

令和 5～7 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)
総合研究報告書

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

本総合研究は、近年急速に普及している加熱式たばこについて、「紙巻たばこよりも害が少ない」という認識が広く浸透している現状に対し、疾患が認められていない喫煙者および受動喫煙者の健康影響を客観的かつ科学的に評価することを目的とした。特に、強い依存性物質であるニコチンの曝露実態や家庭内での受動喫煙の影響を明らかにするため、非侵襲的に採取可能な尿や口腔内細胞等の生体試料を用いた包括的なバイオマーカー分析手法および DNA 損傷（遺伝毒性）評価系を開発・確立し、それらを実際の集団に適用した。

分析手法の開発においては、尿中のたばこ由来有害化学物質代謝物の一斉分析法を高度化した。具体的には、分析カラム（ACQUITY Premier T3 等）や移動相の最適化により、従来分離が困難であった異性体や妨害成分の完全な分離を達成し、揮発性有機化合物（VOC）代謝物 19 成分、多環芳香族炭化水素（PAH）代謝物 15 成分、および酸化・メチル化に伴う DNA/RNA 損傷体 10 成分の高感度・高精度な同時定量法を新たに確立した。これらの分析基盤を用い、事業所健診受診者 892 名の尿中ニコチン代謝物 7 成分（総ニコチン代謝物：TNM）を測定した。自己申告の不正確さを補正するためのカットオフ値を設定して喫煙状況を再分類した結果、加熱式たばこ喫煙者と紙巻たばこ喫煙者の間で TNM に統計学的な有意差は認められず、加熱式たばこにおいても紙巻たばこ同等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が客観的データにより証明された。また、受動喫煙者間においても両製品によるニコチン曝露量に有意差は認められなかった。

一方、生体試料への応用を見据えた簡便な DNA 損傷評価系として、マウス正常肝臓由来細胞等を用いた小核試験法を確立した。さらに、 γ -H2AX 蛍光免疫染色による DNA 二重鎖切断の可視化と foci の定量化、および Phospho-ATR/Chk1 発現解析による細胞内シグナル伝達の活性化評価を組み合わせることで、直接的・間接的な化学物質曝露による初期の遺伝毒性を多角的・迅速かつ定量的にスクリーニングできる信頼性の高い基盤技術を構築した。

また、幼児をもつ家庭における受動喫煙の実態を把握するため、地域特性が異なる自治体の 3 歳児健康診査を活用した調査を実施した。その結果、加熱式たばこ使用者の 7 割以上が「紙巻たばこよりも害が少ない」と誤認しており、切り替え理由も「ニオイが軽減されるから」が多数を占めた。この誤った安全認識が、「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継続的な受動喫煙曝露を助長している実態が明らかとなった。さらに、尿中バイオマーカー分析と組み合わせた結果、自己申告で「現在喫煙していない」とする者から高濃度のニコチン曝露が検出され、質問紙調査のみによる実態把握の限界が浮き彫りとなった。

本研究成果は、加熱式たばこに関する「有害物質削減＝安全」という誤認を是正し、科学的エビデンスに基づく正しい知識の啓発、および実効性のある受動喫煙防止対策の立案に大きく貢献するものである。構築された大規模な職域調査体制（約 2,000 検体規模）や確立された各種分析法は、今後の喫煙関連疾患の早期検出や予防医学における標準的手法となることが強く期待される。

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
秋本 紗希	東京薬科大学
中野 凌介	東京薬科大学

A. 研究背景と目的

たばこ煙には 5,300 種類以上の化学物質が含まれており、国際がん研究機関 (IARC) の発がん性リスクグループ 1 に分類される 1,3-ブタジエン、たばこ特異的ニトロソアミン (NNK、NNN)、ベンゾ[a]ピレンなどの発がん性物質や、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレインなどの揮発性有機化合物が多数確認されている。これらの複合曝露により、がん、動脈硬化、呼吸器疾患などのリスクが増大する。2014 年の発売以降、加熱式たばこは日本国内で急速に普及し、令和 6 年の国民健康・栄養調査によれば、喫煙者の約 4 割が加熱式たばこを使用している。加熱式たばこは燃焼を伴わないため、たばこ産業からは「主流煙 (エアロゾル) 中の有害化学物質が紙巻たばこと比較して約 90%削減されている」と宣伝されているが、これは特定の成分の「量」の比較に過ぎ

ず、ニコチンなどの強い依存性物質はこの削減対象に含まれていない。さらに、主流煙に含まれる有害物質の「成分数」自体は減少しておらず、複合曝露は継続されている。一般社会では「加熱式たばこは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が、非喫煙者家族の尿中からニコチン代謝物等のバイオマーカーが検出されるなど、家庭内での受動喫煙が生じていることが確認されつつある。健康増進法の改正においても、加熱式たばこによる受動喫煙がヒトの健康に及ぼす影響に関する調査研究を一層推進し、早期に結論を得ることが求められている。本研究は、非侵襲的に回収可能な生体サンプル (尿、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・確立し、曝露マーカー (ニコチン代謝物、VOC 代謝物、PAH 代謝物)、炎症マーカー、および影響マーカー (DNA/RNA 損傷体など) を組み合わせた包括的な健康影響評価法を構築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. 研究方法

1. 尿中曝露・影響バイオマーカー一斉分析法の開発および曝露評価

たばこ由来の有害化学物質の代謝物および影響マーカーを高感度・高精度に測定するため、以下の分析法を順次整備した。

尿中 VOC 代謝物一斉分析法の改良(令和 5 年度):

アクロレイン、クロトンアルデヒド、アクリルアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、スチレン、アクリロニトリル、プロピレンオキシド、1,3-ブタジエン、エチルベンゼン、キシレン、ベンゼン、トルエン等の曝露を反映する VOC 代謝物 19 成分を対象とした。固相抽出に MonoSpin C18-CX を用い、分析装置は LC/MS/MS (QTRAP5500) を使用した。妨害成分との分離を改善するため、分析カラムを Waters 社製 ACQUITY Premier T3 (1.8 μ m, 2.1×150 mm) に変更し最適化した。

尿中 PAH 代謝物一斉分析法の確立(令和 5 年度):

ナフタレン、フルオレン、フェナンスレン、ピレン、クリセン、ベンゾ[a]アントラセンの一水酸化代謝物 (OH-PAHs) 15 成分を対象とした。尿試料 2 mL を β -グルクロニダーゼで 24 時間酵素処理後、液-液抽出を行い、LC/MS/MS (Triple Quad 5500+ システム) および CORTECS UPLC C8 カラム (100 mm×2.1 mm, 1.6 μ m) を用いて分析条件を確立した。移動相には 0.1%酢酸水溶液および 0.1%酢酸アセトニトリル溶液を採用した。

尿中 DNA/RNA 損傷体一斉分析法の開発 (令和 6 年度): 酸化・メチル化により生じる DNA/RNA 損傷体・修飾体 10 成分 (1-/3-メチルアデニン、1-/6-メチルアデノシン、6-O-/7-メチルグアニン、6-O-

7-メチルグアニン、8-OHdG、8-OHGuo) を対象とした。固相抽出 (ODS-AQ-HG) と LC/MS/MS (QTRAP5500) を用い、カラムには ACQUITY Premier T3 を採用した。

尿中ニコチン代謝物分析と曝露評価 (令和 7 年度):

Nicotine、(1'S,2'S)-Nicotine-1'-oxide、Cotinine、3-Hydroxycotinine およびそれらのグルクロン酸抱合体の計 7 成分の合計値を「総ニコチン代謝物 (TNM)」と定義した。事業所の健診受診者 892 名の尿試料を β -グルクロニダーゼ (500 U、6 時間) で酵素処理後、固相抽出 (ENVI-Carb) し、LC/MS/MS (Xevo TQ-S micro) と ACQUITY Premier BEH HILIC カラム (1.7 μ m, 2.1×100 mm) を用いて分析した。実測値に基づくカットオフ値を設定して喫煙状況を再分類し、製品別や受動喫煙状況による比較 (Kruskal-Wallis 検定および Dunn 検定) を行った。

2. 生体試料を用いた DNA 損傷・遺伝毒性評価系の開発

口腔内細胞等の非侵襲的試料を用いて DNA 損傷を簡便に評価する手法を開発した。

試料採取法と評価指標の選定 (令和 5 年度):

文献調査により、DNA 試料採取にはマウイディーエヌエーテクノロジーズ社の iSWAB DNA Collection Kit が適していると判断した。また、小核試験や DNA 付加体が有効な遺伝毒性指標であることを確認した。

小核試験法の確立 (令和 6 年度):

マウス正常肝臓由来細胞にメタンスルホン酸エチル (EMS) を 0、125、250 μ g/mL で 24 時間曝露し、ギムザ染色による小核出現頻度の計数方法を

確立した。迅速な計数に適した細胞数 (5×10^5 個以上) を検討・決定した。

DNA 損傷応答評価系の構築 (令和 7 年度) :

ヒト胎児腎細胞 (HEK293FT) およびマウス肝正常細胞に、EMS (直接変異原、2 mM) およびベンゾ[a]ピレン (B[a]P、間接変異原、Rat S9 mix 併用) を 24 時間曝露した。 γ -H2AX 蛍光免疫染色による DNA 二重鎖切断の可視化・定量化 (核あたりの平均 foci 数算出) と、ウェスタンブロッティングによる Phospho-ATR (Ser428) および Phospho-Chk1 (Ser345) 発現解析を行い、細胞内シグナル伝達の活性化を評価した。

