

令和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)
総括研究報告書

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

目的・背景；加熱式たばこが急速に普及する中、「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。しかし、強い依存性物質であるニコチンの曝露実態や受動喫煙の影響は十分に解明されていない。本研究は、非侵襲的に採取可能な生体試料を用いたバイオマーカー分析や質問票調査、および DNA 損傷評価系を組み合わせ、加熱式たばこによる能動・受動喫煙の健康影響を科学的かつ客観的に評価することを目的とした。

結果及び考察；【尿中ニコチン代謝物を指標とした曝露評価（重点項目）】 本研究の主要な成果として、事業所の健診受診者 892 名の尿試料を分析した。代謝の個人差の影響を最小限に抑えるため、ニコチンやコチニンなど 7 成分の合計値を「総ニコチン代謝物 (TNM)」として算出し曝露量を比較した。分析の結果、自己申告による非喫煙者・受動喫煙者の中に、喫煙者レベルの高いニコチン曝露を示す例が多数確認された。そのため、バイオマーカーの実測値に基づくカットオフ値を設定し再分類を行った。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。これは、加熱式たばこを使用した場合でも紙巻たばこと同程度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を強く示唆している。また、製品別では主流煙のニコチン含有量が低い IQOS が、glo や Ploom に比べ TNM も有意に低い結果となり、主流煙中のニコチン量と実曝露量の直接的な相関が確認された。さらに、受動喫煙者間においても、紙巻たばこと加熱式たばこによる曝露量 (TNM) に有意差は認められず、加熱式たばこによる受動喫煙の影響が決して無視できない現状が明らかとなった。

【受動喫煙の実態と認識の乖離】 3 歳児健診を活用した子育て世代の調査では、加熱式たばこ使用者の 7 割以上が「紙巻たばこより害が少ない」と製品に対して誤認していた。この安全認識の甘さが、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ニコチン曝露を助長している実態が判明した。また、自記式アンケートで「現在喫煙していない」と回答した親からも、喫煙レベルや高濃度の受動喫煙レベルのニコチン曝露が検出され、自己申告による調査の限界が浮き彫りとなった。

【生体試料を用いた評価系の確立】 口腔内細胞等の生体試料への応用を見据え、DNA 損傷評価系を構築した。細胞に化学物質を曝露した結果、 γ -H2AX による DNA 二重鎖切断の可視化・定量化、および Phospho-ATR/Chk1 を指標とする細胞内シグナル伝達の活性化が確認され、遺伝毒性を迅速かつ定量的にスクリーニングする手法としての有用性が実証された。

結論；加熱式たばこは、能動喫煙・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す、依存リスクや健康影響を低減するものではない。真の曝露実態の把握には自己申告に依存しない TNM 等の客観的バイオマーカー測定が不可欠であり、本研究の成果を科学的エビデンスに基づく正しい知識の啓発や受動喫煙防止対策へ還元していくことが強く求められる。

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

A. 研究背景と目的

加熱式たばこは2014年の発売以降急速に普及し、令和6年の国民健康・栄養調査によると、現在では喫煙者の約4割が加熱式たばこを使用している状況にある。研究代表者は、これまでに加熱式たばこ主流煙・副流煙の成分分析を行い、加熱式たばこの主流煙において有害化学物質の発生「量」は低減されるものの、その「成分数」は減少しておらず、有害化学物質の複合曝露が継続されていることを報告してきた。さらに、加熱式たばこの副流煙は喫煙者からの呼出煙に起因する可能性が高く、加熱式たばこ喫煙者の非喫煙者家族の尿中バイオマーカー（ニコチン代謝物、たばこ特異的ニトロソアミン代謝物など）を分析した結果、家庭内喫煙によって受動喫煙が生じていることを確認している。

一方で、「加熱式たばこは紙巻たばこより害が少ない」「周囲への害が少ない」との認識が一般に広く浸透しているが、強い依存性物質である「ニコ

チン」への曝露実態は十分に解明されていなかった。たばこ産業による「有害物質90%削減」といった広告は、特定の物質の量の比較に過ぎず、有害性そのものの低減を意味するものではない上、ニコチンはこの削減対象に含まれていない。

これらの背景を踏まえ、疾患が認められていない喫煙者および受動喫煙者を対象に、非侵襲的に回収可能な生体サンプル（尿、呼気濃縮液、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する必要性が生じた。本研究では、曝露マーカー（ニコチン代謝物、揮発性有機化合物(VOC)代謝物、多環芳香族炭化水素類(PAH)代謝物など）、炎症マーカー（tetranor-PGEM など）、影響マーカー（8-OHdG、8-isoprostane など）、および臨床マーカーを組み合わせて評価する方法を確立し、加熱式たばこによる能動喫煙および受動喫煙がヒトの健康に及ぼす影響を科学的に予測・評価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. 今年度の研究成果

1.尿中ニコチン代謝物を指標としたニコチン曝露評価

分析対象物質と総ニコチン代謝物 (TNM) の定義

ニコチンは体内に取り込まれると多様な経路を経て代謝され、複数のニコチン代謝物として尿中に排泄される。ニコチンの代謝酵素である CYP2A6 には遺伝子多型が存在し、日本人においてはその活性が低下または欠損する者が一定割合存在するため、単一の代謝物濃度だけでは評価に大きな個人差が生じるという課題がある。この個体差の影響を最小限に抑えるため、本研究では複数の代謝物を合算した「総ニコチン代謝物 (Total Nicotine metabolites: TNM)」を曝露量の指標として定義した。分析対象としたのは以下の計 7 成分である。

Nicotine

(1'S,2'S)-Nicotine-1'-oxide

Cotinine

3-Hydroxycotinine

Nicotine glucuronide (グルクロン酸抱合体)

Cotinine glucuronide (グルクロン酸抱合体)

3-Hydroxycotinine glucuronide (グルクロン酸抱合体) 分析時には酵素処理によって抱合体を遊離させ、上記 1~4 の 4 成分を定量し、その合計値を TNM として算出した。

前処理手順および LC/MS/MS 分析条件

尿試料 500 μ L (喫煙者は 100 倍希釈、受動喫煙者・非喫煙者は 2 倍希釈) に対して、100 mM 酢酸緩衝液 (pH 4.50) 2 mL と β -グルクロニダーゼ (from *Helix pomatia*) 500 U を加え、37°C で 6 時間酵素処理を行った。酵素処理条件の最適化にあたっては、処理時間 (3 時間、6 時間) および酵素

添加量 (0 U, 500 U, 1,000 U) の組み合わせを検討し、特に Cotinine において処理時間による差が認められたことから、この条件を最適とした。酵素処理後、内部標準物質の混合液 (各 1 μ g/mL) を添加し、2N NaOH を加えたのち、固相抽出 (ENVI-Carb) を行いアセトニトリルで溶出した。分析装置には LC/MS/MS (Waters 製 Xevo TQ-S micro)、分析カラムには ACQUITY Premier BEH HILIC (Waters 社) を使用した。統計解析にはノンパラメトリックな Kruskal-Wallis 検定および Dunn 検定を用い、クレアチニン (creatinine) 補正值に基づく群間比較を行った。

事業所の健康診断受診者における紙巻・加熱式たばこの曝露比較

事業所の健康診断受診者 892 名から同意を得て提供された尿試料を分析した。事前の自己申告に基づく分類では、喫煙者 146 名、受動喫煙者 79 名、非喫煙者 667 名であった。

自己申告の限界と客観的カットオフ値による再分類；自己申告による非喫煙者および受動喫煙者の中に、明らかに喫煙者に匹敵する高いニコチン曝露量 (TNM) を示す例が多数確認された。そのため、自己申告に基づく分類の不正確さを補正すべく、実測値を用いたカットオフ値を設定して対象者を再分類した。具体的には、受動・非喫煙者のうち Nicotine $\geq$ 36.8 ng/mg Cr. または Cotinine $\geq$ 36.8 ng/mg Cr. を満たす者 (受動喫煙者 13 名、非喫煙者 79 名) を「隠れ喫煙者」として喫煙者群へ再分類した。また、非喫煙者のうち Cotinine $\geq$ 0.17 ng/mL かつ $\geq$ 0.31 ng/mg Cr. を満たす者 (93 名) を「受動喫煙者」へ再分類した。この客観的指標に基づく再分類により、対象集団の実際の喫煙率は自己申告の 16.4% から 26.7% へと大

幅に上昇することが判明した。

喫煙者間の比較結果；再分類後の喫煙者において、紙巻たばこ喫煙者と加熱式たばこ喫煙者の間で、TNM（中央値：紙巻たばこ 2,380 ng/mg creatinine、加熱式たばこ 2,333 ng/mg creatinine）および Cotinine（中央値：紙巻 550、加熱式 571）のいずれの測定値においても統計学的に有意な差は認められなかった。この結果は、加熱式たばこを使用した場合でも、紙巻たばこと同等レベルのニコチン曝露が生じており、ニコチン依存を形成するリスクが同等であることを強く示唆している。これは、多くの喫煙者が加熱式たばこを使用する理由として挙げる「害が少ない」という認識と決定的に相反する事実である。

加熱式装置別の比較；加熱式たばこの製品種類別の比較では、TNM の中央値が IQOS (2,163) に対して、glo (3,020)、Ploom (3,258) であり、IQOS が他の 2 製品に比べて有意に低値を示した。この結果は、各製品の主流煙中に含まれるニコチン含有量（glo 1.55 mg/stick > Ploom 1.09 > IQOS 0.77）の傾向と一致しており、主流煙のニコチン含有量が喫煙者の実際の曝露量と直接的に相関していることが推察された。

受動喫煙者間の比較結果；受動喫煙者間においても、紙巻たばこの受動喫煙者（TNM 中央値 4.58）と加熱式たばこの受動喫煙者（3.08）との間に有意な差は認められなかった。過去の先行研究では紙巻たばこの曝露量が高いとされていたが、近年の加熱式たばこの普及および加熱装置の性能向上に伴い、加熱式たばこによる受動喫煙の曝露量が紙巻たばこと同水準に達している現状を反映している可能性がある。これにより、加熱式たば

こであっても受動喫煙による健康影響は決して無視できないことが明らかとなった。

3 歳児健診を活用した家族（父母・小児）のニコチン曝露評価

A 市で実施された 3 歳児健診の場において、幼児をもつ家庭の受動喫煙状況を調査するため、同意を得た 12 世帯 36 名（父 12 名、母 12 名、子ども 12 名）の尿検体を回収し、上述のニコチン代謝物 5 種類（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、TNM）のバイオマーカー測定を行った。オンラインによる自記式質問票においては、対象となった父親および母親全員が「現在喫煙をしていない（非喫煙者もしくは過去喫煙者）」と自己申告していた。しかしながら、バイオマーカーの分析結果では、参加者のうち 1 名の検体から現在の喫煙者レベルに相当するニコチン曝露量が検出され、もう 1 名の検体からも時々喫煙をしているか、あるいは極めて高濃度の受動喫煙を受けているレベルの曝露量が検出された。この結果は、前項の事業所健診のデータと同様に、喫煙に関する質問紙調査においては、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割合存在するという限界を改めて証明するものであり、正確な曝露実態の把握にはバイオマーカー分析による客観的な評価が不可欠であることを示している。

2. 受動喫煙に関する質問票調査と調査体制の確立

3 歳児健診を活用した家庭内受動喫煙の実態調査

子育て家庭における加熱式たばこの使用実態と受動喫煙のリスクを把握するため、A 市の 3 歳児健診対象児の家族に対し Web アンケート調査を実施した（回答：父 11 名、母 18 名など）。現在

喫煙していると回答した父親6名は、全員が20歳以下で紙巻たばこを吸い始め、その後全員が加熱式たばこへ切り替えていた。切り替えの理由としては「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きたばこに比べ害が少ない」と回答しており、製品に対する誤った安全認識が強く根付いていることが確認された。喫煙者の家庭内での主な喫煙場所は「玄関（4名）」や「換気扇の下（2名）」が上位を占め、家族への配慮を意識している姿勢が伺えた。しかし、同居する喫煙者がいる家庭のうち、30.8%が自宅内での喫煙について「特にルールはない」と回答している。さらに、母親の主な受動喫煙場所として「家庭」が最も多く挙げられており、子育て世代の家庭内における受動喫煙防止対策は依然として不十分であり、受動喫煙曝露が継続している実態が浮き彫りとなった。また、自家用車は全家庭が保有しており、「車内は禁煙」とするルールを設けている家庭が約6割強（父親63.6%、母親66.7%）を占める一方で、「紙巻たばこは不可だが、加熱式たばこは車内で喫煙できる」と回答した父親が27.3%存在し、密閉空間における加熱式たばこの受動喫煙リスクへの認識の甘さも示唆された。

職域健診受診者を対象とした調査体制の構築

紙巻たばこと加熱式たばこによる有害化学物質曝露の差異を中規模以上の集団で解析するため、防衛医科大学校（松尾・中山）を中心に、職域の健康診断受診者を対象とした調査体制の構築と倫理審査の調整を行った。燃焼由来の揮発性有機化合物（VOC）代謝物を中心とした、尿中に含まれる曝露・炎症・影響マーカーの尿中一日排泄量の推定方法に関する研究成果を取りまとめてお

り、これが確立されれば、多数の尿検体を用いた大規模疫学研究における解析精度の向上が期待される。また、対象者から紙巻・加熱式たばこの使用歴や1日の使用量、禁煙への関心度等を区別して聴取する臨床情報収集のための最適な質問項目を策定した。

