

厚生労働科学研究費補助金

曝露・炎症マーカー等を組み合わせた加熱式たばこによる受動喫煙の
健康影響を評価するための研究

(2 3 F A 1 0 0 2)

令和5～7年度 総合・分担研究報告書

研究代表者 稲葉 洋平

令和8（2026）年 5月

目 次

I. 総合研究報告

曝露・炎症マーカー等を組み合わせた加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を評価するための研究	
稲葉洋平	

II. 分担研究報告

1. 尿中曝露・影響バイオマーカーを用いた加熱式たばこ使用者のニコチン曝露評価に関する研究	
稲葉洋平, 溝上哲也, 大澤絵里, 瀬瀬朋弥, 牛山明	
2. 3歳児健康診査を活用した加熱式たばこによる家族の受動喫煙に関する調査	
瀬瀬朋弥, 大澤絵里, 稲葉洋平	
3. 喫煙者への調査体制の確立について	
松尾洋孝, 中山昌喜	
4. DNA損傷分析— 簡便なDNA損傷（遺伝毒性）評価系の開発 —	
戸塚ゆ加里	

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

令和 5～7 年度厚生労働科学研究費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
総合研究報告書

曝露・炎症マーカー等を組み合わせた加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を
評価するための研究

研究代表者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

本総合研究は、近年急速に普及している加熱式たばこについて、「紙巻たばこよりも害が少ない」という認識が広く浸透している現状に対し、疾患が認められていない喫煙者および受動喫煙者の健康影響を客観的かつ科学的に評価することを目的とした。特に、強い依存性物質であるニコチンの曝露実態や家庭内での受動喫煙の影響を明らかにするため、非侵襲的に採取可能な尿や口腔内細胞等の生体試料を用いた包括的なバイオマーカー分析手法および DNA 損傷（遺伝毒性）評価系を開発・確立し、それらを実際の集団に適用した。

分析手法の開発においては、尿中のたばこ由来有害化学物質代謝物の一斉分析法を高度化した。具体的には、分析カラム（ACQUITY Premier T3 等）や移動相の最適化により、従来分離が困難であった異性体や妨害成分の完全な分離を達成し、揮発性有機化合物（VOC）代謝物 19 成分、多環芳香族炭化水素（PAH）代謝物 15 成分、および酸化・メチル化に伴う DNA/RNA 損傷体 10 成分の高感度・高精度な同時定量法を新たに確立した。これらの分析基盤を用い、事業所健診受診者 892 名の尿中ニコチン代謝物 7 成分（総ニコチン代謝物：TNM）を測定した。自己申告の不正確さを補正するためのカットオフ値を設定して喫煙状況を再分類した結果、加熱式たばこ喫煙者と紙巻たばこ喫煙者の間で TNM に統計学的な有意差は認められず、加熱式たばこにおいても紙巻たばこ同等のニコチン曝露が生じており、依存形成リスクが全く低減されていないことが客観的データにより証明された。また、受動喫煙者間においても両製品によるニコチン曝露量に有意差は認められなかった。

一方、生体試料への応用を見据えた簡便な DNA 損傷評価系として、マウス正常肝臓由来細胞等を用いた小核試験法を確立した。さらに、 γ -H2AX 蛍光免疫染色による DNA 二重鎖切断の可視化と foci の定量化、および Phospho-ATR/Chk1 発現解析による細胞内シグナル伝達の活性化評価を組み合わせることで、直接的・間接的な化学物質曝露による初期の遺伝毒性を多角的・迅速かつ定量的にスクリーニングできる信頼性の高い基盤技術を構築した。

また、幼児をもつ家庭における受動喫煙の実態を把握するため、地域特性が異なる自治体の 3 歳児健康診査を活用した調査を実施した。その結果、加熱式たばこ使用者の 7 割以上が「紙巻たばこよりも害が少ない」と誤認しており、切り替え理由も「ニオイが軽減されるから」が多数を占めた。この誤った安全認識が、「換気扇の下での喫煙」や「加熱式なら車内喫煙可」といった不十分な家庭内ルールに繋がり、結果として非喫煙家族や小児への継続的な受動喫煙曝露を助長している実態が明らかとなった。さらに、尿中バイオマーカー分析と組み合わせた結果、自己申告で「現在喫煙していない」とする者から高濃度のニコチン曝露が検出され、質問紙調査のみによる実態把握の限界が浮き彫りとなった。

本研究成果は、加熱式たばこに関する「有害物質削減＝安全」という誤認を是正し、科学的エビデンスに基づく正しい知識の啓発、および実効性のある受動喫煙防止対策の立案に大きく貢献するものである。構築された大規模な職域調査体制（約 2,000 検体規模）や確立された各種分析法は、今後の喫煙関連疾患の早期検出や予防医学における標準的手法となることが強く期待される。

研究分担者	所属施設名
牛山 明	国立保健医療科学院
大澤 絵里	国立保健医療科学院
額額 朋弥	岐阜大学
戸塚 ゆ加里	日本大学
松尾 洋孝	防衛医科大学校
中山 昌喜	防衛医科大学校
溝上 哲也	国立健康危機管理研究機構

研究協力者	所属施設名
中島 宏	防衛医科大学校
上山 純	名古屋大学
三宅 遥	国立健康危機管理研究機構
伊原 圭祐	東京薬科大学
岡野 有紗	明治薬科大学
秋本 紗希	東京薬科大学
中野 凌介	東京薬科大学

A. 研究背景と目的

たばこ煙には 5,300 種類以上の化学物質が含まれており、国際がん研究機関 (IARC) の発がん性リスクグループ 1 に分類される 1,3-ブタジエン、たばこ特異的ニトロソアミン (NNK、NNN)、ベンゾ[a]ピレンなどの発がん性物質や、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレインなどの揮発性有機化合物が多数確認されている。これらの複合曝露により、がん、動脈硬化、呼吸器疾患などのリスクが増大する。2014 年の発売以降、加熱式たばこは日本国内で急速に普及し、令和 6 年の国民健康・栄養調査によれば、喫煙者の約 4 割が加熱式たばこを使用している。加熱式たばこは燃焼を伴わないため、たばこ産業からは「主流煙 (エアロゾル) 中の有害化学物質が紙巻たばこと比較して約 90%削減されている」と宣伝されているが、これは特定の成分の「量」の比較に過ぎ

ず、ニコチンなどの強い依存性物質はこの削減対象に含まれていない。さらに、主流煙に含まれる有害物質の「成分数」自体は減少しておらず、複合曝露は継続されている。一般社会では「加熱式たばこは紙巻たばこより害が少ない」という認識が広く浸透しているが、非喫煙者家族の尿中からニコチン代謝物等のバイオマーカーが検出されるなど、家庭内での受動喫煙が生じていることが確認されつつある。健康増進法の改正においても、加熱式たばこによる受動喫煙がヒトの健康に及ぼす影響に関する調査研究を一層推進し、早期に結論を得ることが求められている。本研究は、非侵襲的に回収可能な生体サンプル (尿、口腔内細胞など) を用いたバイオマーカー分析手法を開発・確立し、曝露マーカー (ニコチン代謝物、VOC 代謝物、PAH 代謝物)、炎症マーカー、および影響マーカー (DNA/RNA 損傷体など) を組み合わせた包括的な健康影響評価法を構築することを目的とした。

評価の進め方

喫煙者；曝露マーカー毎に、喫煙者間では、紙巻、加熱式の曝露状況を比較するとともに、各主流煙分析の結果との相関を評価する。次に、曝露量の差と炎症マーカーレベルの相関を評価する。そして、影響・臨床マーカーのレベルと曝露マーカー、炎症マーカーのレベルとの相関を評価する。まだ、加熱式たばこのみの喫煙と各影響マーカーとの相関についても非喫煙者のデータと比較する。

受動喫煙者；受動喫煙者においては、曝露マーカーと家庭内喫煙者が使用するたばこ製品ごとにそれらの相関を評価する。喫煙者の喫煙場所、加熱式たばこ製品に対する意識との関連性を比較する一方、受動喫煙者の炎症マーカー、影響マーカーと曝露マーカーと同居喫煙者の各マーカー

との相関を評価する。

B. 研究方法

1. 尿中曝露・影響バイオマーカー一斉分析法の開発および曝露評価

たばこ由来の有害化学物質の代謝物および影響マーカーを高感度・高精度に測定するため、以下の分析法を順次整備した。

尿中 VOC 代謝物一斉分析法の改良(令和 5 年度):

アクロレイン、クロトンアルデヒド、アクリルアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、スチレン、アクリロニトリル、プロピレンオキシド、1,3-ブタジエン、エチルベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン等の曝露を反映する VOC 代謝物 19 成分を対象とした。固相抽出に MonoSpin C18-CX を用い、分析装置は LC/MS/MS (QTRAP5500) を使用した。妨害成分との分離を改善するため、分析カラムを Waters 社製 ACQUITY Premier T3 (1.8 μ m, 2.1×150 mm) に変更し最適化した。

尿中 PAH 代謝物一斉分析法の確立(令和 5 年度):

ナフタレン、フルオレン、フェナンスレン、ピレン、クリセン、ベンゾ[a]アントラセンの一水酸化代謝物 (OH-PAHs) 15 成分を対象とした。尿試料 2 mL を β -グルクロニダーゼで 24 時間酵素処理後、液-液抽出を行い、LC/MS/MS (Triple Quad 5500+ システム) および CORTECS UPLC C8 カラム (100 mm×2.1 mm, 1.6 μ m) を用いて分析条件を確立した。移動相には 0.1%酢酸水溶液および 0.1%酢酸アセトニトリル溶液を採用した。

尿中 DNA/RNA 損傷体一斉分析法の開発 (令和 6 年度): 酸化・メチル化により生じる DNA/RNA 損傷体・修飾体 10 成分 (1-/3-メチルアデニン、1-/6-メチルアデノシン、6-O-/7-メチルグアニン、6-O-

7-メチルグアニン、8-OHdG、8-OHGuo) を対象とした。固相抽出 (ODS-AQ-HG) と LC/MS/MS (QTRAP5500) を用い、カラムには ACQUITY Premier T3 を採用した。

尿中ニコチン代謝物分析と曝露評価 (令和 7 年度):

Nicotine、(1'S,2'S)-Nicotine-1'-oxide、Cotinine、3-Hydroxycotinine およびそれらのグルクロン酸抱合体の計 7 成分の合計値を「総ニコチン代謝物 (TNM)」と定義した。事業所の健診受診者 892 名の尿試料を β -グルクロニダーゼ (500 U、6 時間) で酵素処理後、固相抽出 (ENVI-Carb) し、LC/MS/MS (Xevo TQ-S micro) と ACQUITY Premier BEH HILIC カラム (1.7 μ m, 2.1×100 mm) を用いて分析した。実測値に基づくカットオフ値を設定して喫煙状況を再分類し、製品別や受動喫煙状況による比較 (Kruskal-Wallis 検定および Dunn 検定) を行った。

2. 生体試料を用いた DNA 損傷・遺伝毒性評価系の開発

口腔内細胞等の非侵襲的試料を用いて DNA 損傷を簡便に評価する手法を開発した。

試料採取法と評価指標の選定 (令和 5 年度):

文献調査により、DNA 試料採取にはマウイディーエヌエーテクノロジーズ社の iSWAB DNA Collection Kit が適していると判断した。また、小核試験や DNA 付加体が有効な遺伝毒性指標であることを確認した。

小核試験法の確立 (令和 6 年度):

マウス正常肝臓由来細胞にメタンスルホン酸エチル (EMS) を 0、125、250 μ g/mL で 24 時間曝露し、ギムザ染色による小核出現頻度の計数方法を

確立した。迅速な計数に適した細胞数 (5×10^5 個以上) を検討・決定した。

DNA 損傷応答評価系の構築 (令和 7 年度) :

ヒト胎児腎細胞 (HEK293FT) およびマウス肝正常細胞に、EMS (直接変異原、2 mM) およびベンゾ[a]ピレン (B[a]P、間接変異原、Rat S9 mix 併用) を 24 時間曝露した。 γ -H2AX 蛍光免疫染色による DNA 二重鎖切断の可視化・定量化 (核あたりの平均 foci 数算出) と、ウェスタンブロッティングによる Phospho-ATR (Ser428) および Phospho-Chk1 (Ser345) 発現解析を行い、細胞内シグナル伝達の活性化を評価した。

3.3 歳児健康診査を活用した加熱式たばこによる受動喫煙調査

幼児をもつ家庭の受動喫煙実態を把握するため、3 歳児健診を活用した。

調査票の作成 (令和 5 年度) :

喫煙場所、製品に対する認識、住環境、車内喫煙ルール等を含む父母別の Web アンケート調査票を作成し、地域特性が異なる 3 自治体をリクルートした。

実地調査の展開 (令和 7 年度) :

山林地域の B 市 (縦横担当、対象 36 人) では、父母への Web アンケートを実施し、喫煙状況や家庭内ルールを集計した。都心に近い A 市 (大澤担当) では、Web アンケートに加え、1 世帯から父・母・児の尿試料の提供を受け、ニコチン代謝物 5 成分を測定し、自己申告と実測値の関連性を検討した。

4. 喫煙者への職域調査体制の確立 :

防衛医科大学校を中心に、職域の健康診断受検者を対象とした調査体制の構築と倫理審査を行った。紙巻たばこと加熱式たばこを区別して聴取するための臨床情報アンケート (1 日の平均使用量、使用期間、禁煙への関心度等を尋ねる全 8 問) を設計し、VOC 代謝物を中心としたバイオマーカーと臨床情報を統合解析する基盤を整備した。

C.研究成果

1. 尿中バイオマーカーの分析と曝露評価

VOC 代謝物分析法の改良 :

ACQUITY Premier T3 カラムの採用により、従来分離困難であったキシレン代謝物 (3MHA と 4MHA)、1,3-ブタジエン代謝物 (MHBMA2 と MHBMA3)、スチレン代謝物 (MA) および測定妨害成分の完全な分離が達成され、対象成分が 19 成分へ拡張された。

PAH 代謝物分析法の確立 : C8 カラムと酸性移動相 (アセトニトリル系) を組み合わせることで、OHPhen 類・OHChr 類の異性体を含む 13 成分の良好な分離と定量 ($r^2 \geq 0.99$) が可能となった。

DNA/RNA 損傷体分析法の開発 : T3 カラムの採用により、分子構造が類似する 1-メチルアデニンと 3-メチルアデニン、8-OHdG と 8-OHGuo の良好な分離を実現し、10 成分すべての同時分析が可能となった。

ニコチン曝露の客観的評価 :

健診受診者 892 名の尿分析において、自己申告の「非喫煙者・受動喫煙者」の中に喫煙者レベルのニコチン曝露を示す者が多数確認された。カットオフ値を用いて再分類した結果、集団の実際の喫煙率は自己申告の 16.4% から 26.7% へ大幅に上昇した。

製品別・受動喫煙の曝露量比較：

紙巻たばこ喫煙者 (TNM 中央値: 2,380 ng/mg Cr.) と加熱式たばこ喫煙者 (同: 2,333 ng/mg Cr.) の間で、TNM およびコチニン濃度のいずれにおいても統計学的に有意な差は認められなかった。加熱式装置別の比較では、TNM 中央値が IQOS (2,163) < glo (3,020) < Ploom (3,258) の順に有意に低く、各製品の主流煙ニコチン含有量 (IQOS 0.77 < Ploom 1.09 < glo 1.55 mg/stick) と直接的な相関が確認された。受動喫煙者間においても、紙巻たばこ (TNM 中央値 4.58) と加熱式たばこ (同 3.08) で有意差は認められなかった。

2. DNA 損傷・遺伝毒性評価系の確立

小核試験の確立：

EMS 曝露により小核出現頻度の有意な上昇が認められ、観察細胞数を 5×10^5 個以上とすることで迅速な計数が可能なシステムが構築された。

γ -H2AX foci の定量化：

EMS 曝露後の細胞において核内に明瞭な γ -H2AX foci が確認され、核あたりの平均 foci 数は、ヒト胎児腎細胞で対照群の 3 から 21 へ ($p < 0.001$)、マウス肝正常細胞で 3 から 12 へ ($p < 0.005$) といずれも有意に増加した。

シグナル伝達の活性化解析：

EMS および B[a]P の両方の曝露において、ウェスタンブロッティングにより Phospho-ATR (Ser428) および Phospho-Chk1 (Ser345) の発現が確認された。特に EMS 曝露下では Phospho-Chk1 のバンド強度が濃度依存的に増強し、細胞が DNA 損傷に対して鋭敏に応答していることが実証された。

3. 3 歳児健診を活用した受動喫煙調査

B 市の調査：

現在喫煙している父親は全員が紙巻たばこから加熱式たばこへ切り替えており、その理由として「ニオイが軽減されるから」が多く挙げられた。たばこ製品に対する認識では、父母ともに 7 割以上 (父親 72.7%、母親 76.5%) が「加熱式たばこは紙巻たばこに比べ害が少ない」と誤認していた。家庭内の主な喫煙場所は「玄関」や「換気扇の下」であったが、家庭内喫煙ルールについて「特にない」とする家庭が 30.8% 存在した。また、車内禁煙ルールを設けている家庭が多い一方で、「紙巻は不可だが加熱式なら車内で喫煙できる」とする父親が 27.3% 存在した。

A 市の調査：

対象となった父母全員がアンケートで「現在喫煙していない」と自己申告していた。しかし尿中バイオマーカー分析の結果、その中から「現在の喫煙者レベル」や「高濃度の受動喫煙」レベルのニコチン曝露を示すケースが確認され、自己申告による調査の限界が浮き彫りとなった。

D. 考察

本研究の最も重要な知見は、尿中総ニコチン代謝物 (TNM) を指標とした客観的分析により、加熱式たばこ使用者は紙巻たばこ使用者と同レベルのニコチン曝露を受けており、ニコチン依存リスクに差がないことが証明された点である。たばこ産業による「有害物質約 90% 削減」という宣伝は、特定の有害成分の「量」の比較に過ぎず、依存性物質であるニコチンは削減対象に含まれていない。製品間でニコチン曝露量に差 (IQOS < glo, Ploom) が見られたことは、主流煙のニコチン含有量が直接的に使用者の曝露量を決定づけている

ことを示唆している。

受動喫煙の曝露量においても、紙巻たばこと加熱式たばこ間に有意差は認められなかった。これは、近年の加熱式たばこの普及と加熱装置の性能向上に伴い、発生するエアロゾルによる受動喫煙が、紙巻たばこによる環境ばく露と同水準に達していることを示唆している。一方で、質問票調査の結果からは、喫煙者自身のみならず非喫煙者である同居家族においても、「加熱式たばこは害が少ない」という誤った安全認識が広範に定着していることが確認された。この認識の乖離が、「換気扇の下での喫煙」や「加熱式なら車内喫煙可」といった不十分なルールに繋がり、結果として非喫煙家族や小児へのニコチン曝露を継続させている可能性が極めて高い。

さらに、事業所健診や3歳児健診の調査において、自己申告による「非喫煙者」や「受動喫煙者」の中から、バイオマーカー実測値で喫煙者レベルの曝露を示す隠れ喫煙例が多数発見された。喫煙という社会的にネガティブな行動に対して事実を回答できない層が一定数存在することは、自己申告に依存した疫学調査や保健指導の限界を明確に示している。真の曝露実態や健康リスクの把握には、今回確立された尿中バイオマーカー一斉分析法や、カットオフ値を用いた客観的な再分類手法の導入が不可欠である。

並行して確立されたDNA損傷評価系(γ -H2AX fociの定量、Phospho-ATR/Chk1発現解析、小核試験)は、初期の遺伝毒性を多角的かつ客観的にスクリーニングするための極めて信頼性の高い基盤技術である。今後、これらの技術を口腔内細胞などの非侵襲的試料や、職域健診の大規模サンプル(約2,000検体)に適用することで、加熱式たばこによる潜在的な疾患発症リスクの早期発見や予測メカニズムの解明に大きく貢献すること

が期待される。

E. 結論

本総合研究により、以下の結論が得られた。

1. ニコチン曝露と依存リスクの同等性: 加熱式たばこは、能動喫煙および受動喫煙のいずれにおいても紙巻たばこと同レベルのニコチン曝露をもたらしており、依存リスクや健康影響を低減する安全な代替品ではない。
2. 客観的評価の絶対的必要性: 自己申告に基づく質問紙調査には過少申告が多数含まれるという限界が存在する。真の喫煙・受動喫煙実態を把握するには、尿中ニコチン代謝物(TNM)等のバイオマーカー測定に基づく客観的評価が必須である。
3. 認識の乖離と受動喫煙リスクの顕在化: 社会に蔓延する「加熱式たばこは害が少ない」という誤認が、家庭内や車内における甘い喫煙ルールを招き、小児を含む非喫煙家族への継続的な受動喫煙曝露を助長している。
4. 新規非侵襲的健康影響評価法の確立: VOC、PAH、DNA/RNA損傷体を網羅的に測定する尿中バイオマーカー一斉分析法、および γ -H2AXやPhospho-ATR/Chk1を指標とするDNA損傷応答評価系は、たばこによる生体影響を迅速かつ定量的に判定するための実用的なスクリーニング技術として機能する。
5. 今後の展望: 本研究で構築された評価手法を、自治体の禁煙支援事業や3歳児健診、職域健診等の保健指導の場へ還元する。客観的データに

に基づき、加熱式たばこの健康影響に対する正しい知識の啓発を行うとともに、科学的エビデンスに基づいた実効性のある受動喫煙防止対策の立案に貢献することが強く期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ishigamori R, Ohno A, Fukuhara K, Hasegawa S, Totsuka Y. Genotoxicity assessment of mesoporous silica and graphene oxide in GDL1 cells. Genes Environ. 2025;48(1):2.

2) 稲葉洋平. 「新しいタバコに関する知識とエビデンス」加熱式タバコの有害化学物質と健康への影響. 調剤と情報 2024;30:1588-1594.

3) 稲葉洋平. 国際保健の視点から見たたばこ対策. 特集 公衆衛生における国際保健. 公衆衛生 2026;90(2):143-152.

4) 日本禁煙学会編. はじめよう！薬剤師のための禁煙支援ガイド 稲葉洋平. 第2章 禁煙支援をはじめめる前に 1.タバコ製品について知る p28-41. 2023. 南山堂.

残りは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

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

令和 5 ～ 7 年度厚生労働科学研究費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
分担研究報告書

尿中曝露・影響バイオマーカーを用いた加熱式たばこ使用者のニコチン曝露評価に関する研究

研究分担者	稲葉 洋平	国立保健医療科学院
研究分担者	大澤 絵里	国立保健医療科学院
研究分担者	瀬瀬 朋弥	岐阜大学
研究分担者	溝上 哲也	国立危機管理研究機構
研究分担者	牛山 明	国立保健医療科学院
研究協力者	秋本 紗希	東京薬科大学
研究協力者	中野 凌介	東京薬科大学
研究協力者	伊原 圭祐	東京薬科大学
研究協力者	岡野 有紗	明治薬科大学

研究要旨

本研究は、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を客観的に評価することを目的に、生体試料（尿）中のたばこ由来有害化学物質代謝物（曝露マーカー）および酸化・メチル化に伴う影響マーカーの一斉分析法を開発し、実検体への適用による曝露評価を行ったものである。

令和 5 年度には、揮発性有機化合物（VOC）代謝物 19 成分の分析法を改良するとともに、多環芳香族炭化水素（PAH）代謝物 15 成分の一斉分析法を新たに確立した。分析カラムおよび移動相の最適化により、従来分離が困難であった異性体（3MHA と 4MHA、MHBMA 類、OHPhE 類、OHChr 類など）および測定妨害成分の分離と高感度化を達成した。

令和 6 年度には、DNA/RNA 損傷体・修飾体 10 成分の一斉分析法を開発した。従来この分野で多用されてきた HILIC カラムに代えて ACQUITY Premier T3 カラムを採用することで、分子構造が類似する 1-Mad と 3-Mad、8-OHdG と 8-OHGuo の良好な分離を実現した。あわせて職域における尿試料のリクルートを進め、令和 7 年度分を含め約 2,000 検体を収集した。

令和 7 年度には、整備した分析法を用いて、事業所健康診断受診者 892 名の尿中ニコチン代謝物 7 成分（総ニコチン代謝物：TNM）を測定し、加熱式・紙巻たばこ使用者および受動喫煙者の曝露量を比較した。その結果、紙巻たばこ喫煙者と加熱式たばこ喫煙者の間に TNM の有意差は認められず（中央値：紙巻 2,380、加熱式 2,333 ng/mg creatinine）、加熱式たばこも紙巻たばこと同程度のニコチン曝露・依存リスクを有することが示唆された。受動喫煙者間でも紙巻・加熱式間に有意差は認められなかった。

