令和 7 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

加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と生体影響研究を組み合わせた能動喫煙・受動喫煙の健康影響評価

加熱式たばこの *in vivo* 遺伝毒性評価

研究代表者　戸塚　ゆ加里　　星薬科大学･衛生化学･教授

研究要旨：研究代表者（稲葉）らが開発した加熱式たばこから発生する主流煙エアロゾルを高い効率で動物に曝露する装置を用い、雄性 C57BL/6J マウスに対して、中期曝露（４週間）の条件で主流煙エアロゾルを曝露し、肺の遺伝毒性について ecNGS により評価するために NGS のためのライブラリ調製と NGS 解析の条件検討を行った。ecNGS には、エラー率が体細胞変異率より 2 桁低い(10 億部位当たり 5 部位未満のエラー)NanoSeq を採用した。 その結果、IQOS 曝露群と air-control 群の変異頻度は、それぞれ 2.86×10^{-8} (n = 3) と 2.62×10^{-8} (n = 4) であった。また、glo 曝露群では 3.88×10^{-7} (n = 3) の変異頻度が観察され、air-control 群の変異頻度 2.15×10^{-8} (n =2) に比較して増加した。さらに、96 trinucleotide context に基づく変異シグネチャー解析を実施した結果、喫煙関連シグネチャーとして知られる SBS4 に特徴的な C>A 変異の顕著な増加は認められなかった。各曝露群では、C>T の塩基置換が検出されたものの、明確な変異パターンは観察されず、Air-control 群と類似した変異スペクトルを示した。

研究協力者:
長谷川晋也　星薬科大学･衛生化学教室
石ケ守里加子　星薬科大学･衛生化学教室

A. 研究目的

加熱式たばこ製品は、改正健康増進法において「指定たばこ」という位置付けとなっており、紙巻たばこと比較して販売の歴史が浅いことから、現時点の科学的知見は、加熱式たばこの能動喫煙・受動喫煙による将来的な健康影響が未解明な点も多く、更なる科学的根拠の蓄積が必要とされている。

研究代表者の所属する国立保健医療科学院は，これまでに WHO-CC 指定協力研究センターとして、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なってきた（WHO TobLabNet SOP 11 and 13;電子たばこ、加熱式たばこ製品分析法)。この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（Chem.Res.Toxicol. 2018, 31,7,585-593、
Chem.Res.Toxicol.2020,33,2,576-583)。本研究では、これまでの研究成果（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加熱式たばこ製品の主流煙の成分分析および喫煙行動による健康影響評価を行う。また、②受動喫煙の健康影響評価（副流煙・受動喫煙環境調査と動物曝露実験）を行う。最終的に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、加熱式たばこ製品、加熱式たばこ互換機、電子たばこは、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っていく。
上記検討項目のうち、本分担研究では、加熱式たばこ等の新たなたばこ製品について、動物実験により曝露マーカー、毒性試験について調べ、加熱式たばこおよび新たなたばこ製品についての毒性評価およびその手法を検討する。

B. 研究方法

研究代表者（稲葉）らが開発した加熱式たばこから発生する主流煙エアロゾルを高い効率で動物に曝露する装置を用い、雄性 C57BL/6J マウスに対して、中期曝露（4 週間）の条件で主流煙エアロゾルを曝露し、肺の遺伝毒性について error-corrected NGS (ecNGS) により評価した。

曝露実験は 1 回 10 本で 1 日に 2 回、週 5 日曝露を 4 週間継続する条件で実施し、累計で IQOS 400 本【Experiment 1】または glo 400 本【Experiment 2】に相当する曝露量とした。大きな筒状のフォルダーを扇形の 5 区画に分割した装置を用い、C57BL/6J マウスを非拘束下で曝露した。また、コントロール動物は IQOS 曝露と同様にマウスを同じ筒状フォルダー内に入れ、曝露装置を用いて空気のみの曝露をおこなった（Air-control 群）。最終曝露から 4 日目にマウスを解剖し、両群の肺を採取し凍結した。

凍結した組織から NanoSeq に供するライブラリー調製を行うために、DNeasy® Blood & Tissue Kit を用いて total DNA を抽出した。抽出した gDNA を用いて、NanoSeq のためのライブラリー調製を行った。調製に関しては、Abascal F. et al., Nature 593 (7859):405-410 (2021) に報告された手法を基に実施した。また、調製したライブラリーの濃度は、Illumina 社シーケンサー用の Kapa Library Quantification Kit を用いて測定した。得られたデータの解析には NanoSeq 専用のソースコード () を使用した。
（倫理面への配慮）
本研究で行う動物実験にあたっては、国立保健医療科学院における動物実験に関する指針に則って実施し、3R の原則に則り、可能な限り実験動物の苦痛軽減処置を行う。

C. 研究結果

【Experiment 1】
IQOS 曝露群および Air control 群のマウス肺組織由来ゲノム DNA を用いて、NanoSeq による変異シグネチャー解析を実施した。各サンプルにおける変異スペクトル解析の結果、主として C>T 変異が優位に検出され、次いで C>A 変異および T>C 変異が認められた (図 1)。IQOS 曝露群では、C>T 変異の増加傾向が観察された。また、Air Control 群においても C>T 変異を主体とした変異パターンが認められたが、IQOS 曝露群では一部のサンプルで変異頻度の増加が観察された。IQOS 曝露群と Air-control 群の変異頻度は、それぞれ 2.86×10^{-8} (n = 3) および 2.62×10^{-8} (n = 4) であった。

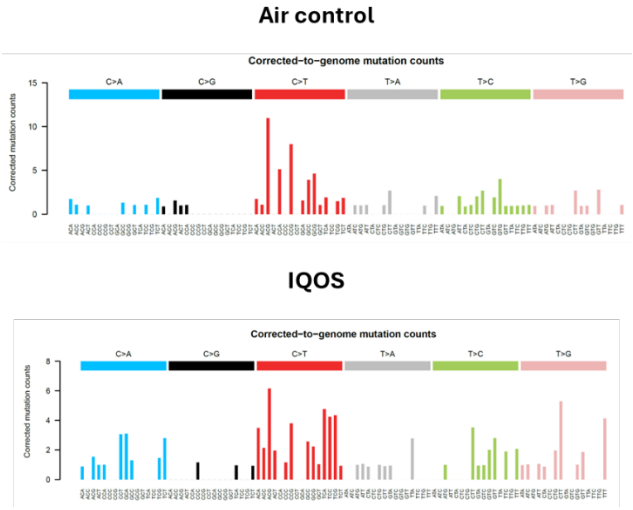


図 1　NanoSeq による IQOS 曝露群の変異パターン解析

glo 曝露群について解析した結果、IQOS 曝露群と同様に C>T 変異が主要な変異として検出されたが、C>A 変異および T>C 変異の寄与も認められた。glo 曝露群は 3.88×10^{-7} (n = 3) の変異頻度であり、一つの個体では高い変異頻度が認められ、C>T 変異の増加が観察された。一方、Air Control 群のサンプルでは、変異頻度は低値であり 2.15×10^{-8} (n = 2) であった。
以上より、NanoSeq を用いた解析によってマウス肺組織における低頻度体細胞変異の検出が可能であり、glo 曝露群では変異頻度の増加傾向が認められた。

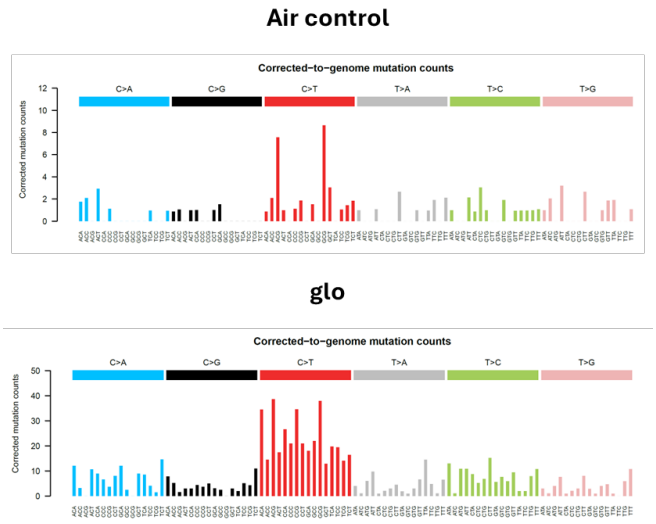


図 2 NaoSeq による glo 曝露群の変異パターン解析

D. 考察

各曝露群で主として C>T 変異が検出されたが、紙巻たばこの喫煙による変異シグネチャーとして知られる SBS4 に特徴的な C>A 変異の顕著な増加は認められなかった。この結果は、今回の曝露条件では、紙巻たばこで報告されているような典型的な喫煙による変異パターンが誘導されないことを示唆している。

さらに、96 trinucleotide context に基づく変異シグネチャー解析では、一部サンプルで変異頻度の増加が認められたものの、曝露群間で共通する特徴的な変異パターンは観察されなかった。IQOS 曝露群では Air-control 群と類似した変異スペクトルを示したことから、4 週間曝露条件では明確な変異シグネチャー形成に至らなかった可能性が考えられた。

一方、glo 曝露群では変異頻度の上昇が認められたことから、加熱温度、あるいは発生エアロゾル中の化学成分の違いが変異形成に影響した可能性が考えられる。しかし、本研究では変異頻度にもばらつきが認められたことから、サンプル数および解析塩基数の調整が必要である。

E. 結論

IQOS 曝露群、glo 曝露群、および Air Control 群について変異スペクトル解析を行った結果、各群において主として C>T 変異が検出された。特に IQOS 曝露群の一部サンプルでは変異頻度の増加が認められ、C>T 変異の誘導が顕著であった。また、glo 曝露群においても IQOS 曝露群と類似した変異傾向が認められた。

以上より、本研究では NanoSeq を用いることで、マウス肺組織における低頻度体細胞変異を検出可能であることを示した。また、IQOS および glo 曝露によって変異スペクトルに変化が生じる可能性が示唆された。

F. 研究発表

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、沖縄、2025 年 7 月 2−4 日
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、沖縄、2025 年 7 月 2−4 日
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、千葉、2025 年 8 月 20-22 日
4. Yukari Totsuka[1], Momoko Nagai[2], Asmaa Elzawahari[2], Rikako Ishigamori[1], Shinya Hasegawa[1], Mamoru Kato, Elucidating the Relationship between Environmental Factors and Human Cancer Development Using Next Generation Sequencers, EMGS2025, ニューヨーク、米国、2025 年 9 月
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、名古屋、2025 年 9 月 12,13 日
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、名古屋、2025 年 9 月 12,13 日
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、金沢、2025 年 9 月 25−27 日
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トマテリアルの遺伝毒性評価、第 84 回日本癌学会総会、金沢、2025 年 9 月 25−27 日
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、金沢、2025 年 9 月 25−27 日
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, ソウル、韓国 2025 年 10 月
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、大阪、2025 年 10 月

12. 戸塚 ゆ加里、Screening for genotoxic compounds and study of carcinogenic mechanisms using next-generation sequencing (NGS) and adductome analysis、静岡、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
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、静岡、第 54 回日本環境変異原ゲノム学会、2025 年 11 月 22,23 日
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トマテリアルの包括的毒性評価、静岡、第 54 回日本環境変異原ゲノム学会、2025 年 11 月 22,23 日
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、静岡、第 54 回日本環境変異原ゲノム学会、2025 年 11 月 22,23 日
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、東京、2025 年 12 月
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、大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27-29 日
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、大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27-29 日
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、大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27-29 日
20. 長谷川 晋也、石ケ守 里加子、髙橋 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、大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27-29 日
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、大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27-29 日

G. 知的所有権の取得状況

１．特許取得

該当なし。

２．実用新案登録

該当なし。

３．その他

該当なし。

別紙４

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

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

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
Ishigamori1 R., Ohno A., Fukuhara K., Hasegawa S.,Totsuka Y	Genotoxicity Assessment of Mesoporous Silica and Graphene Oxide in GDL1 Cells	Genes & Environ	48(1)	2	2025
Betsuyaku Y., Motohashi M., Sassa A., Takamura-Enya T., Totsuka Y	Analysis of Novel DNA Adducts Derived from Acetaldehyde	Biomolecules	15 (6):	878	2025

別紙５

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について
（平成26年4月14日科発0414第5号）」の別紙に定める様式（参考）

令和4年　5月　　1日

厚生労働大臣
（国立医薬品食品衛生研究所長）　殿
（国立保健医療科学院長）

機関名　星薬科大学

所属研究機関長　職　名　　学長

氏　名　　牛島　俊和

次の職員の(令和)　３年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

２．研究課題名　加熱式たばこなど新たなたばこ製品の成分分析と生体影響研究を組み合わせた能動喫煙・受動喫煙の健康影響評価

３．研究者名　（所属部署・職名）　　星薬科大学・教授

（氏名・フリガナ）　　戸塚ゆ加里・トツカユカリ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無 有　無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　■	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　■	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　■	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称：　　）	□　□	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査の場合は、その理由を記載すること。

（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ■　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ■　無 □(無の場合はその理由:
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ■　無 □(無の場合は委託先機関:
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ■　無 □(無の場合はその理由:
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ■（有の場合はその内容：

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。