1A1 genotype, active and passive smoking, and breast cancer risk by age 50 years in a German case–control study Breast Cancer Research, 7 (2), 229-237(2005)
- 38) Liu L, Wu K, Lin X, Yin W, Zheng X, Tang X, Mu L, Hu Z, Wang J; Passive Smoking and Other Factors at Different Periods of Life and Breast Cancer Risk in Chinese Women who have Never Smoked - A Case-control Study in Chongqing, People's Republic of China, Asian Pacific journal of cancer prevention, 1(2), 131-137(2000)
- 39) Shrubsole MJ, Gao YT, Dai Q, Shu QO, Ruan ZX, Jin F and Zheng W; Passive Smoking and Breast Cancer Risk Among Non-Smoking Chinese Women, International Union Against Cancer, 110, 605–609 (2004)
- 40) Li B, Wang L, Lu MS, Mo XF, Lin FY, Ho SC, Zhang CX; Passive Smoking and Breast Cancer Risk among Non-Smoking Women: A Case- Control Study in China, PLOS ONE, 10(4), 1-14(2015)
- 41) Strumylaite L, Kregzdyte R, Poskiene L, Bogusevicius A, Pranys D, Norkute R; Association between lifetime exposure to passive smoking and risk of breast cancer subtypes defined by hormone receptor status among non-smoking Caucasian women, Plos One, 12(2), 1-16(2017)
- 42) Zahali Z, Mitra AK, Abd Rashid AA, Jan Mohamed HJ; Serum Cotinine and Passive Smoking Status Associated with Non-Smoking Newly Diagnosed Women with Breast Cancer in Malaysia, Middle East journal of Cancer, 12(1-45), 87-96(2020)
- 43) Bennett WP, Alavanja MCR, Blomeke B, Vahakangas KH, Castren K, Welsh JA, Bowman ED, Khan MA, Fliedner DB, Harris CC; Environmental Tobacco Smoke, Genetic Susceptibility, and Risk of Lung Cancer in Never-Smoking Women, journal of the National Cancer Institute, 1; 91(23), 2009-2014 (1999)
- 44) Fontham E, Correa P, Reynolds P, Wu-Williams A, Buffler PA, Greenberg RS, Chen VW, Alterman T, Boyd P, Liff DFAJ; Environmental Tobacco Smoke and Lung Cancer in Nonsmoking Women, JAMA, 8; 271(22), 1752-9(1994)
- 45) Boffetta P, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Darby SC, Ferro G, Fortes C, Gonzalez CA, Jokel KH, Krauss M, Kreienbrock L, Kreuzer M, Mendes A, Merletti F, Nyberg F, Pershagen G, Pohlabein H, Riboli E, Schmid G, Simonato L, Tredaniel J, Whitley E, Wichmann HE, Winck C, Zambon P, Saracci R; Multicenter Case–Control Study of Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Lung Cancer in Europe, Journal of the National

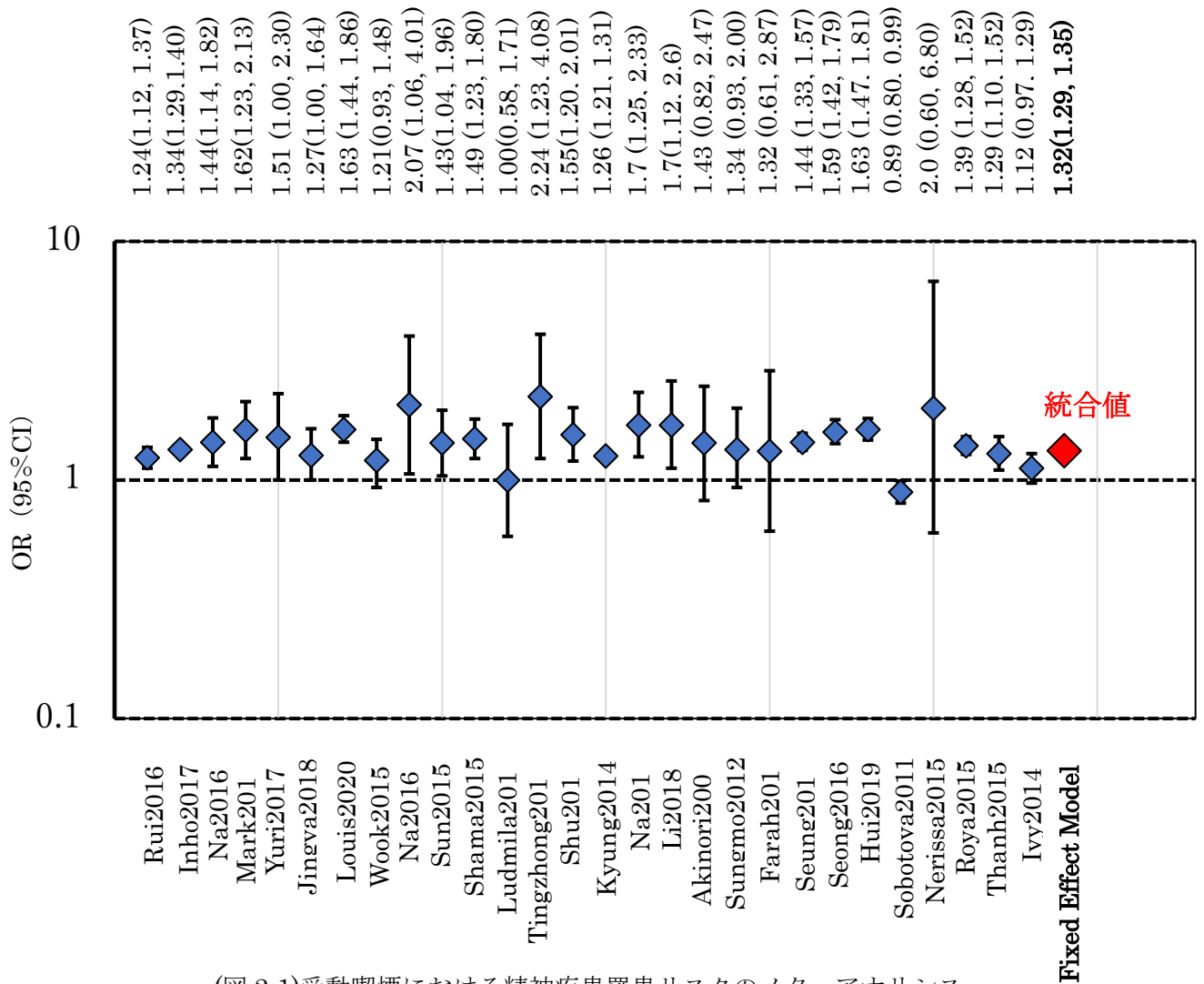
- Cancer Institute, 90(19),1440-1450(1998)
- 46) Husgafvel-Pursiainen K, Boffetta P, Kannio A, Nyberg F, Pershagen G, Mukeria A, Constantinescu V, Fortes C and Benhamou S; p53 Mutations and Exposure to Environmental Tobacco Smoke in a Multicenter Study on Lung Cancer, *Cancer Research*, 60, 2906–2911(2000)
- 47) Kreuzer M, Krauss M, Kreienbrock L, Jockel KH and Wichmann EH; Environmental Tobacco Smoke and Lung Cancer: A Case-Control Study in Germany, *American Journal of Epidemiology*, 151(3), 241-250(2000)
- 48) Miller DP, Vivo ID, Neuberger D, Wain JC, Lynch TJ, Su L and Christiani DC; Association between Self-Reported Environmental Tobacco Smoke Exposure and Lung Cancer: Modification by GSTP1 Polymorphism, *International Union Against Cancer*, 104, 758-763(2003)
- 49) Zaridze D, Maximovitch D, Yanaya GZ, Aitakov ZN and Boffetta P; Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Risk of Lung Cancer in Non-Smoking Women from Moscow, Russia, *International Union Against Cancer*, 75, 335–338 (1998)
- 50) Johnson KC, Hu J, Mao Y and The Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group; Lifetime Residential and Workplace Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Lung Cancer in Never-Smoking Women, Canada, 1994–97, *International Union Against Cancer*, 93, 902–906 (2001)
- 51) Kabat GC, Stellman SD and Wynder EL; Relation between Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Lung Cancer in Lifetime Nonsmokers, *American journal of epidemiology*, 142(2), 141-148(1995)
- 52) Wang L, Lubin JH, Zhang SR, Metayer C, Xia Y, Brenner A, Shang B, Wang Z and Kleinerman RA; Lung Cancer and Environmental Tobacco Smoke in a Non-Industrial Area of China, *International Union Against Cancer*, 88, 139–145 (2000)
- 53) Kim CH; Environmental Tobacco Smoke, Genetic Susceptibility, and Lung Cancer among Never Smokers, *UCLA Electronic Theses and Dissertations*, National Cancer Institute, 1-109(2016)
- 54) Liang D, Wang J, Li D, Shi J, Jing J, Shan B and He Y; Lung Cancer in Never-Smokers: A Multicenter Case-Control Study in North China, *Frontiers in Oncology*, 9(1354), 1-9(2019)
- 55) Butler KM, Huntington-Moskos L, Rayens MK, Wiggins AT, Hahn EJ; Access to Free Home Test Kits for Radon and Secondhand Smoke to Reduce Environmental Risks for Lung Cancer, *Journal of Environmental Health*, 81(3),1-6(2018)
- 56) Ohida T, Kaneita Y, Osaki Y, Harano S, Tanihata T, Takemura S, Wada K, Kanda H, Hayashi K, Uchiyama M; Is Passive Smoking Associated With Sleep Disturbance Among Pregnant Women?, *SLEEP*, 30(9), 1155-1161 (2007)
- 57) Schwartz J, Bottorff JL and