3. 生体試料を用いたDNA損傷・遺伝毒性評価系の確立

疾患が認められていない喫煙者や受動喫煙者に対し、口腔内細胞等の非侵襲的な生体試料を用いてDNA損傷（遺伝毒性）を簡便に評価する手法の開発を行った（星薬科大学 戸塚）。ヒト胎児腎細胞株およびマウス肝正常細胞を用い、直接変異原であるメタンスルホン酸エチル（EMS）と、代謝活性化を要する間接変異原のベンゾ[a]ピレン（B[a]P、Rat S9 mix 併用）を24時間曝露し、DNA損傷応答を解析した。

γ-H2AX 蛍光免疫染色によるDNA二重鎖切断の可視化と定量；DNA二重鎖切断の指標であるγ-H2AXの蛍光免疫染色を実施した結果、EMS曝露群の細胞核内に明瞭なドット状のγ-H2AX foci（集積）が確認され、DNA損傷の発生が視覚的に捉えられた。核あたりの平均foci数を算出したところ、ヒト胎児腎細胞では対照群の3から21へ、マウス肝正常細胞では対照群の3から12へと、いずれもEMS曝露によって統計学的に有意な増加を示した。本手法は、画像解析ソフトウェアを用いた自動解析により、初期のDNA損傷を客観的かつ定量的に評価できることが実証された。

細胞内シグナル伝達の活性化解析（Phospho-ATR/Chk1 発現）；さらに、DNA損傷による細胞内チェックポイントのシグナル伝達の活性化を

確認するため、ウェスタンブロッティング法を用いて解析を行った。その結果、EMS および代謝活性化系を併用した B[a]P の両方の曝露において、Phospho-ATR (Ser428) およびその下流因子である Phospho-Chk1 (Ser345) の発現が確認された。特に、EMS 曝露下においては Phospho-Chk1 のバンド強度が曝露濃度に依存して増強しており、細胞が DNA 損傷に対して鋭敏にシグナルを増幅していることが示された。これにより、本評価系は「損傷部位の可視化・定量」と「細胞内シグナル伝達の活性化」の2つの側面から遺伝毒性を多角的に捉えることが可能な基盤技術として有用であることが示唆され、今後は実際の口腔内細胞等を用いた受動喫煙の健康リスク評価への応用が期待される。。

C. 考察

本研究における最も重要な知見は、尿中総ニコチン代謝物 (TNM) を指標とした客観的なバイオマーカー分析により、加熱式たばこ使用者が紙巻たばこ使用者と同等のニコチン曝露を受けており、依存形成リスクに差がないことが証明された点である。さらに、受動喫煙によるニコチン曝露量においても、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。一方で、質問票調査の結果からは、喫煙者自身のみならず同居家族においても「加熱式たばこは害が少ない」という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、家庭内や自家用車内における不十分な禁煙ルールの原因となっており、結果として非喫煙家族や小児の受動喫煙曝露を助長している可能性が極めて高い。また、健診の問診や自記式アンケート調査において、実態と異なる過少申告（隠れ喫煙や受動喫煙の無自覚）が多数存在することがバイオマーカー実測値から判明し、自己申

告に基づく調査枠組みの限界が明らかになった。そのため、今後の疫学調査や健康影響評価においては、今回確立したカットオフ値を用いた再分類や、バイオマーカー分析、さらには DNA 損傷応答評価等の客観的指標を標準的に組み込むことが不可欠である。

D. 結論

本研究により、以下の結論が得られた。

1. ニコチン曝露・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の観点においても、紙巻たばこと同レベルのニコチン曝露をもたらし、依存リスクや受動喫煙による健康影響を低減するものではない。

2. 客観的評価の重要性: 質問紙調査による自己申告には大きな限界があり、真の喫煙・受動喫煙実態を把握するためには尿中ニコチン代謝物等のバイオマーカー測定が必須である。

3. 新規評価法の有用性: 尿中バイオマーカーの分析手法や、口腔内細胞等への応用を見据えた γ -H2AX および Phospho-ATR/Chk1 を指標とする DNA 損傷評価系は、加熱式たばこの生体影響を迅速かつ定量的に判定するための信頼性の高いスクリーニング技術として機能する。

今後は、これらの研究成果や評価手法を自治体での禁煙支援事業や3歳児健診等の保健指導の場に戻元し、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受動喫煙防止対策の立案に貢献することが期待される。

E. 健康危険情報

なし

F. 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

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし