

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)  
令和3年～5年度 総合分担研究報告書

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

分担研究者 煙山 紀子 東京農業大学  
研究協力者 美谷島 克宏 東京農業大学  
研究協力者 中江 大 帝京平成大学

#### 研究要旨

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** マウスに、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。タバコ喫煙装置は、1ポートから4ポートへ改良され、一度に多くのマウスへの曝露が可能となった。さらに拘束条件から非拘束条件で5匹同時に曝露できるまで改良を重ねた。その結果、拘束条件下では体重減少と胸腺の萎縮が観察され、IQOS 曝露による免疫学的な影響が疑われたが、拘束ストレスの影響も示唆された。非拘束下においては、病理組織学的に胸腺では Air 群・IQOS 曝露群間で明らかな差はなく、曝露条件の改善によるものと考えられた。その他組織学的な変化は明らかでなかったものの、肺・腎臓など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。

#### A. 研究目的

近年普及しつつある加熱式たばこの安全性については、知見が限られている。健康増進法

(改正案)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が、加熱式たばこの受動喫煙による健康影響については、さらなる科学的根拠の蓄積が必要とされている。

本分担研究は、国立保健医療科学院において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することを目的に行った。

#### B. 研究方法

##### 1. 動物実験

本研究では、雄性 **gpt delta** マウスを用いた。群設

定は、令和3年度は雄性 **gpt delta** マウス（入荷時8週齢）を用い、対照群6匹、IQOS エアロゾル曝露群を4匹とし、1日あたり1時間で5本分の曝露を午前・午後に分け2回行った。同曝露を5日間行い、合計50本相当のエアロゾルを曝露した。対照群は通常飼育を行った。令和4年度は、**gpt delta** マウス（入荷時8週齢）IQOS 曝露群7匹、Air 曝露群8匹、ケージコントロール（対照）群4匹とした。4週間に亘って1日あたり5本分を午前と午後で1時間ずつ拘束し4ポートシステムより噴霧により曝露した。ケージ対照群は通常の飼育を行った。令和5年度は、4ポートシステムをさらに改良し、マウスを非拘束で5匹同時に曝露できるチャンバーを開発した。このシステムを用いて、4ポートシステムで実施した倍量の加熱式タバコ主流煙エアロゾルの曝露を行った。雄性 **gpt delta** マウス（入荷時5週齢）に、4週間に亘って1日あたり20本分を午前と午後で1時間ずつ非

拘束の噴霧により曝露した(令和5年度1回目)。さらに、同条件に加えて1日あたり10本分を曝露した群を設定し、再度実験を行った(令和5年度2回目)。

本曝露は、本研究の分担者である国立保健医療科学院・牛山らにより実施された。

## 2. 解析

当分担としては、解剖以後に採取された諸臓器を用いてBALFサイトカインアッセイ、病理組織学的解析、遺伝子発現解析を実施した。

### C. 結果及び考察

#### 1. 令和3年度

令和3年度では、5日目のエアロゾル曝露中に1匹が死亡し、曝露が完了したIQOSエアロゾル曝露群は3匹となった。曝露群においては、体重減少(図1)及び胸腺重量の減少(図2)が見られた。

病理学的解析において、曝露群では、胸腺の萎縮が観察された。病理組織学的観察においても、胸腺の萎縮が認められた。脾臓では曝露群の1例において髄外造血の亢進が認められた。その他、腎臓・肝臓・心臓・肺及び白色脂肪・褐色脂肪において対照群と曝露群間に明らかな差は見られなかった。

炎症性サイトカインレベルの測定については、BALF中、血清中、いずれもばらつきが大きく、群間に明確な差が見られなかった。

#### 2. 令和4年度

令和4年度では、ケージ対照群では、曝露期間中に体重増加が見られたが、Air群とIQOS曝露群では、体重増加は認められなかった(図3)。解剖時の臓器重量測定において、肝臓、腎臓及び脾臓では、群間に明らかな差は見られなかったが、胸腺では、Air群とIQOS曝露群において相対重量がケージ対照群より低値であった(図4)。病理組

織学的解析では、Air群とIQOS曝露群共に、ごく軽度の胸腺の萎縮が観察された。しかし、Air群とIQOS曝露群間に明らかな差は見られなかった。また、肝臓、腎臓及び脾臓ではケージ対照群とAir群・IQOS曝露群間に明らかな差は見られなかった。

