

厚生労働科学研究費（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）

総括研究報告書

## 加熱式たばこの健康影響評価のためバイオマーカーを用いた評価手法の開発

研究代表者 大森久光 熊本大学

### 研究要旨

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

I. 紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻および加熱式たばこ併用者およびその家族を対象とした曝露の実態調査

41 家族、129 名を対象として、父親の加熱式たばこ使用と非喫煙配偶者および子供における尿中ニコチン代謝物（Total Nicotine metabolites : TNM）およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物（4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1- butanol (NNAL)）との関連について検討した。その結果、加熱式たばこ使用者の非喫煙家族（配偶者、子供）の値は、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて有意に高値を示し、曝露の実態が明らかとなった。

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

加熱式たばこの種類別の受動喫煙の状況について検討した。IQOS、PloomTECH、glo 使用の場合の非喫煙家族の尿中ニコチン代謝物は、3 群で有意な差を認めなかったが、PloomTECH 使用時に高い傾向を示した。サンプル数を増加が必要と考えられた。

新たにリクルートした参加者を加えて受動喫煙者 114 名の尿中ニコチン代謝物と NNAL 分析を行なった。受動喫煙者の内訳は、加熱式たばこ受動喫煙者 37 名、紙巻たばこ受動喫煙者 36 名、併用者の受動喫煙者 37 名であった。総ニコチン代謝物量（コチニンと 3-ハイドロキシコチニンの合算値）（ng/mg creatinine）の範囲より、加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと思われた。併用者は加熱式たばこを使用することによって発がん性物質の曝露量が低下することは確認されなかった。受動喫煙の曝露に関して加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量は 40% ほどしか低減されないことがわかった。

II. 揮発性有機化合物代謝物の一斉分析法の確立と日本人喫煙者および受動喫煙者への

適用

今年度は、新たに揮発性有機化合物（VOC）の代謝物 17 成分の一斉分析法を確立し、喫煙者、受動喫煙者、非喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析を行なった。

紙巻たばこ喫煙者が加熱式たばこ喫煙者と比較して分析値が高い成分は 3-HPMA、CYMA、2-HPMA、AMCC などが確認された。特に CYMA は紙巻たばこ喫煙者 50.7 ng/mg creatinine に対して加熱式たばこ喫煙者が 1.81 であった。加熱式たばこ喫煙者と非喫煙者の VOC 代謝物量を比較すると加熱式たばこ喫煙者は AAMA、AMCC、2-HPMA、DHBMA と HPMMA 値が非喫煙者よりも高い結果となっていた。その結果、VOC 代謝物の分析によって喫煙者の曝露実態が、たばこ製品ごとに異なることが分かってきた。さらに加熱式たばこ喫煙者においても VOC の曝露が生じていることが確認された。

次に日本人受動喫煙者 114 名の尿試料について、尿中 VOC 代謝物の分析を行なった。

その結果、受動喫煙者と非喫煙者の VOC 代謝物の値には大きな差は認められなかった。今後、サンプル数が増えることで受動喫煙者と非喫煙者の VOC 代謝物の実態評価が可能になると考えている。

以上の研究は、今後のわが国における屋内禁煙化の推進に寄与すると考えられた。

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

## A. 研究目的

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

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

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

以上は 6.1%と若い世代での使用率が高い。紙巻たばこと加熱式たばこ併用者の割合は、全体で 6.4%と報告されている。

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

そこで本研究では、加熱式たばこ使用者・受動喫煙者の健康影響を評価することを目的として、使用者・受動喫煙者の生体試料（尿）に含まれているたばこ由来の有害化学物質の代謝物と影響マーカー（酸化ストレスマーカー）値から健康影響評価を行った。

本研究の第 1 の目的は、加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態を明らかにするこ

とである。そのために以下の検討を行った。

・父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族(配偶者および子供)における尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価

・父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況(質問票による分析)と尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

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

・揮発性有機化合物代謝物の一斉分析法の確立と日本人喫煙者および受動喫煙者への適用

詳細に関しては、分担研究報告(国立保健医療科学院 稲葉洋平)を参照。

## B. 研究方法

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

1) 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族(配偶者および子供)における尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価

2) 父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況(質問票による分析)と尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

