

厚生労働行政推進調査事業費補助金

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による  
健康影響の研究  
(21FA2001)

令和4年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 稲葉 洋平

令和5（2023）年 5月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究 ..... 1  
稲葉洋平

## II. 分担研究報告

1. 加熱式たばこから発生する多環芳香族炭化水素類のガス成分・粒子成分の同時捕集を使用した分析法の開発 ..... 9  
稲葉洋平, 内山茂久
2. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の分析 ..... 19  
鳥羽陽
3. 加熱式たばこから発生するイソシアネートの分析 ..... 24  
戸次加奈江
4. 紙巻たばこ用加熱装置から発生する有害化学物質の分析 ..... 29  
稲葉洋平, 高橋秀人, 中田光紀, 須藤江里子
5. 紙巻きたばこの加熱式喫煙における主流煙中の水銀に関する研究 ..... 38  
杉田和俊, 稲葉洋平
6. 新規加熱式たばこの副流煙分析 ..... 43  
稲葉洋平, 戸次加奈江, 牛山明
7. 電子タバコ E-リキッドの熱分解により発生するカルボニル化合物 ..... 49  
内山茂久, 斎藤みのり, 稲葉洋平
8. 数値解析による受動喫煙者の有害物質摂取量の評価 ..... 57  
李 時桓
9. 加熱式たばこエアロゾルが生体に及ぼす影響に関する実験的検討 ..... 61  
牛山明, 中舘和彦, 服部研之
10. 加熱式たばこの曝露試験より得られたマウスの諸臓器に対する分子病理学的解析 ..... 75  
煙山紀子, 中江大, 美谷島克宏
11. 加熱式たばこの in vivo 遺伝毒性評価 ..... 80  
戸塚 ゆ加里

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	88
IV.	

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
総括研究報告書

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

研究代表者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

健康増進法(改正)において、国は受動喫煙の防止に関する施策の策定に必要な調査研究を推進するように努めることとされている。加熱式たばこについては、紙巻たばこと比較して販売からの歴史が浅いことから、現時点の科学的知見では、加熱式たばこの受動喫煙による将来的な健康影響をまだ分かっていないことも多いため更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。これまでに研究班では、紙巻たばこで蓄積した成分分析の技術的知識をもとに新たな技術を開発してきており、WHO たばこ研究室ネットワークで国際標準化された分析法の開発を行ってきた(WHO TobLabNet SOP 8 and 9)。さらに、「加熱式たばこ副流煙の分析法を開発し、成分分析を一部実施」している。本研究では、これらの研究成果(分析法、実験装置)を基盤として、加熱式たばこ等の新たなたばこ製品について、①主流煙および環境たばこ煙の成分分析および評価、②動物実験を基盤として曝露マーカー、毒性試験、③副流煙の室内でのシミュレーションと実験環境下での実測などから受動喫煙による健康影響を研究、④加熱式たばこおよび新たなたばこ製品についての評価手法を検討、⑤本研究によって開発された健康影響の評価手法に従って、加熱式たばこなど新たなたばこ製品の評価を実施し、受動喫煙防止のための施策に活用することを目的としている。

2年度は、2020年から21年に販売開始された加熱式たばこ銘柄の副流煙ニコチン、たばこ特異的ニトロソアミン類(TSNAs)の分析を行った。副流煙のニコチン量は、先行研究の分析結果より低減されている銘柄と上昇した銘柄に分かれた。一方でTSNAs量は大きい変化はなかった。さらに、これまでに発がん性物質のベンゾ[a]ピレンが含まれる多環芳香族炭化水素類、多環芳香族炭化水素キノロン類、イソシアネート、揮発性のある水銀が定量された。次に、電子たばこの出力、グリセロール、プロピレングリコールとカルボニル化合物の発生量についての関係性を評価した。紙巻たばこ用加熱装置から発生する有害化学物質の調査を行い、加熱装置の温度、加熱方式によって発生量が異なることが確認された。これらの基礎データをもとに、加熱式たばこの喫煙による呼吸特性と化学種物質の挙動特性の解析に適用し、加熱式たばこ専用室でのたばこ成分の流れ、受動喫煙者の曝露評価を進めた。

一方で、我々が開発した動物ばく露装置について実際にマウスに加熱式たばこをばく露して装置としての妥当性を検証した。今年度は、加熱式たばこのエアロゾル吸入時のマウスの心拍への影響を検討したところ、加熱式たばこのばく露においてエアロゾル吸入直後に心拍の乱れ(特にRR間隔の不規則な増大)が観察された。次に、肺・肝臓・心臓・腎臓組織中の遺伝子発現解析では、IQOS曝露群において一部の炎症関連遺伝子並びに酸化ストレス関連因子発現に変動が認められた。C57BL/6Jマウス肺より抽出したgDNAを用いて、気管内投与によるDNA付加体の網羅的解析を行なったところ、control群と3R4F群、IQOS群の3つにクラスタリングができた。IQOSのクラスタリングに寄与する付加体を見出した。今後、この付加体の構造を検討するとともに、IQOSの遺伝毒性のメカニズムの解明を目指していく。引き続き、遺伝毒性、病理組織学的解析なども曝露期間を調整して評価を再度行っていく。

研究分担者	所属施設名
高橋秀人	国立保健医療科学院
牛山 明	国立保健医療科学院
戸次加奈江	国立保健医療科学院
煙山 紀子	東京農業大学
杉田和俊	麻布大学
中舘 和彦	明治薬科大学
李 時桓	名古屋大学
鳥羽 陽	長崎大学
中田 光紀	国際医療福祉大学

研究協力者	所属施設名
内山茂久	国立保健医療科学院
齋藤みのり	千葉大学
小倉裕直	千葉大学
美谷島 克宏	東京農業大学
中江 大	帝京平成大学
小宮 雅美	国立がん研究センター研究所
服部 研之	明治薬科大学
若井 美樹	明治薬科大学
須藤 江里子	明治薬科大学

## A. 研究背景と目的

健康増進法（改正）において、国は受動喫煙の防止に関する施策の策定に必要な調査研究を推進するように努めることとされている。加熱式たばこについては、紙巻たばこと比較して販売からの歴史が浅いことから、現時点の科学的知見では、加熱式たばこの受動喫煙による将来的な健康影響をまだ分かってないことも多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。

研究代表者が所属する国立保健医療科学院は、紙巻たばこで蓄積した成分分析の技術的知識をもとに新たな技術を開発してきており、2014年に

は WHO-CC 指定協力研究センターに認定され、さらに、WHO-TobLabNet(たばこ研究室ネットワーク)に参画し、常に新しい技術開発に関する情報交換・国際標準化された分析法の開発を行ってきた (WHO TobLabNet SOP 8 and 9) .また、「国際標準化された分析法を使用して、日本国内で販売されている加熱式たばこ製品群の成分分析を行い、学術論文においても発表」している (JUOEH. 2017; 39: 201-07, Chem. Res. Toxicol. 2018, 31, 7, 585–593, Chem. Res. Toxicol. 2020, 33, 2, 576–583) . これまでには、「加熱式たばこ副流煙の分析法を開発し、成分分析を一部実施」している (H30-R3 厚生労働行政推進調査事業費補助金) .また、AMED 研究等で、加熱式たばこ喫煙者、加熱式たばこ受動喫煙者の曝露成分の分析法の開発、実態調査を行い、加熱式たばこの家族においてニコチン代謝物、たばこ特異的な発がん性物質を確認した。さらに、動物曝露用の加熱式たばこ喫煙装置の開発を行い、その曝露量を分析し、現在は論文が公開されている。

本研究では、これらの研究成果（分析法、実験装置）を基盤として、加熱式たばこ等の新たなたばこ製品について、①主流煙および環境たばこ煙の成分分析および評価を行う。また、②動物実験を基盤として曝露マーカー、毒性試験、副流煙の室内でのシミュレーションと実験環境下での実測などから受動喫煙による健康影響を研究し、加熱式たばこおよび新たなたばこ製品についての評価手法を検討する。③本研究によって開発された健康影響の評価手法に従って、加熱式たばこなど新たなたばこ製品の評価を実施し、受動喫煙防止のための施策に活用する（総合評価）.また、新たなたばこ製品は、今後も新製品が継続的に開発、販売されていくことが見込まれるため、最新の市場状況を反映した本研究の科学的知見の蓄積を

生かしてたばこ対策の政策立案を行うことを目的としている。

①「成分分析」に関して、これまでの研究を継続し、WHO-TobLabNet 連携し、加熱式たばこの成分分析法の国際標準化を行う。加熱式たばこ製品の主流煙・副流煙分析は、毎年、市場から新たな製品や加熱装置等が投入されており、これらについて成分分析をすすめる。

②「受動喫煙の健康影響評価」に関しては、動物曝露用の加熱式たばこ喫煙装置を使用して、加熱式たばこの毒性実験を行う。亜急性曝露・中期的な曝露からの呼吸器を中心としてその他の臓器への影響を評価する。副流煙・呼出煙（主流煙の30%と報告）の分析値をもとに、加熱式たばこ喫煙室での副流煙・呼出煙の対流から加熱式たばこ専用室の条件で開口部の煙の流出量と専用室で飲食する非喫煙者の曝露量シミュレーション（曝露のリスク評価）を行う。

③上記①、②より、経年的に情報を蓄積し評価するとともに、主として最終年度に加熱式たばこの健康影響評価を行う。加熱式たばこ喫煙者に関しては、確立した喫煙法をもとに、主流煙の成分分析を実施して、リスク評価を行う。実験室において、部屋の大きさ、換気状態、喫煙本数等一定の条件下において、環境たばこ煙の捕集・分析を行い、シミュレーションの妥当性を検証する。なお、加熱式たばこ互換機、紙巻たばこを加熱式たばこの様に加熱する装置についても、必要に応じて成分分析や健康影響の評価等を行っていく。

## B. 今年度の研究成果

### 1. 加熱式たばこから発生する多環芳香族炭化水素類のガス成分・粒子成分の同時捕集を使用した分析法

我々の先行研究によるとガス状の有害化学物質

であるホルアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレインなど発生量は低減しているものの多くの成分が加熱式たばこ主流煙から検出されていた。そこで粒子状の成分についても有害化学物質量は低減しているが、有害化学物質の数はそれほど低下をしていないのではないかと考えている。そこで本研究では、燃焼由来と考えられている多環芳香族炭化水素（PAHs）の加熱式たばこに適用した主流煙捕集法を確立し、GC/MS/MSによる一斉分析を行うことを目的とした。本研究では、PAHのガス成分を固体捕集にすることで、PAHのガス成分と粒子成分の計29成分の同時分析が可能となり、捕集から分析までの効率化を達成した。

紙巻きたばこ11銘柄の主流煙を分析したところ、全ての銘柄に2環から6環までのPAH計29成分を定量できた。加熱式たばこ8製品6銘柄の主流煙を分析したところ、IQOS3（銘柄;REGULAR）、IQOS ILUMA（TEREA）、glo Hyper+（KENT TRUE TOBACCO）、PloomS 2.0（REGULAR）、PloomX(RICH)の4製品ではPAH23成分、glo hyper（KENT TRUE TOBACCO）はPAH24成分を定量した。NOS(REGULAR)及び THERMALOU(3R4F)は、デバイスによってはそれぞれPAH29成分、PAH27成分を定量できたものもあった。以上の結果から、加熱式たばこの喫煙においても発がん性が認められているベンゾ[a]ピレンの曝露は生じた。基本的に、主流煙のPAH発生量は「温度」に依存している。本研究法で定量したPAHは、加熱や燃焼によるたばこ葉からの移行によるものと、燃焼によって発生するものの2通りが考えられる。紙巻きたばこは、燃焼により発生したPAH及び、たばこ葉から移行したPAHが主流煙で定量された。一方、加熱式たばこは、たばこ葉に含まれるPAHが加熱により主流煙に移行した可能性もある。また、加熱式たばこは、加熱原理、加熱温度、たばこ葉によ

って移行率が変動するため製品によって曝露量が異なった.NOS 及び THERMALOUOC の一部のデバイスでは、PAH 濃度が高値であることから、加熱温度が高温となり、PAH が発生した可能性も考えられる.今後は、たばこ葉に含まれる PAH 量を分析する必要があると考える.

## 2. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の分析

活性酸素種 (ROS) を生成し、酸化ストレスを引き起こす多環芳香族炭化水素キノン類 (PAHQ) を測定対象とし、日本国内で販売されている加熱式たばこ 6 種 (IQOS3, IQOS ILUMA, glo, glo hyper+, PloomS, PloomX) の各レギュラー及びフレーバースティック、比較対象としての紙巻たばこについて、主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類 (PAHQ) を定量することを目的とした.各主流煙について、自動喫煙装置を用いてフィルターに捕集し、ジクロロメタンで抽出した後、PAHQ を還元・トリメチルシリル (TMS) 誘導体化してガスクロマトグラフ-タンデム質量分析計 (GC-MS/MS) で測定した.加熱式たばこ及び紙巻たばこ主流煙中の PAHQ を定量した結果、最も多くて 21 種類の PAHQ を定量することに成功した.PAHQ の組成にスティックタイプの違い (フレーバーの有無) は影響せず、1~3 環 PAHQ が生成しやすいことが示唆された.加熱式たばこ主流煙中の PAHQ 濃度は、全ての加熱式たばこ製品で紙巻たばこの 3%以下であり、たばこ製品の主流煙における PAHQ の生成には、燃焼・加熱温度が深く関与していた.

## 3. 加熱式たばこから発生するイソシアネートの分析

近年、国内外で普及する新型たばこは、燃焼を伴

わず加熱により使用するため、有害成分の低減が特徴とされているが、主流煙中からは、多種類の成分が検出されていることや、専用リキッドを充填し加熱する電子たばこにおいては、紙巻たばこを上回る量の有害成分が発生することが報告されている.そのため、これら新型のたばこを介した喫煙者及び非喫煙者への健康影響が懸念されている.本研究では、有害成分の中でも、アレルギー喘息などの免疫系、中枢神経系、心循環器系などの各種疾患の発症への健康影響が危惧されているイソシアネート化合物を対象に 1), 国内で販売される新型たばこの主流煙中のイソシアネート濃度を調べ、喫煙者への曝露量を明らかにすると共に、受動喫煙の影響を調べるための基礎データを得ることとした.本研究結果より、対象としたイソシアネート 5 成分全てが検出され、これらは加熱温度により発生量変動するものと予想されたが、どの製品または銘柄からもほぼ同様な組成のイソシアネートが検出された.また、これら各成分の発生量は、紙巻たばこに比べて大きく低減されていたものの、互換機 (NOS) では殆ど同程度の発生量であった.そのため、習慣的な喫煙によってイソシアネートに継続的に曝露されることで、健康リスクを担う可能性が考えられた.さらに、これまでの報告から、新型たばこの喫煙により接取する可能性のあるイソシアネートは、大気中において有害とされる摂取量を有意に超過している可能性があり、様々な有害成分の複合的な曝露因子の一つとして、健康影響への関与が示唆された.

## 4. 紙巻たばこ用加熱装置から発生する有害化学物質の分析

現在、日本では紙巻たばこ用加熱装置が販売されており、その装置を使用し喫煙した場合に有害化学物質の曝露量が開示されていない状況であ

る。本研究では国内で販売されている紙巻たばこ用加熱装置を購入し、紙巻たばこで吸煙した条件で発生する主流煙に含まれるタール・ニコチン・一酸化炭素・TSNAs の分析を行った。紙巻たばこ加熱装置は、装置使用法が2種類存在している。1つは紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプと紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプに分かれている。それぞれの装置10製品について評価を行った。その結果は、ニコチン量が1 mg/cig.発生し、主流煙 CO 量 (mg/cig) は 0.012-5.83 となった。さらにたばこ特異的ニトロソアミン量 (ng/cig) は 16.8-11021 となった。本研究から同じ紙巻たばこ銘柄を各製品で分析した結果は、製品ごとに発生量が異なることが確認された。この結果から紙巻たばこ用加熱装置と紙巻たばこ銘柄の組合せによって、有害化学物質の曝露量は大きく変動することに留意し使用する必要がある。

## 5. 紙巻たばこの加熱式喫煙における主流煙中の水銀に関する研究

本年度は、この紙巻たばこを加熱式として喫煙できる喫煙デバイスを用いて、標準タバコ (3R4F) から発生する水銀について測定した。

本研究では加熱式デバイス 7種類、そのうち6種類については加熱温度の調整が可能であったことから、最高温度(H)及び最低温度(L)の設定条件で、HCI (Health Canada Intense)に準じた機械式喫煙法で発生した水銀を測定した。その結果、発生した水銀量は1回あたり平均 2.6ng (0.7~5.3ng/cig)であり、加熱式たばこと同等のレベルであった。また、主流煙中の水銀量と加熱温度関係については、明確な関係は認められず、温度条件やデバイスの構造など詳細な検討が望まれた。主流煙中の水銀量から、紙巻たばこの加熱式喫煙で1

日でおおよそ 50ng の水銀を曝露することが推定された。

## 6. 新規加熱式たばこの副流煙分析

これまでに我々は加熱式たばこ副流煙の捕集法・分析法を開発してきた。今年度は、2020年から2021年にかけて新たに投入された加熱式たばこ製品について副流煙の捕集を行いニコチン、メンソール、たばこ特異的ニトロソアミン (TSNAs) の分析を行った。また、先行研究で得られた結果と比較して、副流煙の含有量が変化しているのか。検証を行った。副流煙を捕集した抽出液について、ニコチンの分析はガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器 (GC/FID) で行った。TSNAs の分析は高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) で分析を行った。分析対象の加熱式たばこ製品は IQOS ULUMA, glo Hyper+, Ploom X とした。

分析対象のすべての製品からはニコチン、TSNAs が定量されたことから、新規加熱式たばこ製品からも副流煙が発生することが分かった。IQOS ILUMA の総ニコチン量は 0.011 mg/stick となり、先行研究で報告した IQOS3 の 0.057 よりも低い値となった。一方で glo Hyper+ と Ploom X は先行研究で行った製品よりも上昇していた。次に TSNAs に関しては、IQOS ILUMA が低減したものの、glo Hyper+, Ploom X は上昇していた。今回のように加熱式たばこ製品の新たな製品から化学物質量が上昇することがあるために、たばこ製品の継続的なモニタリングはたばこ対策を行う上で必要であると考えられる。これまでの加熱式たばこの副流煙の有害化学物質量は紙巻たばこと比較すると低い値である。我々の研究から加熱式たばこの呼出煙によって受動喫煙が生じることが確認されているため、加熱式たばこであっても

非喫煙者に配慮する必要がある。

## 7. 電子タバコ E-リキッドの熱分解により発生するカルボニル化合物

電子タバコから発生するカルボニル化合物の生成メカニズムを検討した。電子タバコの E-リキッドは、主成分であるグリセロール (GLY) とプロピレングリコール (PG) にニコチンや香料を添加した溶液である。本研究では任意の比率の GLY と PG から構成される添加物を含まない純粋な E-リキッドを作製し、様々な電力におけるカルボニル化合物を定性・定量することで熱分解反応を考察した。電力 100W の時、PG 100%の E-リキッドから発生する粒子状物質 (煙) は GLY 100%のときの 3 倍程度多いが、反対にカルボニル化合物の発生量は少ない。PG は沸点が GLY より低く気化→凝縮→粒子化しやすいためと考えられる。PG 100%の時は、全体的に熱分解物質発生量は非常に少ないが、GLY の比率が高くなるにつれ発生量が増加した。また、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン、プロパナール、アクロレイン、アセトールはガス状で多く存在したが、グリオキサール、メチルグリオキサールは粒子状でも多く存在した。ガス状のホルムアルデヒド発生量は GLY 0%の時は 31  $\mu\text{g}/10\text{s}$  であるが、GLY 100%の時は 350  $\mu\text{g}/10\text{s}$  に達する。PG が 2 価アルコールであるのに対し GLY が 3 価であり水酸基が少ないことが原因と考えられる。一方、電力 200W の時は、熱分解物の発生量は極めて高く、ホルムアルデヒドが 22000  $\mu\text{g}/10\text{s}$  発生する場合もあった。電力が高くなると E-リキッドの蒸発平衡が崩れるためコイルの温度が 600°C を超え熱分解反応が促進されることが推測される。

## 8. 数値解析による受動喫煙者の有害物質摂取量

## の評価

喫煙によって発生するタバコの煙は、主流煙と副流煙の両方の発がん物質として定義され、人の健康への危険性が広く認識されている。したがって、喫煙室などの屋内空間では、喫煙によって発生する有害物質を効率的に除去するための換気設計が必要である。最近では、加熱式タバコ (紙巻き状の非燃焼加熱式タバコ) は従来の紙巻きタバコより発生する副流煙が少ないため、加熱式タバコ専用の室内喫煙エリア (レストラン、喫茶店など) も多く設置されている。しかし、加熱式タバコによる健康への危険性はまだ明らかになっておらず、室内環境における受動喫煙による有害性及びその健康影響については明確な検討事例が少ない。そこで本研究では、前年度に行った喫煙時の呼吸流量と、加熱式タバコの副流煙と主流煙の分析結果をもとに非定常計算用の数値解析モデルを構築する。また、構築した数値解析モデルを用い、受動喫煙防止のために喫煙者と受動喫煙者の離れた距離による有害物質の摂取量について定量的に検討した。

検討結果によると、受動喫煙者が摂取する CO<sub>2</sub> 濃度とニコチン濃度は喫煙者と離れている距離が近くなることに連れ、摂取量の増加が見られた。また、WHO ガイドラインによるニコチン 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  と受動喫煙者の呼吸による CO<sub>2</sub> を基準とすると、離れた距離 0.5 m において、加熱式タバコの受動喫煙による影響は、CO<sub>2</sub> が約 145.2%の増加 (45.24  $\mu\text{m}^3 \rightarrow 65.70 \mu\text{m}^3$ )、ニコチンが約 1,995%の増加 (57.75  $\text{pm}^3 \rightarrow 1,152.34 \text{pm}^3$ ) する結果が見られた。

## 9. 加熱式たばこエアロゾルが生体に及ぼす影響に関する実験的検討

加熱式たばこは、たばこ葉が燃焼しない温度で加熱することで燃焼によって発生する有害化学

物質量を低減しているとされているが、化学物質の複合ばく露は変わらず起こるため健康への影響が懸念されるが生体影響に関する報告は少ない。その理由は動物等に加熱式たばこ主流煙を適切にばく露する装置がなく実験系が組めなかったためである。昨年度までに我々は加熱式たばこ用の動物ばく露装置を開発してばく露実験を可能とした。本年度はその装置を用いて、病理組織学的観察による影響と、酸化ストレスマーカーへの影響を探索した。本年度はマウスに対して、1日5本の加熱式たばこ主流煙を、4週間にわたりばく露をした。結果としては病理組織学的変化においては、短期間のばく露では明確な変化は認められず、より長期間のばく露・高用量のばく露などの条件による研究が必要であると考えられた。また、酸化ストレスマーカーの分析では、ばく露を行う際のマウスの拘束によって拘束ストレスが発生している可能性が示唆され、拘束ストレスによる影響により加熱式たばこのばく露による影響がマスキングされてしまう可能性が示唆された。

一方で、テレメトリー法により、加熱式たばこのエアロゾル吸入時のマウスの心拍への影響を検討したところ、加熱式たばこのばく露においてエアロゾル吸入直後に心拍の乱れ（特にRR間隔の不規則な増大）が観察された。この変化は可逆的ではあるが、加熱式たばこのエアロゾルに含まれる成分が一過性に心臓へのストレスを引き起こしている可能性があり、引き続き検討が必要である。

#### 10. 加熱式たばこの曝露試験より得られたマウスの諸臓器に対する分子病理学的解析

本分担研究は、本研究の別の分担研究者である国立保健医療科学院の牛山らにより開発された主流煙エアロゾルを高い効率で動物に曝露する加熱式たばこ喫煙装置を使用して、加熱式たばこ

の毒性病理学的影響について解析した。本分担研究は、牛山らにより実施された、雄性 gpt delta マウス（入荷時8週齢）に、4週間に亘って1日あたり5本分を午前と午後1時間ずつ拘束し噴霧により曝露した動物実験から供給を受けた材料を用い、病理組織学的解析および組織中遺伝子発現解析を行った。その結果、病理組織学的に胸腺ではごく軽度の病変が認められたが、その程度ないし頻度において Air 群・IQOS 曝露群間で明らかな差はなく、IQOS 曝露による免疫系組織への影響を見出すには至らなかった。しかしながら、肺・肝臓・心臓・腎臓組織中の遺伝子発現解析では、IQOS 曝露群において一部の炎症関連遺伝子並びに酸化ストレス関連因子発現に変動が認められた。このことから、本実験系では、IQOS 曝露による臓器障害を示唆する組織学的な変化は見られなかったものの、病態形成以前の段階において遺伝子発現への影響が見出された可能性があるものと考えられた。

#### 11. 加熱式たばこの *in vivo* 遺伝毒性評価

gpt delta マウスおよび C57BL/6J マウスを用いて、IQOS 主流煙捕集液の反復気管内投与による肺を対象とした *in vivo* 遺伝毒性について検討した。研究代表者（稲葉）らが開発した方法で加熱式たばこから発生する主流煙エアロゾルを PBS に捕集した液を、gpt delta マウスおよび C57BL/6J マウスに、1匹あたり 100 $\mu$ Lx 40 回の気管内投与を行なったのち、屠殺解剖を行なった。摘出した gpt delta マウス肺より抽出した gDNA の gpt 遺伝子における変異頻度を解析した結果、Control 群と比べて紙巻きたばこ（3R4F）群、IQOS 群の変異頻度はそれぞれ 1.3 倍、2.0 倍と上昇傾向にあった。変異スペクトルの解析を行なったところ、control と比較して 3R4F および IQOS 曝露群に共通して

A:T→C:G, G:C→T:A 変異が増加した.さらに, IQOS 曝露群では G:C→C:G 変異の増加も観察された.

C57BL/6J マウス肺より抽出した gDNA を用いて, 気管内投与による DNA 付加体の網羅的解析を行なったところ, control 群と 3R4F 群, IQOS 群の3つにクラスタリングができた.IQOS のクラスタリングに寄与する付加体を見出した.今後, この付加体の構造を検討するとともに, IQOS の遺伝毒性のメカニズムの解明を目指していく.

### C. 結論

2 年度は, 加熱式たばこ銘柄の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素類, 多環芳香族炭化水素類キノロン類, イソシアネートと水銀の分析を行った.さらに, 紙巻たばこ用加熱装置が市場に販売されているものの, 使用した際に発生する有害化学物質について公開されていない.そこで, 紙巻たばこ用加熱装置に市販の紙巻たばこを適用して分析を行った.電子たばこから発生するカルボニル化合物についても分析を行った.2020 から 2021 年に販売開始された新規加熱式たばこ製品から発生する副流煙成分分析を行った.先行研究の値より発がん性物質含有量は上昇しているものの, 紙巻たばこと比較すると低い値であった.

一方で, 我々が開発した動物ばく露装置について実際にマウスに加熱式たばこをばく露して装置としての妥当性を検証した.本年度はその装置を用いて, 病理組織学的観察による影響と, 酸化ストレスマーカーへの影響を探索した.テレメトリ法により, 加熱式たばこのエアロゾル吸入時のマウスの心拍への影響を検討したところ, 加熱式たばこのばく露においてエアロゾル吸入直後に心拍の乱れ (特に RR 間隔の不規則な増大) が観察された.この変化は可逆的ではあるが, 加熱式

たばこのエアロゾルに含まれる成分が一過性に心臓へのストレスを引き起こしている可能性がある.次に, 加熱式たばこの in vivo 遺伝毒性評価を行った.gpt delta マウス肺より抽出した gDNA の gpt 遺伝子における変異頻度を解析した結果, Control 群と比べて紙巻きたばこ (3R4F) 群, IQOS 群の変異頻度はそれぞれ 1.3 倍, 2.0 倍と上昇傾向にあった.変異スペクトルの解析を行なったところ, control と比較して 3R4F および IQOS 曝露群に共通して A:T→C:G, G:C→T:A 変異が増加した.さらに, IQOS 曝露群では G:C→C:G 変異の増加も観察された.

### D. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

分担研究報告書に記載

#### 2. 学会発表

分担研究報告書に記載

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこから発生する多環芳香族炭化水素類のガス成分・粒子成分の同時捕集を使用した分析法  
の開発

分担研究者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院  
研究協力者 内山 茂久 国立保健医療科学院  
研究協力者 若井 美樹 明治薬科大学

研究要旨

我々の先行研究によるとガス状の有害化学物質であるホルアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレインなど発生量は低減しているものの多くの成分が加熱式たばこ主流煙から検出されていた。そこで粒子状の成分に関する有害化学物質量は低減しているが、有害化学物質の数はそれほど低下をしていないのではないかと考えている。そこで本研究では、燃焼由来と考えられている多環芳香族炭化水素 (PAHs) の加熱式たばこに適用した主流煙捕集法を確立し、GC/MS/MSによる一斉分析を行うことを目的とした。本研究では、PAH のガス成分を固体捕集にすることで、PAH のガス成分と粒子成分の計 29 成分の同時分析が可能となり、捕集から分析までの効率化を達成した。

紙巻きたばこ 11 銘柄の主流煙を分析したところ、全ての銘柄に 2 環から 6 環までの PAH 計 29 成分を定量できた。加熱式たばこ 8 製品 6 銘柄の主流煙を分析したところ、IQOS3 (銘柄;REGULAR), IQOS ILUMA (TEREA), glo Hyper+ (KENT TRUE TOBACCO), PloomS 2.0 (REGULAR), PloomX(RICH)の 4 製品では PAH23 成分, glo hyper (KENT TRUE TOBACCO)は PAH24 成分を定量した。NOS(REGULAR)及び THERMALOU(3R4F)は、デバイスによってはそれぞれ PAH29 成分, PAH27 成分を定量できたものもあった。以上の結果から、加熱式たばこの喫煙においても発がん性が認められているベンゾ[a]ピレンの曝露は生じた。基本的に、主流煙の PAH 発生量は「温度」に依存している。本研究法で定量した PAH は、加熱や燃焼によるたばこ葉からの移行によるものと、燃焼によって発生するものの 2 通りが考えられる。紙巻きたばこは、燃焼により発生した PAH 及び、たばこ葉から移行した PAH が主流煙で定量された。一方、加熱式たばこは、たばこ葉に含まれる PAH が加熱により主流煙に移行した可能性もある。また、加熱式たばこは、加熱原理、加熱温度、たばこ葉によって移行率が変動するため製品によって曝露量が異なった。NOS 及び THERMALOU の一部のデバイスでは、PAH 濃度が高値であることから、加熱温度が高温となり、PAH が発生した可能性も考えられる。今後は、たばこ葉に含まれる PAH 量を分析する必要があると考える。

A. 研究目的

喫煙者は、たばこ煙に含まれる有害化学物質の複合曝露によって健康影響を生じ、日本の年

間 12-13 万人死亡していると推計されている。

紙巻たばこ主流煙は、たばこ葉の燃焼によって発生する一酸化炭素、揮発性有機化合物、カル

ポニル類, 芳香属アミン類, 多環芳香族炭化水素類 (PAH) など多くの有害化学物質が含まれている。

加熱式たばこは, たばこ葉を携帯型の装置を使用して加熱し, たばこ葉から放出されるニコチンをはじめとする化学物質を吸引する新しいたばこ製品となっている。我が国では, 2014年に販売開始された IQOS が広く知られており, それ以外にも glo, Ploom などの製品が展開されている。この加熱式たばこの喫煙者における使用率は, 国民健康・栄養調査によると 28% (男性 20代), 48% (女性 20代) まで普及している。この加熱式たばこから発生する有害化学物質量は, 燃焼によって発生する成分は低減しているとたばこ会社は報告している。しかし, 我々の先行研究によるとガス状の有害化学物質であるホルアルデヒド, アセトアルデヒド, アクロレインなど発生量は低減しているものの多くの成分が加熱式たばこ主流煙から検出されていた。そこで粒子状の成分に関しても有害化学物質量は低減しているが, 有害化学物質の数はそれほど低下をしていないのではないかと考えている。そこで本研究では, 燃焼由来と考えられている多環芳香族炭化水素 (PAHs) の加熱式たばこに適用した主流煙捕集法を確立し, GC/MS/MS による一斉分析を行うことを目的とした。また, PAHs には, ガス成分で存在するナフタレンから粒子成分に含まれるベンゾ[a]ピレンなど複数の成分が存在する。本研究は, これらのガス・粒子成分を固体捕集法とフィルターによる捕集を同時に行い, 同時に前処理することによって分析法の確立を行った。

## B. 研究方法

### 1. たばこ試料

紙巻きたばこは, 国産たばこ 4 銘柄 (Seven Stars, MEVIUS Original, Winston SPARKLING MENTHOL 5 BOX, MEVIUS ONE 100's BOX,

AMERICAN SPIRIT ターコイズ), 海外産たばこ 5 銘柄 (LARK 100 BOX, Marlboro Menthol 8 BOX, Lucky Strike エキスパートカット 6, Marlboro KS BOX, KENT・1・100・BOX), 標準たばこ (1R6F, 3R4F, CM6, CM8), の計 14 銘柄を使用した。

加熱式たばこは, 8 製品 6 銘柄で, PloomS 2.0 は REGULAR, PloomX は RICH, glo hyper 及び glo Hyper+は KENT TRUE TOBACCO, IQOS3 は REGULAR, IQOS ILUMA は TERA, IQOS 互換機の NOS は IQOS の REGULAR, 紙巻たばこ加熱装置の THERMALOUIC は 3R4F を使用した。

## 2. たばこ主流煙の化学物質の分析

### たばこ主流煙の捕集

たばこ主流煙の捕集法は, 加熱式たばこが自動喫煙装置 (LM4E, Borgwaldt KC GmbH), 紙巻たばこが LX20, Borgwaldt KC GmbH を用いて HCl 法を行った。HCl 法は, (一服につき 2 秒間で 55 mL 吸引, 30 秒毎に一服させ, 通気孔は全封鎖状態) は Health Canada Intense protocol T-115 (1, 2) に準拠して行った。すべての喫煙法の IQOS 1 本あたりの吸煙は 12 回とした。たばこは, ISO 3402 (3) に従って捕集前に恒温恒湿化を行い, たばこ主流煙中の総粒子状物質 (total particle matter; TPM) は Cambridge filter pad (CFP, φ 44 mm, Borgwaldt KC GmbH) で捕集した。主流煙の粒子成分は, アルミ製のホルダー内にガラス繊維フィルターを設置し捕集し, 同時に主流煙のガス成分を Supelpak™-2 (SUPELCO 製) を 300 mg 充填したカートリッジに捕集した。

### PAHs の分析

試薬; PAH 標準溶液 は 29 種混合溶液を調整し (Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene,

Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[*c*]phenanthrene, Benz[*a*]anthracene, Chrysene, Benz[*e*]acephenanthrylene, 7,12-dimethyl-Benz[*a*]anthracene, Benzo[*k*]fluoranthene, Benzo[*j*]fluoranthene, Benzo[*e*]pyrene, Benzo[*a*]pyrene, 3-Methylcholanthrene, Indeno[*1,2,3-cd*]pyrene, Dibenz[*a,h*]anthracene, Benzo[*g,h,i*]perylene, Dibenzo[*a,l*]pyrene, Dibenzo[*a,i*]pyrene, Dibenzo[*a,h*]pyrene) は AccuStandard 社から購入した。1-Methylnaphthalene, 2-Methylnaphthalene は SUPELCO 製を購入した。7H-Benzo[*c*]fluorine は Dr.Ehrenstorfer 製, 5-Methylchrysene, Cyclopenta[*c,d*]pyrene は AccuStandard 製を購入した。次に, PAH-重水素体溶液は, Acenaphthylene-*d*<sub>8</sub>, Benzo[*a*]pyrene-*d*<sub>12</sub>, Benzo[*g,h,i*]perylene-*d*<sub>12</sub>, Fluoranthene-*d*<sub>10</sub>, Naphthalene-*d*<sub>8</sub>, Phenanthrene-*d*<sub>10</sub>, Pyrene-*d*<sub>10</sub>, 5-Methylchrysene-*d*<sub>3</sub>, Dibenz[*a,i*]anthracene-*d*<sub>14</sub> は Cambridge Isotope Laboratories 社から購入した。Anthracene-*d*<sub>10</sub>, Chrysene-*d*<sub>12</sub> は AccuStandard 社から購入した。Benzo[*k*]fluoranthene-*d*<sub>12</sub>, Dibenz[*a,h*]anthracene-*d*<sub>14</sub> は Dr.Ehrenstorfer 製から購入した。トルエン 300 (残留農薬・PCB 試験用), ヘキサン (残留農薬・PCB 試験用), ジメチルスルホキシド (ダイオキシン類分析用) とジクロロメタン (残留農薬・PCB 試験用) は, 富士フィルム和光純薬株式会社から購入した。

### 主流煙 PAHs の前処理及び分析

紙巻きたばこ PAH の分析では, HCl 法を採用し主流煙の捕集を 1 サンプル 2 本で行った。捕集後のガラス繊維フィルター, スチレン・ジビニルベンゼン共重合体及びカートリッジ内フィルターを 10 mL ねじ口試験管に入れ, ヘキサン 9 mL を添加し, 160 rpm で 90 分間振とう抽出した。抽出液 4.5 mL を回収し, PAH-

*d* 体溶液 10  $\mu$  L を添加後, 窒素気流下で (室温) 1 mL に濃縮した。この濃縮液 1 mL を, 無水硫酸ナトリウム 1.4g を充填したカートリッジ及びシリカゲルカラムに供し, 展開溶媒をヘキサン 5 mL, ジクロロメタン/ヘキサン (1/9) 7.5 mL の順に用いて溶出した。それぞれの溶出液を合致し, 窒素気流下 (室温) で約 0.2 mL まで濃縮し, トルエンを 0.5 mL 添加した。再度窒素気流下で濃縮し, 最終的にトルエンを添加して 0.5 mL へ定容した。これを分析用バイアルに移し, GC/MS/MS で PAH の分析を行った。

加熱式たばこ主流煙 PAH の分析では, HCl 法を採用し, 1 サンプルあたり加熱式たばこスティック 6 本分を捕集した。捕集後のガラス繊維フィルター, スチレン・ジビニルベンゼン共重合体及びカートリッジ内フィルターを 10 mL ねじ口試験管に入れ, ヘキサン 9 mL を添加し, 160 rpm で 90 分間振とう抽出した。抽出液 6 mL を回収し, PAH-*d* 体溶液 10  $\mu$  L を添加後, 窒素気流下で (室温) 1 mL に濃縮した。この後の操作は紙巻きたばこと同様である。ただし, THERMALOUIC については, 主流煙の捕集を, HCl 法で 1 サンプル 3 本捕集した。捕集後の操作は加熱式たばこと同様である。双方のサンプルをガスクロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (GC/MS/MS, 島津製作所社製) で分析した。分析条件を Table 1, 質量数を Table 2 に示した。

## C. 結果及び考察

### 1. 分析法の検討

標準たばこ 3R4F の PAH 抽出は, ガス成分の捕集にインピンジャーを用いた方法 (先行研究法) とガス成分を固体捕集する方法 (本研究法) の 2 手法から比較検討を行った (n=3)。固体捕集法のガス成分捕集能力を評価するために, 別々に前処理・分析を行い PAH の総濃度を比較

した (Table 3)。その結果、本研究法は先行研究法に対して 1.09 倍高かった。発がん性が報告されているベンゾ[a]ピレン濃度の分析結果 13.4 ng/g (本研究法) は、先行研究法の 12.7 ng/g と比較して 1.06 倍高かった。本研究法から先行研究より粒子成分とガス成分の同時分析が可能となったため、捕集から分析の効率化を達成した。よって、本研究法を採用し、以降の研究を行った。

## 2. 紙巻たばこの分析

全ての銘柄で、分析対象の PAH29 成分を定量した (Table 4)。PAH の分析結果を銘柄ごとに比較すると、PAH の合計量は AMERICAN Spirit が最も多く、9,187ng/cig であった。合計量が最も低かったのは、MEVIUS ONE 100's BOX で、2,725 ng/cig であった。成分ごとに評価すると最も多く含有されている成分はナフタレンであった。次に、ベンゾ[a]ピレンに加えて IARC 発がん性リスク一覧において、Group2A に分類されるジベンゾ[a,h]アントラセン、2B に分類されるナフタレン、ベンゾ[a]アントラセン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオランテン、インデノ[1,2,3-cd]ピレンの合計量を算出したところ、AMERINANSPIRIT ターコイズが最も多く、2236 ng/cig であった。最も少ない製品は MEVIUS ONE 100's BOX で 825ng/cig であり、PAH の合計量と同様の傾向であった。

## 3. 加熱式たばこの分析

加熱式たばこは、IQOS3, IQOS ILUMA, glo Hyper+, PloomS 2.0, PloomX の 4 製品では PAH23 成分, glo hyper は PAH24 成分を定量した (Table 5)。NOS 及び THERMALOUC は、デバイスによってはそれぞれ PAH29 成分, PAH27 成分を定量された。PAH の分析結果を製品ごとに比較すると、PAH の合計量は THERMALOUC(銘柄;3R4F)が最も多く、2,579 ng/cig であった。続

いて合計量が多かったのは NOS (REGULAR) で、1,725ng/cig であった。合計量が最も低かったのは、PloomS 2.0 (REGULAR) で、28.3ng/cig であった。次に、ベンゾ[a]ピレンに加えて IARC 発がん性リスク一覧において、Group2A に分類されるジベンゾ[a,h]アントラセン、2B に分類されるナフタレン、ベンゾ[a]アントラセン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオランテン、インデノ[1,2,3-cd]ピレンの合計量を算出したところ、THERMALOUC (3R4F) が最も多く、771 ng/cig であった。最も少ない製品は PloomS 2.0 で 2.2ng/cig であり、PAH の合計量と同様の傾向であった。この結果から、加熱式たばこであってもベンゾ[a]ピレンのような発がん性が認められている物質の曝露は生じていることがわかった。

## D. 結論

本研究では、PAH のガス成分を固体捕集にすることで、PAH のガス成分と粒子成分の計 29 成分の同時分析が可能となり、捕集から分析までの効率化を達成した。

紙巻きたばこ 11 銘柄の主流煙を分析したところ、全ての銘柄に 2 環から 6 環までの PAH 計 29 成分を定量できた。

加熱式たばこ 8 製品 6 銘柄の主流煙を分析したところ、IQOS3 (銘柄;REGULAR), IQOS ILUMA (TEREA), glo Hyper+ (KENT TRUE TOBACCO), PloomS 2.0 (REGULAR), PloomX(RICH)の 4 製品では PAH23 成分, glo hyper (KENT TRUE TOBACCO) は PAH24 成分を定量した。NOS(REGULAR)及び THERMALOUC(3R4F)は、デバイスによってはそれぞれ PAH29 成分, PAH27 成分を定量できたものもあった。

以上の結果から、加熱式たばこでも、発がん性が認められているベンゾ[a]ピレンの曝露は生じた。基本的に、主流煙の PAH 量は「温度」に依存している。本研究法で定量した PAH は、加

熱や燃焼によるたばこ葉からの移行によるものと、燃焼によって発生するものの2通りが考えられる。紙巻きたばこは、燃焼により発生した PAH 及び、たばこ葉から移行した PAH が主流煙で定量された。一方、加熱式たばこは、たばこ葉に含まれる PAH が加熱により主流煙に移行したと考えられる。また、加熱式たばこは、加熱原理、加熱温度、たばこ葉によって移行率が変動するため製品によって曝露量が異なる。NOS 及び THERMALOUC の一部のデバイスでは、PAH 濃度が高値であることから、加熱温度が高温となり、PAH が発生した可能性も考えられる。今後は、たばこ葉に含まれる PAH 量を分析する必要があると考える。

## E 参考文献

- (1) Health Canada Test Method T-115. Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.
- (2) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.
- (3) ISO 3402. Tobacco and tobacco products -- Atmosphere for conditioning and testing. 1999.

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

1. 稲葉洋平, 若井美樹, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. たばこ主流煙の多環芳香族炭化水素類の捕集および分析法の確立と国内販売銘柄への適用. 第 82 回分析化学討論会 (茨城, 水戸) 2022. 5. 14-15. 同 pdf 要旨集 P2137.

2. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 杉田和俊,

鳥羽 陽, 牛山明. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素類の捕集及び分析法の確立. 第 30 回環境化学討論会 (富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p540-541.

3. 杉田和俊, 小林 寛, 稲葉洋平. 加熱式タバコの水銀含有量. 第 30 回環境化学討論会 (富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p557-558.

4. 齋藤みのり, 清水萌花, 内山茂久, 櫻田尚樹, 稲葉洋平, 牛山明, 小倉裕直. 加熱式タバコ主流煙の化学物質発生量に及ぼす加熱温度の影響. 第 30 回環境化学討論会 (富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p464-465.

5. 稲葉洋平, 須藤江里子, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙に含まれる有害化学物質. フォーラム 2022 衛生薬学・環境トキシコロジー. 2022.8.30-31. (熊本) .同講演抄録集. p.295.

6. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 2020 年から販売された加熱式たばこの成分分析と初期型加熱式たばこの比較. 第 81 回日本公衆衛生学会総会. 2022.10.7-9. (甲府) 同講演抄録集. p322.

7. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 電子たばこの連続使用によって発生する主流エアロゾルの一酸化炭素, フェノール類の分析. 第 59 回全国衛生化学技術協議会年会. 2022.10.31-11.1. (川崎). 同協議会講演集. p.214-215.

8. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立 2022 年室内環境学会学術大会. 2022.12.1-2. (東京) 同講

9. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 「シンポジウム 2 「加熱式タバコの最新のエビデンス」 加熱式タバコ, 電子タバコの成分分析 第 32 回日本禁煙推進医師歯科医師連盟学術総会. 2023.2.26. (北九州) 同抄録集. P40.

10. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 新型の加熱式たばこ主流エアロゾルに含まれる有害化学物質の分析 第 93 回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S213.

11. 稲葉洋平, 須藤江里子, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 紙巻たばこ主流煙に含まれるアクリルアミド分析法の確立と国内販売銘柄の実態調査 日本薬学会第 143 年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

12. 吉岡響, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の定量とたばこスティックの比較 日本薬学会第 143 年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

13. 広田航太郎, 山口大雅, 小宮雅美, 稲葉洋平, 加藤孝一, 戸塚ゆ加里. 加熱式タバコの遺伝毒性評価 日本薬学会第 143 年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

14. 佐藤光平, 澤麻里恵, 小池伸, 中舘和彦, 服部研之, 稲葉洋平, 牛明, 小笠原裕樹. 加熱式たばこの主流煙暴露によるマウス肺におけるストレス応答の解析 日本薬学会第 143 年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

G. 知的財産権の出願・登録状況

**Table 1 GC/MS/MS 分析条件**

GC部	島津製作所社製 GC-TQ 8040
カラム	Rxi-PAH (RESTEK製 30m×0.25mm, 0.10μm)
注入方法	スプリットレス 1分
注入口温度	280°C
注入量	1μl
キャリアーガス	ヘリウム
キャリアーガス流量	1.31mL/分
カラムオープン温度	90°C(2分) - 10°C/分 - 270°C(0分) - 4°C/分 - 310°C(0分) - 15°C/分 - 350°C(10分)
MS/MS部	島津製作所社製 GC-TQ 8040
トランスファーライン	330°C
イオン源	EI
イオン源温度	230°C
測定モード	MRM

**Table 2 GC/MS/MS 質量分析条件**

化合物名	CAS Number	保持時間 (分)	Ch1 (m/z)	Ch1CE	Ch2 (m/z)	Ch2CE
Naphthalene-D8	1146-65-2	5.39	136.00>108.10	18	136.00>84.10	24
Naphthalene	91-20-3	5.45	128.00>102.10	21	128.00>78.10	18
2-methyl-Naphthalene	91-57-6	6.93	141.00>115.10	18	142.00>115.10	30
1-methyl-Naphthalene	90-12-0	7.27	141.00>115.10	18	142.00>115.10	27
Acenaphthylene-d8	93951-97-4	9.54	160.00>158.10	18	160.00>132.30	27
Acenaphthylene	208-96-8	9.58	152.00>150.10	27	152.00>126.10	24
Acenaphthene	83-32-9	9.95	154.00>152.20	30	153.00>151.20	27
Fluorene	86-73-7	11.28	165.00>163.20	27	165.00>115.10	24
Phenanthrene-D10	1517-22-2	13.99	188.00>160.00	21	188.00>158.20	33
Phenanthrene	85-01-8	14.06	178.00>176.10	33	178.00>152.10	24
Anthracene-D10	1719-06-8	14.11	188.00>159.90	33	188.00>158.10	30
Anthracene	120-12-7	14.17	178.00>152.10	27	178.00>176.10	33
Fluoranthene-d10	93951-69-0	17.26	212.00>209.90	30	212.00>208.00	45
Fluoranthene	206-44-0	17.32	202.00>200.00	36	202.00>152.20	33
Pyrene-d10	1718-52-1	17.98	212.00>210.00	27	212.00>208.30	45
Pyrene	129-00-0	18.05	202.00>200.10	36	202.00>151.30	33
7H-Benzo[c]fluorene	205-12-9	19.05	215.00>213.00	33	215.00>189.10	24
Benzo[c]phenanthrene	195-19-7	20.78	228.00>226.10	39	227.00>225.30	39
Benz[a]anthracene	56-55-3	21.35	228.00>226.10	30	226.00>224.20	36
Chrysene-D12	1719-03-5	21.47	240.00>236.20	45	226.00>224.20	45
Cyclopenta[cd]pyrene	27208-37-3	21.51	226.00>224.00	45	224.00>222.20	33
Chrysene	218-01-9	21.58	228.00>226.10	33	226.00>224.10	30
5-Methylchrysene-d3	3697-24-3	22.89	244.00>242.10	27	245.00>242.00	39
5-MethylChrysene	3697-24-3	22.95	241.00>239.00	33	242.00>239.00	42
Benzo[j]fluoranthene	205-99-2	25.21	252.00>250.10	36	250.00>248.00	39
Benzo[k]fluoranthene	93952-01-3	25.16	252.00>250.10	45	250.00>248.10	36
Benz[e]acephenanthrylene	57-97-6	25.05	252.00>249.90	36	252.00>224.00	45
Benzo[k]fluoranthene-d12	207-08-9	25.05	264.20>259.90	45	250.00>247.90	33
7,12-dimethyl-Benz[a]anthracene	205-82-3	25.10	256.00>241.20	18	241.00>239.10	12
Benzo[e]pyrene	192-97-2	26.36	252.00>250.10	36	250.00>248.00	39
Benzo[a]pyrene-d12	63466-71-7	26.46	264.00>260.10	45	265.00>260.90	42
Benzo[a]pyrene	50-32-8	26.57	252.00>250.00	36	250.00>247.90	42
3-Methylcholanthrene	56-49-5	27.50	268.00>252.10	36	253.00>251.50	33
Dibenz[a,h]anthracene-d14	13250-98-1	30.69	292.00>288.40	30	293.00>289.30	30
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	193-39-5	30.78	276.00>274.30	36	277.00>274.90	27
Dibenz[a,h]anthracene	53-70-3	30.81	278.00>276.10	39	139.00>112.50	45
Benzo[g,h,i]perylene-d12	93951-66-7	31.65	288.00>286.10	15	288.00>284.10	36
Benzo[gh]perylene	191-24-2	31.74	276.00>274.10	42	277.00>275.50	39
Dibenzo[a,l]pyrene	191-30-0	34.58	302.00>300.10	30	150.00>148.10	36
Dibenzo[a,i]pyrene-d14	158776-07-9	35.94	316.00>312.20	39	315.00>310.70	45
Dibenzo[a,i]pyrene	189-55-9	36.06	302.00>300.10	45	303.00>300.80	39
Dibenzo[a,h]pyrene	189-64-0	36.36	302.00>300.10	39	151.00>137.90	15

Table 3 主流煙 PAHs 分析法の検討

Compounds	PAHs 3R4F (ng/cig)			
	filter+cartrige		filter+impinger	
	Mean	SD	Mean	SD
Naphthalene	1,677	± 161	1,461	± 347
2-methyl-Naphthalene	1,190	± 129	1,061	± 115
1-methyl-Naphthalene	1,160	± 121	1,057	± 119
Acenaphthylene	227	± 137	216	± 132
Acenaphthene	83.8	± 2.6	84.7	± 7.0
Fluorene	316	± 12.6	319	± 45.7
Phenanthrene	267	± 18.0	273	± 49.7
Anthracene	120	± 7.0	122	± 23.6
Fluoranthene	111	± 7.8	108	± 19.7
Pyrene	118	± 19.7	109	± 28.6
7H-Benzo[c]fluorene	18.0	± 0.9	17.5	± 2.8
Benzo[c]phenanthrene	9.3	± 3.8	10.3	± 2.5
Benz[a]anthracene	33.1	± 3.4	31.9	± 4.9
Cyclopenta[cd]pyrene	37.1	± 29.9	35.4	± 32.7
Chrysene	29.6	± 1.8	28.6	± 4.2
5-MethylChrysene	2.2	± 0.2	1.9	± 0.3
Benz[e]acephenanthrylene	11.9	± 0.5	12.2	± 1.9
7,12-dimethyl-Benz[a]anthracene	14.2	± 0.8	13.0	± 0.5
Benzo[k]fluoranthene	3.6	± 0.2	3.4	± 0.5
Benzo[j]fluoranthene	7.9	± 0.5	7.7	± 1.1
Benzo[e]pyrene	7.3	± 0.4	7.1	± 1.1
Benzo[a]pyrene	13.4	± 0.7	12.7	± 2.9
3-Methylcholanthrene	2.3	± 0.3	2.1	± 0.3
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	6.5	± 0.8	6.4	± 1.3
Dibenz[a,h]anthracene	2.0	± 0.2	2.1	± 0.2
Benzo[ghi]perylene	6.5	± 3.2	5.9	± 3.3
Dibenzo[a,l]pyrene	0.6	± 0.0	0.7	± 0.2
Dibenzo[a,i]pyrene	0.7	± 0.0	0.7	± 0.1
Dibenzo[a,h]pyrene	0.7	± 0.1	0.7	± 0.1

Table4 紙巻たばこ主流煙 PAHs 分析結果

cigarette brands package Nicotine (mg)	Amounts (ng/cig)																											
	MEVIUS			KENT			WINSTON			LUCKY STRIKE			HARBORO			SEVEN STRAS			AMERICAN SPIRIT									
	Mean	SD	1.100・BOX	Mean	SD	1.100・BOX	Mean	SD	SPARKLINGMENTHOLS	Mean	SD	1.100・BOX	Mean	SD	MENTHOL	Mean	SD	0.9	Mean	SD	1.5	Mean	SD	1.5				
Naphthalene	780	± 226	875	± 127	815	± 131	1,216	± 117	1,612	± 146	1,812	± 146	1,738	± 106	1,738	± 106	1,680	± 118	2,092	± 339	1,741	± 213	4,036	± 142	3,219	± 209		
2-methyl-Naphthalene	495	± 71.7	843	± 51.8	561	± 85.0	937	± 79.6	1,339	± 88.4	1,339	± 88.4	1,410	± 79.1	1,410	± 79.1	1,402	± 77.6	2,194	± 72.1	1,467	± 137	1,311	± 189	2,321	± 110		
1-methyl-Naphthalene	504	± 59.7	833	± 48.1	530	± 75.4	913	± 63.2	1,276	± 75.2	1,276	± 75.2	1,352	± 65.6	1,352	± 65.6	1,221	± 82.8	2,313	± 87.9	1,437	± 131	1,286	± 178	2,341	± 129		
Acenaphthylene	190	± 109	136	± 65.5	108	± 6.8	166	± 10.8	153	± 8.6	181	± 8.4	233	± 17.9	209	± 14.2	209	± 13.6	324	± 17.3	209	± 14.2	227	± 10.2	347	± 18.3		
Fluorene	40.8	± 3.3	64.7	± 4.9	59.8	± 4.0	78.8	± 5.7	79.6	± 1.4	101	± 4.8	98.4	± 3.4	90.7	± 4.9	113	± 4.6	130	± 3.0	79.2	± 3.4	83.2	± 8.0	157	± 8.3		
Phenanthrene	138	± 18.9	205	± 23.1	205	± 17.7	270	± 29.3	239	± 11.2	337	± 36.8	380	± 40.5	366	± 22.6	396	± 13.6	633	± 18.3	296	± 7.5	327	± 37.2	811	± 62.3		
Anthracene	183	± 20.2	202	± 12.0	230	± 17.8	229	± 15.6	206	± 18.4	288	± 23.6	321	± 34.9	290	± 9.5	334	± 19.6	456	± 28.9	235	± 72.0	295	± 23.5	603	± 23.8		
Fluoranthene	74.0	± 10.5	90.8	± 1.9	137	± 13.2	166	± 72.0	100	± 8.7	185	± 19.6	159	± 3.8	182	± 19.0	217	± 15.7	335	± 21.7	133	± 72.3	185	± 19.6	383	± 26.7		
Pyrene	88.9	± 24.7	94.4	± 6.0	105	± 6.9	92.8	± 8.1	86.3	± 4.4	127	± 9.3	137	± 16.9	116	± 6.6	145	± 7.5	200	± 11.5	104	± 14.2	116	± 14.2	256	± 11.5		
7H-Benzo(C)fluorene	10.5	± 1.4	12.2	± 0.4	16.9	± 1.2	16.3	± 1.3	14.7	± 1.0	19.3	± 1.9	20.0	± 1.4	20.8	± 1.5	21.7	± 1.2	32.4	± 3.3	16.5	± 1.2	25.2	± 3.1	47.7	± 2.4		
Benzo(C)phenanthrene	5.8	± 1.4	7.6	± 0.6	8.8	± 1.0	8.9	± 1.2	7.8	± 0.8	10.8	± 1.3	13.4	± 1.8	12.2	± 1.0	12.1	± 0.4	25.2	± 6.0	10.0	± 2.1	13.3	± 1.4	50.3	± 5.7		
Benzo(B)phenanthrene	21.6	± 2.7	26.1	± 2.2	28.9	± 2.4	27.0	± 3.3	26.5	± 1.3	36.0	± 4.1	42.2	± 5.0	36.0	± 2.6	41.9	± 5.2	62.6	± 9.5	33.5	± 1.8	37.5	± 5.2	134	± 10.7		
Cyclopenta(cd)pyrene	42.3	± 32.1	25.7	± 13.0	18.6	± 1.3	18.7	± 3.9	17.3	± 0.9	25.2	± 1.9	69.5	± 45.3	25.0	± 1.1	30.7	± 3.1	40.5	± 4.0	34.1	± 36.2	25.5	± 2.9	85.0	± 11.7		
Chrysene	18.1	± 2.6	23.0	± 1.1	24.8	± 2.0	21.7	± 3.2	22.4	± 2.2	32.2	± 3.5	38.0	± 2.2	29.1	± 3.0	39.4	± 5.1	59.6	± 9.0	29.6	± 1.9	32.7	± 4.0	135	± 12.4		
5-Methylchrysene	1.1	± 0.2	1.3	± 0.1	1.8	± 0.4	1.6	± 0.4	1.7	± 0.5	2.1	± 0.4	2.0	± 0.4	1.6	± 0.4	2.5	± 0.3	2.5	± 0.6	2.3	± 0.5	2.0	± 0.5	5.4	± 0.6		
Benzo(a)chrysene	8.3	± 1.1	10.3	± 0.8	9.7	± 0.3	7.9	± 1.1	8.8	± 0.4	11.9	± 1.3	15.0	± 1.8	11.6	± 1.0	13.4	± 1.0	15.0	± 1.3	10.2	± 0.9	9.9	± 1.3	22.8	± 2.7		
7,12-dimethyl-Benz(a)anthracene	6.2	± 0.8	7.4	± 0.6	9.3	± 1.4	6.9	± 1.0	9.7	± 3.0	8.8	± 0.4	11.3	± 3.3	9.6	± 3.6	12.8	± 1.1	26.1	± 8.2	13.8	± 1.4	12.6	± 1.7	30.5	± 8.3		
Benzo(k)fluoranthene	2.6	± 0.8	3.6	± 0.6	2.8	± 0.4	2.5	± 0.2	2.8	± 0.3	3.8	± 0.5	4.8	± 0.7	3.2	± 0.1	4.0	± 0.3	4.3	± 0.4	3.0	± 0.4	2.3	± 0.4	6.4	± 0.9		
Benzo(j)fluoranthene	5.6	± 0.9	6.6	± 0.7	6.5	± 0.3	6.2	± 0.7	5.9	± 0.3	7.7	± 0.8	9.4	± 1.3	7.8	± 0.3	9.1	± 1.0	9.5	± 3.6	7.3	± 0.7	6.7	± 0.6	14.9	± 1.2		
Benzo(i)pyrene	9.9	± 2.4	10.0	± 0.9	10.6	± 0.9	9.5	± 1.4	8.7	± 0.4	12.4	± 1.4	15.2	± 2.9	11.7	± 0.7	14.6	± 0.9	17.5	± 0.9	12.4	± 1.5	10.8	± 0.6	23.3	± 1.4		
Benzo(e)pyrene	1.2	± 0.1	1.4	± 0.2	1.7	± 0.0	1.5	± 0.2	1.9	± 0.2	2.3	± 0.2	2.2	± 0.2	1.9	± 0.2	2.3	± 0.2	3.5	± 0.3	2.3	± 0.2	2.4	± 0.2	4.4	± 0.5		
3-Methylcholanthrene	4.7	± 1.4	4.8	± 0.5	5.2	± 0.2	5.0	± 0.6	4.3	± 0.4	6.0	± 0.5	7.4	± 1.6	6.1	± 0.2	6.8	± 0.3	10.0	± 0.8	5.6	± 1.1	6.7	± 0.8	14.1	± 0.7		
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	1.3	± 0.1	1.5	± 0.1	1.7	± 0.1	1.1	± 0.2	1.5	± 0.4	1.8	± 0.2	2.0	± 0.3	1.5	± 0.3	2.1	± 0.2	2.6	± 0.3	1.8	± 0.2	2.2	± 0.1	4.1	± 0.3		
Benzo(a,h)anthracene	6.2	± 3.1	5.3	± 1.1	3.6	± 0.2	3.7	± 0.5	3.5	± 0.3	4.2	± 0.2	8.9	± 3.6	4.1	± 0.1	4.7	± 0.3	6.9	± 0.5	5.1	± 2.9	3.4	± 0.3	8.3	± 0.7		
Dibenz(a,h)pyrene	0.8	± 0.1	0.8	± 0.0	0.8	± 0.0	0.6	± 0.0	0.9	± 0.1	0.8	± 0.0	1.1	± 0.1	0.7	± 0.1	0.9	± 0.0	1.0	± 0.1	0.9	± 0.1	0.7	± 0.0	1.1	± 0.1		
Dibenz(a,i)pyrene	0.6	± 0.1	0.5	± 0.1	0.6	± 0.1	0.5	± 0.1	0.7	± 0.2	0.7	± 0.1	0.7	± 0.1	0.5	± 0.1	0.7	± 0.0	0.6	± 0.1	0.7	± 0.1	0.7	± 0.0	0.9	± 0.1		
Dibenz(a,j)pyrene	0.9	± 0.2	0.6	± 0.1	0.6	± 0.1	0.6	± 0.1	0.7	± 0.1	0.7	± 0.1	0.9	± 0.2	0.7	± 0.1	0.7	± 0.0	0.9	± 0.1	0.7	± 0.2	0.8	± 0.1	1.0	± 0.1		
<b>Total PAHs</b>	<b>2,725</b>	<b>± 583</b>	<b>3,587</b>	<b>± 322</b>	<b>3,022</b>	<b>± 347</b>	<b>4,307</b>	<b>± 330</b>	<b>5,517</b>	<b>± 351</b>	<b>5,272</b>	<b>± 259</b>	<b>7,138</b>	<b>± 729</b>	<b>6,080</b>	<b>± 262</b>	<b>6,190</b>	<b>± 353</b>	<b>9,187</b>	<b>± 268</b>	<b>6,358</b>	<b>± 622</b>	<b>5,681</b>	<b>± 696</b>	<b>12,045</b>	<b>± 541</b>	<b>11,350</b>	<b>± 528</b>

Table5 加熱式たばこ主流煙 PAHs 分析結果

compounds	Amounts (ng/cig)																					
	IQOS 3			ILUMA			glo hyper plus			Ploom S 2.0			Ploom X			NOS			THERMALIQ			
	Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD		
Naphthalene	5.8 ± 0.5			5.2 ± 0.5			3.8 ± 0.5			3.6 ± 0.3			1.9 ± 0.1			2.3 ± 0.6			680 ± 1,144			758 ± 770
2-methyl-Naphthalene	10.4 ± 0.4			7.9 ± 0.3			13.3 ± 1.2			12.4 ± 0.8			1.4 ± 0.1			7.6 ± 0.8			332 ± 529			622 ± 560
1-methyl-Naphthalene	39.2 ± 1.9			37.8 ± 1.6			91.0 ± 11.5			82.3 ± 8.2			16.1 ± 1.0			39.1 ± 3.2			392 ± 563			718 ± 518
Acenaphthylene	1.33 ± 0.52			1.12 ± 0.07			2.74 ± 0.67			2.35 ± 0.33			2.28 ± 0.46			3.27 ± 0.50			88 ± 154			88.0 ± 76.9
Acenaphthene	0.64 ± 0.07			0.61 ± 0.03			0.87 ± 0.08			0.77 ± 0.07			0.31 ± 0.02			0.51 ± 0.06			22.1 ± 38.5			30.4 ± 26.1
Fluorene	1.73 ± 1.16			0.92 ± 0.05			1.35 ± 0.59			1.20 ± 0.23			0.56 ± 0.08			1.12 ± 0.33			46.2 ± 79.4			100 ± 95.8
Phenanthrene	3.94 ± 1.17			3.01 ± 0.45			13.58 ± 3.93			10.00 ± 2.46			2.98 ± 0.34			3.87 ± 0.77			63.0 ± 108			109 ± 96.7
Anthracene	1.41 ± 1.12			0.69 ± 0.08			3.23 ± 1.07			2.19 ± 0.59			0.47 ± 0.08			0.89 ± 0.18			30.6 ± 54.2			49.4 ± 49.5
Fluoranthene	3.41 ± 0.13			1.76 ± 0.13			7.30 ± 1.72			5.27 ± 1.34			0.71 ± 0.13			1.58 ± 0.46			16.3 ± 24.5			28.7 ± 23.2
Pyrene	4.09 ± 0.60			1.92 ± 0.19			7.82 ± 2.08			5.45 ± 1.33			0.74 ± 0.09			1.81 ± 0.46			18.4 ± 27.3			30.1 ± 23.7
7H-Benzo[ <i>c</i> ]fluorene	0.18 ± 0.03			0.12 ± 0.01			0.24 ± 0.05			0.20 ± 0.02			0.09 ± 0.00			0.13 ± 0.03			2.6 ± 4.4			5.6 ± 6.0
Benzo[ <i>c</i> ]phenanthrene	0.33 ± 0.07			0.15 ± 0.01			0.46 ± 0.11			0.34 ± 0.07			0.04 ± 0.01			0.14 ± 0.03			2.5 ± 4.3			3.8 ± 4.0
Benzo[ <i>a</i> ]anthracene	0.92 ± 0.08			0.45 ± 0.05			1.41 ± 0.32			1.05 ± 0.23			0.11 ± 0.01			0.40 ± 0.13			6.5 ± 10.4			8.8 ± 8.8
Cyclopenta[ <i>cd</i> ]pyrene	0.70 ± 0.11			0.40 ± 0.03			1.09 ± 0.36			0.78 ± 0.15			0.17 ± 0.01			0.38 ± 0.09			5.7 ± 9.1			6.7 ± 6.7
Chrysene	0.94 ± 0.06			0.52 ± 0.05			1.52 ± 0.27			1.17 ± 0.22			0.16 ± 0.01			0.45 ± 0.14			7.3 ± 11.9			9.1 ± 9.2
5-Methylchrysene	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			1.00 ± 0.26			0.9 ± 0.8
Benzo[ <i>e</i> ]acphenanthrylene	0.37 ± 0.03			0.23 ± 0.03			0.64 ± 0.15			0.45 ± 0.11			0.03 ± 0.00			0.17 ± 0.06			2.0 ± 2.8			2.1 ± 1.9
7,12-dimethyl-Benz[ <i>a</i> ]anthracene	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			4.6 ± 4.0			3.6 ± 2.2
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranthene	0.19 ± 0.02			0.12 ± 0.01			0.31 ± 0.08			0.21 ± 0.05			0.029 ± 0.003			0.14 ± 0.12			0.50 ± 0.59			0.60 ± 0.37
Benzo[ <i>j</i> ]fluoranthene	0.27 ± 0.02			0.18 ± 0.01			0.40 ± 0.08			0.30 ± 0.07			0.050 ± 0.002			0.12 ± 0.01			1.10 ± 1.53			1.32 ± 1.26
Benzo[ <i>e</i> ]pyrene	0.23 ± 0.01			0.16 ± 0.02			0.40 ± 0.08			0.29 ± 0.07			0.036 ± 0.002			0.12 ± 0.03			1.10 ± 1.56			1.26 ± 1.07
Benzo[ <i>a</i> ]pyrene	0.32 ± 0.01			0.22 ± 0.02			0.54 ± 0.12			0.38 ± 0.09			0.04 ± 0.003			0.16 ± 0.05			1.56 ± 2.2			1.74 ± 1.6
3-Methylcholanthrene	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			0.30 ± 0.14			0.39 ± 0.11
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pyrene	0.127 ± 0.005			0.097 ± 0.011			0.180 ± 0.063			0.116 ± 0.024			0.025 ± 0.001			0.064 ± 0.015			1.00 ± 1.52			0.80 ± 0.77
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]anthracene	0.037 ± 0.004			0.032 ± 0.003			0.045 ± 0.011			0.034 ± 0.005			0.020 ± 0.001			0.027 ± 0.003			0.30 ± 0.41			0.25 ± 0.23
Benzo[ <i>ghi</i> ]perylene	0.138 ± 0.009			0.110 ± 0.010			0.186 ± 0.056			0.120 ± 0.022			0.032 ± 0.002			0.074 ± 0.013			0.60 ± 0.88			0.51 ± 0.37
Dibenzo[ <i>a,i</i> ]pyrene	0.041 ± 0.001			0.040 ± 0.002			0.041 ± 0.001			n.d.			n.d.			n.d.			0.10 ± 0.12			0.12 ± 0.05
Dibenzo[ <i>a,j</i> ]pyrene	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			0.20 ± 0.007			n.d.
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]pyrene	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			0.20 ± 0.002			n.d.

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の分析

分担研究者 鳥羽 陽 長崎大学

研究要旨

活性酸素種 (ROS) を生成し、酸化ストレスを引き起こす多環芳香族炭化水素キノン類 (PAHQ) を測定対象とし、日本国内で販売されている加熱式たばこ 6 種 (IQOS3, IQOS ILUMA, glo, glo hyper+, PloomS, PloomX) の各レギュラー及びフレーバースティック, 比較対象としての紙巻たばこについて、主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類 (PAHQ) を定量することを目的とした。各主流煙について、自動喫煙装置を用いてフィルターに捕集し、ジクロロメタンで抽出した後、PAHQ を還元・トリメチルシリル (TMS) 誘導体化してガスクロマトグラフ-タンデム質量分析計 (GC-MS/MS) で測定した。加熱式たばこ及び紙巻たばこ主流煙中の PAHQ を定量した結果、最も多くて 21 種類の PAHQ を定量することに成功した。PAHQ の組成にスティックタイプの違い (フレーバーの有無) は影響せず、1~3 環 PAHQ が生成しやすいことが示唆された。加熱式たばこ主流煙中の PAHQ 濃度は、全ての加熱式たばこ製品で紙巻たばこの 3%以下であり、たばこ製品の主流煙における PAHQ の生成には、燃焼・加熱温度が深く関与していた。

A. 研究目的

たばこ煙には約 5,300 種類の化学物質が含まれており、そのうち有害物質は約 250 種類以上、多環芳香族炭化水素 (PAH) をはじめとする発がん性物質は約 70 種類以上存在している。近年、その中でも PAH の酸化誘導体である PAH キノン類 (PAHQ) が注目を集めている。PAHQ は、レドックスサイクルにより触媒的に酸化還元反応を起こし、活性酸素種 (ROS) を過剰産生し、酸化ストレスを誘発することから、呼吸器疾患や循環器疾患との関連が指摘されている。また、呼吸を介して曝露された PAHQ は、ヒトの生体内で代謝されて尿中に代謝物が排泄されていることが明らかになっている。従って、喫煙に関連した PAHQ 曝露によって誘発される酸化ストレスによる健康影響の検証は重要であり、たばこ煙中の PAHQ 濃度を知ることは、喫煙による健康影響の解明に必

要である。近年、日本国内では加熱式たばこが急速に普及している。これは、加熱式たばこ煙に含まれる有害物質の量が 90%以上減少したという報告から健康リスクが低減する可能性があると考えられるためである。しかしながら、報告された有害物質は限られた物質のみであり、その他の有害物質に関する報告は未だ少ない。そこで本研究では、加熱式たばこ煙に含まれる未知の有害物質の解明を目的として、日本国内で販売されている加熱式たばこの主流煙に含まれる PAHQ の定量を行い、紙巻たばこと比較すると共に、たばこスティックタイプの違い (フレーバーの有無) について検証した。

B. 研究方法

1. 使用たばこ銘柄

たばこ試料

国内で販売されている加熱式たばこである IQOS3 (R: REGULAR, F: TROPICAL MENTHOL), IQOS ILUMA (R: TEREA REGULAR, F: TEREA PURPLE MENTHOL), glo (R: KENT bright tobacco, F: neo BOOST BERRY), glo hyper+ (R: KENT TRUE TOBACCO, F: KENT TRUE BERRY), PloomS (R: MEVIUS REGULAR, F: CAMEL APPLE FLAVOR), PloomX (R: MEVIUS RICH, F: CAMEL MUSCAT GREEN) の主流煙を測定対象とした (R: レギュラータイプ, F: フレーバータイプ)。また、紙巻たばこの標準たばこである 3R4F および CM8 の主流煙を比較対象とした。

## 2. たばこ主流煙の化学物質の分析

### たばこ主流煙の捕集

たばこ主流煙の捕集は、自動喫煙装置 (LX20, Borgwaldt KC GmbH) を用いて HCl 法により実施した。HCl 法では、Health Canada Intense protocol T-115 (1, 2) に準拠して行い、一服につき 2 秒間で 55 mL 吸引, 30 秒毎に一服させた。たばこ主流煙中の総粒子状物質 (total particle matter ; TPM) は Cambridge filter pad (CFP, φ44 mm, Borgwaldt KC GmbH) 上に捕集し, 1 枚につき, スティック 3 本分の主流煙を捕集し, 1 試料とした。たばこ銘柄ごとに 5 試料調製し, それぞれ測定に供した。

### PAHQ の分析

#### 前処理法

各フィルター試料について, それぞれジクロロメタンによる超音波抽出を行なった。抽出液に DMSO を添加した後で減圧濃縮し, 超音波抽出した後, ろ過してから溶媒を留去した。トルエンに再溶解してから 5%HCl を含む飽和 NaCl 溶液で液-液抽出して精製した。誘導体化は, 亜鉛とジチオスレイトールの存在下で TMS 化試薬 [BSA+TMCS+TMSI (3:2:3)] を加えて 80°C, 30 分間で行った。誘導体化後, ヘキサンと水を加えて抽出して得られたヘキサン相を乾固してヘキサン 200 μL に再溶解して検液とした (3)。

#### 測定対象成分

環数が 1 つのベンゾキノン (BQ) 類を含む 39 種の PAHQ を測定対象とした。具体的には, 1,4-benzoquinone (BQ), 2-methyl-1,4-benzoquinone (MBQ), dimethylbenzoquinone (DMBQ) 2 種, tetramethylbenzoquinone (TMBQ), 2-tert-butyl-1,4-benzoquinone (2-tb-BQ), 2,5-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone (2,5-Dtb-BQ), naphthoquinone (NQ) 2 種, 2-methyl-1,4-naphthoquinone (MNQ), acenaphthoquinone (AceNQ), phenanthrenequinone (PQ) 3 種, anthraquinone (AQ) 2 種, 2-methyl-9,10-anthraquinone (2-MAQ), 2,3-dimethyl-9,10-anthraquinone (2,3-DMAQ), aceanthraquinone (AceAQ), fluoranthene-2,3-quinone (Frt-2,3-Q), chrysenequinone (CQ) 3 種, benzo[*c*]phenanthrene quinone (BcP-Q) 2 種, 7,12-benzanthraquinone (7,12-BAQ), 5,12-naphthacenequinone (5,12-NapQ), pyrenequinone (PyrQ) 3 種, Dibenzo[*a,h*]anthracene-5,6-quinone (DBahA-5,6-Q), benzo[*a*]pyrenequinone (BaP-Q) 7 種, benzo[*e*]pyrene-4,5-quinone (BeP-4,5-Q), Dibenzo[*a,j*]anthracene-7,14-quinone (DBajA-7,14-Q) の計 39 種を対象とした (3)。

#### GC/MS/MS 条件

Thermo Fisher Scientific 社製 GC-MS/MS (TSQ Quantum GC) システムを用いた。カラムは DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm, J&W) を使用し, 50-310°C (25°C/min, 7 分間維持) の昇温プログラムで分析した。その他の GC 条件は, 注入口温度 250°C, スプリットレスモード, 注入量 1 μL とした。MS 条件は, EI モード, イオン源温度 300°C, インターフェース温度 280°C とし, イオン化電圧は 70 eV とした。検出は, [M]<sup>+</sup>イオンをプリカーサーイオンとして最も強度の高いプロダクトイオン 2 種を用いた選択反応モニタリング (SRM) モードで測定した (3)。

## C. 結果及び考察

## 1. PAHQ の定量性の再確認

PAHQ の定量に使用している GC-MS/MS 装置設定の不具合があり、加熱式たばこ煙中の PAHQ の定量性について再度確認した。IQOS の主流煙試料に既知量の標準物質を添加し、真度や精度を評価するバリデーション試験を行った。加熱式たばこ煙で検出されたすべての PAHQ の定量性を確認した結果、日内および日間変動について  $100 \pm 20\%$  の真度が得られ、RSD 値も  $25\%$  以下と良好な精度を得ることができた。以上より今回測定した加熱式たばこの主流煙に含まれる PAHQ の定量値は信頼性のあるデータであると再確認できた。

## 2. 加熱式たばこ主流煙中 PAHQ の定量と比較

加熱式たばこ煙の定量を再度実施し、加熱式たばこおよび紙巻たばこの主流煙中から最も多くて 21 種類の PAHQ を同定し、加熱式たばこ主流煙中の総濃度は、約  $1.0 \sim 93 \text{ ng/puff}$  であった (図 1)。一方、紙巻たばこ主流煙中の PAHQ 総濃度は  $3,900 \sim 7,300 \text{ ng/puff}$  であり、加熱式たばこに比べて著しく高濃度であった。加熱式たばこのデバイス間では、IQOS3 > IQOS ILUMA > glo Hyper<sup>+</sup> > Ploom X > glo > Ploom S の順番で PAHQ の総濃度が高く、この傾向はレギュラータイプとフレーバータイプで同じであった。また、スティックタイプ (フレーバーの有無) について比較すると、IQOS ILUMA と glo において、異なるスティックタイプで約 2 倍の濃度差があったが、その他のデバイスでは、濃度差はほとんど観察されなかった。この結果から、PAHQ の生成にスティックタイプの違い (フレーバーの有無) は大きく影響しないと考えられた。

各加熱式たばこの主流煙から共通して主に 1~3 環の環数の少ない PAHQ が検出され、BQ 類が組成の  $98\%$  以上を占め、残りは 2, 3 環の PAHQ が占めていた。また、濃度は低い 4 環の PAHQ も一部検出された。一方で、5 環以上の環数を有する PAHQ は検出されなかった。加熱式と紙巻の違いや加熱式デバイスやスティックタイプの違

いにかかわらず、全てのたばこで検出種や組成はほとんど同様の傾向を示した。BQ 類以外では特に 3 環の 9,10-anthraquinone (9,10-AQ) とそのメチル化体 (MAQ, DMAQ) が高濃度で検出された。9,10-AQ の親化合物であるアントラセンは、9 位と 10 位のフロンティア電子密度が高く、他の位置よりも酸化されやすいと考えられる。定量できた PAHQ の中には活性酸素種を生成する代表的な PAHQ である 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) や 9,10-phenanthrenequinone (9,10-PQ) も含まれていた (4)。

紙巻たばこに対する加熱式たばこ煙中 PAHQ の割合について、紙巻たばこの PAHQ 濃度を  $100\%$  として算出したところ、すべての加熱式たばこにおいて PAHQ 濃度は紙巻たばこに対して  $3\%$  以下となった。また、紙巻たばこ加熱式たばこにおいて、燃焼・加熱温度と PAHQ 濃度との間に相関が観察された。これらのことから、たばこの燃焼・加熱温度の上昇に伴って PAHQ 濃度が増加することが分かった。

## D. 結論

加熱式たばこ及び紙巻たばこ主流煙中の PAHQ を分析したところ、最も多くて 21 種類の PAHQ を検出することに成功した。PAHQ の組成にスティックタイプの違い (フレーバーの有無) は影響せず、1~3 環 PAHQ が生成しやすいことが示唆された。加熱式たばこ主流煙中の PAHQ 濃度は、全ての加熱式たばこ製品で紙巻たばこの  $3\%$  以下であった。加熱式たばこ製品は紙巻たばこよりも PAHQ を生成しにくいと考えられ、たばこ製品の主流煙における PAHQ の生成には、燃焼・加熱温度が深く関与していた。加熱式たばこ煙に含まれる PAHQ のような未同定の有害物質を継続して同定・定量することは、加熱式たばこの健康影響を検証する上で有用である。

## E. 参考文献

(1) Health Canada Test Method T-115.

Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.

- (2) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.
- (3) Toriba A., Homma C., Kita M., Uzaki W., Boongla Y., Orakij W., Tang N., Kameda T., Hayakawa K., Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbon quinones by gas chromatography-tandem mass spectrometry, following a one-pot reductive trimethylsilyl derivatization, J. Chromatogr. A, 1459, 89-100 (2016).
- (4) Motoyama Y., Bekki K., Chung S.W., Tang N., Kameda T., Toriba A., Taguchi K., Hayakawa K., Oxidative stress more strongly induced by ortho- than para-quinoid polycyclic aromatic hydrocarbons in A549 Cells, J. Health Sci., 55(5), 845-850 (2009).

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

吉岡響, 吉田さくら, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の分析 環境化学物質 3 学会合同大会. 2022.6.14-16. ハイブリッド開催。

吉岡響, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽, 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の定量とたばこスティックの比較 日本薬学会 第 143 年会. 2023.3.25-28. ハイブリッド開催.

### 3.その他

該当なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

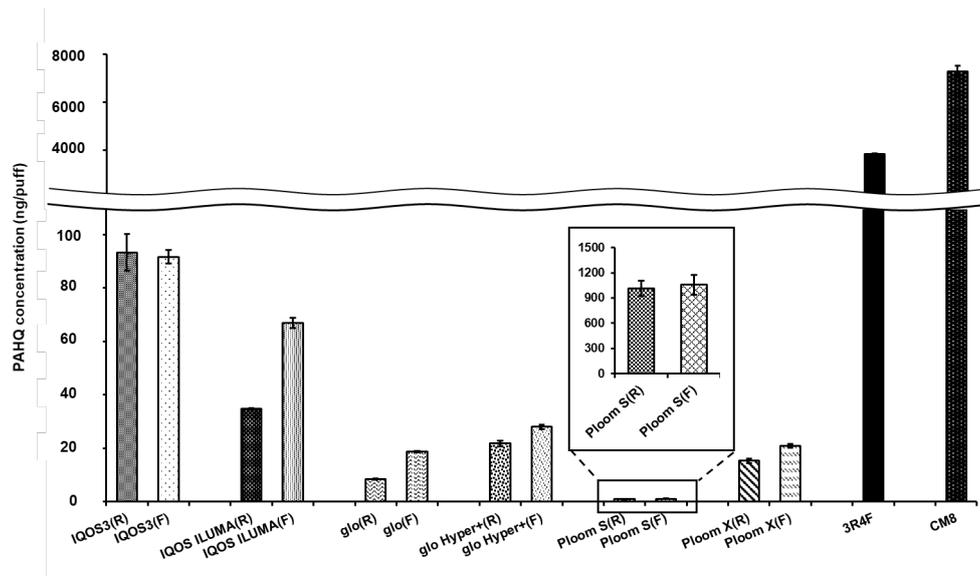


図1 加熱たばこ主流煙中の総 PAHQ 濃度

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこから発生するイソシアネートの分析

研究分担者 戸次 加奈江 国立保健医療科学院

研究要旨：近年、国内外で普及する新型たばこは、燃焼を伴わず加熱により使用するため、有害成分の低減が特徴とされているが、主流煙中からは、多種類の成分が検出されていることや、専用リキッドを充填し加熱する電子たばこにおいては、紙巻たばこを上回る量の有害成分が発生することが報告されている。そのため、これら新型のたばこを介した喫煙者及び非喫煙者への健康影響が懸念されている。本研究では、有害成分の中でも、アレルギー喘息などの免疫系、中枢神経系、心循環器系などの各種疾患の発症への健康影響が危惧されているイソシアネート化合物を対象に<sup>1)</sup>、国内で販売される新型たばこの主流煙中のイソシアネート濃度を調べ、喫煙者への曝露量を明らかにすると共に、受動喫煙の影響を調べるための基礎データを得ることとした。本研究結果より、対象としたイソシアネート5成分全てが検出され、これらは加熱温度により発生量が変動するものと予想されたが、どの製品または銘柄からもほぼ同様な組成のイソシアネートが検出された。また、これら各成分の発生量は、紙巻たばこに比べて大きく低減されていたものの、互換機（NOS）では殆ど同程度の発生量であった。そのため、習慣的な喫煙によってイソシアネートに継続的に曝露されることで、健康リスクを担う可能性が考えられた。さらに、これまでの報告から、新型たばこの喫煙により接取する可能性のあるイソシアネートは、大気中において有害とされる摂取量を有意に超過している可能性があり、様々な有害成分の複合的な曝露因子の一つとして、健康影響への関与が示唆された。

A. 研究目的

一般に、イソシアン酸やメチルイソシアネートなどのイソシアネート化合物は、感作性が高く、僅かな吸入でさえもアレルギー喘息や神経系への影響を及ぼすことが報告されている。イソシアネートの主な発生源としては、自動車などの燃料燃焼や廃棄物燃焼<sup>2)</sup>、紙巻たばこの喫煙などが知られており、特に喫煙により発生する副流煙や呼出煙は、室内の汚染にも大きく影響するものと考えられている。しかしながら、近年、国内外で普及する新型たばこは、燃焼を伴わず加熱により使用するため、有害成分の低減

が特徴とされているが、多種類の有害成分が検出されていることや、専用リキッドを充填し加熱する電子たばこにおいては、紙巻たばこを上回る量の有害成分が含まれている報告もあるため、これら製品を介した喫煙者の健康影響や受動喫煙の影響が懸念されている。そこで本研究では、国内で販売される新型たばこを対象に、主流煙中のイソシアネート濃度を調べ、喫煙者への曝露量を明かにすると共に、受動喫煙の影響を調べるための基礎データを得ることを目的とした。

B. 研究方法

### B. 1. 分析対象物質

本研究では、環境中での検出頻度が高く主にガス状で存在する以下のイソシアネート5種を対象とした。イソシアン酸 (ICA), メチルイソシアネート (MIC), エチルイソシアネート (EIC), プロピルイソシアネート (PIC), フェニルイソシアネート (PHI)。

### B. 2. 分析に使用したたばこ製品

本実験で使用した加熱式たばこは、IQOS3 duo (Philip Morris)、glo Hyper+ (British American Tobacco)、ploom X (日本たばこ産業株式会社) 及び標準の紙巻たばこ (3R4F) である。以下に、各加熱式たばこで使用した専用スティックをデバイスごとに示す。

- ・ IQOS3 duo: regular, menthol, purple menthol, yellow menthol, tropical menthol
- ・ glo Hyper+: true menthol, true berry boost, brilliant berry, pineapple berry mix, true rich green
- ・ ploom X: rich, menthol cold, menthol purple, menthol yellow, menthol green

### B. 3. たばこ主流煙の捕集及び分析

誘導体化剤ジブチルアミン (DBA) を保持させた陽イオン交換樹脂 (SCX) (Bond Elut, Agilent) に DBA-HCl を含浸させた石英繊維フィルター (CFP) を組み合わせたものを個体捕集材とし (Fig.1)、自動喫煙装置に接続して、タバコ主流煙の捕集を行った。捕集する際、各種専用のたばこは、フィルターの通気孔を塞ぎ、Health Canada Intensive (HCI) 法<sup>3)</sup>に準拠して行った。また、デバイスごとの捕集条件を Table 1 に示す。

主流煙を固体捕集材に捕集した後、アセトニトリルで抽出し、イソシアネート DBA 誘導体を LC-MS/MS で分析した。得られた試料中のイソ

シアネート DBA 誘導体は、Bekki ら<sup>4)</sup>が報告する LC-MS/MS の分析条件に従い、選択反応モニタリングモード (SRM) により分析した。

Table 1 たばこ製品の捕集条件

製品	吸煙時間 (s)	吸煙間隔 (s)	吸煙量 (mL)	吸煙回数 (n)
(A) IQOS3 duo	2	30	55	12
(B) glo Hyper	2	16	55	12
(C) ploom X	2	27	55	12
(D) NOS	2	16	55	12
(E) 3R5F (cigarette)	2	28	55	8

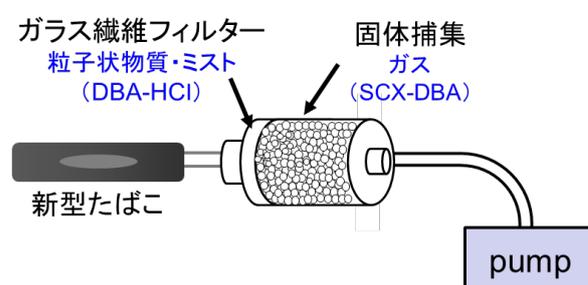


Fig. 1 加熱式たばこ主流煙の捕集方法

### C. 結果及び考察

加熱式たばこ主流煙中のイソシアネート

対象としたイソシアネート5種のうち、加熱式たばこの主流煙からは、全ての成分が検出され、特に ICA (50~1800 ng/stick) 及び MIC (3.5~720 ng/stick) の発生量が多い傾向にあった。製品ごとの発生量の違いは、使用した製品の加熱温度の違いが主に影響しているものと考えられ、専用スティックの違い等による影響はさほど大きく見られなかった。また、各製品の主流煙から検出された成分の組成は、いずれもほぼ同様の傾向が見られた。また、これら各成分の発生量は、紙巻たばこに比べて大きく低減されていたものの、NOS (互換機) では殆ど同程度の発生量であった。そのため、習慣的な喫煙によってイソシアネートに継続的に曝露されることで、健康リスクを担う可能性が考えられた。

実際の既往研究から、大気中では ICA が 1ppb

を越えると健康に影響を及ぼす可能性がある<sup>5)</sup>と考えられている。この大気中濃度から、体重 50 kg の成人が 1 日に摂取する ICA の摂取量を算出すると、およそ 25 µg となることから、加熱式たばこや電子たばこの使用方法によっては、大気からの摂取量を有意に超過しているものと予想される。さらに、検出された ICA 以外のイソシアネートについても強い有害性を示すことから、新型たばこの継続した使用によりイソシアネートを含む有害物質を摂取し続けることで、呼吸器疾患や将来的に何らかの健康影響を引き起こす可能性も考えられる。

3.26-28 ; 札幌. 同講演集.

#### D. 結論

本研究結果より、新型たばこから発生するイソシアネートは、加熱温度により発生量の変動するものと予想されたが、どの製品または銘柄からもほぼ同様な組成のイソシアネートが検出された。また、既往研究から、新型たばこの喫煙により摂取する可能性のあるイソシアネートは、大気中において有害とされる摂取量を有意に超過している可能性も示唆された。

#### E. 参考文献

1. US EPA: TDI and Related Compounds Action Plan. April 2011.
2. Leanderson, P. Indoor air 29. 291-298, 2019.
3. Health Canada, Official method T-115, 1999.
4. Bekki K. et al., Anal. Bioanal. Chemistry 412, 2020.
5. Roberts JM, PNAS 108, 8966-8971, 2011.

#### F. 研究発表

(学会発表)

1. 戸次加奈江、稲葉洋平、内山茂久、牛山明.  
たばこ製品から発生するイソシアネートの発生量と組成比較. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023.

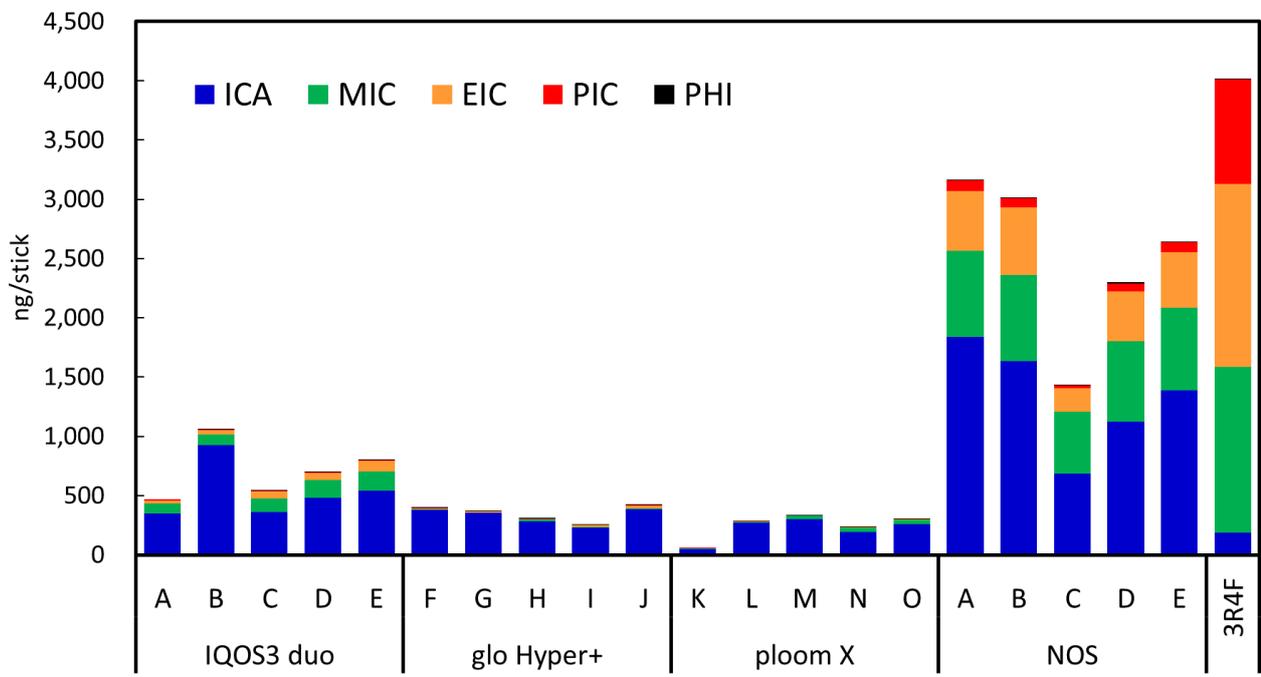


Fig. 2 加熱式タバコ主流煙中のイソシアネート濃度.

Table 2 加熱式タバコ主流煙中のイソシアネート濃度 (ng/stick).

ng/stick	Heated tobacco products n=3										Cigarette
	IQOS3 duo					glo Hyper+					3R4F
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
ICA	340 ± 11	920 ± 280	360 ± 64	470 ± 95	530 ± 31	370 ± 16	350 ± 4.4	280 ± 47	220 ± 9.2	380 ± 14	180 ± 12
MIC	85 ± 7.4	91 ± 5.0	110 ± 21	140 ± 26	160 ± 18	4.9 ± 2.6	3.5 ± 0.15	14 ± 7.7	9.0 ± 0.78	9.3 ± 0.51	1400 ± 460
EIC	24 ± 2.8	30 ± 2.1	63 ± 31	62 ± 36	87 ± 17	10 ± 2.1	7.9 ± 1.1	3.4 ± 0.41	14 ± 1.5	20 ± 2.9	1500 ± 360
PIC	9.7 ± 2.2	11 ± 0.79	4.8 ± 0.67	7.8 ± 1.2	5.4 ± 2.0	4.8 ± 0.76	3.2 ± 0.72	2.8 ± 0.29	3.4 ± 1.6	5.2 ± 1.6	880 ± 38
PHI	n.d.	n.d.	0.24 ± 0.064	0.33 ± 0.15	0.24 ± 0.16	n.d.	n.d.	0.38 ± 0.21	0.29 ± 0.053	0.26 ± 0.16	0.90 ± 0.31

ng/stick	Heated tobacco products n=3									
	ploom X					NOS				
	K	L	M	N	O	A	B	C	D	E
ICA	50 ± 4.3	270 ± 97	290 ± 40	190 ± 15	260 ± 9.1	1800 ± 2000	1600 ± 2200	680 ± 490	1100 ± 1200	1300 ± 1600
MIC	6.9 ± 0.32	10 ± 0.49	30 ± 1.5	35 ± 5.2	34 ± 2.9	720 ± 520	720 ± 470	520 ± 95	670 ± 190	690 ± 460
EIC	n.d.	n.d.	3.0 ± 2.0	3.2 ± 2.0	3.0 ± 2.2	500 ± 660	570 ± 760	190 ± 110	420 ± 590	470 ± 670
PIC	0.82 ± 0.061	0.78 ± 0.023	0.62 ± 0.16	0.66 ± 0.14	0.59 ± 0.062	92 ± 110	74 ± 91	24 ± 14	66 ± 80	83 ± 120
PHI	n,d	n.d.	0.23 ± 0.020	n.d.	n.d.	8.6 ± 11	9.1 ± 13	2.8 ± 2.1	7.0 ± 7.5	5.9 ± 8.9

A : regular, B : menthol, C : purple menthol, D : yellow menthol, E : tropical menthol, F : true menthol, G : true berry boost, H : brillianr berry, I : pineapple berry mix, J : true rich green, K : rich, L : menthol cold, M : menthol purple, N : menthol yellow, O : menthol green

n.d.: not determine

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

紙巻たばこ用加熱装置から発生する有害化学物質の分析

分担研究者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院  
分担研究者 高橋 秀人 国立保健医療科学院  
分担研究者 中田 光紀 国際医療福祉大学  
研究協力者 須藤 江里子 明治薬科大学

研究要旨

現在、日本では紙巻たばこ用加熱装置が販売されており、その装置を使用し喫煙した場合に有害化学物質の曝露量が開示されていない状況である。本研究では国内で販売されている紙巻たばこ用加熱装置を購入し、紙巻たばこで吸煙した条件で発生する主流煙に含まれるタール・ニコチン・一酸化炭素・TSNAsの分析を行った。紙巻たばこ加熱装置は、装置使用法が2種類存在している。1つは紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプと紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプに分かれている。それぞれの装置10製品について評価を行った。その結果は、ニコチン量が1 mg/cig、発生し、主流煙CO量 (mg/cig) は0.012-5.83となった。さらにたばこ特異的ニトロソアミン量 (ng/cig) は16.8-11021となった。本研究から同じ紙巻たばこ銘柄を各製品で分析した結果は、製品ごとに発生量が異なることが確認された。この結果から紙巻たばこ用加熱装置と紙巻たばこ銘柄の組合せによって、有害化学物質の曝露量は大きく変動することに留意し使用する必要がある。

A. 研究目的

改正健康増進法が2020年4月から本施行され、飲食店などの喫煙室の要件に変化が出てきた。特に加熱式たばこ専用室が設けられ、この喫煙室は経過措置ではあるが飲食が可能となっている。2014年に販売開始されたIQOS以降、加熱式たばこの普及が進んできている。最近、紙巻たばこ喫煙者に向けて加熱式たばこ専用室で使うことが可能な「紙巻たばこ専用の加熱装置」の販売が行われるようになった。この加熱装置は、1本の紙巻たばこを分割して使用する。そのため1本の紙巻たばこで3回喫煙可能になるため、経済的メリットを紹介している。この紙巻たばこ加熱装置から発生する主流煙の有害化学物質の含有量に関しては販売会社からも情報が無い状況である。そこで本研究では、これまでに我々行なって

きた加熱式たばこ製品から発生する主流煙の有害化学物質分析法を応用し、「紙巻たばこ加熱装置」から発生する主流煙成分の分析を目的とした。今回注目した成分はタール、ニコチン、一酸化炭素、たばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) の4つである。タールはたばこ主流煙から発生する粒子成分である。タールには、たばこ特異的ニトロソアミンなどの発がん性物質が多く含有されている。ニコチンは強い依存性がある。一酸化炭素は血液の酸素運搬能力を低下させ、血管の動脈硬化を促進する。TSNAはたばこに含まれるアルカロイドがニトロソ化することによって生成される発がん物質である。この中の4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)、N'-nitrosonornicotine (NNN)、N'-nitrosoanatabine (NAT)、N'-nitrosoanabatine (NAB)

の4成分を対象として分析した。

## B. 研究方法

### 1. 分析対象加熱式たばこ

紙巻たばこ加熱装置は、装置使用法が2種類存在している。1つは紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプ(Aタイプ)と紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプ(Bタイプ)に分かれている。使用した紙巻きたばこ用加熱装置は、紙巻きたばこを直接挿入する製品(Aタイプ)であるVP Style、HIMASU、YOWO、THERMALOU、たばこ葉を充填する製品(Bタイプ)のFy Hit eco-S、Herbva 5G、weeGio T8、FENiX+、FENiX MINI PRO、C VAPOR 4.0の計10製品を使用した。なお、試料は主流煙捕集前48時間から10日間、温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 3\%$ で恒温・恒湿化を行った。この各たばこ銘柄に対応する加熱装置をブランド毎に5台ずつ購入した。各主流煙の捕集は、1台あたり1サンプルとし、5台による捕集・分析結果を平均値とした。

### 2. たばこ主流煙の化学物質の分析

#### たばこ主流煙の捕集

たばこ主流煙の捕集方法は、自動喫煙装置(LM4E、Borgwaldt KC GmbH)を用いてHCl法を行った。HCl法は、(一服につき2秒間で55 mL吸引、30秒毎に一服させ、通気孔は全封鎖状態)はHealth Canada Intense protocol T-115(1、2)に準拠して行った。すべての喫煙法の1回あたりの吸煙回数は12とした。たばこは、ISO 3402(3)に従って捕集前に恒温恒湿化を行い、たばこ主流煙中の総粒子状物質(total particle matter; TPM)はCambridge filter pad(CFP、 $\phi 44$  mm、Borgwaldt KC GmbH)で捕集した。HCl法では1枚につき、たばこ3本分の主流煙を捕集し、1試料とした。たばこ銘柄ごとに5試料調製し、それぞれ測定に供した。

#### 主流煙の分析

##### ニコチン、一酸化炭素の分析

捕集後のCFPは、2-プロパノール(20 mL)を添加し、室温で20 minの振とう抽出を行った。2-プロパノール抽出液中のニコチン濃度はISO 10315(4)に準じて、ガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器(GC/FID)により分析を行った。COは、ISO 8454(5)に準じて、非分散型赤外線分析計(Non-dispersive infrared; NDIR、IR200、横河電機製)を用いて分析した

##### 水分分析

水分は、WHO TobLabNet SOP10に基づいて行った(6)。主流煙を捕集したCFPをイソキノリンが添加された2-プロパノールによって水分を抽出し、ガスクロマトグラフ熱伝導度型検出器(GC/TCD)で分析を行った。

##### タール算出法

タールは、WHO TobLabNet SOP10に基づいて分析を行った。タールの定量方法を以下に示す。粗タールは、粒子成分を捕集した全ての重量である。この粗タール量から、同時に捕集されたニコチンおよび水分量を差し引いた値がタール量として、紙巻たばこ外箱に表示されている。

タール量 = 粗タール量 - (ニコチン量 + 水分量)

##### TSNAs

4成分のTSNA(*N'*-nitrosonornicotine(NNN)、4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)、*N'*-nitrosoanatabine(NAT)、*N'*-nitrosoanabasine(NAB))は、WHO TobLabNet SOP3の分析を採用し(7)、CFPを振とう抽出後、得られた抽出液を固相抽出後に高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)に供した。

## C. 結果及び考察

### 1. 主流煙タール・ニコチン・一酸化炭素

直接加熱する装置 (A タイプ) 4 製品の主流煙ニコチン量 (mg/cig) は 0.37-1.53 となり、紙巻たばこのたばこ葉のみを加熱する装置 (B タイプ) 5 製品のニコチン量は 0.57-1.78 であった (Fig. 2)。紙巻たばこを HCl 法で捕集した結果は 2 mg/cig 程度となっており、紙巻たばこ加熱装置の分析結果はその値よりも低値であるものの、紙巻きたばこ挿入型、充填型共に 1.0mg/stick を上回っている加熱装置が 10 製品中 7 製品もあった。これらの結果から喫煙者は、紙巻たばこ加熱装置を使用しても十分なニコチン量を摂取していると考えられた。

次に水分量は、直接加熱する装置 (A タイプ) 4 製品の主流煙水分量 (mg/cig) は 13.1-32.4 となり、紙巻たばこのたばこ葉のみを加熱する装置 (B タイプ) 5 製品の水分量は 2.33-9.61 であった。水分量の傾向としては、喫煙時に紙巻たばこを 1 本使用する A タイプの方が高くなっていた。また、紙巻たばこを燃焼して使用した場合と比較すると加熱装置を使用した方が高くなっていた。

タール量は、直接加熱する装置 (A タイプ) 4 製品の主流煙タール量 (mg/cig) は 6.16-18.7 となり、紙巻たばこのたばこ葉のみを加熱する装置 (B タイプ) 5 製品のタール量は 3.36-7.36 であった (Fig. 1)。タール量の傾向としては、加熱装置を使用した条件では、たばこ葉の燃焼が伴わないためタール量は少なくなる傾向にあった。

一酸化炭素 (CO) 量は、直接加熱する装置 (A タイプ) 4 製品の主流煙 CO 量 (mg/cig) は 0.03-5.83 となり、紙巻たばこのたばこ葉のみを加熱する装置 (B タイプ) 5 製品の CO 量は 0.012-0.25 となった (Fig. 3)。紙巻たばこ用加熱装置の CO 発生の傾向は、低値出会った紙巻たばこ用加熱装置は加熱式たばこに近い結果となった。一方で高値となった加熱装置においては、加熱温度が加熱式たばこよりも高いことが影響していると考えられた。

### 2. たばこ特異的ニトロソアミン類 (TSNAs)

主流煙 TSNAs 量は、直接加熱する装置 (A タイプ) 4 製品の主流煙 TSNAs 量 (mg/cig) は 16.3-1021 となり、紙巻たばこのたばこ葉のみを加熱する装置 (B タイプ) 5 製品の TSNAs 量は 68.0-916 であった (Fig. 4)。TSNAs の分析結果は、これまで我々が報告してきた加熱式たばこ TSNA 量よりも数倍高い結果となった。主流煙 TSNAs 量は、たばこ葉に含まれている TSNAs が主流煙に移行するため、たばこ葉の TSNAs 量が高い紙巻たばこを使用すると今回の結果が生じる。しかし、たばこ葉の TSNAs 量を銘柄ごとに公開する法律になっていないために、喫煙者が知ることは困難である。

本研究結果からニコチンは紙巻きたばこ挿入型、充填型共に 1.0 mg/stick を上回っている加熱装置が 10 製品中 7 製品確認された。これらの結果から喫煙者は、紙巻たばこ加熱装置を使用しても十分なニコチン量を摂取していると考えられる。タール量は挿入型が充填型に比べて値が高く、たばこ葉の 1 回分の使用量に関係すると考えられる。ガス成分である一酸化炭素は紙巻きたばこが 30.5 mg/本、加熱装置の中では THERMALOUC が 5.15mg/本と他の加熱装置と比較して高値であった。これは加熱温度が影響しており、THERMALOUC は加熱温度が高い設定になっていることが考えられる。次に TSNA は THERMALOUC や FENIX MINI PRO の分析値が紙巻きたばこより数値が上回っていた。以上の結果から、紙巻たばこ用加熱装置も人体への影響があると考えられる。また、同じたばこ銘柄を使用しているにもかかわらず、加熱装置ごとに成分の発生量が異なった。

## D. 結論

現在、日本では紙巻たばこ用加熱装置が販売されており、その装置を使用し喫煙した場合に有害化学物質の曝露量が開示されていない状況である。本研究では国内で販売されている紙巻たばこ

用加熱装置を購入し、紙巻たばこで吸煙した条件で発生する主流煙に含まれるタール・ニコチン・一酸化炭素・TSNAsの分析を行ったところ、ニコチン量は1 mg/cig.発生し、その他の有害化学物質も発生していた。本研究から同じ紙巻たばこ銘柄を各製品で分析した結果は、製品ごとに発生量が異なることが確認された。この結果から紙巻たばこ用加熱装置と紙巻たばこ銘柄の組合せによって、有害化学物質の曝露量は大きく変動することに留意し使用する必要がある。

## E 参考文献

- (1) Health Canada Test Method T-115. Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.
- (2) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.
- (3) ISO 3402. Tobacco and tobacco products -- Atmosphere for conditioning and testing. 1999.
- (4) ISO 10315. International Organization for Standardization. Determination of nicotine in smoke condensates-gas chromatographic method, second ed. 2000.
- (5) ISO 8454. Cigarettes -- Determination of carbon monoxide in the vapour phase of cigarette smoke -- NDIR method. 2007.
- (6) WHO. Standard operating procedure for determination of nicotine and carbon monoxide in mainstream cigarette smoke under intense smoking conditions. WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 10). Geneva, World Health Organization, 2016.
- (7) WHO. Standard operating procedure for

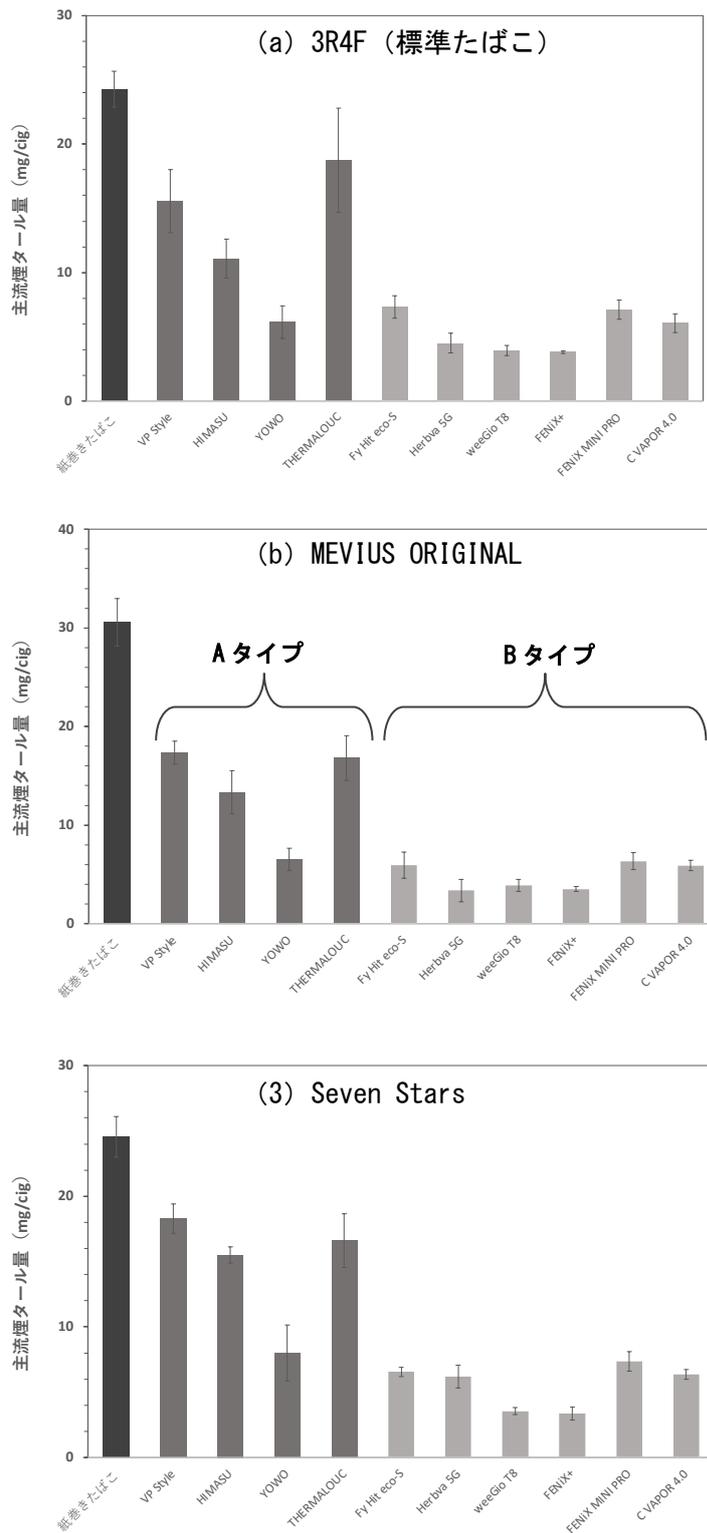
determination of tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke under ISO and intense smoking conditions: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 03). Geneva, World Health Organization, 2014.

## F. 研究発表

### 1.学会発表

1. 稲葉洋平、若井美樹、内山茂久、戸次加奈江、牛山明. たばこ主流煙の多環芳香族炭化水素類の捕集および分析法の確立と国内販売銘柄への適用. 第82回分析化学討論会(茨城、水戸) 2022.5.14-15. 同 pdf 要旨集 P2137.
2. 稲葉洋平、内山茂久、戸次加奈江、杉田和俊、鳥羽 陽、牛山明. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素類の捕集及び分析法の確立. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p540-541.
3. 杉田和俊、小林 寛、稲葉洋平. 加熱式タバコの水銀含有量. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p557-558.
4. 齋藤みのり、清水萌花、内山茂久、櫻田尚樹、稲葉洋平、牛山明、小倉裕直. 加熱式タバコ主流煙の化学物質発生量に及ぼす加熱温度の影響. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p464-465.
5. 稲葉洋平、須藤江里子、戸次加奈江、内山茂久、牛山明. 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙に含まれる有害化学物質. フォーラム 2022 衛生薬学・環境トキシコロジー. 2022.8.30-31. (熊本). 同講演抄録集. p.295.

6. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 2020年から販売された加熱式たばこの成分分析と初期型加熱式たばこことの比較. 第81回日本公衆衛生学会総会. 2022.10.7-9. (甲府) 同講演抄録集. p322.
7. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 電子たばこの連続使用によって発生する主流エアロゾルの一酸化炭素、フェノール類の分析. 第59回全国衛生化学技術協議会年会. 2022.10.31-11.1. (川崎). 同協議会講演集. p.214-215.
8. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立 2022年室内環境学会学術大会. 2022.12.1-2. (東京) 同講演要旨集. P142-143.
9. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 「シンポジウム 2 「加熱式タバコの最新のエビデンス」」 加熱式タバコ、電子タバコの成分分析 第32回日本禁煙推進医師歯科医師連盟学術総会. 2023.2.26. (北九州) 同抄録集. P40.
10. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 新型の加熱式たばこ主流エアロゾルに含まれる有害化学物質の分析 第93回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S213.
11. 稲葉洋平, 須藤江里子, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 紙巻たばこ主流煙に含まれるアクリルアミド分析法の確立と国内販売銘柄の実態調査 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.
12. 吉岡響, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の定量とたばこスティックの比較 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.
13. 広田航太郎, 山口大雅, 小宮雅美, 稲葉洋平, 加藤孝一, 戸塚ゆ加里. 加熱式タバコの遺伝毒性評価 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.
14. 佐藤光平, 澤麻里恵, 小池伸, 中舘和彦, 服部研之, 稲葉洋平, 牛山明, 小笠原裕樹. 加熱式たばこの主流煙暴露によるマウス肺におけるストレス応答の解析 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし



**Fig.1 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙タール量**  
 Aタイプ；紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプ  
 Bタイプ；紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプ

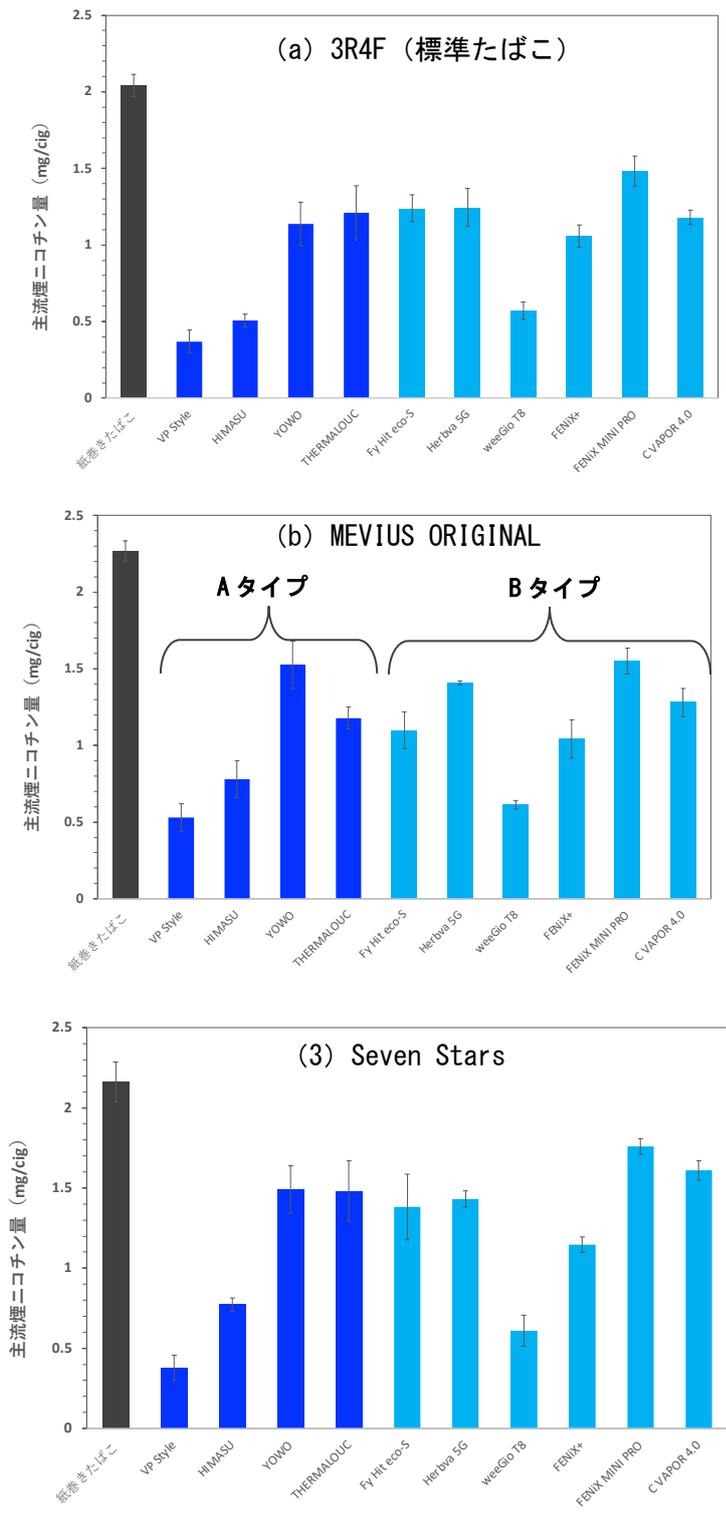
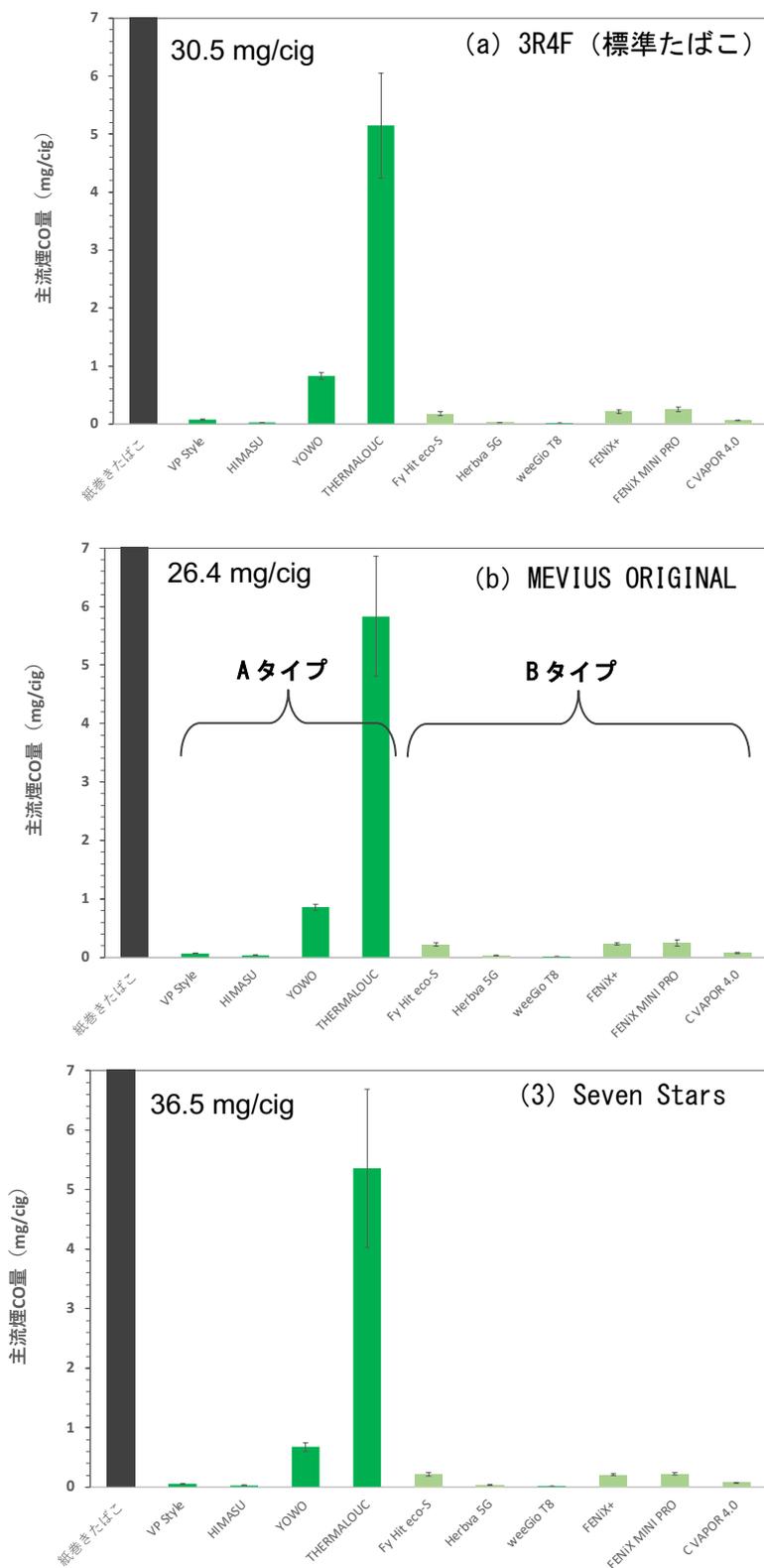


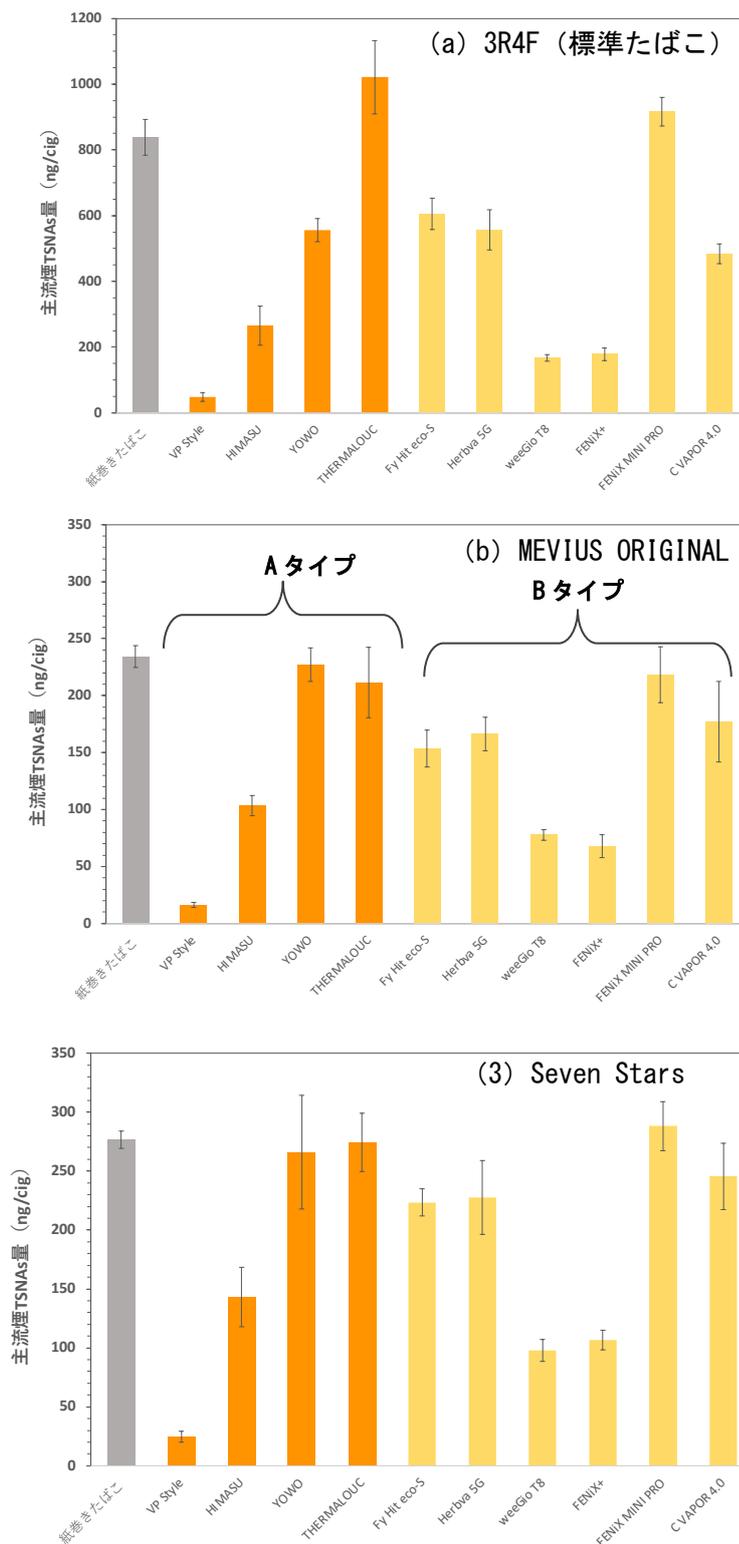
Fig.2 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙ニコチン量

Aタイプ；紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプ

Bタイプ；紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプ



**Fig.3 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙一酸化炭素量**  
 Aタイプ；紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプ  
 Bタイプ；紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプ



**Fig.4** 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙たばこ特異的ニトロソアミン量  
 Aタイプ；紙巻たばこを直接装置に挿入し喫煙するタイプ  
 Bタイプ；紙巻たばこからたばこ葉のみを充填するタイプ

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

紙巻たばこの加熱式喫煙における主流煙中の水銀に関する研究

分担研究者 杉田 和俊 麻布大学獣医学部

分担研究者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

近年、加熱式たばこは若い世代を中心に使用され、20～30代の男性で40%、女性で50%に達している。しかし、2013年に販売されてからまだ10年足らずのため、加熱式たばこによる健康影響は不明な点が多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要である。さらに、最近では紙巻たばこを加熱して喫煙ができるデバイスも販売され、今までとは異なる紙巻たばこの喫煙形態が追加された。そこで、本年度は、この紙巻たばこを加熱式として喫煙できる喫煙デバイスを用いて、標準タバコ(3R4F)から発生する水銀について測定した。

本研究では加熱式デバイス7種類、そのうち6種類については加熱温度の調整が可能であったことから、最高温度(H)及び最低温度(L)の設定条件で、HCI (Health Canada Intense)に準じた機械式喫煙法で発生した水銀を測定した。その結果、発生した水銀量は1回あたり平均2.6ng (0.7～5.3ng/cig)であり、加熱式たばこ同等のレベルであった。また、主流煙中の水銀量と加熱温度関係については、明確な関係は認められず、温度条件やデバイスの構造など詳細な検討が望まれた。主流煙中の水銀量から、紙巻たばこの加熱式喫煙で1日でおおよそ50ngの水銀を曝露することが推定された。

A. 研究目的

健康増進法が2020年4月に改定され、受動喫煙対策が強化された結果として、加熱式たばこが20～30歳代の若年層を中心に広がっている。加熱式たばこは、たばこ葉を燃焼させないことから、有害成分の発生量が少ないと言われる一方で、発生する有害成分の種類は差がないとも言われている。このように、加熱式たばこは紙巻たばこに比べ販売等の歴史が浅いことから、加熱式たばこの受動喫煙による将来的な健康影響は不明な点も多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。加熱式たばこは、2013年以降に日本国内での販売が開始され、約10年が経過したが、すでに喫煙者において20%を超えるシェアを占めるようになり、様々なフレーバーが揃えられ、たばこの新製品も続々と

発表されている。加えて、最近では従来の紙巻たばこで加熱式喫煙を可能にするデバイスも発売され、喫煙方法の多様化が加速している。他方、水銀は、日本では水俣病に代表される有機水銀汚染、世界では金鉱山や金属製錬などに伴う無機水銀汚染などが報告されており、未だに世界では代表的な環境汚染物質である。水銀の発がん性は報告されていないものの、メチル水銀では神経毒性による健康影響が、水銀蒸気の場合では、主に腎臓に蓄積するとともに血液-脳関門を通過し脳内に運ばれ、その結果として胸の痛み、呼吸困難、咳、咯血を続発し、間質系肺炎の引き起こすことが報告されている。たばこ主流煙中の水銀は蒸気として吸引されるため、上記の影響が考えられる。そこで、喫煙による有害影響の研究の一環として、加熱式た

ばこの喫煙による水銀曝露量を推定することを目的として、紙巻たばこを用いた加熱式喫煙による主流煙中に含有される水銀を測定した。

## B. 研究方法

### 1. 使用した紙巻たばこ及び加熱デバイス

分析に供したたばこは国際的に用いられている標準タバコ 3R4F (Research cigarettes, University of Kentucky)として、加熱デバイスは7種類とした。7種類のうち6種類で温度調節が可能であり、4種類がたばこを挿入する挿入方式、3種類がたばこ葉を充填する充填方式であった。

### 2. 主流煙中水銀の捕集及び前処理

たばこ主流煙中の水銀は、水銀マニュアル（環境省）を若干変更し、0.6%過マンガン酸カリウム（試薬特級 富士フィルム 和光純薬株式会社）水溶液と硫酸水溶液（有害金属測定用 富士フィルム和光純薬工業株式会社）(1+15)を等量今後したものを吸収液とし、その15mlをインピンジャー2本に入れ直列に連結し、HClモードで機械喫煙により発生したタバコ3本分の主流煙を捕集した。捕集後、過マンガン酸カリウム溶液を加えながら、ホットプレート上で過マンガンカリウムの紫色が消えなくなるまで加熱処理を行なった。水銀を測定する直前に10%ヒドロキシルアミン塩酸塩（試薬特級 和光純薬工業）溶液を添加し、過マンガン酸カリウム溶液の紫色を脱色し、水銀測定試料とした。

標準たばこ(3R4F)の葉に含有される水銀は水銀マニュアル（環境省）に若干の変更を加えた。すなわち、肉厚のメスフラスコ(50mL)に試料約0.5gを計り取り、水、硝酸（電子工業用 含有率61% 関東化学株式会社製）-過塩素酸（有害金属測定用特級試薬 60% ナカライテスク株式会社製）を等量混合したものと硫酸

（有害金属測定用 富士フィルム和光純薬工業株式会社）を加え、ホットプレート上で1時間の加熱分解を行った。冷却後、水を加え50mLに定容し、水銀測定用試料とした。

水銀の測定は、水銀測定用試料20mLをガラス製測定容器に入れ、硫酸（富士フィルム和光純薬株式会社、有害金属測定用）(1+1)1mL及び10%塩化すず（塩化すず(II)二水和物、富士フィルム和光純薬株式会社、有害金属測定用）水溶液1mLを添加し、発生したHg蒸気を空气中セルに導き吸光度を測定した。水銀の吸光度測定はMercury Analyzer HG400（平沼産業株式会社）を用いた。水銀の定量には水銀標準試薬（Hg 100, 富士フィルム和光純薬株式会社）を適宜希釈して用いた。

## C. 研究成果

### 1. 紙巻たばこの加熱式喫煙における主流煙中水銀含有量

標準たばこの水銀含有量は平均で $15.4 \pm 0.84$  ng/g、1本あたりの水銀含有量は $11.4 \pm 0.62$  ngとなった。この含有量は昨年度の報告にある外国産タバコでは1本あたり10ng程度の含有量とほぼ一致していた。

この標準たばこを各喫煙デバイスで加熱し、HClによる喫煙方法で得られた主流煙中の水銀含有量を測定した。その結果をFigure 1に示す。喫煙デバイスのうち温度調節ができるもの6種類については、加熱温度の設定は最低温度と最高温度に設定し、試料採取時に加熱部の温度を測定した。加熱デバイスによっては温度計が挿入できないものもあり、その場合は試料採取とは別に加熱温度を測定した。Table 1に温度設定と実測温度を記載した。また、試料A, B, C, Dは紙巻たばこを加熱デバイスにそのまま挿入する方式（挿入方式）であり、試料E, F, Gはたばこ葉0.2gを加熱デバイス内に充填する方式（充填方式）であった。

まず、1回(1本)当たりの主流煙中水銀量の全平均は $2.6 \pm 1.4$  ng/cig、最高 $5.3$  ng/cig、最低が $0.7$  ng/cigであり、加熱デバイスおよび加熱温度条件で異なることが認められた。今回試験に用いた加熱デバイスは、挿入方式と充填方式があり、充填方式ではたばこ葉 $0.2$  gを充填した。主流煙中の水銀含有量はそれぞれ $3.1 \pm 1.5$  ng/cig及び $1.9 \pm 1.0$  ng/cigと、挿入方式で水銀含有量が高いものの有意な差は認められなかった。次に設定温度による水銀量を比較した(Table 1)。Table 1の設定温度の低温(L)と高温(H)で水銀の含有量比(L/H)を比較したところ、挿入方式では3種類の加熱デバイスで1より大きく、低温設定における水銀が高い含有量であった。一方、計取方式ではE及びFの加熱デバイスで含有量比が $0.34$ と $0.22$ と1より小さく、高温設定における水銀含有量が高い結果となった。この2種類の測取方式での加熱温度はEでは $169^\circ\text{C}$ (低温)と $218^\circ\text{C}$ (高温)、Fでは $146^\circ\text{C}$ (低温)と $224^\circ\text{C}$ (高温)であり、低温設定では $170^\circ\text{C}$ 以下、高温設定では $200^\circ\text{C}$ 以上であった。もう1つの測取式のGでは低温が $190^\circ\text{C}$ 、高温で $203^\circ\text{C}$ と他の2つに比べると温度差が小さく低温設定時の温度も高かった。

#### D. 考察

本研究結果から紙巻たばこの加熱式喫煙による主流煙中の水銀は1回の喫煙(1本分)で約 $2.6$  ngであった。挿入方式と充填方式ではたばこ葉量は異なるものの、主流煙中の水銀量には有意な差は認められなかったことは、加熱デバイスの加熱部付近に当たるたばこ葉から水銀が気化したことが示唆された。また、本件等で用いた加熱デバイスの温度調整範囲では加熱温度による主流煙中の水銀量に大きな差が認められなかったが、 $180^\circ\text{C}$ より低い温度では主流煙中の水銀量は少ない傾向も認められ、加熱温度により主流煙中の水銀量が大きく変化

することが考えられる。一方、加熱デバイスAでは加熱温度が $142^\circ\text{C}$ であったにもかかわらず、本検討では最も高い $5.3$  ng/cigであった。Aは挿入方式であり、他の加熱温度が低かった加熱デバイスと加熱方式や加熱範囲など構造などの詳細な比較が必要であると考えられる。水銀の蒸気圧は $0.16$  Pa( $20^\circ\text{C}$ )、大気中の飽和濃度はおよそ $15$  mg/m<sup>3</sup>( $20^\circ\text{C}$ )と非常に気化しやすい性質である(WHO 環境保健クライテリア 118 1991)。大気中の水銀はほとんどが経気道曝露と考えられており、一般環境では大気経由の水銀曝露量は大人で平均 $0.66$  ng/kg-BW/dayと報告されている。体重 $60$  kgの人では、約 $40$  ng/dayの水銀を経気道曝露していると推定される。通常の紙巻たばこの喫煙方法よりも少ないとはいえ加熱式喫煙で一箱分、20本の喫煙を行うと $50$  ng/dayを超えており、喫煙により1日の経気道曝露量を超過することが推定された。

#### E. 結論

本研究では紙巻たばこを用いた加熱式喫煙による主流煙中の水銀含有量を7種類の加熱デバイスで2種類(低温、高温)の条件で測定した。その結果、主流煙中の水銀は1回(1本)の喫煙で $2.6 \pm 1.4$  ngであり、加熱温度による発生量の有意な差は認められなかった。また、挿入方式と充填方式においても有意な差は認められなかった。この喫煙により1日約 $50$  ng(20本相当の喫煙本数)の水銀が暴露されることが推定された。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Keisuke Sugimoto, Kazutoshi Sugita, Kensuke Orito and Yoko Fujii, Repeated-Dose Pharmacodynamics of Pimobendan in Healthy Cats. *Animals*, 12, 981, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12080981>.

特になし

Kyoko Noda, Yuki Hirakawa, Tomomi Nishino, Ritsuto Sekizuka, Marin Kishimoto, Tomohiro Furukawa, Sakiko Sawane, Ayu Matsunaga, Naoki Kobayashi, Kazutoshi Sugita, Kenji Oonaka, Hiroko Kawakami, Yuji Otsuka, Tetsuya Yamamoto, Toshihiro Yamamoto, Taku Yoshiya, Maiko Watanabe, Machiko Saka, Keiko Momma, Masayo Kushiro and Shiro Miyake, Preparation of Monoclonal Antibodies Specifically Reacting with the Trichothecene Mycotoxins Nivalenol and 15-Acetylnivalenol via the Introduction of a Linker Molecule into Its C-15 Position. *Toxins*, 14, 747, 2022. <https://doi.org/10.3390/toxins14110747>.

## 2. 学会発表

杉田和俊, 小林 寛, 稲葉洋平, P-82 加熱式タバコの水銀含有量. 一般社団法人日本環境化学会 第30回環境化学討論会 (2022).

杉田和俊, 丸山美優, 小野史礼, 高木敬彦, P-83 塩素処理土壌中の変異原性物質の検索. 一般社団法人日本環境化学会 第30回環境化学討論会 (2022)

山田茉莉子, 杉田和俊, F2P-15 肝疾患犬および健康犬の血漿中アミノ酸濃度測定. 土壌の塩素処理に伴う変異原性挙動の変化. 公益財団法人日本獣医学会 第165回日本獣医学会学術集会 (2022).

吉田重裕, 杉田和俊, F2P-19 犬の口臭測定. 公益財団法人日本獣医学会 第165回日本獣医学会学術集会 (2022).

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他

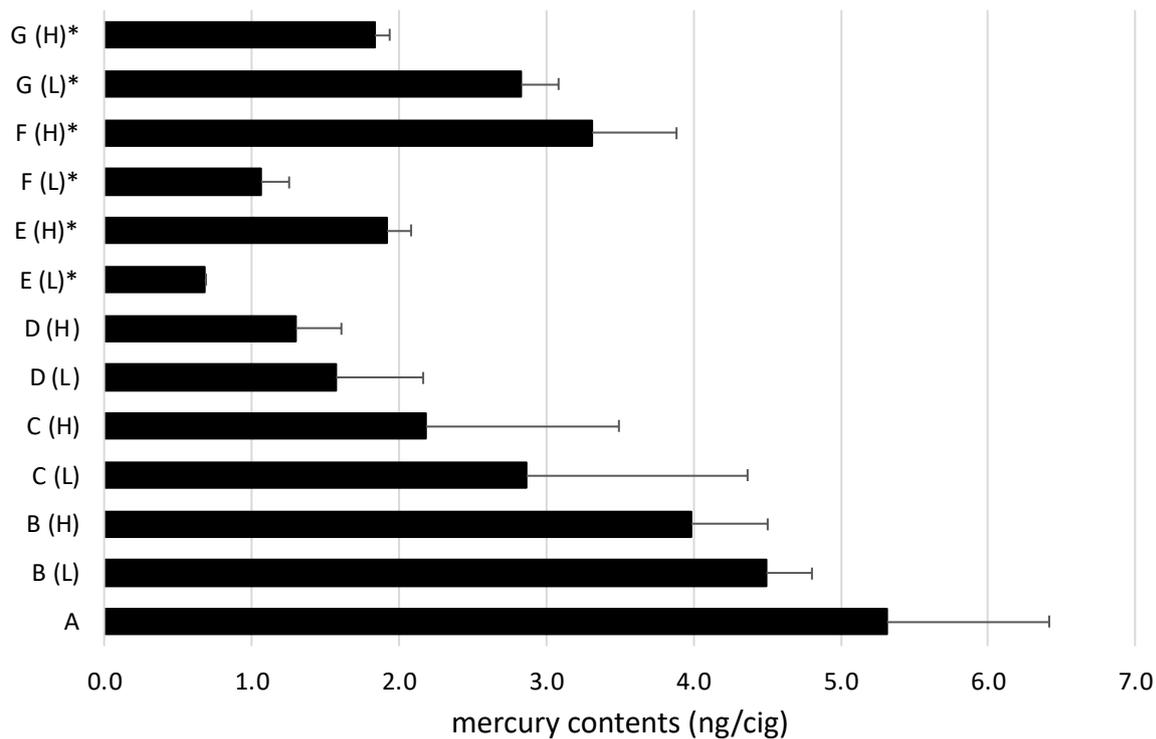


Figure 1 mercury contents in mainstream smoke

Table 1 Mercury concentration in cigarette mainstream smoke

specimen	Filling type	Temp. setting	Measured temp.(°C)	Hg concentration (ng/cig)	SD (ng/cig)	RSD (%)	transfer rate (%)	Conc. Ratio L/H
A	1 peace	–	142	5.3	1.1	20.6	46.5	–
B	1 peace	L	233	4.5	0.3	6.8	39.4	1.13
		H	264	4.0	0.5	13.1	34.9	
C	1 peace	L	310	2.9	1.5	52.7	25.0	1.31
		H	317	2.2	1.3	59.9	19.1	
D	1 peace	L	199	1.6	0.6	38.2	13.7	1.21
		H	220	1.3	0.3	23.9	11.4	
E	0.2g	L	169	0.7	0.0	0.9	21.9	0.34
		H	218	1.9	0.2	8.7	62.0	
F	0.2g	L (160°C)	146	1.1	0.2	17.9	34.3	0.22
		H (240°C)	223	3.3	0.6	17.1	107.3	
G	0.2g	L (199°C)	190	2.8	0.3	9.0	91.6	1.47
		H (216°C)	203	1.8	0.1	5.5	59.4	

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

新規加熱式たばこの副流煙分析

分担研究者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院  
分担研究者 戸次 加奈江 国立保健医療科学院  
分担研究者 牛山 明 国立保健医療科学院  
研究協力者 内山 茂久 国立保健医療科学院

研究要旨

これまでに我々は加熱式たばこ副流煙の捕集法・分析法を開発してきた。今年度は、2020年から2021年にかけて新たに投入された加熱式たばこ製品について副流煙の捕集を行いニコチン、メンソール、たばこ特異的ニトロソアミン (TSNAs) の分析を行った。また、先行研究で得られた結果と比較して、副流煙の含有量が変化しているのか。検証を行った。副流煙を捕集した抽出液について、ニコチンの分析はガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器 (GC/FID) で行った。TSNAs の分析は高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) で分析を行った。分析対象の加熱式たばこ製品は IQOS ULUMA、glo Hyper+、Ploom X とした。

分析対象のすべての製品からはニコチン、TSNAs が定量されたことから、新規加熱式たばこ製品からも副流煙が発生することが分かった。IQOS ILUMA の総ニコチン量は 0.011 mg/stick となり、先行研究で報告した IQOS3 の 0.057 よりも低い値となった。一方で glo Hyper+ と Ploom X は先行研究で行った製品よりも上昇していた。次に TSNAs に関しては、IQOS ILUMA が低減したものの、glo Hyper+、Ploom X は上昇していた。今回のように加熱式たばこ製品の新たな製品から化学物質量が上昇することがあるために、たばこ製品の継続的なモニタリングはたばこ対策を行う上で必要であると考えられる。これまでの加熱式たばこの副流煙の有害化学物質量は紙巻たばこと比較すると低い値である。我々の研究から加熱式たばこの呼出煙によって受動喫煙が生じることが確認されているため、加熱式たばこであっても非喫煙者に配慮する必要がある。

A. 研究目的

2020年4月から改正健康増進法が施行された。この法律は、望まない受動喫煙の防止を目的としている。さらにこの法律は、多数の者が利用する施設等の区分に応じ、当該施設等の一定の場所を除き喫煙を禁止するとともに、当該施設等の管理について権限を有する者が講ずべき措置等について定める。加熱式たばこは指定たばことなり、さらに参議院の付帯決議では、加熱式たばこの受動喫煙による健康影響について、調査を進め

る必要があると指摘されている。

加熱式たばこは、燃焼によって発生する主流煙の有害化学物質の曝露量が低いたばこ製品と考えられている(1)。そして加熱式たばこに関しては、副流煙が発生するのか確認する必要がある。我々はこれまでに、日本で販売する加熱式たばこの副流煙分析法の開発を行い、ニコチン、メンソール、たばこ特異的ニトロソアミンの分析を行ってきた(2)。本研究では、あらたに日本市場で販売された新規の加熱式たばこについて副流煙の

分析を行うことを目的とした。

## B.方法

### 1. 使用たばこ銘柄と分析対象加熱式たばこ加熱装置

使用した加熱式たばこは、IQOS ILUMA、glo hyper+、Ploom X、を使用した。各加熱式たばこ銘柄は、YELLOW MENTHOL (IQOS ILUMA)、Terracotta Tobacco l (glo hyper+)、neo Fresco Menthol (glo hyper+)、CAMEL MENTHOL (Ploom X) とした。なお、各たばこ銘柄は主流煙捕集前 48 時間から 10 日間、温度  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度  $60 \pm 3\%$  で恒温・恒湿化を行った。この各たばこ銘柄に対応する加熱装置を 5 台ずつ購入した。各主流煙の捕集は、1 台あたり 1 サンプルとし、5 台による捕集・分析結果を平均値とした。また、令和 2 年度に報告した副流煙分析結果も統合した Table を作成した。

### 2. たばこ副流煙の化学物質の分析

#### たばこ副流煙の捕集

たばこ副流煙の捕集方法は、自動喫煙装置 (LM4E, Borgwaldt KC GmbH) を用いて HCl 法を行った。HCl 法、(一服につき 2 秒間で 55 mL 吸引、30 秒毎に一服させ、通気孔は全封鎖状態)は Health Canada Intense protocol T-115 (3, 4) に準拠して行った。すべての喫煙法のたばこ銘柄の吸煙は 12 回とした。たばこは、ISO 3402 (5) に従って捕集前に恒温恒湿化を行い、たばこ副流煙中の総粒子状物質 (total particle matter ; TPM) は Cambridge filter pad (CFP,  $\phi 44$  mm, Borgwaldt KC GmbH) で捕集した。なお、副流煙は、CFP だけではなく、科学院で作製したフィッシュテール、CFP、XAD-4 カートリッジ、インピンジャーの 4 箇所を捕集した。粒子成分は、フィッシュテール、CFP による捕集となっており、ガス成分は、XAD-4 カートリッジ、インピンジャーで捕集している。HCl 法では 1 枚につき、たばこ 3 本分の主流煙を捕集し、1 試料とした。たばこ銘柄ごとに 5 試料調製し、それ

ぞれ分析に供した。

#### 副流煙の分析

##### (1) ニコチンの分析

捕集後の CFP は、2-プロパノール (15 mL) を添加し、室温で 20 min の振とう抽出を行った。得られた抽出液をエバポレーターで減圧濃縮した。2-プロパノール抽出液中のニコチン濃度は ISO 10315 (6) に準じて、ガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器 (GC/FID) により分析を行った。GC/FID は、島津製作所製 GC-2014 を使用し、分離カラムはアジレントテクノロジー製 HP-INNOWAX (0.25 mm i.d.  $\times$  30 m, 0.25  $\mu\text{m}$ ) を用いた。分析条件はカラム温度  $50^\circ\text{C}$  (2 min 保持)  $-50^\circ\text{C}$  から  $180^\circ\text{C}$  (昇温速度  $15^\circ\text{C}/\text{min}$ )  $-180^\circ\text{C}$  から  $190^\circ\text{C}$  (昇温速度  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ )  $-190^\circ\text{C}$  から  $250^\circ\text{C}$  (昇温速度  $30^\circ\text{C}/\text{min}$ )  $-250^\circ\text{C}$  (1 min 保持) とした。注入条件は 1  $\mu\text{L}$ 、スプリットレスとし、分析時間は 40 分であった。CFP 以外のフィッシュテール、XAD-4 カートリッジ、インピンジャーも 2-プロパノールで溶出後、ニコチン分析を行った。

##### (2) TSNAs

4 成分の TSNA (*N'*-nitrosornicotine (NNN)、4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)、*N'*-nitrosoanatabine (NAT)、*N'*-nitrosoanabasine (NAB)) は、WHO TobLabNet SOP 3 の分析を採用し (7)、CFP を振とう抽出後、得られた抽出液を固相抽出後に高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) に供し、TSNA の分析を行った (8)。CFP 以外のフィッシュテール、XAD-4 カートリッジ、インピンジャーも 2-プロパノールで溶出後、TSNAs 分析を行った。

## B. 結果及び考察

### 1. 加熱式たばこ副流煙の分析

#### ニコチン

IQOS ILUMA の副流煙は、フィッシュテールに吸着したニコチン量 (mg/stick) が 0.001、フィルターは 0.008、XAD-4 カートリッジが 0.001 そしてインピンジャーが 0.0003 であった。これらの分析値を合致した値を Table 1 に示した。IQOS ILUMA の総ニコチン量は 0.011 mg/stick となり、先行研究で報告した IQOS3 の 0.057 よりも低い値となった。次に glo Hyper+の総ニコチン量は 0.017 mg/stick となり先行研究の glo Hyper より若干高い値となった。同様に Ploom X についても総ニコチン量が 0.0013 mg/stick となり Ploom S、Ploom 2.0 より若干ではあるが高い値となった。副流煙の発生量は加熱温度の上昇によって変動が生じると考えられた。今回の分析からも加熱式たばこ副流煙は、CFP に多く転出されていることから粒子成分に多い傾向であった。同時にメンソールの捕集・分析も行ったところ、メンソールは IQOS ILUMA が 0.062 mg/stick、glo Hyper+が 0.026、Ploom X が 0.065 であり、ニコチンよりも若干高い濃度であった。先行研究と同様にメンソールとニコチンの異なる点は、メンソールはガス成分に多く含有されていた。

#### TSNAs

IQOS ILUMA の副流煙の 1 本あたりの総 TSNA 量は、0.082 ng/stick であった (Table 1)。この値は IQOS3 の発生量 0.0889 から若干ではあるが低減されていた。次に glo Hyper+は 0.938、1.1 ng/stick となり glo Hyper の値よりも高くなっていた。Ploom X は 0.051 ng/stick となり Ploom S シリーズよりも高い値となっていた。本研究の対象加熱式たばこ glo Hyper+と Ploom X はこれまでの装置と比較して加熱温度が高くなったために分析値が上昇していると考えられた。一方で IQOS ILUMA に関しては分析値が低減していた。この要因は IQOS ILUMA の加熱温度が低下しているのではないかと考えている。さらに、たばこスティックに含まれる TSNAs 量を低減させているために副流煙に移行する TSNAs が低いと考えている。

今回、新規の加熱式たばこの副流煙に含まれるニコチン、TSNAs 量の実態調査を行った。その結果、新規の加熱式たばこからも副流煙の発生が確認された。得られた分析値は、紙巻たばこの副流煙と比較すると低値ではあった。では今回の加熱式たばこの副流煙の分析結果から受動喫煙の健康影響を評価することが可能か？と考えると難しい。我々は、これまでに加熱式たばこを使用する喫煙者とその家族 (非喫煙者) をリクルートし、加熱式たばこの受動喫煙曝露実態調査を行った。その結果、加熱式たばこ受動喫煙者はニコチン、たばこ特異的ニトロソアミン曝露量は非喫煙者よりも高く、受動喫煙は生じることを確認した。また、本研究班の李の喫煙者の呼出煙のシミュレーション結果から、加熱式たばこ喫煙者が非喫煙者の近くで喫煙することによって、受動喫煙が生じる可能性が高くなることを確認している。以上の結果から、加熱式たばこによる受動喫煙は生じるが、その要因は呼出煙である可能性が高いことが考えられた。一方で本研究の結果から、加熱式たばこの使用で副流煙が要因として受動喫煙が生じることを示すことは難しい結果ではあった。たばこ製品は今回のようにたばこ製品の有害化学物質の発生量が高くなることもあるので、モニタリングを続けることはたばこ対策を継続する上で必要である。

#### C. 結論

本研究は、これまでに確立した加熱式たばこ副流煙の捕集法を使用して新規の加熱式たばこ製品のニコチン、メンソール、TSNAs の分析を行った。加熱式たばこからニコチン、メンソール、TSNAs が定量されたことから、加熱式たばこからも副流煙が発生することが分かった。今後、この捕集法を使用して、各種有害化学物質の分析を継続する必要があると考えている。

#### D. 参考文献

- (1) Schaller JP, Keller D, Poget L. et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. Regul Toxicol Pharmacol. 2016;81; Suppl 2:S27-S47.
- (2) 稲葉洋平、戸次加奈江、牛山明、内山茂久. 加熱式たばこの加熱式たばこ副流煙(エアロゾル)分析法の開発. 厚生労働行政推進調査事業費補助金(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)「加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の評価手法の開発」(研究代表者:稲葉洋平. (課題番号: H30-循環器等-指定-001)) 令和2年度分担報告書. p83-89.
- (3) Health Canada Test Method T-115. Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.
- (4) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.
- (5) ISO 3402. Tobacco and tobacco products -- Atmosphere for conditioning and testing. 1999.
- (6) ISO 10315. International Organization for Standardization. Determination of nicotine in smoke condensates-gas chromatographic method, second ed. 2000.
- (7) WHO. Standard operating procedure for determination of tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke under ISO and intense smoking conditions: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 03). Geneva, World Health Organization, 2014.
- (8) 杉山晃一, 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 高木敬彦, 樺田尚樹. 国産たばこ主流煙中たばこ特異的ニトロソアミン類の異なる捕集

法を用いた測定. 日本衛生学雑誌 2012;67: 423-430.

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

1. 稲葉洋平, 若井美樹, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. たばこ主流煙の多環芳香族炭化水素類の捕集および分析法の確立と国内販売銘柄への適用. 第82回分析化学討論会(茨城, 水戸) 2022. 5. 14-15. 同 pdf 要旨集 P2137.

2. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 杉田和俊, 鳥羽 陽, 牛山明. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素類の捕集及び分析法の確立. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p540-541.

3. 杉田和俊, 小林 寛, 稲葉洋平. 加熱式タバコの水銀含有量. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p557-558.

4. 齋藤みのり, 清水萌花, 内山茂久, 樺田尚樹, 稲葉洋平, 牛山明, 小倉裕直. 加熱式タバコ主流煙の化学物質発生量に及ぼす加熱温度の影響. 第30回環境化学討論会(富山) 2022.6.14-16. 同 pdf 要旨集 p464-465.

5. 稲葉洋平, 須藤江里子, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 紙巻たばこ用加熱装置から発生する主流煙に含まれる有害化学物質. フォーラム 2022 衛生薬学・環境トキシコロジー. 2022.8.30-31. (熊本). 同講演抄録集. p.295.

6. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 2020年から販売された加熱式たばこの成分分析及初期型加熱式たばこの比較. 第81回日本公衆衛

生学会総会. 2022.10.7-9. (甲府) 同講演抄録集. p322.

7. 稲葉 洋平, 戸次 加奈江, 内山 茂久, 牛山 明. 電子たばこの連続使用によって発生する主流エアロゾルの一酸化炭素, フェノール類の分析. 第59回全国衛生化学技術協議会年会. 2022.10.31-11.1. (川崎). 同協議会講演集. p.214-215.

8. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立 2022年室内環境学会学術大会. 2022.12.1-2. (東京) 同講演要旨集. P142-143.

9. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 「シンポジウム 2 「加熱式タバコの最新のエビデンス」」 加熱式タバコ, 電子タバコの成分分析 第32回日本禁煙推進医師歯科医師連盟学術総会. 2023.2.26. (北九州) 同抄録集. P40.

10. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明. 新型の加熱式たばこ主流エアロゾルに含まれる有害化学物質の分析 第93回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S213.

11. 稲葉洋平, 須藤江里子, 戸次加奈江, 内山茂久,

牛山明. 紙巻たばこ主流煙に含まれるアクリルアミド分析法の確立と国内販売銘柄の実態調査 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

12. 吉岡響, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽. 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の定量とたばこスティックの比較 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

13. 広田航太郎, 山口大雅, 小宮雅美, 稲葉洋平, 加藤孝一, 戸塚ゆ加里. 加熱式タバコの遺伝毒性評価 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

14. 佐藤光平, 澤麻里恵, 小池伸, 中舘和彦, 服部研之, 稲葉 洋平, 牛明, 小笠原裕樹. 加熱式たばこの主流煙暴露によるマウス肺におけるストレス応答の解析 日本薬学会第143年会. 2023.3.25-28 (札幌) 同要旨集.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

Table 1 新規加熱式たばこ製品を含めた副流煙分析結果

n=5

Sidestream	Sidestream Smoke (ng/cig)																										
	IQOS3		Philip Morris		ILUMA		glo:pro		glo:hyper		British American		Tetraedite Tobacco		Ploom S		Ploom S 2.0		Ploom X		IMPERIAL BRANDS		IQOS3+加熱機				
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD			
<b>Nicotine</b>	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.002 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000		
Fishall	0.052 ± 0.013	0.008 ± 0.003	0.001 ± 0.000	0.009 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.002	
Cartridge	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	
Impinger	0.0002 ± 0.0001	0.0003 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	
<b>Total Nicotine</b>	<b>0.057 ± 0.013</b>	<b>0.011 ± 0.003</b>	<b>0.005 ± 0.000</b>	<b>0.011 ± 0.002</b>	<b>0.008 ± 0.003</b>																						
<b>Menthol</b>	0.0002 ± 0.0000	0.0002 ± 0.0000	0.0002 ± 0.0000	0.0022 ± 0.0029	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0001
Fishall	0.027 ± 0.006	0.011 ± 0.007	0.007 ± 0.001	0.005 ± 0.005	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003	0.006 ± 0.003
Cartridge	0.057 ± 0.020	0.051 ± 0.020	0.029 ± 0.005	0.027 ± 0.003	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007	0.020 ± 0.007
Impinger	0.0001 ± 0.0000	0.0002 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000	0.0001 ± 0.0000
<b>Total Menthol</b>	<b>0.084 ± 0.023</b>	<b>0.062 ± 0.016</b>	<b>0.036 ± 0.006</b>	<b>0.034 ± 0.004</b>	<b>0.026 ± 0.006</b>																						
<b>TSNA</b>	0.169 ± 0.10	0.017 ± 0.003	0.044 ± 0.013	0.168 ± 0.060	0.281 ± 0.095	0.281 ± 0.095	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105	0.201 ± 0.105
NNN	0.407 ± 0.27	0.023 ± 0.008	0.052 ± 0.015	0.217 ± 0.083	0.400 ± 0.131	0.400 ± 0.131	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128	0.303 ± 0.128
NAT	0.069 ± 0.05	0.004 ± 0.001	0.015 ± 0.004	0.075 ± 0.024	0.148 ± 0.052	0.148 ± 0.052	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044	0.093 ± 0.044
NNK	0.254 ± 0.12	0.038 ± 0.016	0.058 ± 0.013	0.162 ± 0.041	0.271 ± 0.082	0.271 ± 0.082	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132	0.342 ± 0.132
<b>Total TSNA</b>	<b>0.899 ± 0.52</b>	<b>0.082 ± 0.02</b>	<b>0.168 ± 0.04</b>	<b>0.622 ± 0.18</b>	<b>1.100 ± 0.36</b>	<b>1.100 ± 0.36</b>	<b>0.938 ± 0.41</b>																				

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)

電子タバコ E-リキッドの熱分解により発生するカルボニル化合物

内山茂久, 斎藤みのり, 稲葉洋平 (国立保健医療科学院)

**研究要旨** 電子タバコから発生するカルボニル化合物の生成メカニズムを検討した。電子タバコの E-リキッドは、主成分であるグリセロール (GLY) とプロピレングリコール (PG) にニコチンや香料を添加した溶液である。本研究では任意の比率の GLY と PG から構成される添加物を含まない純粋な E-リキッドを作製し、様々な電力におけるカルボニル化合物を定性・定量することで熱分解反応を考察した。電力 100W の時、PG 100%の E-リキッドから発生する粒子状物質 (煙) は GLY 100%のときの3倍程度多いが、反対にカルボニル化合物の発生量は少ない。PG は沸点が GLY より低く気化→凝縮→粒子化しやすいためと考えられる。PG 100%の時は、全体的に熱分解物質発生量は非常に少ないが、GLY の比率が高くなるにつれ発生量が増加した。また、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン、プロパナル、アクロレイン、アセトールはガス状で多く存在したが、グリオキサール、メチルグリオキサールは粒子状でも多く存在した。ガス状のホルムアルデヒド発生量は GLY 0%の時は 31  $\mu\text{g}/10\text{s}$  であるが、GLY 100%の時は 350  $\mu\text{g}/10\text{s}$  に達する。PG が 2 価アルコールであるのに対し GLY が 3 価であり水酸基が少ないことが原因と考えられる。一方、電力 200W の時は、熱分解物の発生量は極めて高く、ホルムアルデヒドが 22000  $\mu\text{g}/10\text{s}$  発生する場合もあった。電力が高くなると E-リキッドの蒸発平衡が崩れるためコイルの温度が 600°C を超え熱分解反応が促進されることが推測される。

## A. 研究目的

電子タバコとは、グリセロール (GLY) やプロピレングリコール (PG) を主成分とし香料を添加した E-リキッドを電氣的に加熱し、発生するエアロゾルを吸煙する喫煙具である。海外で販売されている電子タバコはニコチンを含んでいるが、日本では薬機法によりニコチンの使用が禁止されている。年々、電子タバコの大規模化に伴いエアロゾルの発生量が増大し、現在は電力可変型の、いわゆる“爆煙型”電子タバコが主流になりつつある。しかし、エアロゾル発生量の増大に伴い、呼吸器疾患の報告が急増し、2019 年から死亡事象まで発生するようになった<sup>1</sup>。

我々は、電子タバコから GLY や PG の熱分解物として、炭素数が 3 以下のカルボニル化合物やオキシド類が発生することを報告している<sup>2-4</sup>。しかし、カルボニル化合物の中にはまだ未同定の物質がいくつか存在する。また、これらの熱分解物は加熱温度により発生量が異なると思われるが生成機構も解明されていない。

そこで、本研究では任意の比率の GLY と PG から構成される添加物を含まない純粋な E-リキッドを作製し、様々な電力におけるカルボニル化合物を定性・定量することで熱分解反応を考察した。また、電子タバコアトマイザー各所の温度を測定することにより熱分解のメカニズムを考察した。

## B. 実験

### B.1. 実験装置と捕集器具

#### B.1.1 装置

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、LC-20AD 送液ポンプを 2 台、SIL-20AC オートサンプラーと SPD M20A フォトダイオードアレー検出器を備えた島津製作所製 Prominence LC-20 を使用した。分離カラムは Ascentis RP-Amide (3  $\mu\text{m}$  particle size, 150 mm  $\times$  3 mm i.d., Supelco 社製) を用い、カラムオープン温度 30°C、注入量 10  $\mu\text{L}$  とした。グラジエントモードの HPLC 分析には、移動相に 10 mmol/L の酢酸アンモニウムを含むアセトニトリル (50%) と水 (50%) の混合溶液 (A 溶液) と、アセトニトリル (80%) と水 (20%) の混合溶液 (B 溶液) を用いた。カラム流量 0.7 mL/min で A 溶液 100% を 5 分間保ち、50 分間で B 溶液を 100% にした後、10 分間 B 溶液 100% を保った。

温度の測定には Pico Technology 社製の TC-08 熱電対データロガーを使用した。熱電対はシース型 (1.0 mm $\phi$ , 50 mm) K タイプを用い、電子タバコのアトマイザー各所に設置し、500 ms 間隔でデータを採取した。

#### B.1.2 ガス状物質捕集用捕集管 (CX-572 カートリッジ) の作製

カーボンモレキュラーシーブス Carboxen 572 粒子

を ATD-tube に充填し窒素気流下で 380°C で 5 時間コンディショニングを行う。コンディショニングを終えた Carboxen 572 粒子 300 mg を 6 mL SPE-tube に充填し、CX-572 カートリッジ<sup>5,6</sup> とした。

### B.2. 電子タバコ主流煙の捕集と分析

電子タバコの吸煙口に Cambridge Filter Pad (CFP), CX-572 cartridge (CX-572) を取り付け、吸引ポンプを用いて 300 mL/min の流速で 10 秒間捕集を行った。捕集装置の概要を Fig. 1 に示す。捕集を終えた CFP と CX-572 カートリッジはアセトニトリルで溶出を行い、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) で誘導体化した後、ヒドラゾン誘導体を HPLC で分析した。分析のフローチャートを Fig. 2 に示す。

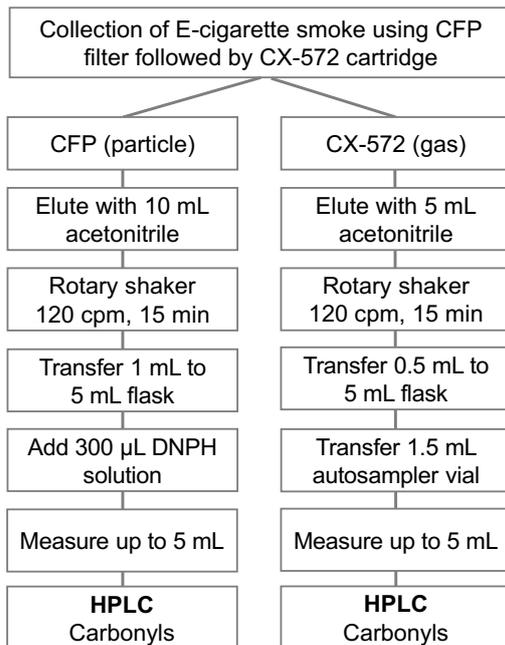
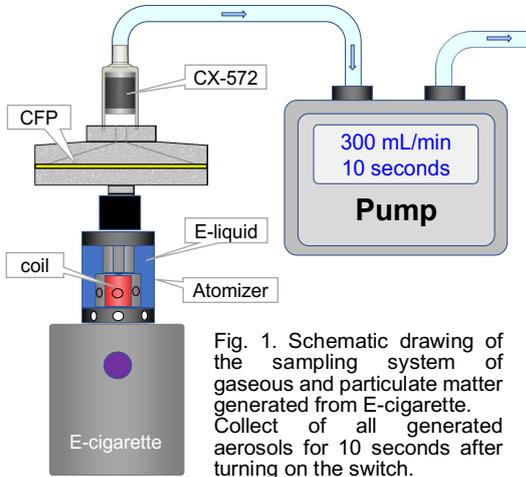


Fig. 2. Flowchart of the analysis of chemical compounds.

## C. 結果と考察

### C.1. GLY と PG の混合比による発生量の変化

前述したように電子タバコの E-リキッドの成分は GLY と PG であるが、市販されている E-リキッドの成分比は様々である。無作為に 14 製品の E-リキッドを GC/MS で分析したところ、グリセロールの比率は 14%~100%、平均 54%であった。

#### C.1.1. 粒子状物質発生量

E-リキッドの成分比による粒子状物質 (TPM) 発生量の変化を測定した。GLY と PG が様々な比率の E-リキッドを作製し、電子タバコに充填する。電子タバコの電力を 100 W 或いは 200 W に設定し、発生する粒子状物質を捕集した。Fig. 3 に様々な GLY と PG の比率による TPM 発生量の変化を示す。GLY の比率が高くなると TPM 発生量が減少した。PG 100% の時の発生量は GLY 100% の時の約 3 倍である。また、電子タバコの電力 100 W と 200 W では発生量に大きな差はなかった。

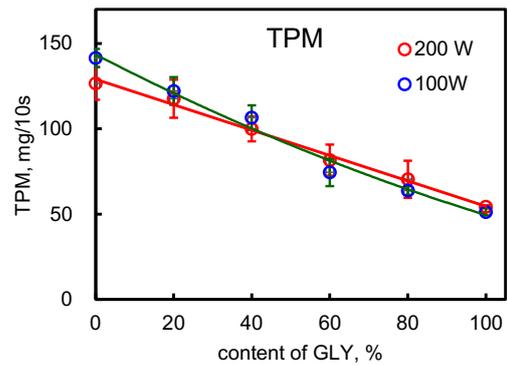
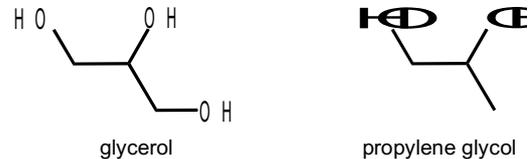


Fig. 3. Changed in the generation amount of TSP with ratio of GLY and PG.

#### C.1.2. 熱分解物質発生量

E-リキッドの主成分 GLY と PG は炭素数 3 の多価、低級アルコールである。従って、熱分解物は Fig. 4 に



示すような炭素数 3 以下のオキシド類、カルボニル化合物が推測される。Uchiyama ら<sup>2,4</sup> はこれらの物質の中で、カルボニル化合物としてホルムアルデヒド (FA)、アセトアルデヒド (AA)、プロパナル (PA)、アセトン (AC)、アクロレイン (ACR)、グリオキサール (GO)、メチルグリオキサール (MGO) が、オキシド類としてプロピレンオキシド (PO)、グリシドール (GLD) が電子タバコから発生することを報告している。多価アルコールの熱分解では様々なカルボニル化合物

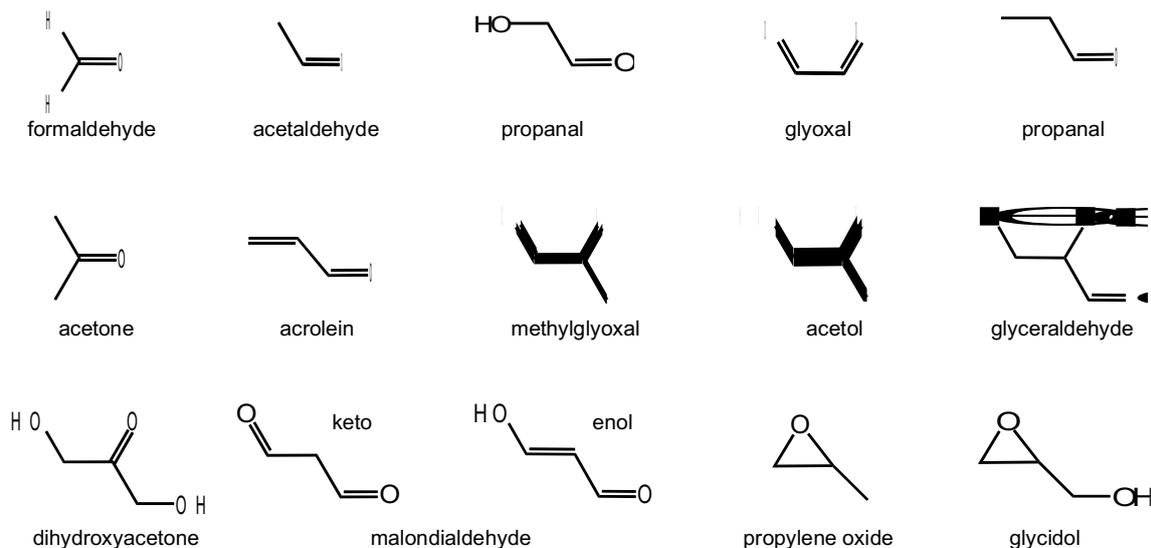


Fig. 4. Possible thermal decomposition compounds from glycerol and propylene glycol.

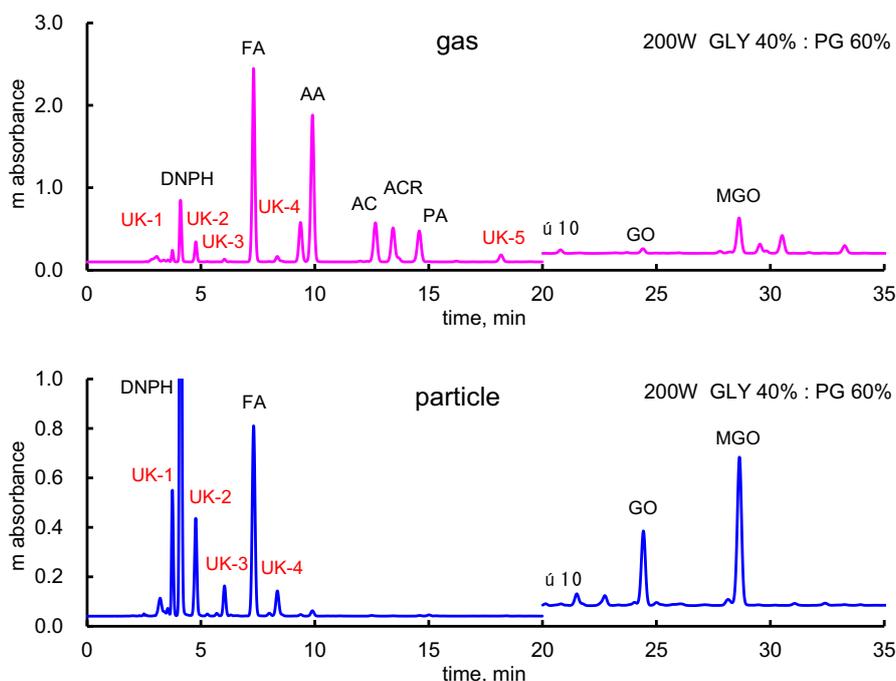


Fig. 5. Chromatographic profiles of DNP derivatives from glycerol and propylene glycol.  
 FA, formaldehyde; AA, acetaldehyde; AC, acetone; ACR, acroleine; PA, propanal; GO, glyoxal; MGO, methylglyoxal; UK, unknown compound

が生成することが推測されるが、これらの物質は不安定であることが多い。そのため DNPH で誘導体化して分析する必要がある。Fig. 5 に電子タバコから発生したガス状、粒子状カルボニル化合物の典型的な HPLC クロマトグラムを示す。様々なピークが検出されているが、スペクトルから判断するとこれらのピークは全てカルボニル化合物の DNPH 誘導体、ヒドラゾン誘導体である。しかし、これらのピークは全ては同定されておらず UK-1, UK-2, UK-3, UK-4, UK-5 の 5 つのピーク

が不明であった。そこで推定される標準物質を DNPH で誘導体化し HPLC で分析したところ UK-2 はヒドロキシアセトン (アセトール), であることが明らかになった。アセトールは GC/MS でも分析可能であるが、不安定な物質なので DNPH で誘導体化して HPLC で分析した方が精度が高い。

電力 100 W の時の様々な GLY : PG 割合におけるカルボニル化合物発生量の変化を Fig. 6 に示す。なお、UK-1, UK-3, UK-4, UK-5 は GLY, PG の熱分解物質

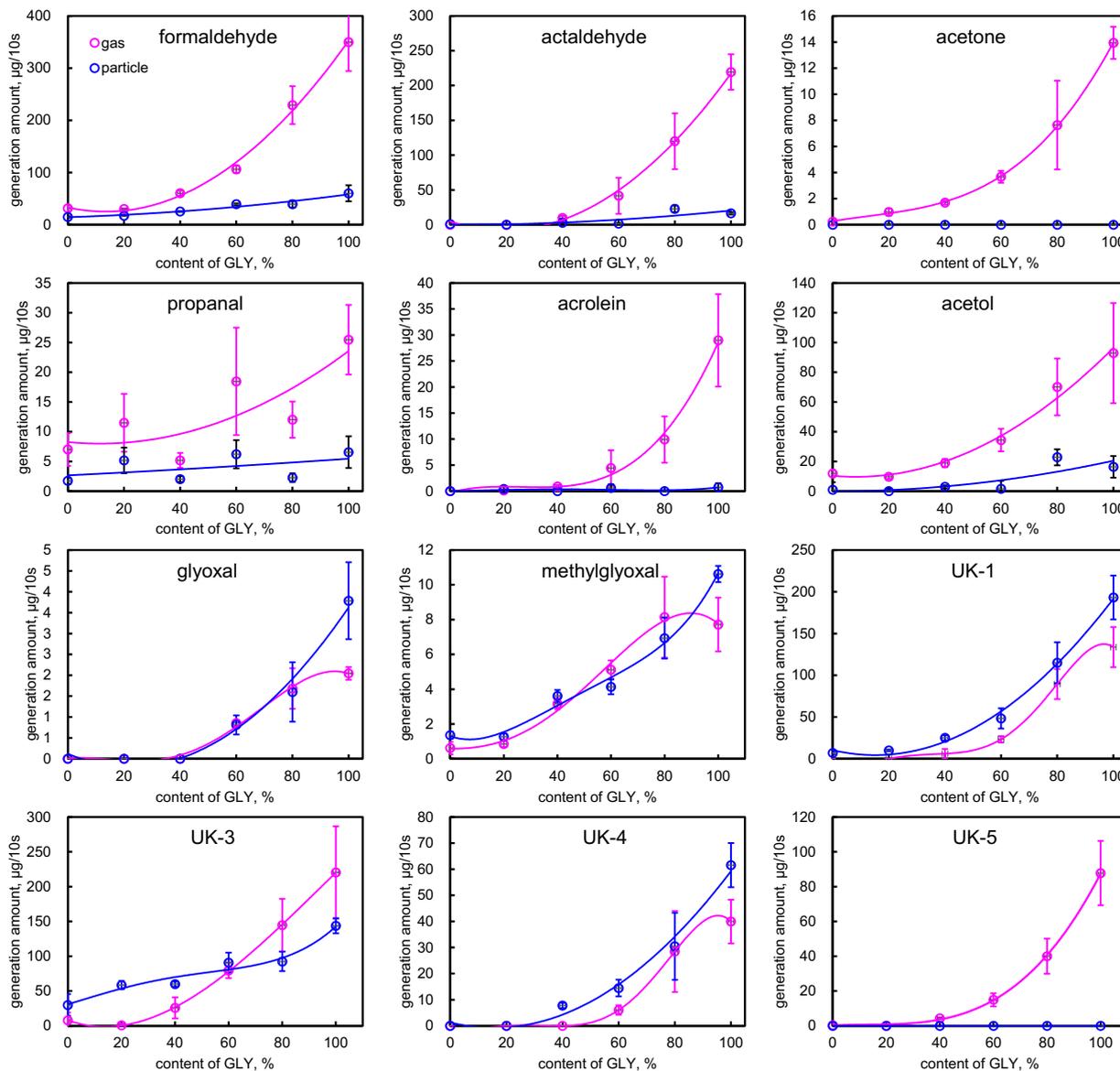


Fig. 6. Changes in the generation amounts of carbonyl compounds from various contents of GLY to in the E-liquid at 100W. (n = 5)

であり、炭素数 3 以下の物質と思われる。DNPH 誘導体のモル吸光係数はほぼ同じことから UK-1, UK-3, UK-4, UK-5 の分子量を 50 g/mole と仮定し、それぞれの濃度を算出した。

E-リキッドが PG だけの時は、全体的に熱分解物質発生量は非常に少ないが、GLY の比率が高くなるにつれ発生量が増加した。また、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン、プロパナール、アクロレイン、アセトール、UK-5 はガス状で多く存在したが、グリオキサル、メチルグリオキサル、UK-1, UK-3, UK-4 は粒子状でも多く存在した。ガス状のホルムアルデヒド発生量は、GLY 0%の時は 31 µg/10s であるが、GLY 100%の時は 350 µg/10s に達する。アセトアルデヒドも同様に GLY 0%の時は 0 µg/10s であるが、

GLY 100%の時は 220 µg/10s に増大する。これらの分析結果から、GLY 100%の E-リキッドからは TPM の発生量は少ないが、カルボニル化合物が多く発生することが明らかになった。PG が 2 価アルコールであるのに対し GLY が 3 価アルコールであることが原因であると考えられる。

電力 200 W の時の様々な GLY : PG 割合におけるカルボニル化合物量の変化を Fig. 7 に示す。各比率における発生量は大きくばらつき、異常な高濃度を示した。100 W の時は GLY 比率の増加に対応してカルボニル化合物生成量が上昇したが、200 W の時は GLY 比率 20 ~80%の時に高濃度になった。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、UK-4 に関しては GLY, PG のみの時は発生量が低いという異様な現象である。

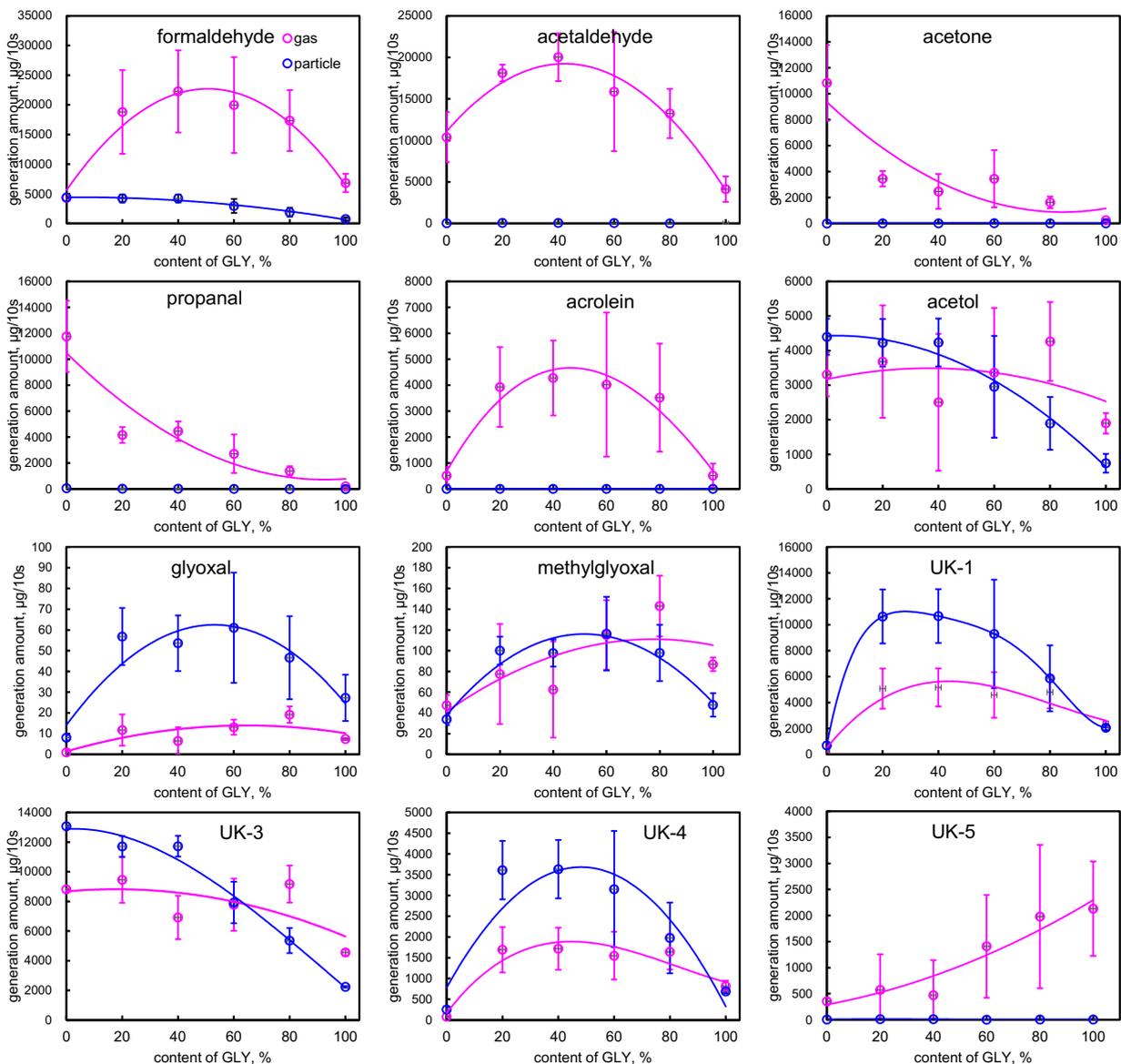


Fig. 7. Changes in the generation amounts of carbonyl compounds from various contents of GLY to in the E-liquid at 200W. (n = 5)

### C.2. アトマイザー各部の温度

電子タバコは GLY や PG から構成される E-リキッドをニクロム線等の発熱体で加熱することにより、エアロゾルを発生させ、これを吸煙する喫煙具である。従って加熱温度がエアロゾル発生に大きく関与する。

エアロゾルは電子タバコのアトマイザーで発生させる。アトマイザーは Fig. 8 のような構造であり、大きく分けて発熱体のコイル、E-リキッドを浸透するコットン、E-リキッドから構成される。そこで、熱電対を E-リキッドが浸透したコットン部 (A, cotton)、コイル外側 (B, outside)、コイル内側 (C, inside) 発煙部 (C, mist) に設置し、各部の温度を測定した。様々な GLY, PG 比率に対する電力 20W, 50W, 100W, 150W, 200W, 230W の時のアトマイザー各部の温度変化を Fig. 9 に示

す。電力が 50W 以下の時はコイルの温度が GLY の沸点 (290℃)、PG の沸点 (188℃) 共沸点を超えることがなく蒸発平衡が成立している。しかし、100W から蒸発平衡が崩れ始め 150W 以上では 600℃にまで上昇する。

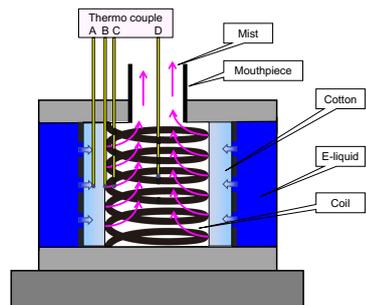


Fig. 8. Schematic of the atomizer of E-cigarette.

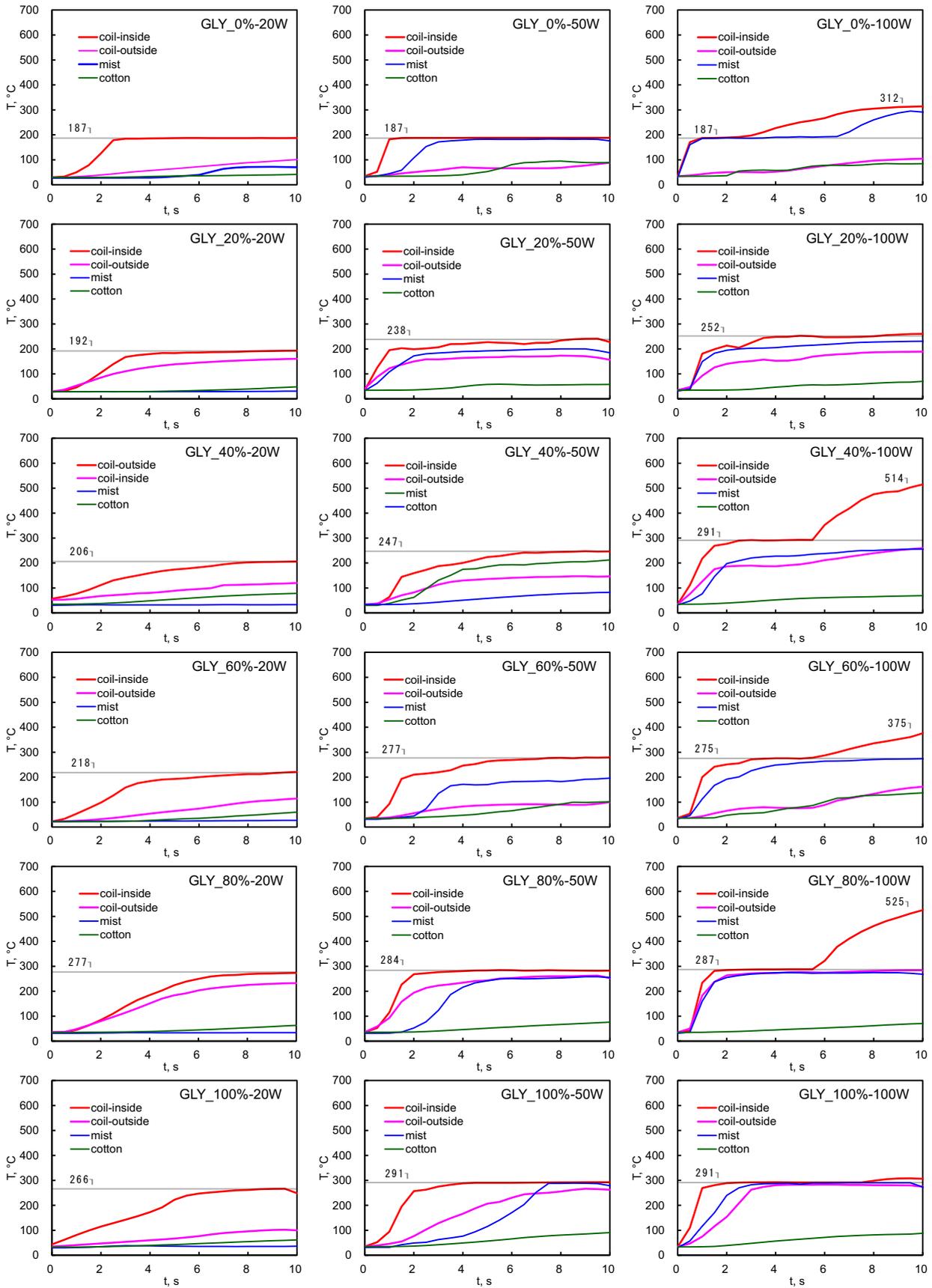


Fig. 9-1. Changes in temperature of atomizer with time under the conditions of various contents of GLY and various electric power. 20W-100W

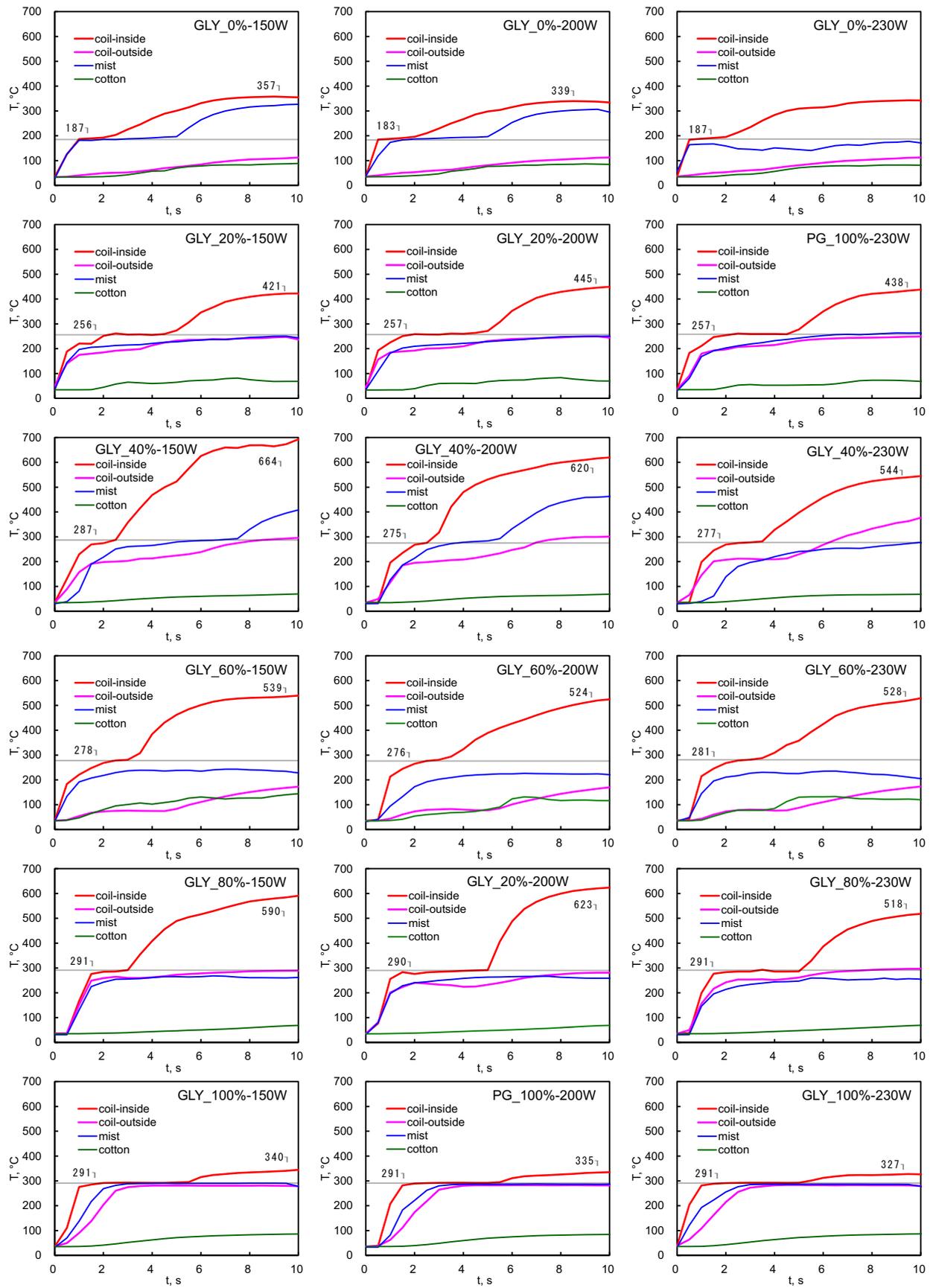


Fig. 9-2. Changes in temperature of atomizer with time under the conditions of various contents of GLY and various electric power. 150W-230W

気体と接触しているコイル外側温度の蒸発平衡温度 (20 W-230 W 平均値) と GLY 比率の関係を図 10 に示す。コイル外側温度は GLY と PG の共沸点と思われる値を示した。GLY の比率が高いほどコイルが高温になり熱分解物生成量が多くなることが推測される。

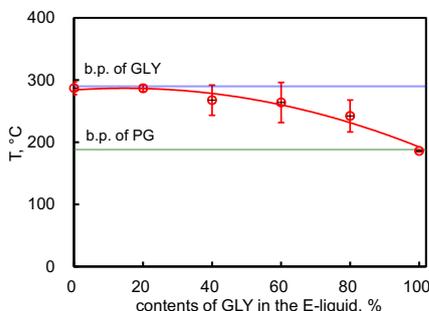


Fig. 10. Changes in temperature of the coil-inside with contents of GLY in the E-liquid.

#### 4. 結論

GLY と PG だけから構成される E-リキッドを使用し電子タバコから発生するカルボニル化合物の発生メカニズムを検討した。市販されている E-リキッドに占める GLY の比率は 14%~100%, 平均 54% であり, PG のみの製品はなかった。PG 100% の時の TPM (煙) 発生量は GLY 100% の時の約 3 倍である。

PG 100% と GLY 100% の E-リキッドから発生する熱分解物質の種類と発生量にはかなり差が認められた。PG 100% の E-リキッドから発生する総粒子状物質 (TPM) は GLY 100% の E-リキッドの発生量の約 3 倍であった。しかし熱分解物質においては圧倒的に GLY 100% からの発生が多いことが明らかになった。熱源であるコイルは E-リキッドの成分の沸点まで上昇する。GLY の沸点は PG より 100°C 高いため, 酸化脱水反応が進行しやすい。また, GLY は OH 基を 3 つ有するので, OH 基が 2 つの PG より多くのカルボニル化合物を生成することが考えられる。

ハームリダクションとして, 紙巻きタバコから新型タバコに移行する喫煙者が増加しているが, 電子タバコは熱分解物質の発生量が紙巻きタバコと比べても圧倒的に多い場合もある。特に GLY の比率が高い E-リキッド使用時には発ガン性のある有害な熱分解物質も大量に発生するため危険である。

#### 文献

- Layden JE, Ghinai I, Pray I, et al. Pulmonary Illness Related to E-Cigarette Use in Illinois and Wisconsin — Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*. 2019:[Epub ahead of print] Nov 30, 2019.
- Uchiyama S, Noguchi M, Sato A, Ishitsuka M, Inaba

Y, Kunugita N. Determination of Thermal Decomposition Products Generated from E-Cigarettes. *Chemical Research in Toxicology*. 2020;33(2):576-583.

- Uchiyama S, Ohta K, Inaba Y, Kunugita N. Determination of Carbonyl Compounds Generated from the E-cigarette Using Coupled Silica Cartridges Impregnated with Hydroquinone and 2,4-Dinitrophenylhydrazine, Followed by High-Performance Liquid Chromatography. *Anal Sci*. 2013;29(12):1219-1222.
- Uchiyama S, Senoo Y, Hayashida H, Inaba Y, Nakagome H, Kunugita N. Determination of Chemical Compounds Generated from Second-generation E-cigarettes Using a Sorbent Cartridge Followed by a Two-step Elution Method. *Analytical Sciences*. 2016;32(5):549-555.
- Uchiyama S, Hayashida H, Izu R, Inaba Y, Nakagome H, Kunugita N. Determination of nicotine, tar, volatile organic compounds and carbonyls in mainstream cigarette smoke using a glass filter and a sorbent cartridge followed by the two-phase/one-pot elution method with carbon disulfide and methanol. *Journal of Chromatography A*. 2015;1426:48-55.
- Uchiyama S, Tomizawa T, Inaba Y, Kunugita N. Simultaneous determination of volatile organic compounds and carbonyls in mainstream cigarette smoke using a sorbent cartridge followed by two-step elution. *Journal of Chromatography A*. 2013;1314(0):31-37.

#### 本研究に関する研究発表

##### 論文発表

内山茂久 新型タバコから発生する有害物質 公衆衛生情報, 2022, 52(5), 17-19.

##### 学会発表

内山茂久 タバコ製品から発生する有害化学物質の分析 令和 4 年度地方衛生研究所全国協議会 関東甲信静支部理化学研究部会総会 特別講演 2022 年 2 月 (Web 開催)

齋藤みのり, 清水萌花, 内山茂久, 櫻田尚樹, 稲葉洋平, 牛山明, 小倉裕直 加熱式タバコ主流煙の化学物質発生量に及ぼす加熱温度の影響 環境化学物質 3 学会合同大会, 2022 年 6 月, 富山

稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 杉田和俊, 鳥羽 陽, 牛山明 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれる多環芳香族炭化水素類の捕集及び分析法の確立

稲葉洋平, 戸次加奈江, 内山茂久, 牛山明 加熱式たばこ副流煙の捕集・分析法の確立 2022 年室内環境学会, 2022 年 12 月東京

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

数値解析による受動喫煙者の有害物質摂取量の評価

分担研究者 李 時桓 名古屋大学

研究要旨

喫煙によって発生するタバコの煙は、主流煙と副流煙の両方の発がん物質として定義され、人の健康への危険性が広く認識されている。したがって、喫煙室などの屋内空間では、喫煙によって発生する有害物質を効率的に除去するための換気設計が必要である。最近では、加熱式タバコ（紙巻き状の非燃焼加熱式タバコ）は従来の紙巻式タバコより発生する副流煙が少ないため、加熱式タバコ専用の室内喫煙エリア（レストラン、喫茶店など）も多く設置されている。しかし、加熱式タバコによる健康への危険性はまだ明らかになっておらず、室内環境における受動喫煙による有害性及びその健康影響については明確な検討事例が少ない。そこで本研究では、前年度に行った喫煙時の呼吸流量と、加熱式タバコの副流煙と主流煙の分析結果をもとに非定常計算用の数値解析モデルを構築する。また、構築した数値解析モデルを用い、受動喫煙防止のために喫煙者と受動喫煙者の離れた距離による有害物質の摂取量について定量的に検討した。

検討結果によると、受動喫煙者が摂取するCO<sub>2</sub>濃度とニコチン濃度は喫煙者と離れている距離が近くなることに連れ、摂取量の増加が見られた。また、WHOガイドラインによるニコチン10 µg/m<sup>3</sup>と受動喫煙者の呼吸によるCO<sub>2</sub>を基準とすると、離れた距離0.5 mにおいて、加熱式タバコの受動喫煙による影響は、CO<sub>2</sub>が約145.2%の増加(45.24 µm<sup>3</sup> → 65.70 µm<sup>3</sup>)、ニコチンが約1,995%の増加(57.75 pm<sup>3</sup> → 1,152.34 pm<sup>3</sup>)する結果が見られた。

A. 研究目的

喫煙によって発生するタバコの煙は、主流煙と副流煙の両方の発がん物質として定義<sup>1)</sup>され、人の健康への危険性が広く認識されている。したがって、喫煙室などの屋内空間では、喫煙によって発生する有害物質を効率的に除去するための換気設計が必要である。

最近では、加熱式タバコ（紙巻き状の非燃焼加熱式タバコ）は従来の紙巻式タバコより発生する副流煙が少ないため、加熱式タバコ専用の室内喫煙エリア（レストラン、喫茶店など）も多く設置されている。しかし、加熱式タバコによる健康への危険性はまだ明らかになっておらず、室内環境

における受動喫煙による有害性及びその健康影響については明確な検討事例が少ない。

本研究では、前年度に行った喫煙時の呼吸流量と、加熱式タバコの副流煙と主流煙の分析結果をもとに非定常計算用の数値解析モデルを構築する。また、構築した数値解析モデルを用い、受動喫煙防止のために喫煙者と受動喫煙者の離れた距離による有害物質の摂取量について定量的に検討する。

B. 研究方法

1. 数値解析モデルの構築

喫煙際には一般の呼吸と違う喫煙プロセスを

持ち、その喫煙プロセスを Fig.1 に示す。喫煙プロセスは 3 段階に構成され、① タバコから煙を吸い上げるプロセス (inhaling smoke), ② タバコを口から外して周囲の空気を吸うプロセス (inhaling air), ③ 煙を吐き出すプロセス (Exhaling) で構成される。この喫煙プロセスでの呼吸流量の時系列変化は前年度の研究で測定しており、その結果を呼吸 5 回と喫煙 1 回を 1 セットとして Fig.2 に示す。主流煙からの CO<sub>2</sub> 濃度は Fig.3 に、副流煙から発生する CO<sub>2</sub> 濃度は Fig.4 にそれぞれ示す。また、ニコチンについては主流煙から 1.640 mg/stick, 副流煙から 0.056 mg/stick であり、数値解析モデルの構築 (Fig. 5) に活用する。

## 2. 数値解析による受動喫煙の影響

実測値をもとに作成した数値解析モデルを用い、喫煙者と受動喫煙者の離れた距離による有害物質の摂取量を検討するための数値解析モデルを作成する。Figure 6 に数値解析モデルの概要を示す。解析領域は 3.00 m (x) × 1.50 m (y) × 2.00 m (z) とし、人体は上半身のみ解析対象とする。Table 1 に解析条件を示す。呼吸特性は実測状況と同様に非喫煙時の呼吸 5 回と喫煙中の呼吸 1 回を 1 サイクルとし、呼吸は鼻で喫煙は口で行う。また、加熱式タバコ 1 ステイックあたりの喫煙時間は約 6 分間であり、喫煙は 10 サイクル行くと設定する。汚染物質は化学種物質として CO<sub>2</sub> とニコチンの 2 種類を対象とし、人体モデルの口と鼻、タバコ先端部を汚染物質の発生源とする。副流煙の発生源は 0.01 m (x) × 0.01 m (y) × 0.01 m (z) としてモデル化し、空間内環境の CO<sub>2</sub> 濃度は建築基準法で定められている室内環境許容値である 1,000 ppm とし、ニコチンは 0 ppb とする。実測で得られた呼吸流量と CO<sub>2</sub> 濃度、ニコチン濃度を境界条件として与えるが、呼吸から発生するニコチン量は主流煙の 30%<sup>2)</sup> とする。数値解析は喫煙 1 サイクル (約 360 s) を非定常計算で行い、喫煙者と受動喫煙者間の距離 (0.5 m, 1.0 m, 1.5 m 間隔) による受動喫煙の影響を CO<sub>2</sub> とニコチンの摂取量により定量的に確認する。

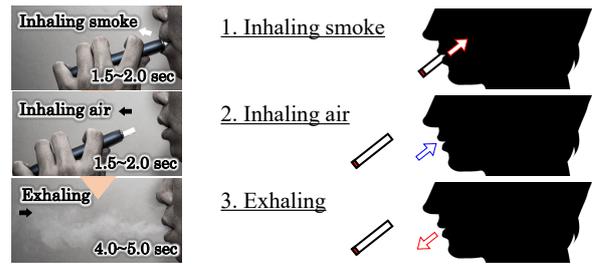


Fig.1 Breathing characteristics on smoking

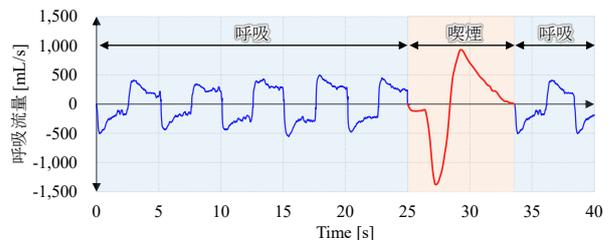


Fig.2 Fluctuations of flow rate in mainstream

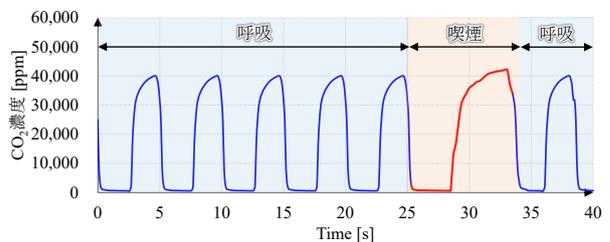


Fig.3 Fluctuations of CO<sub>2</sub> in mainstream

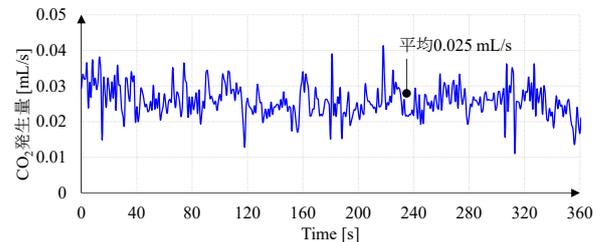


Fig.4 Fluctuations of CO<sub>2</sub> in sidestream

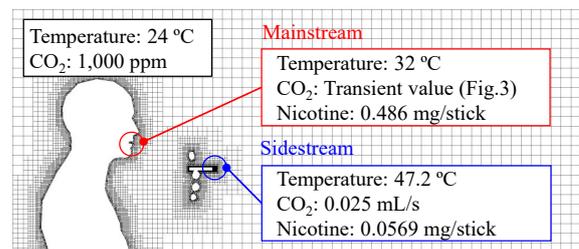


Fig.5 Numerical model & boundary condition

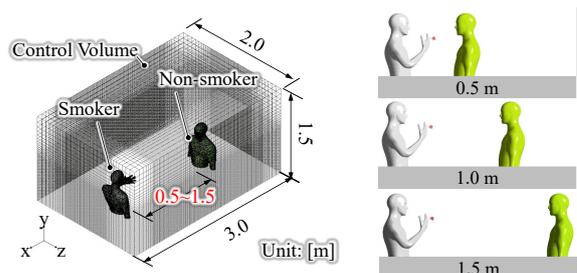


Fig.6 Overview of evaluation model

### C. 結果及び考察

Figure 7 に数値解析の結果を示す。呼吸時には鼻から CO<sub>2</sub> が出ており、タバコの先端からの副流煙によるニコチンが出ており、温度差による上昇気流が生じる。喫煙時には喫煙者の口から CO<sub>2</sub> とニコチンが両方とも出ており、受動喫煙者まで移流する。喫煙が終了後の一時的には上昇気流に従って流れる有害物質の移動が観測される。

Figures 8 と Fig. 9 に喫煙者とある程度離れてい

る受動喫煙者が摂取する CO<sub>2</sub> 濃度とニコチン濃度の累積値を示す。CO<sub>2</sub>、ニコチンとも距離が近くなると受動喫煙者の摂取量が増加した。また、WHO ガイドラインによるニコチン 10 μg/m<sup>3</sup> と受動喫煙者の呼吸による CO<sub>2</sub> を基準とすると、離れた距離 0.5 m において、加熱式タバコの受動喫煙による影響は、CO<sub>2</sub> が約 145.2% の増加 (45.24 μm<sup>3</sup> → 65.70 μm<sup>3</sup>)、ニコチンが約 1,995% の増加 (57.75 pm<sup>3</sup> → 1,152.34 pm<sup>3</sup>) する結果が見られた。

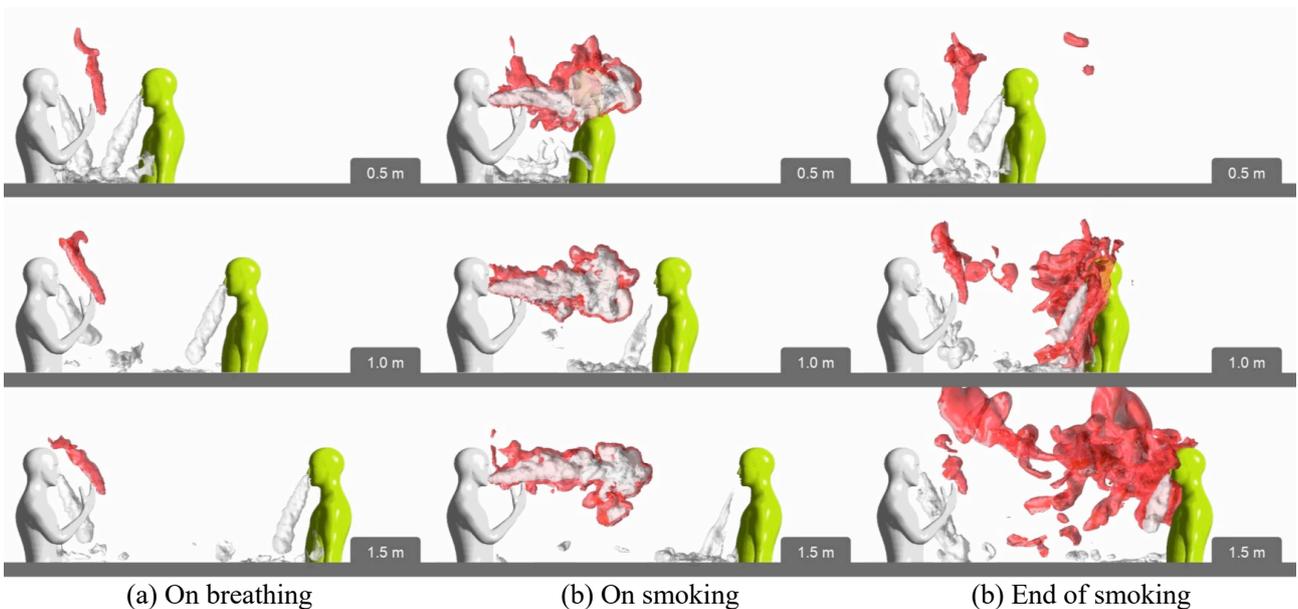


Fig.7 Analysis results (CO<sub>2</sub>: white color, Nicotine: red color)

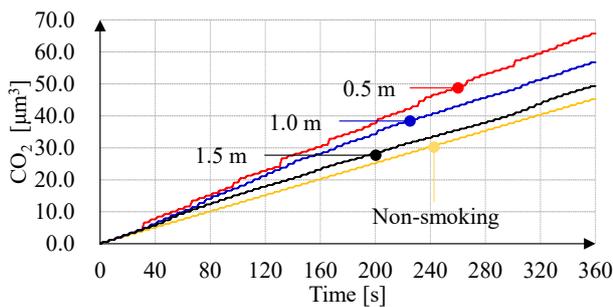


Fig.8 Cumulative passive smoking (CO<sub>2</sub>)

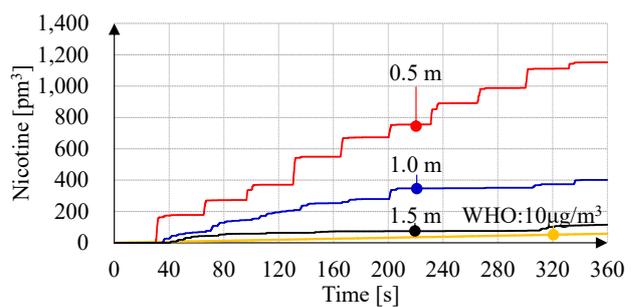


Fig.9 Cumulative passive smoking (Nicotine)

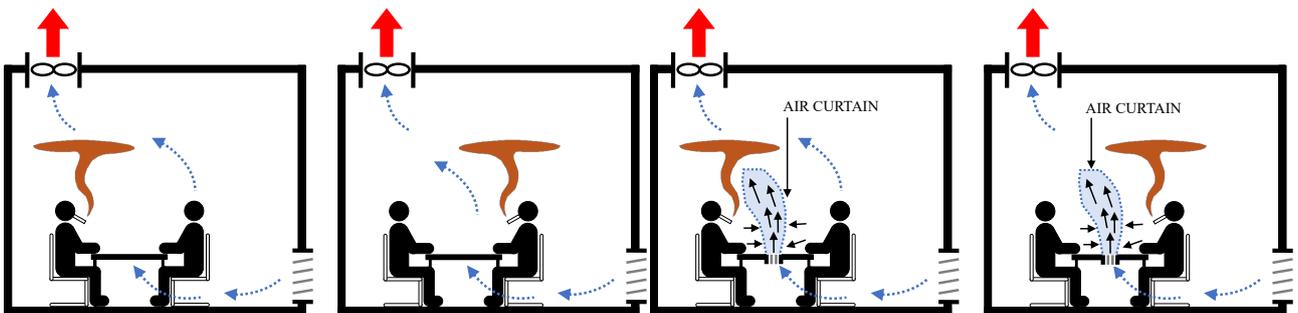


Fig.10 Future work

#### D. 結論

本研究では、加熱式タバコの喫煙状況における非定常計算用の数値解析モデルを構築した。また、構築した数値解析モデルを用い、受動喫煙防止のために喫煙者と受動喫煙者の離れた距離による有害物質の摂取量を明らかにした。今後、本年度に構築した解析モデルをもとに、加熱式タバコ専用の室内喫煙エリア（レストラン、喫茶店など）における受動喫煙の影響を換気方式の違いによって検討する予定（Fig. 10）である。

#### E. 参考文献

- (1) World health organization international agency for research on cancer: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol.83, Tobacco smoke and involuntary smoking, 2004.
- (2) Frank Kelley St. Charles et. al.: Methodologies for the quantitative estimation of toxicant dose to cigarette smokers using physical, chemical and bioanalytical data, Inhalation Toxicology, 25(7), p.383-397, 2013.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

黄載雄, 李時桓 : 加熱式タバコの距離による受動喫煙の影響, 室内環境学会学術論文集, A-21, p.230-231, 2022.12.

黄載雄, 李時桓 : 加熱式タバコの喫煙による呼吸特性と化学種物質の挙動特性, 日本建築学会大会学術講演梗概集, 環境工学, 40733, p.1591-1592, 2022.09.

Jaeung Hwang, Sihwan Lee: Respiratory characteristics during smoking and its numerical analysis, Indoor Air 2022, ID 1513, p.1-4, 2022.06.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこエアロゾルが生体に及ぼす影響に関する実験的検討

分担研究者 牛山 明 国立保健医療科学院  
分担研究者 中舘 和彦 明治薬科大学  
研究協力者 服部 研之 明治薬科大学

研究要旨

加熱式たばこは、たばこ葉が燃焼しない温度で加熱することで燃焼によって発生する有害化学物質量を低減しているとされているが、化学物質の複合ばく露は変わらず起こるため健康への影響が懸念されるが生体影響に関する報告は少ない。その理由は動物等に加熱式たばこ主流煙を適切にばく露する装置がなく実験系が組めなかったためである。昨年度までに我々は加熱式たばこ用の動物ばく露装置を開発してばく露実験を可能とした。本年度はその装置を用いて、病理組織学的観察による影響と、酸化ストレスマーカーへの影響を探索した。本年度はマウスに対して、1日5本の加熱式たばこ主流煙を、4週間にわたりばく露をした。結果としては病理組織学的変化においては、短期間のばく露では明確な変化は認められず、より長期間のばく露・高用量のばく露などの条件による研究が必要であると考えられた。また、酸化ストレスマーカーの分析では、ばく露を行う際のマウスの拘束によって拘束ストレスが発生している可能性が示唆され、拘束ストレスによる影響により加熱式たばこのばく露による影響がマスクングされてしまう可能性が示唆された。

一方で、テレメトリー法により、加熱式たばこのエアロゾル吸入時のマウスの心拍への影響を検討したところ、加熱式たばこのばく露においてエアロゾル吸入直後に心拍の乱れ（特にRR間隔の不規則な増大）が観察された。この変化は可逆的ではあるが、加熱式たばこのエアロゾルに含まれる成分が一過性に心臓へのストレスを引き起こしている可能性があり、引き続き検討が必要である。

**A. 研究目的**

加熱式たばこの普及による健康リスクを推定するために生物学的研究は必須である。しかしながら、加熱式たばこはこれまでの燃焼式たばこは煙の発生機序が異なるため、動物へエアロゾルを適切にばく露する装置を用意することが極めて重要である。我々は昨年度までに、*in vivo* 実験用の加熱式たばこの動物ばく露装置を開発し、開発した装置によって生成された加熱式たばこエアロゾルの化学分析、および実際にマウスにばく露を行った際にマウスの血漿や尿のニコチンおよびその代謝物を定量し装置の妥当性を検討し

た。本年度は同装置を用いて、実際にマウスにばく露を行った際の組織学的影響と、酸化ストレスマーカーへの影響を検討することを目的とした。

**B. 研究方法**

**1. 加熱式たばこばく露装置および捕集するエアロゾルの分析**

動物用加熱式たばこ露装置

本研究では当研究室で開発した加熱式たばこばく露装置を使用した（図1および図2）。本装置では、様々な喫煙プロトコルを設定できるが、本研究では、Health Canada Intensive (HCI) プロトコ

ルを用いた。使用する加熱式たばことして、デバイスは IQOS3 Duo、IQOS ヒートスティックは Marlboro レギュラーをすべての研究を通じて使用した。

## 2. マウスを用いたばく露と生物学的ばく露量の検討

### マウスへのばく露方法

ばく露の際には、実験の目的に応じて、ばく露装置のエアロゾル排出部を1ポートにした場合と4ポートにした場合で実験を行った。1ポートにした場合は図2(B)に示すようにマウスを配置して実験を行った。また4ポートの場合は図2(C)に示すようにマウスを配置して実験を行った。この時には図2(D)のようにマウスにエアロゾルがばく露される。今年度の報告書のうち、戸塚らの分担報告書で結果を示す研究においては、GPTdelta トランスジェニックマウスを4ポートのばく露方法でばく露を行ったものである。遺伝毒性実験以外のばく露ではC57BL/6Nマウスを用いた。所定の場所にマウスを置き、ばく露装置を用いて、喫煙法はHCI法で行った。マウスの保定時間は連続で60分を超えないこととした。遺伝毒性実験および組織学的解析および酸化ストレス解析においては、1日あたり5本のばく露を週5日、4週間のばく露を行った。最後のばく露ののちに、マウスは解剖に供され、血液や組織の回収を行い、実験目的に応じて固定または凍結保存を行った。

## 3. 病理組織解析

### 光学顕微鏡を用いた病理組織解析

IQOS ばく露マウスとコントロールマウスの肺を4%パラフォルムアルデヒド溶液にて浸漬固定した。緩衝液で洗浄後、アルコール系列で脱水、レモゾール液置換後、パラフィン包埋した。パラフィン包埋した肺組織は5 $\mu$ m厚に薄切し、ヘマトキシリン-エオシン(HE)液を用いて染色した。HE染色切片は、光学顕微鏡(LM)で撮影し、病

理組織解析を行なった。病理組織像観察については、i; 肺胞上皮組織(I型とII型)の変化解析、ii; 肺胞マクロファージの数と形態変化解析、iii; 肺胞中隔内の厚さ、血管内皮細胞の病理検査、iv; 肺胞腔への血球等の浸潤等について検討した。

### 免疫組織化学法による病理組織解析

上記病理組織解析で作製したパラフィン包埋後のIQOSばく露マウスとコントロールマウスの肺5 $\mu$ m厚に薄切し、レモゾール、アルコール系列、蒸留水に置換した。10mMクエン酸ナトリウム(pH 6.0)で95度60分間、抗原賦活化した。Block Aceにてブロッキング処理を行ったのち、下記の抗体で蛍光抗体法にて検討した。

Anti-Endothelial-cell antibody, Anti-Collagen1 antibody, Anti-CD45 antibody, Anti-CD31 antibody, Anti-F4/80 antibody, Anti-TNF-alpha antibody, Anti-MIP1alpha antibody

1次抗体は4°Cで一晩反応し、洗浄後、各2次抗体で発色した。蛍光染色切片は、蛍光顕微鏡で撮影し、病理組織解析を行なった。

### 電子顕微鏡を用いた微細病理組織解析

光学顕微鏡を用いた病理組織解析で使用したIQOSばく露マウスとコントロールマウスの肺の一部を用いて解析した。上記手法によりパラフィン包埋した肺組織を5 $\mu$ m厚に薄切しスライドガラスに載せた後、脱パラフィン処理、凍結乾燥後、オスミウムコートを実施した。走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて、検鏡、撮影し、微細構造変化を解析した。

## 4. 生化学解析

### 酸化ストレスマーカーの解析

凍結保存した臓器からISOGEN2を用いて、常法に従ってtotal RNAを抽出し、Invitrogen社のSuperScript IV VILO Master Mixを用いてcDNAを合成した後、表1に示すプライマーセットとTOYOBOのTHUNDERBIRD SYBR qPCR Mixを

用いて RT-PCR による遺伝子発現の解析を行った。

実験の 48 時間前までに、マウス (C57BL/6N) に対して外科的に埋め込み型マウス心電図送信器 (ソフトロン) を装着した。実験直前にマウスを円筒型マウスホルダー (KN-325-C, 夏目製作所) に入れて保定をした。ホルダーを心電図受信ボードの上に置き、送信機からのアナログ信号を PowerLab4/26 (AD Instruments) を介して A/D 変換を行い PC に取り込んだ。取り込んだデジタルデータは、LabChartPro ソフトウェアおよび内臓の ECG 解析モジュール (AD Instrument) で処理および解析を行った。なお、マウスの心拍数は平時で 600~700 拍/分 (10~12 拍/秒) データの取得レートは 1kHz とした。

#### 尿中ニコチン代謝物の定量

IQOS ヒートスティック 1 本分のエアロゾルばく露から 1、2、4、6 時間後に採尿し、尿中ニコチン代謝物の定量をするときまで -80°C で保存した。サンプル中のニコチン代謝物を LC-MS/MS (Xevo TQ-S, Waters Co) を用い定量した。また、尿中のクレアチニン濃度を定量し、尿中ニコチン代謝物濃度をクレアチニン濃度で補正した。

### 5. 生理学解析

#### マウス心電図の取得及び解析

表 1 酸化ストレスマーカーのプライマー配列

No	名前	配列
1	mMt1_F301	GTTCGTCACATCAGGCACAG
2	mMt1_R418	GTTCGTCACATCAGGCACAG
3	mMt2_F246	TCCTGTGCCTCCGATGGAT
4	mMt2_R340	CAGCAGGAGCAGCAGCTTT
5	mHmox1_F715	GTCAAGCACAGGGTGACAGA
6	mHmox1_R784	GCAGCTCCTCAAACAGCTCA
7	mTxn1_F375	TGTGGATGACTGCCAGGATG
8	mTxn1_R467	AACTCCCCACCTTTTGACC
9	mTxn2_F336	TGGACTTTCATGCACAGTGGT
10	mTxn2_R407	GCTTGGCGACCATCTTCTCT
11	mPrdx1_F522	GCCGCTCTGTGGATGAGATT
12	mPrdx1_R599	CAGCTGGACACACTTCACCA
13	mNqo1_F642	GGCCGATTCAGAGTGGCAT
14	mNqo1_R723	GGAGTGTGGCCAATGCTGTA
15	mYwhaz_F683	TCTGCAACGATGTACTGTCTCT
16	mYwhaz_R799	CCTCGGCCAAGTAACGGTAG
17	mRpl13A_F301	CAAGACCAAGAGAGGCCAGG
18	mRpl13A_R389	CCACCATCCGCTTTTTCTTGT

#### 尿中ニコチン代謝物の定量

IQOS ヒートスティック 1 本分ないしは 5 本分

のエアロゾルばく露から 1、2、4、6 時間後に採尿し、尿中ニコチン代謝物の定量をするときまで -80

°C で保存した。サンプル中のニコチン代謝物を LC-MS/MS (Xevo TQ-S, Waters Co) を用い定量した。また、尿中のクレアチニン濃度を定量し、尿中ニコチン代謝物濃度をクレアチニン濃度で補正した。

## C. 結果及び考察

### 1. マウスのばく露装置と化学物質の定量

本研究では我々が独自に開発したばく露装置を用いて実験を行った(図1、図2)。昨年報告した通り、ばく露装置を用いて収集した物質を分析したところ、エアロゾルの化学分析結果において粒子状およびガス状物質ともに化学分析用の捕集装置(LM4E)の捕集結果と比較してほぼ同量である(昨年度報告書参照)。昨年度とは異なり今年度は、マウスの保定においてカスタムメイドの保定筒ではなく、市販の円筒型マウスホルダー(KN-325-C, 夏目製作所)を用いた。

### 2. 光学顕微鏡(LM)による病理組織解析

昨年度での解析同様に、肺の病理組織解析において、i; 肺胞上皮組織(I型とII型)の変化解析、ii; 肺胞マクロファージの数と形態変化解析、iii; 肺胞中隔内の厚さ、血管内皮細胞の病理検査、iv; 肺胞腔への血球等の浸潤等について、光学顕微鏡下で解析を行なった。

コントロールマウスの肺組織の病理組織検査によって、加熱式タバコの主流煙をばく露していない肺組織(図3)は、どの検査項目によっても正常構造を示した。次にIQOSばく露マウス(図4)について同様の検討を行った。今回の検討した肺組織を網羅的に解析した結果、ほぼ全ての領域において正常肺組織構造を示していた。しかし1個体の肺組織の1箇所においては、炎症様構造変化を呈していた(図3)。これらの一連の一般病理組織学的検査の結果から、今回のIQOSばく露では、ほぼ全ての肺構造へ有意な異常構造変化を誘発していないものと示唆されるが、ごく一部の肺組織において炎症様構造が今回初めて確認さ

れたことは、その病理組織学的変化が稀な変化であるのか、普遍的な変化であるのかを今後詳細に検討する必要があると考察される。

### 3. 電子顕微鏡(SEM)による病理組織解析

光学顕微鏡下で炎症様構造が認められた部位を詳細に解析するため、電子顕微鏡を用いて肺の微細構造変化解析を行った。パラフィンを除去(脱パラフィン)し、走査型電子顕微鏡(SEM)にて微細構造を解析した。その結果、図4に示すように、コントロールと比較しIQOSばく露では、細胞が密になっていることが示された。しかし、この解析手法では細胞内の微細形態を解析することが困難であるため、次年度に、透過型電子顕微鏡を用いて本格的な解析を行うことで、光学顕微鏡では明らかにすることができなかった微細構造変化の有無を明らかにできるものと考えている。

### 4. 免疫組織化学法による病理組織解析

病理組織学的解析から細胞の集積が認められた領域において、マクロファージの集積や肺の線維化の有無を免疫組織学的解析により検討した。解析部位は炎症様構造を用いた。

まず、血管内皮のマーカー染色(図5の左: Endthelial-cell)では、有意な差異は認められなかった。線維化の有無を検討するためcollagenマーカー染色をおこなった(図5の右: collagen)。この結果でも有意な差は認められず、IQOSばく露群では肺の線維化が起こっていないものと示唆された。

次に、各細胞における発現マーカーを用いて検討した。CD45陽性白血球数(図6: CD45)は、両群に有意な差が認められなかった。同様にCD31陽性血管内皮/血小板(図6: CD31)においても有意な差が認められなかった。マクロファージを認識するF4/80でも有意な差が認められなかった(図6: F4/80)。同様にマクロファージから分泌されるTNF alphaにおいても有意な差は認め

