

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 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.

## 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。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→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