以上、本 3 か年で整備したバイオマーカー一斉分析基盤と、それを用いた曝露評価の知見は、たばこ製品の健康影響に関する客観的・非侵襲的な評価に資するものである。

A. 研究目的

たばこ煙には 5,300 種類以上の化学物質が含まれ、

IARC の発がん性リスク一覧のグループ 1 に分類される 1,3-ブタジエン、NNK、NNN、ベンゾ[a]ピ

レンなどの発がん性物質や、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、アクリルアミド、アクリロニトリルなどの揮発性有機化合物が確認されている。これら有害化学物質の複合曝露により、がん、動脈硬化、呼吸器疾患などの健康影響リスクが増大する。

2014 年の IQOS 発売以降、加熱式たばこが急速に普及し、令和 6 年国民健康・栄養調査では喫煙者の約 4 割が加熱式たばこを使用している。加熱式たばこは燃焼を伴わないため主流煙（エアロゾル）中の有害化学物質が紙巻たばこと比較して大幅に削減されるとされる一方、実際の曝露実態や健康影響については不明な点が多い。とりわけ、依存性物質であるニコチンへの曝露実態や、酸化・メチル化による遺伝情報分子（DNA/RNA）の損傷などの生体影響は十分に解明されていない。

そこで本研究では、喫煙者・受動喫煙者・非喫煙者の健康影響を客観的に評価することを目的に、尿中に含まれるたばこ由来有害化学物質の代謝物（曝露マーカー）および影響マーカーを高感度・高精度に測定する一斉分析法を開発し、実検体に適用してたばこ製品別の曝露評価を行うこととした。3 か年の研究分担では、(1) VOC 代謝物、(2) PAH 代謝物、(3) DNA/RNA 損傷体・修飾体、(4) ニコチン代謝物の各分析法を順次整備し、最終的にこれらを用いた曝露評価へと展開した。本 3 か年で整備した分析法の概要を Table 1 に示す。

B. 研究方法

B-1. 尿中 VOC 代謝物一斉分析法の改良（令和 5 年度）

アクロレイン、クロトンアルデヒド、アクリルアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、スチレン、アクリロニトリル、プロピレンオキシド、1,3-ブタジエン、エチルベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン等の曝露を反映する VOC 代謝物 19 成分を対象とした。固相抽出には MonoSpin C18-CX（GL サイエンス社製）を用い、

分析には高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS/MS；QTRAP5500、SCIEX 社製）を使用した。従来法では測定対象成分と測定妨害成分の分離が困難な尿試料が認められたため、分析カラムを Waters 社製 ACQUITY Premier T3（1.8 μ m, 2.1×150 mm）に変更し、分離条件の最適化を行った。

B-2. 尿中 PAH 代謝物一斉分析法の確立（令和 5 年度）

ナフタレン、フルオレン、フェナンスレン、ピレン、クリセン、ベンゾ[a]アントラセンの一水酸化代謝物（OH-PAHs）15 成分を対象とした。尿試料 2 mL に 100 mM クエン酸緩衝液（pH4.5）と β -グルクロニダーゼを加えて 37℃で 24 時間酵素処理した後、ヘキサンおよびジクロロメタン：ヘキサン（1:9, v/v）による液-液抽出を行い、窒素気流下で乾固・再溶解して前処理試料とした。LC/MS/MS には Triple Quad 5500+システム（SCIEX 社製）を用い、分析カラムには CORTECS UPLC C8（100 mm×2.1 mm, 1.6 μ m, Waters 社製）、移動相には 0.1%酢酸水溶液および 0.1%酢酸アセトニトリル溶液を採用した。喫煙者標準尿 3 種を用いて同時再現性実験（n=5）を行った。

B-3. 尿中 DNA/RNA 損傷体一斉分析法の開発（令和 6 年度）

酸化・メチル化により生じる DNA/RNA 損傷体・修飾体 10 成分（1-/3-メチルアデニン、1-/6-メチルアデノシン、6-0-/7-メチルグアニン、6-0-/7-メチルグアノシン、8-OHdG、8-OHGuo）を対象とした。固相抽出には ODS-AQ-HG（YMC 社製）を用い、LC/MS/MS（QTRAP5500、SCIEX 社製）で分析した。HILIC および C18 カラムを比較検討のうえ、生体試料での成分分離に効果が確認された ACQUITY Premier T3（1.8 μ m, 2.1×150 mm, Waters 社製）を採用した。

B-4. 尿中ニコチン代謝物分析と曝露評価（令和7年度）

Nicotine、(1'S,2'S)-Nicotine-1'-oxide、Cotinine、3-Hydroxycotinine およびそれらのグルクロン酸抱合体の計7成分を対象とし、その合計値を総ニコチン代謝物（Total Nicotine Metabolites：TNM）と定義した。グルクロン酸抱合体は酵素処理により抱合前物質へ変換し、Nicotine 等4成分として定量した。事業所健康診断受診者892名（自己申告：喫煙者146名、受動喫煙者79名、非喫煙者667名）から文書同意を得て尿試料の提供を受けた。希釈尿（喫煙者100倍、受動喫煙者・非喫煙者2倍）に酢酸緩衝液（pH4.5）と β -グルクロニダーゼ（500 U）を加えて37℃で6時間酵素処理し、内部標準物質を添加後、ENVI-Carb（Supelco 社製）で固相抽出した。分析にはLC/MS/MS（Waters 製 Xevo TQ-S micro、分析カラム：ACQUITY Premier BEH HILIC、1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm）を用い、creatinine 補正値を群間比較に供した。自己申告と実測値の乖離が多数認められたため、尿中Nicotine およびCotinine 濃度に基づくカットオフ値（喫煙者への再分類：Nicotine $\geq$ 36.8 ng/mg Cr. またはCotinine $\geq$ 36.8 ng/mg Cr. 等）で喫煙状況を再分類したうえで解析した。統計解析にはノンパラメトリックなKruskal-Wallis 検定を用い、有意であった場合に多重比較としてDunn 検定（Bonferroni 補正）を行い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意と判定した。本研究は国立健康危機管理研究機構の倫理審査委員会の承認（承認番号：JIHS-S-001140-27）を得て実施した多機関共同研究である。。

C. 結果及び考察

C-1. VOC 代謝物分析法の改良

分析カラムをACQUITY Premier T3に変更したことで、従来分離が困難であったキシレン代謝物の3MHA と4MHA、1,3-ブタジエン代謝物の

MHBMA2 とMHBMA3、ならびにスチレン代謝物のMA と測定妨害成分の分離が達成された。他の測定対象物質ピーク付近に現れる妨害成分ピークとの見分けも明確になり、精度の高い分析が可能となった。検量線についても低濃度領域での定量が可能となり、多くの成分で定量下限値が低減して高感度化が達成され、分析対象を従来の17成分から19成分へ拡張した。なお、ピークが重なっていた3MHA と4MHA については、尿試料中では3MHA の濃度が高い傾向にあることが示された。

C-2. PAH 代謝物分析法の確立

異性体を含む15種類のPAH 代謝物について、C18 カラムでは異性体の選択的分離が得られなかったが、PAH 代謝物との結合力が弱いC8 カラム（Waters 社製）を用いることで異性体の分離が確認された。移動相についても、MeOH 系（中性条件）ではOHPhE 類・OHChr 類の異性体分離が困難であったのに対し、ACN 系（0.1%酢酸/0.1%酢酸ACN、酸性条件）でOH-PAHs 成分の良好な分離が得られた。2-OHFlu と3-OHFlu を除く13成分の分離が可能であり、全分析対象物が定量範囲において $r^2 \geq 0.99$ の良好な直線性を示した。喫煙者標準尿3種による同時再現性実験では、1-/2-OHNap、OHFlu 類、1-/2-/3-/4-/9-OHPhE、1-OHPyr のCVは概ね0.70~10.6%と良好であった。一方、尿中含有濃度が低い1-/2-/3-/4-OHChr および3-OHB[a]A のCVは最大47.7%とばらつきが大きく、含有濃度が低い成分ほど変動が大きくなる傾向が認められた。加熱式たばこ喫煙者は主流煙PAH の発生量が少なく曝露量も少ないと予想されるが、日本人喫煙者のPAH 曝露量の報告は依然として少ない状況である。

C-3. DNA/RNA 損傷体分析法の開発

先行研究ではHILIC カラムによる分析報告が多い傾向にあるが、本研究ではACQUITY Premier T3 カラムを採用した。喫煙者尿のクロマトグラムに

において、分子構造が近い 1-Mad と 3-Mad、8-OHdG と 8-OHGuo の良好な分離が得られ、ピーク付近の妨害成分との識別も明確となり、10 成分すべての同時分析が可能となった。検量線は低濃度領域での高精度分析が可能で、尿試料中の含有量に対応した適切な定量範囲を確立した（尿試料の定量範囲が LC/MS/MS 検量線範囲より拡大しているのは、前処理で尿試料を 5 倍希釈することによる）。

C-4. ニコチン代謝物による曝露評価

(1) カットオフ値による再分類：自己申告の受動喫煙者・非喫煙者の中に、喫煙者に匹敵する曝露量を示す例が多数認められた。これを自己申告の不正確さに起因すると考え、尿中 Nicotine/Cotinine 濃度に基づくカットオフ値で再分類した結果、喫煙率は自己申告の 16.4%から 26.7%へ変化した。再分類後、喫煙者・受動喫煙者・非喫煙者の各群間で TNM 中央値（それぞれ 1,982/4.50/2.04 ng/mg creatinine）に有意差が認められた。

(2) 喫煙者間の比較：紙巻たばこと加熱式たばこの喫煙者間で、TNM（中央値：紙巻 2,380、加熱式 2,333 ng/mg creatinine）および Cotinine（紙巻 550、加熱式 571）のいずれにも有意差は認められなかった。加熱式たばこにおいても紙巻たばこと同程度のニコチン曝露が生じており、同等の依存リスクを有することが示唆された。加熱装置別では、IQOS（中央値 2,163）が Ploom（3,258）および glo（3,020）と比較して有意に低値であった。主流煙中ニコチン量も全群間で有意差が認められ（glo 1.55>Ploom 1.09>IQOS 0.77 mg/stick）、主流煙中ニコチン含有量と喫煙者の実曝露量が相関する可能性が示された。

(3) 受動喫煙者間の比較：紙巻たばこ（中央値 4.58）と加熱式たばこ（3.08）の受動喫煙者間に有意差は認められなかった。「紙巻たばこの曝露量が高い」とする一部の先行研究とは異なる結果であるが、加熱式たばこの普及や加熱装置の性能向上に

伴い、受動喫煙による曝露量が紙巻と同程度まで達している現状を反映している可能性がある。主な結果を Table 2 に示す。

以上の考察として、加熱式たばこは「有害化学物質約 90%削減」と訴求されてきたが、この削減は WHO が指定する一部の有害成分の『量』の比較であり、依存性物質であるニコチンは削減対象に含まれていない。本研究の実測結果は、加熱式たばこが紙巻たばこと同程度のニコチン曝露・依存リスクを有することを示しており、「害が少ない」という認識には注意を要する。また、自己申告では非喫煙者・受動喫煙者とされた者でも実測値では喫煙者に匹敵する曝露を示す例が多く、自己申告に依存しない客観的指標に基づく曝露評価の重要性が改めて示された。なお、職域での尿試料収集は順調に進行し、令和 7 年度（2025 年度）分を含め約 2,000 検体に達している。

D. 結論

本 3 か年の研究分担では、喫煙者・受動喫煙者の健康影響評価のための尿中バイオマーカー一斉分析法を体系的に整備した。すなわち、(1) VOC 代謝物 19 成分の分析法を改良し、(2) PAH 代謝物 15 成分の一斉分析法を確立し、(3) DNA/RNA 損傷体・修飾体 10 成分の一斉分析法を開発した。いずれも分析カラム・移動相・前処理条件の最適化により、従来分離が困難であった異性体や妨害成分の分離と、高感度・高精度化を達成した。最終年度には、整備した分析法を用いて事業所健康診断受診者 892 名の尿中ニコチン代謝物を測定し、総ニコチン代謝物（TNM）を指標とした曝露評価を行った。その結果、喫煙者間・受動喫煙者間のいずれにおいても、紙巻たばこと加熱式たばこの間に有意な曝露量差は認められず、加熱式たばこは紙巻たばこと同程度のニコチン曝露・依存リスクを有すると考えられた。これらの成果は、たばこ製品の健康影響に関する客観的・非侵襲的な評価手法の実用化に資するものである。今後は、確立した分析基盤を活用し、

DNA/RNA 損傷体や 8-isoprostane を影響マーカーとした健康診断結果との関連性解析を進めるとともに、自己申告に依存しない客観的分類に基づく、より多角的な有害物質曝露および生体影響の評価を進める計画である。

E. 研究発表

【令和 5 年度】

1. 学会発表

- 1) 稲葉洋平. セッション 2「加熱式タバコについて考える」加熱式タバコのエアロゾル成分解析からみえる長期的健康被害とは? 第 5 回禁煙推進学術ネットワーク学術会議(WEB 開催). 2023.10.1 ; 東京. Web 要旨集.
- 2) 稲葉洋平、戸次加奈江、内山茂久、牛山明. 電子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 82 回日本公衆衛生学会総会. 2023.10.31-11.2 ; つくば. 同抄録集 p405.
- 3) 稲葉洋平. JSMO2024 禁煙推進セッション 加熱式タバコのエアロゾル成分解析. 第 21 回日本臨床腫瘍学会学術集会 (JSMO2024). 2024.2.22-2.24 ; 名古屋. Web 講演集.
- 4) 稲葉洋平、内山茂久、大森久光、緒方裕光、牛山明. 喫煙者の尿中揮発性有機化合物の代謝物とニコチン代謝物との関連性. 日本分析化学会第 72 年会. 2023.9.13-15 ; 熊本. 同講演要旨集 2P-027.
- 5) 稲葉洋平、大和浩、大森久光、中田光紀、緒方裕光、牛山明. 加熱式たばこ喫煙者の尿中揮発性有機化合物の代謝物分析. 第 94 回日本衛生学会学術総会. 2024.3.7-3.9 ; 同講演集 S267.

