

令和3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) の主流煙に含まれる PAHQ を定量することを目的とした。加熱式たばこの主流煙について、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。加熱式たばこ主流煙中の PAHQ を定量した結果、13~21 種類の PAHQ を検出することに成功した。検出種は主に 1~3 環の環数の少ない PAHQ であり、4 環以上の環数の PAHQ は一部を除いて検出されなかった。検出された PAHQ は加熱式たばこのどの銘柄でもほとんど共通しており、たばこ製品の加熱により生成しやすい PAHQ の存在が示唆された。たばこ煙中の PAHQ 含有量は加熱温度の上昇に伴い増加する傾向が見られたことから、たばこ主流煙中 PAHQ の生成には加熱温度が深く関与していることが分かった。

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、まずたばこ煙中の 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 の定量を行った。

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, IQOS ILUMA, glo, glo hyper+, PloomS,

PloomX の主流煙を測定対象とした。なお、すべての加熱式たばこについて、レギュラータイプのスティックを使用した。

## 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,  $\phi$ 44 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  $\mu$ L に再溶解して検液とした (3)。

#### 測定対象成分

環数が 1 つのベンゾキノロン類を含む 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  $\times$  0.25 mm i.d., 0.25  $\mu$ m, 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  $\mu$ L 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 の定量性の確認

加熱式たばこ煙中の PAHQ の定量性を確認するために 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添加回収試験を行った。今回はすべての銘柄の主流煙で検出された主要な 13 種の PAHQ を対象とした。真度は標品を添加したサンプルの定量値から, 標品を添加していないサンプルの定量値を差し引いた値を理論値で除することにより算出した。精度は  $n=3$  に

おける定量値のばらつきを RSD (%) 値として評価した。PAHQ の定量性を検証した結果、すべての PAHQ において 100±30%の真度が得られ、RSD 値も 13%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判断した。

## 2. 加熱式たばこ主流煙中 PAHQ の定量

主流煙中 PAHQ の定量結果を Table 1 に示す。IQOS3 から 21 種類、IQOS ILUMA から 19 種類、glo, glo hyper<sup>+</sup>から 18 種類、PloomS から 13 種類、PloomX から 16 種類の PAHQ が検出され、PAHQ の総濃度は、約 0.4~400 ng/puff であった。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 が検出されており、そ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)。また、濃度は低いが 4 環の PAHQ も一部検出された。一方で、5 環の PAHQ は検出されなかった。多くの銘柄間で凡そ共通の PAHQ が検出され、検出種の含有率はオルト体の PAHQ よりも親化合物である PAH から酸化生成しやすいパラ体が高い含有率を占めることが分かった。従って、たばこ製品の加熱により生成しやすい PAHQ が存在することが示唆された。さらに、3 環の PAHQ の中で 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ラジカルとカチオンの安定性のため、9 位に求核反応が起こり、芳香族安定化エネルギーの大きい 9,10-AQ にさらに酸化されると報告されていることから、加熱式たばこの加熱時においても 9,10-AQ や MAQ の生成量が多くなったと考えられた。また、たばこ煙中の PAHQ 含有量は各銘柄の加熱温度の上昇に伴い増加する傾向が見られた。以上のことから、たばこ製品の主流煙に含まれる PAHQ の生成には加熱温度が深く関与していると考えられ、紙巻たば

この燃焼温度は 700°C以上であることから、加熱温度が 350°C以下の加熱式たばこ製品では紙巻たばこよりも PAHQ を生成しにくい可能性がある。

## D. 結論

たばこ主流煙中の PAHQ を分析したところ、加熱式たばこから 13~21 種類の PAHQ を検出することに成功した。検出種は主に 1~3 環の環数の少ない PAHQ であり、4 環以上の環数の PAHQ は一部を除いて検出されなかった。検出された PAHQ は加熱式たばこのどの銘柄でもほとんど共通しており、たばこ製品の加熱により生成しやすい PAHQ の存在が示唆された。たばこ煙中の PAHQ 含有量は加熱温度の上昇に伴い増加する傾向が見られたことから、たばこ主流煙中 PAHQ の生成には加熱温度が深く関与していることが分かった。加熱式たばこ製品は紙巻たばこよりも PAHQ を生成しにくい可能性があるものの、加熱式たばこ煙に含まれる未同定の有害物質を同定・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).

該当なし

- (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).

2. 学会発表

該当なし

3.その他

該当なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

**Table 1 加熱式たばこ主流煙中の PAHQ 濃度 (pg/puff)**

Compound	IQOS3		IQOS ILUMA		glo		glo hyper+		PloomS		PloomX	
	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD
BQ	359000	± 25200	161000	± 26100	9500	± 737	71100	± 638	141	± 31.5	23200	± 4790
MBQ	7170	± 881	1800	± 679	734	± 96.1	2490	± 243	19.4	± 4.6	601	± 62.2
2,5-DMBQ	10100	± 111	1990	± 168	589	± 18.2	2850	± 236	19.0	± 2.5	701	± 82.5
2,6-DMBQ	1690	± 39.5	288	± 29.4	190	± 3.3	1400	± 648	11.1	± 4.8	118	± 8.1
TMBQ	3420	± 165	960	± 71.1	406	± 37.1	2460	± 327	46.5	± 10.6	744	± 85.7
2-tb-BQ	129	± 8.7	35.4	± 3.3	64.8	± 3.6	168	± 98.0	11.4	± 2.9	12.5	± 7.7
2,5-Dtb-BQ	125	± 8.4	86.1	± 8.9	10.5	± 5.0	36.8	± 7.2	17.6	± 2.9	37.1	± 20.6
1,2-NQ	39.2	± 8.9	11.0	± 1.3	5.0	± 1.0	11.7	± 3.7		LOQ	12.8	± 2.6
1,4-NQ	7.5	± 1.4		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.
MNQ	86.5	± 5.8	35.7	± 3.1	36.0	± 2.8	81.4	± 7.9		LOQ	19.9	± 2.5
AceNQ	18.7	± 9.8	4.5	± 1.3	10.9	± 3.9	21.7	± 2.7	0.8	± 0.7	3.8	± 2.8
1,4-AQ	27.6	± 4.3	10.0	± 1.0	3.8	± 0.9	3.2	± 1.8		N.D.	1.8	± 0.8
1,4-PQ	3.3	± 1.5	0.7	± 0.5		LOQ		LOQ		N.D.		N.D.
9,10-PQ	6.9	± 0.1	2.7	± 0.7		LOQ	1.5	± 1.1		LOQ		LOQ
9,10-AQ	229	± 19.1	88.0	± 9.6	164	± 17.6	209	± 33.7	66.4	± 8.6	53.8	± 8.7
MAQ	892	± 74.3	183	± 20.2	43.7	± 8.7	115	± 0.5	3.6	± 1.5	61.4	± 9.6
DMAQ	56.2	± 9.0	18.3	± 4.7		LOQ	13.5	± 2.2		N.D.	16.0	± 4.1
Frt-2,3-Q	1.7	± 0.5		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.
7,12-BAQ	5.3	± 3.3		N.D.		LOQ	10.0	± 1.4		N.D.		LOQ
AceAQ	31.0	± 7.0	17.5	± 7.2		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.
4,5-PyrQ	1.9	± 0.6		LOQ		N.D.		LOQ		N.D.		N.D.
1,8-PyrQ		N.D.		N.D.	0.3	± 0.2		N.D.		N.D.		N.D.
1,6-PyrQ		N.D.	0.7	± 0.1		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.

N.D. : Not detected, LOQ : less than limit of quantification