### 1-1 研究対象者

本研究では、下記の研究①から③の3つ

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

研究①:紙巻たばこ、加熱式たばこ、紙巻および加熱式たばこ使用者およびその家族を対象とした曝露の実態調査、

研究②:飲食店従業員(アルバイトを含む)を対象とした曝露の実態調査、

研究③:加熱式たばこ喫煙者およびその家族の1年後追跡調査(AMED研究)の3つの研究を通して対象者のリクルートのリクルートを実施した。

熊本、鹿児島、宮城、埼玉の地域で主に職域の方々を中心にリクルートを行った。熊本では熊本産業看護研究会等の協力を得て実施した。リクルートした対象者はすべて日本人であった。

第1の目的を達成するため、3つの研究を通してリクルートした41家族、129名を対象として、父親の喫煙と非喫煙配偶者および子供における尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連について検討した。

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

本検討では紙巻たばこおよび加熱式たばこの併用者は除外した。

### 1-2 目標サンプル数の設定に関して

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

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

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

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

### 1-3 質問票による受動喫煙の分析

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

### 1-4 父親の喫煙状況に対する質問項目 (表1)

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

- 4) 非喫煙家族の子供に対して：

「お父さんはあなたの前で吸いますか？」  
以上の質問より、1)または3)で「はい」と回答した場合「配偶者に対して受動喫煙有」、2)または4)で「はい」と回答した場合「子供に対して受動喫煙有」と判定した。家族(配偶者および子供)の受動喫煙の有無と尿中TNMとの関連を検討した。

### 1-5 尿中曝露マーカーの分析

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

Total Nicotine metabolites : TNMの単位は、nmol/mg creatinine で表記した。

その他、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物(たばこ特異的な発がん性物質)：

4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物の代謝物17成分(発がん性物質)を分析中である。

(分担者：国立保健医療科学院 稲葉)

詳細に関しては、分担総合研究報告(国立保健医療科学院 稲葉洋平)を参照。

本研究は、横断研究の指針である

「The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement」に従って実施した。Vandenvbroucke, J .P. et al. STROBE Initiative. *Epidemiology* 2007, 18, 805-835

2, 日本人喫煙者および受動喫煙者のニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物 (4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)、揮発性有機化合物代謝物と酸化ストレスマーカー (DNA 損傷体、脂質の酸化ストレスマーカー) の分析による健康影響評価

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

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

## 2-1 研究対象者

同様に 3 つの研究を通してリクルートした。対象者はすべて日本人であった。

### 1) 喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL 酸化ストレスの分析

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

### 2) 喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

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

### 3) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析と NNAL の分析

受動喫煙者 114 名の尿中ニコチン代謝物

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

## C. 結果

### 1, 加熱式たばこ使用による受動喫煙の実態調査

1) 父親の加熱式たばこ使用とその非喫煙家族 (配偶者および子供) における尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物の評価

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

#### 1-1 対象者の属性 (表 2)

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

グループ間での年齢に差はなかった。

#### 1-2 父親からの受動喫煙状況による尿中 TNM 値 (表 3)

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

・紙巻たばこ喫煙者の非喫煙家族 (合計: 27 名) の TNM の平均値 (SE) :

0.0107 nmol/mg creatinine (SE: 0.0021)

- ・加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族  
(合計: 66名) の TNM の平均値 (SE):  
0.0058 nmol/mg creatinine (SE: 0.0011)
- ・非喫煙・非使用者の非喫煙家族  
(コントロール)

(合計: 36名) の TNM の平均値 (SE):  
0.0012 nmol/mg creatinine (SE: 0.0003)

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

加熱式たばこ喫煙者の非喫煙家族の TNM の値は、紙巻たばこ喫煙者の非喫煙家族と比べて、有意な低値を示したが、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて、有意に高値を示した。(図1)

加熱式たばこ使用者の非喫煙家族の尿中たばこ特異的ニトロソアミン類 (NNAL) の値は、TNM と同様に、非喫煙・非使用者の非喫煙家族に比べて、有意に高値を示した。(図2)

## 2) 父親の加熱式たばこ使用による受動喫煙状況(質問票による分析)と尿中ニコチン代謝物およびたばこ特異的ニトロソアミン代謝物との関連

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

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

## 3) 加熱式たばこの種類別の受動喫煙状況(図3)

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

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

### 1) 喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL、酸化ストレスの分析

総ニコチン代謝物量 (コチニンと 3-ヒドロキシコチニンの合算値) (ng/mg creatinine) の範囲より、加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと思われた。併用者は加熱式たばこを使用することによって発がん性物質の曝露量が低下することは確認されなかった。