遺伝子発現解析では、肺・肝臓・腎臓・心臓において、ケージ対照群及びAir群と比較し、IQOS曝露群では、炎症関連および酸化ストレス関連遺伝子の発現において、一部上昇あるいは低下傾向にあったものの、明らかな変化はみられなかった(図5)。

#### 3. 令和5年度

令和5年度では、1回目の実験では、曝露期間中における体重増加は、ケージ対照群に対して、Air群とIQOS曝露群では、体重増加の抑制が認められた(図6)。一方で、Air群とIQOS群に有意な差は見られなかった。相対臓器重量は、胸腺をはじめ各群間において有意な差はみられなかった(図7)。病理組織学的にIQOS曝露による胸腺、肝臓、心臓および腎臓等諸臓器への明らかな影響を見出すには至らなかった。しかしながら、肺組織及び腎臓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(図8)。2回目の実験においても、曝露期間中における体重増加は、ケージ対照群に対してAir群とIQOS曝露群では同様に体重増加の抑制が認められた。相対臓器重量は、Air群に比してIQOS20本群で、腎臓重量が有意に増加し、一方で、白色脂肪重量は有意に低下した。その他の臓器重量に変化はみられなかった。現在、遺伝子発現解析ならびに組織学的解析を行い、本実験の結果を精査している。

#### 4. 考察

加熱式タバコの主流煙曝露装置の開発により、マウスへの主流煙エアロゾル曝露に対する毒性病理学的解析を実施した。拘束下における曝露で

は、胸腺の萎縮が Air 群においても認められ、拘束ストレスの影響が示唆された。その後、非拘束下での曝露装置へと改良されたことで、ケージコントロール群に比して Air 群と IQOS 群において体重増加の抑制はみられたものの、胸腺重量への影響は消失し、拘束ストレスが緩和されたことが示唆された。Air 群に比して IQOS 群で肝臓・心臓・腎臓・脾臓・胸腺では明らかな組織学的変化はみられなかったが、肺・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もあるものと考えられた。

#### **D. 結論**

本分担研究は、マウスにおける IQOS エアロゾル曝露による加熱式たばこの毒性病理学的影響について解析した。本実験において、曝露装置の改

善を図った結果、IQOS 曝露において免疫系組織の影響を見出すには至らなかったものの、組織中の遺伝子発現解析では一部の炎症および酸化ストレス関連遺伝子の上昇を認めた。よって、本分担研究における IQOS 曝露は、病態形成以前の段階において肺および他組織遺伝子発現へ影響を与える可能性が示唆された。

#### **E. 研究発表**

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし
3. その他  
なし

#### **F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

図 1：令和 3 年度 IQOS エアロゾル曝露期間中の体重推移

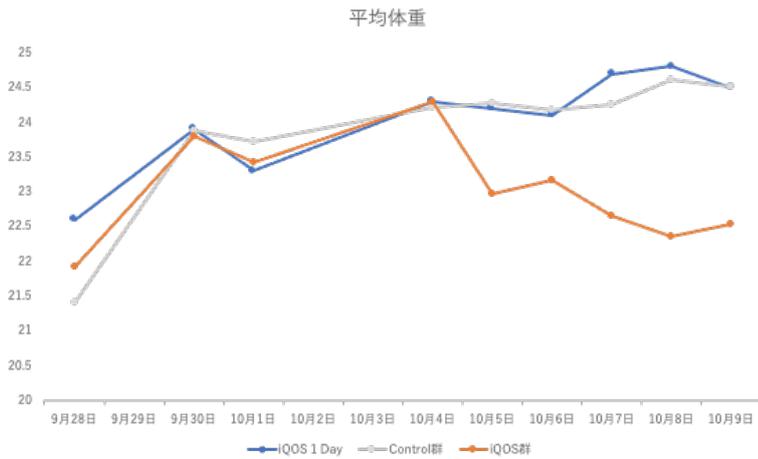


図 2：令和 3 年度 解剖時の胸腺重量

胸腺・平均重量

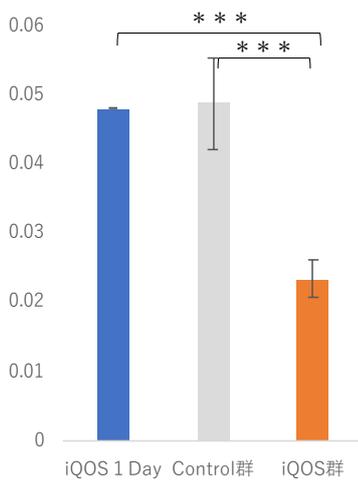


図 3：令和 4 年度 IQOS エアロゾル曝露期間中の体重推移

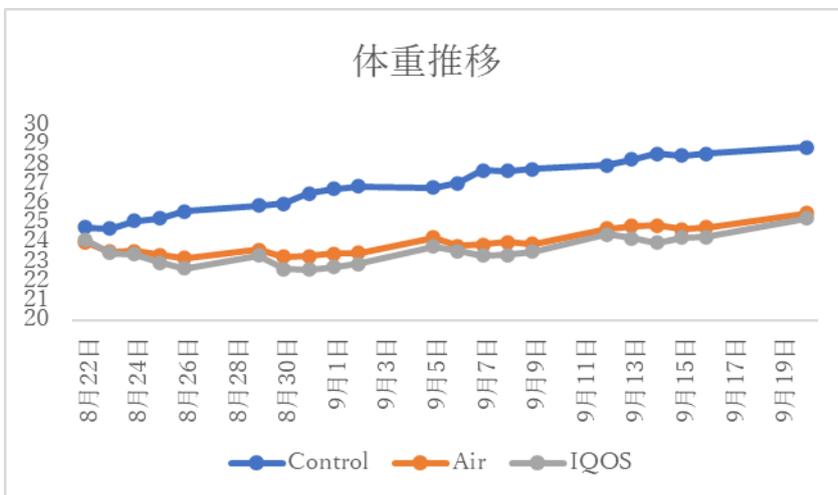


図4：令和4年度 解剖時の胸腺相対重量

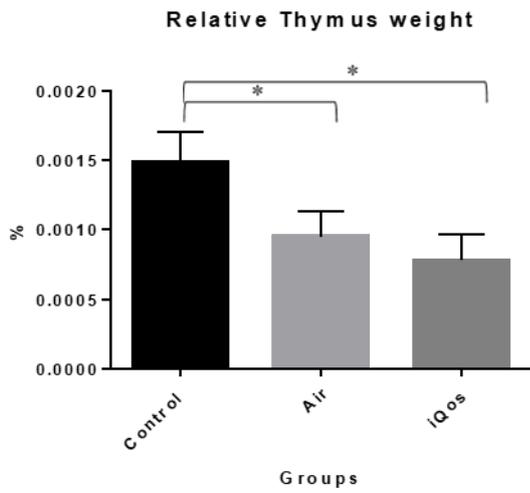


図5：令和4年度 肺における炎症関連遺伝子発現

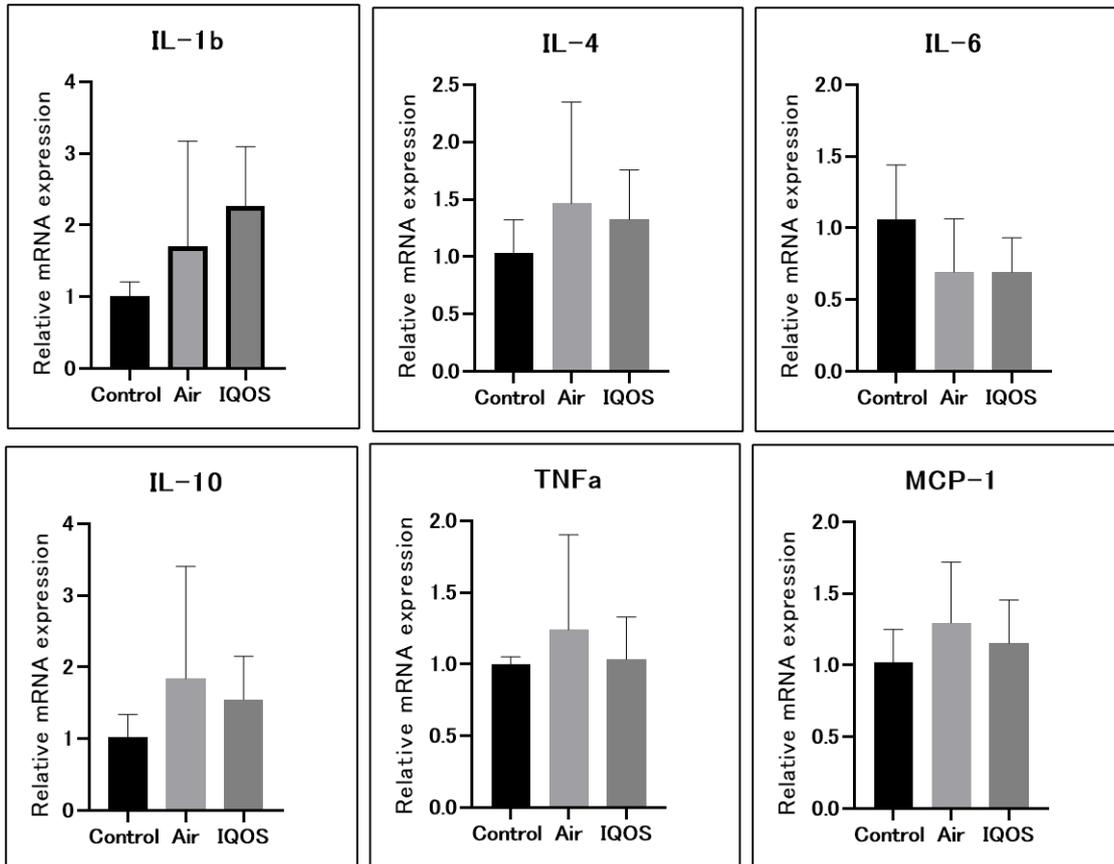
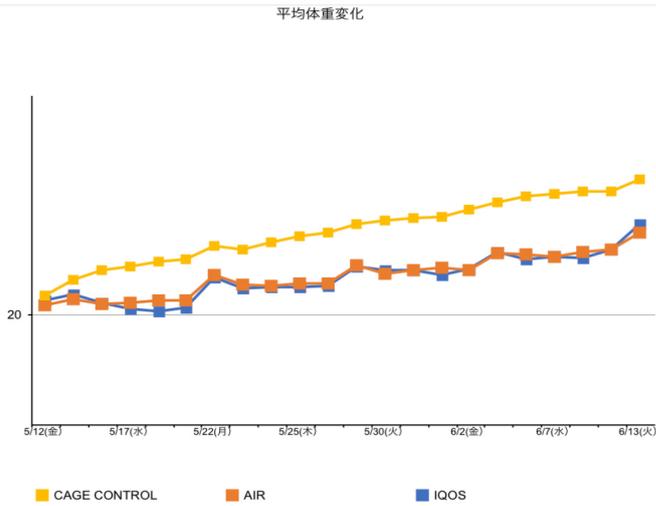


図 6 : 令和 5 年度 IQOS エアロゾル曝露期間中の体重推移  
令和 5 年度 1 回目



令和 5 年度 2 回目

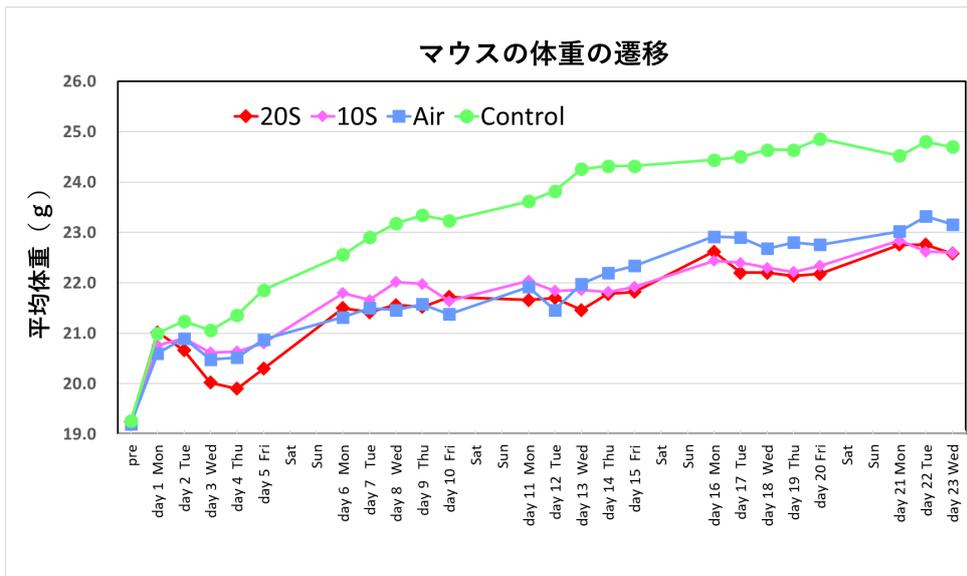


図 7 : 令和 5 年度 1 回目 解剖時の胸腺相対重量

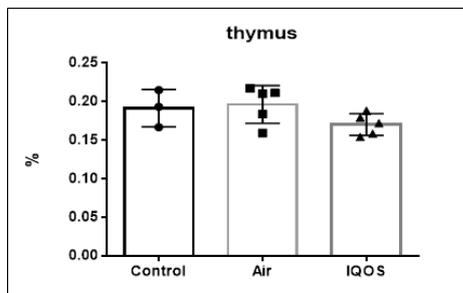
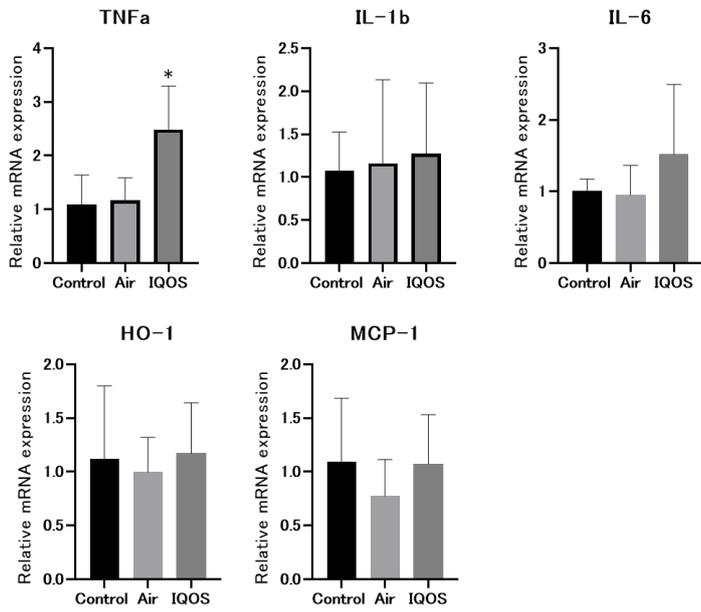
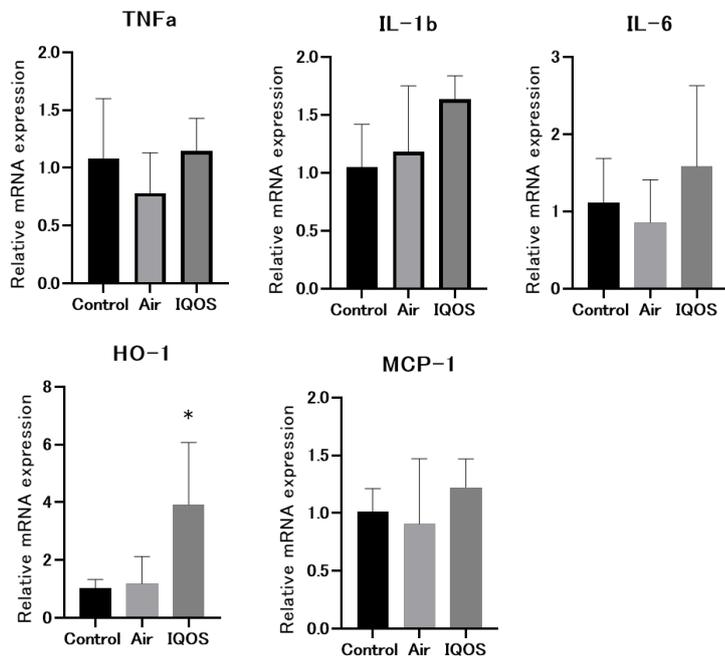


図 8 : 肺および腎臓遺伝子発現解析  
肺



\* = VS Air 群

腎臓



\* = VS Air 群