2. 書籍

- 1) 日本禁煙学会編. はじめよう! 薬剤師のための禁煙支援ガイド 稲葉洋平. 第 2 章 禁煙支援

をはじめめる前に 1. タバコ製品について知る p28-41. 2023. 南山堂.

【令和 6 年度】

1. 論文発表

- 1) 稲葉洋平. 「新しいタバコに関する知識とエビデンス」加熱式タバコの有害化学物質と健康への影響. 調剤と情報 2024;30:1588-1594.

2. 学会発表

- 1) 内山茂久、稲葉洋平、磯部友彦、中山祥嗣. trans-1,2-ビス(2-ピリジル)エチレンと 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを用いる空気中二酸化窒素・オゾン・カルボニル化合物の同時分析. 第 3 回環境化学物質合同大会. 広島. 2024.7.3-5; 同 Web 抄録集.
- 2) 齋藤みのり、内山茂久、稲葉洋平、小倉裕直、牛山明、林基哉. 夏期と冬期における室内空気中ガス状化学物質の動態. 第 3 回環境化学物質合同大会. 広島. 2024.7.3-5 ; 同 Web 抄録集.
- 3) 稲葉洋平、磯部秀太、飯島健太郎、楠瀬翔一、戸次加奈江、内山茂久、牛山明. 加熱式たばこ IQOS 互換機から発生する主流煙芳香族アミン類の分析. 日本分析化学会第 73 年会. 名古屋. 2024.9.11-13 ; 同講演要旨集 P3121.
- 4) 内山茂久、稲葉洋平、牛山明. 電子タバコから発生する熱分解物質 (アルデヒド類) の発生メカニズム. 第 83 回日本公衆衛生学会総会. 札幌. 2024.10.29-31 ; 同講演抄録集 p608.
- 5) 稲葉洋平、戸次加奈江、内山茂久、牛山明. 加熱式たばこ主流煙に含まれるアクリルアミドの実態調査. 第 61 回全国衛生科学技術協議会年会. 大阪. 2024.11.21-22 ; 同講演集 p194-195.
- 6) 内山茂久、高口倖暉、江口哲史、稲葉洋平、磯部友彦、中山祥嗣. BPE/DNPH 含浸シリカゲル

を用いる空气中二酸化窒素・オゾン・カルボニル化合物の同時分析. 2024 年室内環境学会学術大会. 札幌. 2024.11.30-12.1 ; 同講演要旨集 p115-116.

7) 齋藤みのり、内山茂久、稲葉洋平、金勲、小倉裕直、牛山明、林基哉. 拡散サンプラーによる仮設住宅と一般住宅におけるガス状化学物質のモニタリング. 2024 年室内環境学会学術大会. 札幌. 2024.11.30-12.1 ; 同講演要旨集 p121-122.

8) 稲葉洋平、戸次加奈江、内山茂久、牛山明. 紙巻たばこ・加熱式たばこ主流煙に含まれるアクリルアミドの分析と比較. 2024 年室内環境学会学術大会. 札幌. 2024.11.30-12.1 ; 同講演要旨集 p243-244.

9) 稲葉洋平. シンポジウム 8「メディカルスタッフが知っておきたい禁煙支援と加熱式タバコや電子タバコの有害性」日本の加熱式タバコと電子タバコの有害成分と喫煙者への曝露成分の実態調査. 第 54 回日本口腔インプラント学会学術大会. 京都. 2024.11.1-3. Web 講演集.

10) 稲葉洋平. 「セッション 1 加熱式たばこは生活習慣病のリスクを上げるか？」加熱式タバコそのものの有害性 (成分分析と曝露評価). 第 6 回禁煙推進学術ネットワーク学術会議. 東京. 2024.11.16 ; 同抄録集 p6.

11) 稲葉洋平、戸次加奈江、楠瀬翔一、内山茂久、牛山明. 加熱式たばこ主流煙の分析—有害化学物質 90%削減は本当なのか?— 第 95 回日本衛生学会学術総会. 埼玉. 2025.3.19-21 ; 同講演要旨集 S213.

12) 稲葉洋平. シンポジウム「販売開始から 10 年経過した加熱式たばこの実態から禁煙支援を考える」加熱式たばこは本当に有害性が低減されているのか? 第 34 回日本禁煙推進医師歯科医

師連盟学術総会. 埼玉. 2025.3.1-2 ; 同講演抄録集 P14.

13) 稲葉洋平、内山茂久、戸次加奈江、楠瀬翔一、牛山明. 国内販売の加熱式たばこ 50 銘柄の主流煙成分の比較による加熱式たばこの評価. 日本薬学会第 145 年会. 福岡. 2025.3.26-29 ; 同講演要旨集 P2258.

14) 多良春希、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ハイドロキノロン類とベンゾキノロン類の濃度比較. 日本薬学会第 145 年会. 福岡. 2025.3.26-29 ; 同講演要旨集 P4283.

【令和 7 年度】

1. 論文発表

1) 稲葉洋平. 国際保健の視点から見たたばこ対策. 特集 公衆衛生における国際保健. 公衆衛生 2026;90(2):143-152.

2. 学会発表

1) 稲葉洋平、伊原圭祐、内山茂久、牛山明. 尿中 DNA/RNA 損傷体の分析法の確立. 日本分析化学会第 74 年会. 北海道. 2025.9.24-26. Web 要旨集.

2) 稲葉洋平、内山茂久、戸次加奈江、楠瀬翔一、牛山明. 加熱式たばこはニコチン依存性が低いのか? たばこ葉から主流煙への移行率からの評価. 第 84 回日本公衆衛生学会総会. 静岡. 2025.10.29-31. 講演集 p585.

3) 稲葉洋平、大和浩、緒方裕光、楠瀬翔一、戸次加奈江、牛山明. 「有害物質 90%削減」とニコチン依存の乖離—加熱式たばこ主流煙ニコチン量と喫煙者曝露の実測評価— 第 35 回日本禁煙推進医師歯科医師連盟学術総会. 沖縄. 2026.2.14-15 ; 同抄録集 P24.

4) 稲葉洋平、大和浩、大森久光、中田光紀、緒方裕光、牛山明. 尿中ニコチン・VOC 代謝物による製品別曝露評価. 第 96 回日本衛生学会学術総会. 栃木. 2026.3.20-21 ; 同講演集 S224.

5) 岡野有紗、稲葉洋平、三宅遥、溝上哲也、牛山明. 加熱式・紙巻たばこによるニコチン曝露の比較: 尿中ニコチン代謝物 7 成分を用いた評価. 日本薬学会第 146 年会. 大阪. 2026.3.27-29. Web 講演集.

6) 伊原圭祐、稲葉洋平、戸張裕子、三宅遥、溝上哲也、堀祐輔、牛山明. メチル化・酸化ストレス損傷体を用いた喫煙関連リスク評価: 尿中バイオマーカー測定法の検討. 日本薬学会第 146 年会. 大阪. 2026.3.27-29. Web 講演集.

7) 稲葉洋平. 成分分析から考える加熱式タバコ一見かけの低減と依存の継続. 薬剤師委員会セッション「新型タバコと禁煙支援～薬剤師の視点で考える～」第 19 回日本禁煙学会学術総会. 大宮. 2025.11.29-30. PDF 抄録集 p52.

F. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

Table 1 本研究で開発・改良した尿中バイオマーカー一斉分析法の概要

年度	対象バイオマーカー	成分数	分析カラム	主な成果
令和 5	揮発性有機化合物 (VOC) 代謝物	19	ACQUITY Premier T3	3MHA/4MHA・MHBMA 類の分離、高感度化 (分析法の改良)
令和 5	多環芳香族炭化水素 (PAH) 代謝物 (OH-PAHs)	15	CORTECS UPLC C8	C8 カラム+ACN 系移動相で異性体分離を達成 (分析法の確立)
令和 6	DNA/RNA 損傷体・修飾体	10	ACQUITY Premier T3	HILIC に代え T3 で 1-Mad/3-Mad・8-OHdG/8-OHGuo を分離 (分析法の開発)
令和 7	ニコチン代謝物 (TNM)	7	ACQUITY Premier BEH HILIC	892 名の曝露評価に適用 (分析法の適用・曝露評価)

Table 2 尿中ニコチン代謝物による群別曝露評価の主な結果 (中央値)

比較区分	区分	TNM 中央値 (ng/mg creatinine)
喫煙状況 (再分類後)	喫煙者	1,982
	受動喫煙者	4.50
	非喫煙者	2.04
喫煙者の使用たばこ	紙巻たばこ	2,380
	加熱式たばこ	2,333
加熱装置別 (加熱式)	IQOS	2,163
	Ploom	3,258
	glo	3,020
受動喫煙者の曝露源	紙巻たばこ	4.58
	加熱式たばこ	3.08

※カットオフ値による再分類後の解析結果。喫煙者・受動喫煙者・非喫煙者間にはいずれも有意差 (p<0.05) が認められた。

令和 5 ～ 7 年度厚生労働科学研究費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
分担研究報告書

3 歳児健康診査を活用した加熱式たばこによる家族の受動喫煙に関する調査

研究分担者 瀬瀬 朋弥 岐阜大学医学部
研究分担者 大澤 絵里 国立保健医療科学院
研究分担者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院

研究要旨

本研究は、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者（特に幼児）の健康影響を評価することを目的に、自治体を実施する 3 歳児健康診査を活用して、健診対象児とその家族を対象に、喫煙歴・たばこ製品・喫煙場所・喫煙に対する認識・住環境・自家用車の保有等に関する Web アンケート調査と尿中バイオマーカー測定を行い、両者の関連性を検討するものである。

令和 5 年度（初年度）には、調査に用いるアンケート調査票を作成した。先行研究より、加熱式たばこの受動喫煙は喫煙者が受動喫煙者の近くで喫煙することにより生じるとの仮説に基づき、喫煙場所・周囲への健康影響の認識・住環境・自家用車の保有等の項目を含む、父母別の調査票 2 種類を作成した。あわせて、人口規模や住環境・喫煙率の異なる 3 自治体（人口 8.5 万人・3.5 万人・11 万人）をリクルートした。

令和 7 年度には、地域特性の異なる 2 つの自治体において、2 名の研究分担者がそれぞれ 3 歳児健診を活用した調査を実施した。B 市（人口約 3.7 万人、市域の約 9 割が山林：瀬瀬担当）では、父母への Web アンケートを実施した。その結果、現在喫煙する父親は全員が紙巻たばこから加熱式たばこへ切り替えており、父母ともに「加熱式たばこは紙巻たばこより害が少ない」と認識する者が 7 割を超えた。家庭内の主な喫煙場所は「玄関」「換気扇の下」であった。一方、都心に近い A 市（大澤担当）では、Web アンケートに加え、父・母・児の尿試料の提供を受け、ニコチン、ニコチン 1'-N-オキシド、コチニン、3-ヒドロキシコチニン、総ニコチン代謝物の 5 成分を測定した。その結果、現在喫煙していないと回答した者の中に喫煙者レベルまたは高濃度受動喫煙レベルの値を示す者が認められ、自己申告による喫煙状況把握の限界が示された。