3.3 歳児健康診査を活用した加熱式たばこによる受動喫煙調査

幼児をもつ家庭の受動喫煙実態を把握するため、3 歳児健診を活用した。

調査票の作成 (令和 5 年度) :

喫煙場所、製品に対する認識、住環境、車内喫煙ルール等を含む父母別の Web アンケート調査票を作成し、地域特性が異なる 3 自治体をリクルートした。

実地調査の展開 (令和 7 年度) :

山林地域の B 市 (縦横担当、対象 36 人) では、父母への Web アンケートを実施し、喫煙状況や家庭内ルールを集計した。都心に近い A 市 (大澤担当) では、Web アンケートに加え、1 世帯から父・母・児の尿試料の提供を受け、ニコチン代謝物 5 成分を測定し、自己申告と実測値の関連性を検討した。

4. 喫煙者への職域調査体制の確立 :

防衛医科大学校を中心に、職域の健康診断受検者を対象とした調査体制の構築と倫理審査を行った。紙巻たばこと加熱式たばこを区別して聴取するための臨床情報アンケート (1 日の平均使用量、使用期間、禁煙への関心度等を尋ねる全 8 問) を設計し、VOC 代謝物を中心としたバイオマーカーと臨床情報を統合解析する基盤を整備した。

C. 研究成果

1. 尿中バイオマーカーの分析と曝露評価

VOC 代謝物分析法の改良 :

ACQUITY Premier T3 カラムの採用により、従来分離困難であったキシレン代謝物 (3MHA と 4MHA)、1,3-ブタジエン代謝物 (MHBMA2 と MHBMA3)、スチレン代謝物 (MA) および測定妨害成分の完全な分離が達成され、対象成分が 19 成分へ拡張された。

PAH 代謝物分析法の確立 : C8 カラムと酸性移動相 (アセトニトリル系) を組み合わせることで、OHPhen 類・OHChr 類の異性体を含む 13 成分の良好な分離と定量 ($r^2 \geq 0.99$) が可能となった。

DNA/RNA 損傷体分析法の開発 : T3 カラムの採用により、分子構造が類似する 1-メチルアデニンと 3-メチルアデニン、8-OHdG と 8-OHGuo の良好な分離を実現し、10 成分すべての同時分析が可能となった。

ニコチン曝露の客観的評価 :

健診受診者 892 名の尿分析において、自己申告の「非喫煙者・受動喫煙者」の中に喫煙者レベルのニコチン曝露を示す者が多数確認された。カットオフ値を用いて再分類した結果、集団の実際の喫煙率は自己申告の 16.4% から 26.7% へ大幅に上昇した。

製品別・受動喫煙の曝露量比較：

紙巻たばこ喫煙者（TNM 中央値：2,380 ng/mg Cr.）と加熱式たばこ喫煙者（同：2,333 ng/mg Cr.）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。加熱式装置別の比較では、TNM 中央値が IQOS (2,163) < glo (3,020) < Ploom (3,258) の順に有意に低く、各製品の主流煙ニコチン含有量（IQOS 0.77 < Ploom 1.09 < glo 1.55 mg/stick）と直接的な相関が確認された。受動喫煙者間においても、紙巻たばこ（TNM 中央値 4.58）と加熱式たばこ（同 3.08）で有意差は認められなかった。

2. DNA 損傷・遺伝毒性評価系の確立

小核試験の確立：

EMS 曝露により小核出現頻度の有意な上昇が認められ、観察細胞数を 5×10^5 個以上とすることで迅速な計数が可能なシステムが構築された。

γ -H2AX foci の定量化：

EMS 曝露後の細胞において核内に明瞭な γ -H2AX foci が確認され、核あたりの平均 foci 数は、ヒト胎児腎細胞で対照群の 3 から 21 へ ($p < 0.001$)、マウス肝正常細胞で 3 から 12 へ ($p < 0.005$) といずれも有意に増加した。

シグナル伝達の活性化解析：

EMS および B[a]P の両方の曝露において、ウェスタンブロッティングにより Phospho-ATR (Ser428) および Phospho-Chk1 (Ser345) の発現が確認された。特に EMS 曝露下では Phospho-Chk1 のバンド強度が濃度依存的に増強し、細胞が DNA 損傷に対して鋭敏に応答していることが実証された。

3. 3 歳児健診を活用した受動喫煙調査

B 市の調査：

現在喫煙している父親は全員が紙巻たばこから加熱式たばこへ切り替えており、その理由として「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たばこに比べ害が少ない」と誤認していた。家庭内の主な喫煙場所は「玄関」や「換気扇の下」であったが、家庭内喫煙ルールについて「特にない」とする家庭が 30.8% 存在した。また、車内禁煙ルールを設けている家庭が多い一方で、「紙巻は不可だが加熱式なら車内で喫煙できる」とする父親が 27.3% 存在した。

A 市の調査：

対象となった父母全員がアンケートで「現在喫煙していない」と自己申告していた。しかし尿中バイオマーカー分析の結果、その中から「現在の喫煙者レベル」や「高濃度の受動喫煙」レベルのニコチン曝露を示すケースが確認され、自己申告による調査の限界が浮き彫りとなった。

D. 考察

本研究の最も重要な知見は、尿中総ニコチン代謝物（TNM）を指標とした客観的分析により、加熱式たばこ使用者は紙巻たばこ使用者と同レベルのニコチン曝露を受けており、ニコチン依存リスクに差がないことが証明された点である。たばこ産業による「有害物質約 90% 削減」という宣伝は、特定の有害成分の「量」の比較に過ぎず、依存性物質であるニコチンは削減対象に含まれていない。製品間でニコチン曝露量に差（IQOS < glo, Ploom）が見られたことは、主流煙のニコチン含有量が直接的に使用者の曝露量を決定づけている

ことを示唆している。

受動喫煙の曝露量においても、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。これは、近年の加熱式たばこの普及と加熱装置の性能向上に伴い、発生するエアロゾルによる受動喫煙が、紙巻たばこによる環境ばく露と同水準に達していることを示唆している。一方で、質問票調査の結果からは、喫煙者自身のみならず非喫煙者である同居家族においても、「加熱式たばこは害が少ない」という誤った安全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、「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継続させている可能性が極めて高い。

さらに、事業所健診や3歳児健診の調査において、自己申告による「非喫煙者」や「受動喫煙者」の中から、バイオマーカー実測値で喫煙者レベルの曝露を示す隠れ喫煙例が多数発見された。喫煙という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数存在することは、自己申告に依存した疫学調査や保健指導の限界を明確に示している。真の曝露実態や健康リスクの把握には、今回確立された尿中バイオマーカー一斉分析法や、カットオフ値を用いた客観的な再分類手法の導入が不可欠である。

並行して確立されたDNA損傷評価系(γ -H2AX fociの定量、Phospho-ATR/Chk1発現解析、小核試験)は、初期の遺伝毒性を多角的かつ客観的にスクリーニングするための極めて信頼性の高い基盤技術である。今後、これらの技術を口腔内細胞などの非侵襲的試料や、職域健診の大規模サンプル(約2,000検体)に適用することで、加熱式たばこによる潜在的な疾患発症リスクの早期発見や予測メカニズムの解明に大きく貢献すること

が期待される。

E. 結論

本総合研究により、以下の結論が得られた。

1. ニコチン曝露と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ており、依存リスクや健康影響を低減する安全な代替品ではない。
2. 客観的評価の絶対的必要性: 自己申告に基づく質問紙調査には過少申告が多数含まれるという限界が存在する。真の喫煙・受動喫煙実態を把握するには、尿中ニコチン代謝物(TNM)等のバイオマーカー測定に基づく客観的評価が必須である。
3. 認識の乖離と受動喫煙リスクの顕在化: 社会に蔓延する「加熱式たばこは害が少ない」という誤認が、家庭内や車内における甘い喫煙ルールを招き、小児を含む非喫煙家族への継続的な受動喫煙曝露を助長している。
4. 新規非侵襲的健康影響評価法の確立: VOC、PAH、DNA/RNA損傷体を網羅的に測定する尿中バイオマーカー一斉分析法、および γ -H2AXやPhospho-ATR/Chk1を指標とするDNA損傷応答評価系は、たばこによる生体影響を迅速かつ定量的に判定するための実用的なスクリーニング技術として機能する。
5. 今後の展望: 本研究で構築された評価手法を、自治体の禁煙支援事業や3歳児健診、職域健診等の保健指導の場へ還元する。客観的データに

に基づき、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実効性のある受動喫煙防止対策の立案に貢献することが強く期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 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) 稲葉洋平. 「新しいタバコに関する知識とエビデンス」加熱式タバコの有害化学物質と健康への影響. 調剤と情報 2024;30:1588-1594.

3) 稲葉洋平. 国際保健の視点から見たたばこ対策. 特集 公衆衛生における国際保健. 公衆衛生 2026;90(2):143-152.

4) 日本禁煙学会編. はじめよう！薬剤師のための禁煙支援ガイド 稲葉洋平. 第2章 禁煙支援をはじめめる前に 1.タバコ製品について知る p28-41. 2023. 南山堂.

残りは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