- Richardson CG; Secondhand Smoke Exposure, Restless Sleep, and Sleep Duration in Adolescents, *Sleep Disorders*, 1-7 (2014)
- 58) Zandy M, Chang V, Rao DP, Do MT; Tobacco smoke exposure and sleep: estimating the association of urinary cotinine with sleep quality, *Health Promotion and Chronic Disease Prevention in Canada*, 40(3) 70-80(2020)
- 59) Chang VC, Chaput JP, Roberts KC, Jayaraman G, Do MT; Factors associated with sleep duration across life stages: results from the Canadian Health Measures Survey, *Health Promotion and Chronic Disease Prevention in Canada*, 38(11), 404-418(2018)
- 60) Zhou B, Ma Y, Wei F, Zhang L, Chen X, Peng S, Xiong F, Peng X, NiZam B, Zou Y, Huang K; Association of active/passive smoking and urinary 1-hydroxypyrene with poor sleep quality: A cross-sectional survey among Chinese male enterprise workers, *Tobacco Induced Diseases*, 16(23), 1-10(2018)
- 61) Xu X, Liu D, Zhang Z, Sharma M and Zhao Y; Sleep Duration and Quality in Pregnant Women: A Cross-Sectional Survey in China, *Environmental Research and Public Health*, 14(7), 817-831(2017)
- 62) Sabanayagam C and Shankar A; The association between active smoking, smokeless tobacco, secondhand smoke exposure and insufficient sleep, *Sleep Medicine*, 12(1), 7–11(2011)
- 63) Davila EP, Lee DJ, Fleming LE, LeBlanc WG, Arheart K, Dietz N, Lewis JE, McCollister K, Caban-Martinez A, Bandiera F; Sleep disorders and secondhand smoke exposure in the U.S. population, *Nicotine & Tobacco Research*, 12(3), 294–299(2010)
- 64) Khorasanchi Z, Bahrami A, Avan A, Jaberi N, Rezaey M, Bahrami-Taghanaki H, Ferns GA, Ghayour-Mobarhan M; Passive smoking is associated with cognitive and emotional impairment in adolescent girls, *General Psychology*, 146 (1), 68-78(2019)
- 65) O’Callaghan F, O’Callaghan M, Scott JG, Najman J and Mamun AA; Effect of maternal smoking in pregnancy and childhood on child and adolescent sleep outcomes to 21 years: a birth cohort study, *BMC Pediatrics*, 19:70,1-12(2019)
- 66) Yin P, Jiang CQ, Cheng KK, Lam TH, Lam KH, Miller MR, Zhang WS, Thomas GN, Adab P; Passive smoking exposure and risk of COPD among adults in China: the Guangzhou Biobank Cohort Study, *THE LANCET*, 370: 751–757(2007)
- 67) Mohammad Y, Shaaban R, Al-Zahab BA, Khaltaev N, Bousquet J, Dubaybo B; Impact of active and passive smoking as risk factors for asthma and COPD in women presenting to primary care in Syria: first report by the WHO-GARD survey group, *International Journal of COPD*, 2013;8 473–482(2013)
- 68) Yildiz T, Topcu F, Celik Y, Akyildiz L, Ates G, Durak D; Effect of passive smoking on the development of chronic