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

### 2) 喫煙者の尿中 VOC 代謝物の分析

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

果とニコチン代謝物量を比較すると喫煙者が紙巻たばこまたは加熱式たばこを使用しているのかが判定できる可能性がある。

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

### 3) 受動喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析とNNALの分析

受動喫煙の曝露に関して加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量は40%ほどしか低減されないことがわかった。

### 4) 受動喫煙者の尿中VOC代謝物の分析

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

分担研究2のTable 1-4を参照。

## D. 考察

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

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

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

さらに、紙巻たばこ喫煙に比べて、加熱式たばこ使用者の方が、家族の前で喫煙して

いる割合が高いことがわかった。このことは、「加熱式たばこが紙巻たばこに比べて、受動喫煙を生じさせない、より安全」と使用者が考え、非喫煙者である家族の前で使用している可能性あるものと考えられた。加熱式たばこ使用者に対して、得られたエビデンスに基づく啓発が重要と考えられた。

喫煙者の尿中ニコチン代謝物分析、NNAL、酸化ストレスの分析結果より、加熱式たばこを使用してもニコチン曝露量が紙巻たばこと比較して低減されることはないと思われた。

加熱式たばこを使用することによって発がん性物質の曝露量が低下することは確認されなかった。酸化ストレスマーカーについては喫煙者群のサンプル数が少ないために非喫煙者との分析値に違いが認められなかった。

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

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

受動喫煙者の尿中VOC代謝物の分析結果より、受動喫煙のバイオマーカーとなる可能性のある成分は、2-HPMAとXyleneの代謝物である2-MHAと3-MHA, 4-MHAの合算値などが考えられた。

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

加熱式たばこは受動喫煙を生じさせないと喫煙者が考え、受動喫煙者の近くにおいて喫煙をしている可能性もあると考えられた。

本研究の Limitation として、一つは対象サンプル数が少ないことがあげられる。また、新型コロナウイルスのパンデミックの飲食店への影響により、研究②の飲食店従業員のリクルートが十分に行えず、本研究では飲食店従業員の単独の分析はできなかった。しかし、研究①から③の全体を通じた分析をおこない上記の結果を得た。

現在、多種類の加熱式たばこが発売されており、今後、測定例を増やして喫煙と受動喫煙の有無と他の曝露マーカーおよび臨床バイオマーカーとの関連について解析を進める必要があるものと考えられた。

対象サンプル数が少ないことは課題ではあるが、この成果が改正健康増進法の見直しに使用するための科学的根拠の一部になると考えている。

## E. 結語

本研究では、曝露マーカーを測定し、家族における加熱式たばこ使用による曝露の実態を明らかにした。本研究の成果は、「改正健康増進法」で経過措置として店内を喫煙可能としている施設において**屋内禁煙化の推進に寄与する科学的根拠の一部になると**考えられる。また、国民の**加熱式たばこによる受動喫煙防止に対する認知の向上**につながるものと期待される。

さらに健康影響の評価のためには、開発した曝露マーカーの分析に加えて、生体機能の変化を評価する必要がある。本研究を進展させることで、加熱式たばこ使用によ

る健康影響が明らかとなり、その結果、受動喫煙による疾病および喫煙関連疾患の予防に貢献することが期待される。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表（本研究に関連するもの）

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

### 2. 学会発表

- 1) 稲葉洋平, 尾上あゆみ, 緒方裕光, 井上博雅, 黒澤一, 寒川卓哉, 町田健太郎, 櫻田尚樹, 大森久光. たばこ製品喫煙者の有害化学物質の曝露量評価の検討. 第92回日本衛生学会学術総会 (オンライン) 2022.3.21-23.
- 2) 稲葉洋平, 尾上あゆみ, 緒方裕光, 井上博雅, 黒澤一, 寒川卓哉, 町田健太郎, 櫻田尚樹, 大森久光. 加熱式たばこ喫煙者と受動喫煙者の尿中バイオマーカーの分析. 第93回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京) 同講演集 S185.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

この研究において、知的財産権に該当するものはなかった。