

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)  
分担研究総合研究報告書

加熱式たばこによる健康危機発生を回避するための非臨床安全性評価に関する基礎的研究  
(19FA1015)

加熱式たばこの *in vivo* 一般毒性評価

研究分担者 中江 大 東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科 教授

研究要旨：本研究の目的は、動物を用いて加熱式たばこの一般毒性および遺伝毒性の評価を行い、科学的根拠に基づいた加熱式たばこの規制などによるヒト健康の維持・増進に資する基礎的情報を得ることである。その中で、本分担研究は、主に一般毒性について解析する。第1年度は、動物実験開始に先立ち、加熱式たばこの安全性に関する情報を収集した。その結果、加熱式たばこの主流煙・副流煙には、有害物質が存在することが判明した。また、加熱式たばこは、ヒトに肺疾患を誘発し、その原因に重金属やビタミンE酢酸塩が関与する可能性が示された。以上の結果から、加熱式たばこは必ずしも安全であると言えず、本研究を含む各種の解析により精確なリスク評価を行い、その結果に基づき、科学的根拠をもった適切なリスク管理を行う必要があることが示された。第2年度は、気管内投与によるマウスの反復投与毒性試験（一般毒性試験）として、加熱式たばこおよび対照の紙巻きたばこからの検体を、雌性 C57BL/6J 系および gpt delta マウスの気管内に投与し、肺・消化管・肝・膀胱などたばこの標的臓器として知られるものを含む各種臓器について毒性病理学的に解析した。また、肺においては、炎症など毒性変化の背景機構に関与すると考えられる炎症系遺伝子の発現を解析した。さらに、気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid (BALF)) を採取し、細胞学的および分子生物学的手法で炎症関連マーカーなどについて解析した。その結果、いずれの試験においても紙巻および加熱式タバコ捕集液の気管内投与による明らかな変化が得られなかった。これについては、投与した捕集液の濃度自体が低かったことにも関連していると考えられ、より高濃度での曝露条件において精査する必要があるものと考えられた。

**研究協力者:**

美谷島 克宏 東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科  
准教授

煙山 紀子 東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科  
助教

## A. 研究目的

加熱式タバコは、2014年以降に日本国内に導入され、従来の紙巻きタバコに比べて有害性成分が少なく、副流煙があまり発生しないなどの情報から、多くの喫煙者が利用している。しかし、これらの情報は、メーカーが発信しているものであり、必ずしも科学的信憑性が担保されていると言えない。それゆえ、加熱式タバコによるヒト健康影響についての懸念は払拭されていないが、これまで加熱式タバコの直接的な有害性を評価する研究はメーカーにより実施されたものがあるのみである。したがって、加熱式タバコこのリスクは、中立的な立場で科学的に評価する必要がある。一方、衆議院・参議院において為された健康増進法の一部を改正する法律案に対する付帯決議には「指定タバコによる受動喫煙が人の健康に及ぼす影響に関する調査研究を一層推進し、可能な限り早期に結論を得ること」と明記されていて、厚生労働行政において加熱式タバコこのリスク評価・管理は喫緊の課題となっている。

本研究の目的は、以上の背景に立脚し、動物を用いて加熱式タバコの一般毒性および遺伝毒性の評価を行い、科学的根拠に基づいた加熱式タバコの規制などによるヒト健康の維持・増進に資する基礎的情報を得ることである。その中で、本分担研究は、主に一般毒性について解析する。

## B. 研究方法

第1年度は、動物実験の開始に先立ち、文献

調査などにより、加熱式タバコの安全性に関する情報を収集した。

第2年度は、前年度の予備検討の結果および収集した情報に基づき、1年目で検討した項目に基づきin vivo非臨床安全性試験を、気管内投与によるマウスの反復投与毒性試験(一般毒性試験)として実施した。試験は、前年度と同様に、加熱式タバコおよび対照の紙巻きタバコからの検体を準備し、雌性C57BL/6J系およびgpt deltaマウスの気管内に投与し、肺・消化管・肝・膀胱などタバコの標的臓器として知られるものを含む各種臓器について毒性病理学的に解析した。また、肺においては、炎症など毒性変化の背景機構に関与すると考えられる炎症系遺伝子の発現を解析した。さらに、気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid(BALF))を採取し、細胞学的および分子生物学的手法で炎症関連マーカーなどについて解析した。

### (倫理面への配慮)

動物実験は、関係機関による倫理審査を受け、国内外の宣言・条約・法律・ガイドライン等に準拠して実施した。

## C. 研究結果

第I年度の結果として、加熱式タバコの主流煙中で、タバコ特異的ニトロソアミン、多環芳香族炭化水素、アンモニア、一酸化炭素など有害物質の含有量は、紙巻きタバコの場合に比べて少量である。しかし、それは、量的に少ないということであって、存在しないというわけでない。さらに、それらの中には、変異原性物質であって、毒性・発がん性に閾値を求めることができないものが含まれている。また、一酸化炭素や多環芳香族炭化水素であるアセナフテンについては、加熱式タバコの主流煙の含有量の方がむしろ多いという報告もある。主流煙のニコチンや粉塵の含有量は、多くの報告において加熱式

たばこと紙巻たばこで同等であるとされている。揮発性化合物については、多くが加熱式たばこの場合に少量であるが、アクロレイン、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドなどについては紙巻たばこ同等であると報告されている。一方、加熱式たばこの副流煙については、ニコチン、ホルムアルデヒド、粉塵が含まれていることが明らかになっている。

米国を中心とする地域では、加熱式たばこの主流煙による製品使用関連肺傷害(EVALI)と呼ばれる疾患が報告されている。ECALIの患者は、呼吸困難および咳嗽を主症状とし、画像診断で両側の肺胞性陰影を観察し、低酸素血症を伴う。EVALIについては、精力的な研究が行われており、その原因として、テトラヒドロカンナビノールやビタミンE酢酸塩の関与が有力視されている。また、EVALIに関しては、喘息などの基礎疾患があると発生数や重症度が高まると報告されている。

加熱式たばこがヒトの疾患リスクに及ぼす影響については、疫学的研究が為されている。それらによれば、加熱式たばこの使用は、がんおよび非がん病変のリスクを高めるとされている。の報告がある。それには、前述の有害化学物質やEVALIが関与しているが、それ以外に、加熱式たばこが発生させるエアロゾル中の重金属の影響が大きいとされている。関係する重金属としては、主にクロム・ニッケル、従にカドミウム・鉛・マンガン・砒素などが挙げられている。

第2年度の結果として、先ず、雌性C57BL/6J系マウス(10週齢)の気管内に、紙巻および加熱式タバコ捕集液を週1回・計13回投与した。投与グループの内訳は、第1群:コントロール(PBS), N=14, 第2群:紙巻タバコ(20本), N=13, 第3群:IQOS(5本), N=13, 第4群:IQOS(10本), N=12, 第5群:IQOS(20本), N=14とした。本実験条件下での紙巻および加熱式タバコ捕集液投与群においては、体重抑制などを観察しなかった。最終投与から24時間後には、

上記の臓器を採取し解析を実施した。肺の病理組織学的観察においては、陽性対照群(第2群)およびIQOS投与群(第3~5群)の一部のマウスに、肺胞マクロファージ・気管支周囲炎症細胞・血管周囲炎症細胞の浸潤を散発的に認めしたが、第3~5群の変化に用量相関性がみられなかった。これらは、陰性対照群(第1群)に観察されなかったため、被験物質投与に関係した変化である可能性を否定できないが、毒性学的意義が低いものと評価した。肺組織を用いた遺伝子発現解析では、炎症関連遺伝子としてTNF- $\alpha$ の発現を解析したが、第3群で発現上昇を示したものの、他の群間に明確な差を認めず、また、ばらつきも大きかった。BALFにおいては、TNF- $\alpha$ ・IFN- $\gamma$ ・IL2・IL4・IL6・IL10・IL17A濃度を測定したが、群間に明確な差を認めず、ばらつきも大きかった。また、肺以外の観察臓器においては、投与の影響を示唆する明らかな組織学的変化を認めなかった。

次いで、気管内投与によるgpt delta マウスにおけるin vivo 遺伝毒性試験に由来する採取材料を用いては、加熱式たばこ対照の紙巻きたばこにより誘発される一般毒性について、上記のC57BL/6J系マウスの試験と同様に解析した。実験系は、雌gpt delta マウス(10週齢)の気管内に、紙巻および加熱式タバコ捕集液を週2回・計13回投与した。投与グループの内訳は、第1群:コントロール(PBS), N=5, 第2群:紙巻タバコ(10本), N=5, 第3群:IQOS(10本), N=5, 第4群:IQOS(20本), N=5とした。本実験条件下での紙巻および加熱式タバコ捕集液投与群における体重抑制などは観察されなかった。最終投与から24時間後には、上記の臓器を採取し解析を実施した。肺の相対重量は、紙巻タバコ群でコントロールに比べ有意に増加し、IQOS投与群でも増加傾向が観察されたが統計学的に有意な変化でなかった。肺の組織学的解析においては、陰性対照群(第1群)と陽性対照群(第2群)の一部のマウスに、肺胞マクロファージ・血管周囲炎症細胞の浸潤を散

発的に認められたが、程度も軽微なものが多く、また、IQOS 投与群(第 3・4 群)に観察しなかった。肺組織を用いた遺伝子発現解析では、炎症関連遺伝子として TNF- $\alpha$  の発現を解析したが、ばらつきが大きく、群間に明確な差を認めなかった。BALF においては、TNF- $\alpha$ ・IFN- $\gamma$ ・IL2・IL4・IL6・IL10・IL17A 濃度を測定したが、群間に明確な差を認めず、ばらつきも大きかった。また、肺以外の観察臓器において、投与の影響を示唆する明らかな組織学的変化は認められなかった。

#### D. 考察

第 1 年度について、冒頭に述べたように、加熱式たばこは、従来の紙巻きタバコに比べて有害性成分が少なく、副流煙があまり発生しないという情報が流布されているが、文献調査を行ったところ、そのような情報が正しくないことが明らかとなった。加熱式たばこの主流煙に含まれる有害物質は、紙巻たばこの場合より少量であることが多い。しかし、中には同等かむしろ多量である場合もあり、いずれにしても、それらの化学物質の性質上、毒性・発がん性を無視または過度に軽視すべきでない。さらに、副流煙は存在し、その中にも量的な多寡はともかく有害物質が含まれているのは事実である。これらの報告には加熱式たばこの種類や測定条件など様々な影響要因があり、相互に異なる知見も発表されているので、加熱式たばこの安全性を評価するに当たってはそうした状況に鑑みて慎重に検討することが必要である。その意味で、本研究の重要性は、高まったものと考えられる。

また、EVALI の存在は、加熱式たばこの使用が実際にヒトの肺疾患を誘発することを示すものである。EVALI については、今後、その詳細な実態を解析し、また、日本の状況を調査し、加熱式たばこのリスク評価に反映する必要がある。また、喘息など EVALI の高リスク群が存在することは、加熱式たばこのリスク評価、さらにリスク管理において考慮する必要がある。

第 1 年度の文献調査の結果、加熱式たばこの毒性、また、それによるヒト疾患リスクへの悪影響が評価および管理すべき事象であることが明らかとなったが、その詳細については様々な角度からのさらなる解析が必要である。中でも当該毒性の原因または増悪因子となる物質に関する調査と解析はきわめて重要であり、その意味でエアロゾル中の重金属がヒトの疾患リスクの増大因子であると判明したことは注目に値する。

第 2 年度の結果より、C57BL/6J 系マウスの試験においては、陽性対照群(第 2 群)および IQOS 投与群に投与の影響を示唆する毒性学的情報が得られなかったものと判断した。また、実験系においては、陽性対照群(第 2 群)および IQOS 投与群に投与の影響を示唆する毒性学的情報が得られなかったものと判断した。

上記の原因としては、投与した捕集液の濃度自体が低かったことにも関連していると考えられ、より高濃度での曝露条件において精査する必要があるものと考えられた。

#### E. 結論

第 1 年度の文献調査の結果、加熱式たばこの安全性は、ヒトの健康の維持・増進を図る厚生労働行政において、重要な要素であることが判明した。したがって、当該安全性については、中立公正で科学的なリスク評価に基づき、適切にリスク管理し、それらに関するリスクコミュニケーションを担保する必要がある。

第 2 年度の一般毒性の評価を目的として実施した上記の *in vivo* 試験においては、いずれも紙巻および加熱式タバコ捕集液の気管内投与による明らかな変化が得られなかった。

以上の成果は、加熱式たばこのリスク評価に関する今後の研究・施策の基礎的な情報として活用する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- (1) 中江 大. 化学物質リスク評価の最前線.  
第9回レギュラトリーサイエンス学会学術大会(2019年9月7日, 東京都千代田区).

## G. 知的財産権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし