

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)  
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。

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、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 の定量を行い、紙巻たばこと比較すると共に、たばこスティックタイプの違い (フレーバーの有無) について検証した。

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 (R: REGULAR, F: TROPICAL MENTHOL), IQOS ILUMA (R: TEREA REGULAR, F: TEREA PURPLE MENTHOL), glo (R: KENT bright tobacco, F: neo BOOST BERRY), glo hyper+ (R: KENT TRUE TOBACCO, F: KENT TRUE BERRY), PloomS (R: MEVIUS REGULAR, F: CAMEL APPLE FLAVOR), PloomX (R: MEVIUS RICH, F: CAMEL MUSCAT GREEN) の主流煙を測定対象とした (R: レギュラータイプ, F: フレーバータイプ)。また、紙巻たばこの標準たばこである 3R4F および CM8 の主流煙を比較対象とした。

## 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 つのベンゾキノン (BQ) 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 の定量性の再確認

PAHQ の定量に使用している GC-MS/MS 装置設定の不具合があり、加熱式たばこ煙中の PAHQ の定量性について再度確認した。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バリデーション試験を行った。加熱式たばこ煙で検出されたすべての PAHQ の定量性を確認した結果、日内および日間変動について  $100 \pm 20\%$  の真度が得られ、RSD 値も  $25\%$  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再確認できた。

## 2. 加熱式たばこ主流煙中 PAHQ の定量と比較

加熱式たばこ煙の定量を再度実施し、加熱式たばこおよび紙巻たばこの主流煙中から最も多くて 21 種類の PAHQ を同定し、加熱式たばこ主流煙中の総濃度は、約  $1.0 \sim 93 \text{ ng/puff}$  であった (図 1)。一方、紙巻たばこ主流煙中の PAHQ 総濃度は  $3,900 \sim 7,300 \text{ ng/puff}$  であり、加熱式たばこに比べて著しく高濃度であった。加熱式たばこのデバイス間では、IQOS3 > IQOS ILUMA > glo Hyper<sup>+</sup> > Ploom X > glo > Ploom S の順番で PAHQ の総濃度が高く、この傾向はレギュラータイプとフレーバータイプで同じであった。また、スティックタイプ (フレーバーの有無) について比較すると、IQOS ILUMA と glo において、異なるスティックタイプで約 2 倍の濃度差があったが、その他のデバイスでは、濃度差はほとんど観察されなかった。この結果から、PAHQ の生成にスティックタイプの違い (フレーバーの有無) は大きく影響しないと考えられた。

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、BQ 類が組成の  $98\%$  以上を占め、残りは 2, 3 環の PAHQ が占めていた。また、濃度は低い 4 環の PAHQ も一部検出された。一方で、5 環以上の環数を有する PAHQ は検出されなかった。加熱式と紙巻の違いや加熱式デバイスやスティックタイプの違

いにかかわらず、全てのたばこで検出種や組成はほとんど同様の傾向を示した。BQ 類以外では特に 3 環の 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、9 位と 10 位のフロンティア電子密度が高く、他の位置よりも酸化されやすいと考えられる。定量できた PAHQ 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)。

紙巻たばこに対する加熱式たばこ煙中 PAHQ の割合について、紙巻たばこの PAHQ 濃度を  $100\%$  として算出したところ、すべての加熱式たばこにおいて PAHQ 濃度は紙巻たばこに対して  $3\%$  以下となった。また、紙巻たばこ加熱式たばこにおいて、燃焼・加熱温度と PAHQ 濃度との間に相関が観察された。これらのことから、たばこの燃焼・加熱温度の上昇に伴って PAHQ 濃度が増加することが分かった。

## D. 結論

加熱式たばこ及び紙巻たばこ主流煙中の PAHQ を分析したところ、最も多くて 21 種類の PAHQ を検出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 を生成しにくいと考えられ、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。加熱式たばこ煙に含まれる PAHQ のような未同定の有害物質を継続して同定・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).
- (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).

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

吉岡響, 吉田さくら, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽. 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 環境化学物質 3 学会合同大会. 2022.6.14-16. ハイブリッド開催。

吉岡響, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽, 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定量とたばこスティックの比較 日本薬学会 第 143 年会. 2023.3.25-28. ハイブリッド開催.

### 3.その他

該当なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

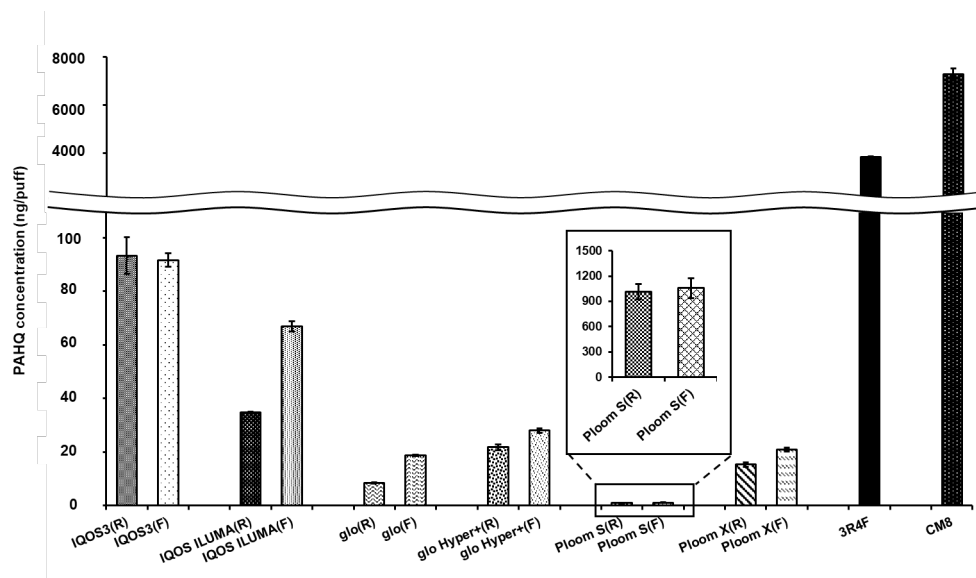


図1 加熱たばこ主流煙中の総 PAHQ 濃度