られなかった (図6 : TNF alpha)。

マクロファージの集積等が確認されなかったが、マクロファージの機能の亢進の有無を検討するため、マクロファージから分泌され好中球等を誘引する MIP1alpha について検討した (図7 : MIP1alpha)。その結果、IQOS 暴露群の肺で炎症様構造部位ではほぼ全てのマクロファージが MIP1alpha 陽性であった。

この結果から、今回異常が認められた部位においては、マクロファージの集積などは認められなかったが、その部位に分布するマクロファージは活性化し、他の細胞を誘引する可能性が示唆された。しかし、これらのマクロファージの活性化を示す結果は肺全体では認められず、極めて微細な変化であることも事実である。IQOS ばく露では、今回の病理組織学的検討から肺全体での炎症という結果を導くことは難しいが、微小変異が個体差ではなく普遍的な変化であるか本格的な解析を行うことで、肺の構造変化と肺の炎症との関連を明らかにすることが可能であり、必要であると考察される。

## 5. 酸化ストレスマーカーの発現解析

加熱式タバコのエアロゾルへのばく露影響を検討するため、肺および肝臓における酸化ストレスマーカーとして以下の7種の遺伝子発現量を RT-PCR 法を用いて測定した。測定対象はメタロチオネイン : Mt1, Mt2、ヘムオキシゲナーゼ1 : Hmox1、チオレドキシシン : Txn1, Txn2、ペルオキシレドキシシン : Prdx1、NAD(P)H キノンデヒドロゲナーゼ1 : Nqo1 である。また、ハウスキーピング遺伝子として、Ywhaz と Rpl13A を測定し、それぞれで補正した結果が同様であることを確認した。

IQOS のエアロゾルに直接ばく露される臓器として、肺の酸化ストレスマーカーの発現量を RT-PCR 法を用いて測定した。ケージで飼育したコントロール群の発現量を1とし、各遺伝子のシャムばく露群と IQOS ばく露群の相対的な発現量を

図8に示した。Mt1 と Mt2 のみがコントロール群に対して2倍以上の発現誘導が観察された。しかし、この影響はシャムばく露群にも同等の影響が認められており、拘束ストレスによる影響の可能性が高いと考えられる。また、Mt1 と Mt2 以外の酸化ストレスマーカーでは、発現の誘導が観察されていない。Mt1 と Mt2 はコルチゾールによる発現誘導を受けることが報告されており、肺における発現誘導は IQOS エアロゾルによる酸化ストレスではなく、拘束ストレスによってコルチゾールの分泌量が増えたことを示唆する結果である。

次に、肝臓における酸化ストレスマーカーの遺伝子発現量を測定した。肺と同様に、ケージで飼育したコントロール群の発現量を1とし、各遺伝子のシャムばく露群と IQOS ばく露群の相対的な発現量を図9に示した。肝臓では、シャムばく露群と IQOS ばく露群においてコントロール群と比較して Mt1 と Mt2 の発現量が100倍以上に誘導されていた。それ以外の酸化ストレスマーカーでは、Hmox1 で2倍以上の誘導が認められたが、IQOS ばく露群だけではなく、シャムばく露群により強い誘導が認められた。さらに、Trx や Prdx および Nqo1 では、誘導が観察されなかった。これらの結果は、肺と同様に肝臓においても拘束ストレスにより、Mt1 と Mt2 がコルチゾール依存的に誘導されたことを示唆する結果である。

IQOS エアロゾルに直接ばく露する肺と化学物質の代謝を担う肝臓において酸化ストレスマーカーの遺伝子発現量を測定した。その結果、Mt1 と Mt2 の誘導が認められたが、シャム群と IQOS 群における誘導が同等であったことと、Nqo1 や Prdx および Trx などの酸化ストレスマーカーの誘導が観察されなかった。これらの結果は、酸化ストレスを介した発現誘導ではなく、コルチゾール依存的な拘束ストレスによる影響であることを示唆している。今後、IQOS エアロゾルのばく露影響を評価するためには、非拘束下のばく露方法を検討することが必要であると考えている。

## 6. エアロゾルばく露中のマウス心電図への影響

本研究では、マウスの循環器への急性影響を明らかにするため、埋め込み型マウス心電図送信器を C57BL/6N マウスに装着し、テレメトリー法によりマウスの覚醒下の心電図を取得した。IQOS エアロゾルは HCI 法によりばく露をおこなった。加熱式たばこばく露装置にたばこを挿さずに装置を稼働した場合、すなわち空気のみをばく露を行った場合は、心電図に大きな変化を認めないが、IQOS をセットしばく露を行うとパフの直後に心拍に変化が観察された (図 1 0)。心電図から RR 間隔を 1 拍毎に算出し、プロットをおこなったものが図 1 1 である。この結果から、IQOS エアロゾルのばく露により心拍に変動が見られることがわかる。また図 1 2 に示すように、IQOS を連続してばく露しても同様の変化が見られた。しかしながらばく露して数分以内には RR 間隔はベースラインに回復する現象もみられ、RR 間隔の変化は可逆的なものであった。なおデータは示さないが、茶葉から作られたニコチンを含まないスティックのエアロゾルばく露でも類似の可逆的な現象が確認された。マウスを用いた実験であることから、これらの変化は限定的なものかもしれないが、エアロゾル中の化学物質が肺から血流に取り込まれ、肺静脈を経て心臓に血液が到達した際に心臓に作用している可能性がある。今後その作用機序も含めて詳細に検討が必要である。

## D. 結論

本研究では、加熱式たばこ専用の動物用ばく露装置を用いて動物実験を実施した。本装置を用いてマウスに IQOS 主流煙をばく露したところ、光学顕微鏡および電子顕微鏡観察による組織学的変化、および肺と肝臓の酸化ストレスマーカーの変化については、ばく露による影響は見られなかった。ばく露の際の拘束ストレスによって影響がマスクングされている可能性があり、今後は非拘束かつ長期間のばく露による影響の検討が必要である。一方で、マウスの覚醒下 (保定器による

拘束条件) で、テレメトリーによる ECG 解析を行ったところ、IQOS のパフの直後、数秒間にわたって RR 間隔の乱れが観察された。またこれは実験した範囲においてはばく露終了後にベースラインに戻る可逆的な変化であった。しかしながらこのような変化が繰り返し起こることにより、心臓にストレスが生じる可能性もあるため、今後詳細に検討を進める必要がある。

## E. 参考文献

(1) Health Canada Test Method T-115. Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.

(2) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Sawa M, Ushiyama A, Inaba Y, Hattori K. Increased oxidative stress and effects on inflammatory cytokine secretion by heated tobacco products aerosol exposure to mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022 Jun 25;610:43-48.

Koike S, Sato K, Sawa M, Inaba Y, Hattori K, Nakadate K, Ushiyama A, Ogasawara Y. Exposure to Heated Tobacco Products Aerosol Causes Acute Stress Responses in the Lung of Mouse. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Nov 25;11(12):2329.

### 2. 学会発表

澤麻理恵、牛山明、稲葉洋平、服部研之。加熱式たばこの生体影響を検索するための動物用ばく露装置の開発とその有用性に関する研究。第 69 回日本実験動物学会総会 (仙台) 2022.5.18-20.

牛山明, 澤 麻理恵, 茂木貴博, 稲葉洋平, 服部 研之. 加熱式たばこエアロゾルばく露が血中サイトカイン濃度へ及ぼす影響. フォーラム 2022 : 衛生薬学・環境トキシコロジー (熊本) 2022.8.30-31. 抄録集 p.226

牛山明, 稲葉洋平, 内山茂久. 加熱式たばこエアロゾルばく露による健康ハザード探索のための動物実験システムの構築 第 81 回日本公衆衛生学会総会. 2022.10.7-9. (甲府) 同講演抄録集. p442."

牛山明, 茂木博貴, 澤麻理恵, 稲葉洋平. 加熱式たばこエアロゾルばく露による血中サイトカインの変動とその要因の検討, 第 93 回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京). 同講演集 S217.

### 3.その他

特になし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

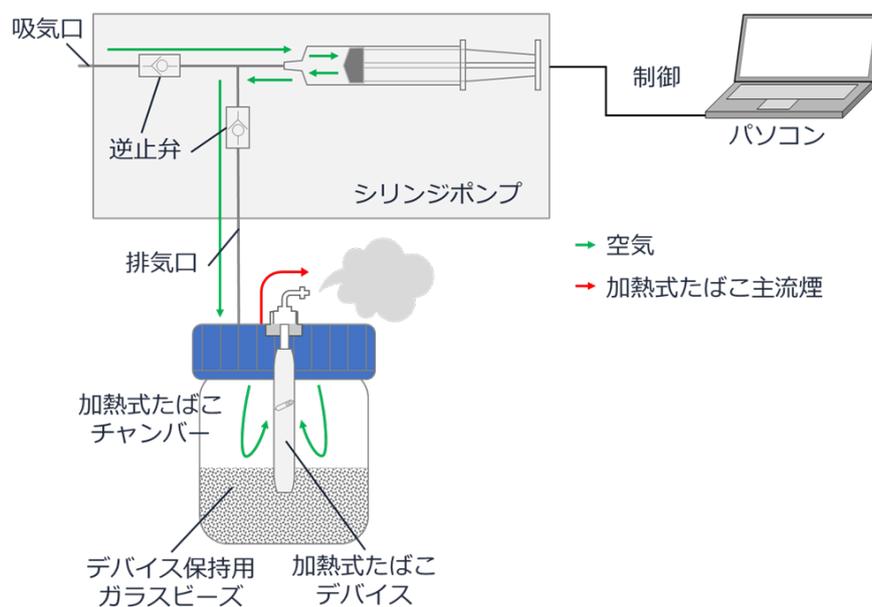


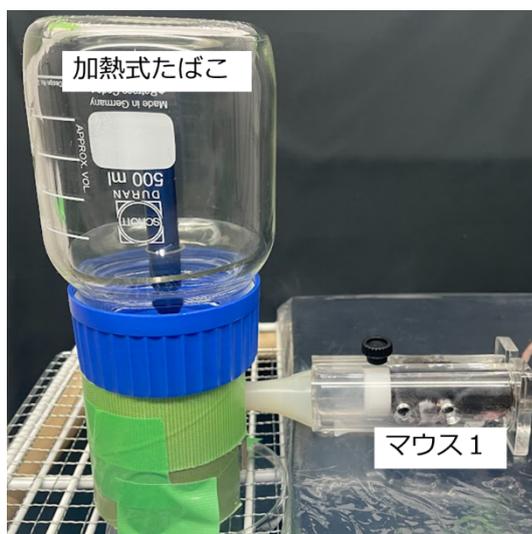
図1 加熱式たばこエアロゾルの動物用ばく露装置（概念図）

ばく露装置全体の概念図を示す。加熱式たばこデバイスはたばこスティックを入れた状態で密閉されたチャンバー内に固定する。ばく露装置はコンピューターで様々な喫煙法で制御可能であり、本研究では国際規格に則り、一定の空気量（55 mL）を一定の間隔（30 秒ごと）でスティック 1 本あたり 12 回排気する。送気された空気はデバイスを通じてスティックの吸い口からエアロゾルとして排出される。

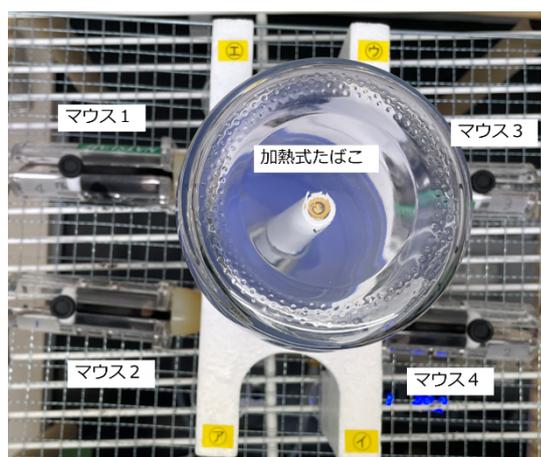
(A)



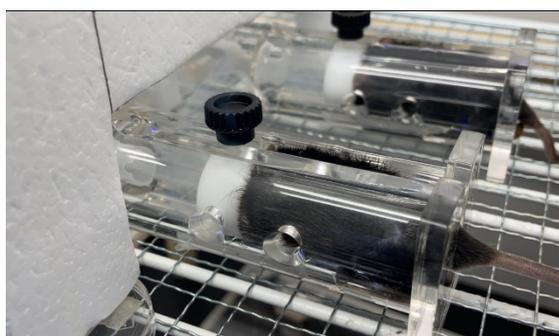
(B)



(C)



(D)



## 図2 加熱式たばこエアロゾルの動物用ばく露装置

(A) ばく露装置の全体写真を示す。(B)IQOS デバイスおよびスティックをセットした状態の加熱式たばこチャンバーを示す。1ポートばく露の場合は、写真のようにマウスを配置してばく露を行う。(C) 4ポートばく露の際にはエアロゾルの出口を4分岐した上で、保定器に入れたマウスを4匹配置する。(D) 4ポートばく露の際のマウスの配置状況（例として右側2匹のみを示す。左側も同様にマウスを配置する。

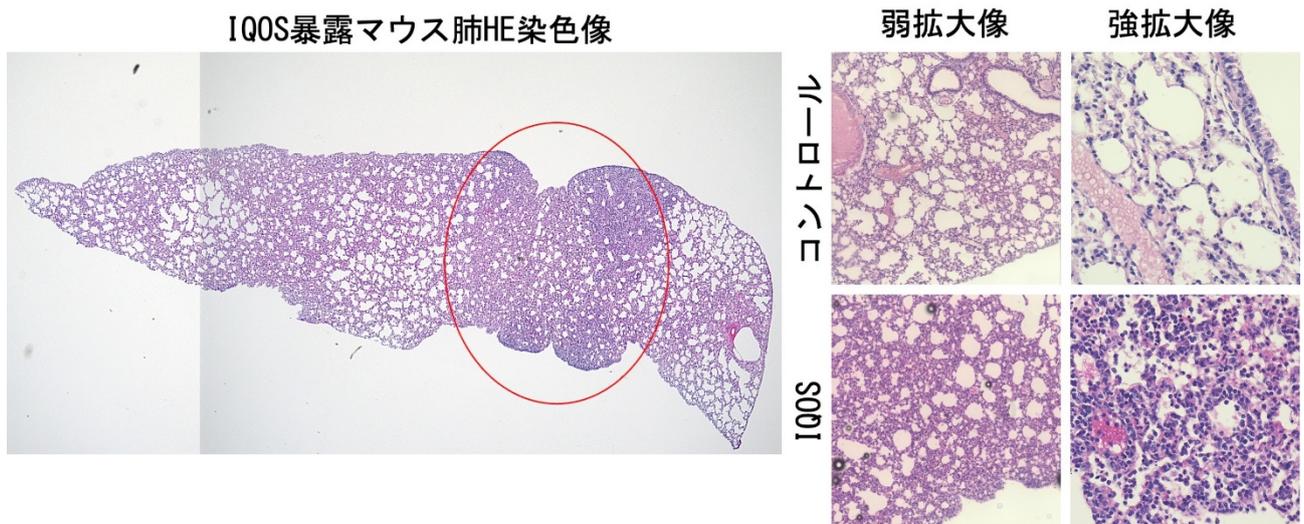


図3 HE染色像

コントロール肺では、肺胞、肺胞上皮細胞、血管、気管支においても異常構造は認められない。IQOS 暴露マウス肺では、ほぼ全ての肺領域ではコントロールマウス肺同様に正常構造であるが、ごく一部では、正常と異なり炎症様構造（赤丸）が観察された。

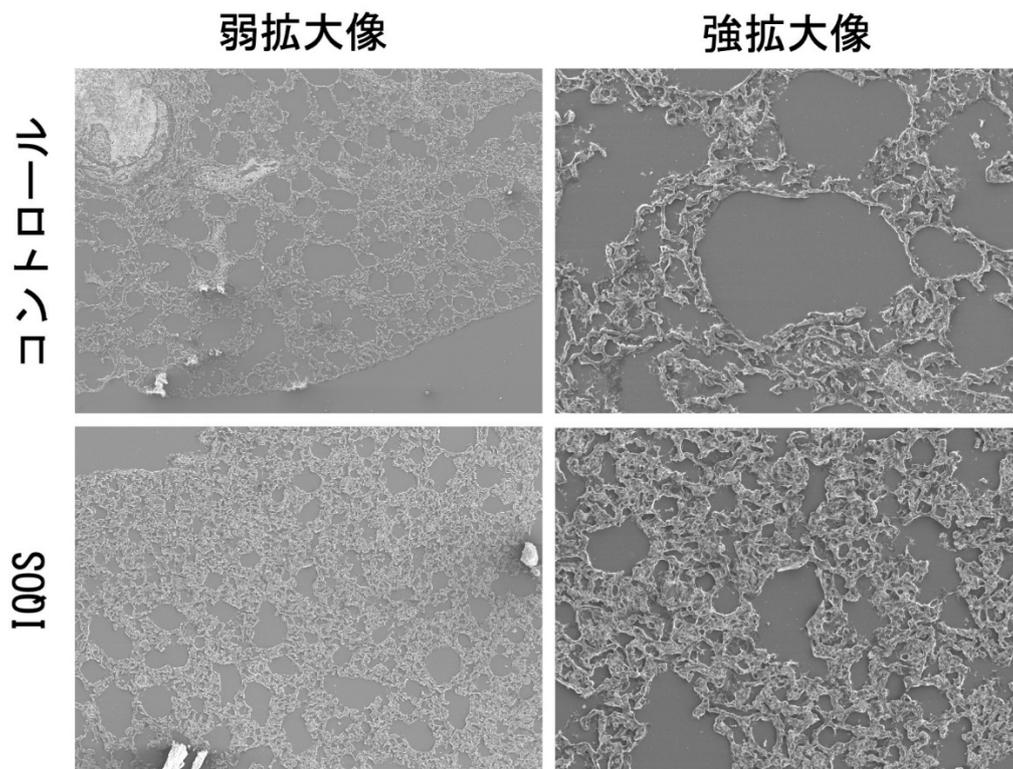


図4 操作型電子顕微鏡 (SEM) 像

コントロール肺では、異常構造は認められない。IQOS 暴露マウス肺では、ほぼ全ての肺領域ではコントロールマウス肺同様に正常構造であるが、HE 染色において炎症様構造を呈した部位では、細胞の集積が確認された。

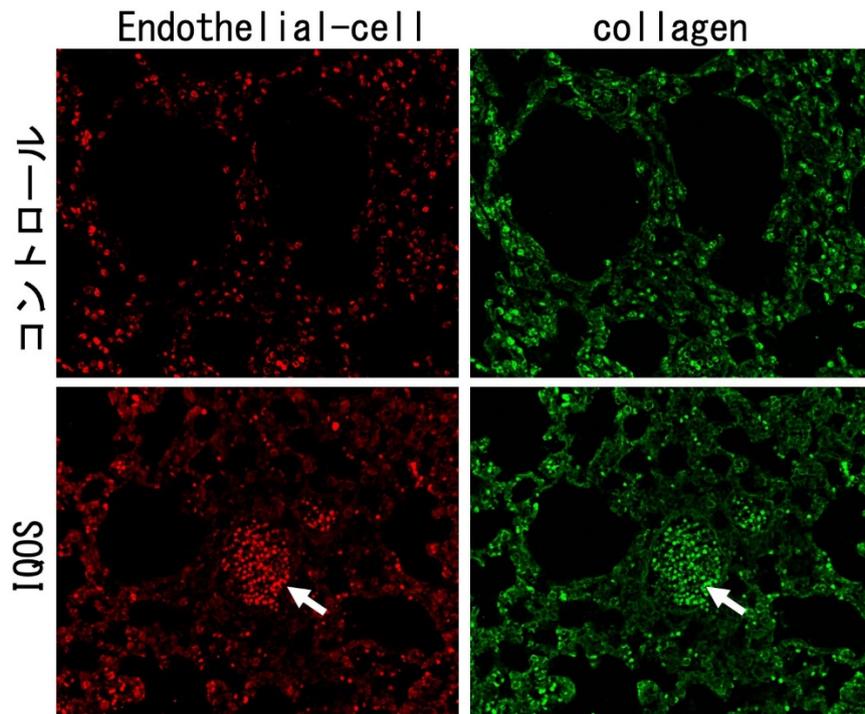


図5 各抗体を用いた免疫組織化学法による像。

コントロール肺では、血管内皮細胞マーカー（赤）、コラーゲン染色（緑）とも異常構造は認められない。IQOS 暴露マウス肺の集積部位でも異常所見は観察されなかった。矢印は血管内であり、肺組織の所見を反映していない。

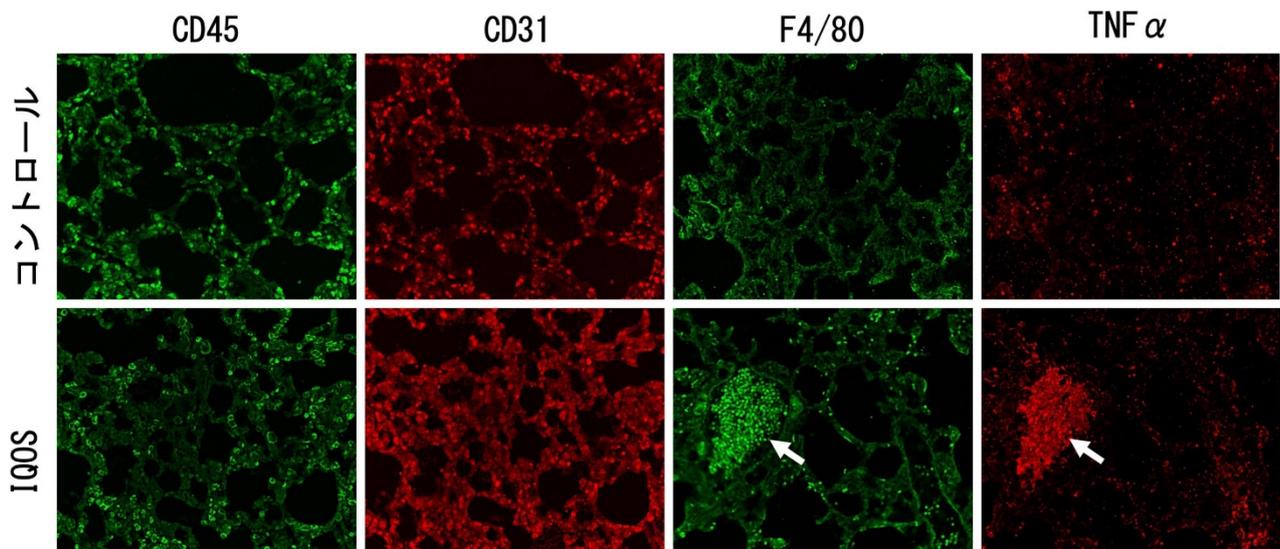


図6 各抗体を用いた免疫組織化学法による像

コントロール肺ではマクロファージ細胞の異常集積や高発現は認められない。IQOS 暴露マウス肺における炎症様構造部位では、マクロファージ細胞の若干の発現上昇と集積が認められるが有意な変化ではなかった。矢印は血管内であり、肺組織の所見を反映していない。

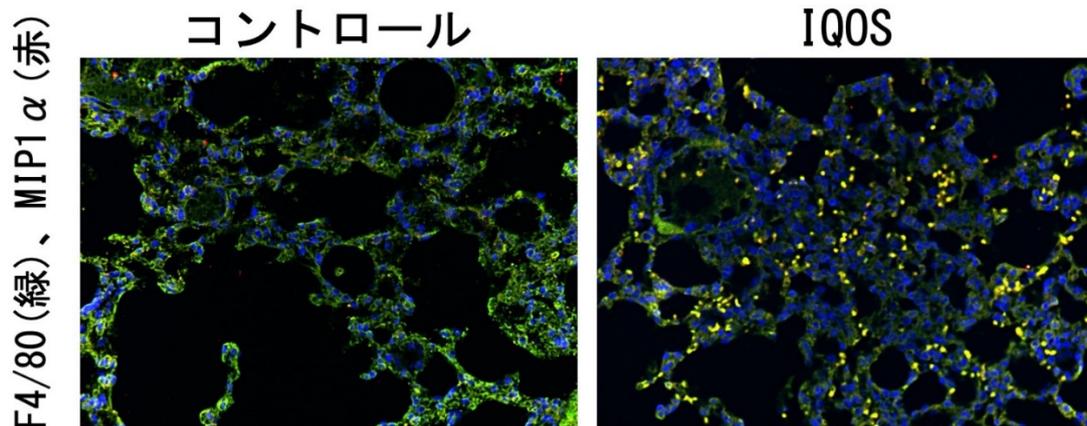


図7 免疫組織化学法による像

コントロール肺ではマクロファージからの分泌は認められない。IQOS 暴露マウス肺の炎症様構造を呈した部位では、マクロファージからのサイトカインが確認された (黄色)。

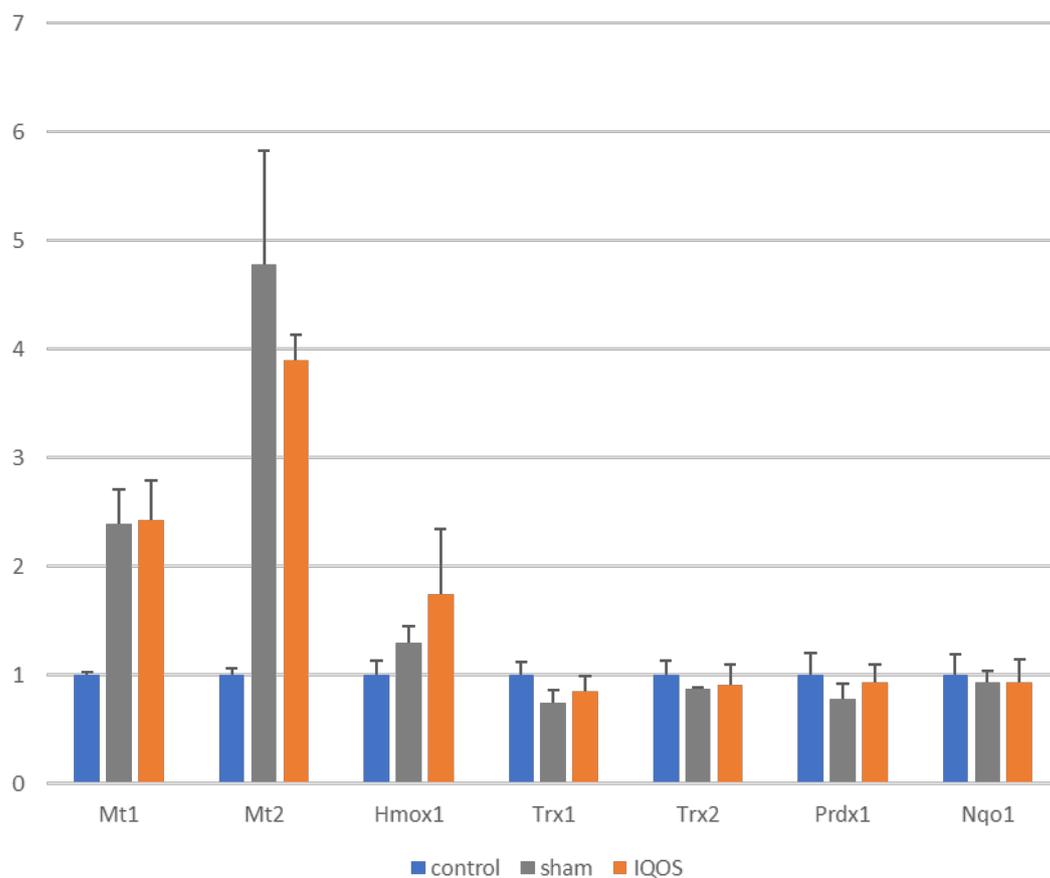


図8 肺における酸化ストレスマーカー遺伝子の相対発現量

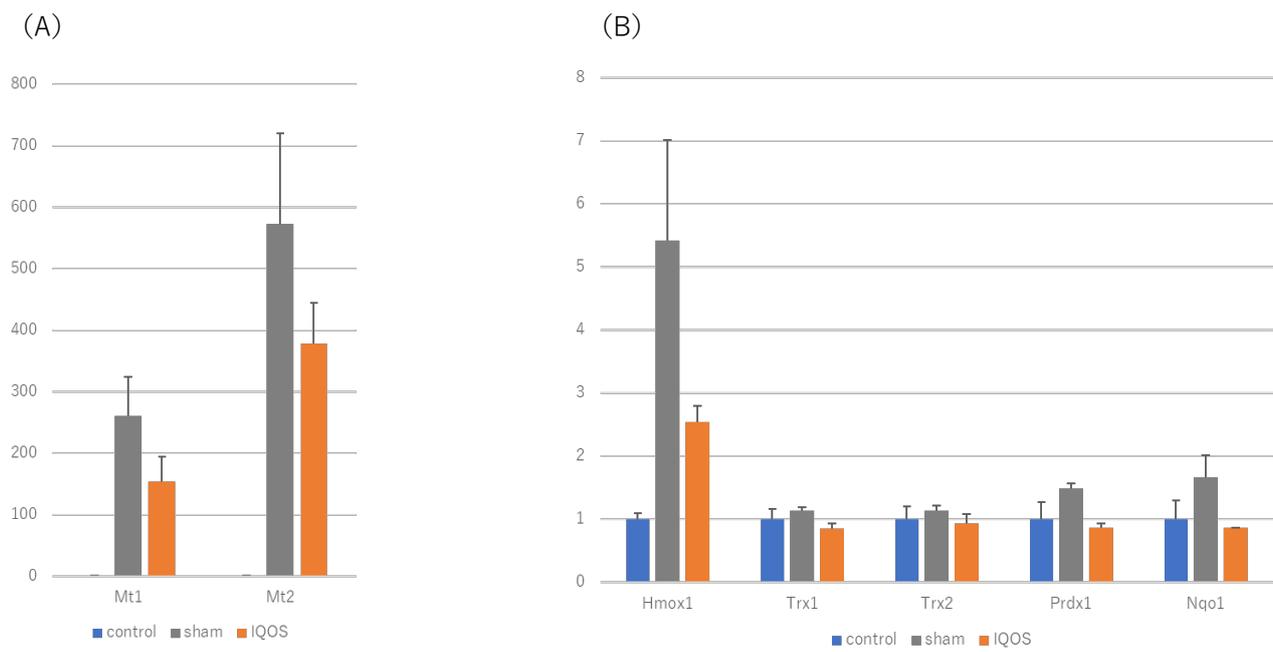


図9 肝臓における酸化ストレスマーカー遺伝子の相対発現量

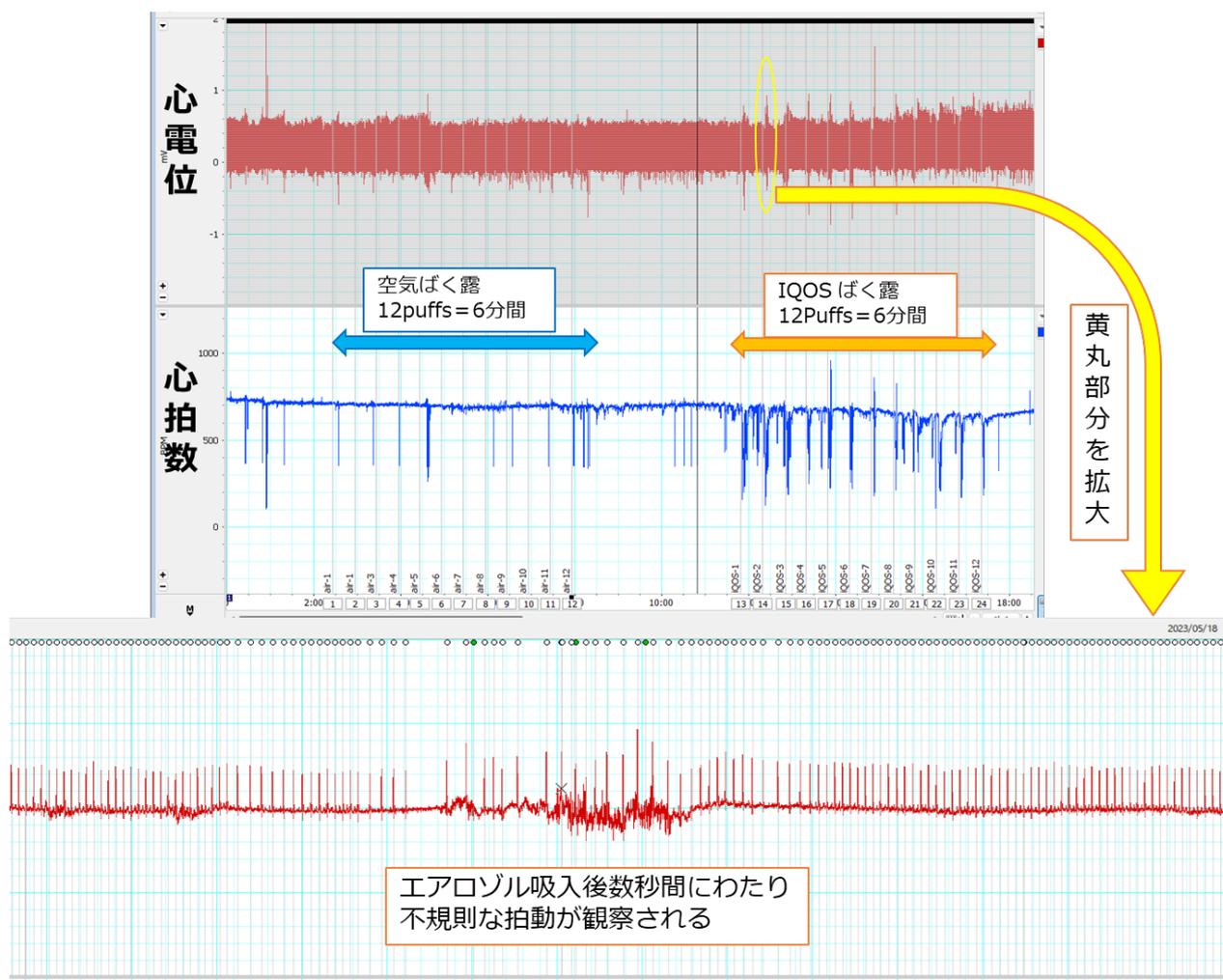


図 10 IQOS ばく露中の心電図

上図は埋め込み型マウス心電図送信器を装着したマウスで、連続的に心電図を記録した一例である。上図の左側で加熱式たばこばく露装置にたばこを挿さずに装置を稼働した場合、すなわち空気のみをばく露を行った場合を示す。また図の右側では、IQOS をセットしばく露を行った場合を示す。心電図の収集と同時に、心電図の RR 間隔から自動的に心拍数が算出されグラフ化されている。心拍数のグラフを見ると IQOS をばく露すると、パフ毎に心電図が乱れる傾向が見られた。そこで、IQOS の 2 パフ目（黄丸部分）の心電図を拡大したものが下図となる。エアロゾル吸入後、数秒間にわたり不規則な拍動が見られている。

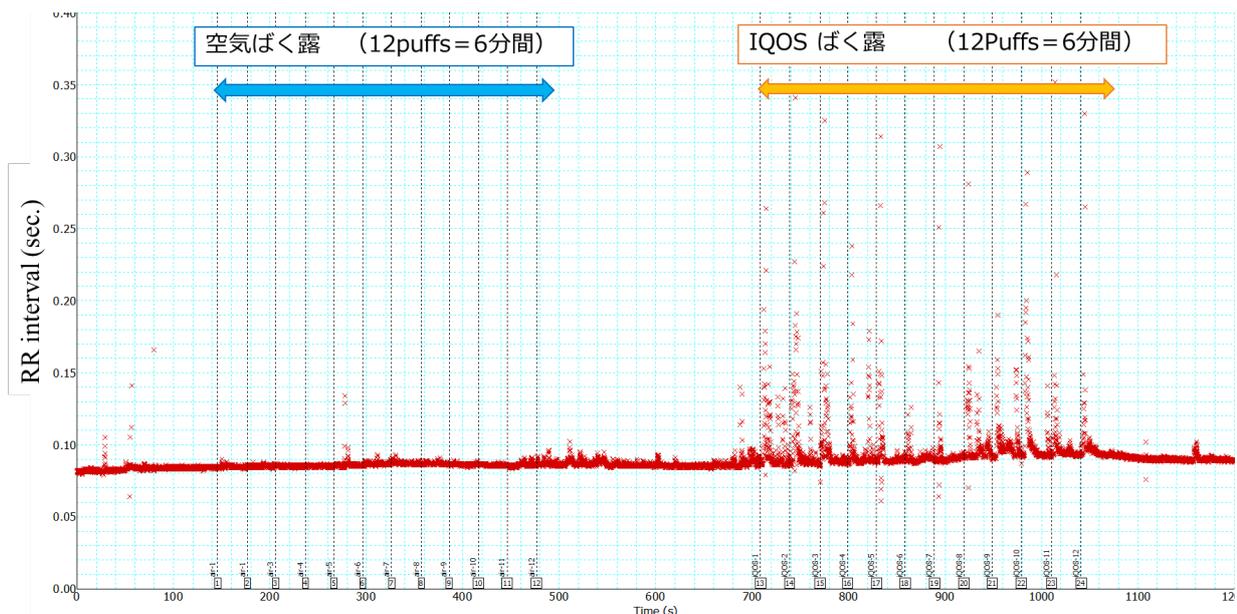


図 1.1 IQOS ばく露中の RR 間隔の変化

図 1.0 のデータから 1 拍毎 RR 間隔プロットした。空気ばく露中は RR 間隔に大きな変化は見られないが、IQOS ばく露においては、縦の点線で示すパフ毎に RR 間隔の延長が見られた。しかしながら 12 回のパフが終わるとベースラインに戻る現象が見られた。