本調査により、地域特性の異なる自治体において、3 歳児健診を活用した枠組みで、子育て家庭における加熱式たばこ使用者の認識や家庭内・車内での喫煙状況など、受動喫煙曝露の実態を把握できる可能性が示された。今後は対象自治体・対象者数を拡大し、地域差を考慮した比較分析とバイオマーカー結果との統合により、加熱式たばこによる受動喫煙の健康影響を検討していく。

A. 研究目的

本研究は、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的とし、特に幼児をもつ家庭における受動喫煙（特に児）の実態を、自記式質問調査による住環境・日常生活行動の情報

と、尿中バイオマーカーにより評価することを目的とする。

我が国では改正健康増進法により受動喫煙対策が強化されたが、家庭での受動喫煙防止への取り組みは十分とは言えない。子育て世代である 20～

30 歳代男性の加熱式たばこ使用率は 50%を超えており、子どもが最も長い時間を過ごす家庭での受動喫煙防止は重要な課題である。そこで本研究では、地域特性が異なる自治体で実施される 3 歳児健康診査を活用し、健診対象児（受動喫煙者）とその家族（非喫煙者家族・喫煙者）を対象に、Web アンケート調査と尿中バイオマーカー測定を行い、両者の関連性を検討することとした。本研究分担では、初年度に調査票の作成（令和 5 年度）を行い、令和 7 年度に 2 名の研究分担者がそれぞれ異なる自治体で調査を実施した。本研究の概要を Table 1 に示す。

B. 研究方法

B-1. 調査票の作成（令和 5 年度）

3 歳児健康診査対象児の家族に実施する、父母別々の調査票 2 種類（母親用・父親用）を作成した。先行研究において、加熱式たばこの受動喫煙が生じる要因は喫煙者が受動喫煙者の近くで喫煙することにあるとの仮説を立て、喫煙者の喫煙場所、加熱式たばこ使用による周囲への健康影響の認識、住環境、自家用車の保有等の項目を含めた。喫煙状況により「紙巻きたばこ使用者」「加熱式たばこ使用者」「紙巻きたばこと加熱式たばこ併用者」「非喫煙者」の 4 群に分類し、基本属性・喫煙状況・加熱式たばこに関する認識・使用理由・受動喫煙の状況を比較検討する設計とした。あわせて、人口・住環境・世帯構成・喫煙率の異なる 3 自治体（人口 8.5 万人・3.5 万人・11 万人）をリクルートした。主な調査項目は、基本属性（年齢、子どもの数、最終学歴、家族構成、自家用車の保有、住環境）、身体状況（身長・体重・BMI）、生活習慣（食生活、運動、睡眠）、喫煙状況・喫煙行動、加熱式たばこに関する認識、加熱式たばこ使用者の使用理由、受動喫煙の状況、子育てについて、子どもの健康状況（気管支喘息の有無）である。加熱式たばこに関する認識および使用理

由の項目は、日本における社会と新型タバコに関するインターネット調査研究プロジェクト

（JASTIS 研究）で使用された項目を採用した。なお、たばこの曝露マーカーは揚げ物の摂取により変動することから、食生活の項目に揚げ物の頻度を含めた。

B-2. B 市における調査の実施（令和 7 年度・継続）

令和 7 年 11 月～令和 8 年 1 月の期間に、B 市で実施された 3 歳児健診の対象児 36 人の家族（父母）に研究協力を募集し、同意の得られた者を対象とした。対象者には QR コードを記載した募集文書と研究参加キット（尿サンプル回収キット）を B 市を通じて郵送し、QR コードから研究説明書を確認・同意取得のうえ Web アンケートに回答してもらった。尿サンプルは健診当日に回収した。アンケートと尿試料は家族単位で解析するため、同一番号・記号を付与して実施した。調査内容は、対象者全員に基本属性・喫煙状況・喫煙行動・喫煙歴・加熱式たばこに関する認識・受動喫煙状況・家庭/職場での喫煙ルール・自家用車内での喫煙状況・子育て等を尋ね、喫煙者・過去喫煙者には追加項目を設けた。各項目は父母別に単純集計した。

B-3. A 市における調査の実施（令和 7 年度・大澤）

2025 年 12 月～2026 年 3 月の期間に、A 市で実施された 3 歳児健診（月 1 回・計 4 回、各回約 50～60 人が受診）においてリクルートを行い、研究参加に同意した者に Web アンケートへの回答と尿試料の提供を受けた。尿試料は 1 世帯から父・母・児（当該健診対象）の 3 名分を提出とし、喫煙の指標としてニコチン、ニコチン 1'-N-オキシド、コチニン、3-ヒドロキシコチニン、総ニコチン代謝物の 5 成分を測定した。分析は、喫煙家族・非喫煙家族に階層化して父・

母・児の尿中バイオマーカー値や生活習慣・喫煙・子育てについて単純集計した。なお、本研究は国立保健医療科学院研究倫理審査委員会の審査・承認を得て実施した（IBRA#12381）。

C. 結果及び考察

C-1. 調査票の作成（令和 5 年度）

各調査対象者用に、母親用・父親用の 2 種類の調査票を作成した。父母に共通する子どもの数・家族構成・住環境については母親のみの調査項目とした。住環境については、持ち家か賃貸・社宅かの違いが喫煙場所や喫煙行動に影響すると考え項目に含めた。子どもの健康状況については、先行研究で受動喫煙と小児喘息の関連が報告されていることから、気管支喘息の有無を採用した。人口構成・家族構成・住環境等の地域特性が異なる 3 自治体での調査を想定し、地域特性を考慮した調査票を作成することができたと考える。

C-2. B 市における調査結果（令和 7 年度・瀬瀬）

（回答状況）アンケートの回答は、父親 11 人（回答率 32.4%）、母親 18 人（50.0%）、父母ペアでの回答は 9 ペア（26.5%）であった。尿試料の提出は、子ども 14 人、父親 10 人、母親 16 人であった。

（基本属性）年齢は父親 37.9 ± 5.8 歳、母親 34.6 ± 4.5 歳であった。世帯構成は核家族世帯が 60.0%、3・4 世代同居世帯が 40.0%で、住居形態は一戸建て（持ち家）が 95.0%と最も多かった。

（喫煙状況・加熱式タバコ）現在喫煙する父親はいずれも 20 歳以下で紙巻きたばこを吸い始め、その後全員が加熱式タバコへ切り替えていた。加熱式タバコを使用した理由（複数回答）は「友人・知人が吸っている（いた）から」「ニオイが軽減されるから」が最も多かった。家庭内での主な喫煙場所は「玄関」、次いで「換気扇の下」であった。母親では過去喫煙者が 1 人で、現在喫煙している者はいなかった。

（加熱式タバコに関する認識）父母ともに「加熱

式タバコは紙巻きたばこに比べ害が少ない」と回答した者が最も多く、父親 72.7%、母親 76.5%であった。

（受動喫煙状況）「この 1 ヶ月間に日常的に受動喫煙の機会があった」と回答した者は父親 11.4%、母親 33.3%で、母親の主な受動喫煙場所は「家庭」であった。同居家族に喫煙者がいる父母 13 人のうち、「紙巻きたばこも加熱式タバコも自宅内で吸えない」が 53.8%、「特にルールはない」が 30.8%であった。回答者は全員が自家用車を保有しており、車内の喫煙ルールは「紙巻きも加熱式も車内で喫煙できない」が最も多かった（父親 63.6%、母親 66.7%）。主な結果を Table 2 に示す。

C-3. A 市における調査結果（令和 7 年度・大澤）

（回答状況・喫煙状況）Web アンケートには 12 世帯 23 名（父親 11 人、母親 12 人）が回答し、尿試料は父・母・児あわせて提出を受けた。回答した父母は、いずれも現在喫煙していないとの回答であった（以前喫煙ありは父親 5 人・母親 1 人、もともと吸わないは父親 6 人・母親 11 人）。

（タバコ製品に関する認識）紙巻タバコに対する認識として、本人が肺がんになる可能性 82.6%、受動喫煙で肺がんになる可能性 73.9%、受動喫煙で乳幼児突然死症候群になる可能性 56.5%等の回答が得られた。一方、加熱式タバコについては「本人への害がほとんどない」と認識する者はいなかったものの、「紙巻タバコに比べ害が少ない」が 65.2%、「他の人へ害を及ぼさない」が 17.4%であった。

（尿中バイオマーカーと自己申告の整合性）父・母・児の尿中バイオマーカーを測定した結果、現在喫煙していないと回答したにもかかわらず、1 名が喫煙者レベルのニコチン曝露量、1 名が時々喫煙者もしくは高濃度の受動喫煙者レベルの値を示した。これは、喫煙という社会的にネガティブな行動に対して正直に回答できない者が一定程度存在することを示唆し、喫煙に関する自記式質問調査の正確性の限界を示すものである。

D. 考察

B 市の調査では、現在喫煙する父親が全員紙巻たばこから加熱式たばこに切り替えており、その理由として「ニオイが軽減されるから」が多く、父母ともに「紙巻きたばこより害が少ない」との認識が7割を超えた。これらのことから、加熱式たばこは周囲への影響が少ないと認識され、家庭内や家族の近くで使用されている可能性が示唆された。家庭内の主な喫煙場所が「玄関」「換気扇の下」であった点は喫煙者の家族への配慮がうかがわせる一方、「家庭」が主な受動喫煙場所として挙げられ、自宅内の喫煙ルールが「特になし」とする者も一定数みられたことから、家庭内の受動喫煙防止対策は依然として十分でない可能性が考えられた。

A 市の調査では、父母とも現在喫煙していないと回答したにもかかわらず、尿中バイオマーカーで喫煙または高濃度受動喫煙レベルを示す者が認められた。これは自記式調査のみによる曝露評価の限界を示し、バイオマーカーによる客観的評価を併用することの重要性を裏付けるものである。なお、A 市は都心に近く、職業上・教育歴上、喫煙に対する認識や喫煙不可の環境で生活する人が多いという地域特性があり、これが現在喫煙者の回答が得られにくかった背景にあると考えられる。

両市はいずれも対象者数が少なく、今年度は喫煙者をたばこ製品別に分類した比較分析を行うことはできなかった。しかし、地域特性の異なる自治体において、3 歳児健康診査を活用した本調査枠組みを適用し、子育て家庭における加熱式たばこ使用者の認識や家庭内・車内での喫煙状況など、受動喫煙曝露の実態を把握できる可能性が示された点に意義がある。健診当日のリクルートと後日の検体提出という手続き上、参加者数の確保は容易ではなかったが、子どもの検体を含む調査実施の展開方法に関する示唆も得られた。

E. 結論

本研究分担では、3 歳児健康診査を活用した加熱式たばこによる家族の受動喫煙に関する調査について、令和 5 年度に父母別の調査票を作成し、令和 7 年度に地域特性の異なる 2 つの自治体でそれぞれ調査を実施した。

B 市（瀬瀬担当）の調査では、現在喫煙する父親は全員が加熱式たばこに切り替えており、父母ともに「加熱式たばこは紙巻たばこより害が少ない」と認識する傾向が強く、家庭内・家族の近くで使用されている可能性が示された。A 市（大澤担当）の調査では、尿中バイオマーカーにより、自己申告では現在喫煙していないとした者の中に喫煙または高濃度受動喫煙レベルの値を示す者が認められ、自己申告に依存した喫煙状況把握の限界が明らかとなった。今後は、対象自治体・対象者数を拡大し、地域差を考慮した比較分析とバイオマーカー結果との統合により、加熱式たばこによる受動喫煙曝露の健康影響を継続的に検討していく必要がある。

F. 研究発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

Table 1 本調査の概要（年度別）

年度	内容	主な実施事項・成果
令和 5 年度	調査票の作成（瀬瀬・大澤）	父母別の調査票 2 種類を作成（喫煙場所・周囲への健康影響の認識・住環境・自家用車保有等を含む）。住環境・喫煙率等が異なる 3 自治体（人口 8.5 万・3.5 万・11 万人）をリクルート。
令和 7 年度	調査の実施（自治体別）	地域特性の異なる 2 自治体でそれぞれ調査を実施。B 市（人口約 3.7 万人、山林地域：瀬瀬）で Web アンケート調査を実施。A 市（都心に近い地域：大澤）で Web アンケートと尿中ニコチン代謝物 5 成分の測定を実施し、自己申告とバイオマーカーの乖離を確認。

Table 2 B 市調査の主な結果（瀬瀬）

項目	父親	母親
アンケート回答	11 人（32.4%）	18 人（50.0%）
尿試料の提出	10 人	16 人
「加熱式は紙巻より害が少ない」	72.7%	76.5%
受動喫煙の機会あり（直近 1 ヶ月）	11.4%	33.3%
自家用車内は全面禁煙	63.6%	66.7%