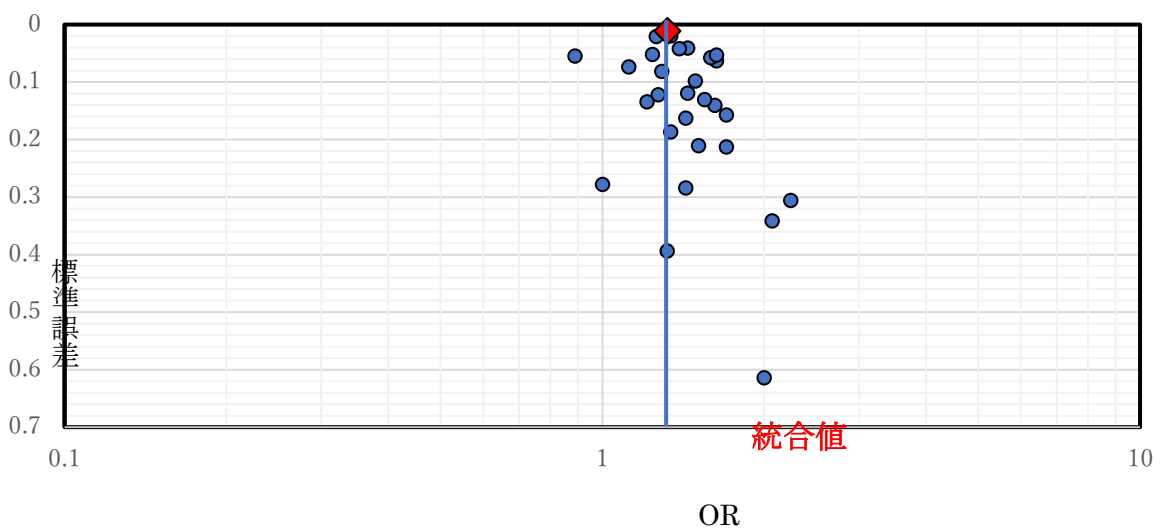
- obstructive pulmonary disease in southeastern Turkey, *Turkish Journal of Medical Sciences*, 40 (3): 349-355(2010)
- 69) Eisner MD, Balmes J, Katz PP, Trupin L, Yelin EH and Blanc PB; Lifetime environmental tobacco smoke exposure and the risk of chronic obstructive pulmonary disease, *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 4:7, 1-8(2005)
- 70) Zhou Y, Wang C, Yao W, Chen P, Kang J, Huang S, Chen B, Wang C, Ni D, Wang X, Wang D, Liu S, Lu J, Zheng J, Zhong N and Ran P; COPD in Chinese nonsmokers, *European Respiratory Journal*, 33(3), 509–518(2009)
- 71) Lee SJ, Kim SW, Kong KA, Ryu YJ, Lee JH, Chang JH; Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease among never-smokers in Korea, *International Journal of COPD*, 2015:10 497–506(2015)
- 72) Hagstad S, Bjerg A, Ekerljung L, Backman H, Lindberg A, Rönmark E and Lundbäck B; Passive Smoking Exposure Is Associated with Increased Risk of COPD in Never Smokers, *CHEST*, 145(6), 1298-1304 (2014)
- 73) Johannessen A, Bakke PS, Hardie JA and Eagan TML; Association of exposure to environmental tobacco smoke in childhood with chronic obstructive pulmonary disease and respiratory symptoms in adults, *Respirology*, 17, 499–505(2012)
- 74) Jordan RE, Cheng KK, Miller MR, Adab P; Passive smoking and chronic obstructive pulmonary disease: cross-sectional analysis of data from the Health Survey for England, *BMJ Open* 2011;1,1-9(2011)
- 75) Bonita R, Duncan J, Truelsen T, Jackson RT, Beaglehole R; Passive smoking as well as active smoking increases the risk of acute stroke, *Tobacco Control* ,8,156-160(1999)
- 76) Zhang X, Shu XO, Yang G, Li HL, Xiang YB, Gao Y, Li Q and Zheng W; Association of Passive Smoking by Husbands with Prevalence of Stroke among Chinese Women Nonsmokers, *American Journal of Epidemiology*, 161, 213–218(2005)
- 77) He Y, Lam TH, Jiang B, Wang J, Sai X, Fan L, Li X, Qin Y, Hu FB; Passive Smoking and Risk of Peripheral Arterial Disease and Ischemic Stroke in Chinese Women Who Never Smoked, *Circulation*, 118,1535-1540(2008)
- 78) Hou L, Han W, Jiang J, Liu B, Wu Y, Zou X, Xue F, Chen Y, Zhang B, Pang H, Wang Y, Wang Z, Hu Y and Li J; Passive smoking and stroke in men and women: a national population based case-control study in China, *Scientific Reports*,7(1),1-9(2017)
- 79) Lin MP, Ovbiagele B, Markovic D, Towfighi A; Association of Secondhand Smoke With Stroke Outcomes, *Stroke*, 47,2828-2835(2016)
- 80) You RX, Thrift AG, McNeil JJ, Davis SM and Donnan GA; Ischemic Stroke Risk and Passive Exposure to Spouses'

Cigarette Smoking, American Journal of Public Health, 89, 572-575 (1999)

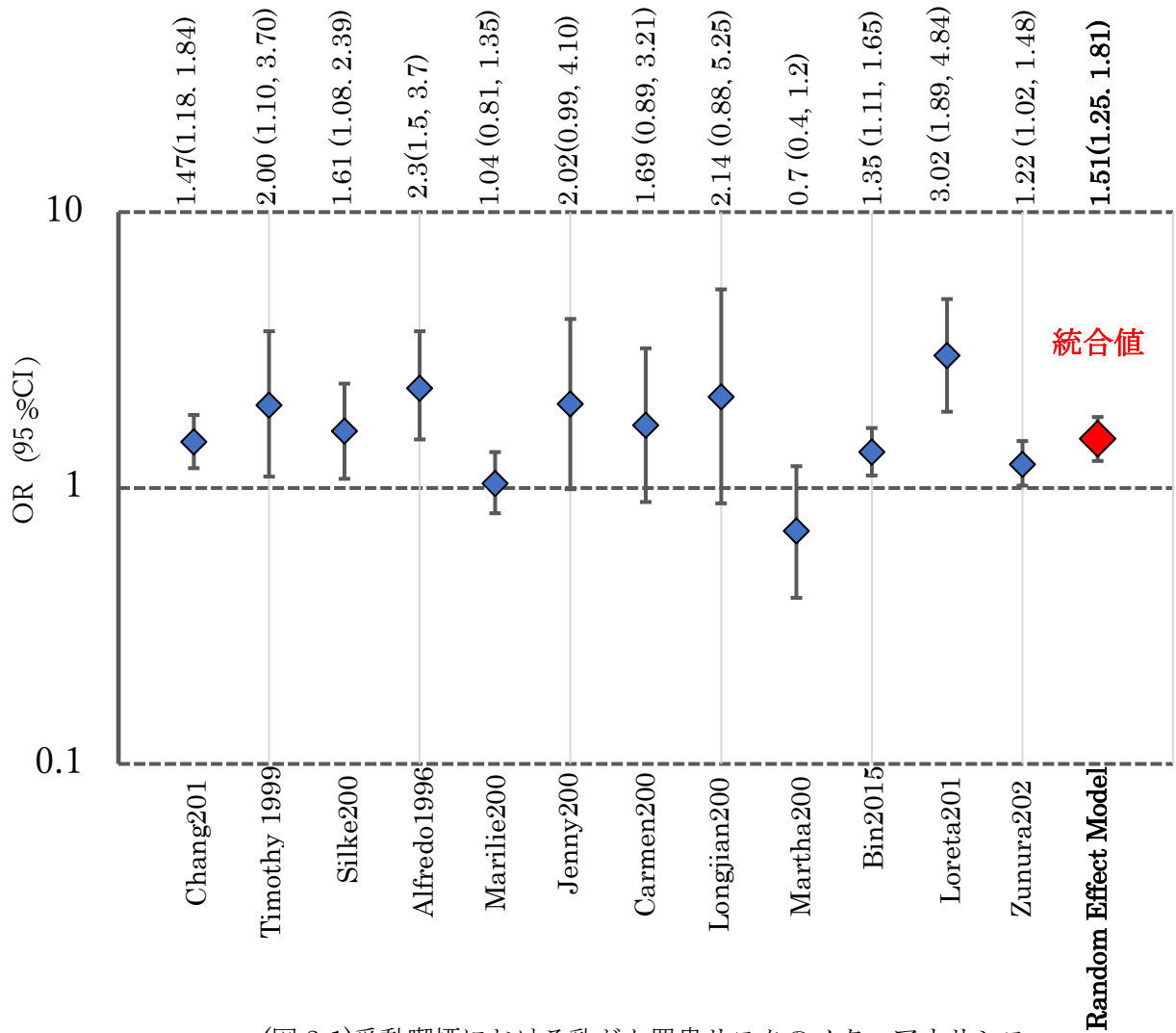
81) Shiue I; Modeling the Effects of Indoor Passive Smoking at Home, Work, or Other Households on Adult Cardiovascular and Mental Health: The Scottish Health Survey, 2008–2011, Environmental Research and Public Health, 11, 3096-3107(2014)



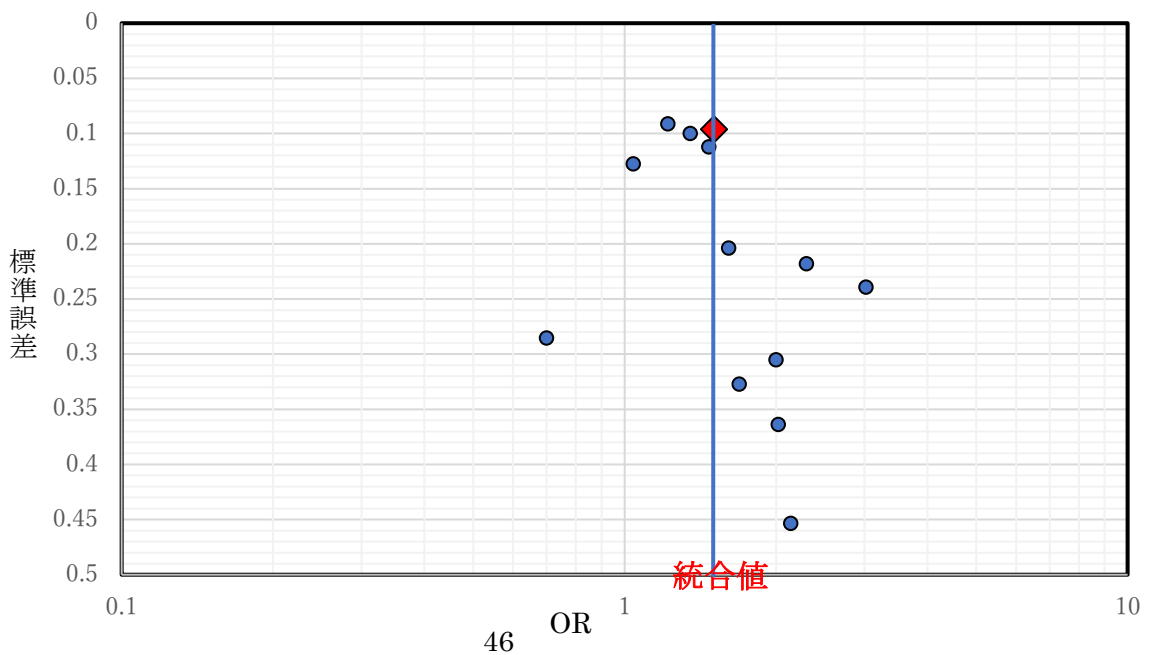
(図 2-1)受動喫煙における精神疾患罹患リスクのメタ・アナリシス



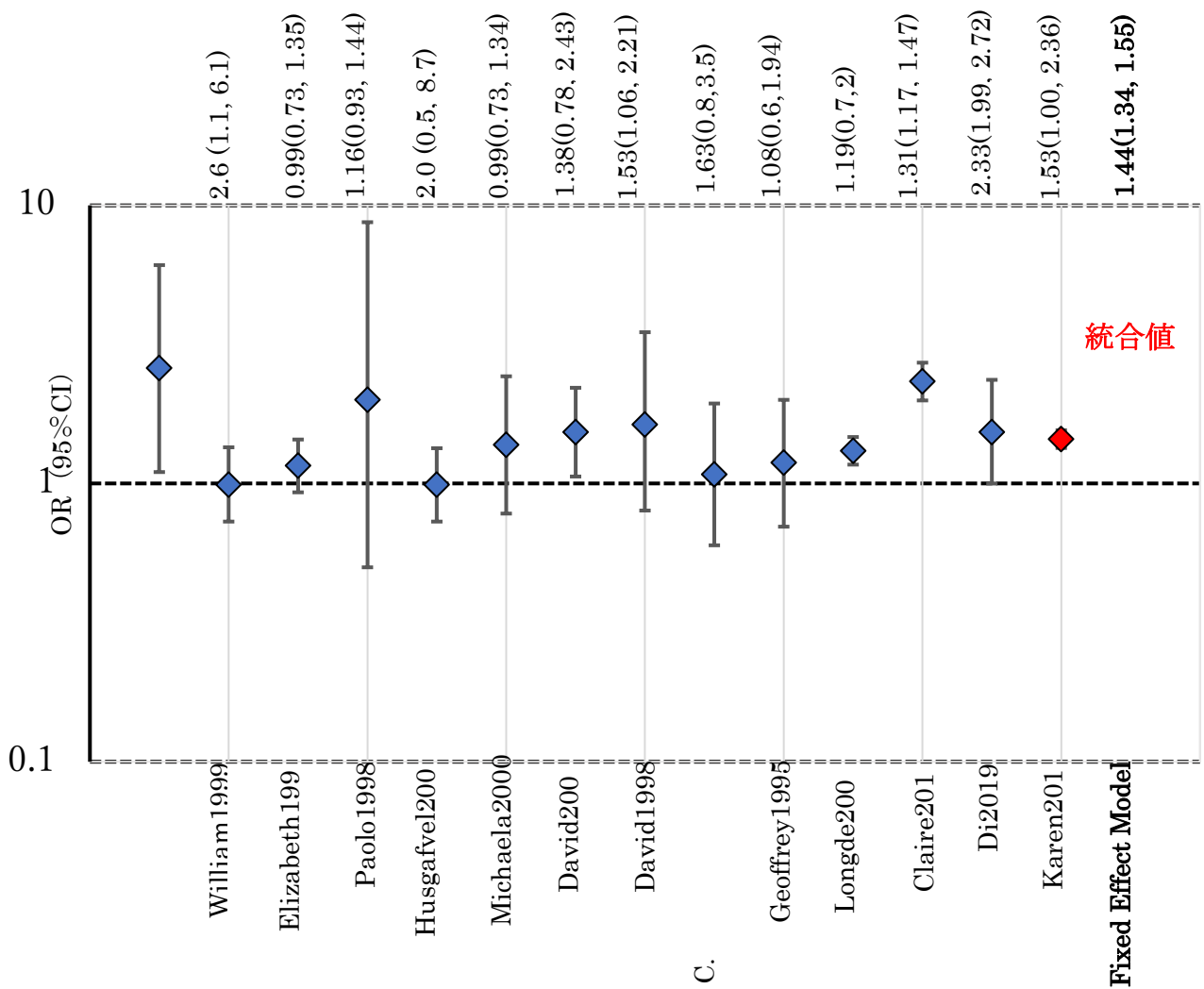
(図 2-2)Funnel plot-受動喫煙における精神疾患罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス



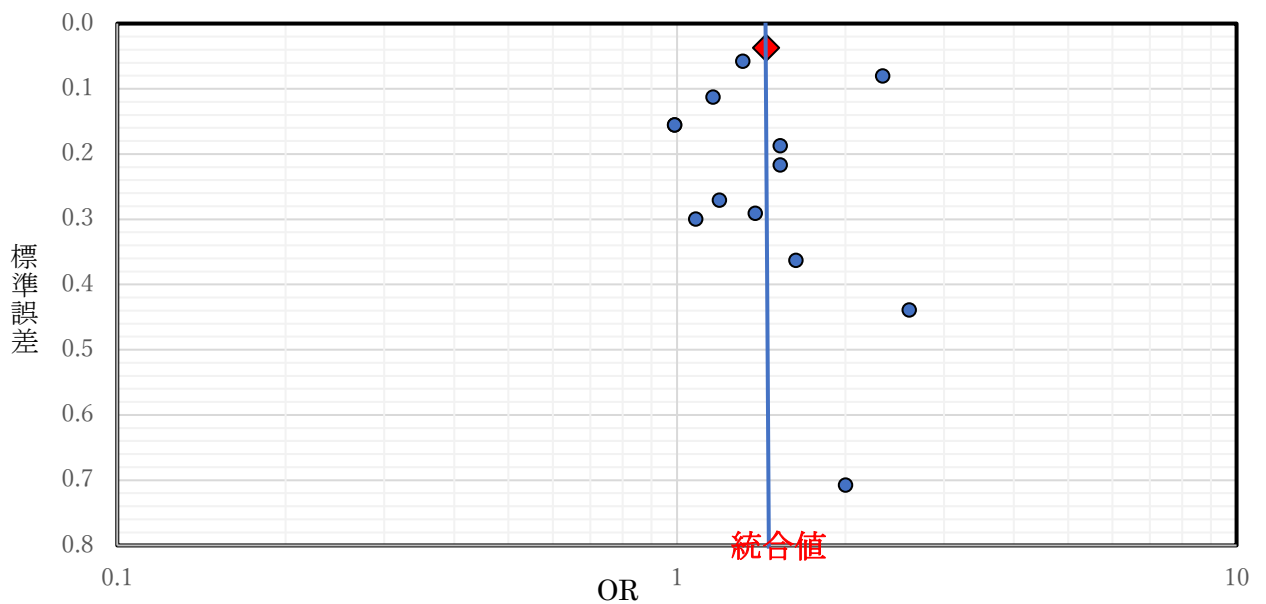
(図 3-1)受動喫煙における乳がん罹患リスクのメタ・アナリシス



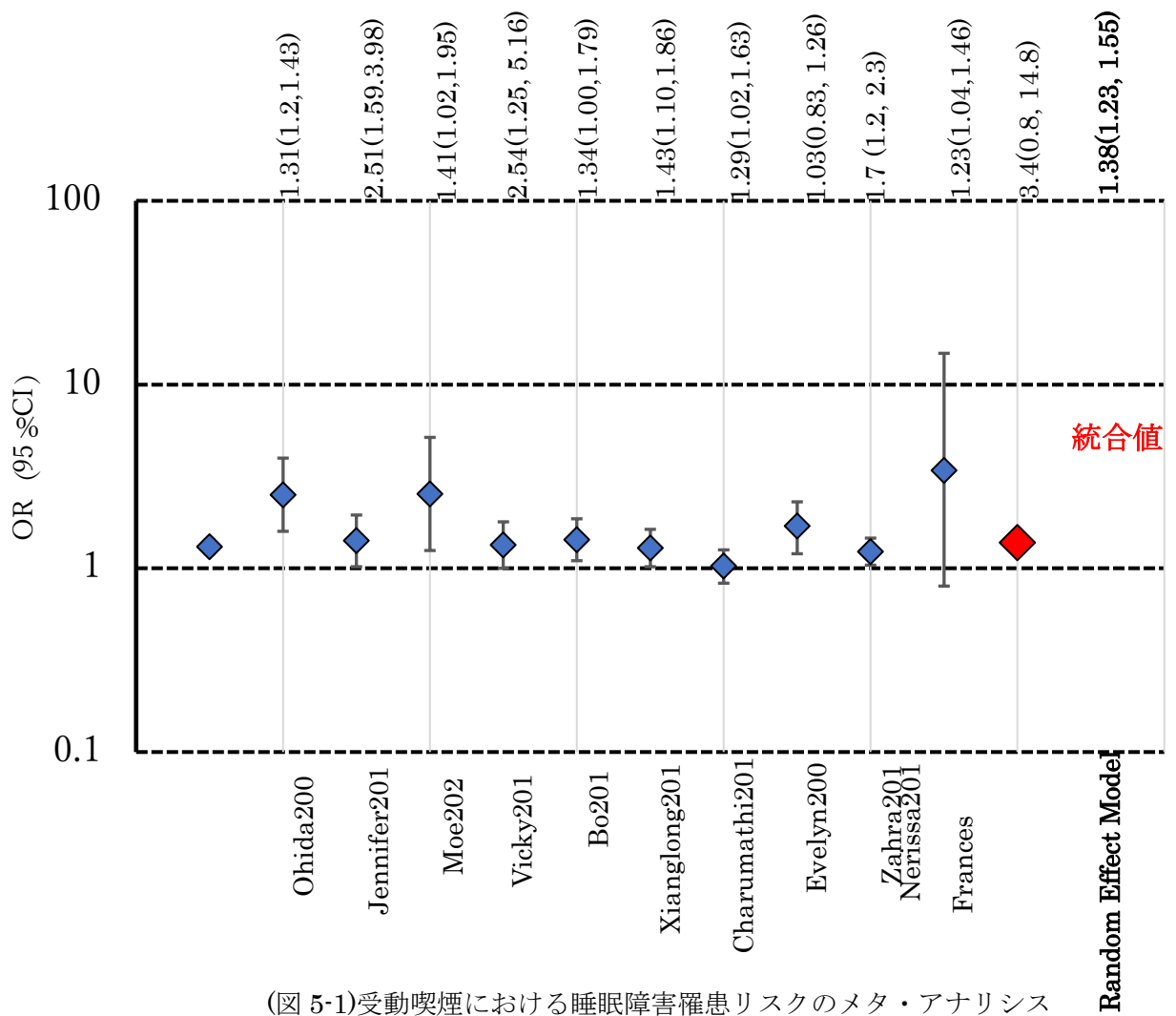
(図 3-2)Funnel plot-受動喫煙における乳がん罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス



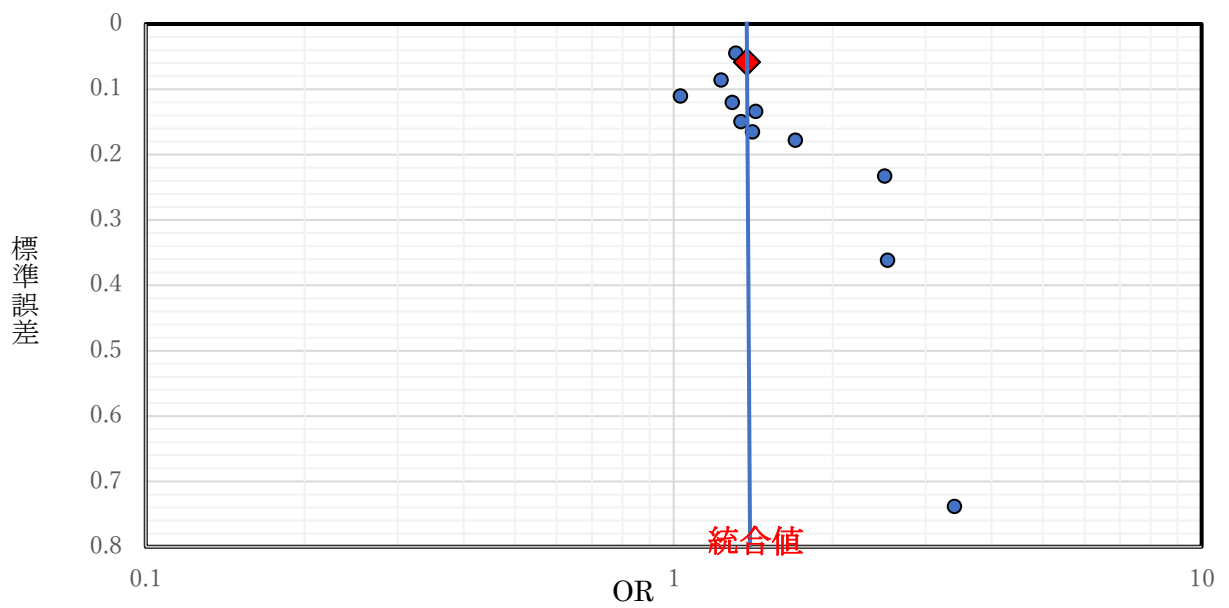
(図 4-1)受動喫煙における肺がん罹患リスクのメタ・アナリシス



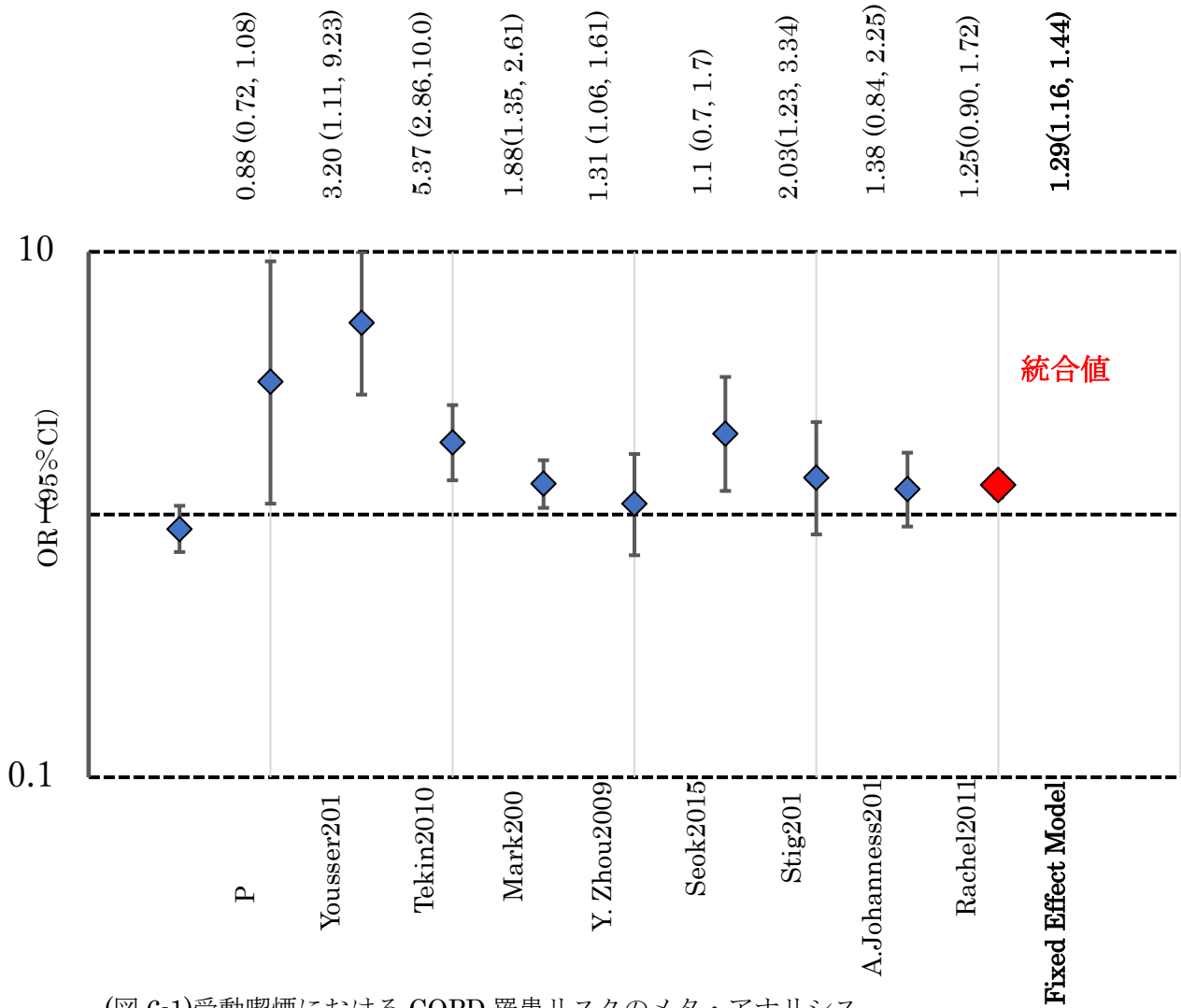
(図 4-2)Funnel plot-受動喫煙における肺がん罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス



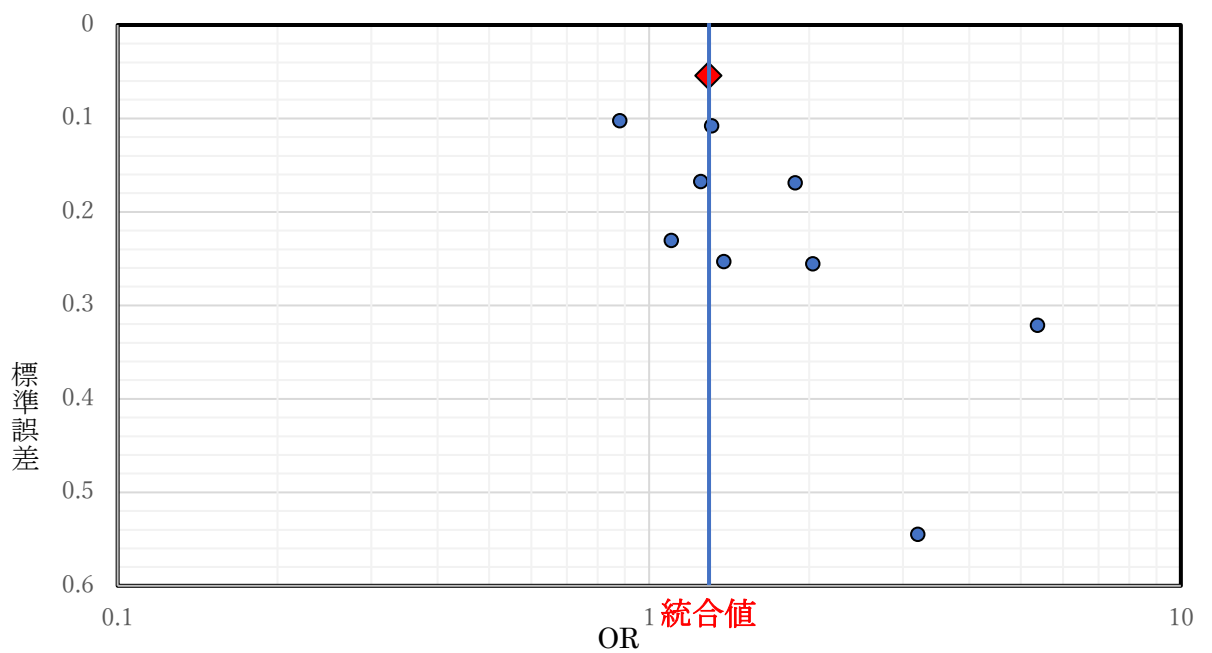
(図 5-1)受動喫煙における睡眠障害罹患リスクのメタ・アナリシス



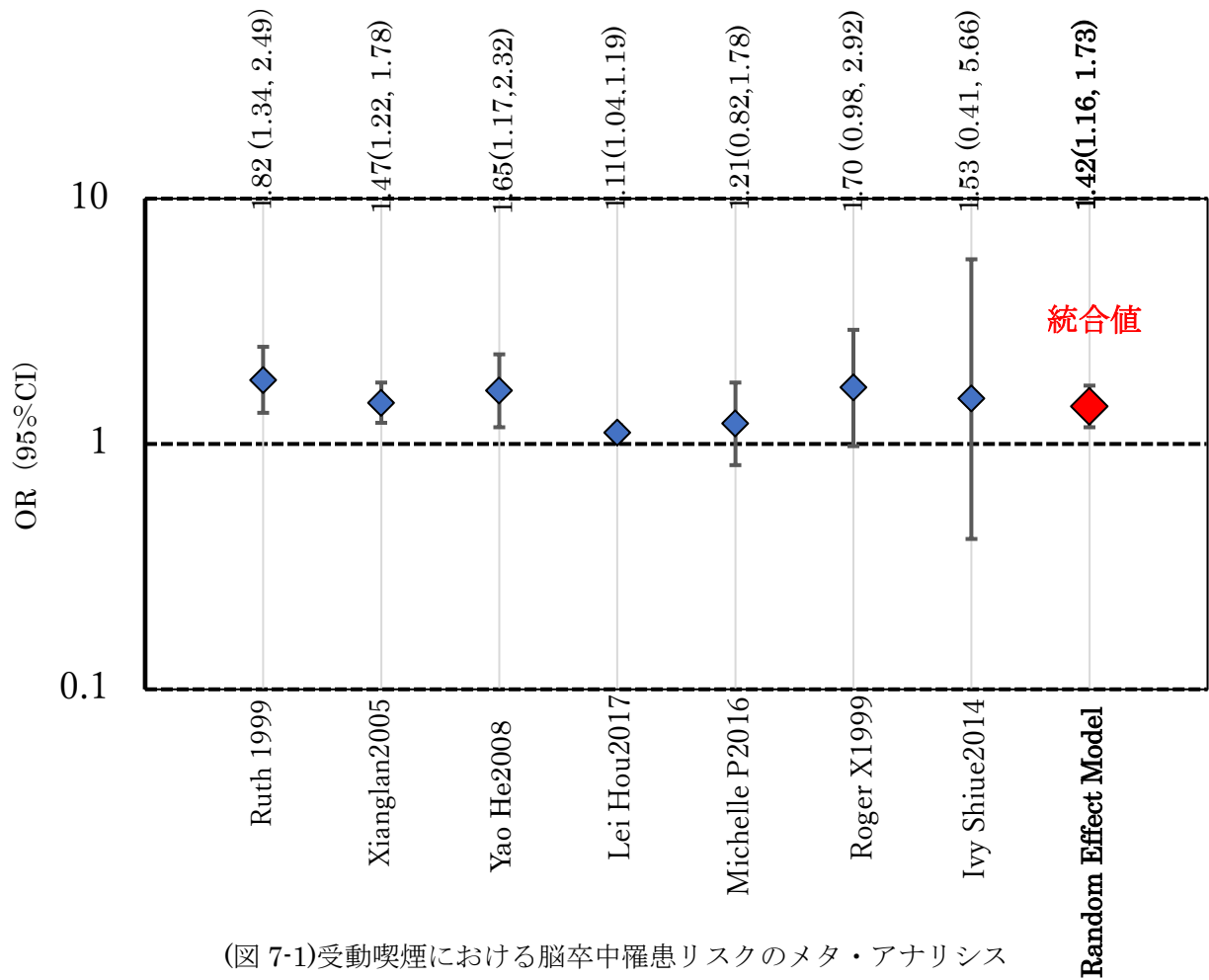
(図 5-2)Funnel plot-受動喫煙における睡眠障害罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス



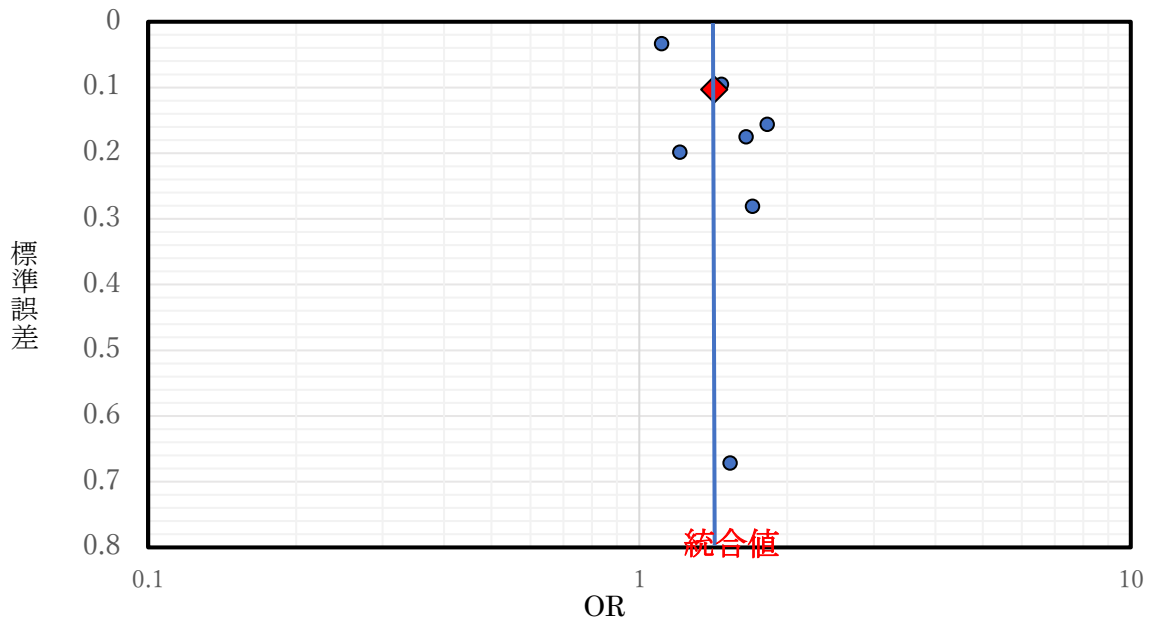
(図 6-1)受動喫煙における COPD 罹患リスクのメタ・アナリシス



(図 6-2)Funnel plot-受動喫煙における COPD 罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス



(図 7-1)受動喫煙における脳卒中罹患リスクのメタ・アナリシス



(図 7-2)Funnel plot-受動喫煙における脳卒中罹患リスクに関する採択論文の公表バイアス

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
大森久光	禁煙治療	福井次矢 高木誠 小室一成	今日の治療指針 私はこう治療している	医学書院	東京都	2023年1月	331-332

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 Heated Tobacco Products and Urinary Cotinine Concentrations in Their Spouses and Children.	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 t 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				<i>p</i> -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).

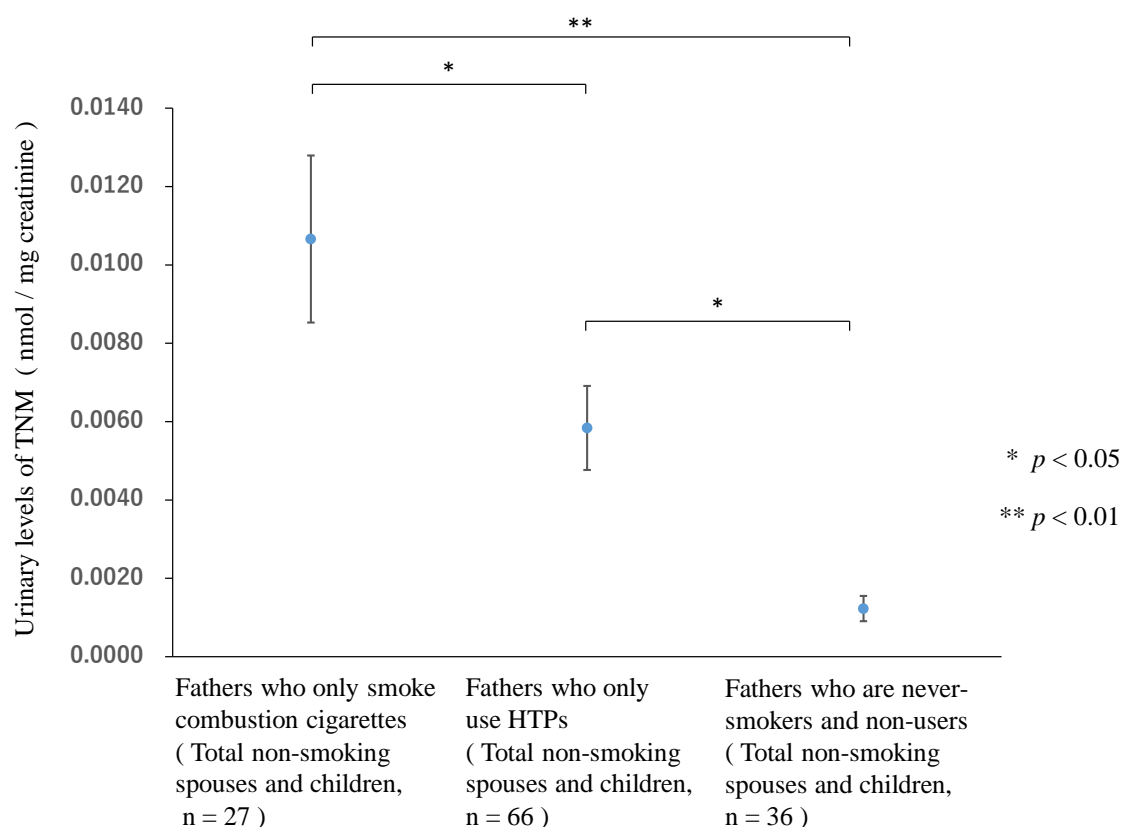


Figure 1. Comparison of total nicotine metabolite (TNM) urinary levels after creatine normalization among the three groups. (conc. Creatine).

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 Bemmelen, 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.