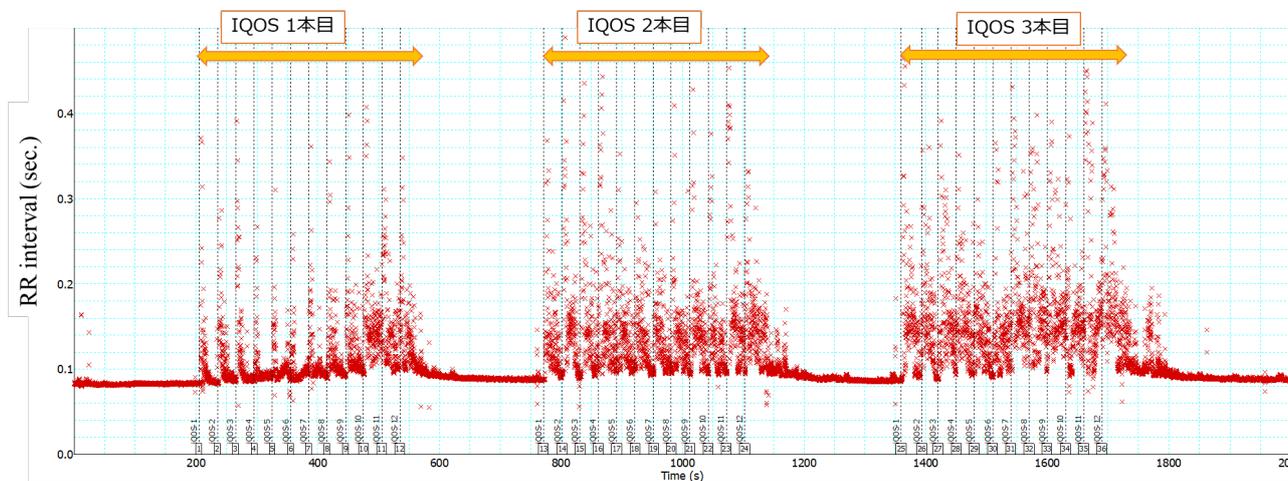


図 1.2 IQOS を連続で 3 本ばく露した際の RR 間隔の変化

IQOS を一定のインターバルをおいて連続で 3 本ばく露した際に記録された心電図をもとに 1 拍ごとの RR 間隔をプロットした。IQOS のばく露中はパフ毎に変動が見られたが、ばく露が終わるとベースラインに戻り、次のばく露が始まると、再度 RR 間隔の乱れが見られた。図中の黄色の矢印は IQOS1 本分のばく露時間（6 分間）を示す。

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこの曝露試験より得られたマウスの諸臓器に対する分子病理学的解析

分担研究者 煙山 紀子 東京農業大学

研究協力者 美谷島 克宏 東京農業大学

研究協力者 中江 大 帝京平成大学

#### 研究要旨

本分担研究は、本研究の別の分担研究者である国立保健医療科学院の牛山らにより開発された主流煙エアロゾルを高い効率で動物に曝露する加熱式たばこ喫煙装置を使用して、加熱式たばこの毒性病理学的影響について解析した。本分担研究は、牛山らにより実施された、雄性 *gpt delta* マウス（入荷時8週齢）に、4週間に亘って1日あたり5本分を午前と午後1時間ずつ拘束し噴霧により曝露した動物実験から供給を受けた材料を用い、病理組織学的解析および組織中遺伝子発現解析を行った。その結果、病理組織学的に胸腺ではごく軽度の病変が認められたが、その程度ないし頻度において Air 群・IQOS 曝露群間で明らかな差はなく、IQOS 曝露による免疫系組織への影響を見出すには至らなかった。しかしながら、肺・肝臓・心臓・腎臓組織中の遺伝子発現解析では、IQOS 曝露群において一部の炎症関連遺伝子並びに酸化ストレス関連因子発現に変動が認められた。このことから、本実験系では、IQOS 曝露による臓器障害を示唆する組織学的な変化は見られなかったものの、病態形成以前の段階において遺伝子発現への影響が見出された可能性があるものと考えられた。

#### A. 研究目的

近年普及しつつある加熱式たばこの安全性については、知見が限られている。健康増進法（改正案）において、国は受動喫煙の防止に関する施策の策定に必要な調査研究を推進するように努めることとされているが、加熱式たばこの受動喫煙による健康影響については、さらなる科学的根拠の蓄積が必要とされている。

本分担研究は、国立保健医療科学院において開発された主流煙エアロゾルを高い効率で動物に曝露する加熱式たばこ喫煙装置を使用して、加熱式たばこの毒性病理学的影響について解析することを目的に行った。

#### B. 研究方法

##### 1. 動物実験

本研究では、雄性 *gpt delta* マウス（入荷時8週齢）を用いた。群設定は、IQOS 曝露群7匹、Air 曝露群8匹、ケージコントロール（対照）群4匹とした。4週間に亘って1日あたり5本分を午前と午後で1時間ずつ拘束し噴霧により曝露した。ケージ対照群は通常の飼育を行った。本曝露は、本研究の分担者である国立保健医療科学院・牛山らにより実施された。

##### 2. 解析

当分担としては、解剖以後に採取された諸臓器を用いて病理組織学的解析、遺伝子発現解析を実施した。さらに、同時に採取した気管支肺胞洗浄液 (BALF)・血液を用いてサイトカインアッセイを実

施する（実施中）。

## C. 結果及び考察

### 1. 体重および臓器重量

ケージ対照群では、曝露期間中に体重増加が見られたが、Air 群と IQOS 曝露群では、体重増加は認められなかった（図 1）。解剖時の臓器重量測定において、肝臓、腎臓及び脾臓では、群間に明らかな差は見られなかったが、胸腺では、Air 群と IQOS 曝露群において相対・絶対重量共にケージ対照群より低値であった（図 2）。

### 2. 病理学的解析

病理組織学的解析では、Air 群と IQOS 曝露群共に、ごく軽度の胸腺の萎縮が観察された。しかし、Air 群と IQOS 曝露群間に明らかな差は見られなかった。また、肝臓、腎臓及び脾臓ではケージ対照群と Air 群・IQOS 曝露群間に明らかな差は見られなかった。

### 3. 遺伝子発現解析

遺伝子発現解析では、肺において、ケージ対照群及び Air 群と比較し、IQOS 曝露群で、一部の炎症関連遺伝子の発現増加が見られた（図 3）。一方で、ケージ対照群と比較して Air 群・IQOS 群両群で同様に変動している炎症関連遺伝子も確認された（図 3）。また、酸化ストレス関連遺伝子発現（ヘムオキシゲナーゼ - 1 : HO-1）は肺・腎臓・肝臓・心臓において、ケージ対照群及び Air 群と比較し、IQOS 曝露群特異的に増加を示した（図 4）。

### 4. 考察

病理組織学的に胸腺ではごく軽度の病変が認められたが、その程度ないし頻度において Air 群・IQOS 曝露群間で明らかな差はなく、IQOS 曝露による免疫系組織への影響を見出すには至らなかった。しかしながら、肺・肝臓・心臓・腎臓組織中の遺伝子発現解析では、IQOS 曝露群において一部の炎症関連遺伝子並びに酸化ストレス関連

因子発現に変動が認められた。特に酸化ストレス関連因子は、肺・肝臓・心臓・腎臓組織で同様に、IQOS 特異的な増加がみられたことより、IQOS 独自の影響を見出した可能性が示唆された。このことから、本実験系では、IQOS 曝露による臓器障害を示唆する組織学的な変化は見られなかったものの、病態形成以前の段階において遺伝子発現への影響が見出された可能性があるものと考えられた。

一方で、体重経過や一部の遺伝子発現は Air 群と IQOS 曝露群で同様の変化を示したため、噴霧曝露自体の影響も示唆された。今後は、噴霧曝露群における拘束ストレスに伴う影響と、加熱式たばこによる影響を識別するため、より拘束ストレスの生じない曝露装置の開発が重要であると考えられた。

## D. 結論

本分担研究は、マウスにおける IQOS エアロゾル曝露による加熱式たばこの毒性病理学的影響について解析し、加熱式タバコの使用による肺組織への影響を示唆する結果を得た。本実験において、IQOS 曝露において免疫系組織の影響を見出すには至らなかったものの、組織中の遺伝子発現解析では一部の炎症および酸化ストレス関連遺伝子の上昇を認めた。よって、本分担研究における IQOS 曝露は、病態形成以前の段階において肺および他組織遺伝子発現へ影響を与える可能性が示唆された。

## E. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし
3. その他  
なし

**F.** 知的財産権の出願・登録状況  
なし

図 1 : IQOS エアロゾル曝露期間中の体重推移

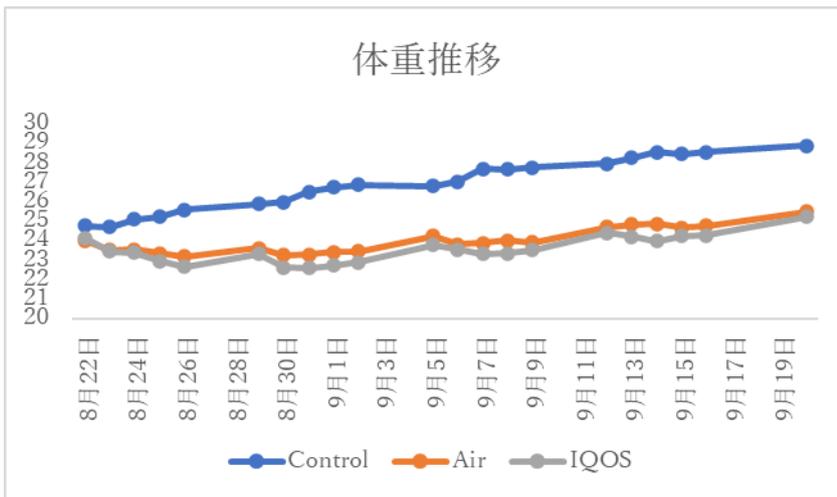


図 2 : 解剖時の胸腺及び脾臓重量

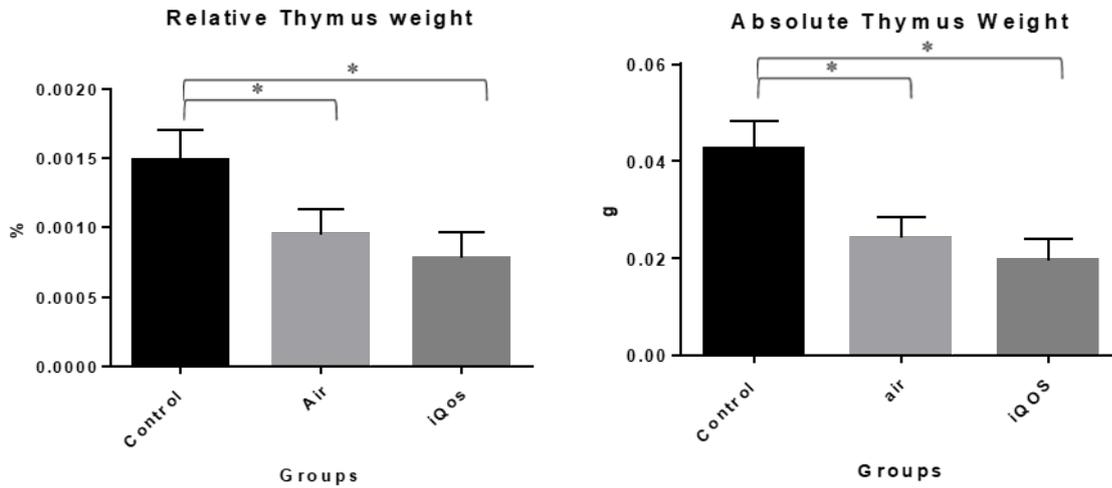
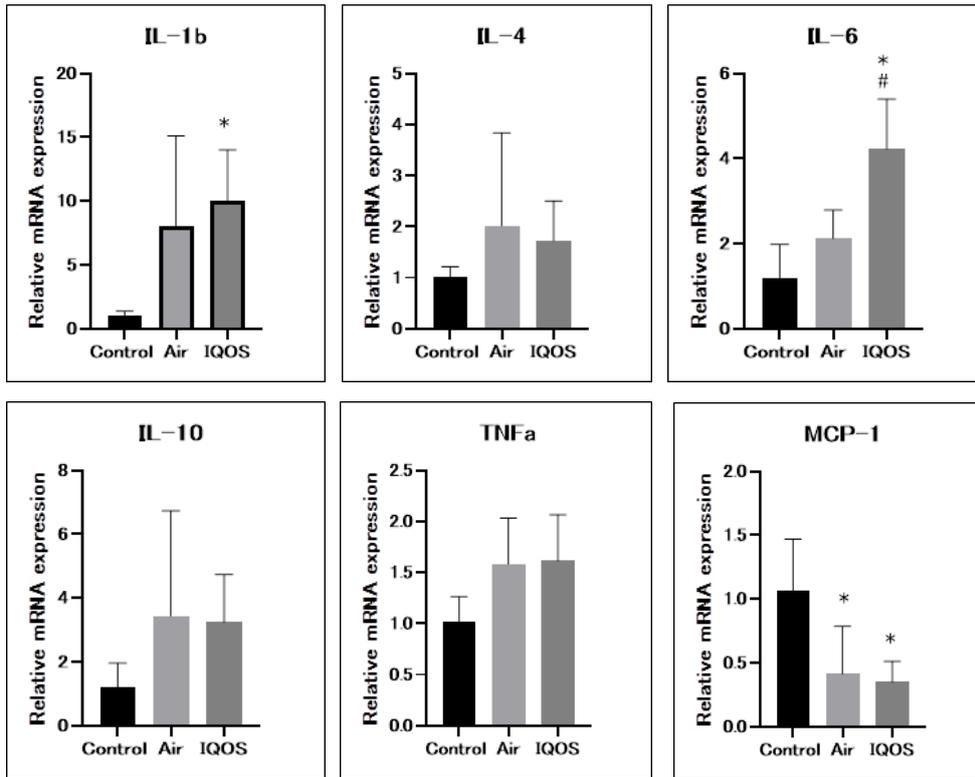


図 3 : 炎症関連遺伝子発現解析 (肺)



\* = VS ケージ対照群  
# = VS Air 群

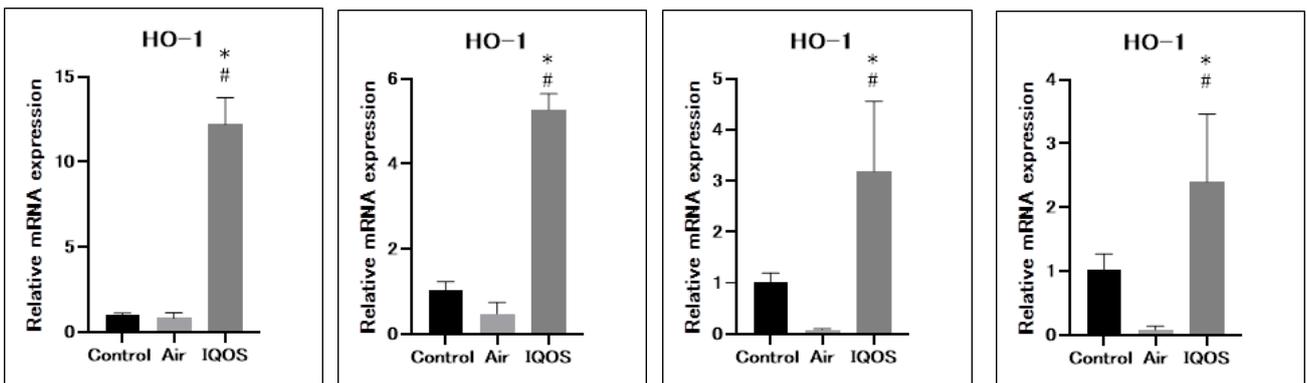
図 4 : 酸化関連遺伝子発現 (肺・腎臓・肝臓・心臓)

肺

腎臓

肝臓

心臓



\* = VS ケージ対照群  
# = VS Air 群

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)  
分担研究報告書

加熱式たばこの *in vivo* 遺伝毒性評価

研究代表者 戸塚 ゆ加里 日本大学薬学部・環境衛生学・教授

**研究要旨：** *gpt delta* マウスおよび C57BL/6J マウスを用いて、IQOS 主流煙捕集液の反復気管内投与による肺を対象とした *in vivo* 遺伝毒性について検討した。研究代表者(稲葉)らが開発した方法で加熱式たばこから発生する主流煙エアロゾルを PBS に捕集した液を、*gpt delta* マウスおよび C57BL/6J マウスに、1 匹あたり 100 $\mu$ Lx 40 回の気管内投与を行なったのち、屠殺解剖を行なった。抽出した *gpt delta* マウス肺より抽出した gDNA の *gpt* 遺伝子における変異頻度を解析した結果、Control 群と比べて紙巻きたばこ(3R4F)群、IQOS 群 の変異頻度はそれぞれ 1.3 倍、2.0 倍と上昇傾向にあった。変異スペクトルの解析を行なったところ、control と比較して 3R4F および IQOS 曝露群に共通して A:T $\rightarrow$ C:G、G:C $\rightarrow$ T:A 変異が増加した。さらに、IQOS 曝露群では G:C $\rightarrow$ C:G 変異の増加も観察された。

C57BL/6J マウス肺より抽出した gDNA を用いて、気管内投与による DNA 付加体の網羅的解析を行なったところ、control 群と 3R4F 群、IQOS 群の 3 つにクラスタリングができた。IQOS のクラスタリングに寄与する付加体を見出した。今後、この付加体の構造を検討するとともに、IQOS の遺伝毒性のメカニズムの解明を目指していく。

**研究協力者：**

小宮雅美 国立がん研究センター研究所 が  
んモデル開発部門 特任研究員

**A. 研究目的**

健康増進法(改正案)において、国は受動喫煙の防止に関する施策の策定に必要な調査研究を推進するように努めることとされている。加熱式たばこについては、紙巻たばこと比較して販売からの歴史が浅いことから、現時点の科学的知見では、加熱式たばこの受動喫煙による将来的な健康影響をまだ分かっていないことも多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。

研究代表者が所属する国立保健医療科学院は、紙巻たばこで蓄積した成分分析の技術的知識(ノウハウ)をもとに新たな技術を開発してきており、2014年にはWHO-CC指定協力研究センターに認定され、さらに、WHO-TobLabNet(たばこ研究室ネットワーク)に参画し、常に新しい技術開発に関する情報交換・国際標準化された分析法の開発を行ってきた(WHO TobLabNet SOP 8 and 9)。また、動物曝露用の加熱式たばこ喫煙装置の開発、特許出願(特願2020-1753517)を行い、その曝露量を分析し、現在は論文投稿中である。

一方、申請者は令和1年~2年度の厚生労働省生活習慣病・難治性疾患等総合研究事

業において、マウス気管内投与モデルを用い、加熱式たばこの一般・遺伝毒性評価の検討を行ってきた。(加熱式たばこによる健康危機発生を回避するための非臨床安全性評価に関する基礎的研究 ( 19FA1501 )) 本研究では、これまでの研究成果を基盤として、加熱式たばこ等の新たなたばこ製品について、動物実験により曝露マーカー、毒性試験について調べ、加熱式たばこおよび新たなたばこ製品についての毒性評価およびその手法を検討する。

## B. 研究方法

研究代表者(稲葉)らが開発した方法で加熱式たばこから発生する主流煙エアロゾルを PBS に捕集した液を、*gpt delta* マウスおよび C57BL/6J マウスに 1 匹あたり 100 $\mu$ Lx 40 回の反復気管内投与を行なったのち、屠殺解剖を行なった。摘出した肺より gDNA を抽出し、常法に則って、*gpt* mutation assay および DNA 付加体の網羅的解析を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究で行う動物実験にあたっては、国立保健医療科学院における動物実験に関する指針に則って実施し、3R の原則に則り、可能な限り実験動物の苦痛軽減処置を行う。

## C. 研究結果

*gpt* 遺伝子を指標とした変異原性試験

標的遺伝子である *gpt* 遺伝子における変異頻度を解析した結果を図1に示す。control 及び 3R4F 群、IQOS 群に観察された変異頻度はそれぞれ  $4.95 \times 10^{(-6)} \pm 2.80 \times 10^{(-6)}$ 、 $6.50 \times 10^{(-6)} \pm 3.48 \times 10^{(-6)}$ 、 $9.96 \times 10^{(-6)} \pm 3.01 \times 10^{(-6)}$  となり、曝露

により変異頻度が上昇した。変異スペクトルの解析を行なったところ、control と比較して 3R4F および IQOS 曝露群に共通して A:T $\rightarrow$ C:G、G:C $\rightarrow$ T:A 変異が増加した。さらに、IQOS 曝露群では G:C $\rightarrow$ C:G 変異の増加も観察された。(図2)

DNA 付加体網羅的解析 (アダクトーム解析)

C57BL/6J マウス肺より抽出した gDNA を用いて、気管内投与による DNA 付加体の網羅的解析を行なったところ、control 群と 3R4F 群、IQOS 群の 3 つにクラスタリングができた (図3)。IQOS のクラスタリングに寄与する付加体として、Adduct 337 [m/z 566.3029 $\rightarrow$ 450.1196] と Adduct 1434 [m/z 363.1571 $\rightarrow$ 246.9960] を見出した (図4、5)。

## D. 考察

IQOS 群および 3R4F 群ともに control 群と比較して *gpt* 遺伝子における変異頻度が上昇したが、IQOS 群の方が 3R4F 群よりも 1.5 倍ほど高くなった。これは、3R4F では主流煙中の変異を誘発する化学物質が脂溶性のものが多く、PBS に溶解せず捕集できなかつたためと考えられた。このことより、主流煙 PBS 捕集液による検討のみでは IQOS 主流煙の生体への影響を明らかにするには不十分であり、主流煙を実際に吸入曝露させる実験と併せて評価する必要があると考えられる。

## E. 結論

*gpt delta* マウスを用いて、IQOS 主流煙 PBS 捕集液の気管内投与による肺を対象とした *in vivo* 遺伝毒性について検討した。*gpt* 遺伝子における変異頻度を解析した結果、Control 群と比べて紙巻きたばこ (3R4F) 群、IQOS 群 の変異頻度はそれぞれ 1.3 倍、2.0 倍と上昇傾向にあった。3R4F 群と比べて IQOS 群の変異頻度のほう

が高値であったのは、3R4F 主流煙中の変異原物質の多くが脂溶性であり、PBS で捕集できなかった為と考えられた。このことより、主流煙 PBS 捕集液による検討のみでは IQOS 主流煙の生体への影響を明らかにするには不十分であり、主流煙を実際に吸入曝露させる実験と併せて評価する必要があると考えられる。

DNA アダクトーム解析において見出したクラスタリングに寄与する DNA 付加体を同定し、変異スペクトルのデータと併せて評価することにより、IQOS 主流煙の変異毒性の詳細な検討を行っていく予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kobayashi T, Kishimoto S, Watanabe S, Yoshioka Y, Toyoda T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. (2022) Cytotoxic Homo- and Hetero-Dimers of o-toluidine, o-anisidine, and Aniline Formed by In Vitro Metabolism. *Chem Res Toxicol.* 2022 Sep 19;35(9):1625-1630.
2. Narita T, Tsunematsu Y, Miyoshi N, Komiya M, Hamoya T, Fujii G, Yoshikawa Y, Sato M, Kawanishi M, Sugimura H, Iwashita Y, Totsuka Y, Terasaki M, Watanabe K, Wakabayashi K, Mutoh M. (2022) Induction of DNA Damage in Mouse Colorectum by Administration of Colibactin-producing *Escherichia coli*, Isolated from a Patient with Colorectal Cancer. *In Vivo.* Mar-Apr;36(2): 628-634.
3. Komiya M, Ishigamori R, Naruse M, Ochiai M, Miyoshi N, Imai T, Totsuka Y., (2021) Establishment of novel genotoxicity assay

system using murine normal epithelial tissue-derived organoids, *Front Genet.* Nov 18;12: 768781.

4. Takahashi M, Hamoya T, Narita T, Fujii G, Totsuka Y, Hagio M, Tashiro K, Komiya M, Mutoh M. (2021) Complex Modulating Effects of Dietary Calcium Intake on Obese Mice. *In Vivo.* 35(4):2107-2114.
5. Kobayashi T, Toyoda T, Tajima Y, Kishimoto S, Tsunematsu Y, Sato M, Matsushita K, Yamada T, Shimamura Y, Masuda S, Ochiai M, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. (2021) o-Anisidine Dimer, 2-Methoxy-N4-(2-methoxyphenyl) Benzene-1,4-diamine, in Rat Urine Associated with Urinary bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 34(3):912-919.
6. Totsuka Y, Watanabe M, Lin Y. (2021) New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci.*, 112, 7-15.

### 2. 学会発表

1. Yukari Totsuka Comprehensive analyses of genome and DNA adducts elucidate association between environmental factors and human cancer development 12th AACR-JCA Joint Conference (2022年12月、マウイ-ハワイ、米国)
2. 戸塚ゆ加里, 小宮雅美, 永井桃子, 加藤護, 松田知成 集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 第35回 発癌病理研究会 (2022年11月、

- 新潟)
3. 帯金明日香、小宮雅美、鈴木 周五、魏民、鰐渕 英機、戸塚 ゆ加里 職業性膀胱がん候補化学物質によるDNA付加体の網羅的解析 第51回 環境変異原学会 (2022年11月、広島)
  4. 坪井理、植嶋亜衣、久富優太、小田美光、恒松雄太、佐藤道大、平山裕一郎、三好規之、岩下雄二、吉川悠子、梶村春彦、戸塚ゆ加里、若林敬二、渡辺賢二、川西優喜 DNA鎖間架橋修復欠損細胞を用いたコリバクチン産生大腸菌の細胞毒性と遺伝毒性の評価 第51回 環境変異原学会 (2022年11月、広島)
  5. 戸塚ゆ加里、集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 第1回包括的がん緩和病態生理医療薬学研究会 (2022年11月、東京)
  6. 戸塚ゆ加里、小宮雅美、松田知成、加藤護 Next generation sequencing technology elucidates the association between environmental factors and human cancer development 第81回癌学会 (2022年9月、横浜)
  7. 小宮雅美、落合雅子、今井俊夫、戸塚ゆ加里 Establishment of novel genotoxicity assay system using organoids derived from murine normal epithelial tissues 第81回癌学会 (2022年9月、横浜)
  8. 帯金明日香、小宮雅美、鈴木 周五、魏民、鰐渕 英機、戸塚 ゆ加里 Comprehensive analysis of DNA adducts formed from candidate chemicals for occupational bladder cancer 第81回癌学会 (2022年9月、横浜)
  9. Yukari Totsuka New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer 13th ICEM (2022年8月オタワ・カナダ)
  10. Kobayashi T, Yoshioka Y, Kishimoto S, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. In vitro metabolic dynamics for p-semidine-type homo- and heterodimerization of monocyclic aromatic amines 13th ICEM (2022年8月オタワ・カナダ)
  11. 小宮 雅美、鈴木 周五、魏民、鰐渕 英機、戸塚 ゆ加里 芳香族アミンの膀胱がんメカニズムの解析 第29回日本がん予防学術大会 (2022年 7月 京都)
  12. 小林 琢磨、豊田 武士、吉岡 泰淳、岸本 真治、松下 幸平、赤根 弘敏、小川 久美子、渡辺 賢二、高村 岳樹、戸塚 ゆ加里、若林 敬二、三好 規之 細胞毒性を有する o-Toluidine と o-Anisidineの尿中代謝物はラット膀胱上皮でALDH1A1を誘導する 第29回日本がん予防学術大会 (2022年 7月 京都)
  13. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによる化学物質の遺伝毒性評価の現状と将来展望 第49回日本毒性学会 (2022年6月札幌)
  14. 戸塚ゆ加里 質量分析機器を用いたDNA付加体の網羅的解析手法 (DNAアダクトーム) の現状と将来展望 第81回分析化学討論会 (2021年5月 Web開催)
  15. 戸塚ゆ加里 DNA付加体の網羅的解析手法 (DNAアダクトーム) の現状と将来展望 第144回日本薬理学会関東支部会 (2021年6月 Web開催)
  16. 戸塚ゆ加里 Comprehensive analyses of genome and DNA adducts elucidate association between environmental factors and human cancer development 第80回癌

学会（2021年10月、横浜）	Web開催）
17. 戸塚ゆ加里 生体を模倣したin vitro遺伝毒性評価 第50回 環境変異原学会（2021年11月、横須賀）	G. 知的財産権の取得状況 1. 特許取得 なし
18. 戸塚ゆ加里 ゲノムおよびDNA付加体の網羅的解析により環境因子とがん発生との関連を解明する 第95回 日本薬理学会（2022年3月、福岡）	2. 実用新案登録 なし
19. 戸塚ゆ加里 ナノマテリアルに特化した新規in vitro生体模倣評価系の開発 日本薬学会 第142年会（2022年3月、	3. その他 なし

資料 研究成果に関する図表

図1 *gpt* 遺伝子における変異頻度

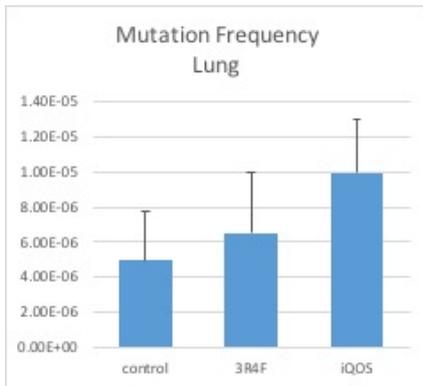


図2 *gpt* 遺伝子における変異のスペクトル解析

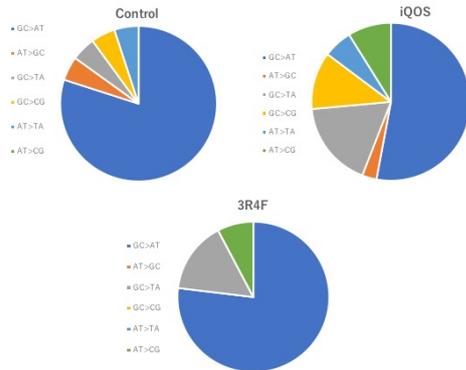


図3 DNA 付加体網羅的解析

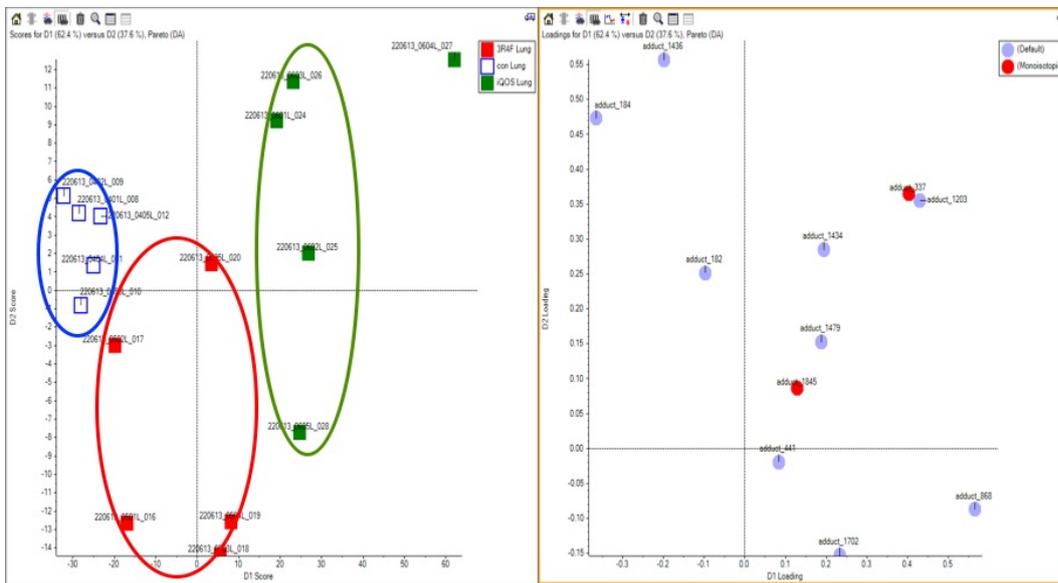


図4 主成分解析におけるIQOS 曝露群の特徴的なアダクト

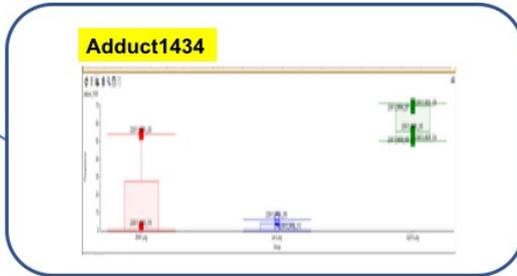
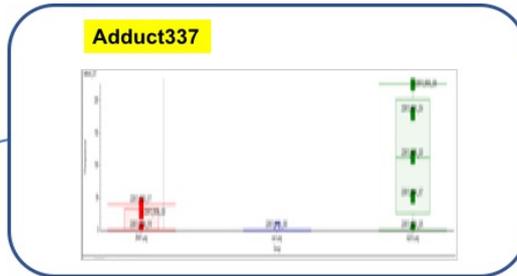
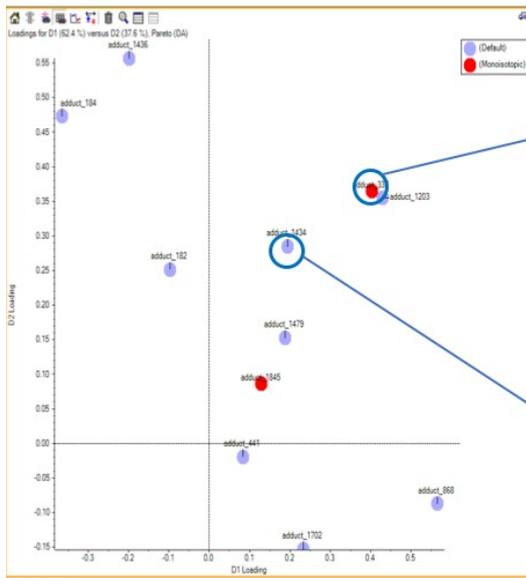
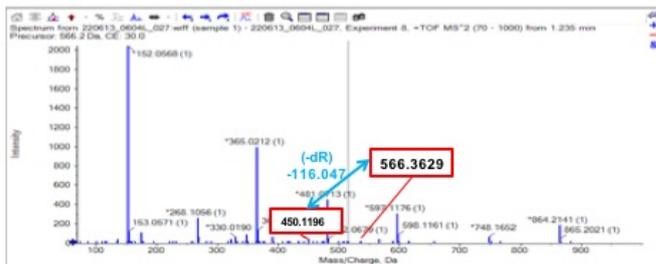
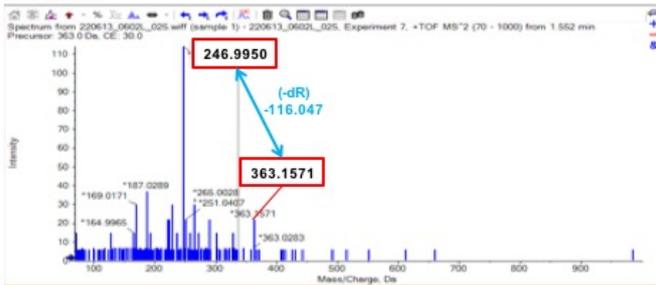


図5 付加体337および1434のフラグメンテーション解析

### Adduct337



### Adduct1434





## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

## 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
なし							

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kobayashi T, Kishimoto S, Watanabe S, Yoshioka Y, Toyoda T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y,	Cytotoxic Homodimers and Heterodimers of o-toluidine, o-anisidine, and Aniline Formed by In Vitro Metabolism.	Chem Res Toxicol.	35	1625-1630	2022
Narita T, Tsunematsu Y, Miyoshi N, Komiya M, Hamoya T, Fujii G, Yoshikawa Y, Sato M, Kawanishi M, Sugimura H, Iwashita Y, Totsuka Y, Terashima M, Watanabe K, Wakabayashi K, Mutoh M.	Induction of DNA Damage in Mouse Colon by Administration of Colibactin-producing Escherichia coli, Isolated from a Patient with Colorectal Cancer.	In Vivo	36	628-634	2022
黄載雄, 李時桓	加熱式タバコの喫煙による呼吸特性と化学種物質の挙動特性	日本建築学会大会学術講演梗概集	40733	1591-1592	2022

厚生労働大臣 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職 名 院長

氏 名 曾根 智史

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生活環境研究部・部長

(氏名・フリガナ) 牛山 明 (ウシヤマ アキラ)

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職 名 院長

氏 名 曽根 智史

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 統括研究官・統括研究官

(氏名・フリガナ) 高橋 秀人・タカハシ ヒデト

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職 名 院長

氏 名 曾根 智史

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 生活環境研究部 主任研究官  
(氏名・フリガナ) 戸次 加奈江 ベッキ カナエ

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

令和5年3月27日

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 麻布大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 川上 泰

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 麻布大学 獣医学部 講師

(氏名・フリガナ) スギタ カズトシ 杉田 和俊

#### 4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

#### 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

#### 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 東京農業大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 江口 文陽

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
- 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究  
(21FA2001)
- 研究者名 (所属部署・職名) 応用生物科学部食品安全健康学科・准教授  
(氏名・フリガナ) 煙山 紀子 (ケムリヤマ ノリコ)

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 明治薬科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 越前 宏俊

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業費補助金(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 薬学部 教授

(氏名・フリガナ) 中館 和彦 (ナカダテ カズヒコ)

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他(特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 曾根 智史

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生活環境研究部・上席主任研究官

(氏名・フリガナ) 稲葉 洋平 (イナバ ヨウヘイ)

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人長崎大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 河野 茂

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
- 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究
- 研究者名 (所属部署・職名) 大学院医歯薬学総合研究科(薬学系)・教授  
(氏名・フリガナ) 鳥羽 陽・トリバ アキラ

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人東海国立大学機構  
所属研究機関長 職名 名古屋大学大学院環境学研究科長  
氏名 山岡 耕春

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 名古屋大学大学院環境学研究科・准教授  
(氏名・フリガナ) 李 時桓 (イ シファン)

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 国際医療福祉大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 鈴木 康裕

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業
2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学研究科公衆衛生学専攻疫学・社会医学分野  
(氏名・フリガナ) 中田 光紀 (ナカタ アキノリ)

## 4. 倫理審査の状況

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

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

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

## 6. 利益相反の管理

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

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

令和 5年 5月 18日

厚生労働大臣 殿

機関名 日本大学薬学部

所属研究機関長 職名 学部長

氏名 鳥山 正晴

次の職員の令和4年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

2. 研究課題名 加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と受動喫煙による健康影響の研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 日本大学薬学部・教授

(氏名・フリガナ) 戸塚ゆ加里・トツカユカリ

#### 4. 倫理審査の状況

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

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

#### その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

#### 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況 受講  未受講

#### 6. 利益相反の管理

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

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