※「アンケート回答」の母数は父親 34 人・母親 36 人。割合はそれぞれの回答者を母数とする。

令和5～7年度 厚生労働科学研究費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
分担研究報告書

喫煙者への調査体制の確立について

研究分担者 松尾洋孝・中山昌喜 防衛医科大学校

研究要旨

喫煙により生じる煙には、多くの有害化学物質が含まれている。しかし従来の「紙巻きタバコ」に加え、近年発売され広まってきた「加熱式たばこ」について、実際に日本人喫煙者が加熱式たばこによりどの程度有害化学物質に曝露されているのかの研究はあまりなされていないのが現状である。本研究では、健康診断受検者を対象に、紙巻たばこと加熱式たばこを区別して、その有害化学物質への曝露の程度について検討を行うものである。

本研究の対象者は職域の健康診断受検者である。各種の検体採取を計画し倫理審査を行った後、研究体制について調整を実施した。本研究では、尿中に含まれる揮発性有機化合物代謝物 (Volatile Organic Compounds: VOC 代謝物) を中心に、曝露・炎症・影響マーカーを分析する。

本研究により、紙巻たばこおよび加熱式たばこを区別した、より適切な喫煙のバイオマーカーが明らかになるとともに、その健康への影響についての検討が進むことが期待できる。

A. 研究目的

喫煙により生じる煙には、多くの有害化学物質が含まれている[1]。従来の「紙巻きタバコ」に加え、近年発売され広まってきた「加熱式たばこ」は、加工されたたばこ葉を加熱することによって得られる煙 (エアロゾル) を吸引するたばこ製品である。燃焼させないことから、紙巻たばこに比較して臭いや有害化学物質の発生は少ないとされており、日本でも若年者を中心とした喫煙が認められる。しかし、実際に日本人喫煙者が加熱式たばこによりどの程度有害化学物質に曝露されているのかの研究はあまりなされていないのが現状である。

これまで分担研究者は、健康診断受検者を対象に、健康管理指標となるような物質やデータについての探索を行ってきた。

本研究では、健康診断受検者を対象に、紙巻

たばこと加熱式たばこを区別して、その有害化学物質への曝露の程度について検討を行うものである。

B. 研究方法

(1) 対象者

本研究の対象者は、職域の健康診断受検者である日本人集団である。所属組織における倫理申請は承認済みである。

(2) 尿検体の収集および尿中代謝物の分析

対象者から尿検体を収取する体制を確立した。

また、尿中に含まれる揮発性有機化合物代謝物 (Volatile Organic Compounds: VOC 代謝物) を含む尿中代謝物を中心に、曝露・炎症・影響マーカーを分析する予定であり、主な対象となる

VOC 代謝物は、図 1 に示した通りである。これらはいずれも小規模な集団におけるマーカーとしての検討はなされているものの、中規模以上の集団では検討はなされていない。

(3) 臨床情報の収集

臨床情報データ収集項目の検討のために、当該職域の職員に最適化できるよう喫煙関連情報を含めた臨床情報データを試験的に収集した(表)。この検討を基に、紙巻たばこおよび加熱式たばこの喫煙状況について、対象者から適切な臨床情報を収集し、健康診断の結果との関連解析を行う。

この他、自衛隊員を対象とした加熱式たばこに関する大規模な疫学解析も並行して実施しており、それらの成果も本研究の推進に役立たせたいと考えている。

C. 研究結果及び考察

職域の健康診断時における喫煙者の集団からの尿検体の供与体制について、また臨床情報について、検討および調整を行った。

これとは別に、尿試料に含まれるマーカー物質の一日排泄量の推定に関する成果を現在取りまとめ中であり、近く論文報告ができるよう調整中である。この推定方法が確立できれば、

多数の尿検体における疫学研究の一助となることが期待できるほか、今回分析を予定している各種マーカー物質についても適用できると考えられる。

D. 結論

本研究は、紙巻たばこおよび加熱式たばこを区別して、尿中代謝物及び健康診断などの臨床情報を持つ日本人集団での解析を予定している。本研究により、紙巻たばこおよび加熱式たばこを区別した、より適切な喫煙のバイオマーカーが明らかになるとともに、その健康への影響についての検討が進むことが期待できる。

[引用文献]

[1] IARC. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 83: 1-1438, 2004.

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

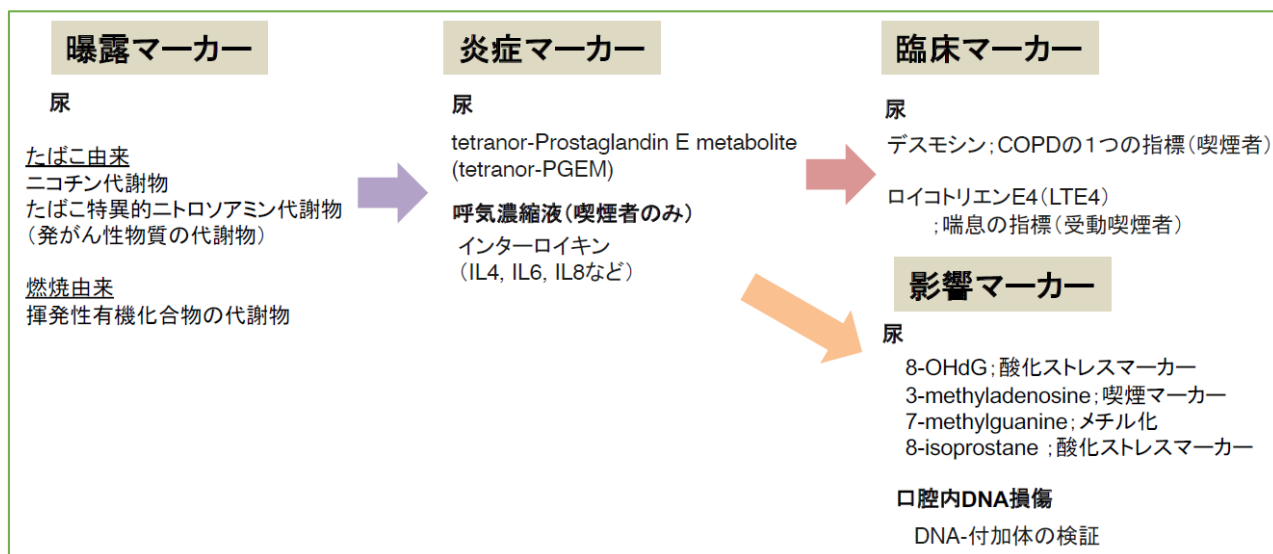


図 本研究における分析対象である揮発性有機化合物代謝物等

表 健康診断受検者を対象に収集している臨床情報

- Q. 1 紙巻きタバコを吸っていますか？
- Q. 2 紙巻きタバコの現在（もしくは禁煙前）の1日の平均使用量はどのくらいですか？
- Q. 3 紙巻きタバコのこれまでの延べ使用期間（中断期間を除く）はどのくらいですか？
- Q. 4 加熱式タバコ（アイコス、プルーム・テック、グローなど）を吸っていますか？
- Q. 5 加熱式タバコの現在（もしくは禁煙前）の1日の平均使用量はどのくらいですか？
- Q. 6 加熱式タバコのこれまでの延べ使用期間（中断期間を除く）はどのくらいですか？
- Q. 7 紙巻きタバコを禁煙することにどれくらい関心がありますか？
- Q. 8 加熱式タバコを禁煙することにどれくらい関心がありますか？
-

令和 5 ～ 7 年度厚生労働科学研究費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
分担研究報告書

DNA 損傷分析 ― 簡便な DNA 損傷（遺伝毒性）評価系の開発 ―

研究分担者 戸塚 ゆ加里 星薬科大学

研究要旨

本研究は、加熱式たばこ喫煙者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的に、喫煙者・受動喫煙者の生体試料（口腔内細胞等）を用いて、簡便に DNA 損傷（遺伝毒性）を評価する手法を開発することを目指したものである。

令和 5 年度には、口腔内細胞を用いた評価系の構築に向けた基盤調査として、DNA 試料採取・保存用器具および DNA 損傷指標の文献調査を行った。試料採取にはマウイディーエヌエーテクノロジー社の iSWAB DNA Collection Kit が、簡便性・DNA 回収効率の点で適していると判断した。また PubMed による文献検索の結果、加熱式・電子たばこの口腔内細胞を用いた評価指標として、DNA 付加体（ γ -OH-Acr-dGuo、APsite など）に加え、小核試験を遺伝毒性指標とする報告が複数存在することを確認した。

令和 6 年度には、文献調査を踏まえて小核試験法の確立を行った。マウス正常肝臓由来細胞に陽性対照物質であるメタンスルホン酸エチル（EMS）を曝露し、ギムザ染色後に小核出現頻度を評価したところ、EMS 曝露により小核出現頻度の上昇が認められた。標本作製に用いる細胞数を検討した結果、 5×10^5 個以上を用いることで迅速な計数が可能であった。

令和 7 年度には、より迅速・客観的な評価系として、 γ -H2AX および Phospho-ATR/Chk1 を指標とした DNA 損傷応答評価系を構築した。ヒト胎児腎細胞およびマウス肝正常細胞に、EMS（直接変異原）およびベンゾ[a]ピレン（B[a]P、代謝活性化系 Rat S9 mix 併用、間接変異原）を 24 時間曝露して解析した。その結果、 γ -H2AX 蛍光免疫染色では EMS 曝露群で核内に明瞭なドット状の foci が認められ、核あたり平均 foci 数は対照群 3 に対しヒト胎児腎細胞で 21、マウス肝正常細胞で 12 へと統計学的に有意に増加した。ウェスタンブロッティングでは、EMS および B[a]P の両物質で Phospho-ATR（Ser428）および Phospho-Chk1（Ser345）の発現が認められ、特に EMS では Phospho-Chk1 のバンド強度が濃度依存的に増強した。

以上より、本 3 か年を通じて、DNA 損傷を「損傷部位の可視化と foci の定量」および「細胞内シグナル伝達の活性化解析」の両面から多角的に評価できる、迅速・簡便・定量的な遺伝毒性評価基盤を構築した。今後は口腔内細胞等の生体試料への適用を進め、喫煙環境による DNA 損傷性を定量的に評価することで、生活習慣病やがんの予防に貢献する実用的なスクリーニング系の確立を目指す。

A. 研究目的

これまで、紙巻たばこについては受動喫煙による健康影響が明らかになっているが、加熱式たばこについては、主流煙にニコチンや発がん性物質が

含まれることは明らかであるものの、現時点では受動喫煙による長期的な健康影響を予測することは難しい状況である。このような状況を踏まえ、健康増進法の改正において、加熱式たばこによる

受動喫煙がヒトの健康に及ぼす影響に関する調査研究を一層推進し、可能な限り早期に結論を得るよう附帯決議がなされた。

そのため、疾患が認められていない喫煙者・受動喫煙者から得られる、侵襲のない生体試料をもとに、有効なバイオマーカー分析手法を開発・探索する必要がある。また、曝露以外の炎症・臨床・影響（酸化ストレス、DNA 付加体など）の評価に有効なバイオマーカーの抽出も求められる。そこで本研究分担（DNA 損傷分析）では、口腔内細胞等の生体試料を用いて加熱式たばこ曝露の指標となる DNA 損傷（遺伝毒性）を簡便に評価する手法の開発を目的とし、文献調査による評価指標の選定（令和 5 年度）、小核試験法の確立（令和 6 年度）、および γ -H2AX・Phospho-ATR/Chk1 を指標とした DNA 損傷応答評価系の構築（令和 7 年度）を順次進めた。本 3 か年で検討した評価手法の概要を Table 1 に示す。

B. 研究方法

B-1. 文献調査と試料採取・評価指標の選定（令和 5 年度）

口腔内細胞を用いた評価系の構築に向け、まずインターネット検索により DNA 試料採取・保存用器具を調査し、本研究に適した物品を選定した。次に、曝露指標として適当な DNA 損傷マーカーを選定するため、PubMed を用いて文献検索を実施した。欧米では加熱式たばこよりも電子たばこの普及が進んでいることから、検索ワードに電子たばこ（e-cigarettes）も加えて検索した。

B-2. 小核試験法の確立（令和 6 年度）

前年度の文献調査において、口腔内細胞を用いた小核試験による喫煙の有害性評価の報告を複数確認したことから、当研究室における小核試験手法の確立を行った。マウス正常肝臓由来細胞を 24 well plate に播種・培養した後、陽性

対照物質である EMS を 0、125、250 mg/mL で 24 時間曝露した。曝露後、PBS 洗浄および 0.25% トリプシン処理でシングルセル化して回収し、0.075 M 塩化カリウム溶液による低張処理（37℃、3 分）、固定液（メタノール：酢酸＝3:1、次いで 99:1）による固定を経てスライド標本を作製した。ギムザ染色後、各濃度あたり 2,000 個の細胞を顕微鏡下で計数し、小核を有する細胞の出現頻度で評価した。あわせて、観察に適した細胞数を検討するため、異なる細胞数で標本作製・染色して観察した。

B-3. DNA 損傷応答評価系の構築（令和 7 年度）

ヒト胎児腎細胞（HEK293FT）およびマウス肝正常細胞を用い、化学物質曝露による DNA 損傷応答を評価した。曝露物質には、直接変異原である EMS、および代謝活性化を要する間接変異原である B[a]P（ラット肝臓抽出物 Rat S9 mix 75 μ g/mL 併用）を用い、各細胞に 24 時間曝露した。

（1） γ -H2AX 解析（蛍光免疫染色）：DNA 二重鎖切断を評価するため、EMS（2 mM）曝露後に 4% PFA で固定・透過化処理を行い、一次抗体（Anti-Phospho-Histone H2A.X（Ser139）Rabbit mAb、1:200）および二次抗体（Alexa 647 標識抗体、1:200）で反応させ、DAPI（1 μ g/mL）で核染色した。オールインワン蛍光顕微鏡（BZ-X800）で核内の γ -H2AX foci を観察し、画像解析により核あたりの平均 foci 数を算出した。

（2）Phospho-ATR/Chk1 発現解析（ウェスタンブロッティング）：DNA 損傷チェックポイント制御の活性化を確認するため、EMS（1、2、4、5 mM）および B[a]P（1、5、10 μ g/mL、S9 mix 併用）曝露後の細胞からタンパク質を抽出し、Phospho-ATR（Ser428）および Phospho-Chk1（Ser345）を標的としてウェスタンブロッティングを実施した。

(倫理面への配慮) 該当なし。

C. 結果及び考察

C-1. 文献調査による試料採取法・評価指標の選定 (令和 5 年度)

DNA 試料採取・保存用器具として、マウイディーエヌエーテクノロジー社の iSWAB DNA Collection Kit が、試料採取の簡便性・DNA 回収効率の点で適していると判断した。本キットは口腔サンプルを室温で月単位で保存でき、ヒト口腔細胞から 15~30 µg の DNA を回収可能とされ、DNA 付加体検出を数回行うのに十分な量である。

文献検索では、“buccal cells”と“heated cigarette (heated tobacco products)”で 2 件、検索ワードを“e-cigarettes”に変更すると先の 2 件を含む 9 件が得られた。このうち DNA 付加体を検出していたものは 2 件で、アクロレイン付加体 γ -OH-Acr-dGuo (Cheng G. et al., Carcinogenesis, 2022) と、DNA 損傷から生じる Apurinic/Apyrimidinic Sites (AP site) を誘導体化して検出するもの (Guo J. et al., Chem Res Toxicol, 2021) であった。一方、9 報のうち 3 報が小核を遺伝毒性指標としており、Tadin A. et al. (J Xenobiotics, 2024) では、小核を有する口腔粘膜細胞数が非喫煙者 1.22 ± 1.00 に対し、紙巻たばこ 1.95 ± 1.46 、電子たばこ 1.85 ± 0.58 、加熱式たばこ 1.40 ± 1.17 であった。同報告では、加熱式たばこにおいても nuclear bud、binucleated cells、karyorrhexis、karyolysis、condensed chromatin、pyknosis が非喫煙者と有意に異なると報告されている。このほか、マロンジアルデヒド (脂質過酸化) や DNA メチル化を指標とする報告、また紙巻たばこ喫煙に相関する DNA 付加体として etheno-dA が知られている。

C-2. 小核試験法の確立 (令和 6 年度)

小核試験の結果、顕微鏡観察下で小核の出現を確認でき、EMS 曝露により対照群と比較して小核出現頻度の上昇が認められた。また、標本作製に用いる細胞数を検討した結果、細胞数が少ないと

スライドに滴下した細胞溶液が広がって計数に時間を要するのに対し、 5×10^5 個以上 (あるいは 1×10^6 個) を用いることで迅速に計数できることがわかった。

C-3. DNA 損傷応答評価系の構築 (令和 7 年度)

(1) γ -H2AX 蛍光免疫染色: EMS 曝露群において核内に明瞭なドット状の γ -H2AX foci が認められ、DNA 二重鎖切断の発生を視覚的に確認できた。核あたりの平均 foci 数は、ヒト胎児腎細胞で対照群 3 に対し EMS 曝露群 21 ($p < 0.001$)、マウス肝正常細胞でも対照群 3 に対し EMS 曝露群 12 ($p < 0.005$) と、いずれも統計学的に有意な増加を示した (Table 2)。本解析は画像解析ソフトを用いた自動解析により foci 形成を客観的に定量でき、信頼性が高く迅速な評価が可能である。

(2) Phospho-ATR/Chk1 発現解析: 直接変異原 EMS (1~5 mM) の曝露、および代謝活性化系 (S9 mix) を併用した間接変異原 B[a]P (1~10 µg/mL) の曝露のいずれにおいても、Phospho-ATR (Ser428) および Phospho-Chk1 (Ser345) の発現が確認された。特に EMS 曝露下では、Phospho-Chk1 (Ser345) のバンド強度が濃度依存的に増強していた。

D. 考察

ゲノムの初期損傷を捉える指標として γ -H2AX 解析を実施した。 γ -H2AX は DNA 二重鎖切断の直後に損傷部位へ集積する。本検討により、蛍光顕微鏡下で γ -H2AX foci を明瞭なシグナルとして識別できることが確認でき、画像解析技術を用いることで解析を自動化・客観化できる可能性も示唆された。これは、多検体を迅速に処理する必要がある生体試料スクリーニングにおいて大きな利点となる。さらに、DNA 損傷から修復への細胞内シグナル伝達の活性化を評価するための Phospho-ATR/Chk1 発現解析では、ATR およびその下流因子である Chk1 双方のリン酸化が確認された。特に EMS 曝露下での Phospho-Chk1 の用量相関的応答は、ATR を介した DNA 損傷チェック

ポイントシグナルが効率的に増幅され、細胞が鋭敏に応答していることを示唆している。このことから、本評価系は損傷の有無を判定するだけでなく、曝露の程度を定量的に反映し得るバイオマーカーとしても機能することが示された。代謝活性化系（S9 mix）を要する B[a]P に対しても陽性応答が得られたことから、直接・間接変異原の双方に対して有効な基盤技術となり得る。

また、令和 6 年度に確立した小核試験は、異数性誘発物質と染色体構造異常誘発物質の双方を検出できる、比較的簡便な遺伝毒性解析手法である。出現する小核の大きさは染色体異常の違いにより異なり、紡錘糸異常により生じる異数性異常由来の小核は比較的大きく、DNA 損傷により生じる構造異常由来の小核は小さいことが知られている。したがって、小核出現の有無に加えて小核の大きさの程度を評価することで、遺伝毒性メカニズムの解明につながる可能性がある。複数の先行研究で口腔内細胞を用いた小核試験が喫煙の有害性評価に用いられていることから、本研究課題における有効な手法の一つと考えられる。以上のことから、本研究で検討した一連の評価法は、加熱式たばこ曝露に伴う DNA 損傷の評価に有効な指標になると考えられる。

E. 結論

本 3 か年の研究分担（DNA 損傷分析）では、喫煙者・受動喫煙者の生体試料（口腔内細胞等）を用いた簡便な遺伝毒性評価手法の開発を目指し、文献調査による試料採取法・評価指標の選定（令和 5 年度）、小核試験法の確立（令和 6 年度）、および γ -H2AX・Phospho-ATR/Chk1 を指標とした DNA 損傷応答評価系の構築（令和 7 年度）を行った。

その結果、DNA 損傷を「損傷部位の可視化と foci の定量」および「細胞内シグナル伝達の活性化解析」という 2 つのアプローチで多角的に捉えることが可能となり、迅速・簡便かつ定量的に遺伝毒性を評価できる基盤技術を確立した。今後は、本

研究で確立した評価基盤をベースとして、実際の口腔内細胞などの生体試料への適用最適化を進める。これらを通じて、喫煙者および受動喫煙者の健康リスクを科学的根拠に基づいて迅速に判定できる実用的なスクリーニング系の確立を目指し、生活習慣病やがんの予防に貢献していきたい。

F. 研究発表

【令和 5 年度】

1. 論文発表

1) Suzuki S, Gi M, Komiya M, Obikane A, Vachiraarunwong A, Fujioka M, Kakehashi A, Totsuka Y, Wanibuchi H. Evaluation of the Mechanisms Involved in the Development of Bladder Toxicity following Exposure to Occupational Bladder Cancer Causative Chemicals Using DNA Adductome Analysis. *Biomolecules*. 2024;14:36.

2. 学会発表

1) 戸塚ゆ加里. 生体を模倣した in vitro 遺伝毒性評価法. 日本薬学会第 144 年会（2024 年 3 月、横浜）

2) 戸塚ゆ加里. ナノマテリアルの遺伝毒性評価とそのメカニズムの解析. 日本酸化ストレス学会（2023 年 12 月、川崎）

3) Totsuka Y. Elucidation of driver adducts of cancer development using comprehensive analysis of DNA adducts. The 51st International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund（2023 年 11 月、東京）

4) 小宮雅美、広田航太郎、山口大雅、石ヶ守里加子、稲葉洋平、戸塚ゆ加里. 加熱式たばこの遺伝毒性評価. 第 52 回環境変異原学会（2023 年 11 月、福岡）

5) 石ヶ守里加子、澤田琉那、前嶋愛美、小宮雅美、大野彰子、戸塚ゆ加里. アドバンストナノマテリアルの in vitro 遺伝毒性評価. 第 52 回環境変異原学会（2023 年 11 月、福岡）

- 6) Kohei Watanabe, Yasuyo Shimoda, Masami Sakano, Yukari Totsuka, Koichi Kato. メチルアミン・ジクロラミン由来の大腸炎関連発がんメカニズムの解明. 第 52 回環境変異原学会 (2023 年 11 月、福岡)
- 7) 白鳥修平、小宮雅美、魏民、鈴木周五、鰐渕英機、Jiri Zavadil、渡部浩平、戸塚ゆ加里. 職業性胆管がん原因物質であるハロゲン系炭化水素のドライバーアダクト探索. 第 52 回環境変異原学会 (2023 年 11 月、福岡)
- 8) 本橋実奈、別役雄毅、高村岳樹、小宮雅美、佐々彰、戸塚ゆ加里. アルコール発がんにおけるドライバーアダクトの探索と変異誘発メカニズムの解明. 第 52 回環境変異原学会 (2023 年 11 月、福岡)
- 9) Yukari Totsuka, Masami Komiya, Tomonari Matsuda, Mamoru Kato. Elucidating the Relationship between Environmental Factors and Human Cancer Development Using Next Generation Sequencers. 第 82 回日本癌学会学術総会 (2023 年 9 月、横浜)
- 10) Totsuka Y. Prospects for DNA adductomics analysis. 54th EMGS (2023 年 9 月、シカゴ・米国)
- 11) 小宮雅美、広田航太郎、山口大雅、石ヶ守里加子、稲葉洋平、戸塚ゆ加里. 加熱式たばこの遺伝毒性評価. がん予防学術大会 2023 (2023 年 9 月、金沢)

【令和 6 年度】

1. 論文発表

- 1) Hasegawa S, Shoji Y, Kato M, Elzawahry A, Nagai M, Gi M, Suzuki S, Wanibuchi H, Mimaki S, Tsuchihara T, Totsuka Y. Whole genome sequencing analysis of model organisms elucidates the association between environmental factors and human cancer development. *Int J Mol Sci.* 2024;25.
- 2) Watanabe K, Komiya M, Obikane A, Miyazaki T, Ishino K, Ikegami K, Hashizume H, Ishitsuka Y, Fukui T, Gi M, Suzuki S, Wanibuchi H, Totsuka Y. Development of a genotoxicity/carcinogenicity assessment method by DNA adductome analysis. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2024 Oct;899:503821.
- 3) Imai T, Ishigamori R, Naruse M, Ochiai M, Maru Y, Hippo Y, Totsuka Y. Bridging toxicological properties of environmental chemicals between animals and humans using healthy organoid systems. *J Toxicol Sci.* 2024;49(10):425-434.

2. 学会発表

- 1) 戸塚ゆ加里. DNA 付加体研究の過去・現在・未来. 令和 6 年日本環境変異原ゲノム学会公開シンポジウム (2024 年 6 月 1 日、東京)
- 2) Yukari Totsuka. New Horizons Of DNA Adductome For Exploring Environmental Causes Of Cancer. 第 42 回札幌国際がんシンポジウム (2024 年 6 月 6-8 日、札幌)
- 3) Yukari Totsuka. Landscape of mutational signatures observed in laboratory animal tumors induced by various carcinogens. The 8th JCA-AACR Special Joint Conference (2024 年 6 月 28-30 日、京都)
- 4) 戸塚ゆ加里、小宮雅美、煙山紀子、加藤護. Genotoxicity induced in mice lungs by inhalation exposure to heated tobacco products. 第 83 回日本癌学会総会 (2024 年 9 月 19-21 日、福岡)
- 5) 戸塚ゆ加里. DNA 付加体の網羅的解析を用いた発がん要因およびメカニズムの解明. アンチエイジング研究シンポジウム (2024 年 10 月 25-26 日、東京)
- 6) 戸塚ゆ加里. 環境要因による DNA 付加体とゲノム変異パターンを指標とした発がん要因の探索. 環境エピゲノミクス研究会 (EEG) 2024 春季ネットシンポジウム (2024 年 11 月 9 日、Web 開催)
- 7) 戸塚ゆ加里. DNA 付加体解析を基軸とした発がん要因およびメカニズムの解明. 第 47 回日本分子生物学会年会 (2024 年 11 月 27-29 日、福岡)
- 8) 戸塚ゆ加里. オルガノイドを用いた遺伝毒性

評価法の開発. 第 85 回 MMS 秋の定例会 (2024 年 12 月 6 日、岡山)

9) 戸塚ゆ加里、石ケ守里加子、牛山明、稲葉洋平、美谷島克宏、煙山紀子. 加熱タバコ製品の吸入曝露によりマウス肺に誘導される遺伝毒性. 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会 (2024 年 12 月 7-8 日、岡山)

10) 戸塚ゆ加里、永井桃子、加藤護. 次世代シーケンサーにより環境要因とヒト発がんの関係を解明する. 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会 (2024 年 12 月 7-8 日、岡山)

11) 石ケ守里加子、柳澤萌、大野彰子、戸塚ゆ加里. マウス肝臓オルガノイドを用いたアドバンスドナノマテリアルの毒性評価. 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会 (2024 年 12 月 7-8 日、岡山)

12) 長谷川晋也、Asmaa Elzawahry、永井桃子、加藤護、魏民、鈴木周五、鰐淵英機、松田知成、戸塚ゆ加里. N-ニトロソ胆汁酸抱合体の変異シグネチャーの解析. 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会 (2024 年 12 月 7-8 日、岡山)

13) 渡部浩平、三好規之、戸塚ゆ加里. 二環芳香族アミンにおける変異スペクトル解析. 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会 (2024 年 12 月 7-8 日、岡山)

14) 戸塚ゆ加里. マウス正常組織由来オルガノイドを用いた化学物質の遺伝毒性評価. 日本薬学会第 145 年会 (2025 年 3 月 27-29 日、福岡)

15) 宮崎飛翔、藤岡正喜、鰐淵英機、美谷島克宏、石ケ守里加子、加藤孝一、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規毒性試験法の開発. 日本薬学会第 145 年会 (2025 年 3 月 27-29 日、福岡)

16) 渡部浩平、下村航平、安藤彩花、佐藤玲香、鈴木千咲、武内まどか、三好規之、小林琢磨、戸塚ゆ加里、加藤孝一、中嶋順一. 二環芳香族アミンにおける遺伝毒性評価. 日本薬学会第 145 年会 (2025 年 3 月 27-29 日、福岡)

17) 本橋実奈、高村岳樹、佐々彰、加藤孝一、中嶋順一、戸塚ゆ加里. アルコール発がんにおける

ドライバーアダクトの探索と変異誘発メカニズムの解明. 日本薬学会第 145 年会 (2025 年 3 月 27-29 日、福岡)

18) 白鳥修平、小宮雅美、魏民、鈴木周五、鰐淵英機、Jiri Zavadil、渡部浩平、戸塚ゆ加里. 職業性胆管がん原因物質であるハロゲン系炭化水素のドライバーアダクト探索. 日本薬学会第 145 年会 (2025 年 3 月 27-29 日、福岡)

【令和 7 年度】

1. 論文発表

1) Betsuyaku Y, Motohashi M, Sassa A, Takamura-Enya T, Totsuka Y. Analysis of Novel DNA Adducts Derived from Acetaldehyde. *Biomolecules*. 2025;15(6):878.

2) Ishigamori R, Ohno A, Fukuhara K, Hasegawa S, Totsuka Y. Genotoxicity assessment of mesoporous silica and graphene oxide in GDL1 cells. *Genes Environ*. 2025;48(1):2.

2. 学会発表

1) 戸塚ゆ加里. 正常組織由来オルガノイドを用いた遺伝毒性評価法の開発. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月 2-4 日、沖縄)

2) 小畑悠樹、上原正太郎、樋口裕一郎、戸塚ゆ加里、末水洋志. In vitro 薬剤誘発性リン脂質症評価における HepaSH 細胞の有用性. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025 年 7 月 2-4 日、沖縄)

3) 宮崎飛翔、石ケ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、加藤孝一、美谷島克宏、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規 in vitro 毒性試験法の開発. 第 38 回発癌病理研究会 (2025 年 8 月 20-22 日、千葉)

4) Yukari Totsuka, Momoko Nagai, Asmaa Elzawahari, Rikako Ishigamori, Shinya Hasegawa, Mamoru Kato. Elucidating the Relationship between Environmental Factors and Human Cancer Development Using Next Generation Sequencers. *EMGS2025* (2025 年 9 月、ニューヨーク・米国)

- 5) 戸塚ゆ加里. 環境発がん因子の解明に向けた変異シグネチャーと DNA 付加体の解析. 第 32 回日本がん予防学会総会 (2025 年 9 月 12,13 日、名古屋)
- 6) 小池遥己、小高和大、渋谷優空、関根航、茅野朋子、松本真理子、藤岡正喜、鈴木周五、魏民、戸塚ゆ加里. 有機フッ素化合物 (PFAS) の遺伝毒性評価. 第 32 回日本がん予防学会総会 (2025 年 9 月 12,13 日、名古屋)
- 7) Yukari Totsuka. Comprehensive Insights into Environmental Carcinogenesis via DNA Adducts and Genome-wide Mutation Profiling. 第 84 回日本癌学会総会 (2025 年 9 月 25-27 日、金沢)
- 8) 石ケ守里加子、大野彰子、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いたアドバンスドマテリアルの遺伝毒性評価. 第 84 回日本癌学会総会 (2025 年 9 月 25-27 日、金沢)
- 9) 長谷川晋也、吉田健一、垣内伸之、渡部光一、川口駿、小川誠司、戸塚ゆ加里. 加熱タバコ製品の吸入曝露による遺伝毒性と変異スペクトラム. 第 84 回日本癌学会総会 (2025 年 9 月 25-27 日、金沢)
- 10) Yukari Totsuka. Decoding Environmental Carcinogenesis for Cancer Prevention: Insights from DNA Adduct and Mutation Profiling. 2025 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea (2025 年 10 月、ソウル・韓国)
- 11) 戸塚ゆ加里. 環境要因による DNA 付加体とゲノム変異パターンを指標とした発がん要因の探索とメカニズムの解明. 第 52 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会 (2025 年 10 月、大阪)
- 12) 戸塚ゆ加里. Screening for genotoxic compounds and study of carcinogenic mechanisms using next-generation sequencing (NGS) and adductome analysis. 第 54 回日本環境変異原ゲノム学会 学会賞受賞講演 (2025 年 11 月 22,23 日、静岡)
- 13) 宮崎飛翔、石ケ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、加藤孝一、美谷島克宏、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規遺伝毒性試験法の開発. 第 54 回日本環境変異原ゲノム学会 (2025 年 11 月 22,23 日、静岡)
- 14) 石ケ守里加子、大野彰子、戸塚ゆ加里. マウス肝臓オルガノイドを用いたアドバンスドマテリアルの包括的毒性評価. 第 54 回日本環境変異原ゲノム学会 (2025 年 11 月 22,23 日、静岡)
- 15) 長谷川晋也、石ケ守里加子、鈴木周五、大野麻理奈、吉田健一、垣内伸之、渡部光一、川口駿、小川誠司、戸塚ゆ加里. ヒト胎児腎細胞株を用いた Error-corrected NGS による化学物質の変異シグネチャー解析. 第 54 回日本環境変異原ゲノム学会 (2025 年 11 月 22,23 日、静岡)
- 16) 戸塚ゆ加里. オルガノイド技術を用いた環境化学物質影響評価. 日本学術会議主催学術フォーラム (2025 年 12 月、東京)
- 17) 戸塚ゆ加里. ヒトへの外挿性を考慮した新規 in vivo 代替型遺伝毒性評価法の開発. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月 27-29 日、大阪)
- 18) 小畑悠樹、上原正太郎、樋口裕一郎、戸塚ゆ加里、末水洋志. ヒト肝キメラマウスにおけるメトトレキサートの代謝および腎毒性. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月 27-29 日、大阪)
- 19) 宮崎飛翔、石ケ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、吉田健一、大野麻理奈、小川誠司、垣内伸之、川口駿、渡部光一、中馬新一郎、加藤孝一、美谷島克宏、樋口裕一郎、上原正太郎、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規 in vitro 遺伝毒性試験法の開発. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月 27-29 日、大阪)
- 20) 長谷川晋也、石ケ守里加子、高橋賢吾、遠藤瑞葵、戸塚ゆ加里. ヒト胎児腎細胞株を用いた DNA 損傷を指標とした化学物質の変異原性の評価. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月 27-29 日、大阪)
- 21) 今井正彦、小川心音、川西なつき、中山瑞穂、大島正伸、戸塚ゆ加里. 大腸がんモデルオルガノイドを用いた化学物質のプロモーション活性評価法の構築. 日本薬学会第 146 年会 (2026 年 3 月

27-29 日、大阪)

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

Table 1 本研究で検討した DNA 損傷（遺伝毒性）評価手法の概要

年度	検討内容	手法・対象	主な成果
令和 5	文献調査・評価系の基盤調査	iSWAB DNA Collection Kit 、PubMed 文献調査	DNA 採取器具の選定と評価指標候補（小核・DNA 付加体・ γ H2AX 等）の抽出
令和 6	小核試験法の確立	マウス正常肝臓由来細胞、EMS 曝露、ギムザ染色	EMS 曝露で小核出現頻度の上昇を確認、標本細胞数を最適化（ $\geq 5 \times 10^5$ 個）
令和 7	DNA 損傷応答評価系の構築	ヒト胎児腎細胞・マウス肝正常細胞、EMS/B[a]P (S9 mix 併用) 曝露、 γ -H2AX ・ Phospho-ATR/Chk1	foci の定量とシグナル活性化の両面評価を確立（直接・間接変異原に対応）

Table 2 γ -H2AX foci 解析結果（核あたりの平均 foci 数）

細胞	対照群	EMS 曝露群	有意差
ヒト胎児腎細胞（HEK293FT）	3	21	$p < 0.001$
マウス肝正常細胞	3	12	$p < 0.005$

※EMS（2 mM）24 時間曝露。画像解析により核あたりの平均 foci 数を算出。

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
稲葉洋平	タバコ製品について知る	日本禁煙学会	はじめよう!薬剤師のための禁煙支援ガイド	南山堂	日本	2023	28-41

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
Suzuki S, Gi M, Komiyama M, Obikane A, Vachiraarunwong A, Fujioka M, Kakihashi A, Totsuka Y, Wanibuchi H.	Evaluation of the Mechanisms Involved in the Development of Bladder Toxicity following Exposure to Occupational Bladder Cancer Causative Chemicals Using DNA Adductome Analysis	Biomolecules	14	36	2024
Watanabe K, Komiyama M, Obikane A, Miyazaki T, Ishino K, Ikegami K, Hashizume H, Ishitsuka Y, Fukui T, Gi M, Suzuki S, Wanibuchi H, Totsuka Y.,	Development of a genotoxicity/carcinogenicity assessment method by DNA adductome analysis.	Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.	Oct;899:503821.		2024
稲葉洋平	「新しいタバコに関する知識とエビデンス」加熱式タバコの有害化学物質と健康への影響	調剤と情報	30	1588-1594	2024
稲葉洋平	国際保健の視点から見たたばこ対策. 特集 公衆衛生における国際保健	公衆衛生	90 (2)	143-152	2026