

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

加熱式たばこエアロゾルが生体に及ぼす影響に関する実験的検討

分担研究者 牛山 明 国立保健医療科学院
分担研究者 中舘 和彦 明治薬科大学
研究協力者 服部 研之 明治薬科大学

研究要旨

加熱式たばこは、たばこ葉が燃焼しない温度で加熱することで燃焼によって発生する有害化学物質量を低減しているとされているが、化学物質の複合ばく露は変わらず起こるため健康への影響が懸念されるが生体影響に関する報告は少ない。その理由は動物等に加熱式たばこ主流煙を適切にばく露する装置がなく実験系が組めなかったためである。昨年度までに我々は加熱式たばこ用の動物ばく露装置を開発してばく露実験を可能とした。本年度はその装置を用いて、病理組織学的観察による影響と、酸化ストレスマーカーへの影響を探索した。本年度はマウスに対して、1日5本の加熱式たばこ主流煙を、4週間にわたりばく露をした。結果としては病理組織学的変化においては、短期間のばく露では明確な変化は認められず、より長期間のばく露・高用量のばく露などの条件による研究が必要であると考えられた。また、酸化ストレスマーカーの分析では、ばく露を行う際のマウスの拘束によって拘束ストレスが発生している可能性が示唆され、拘束ストレスによる影響により加熱式たばこのばく露による影響がマスクングされてしまう可能性が示唆された。

一方で、テレメトリー法により、加熱式たばこのエアロゾル吸入時のマウスの心拍への影響を検討したところ、加熱式たばこのばく露においてエアロゾル吸入直後に心拍の乱れ（特にRR間隔の不規則な増大）が観察された。この変化は可逆的ではあるが、加熱式たばこのエアロゾルに含まれる成分が一過性に心臓へのストレスを引き起こしている可能性があり、引き続き検討が必要である。

A. 研究目的

加熱式たばこの普及による健康リスクを推定するために生物学的研究は必須である。しかしながら、加熱式たばこはこれまでの燃焼式たばこは煙の発生機序が異なるため、動物へエアロゾルを適切にばく露する装置を用意することが極めて重要である。我々は昨年度までに、*in vivo* 実験用の加熱式たばこの動物ばく露装置を開発し、開発した装置によって生成された加熱式たばこエアロゾルの化学分析、および実際にマウスにばく露を行った際にマウスの血漿や尿のニコチンおよびその代謝物を定量し装置の妥当性を検討し

た。本年度は同装置を用いて、実際にマウスにばく露を行った際の組織学的影響と、酸化ストレスマーカーへの影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. 加熱式たばこばく露装置および捕集するエアロゾルの分析

動物用加熱式たばこ露装置

本研究では当研究室で開発した加熱式たばこばく露装置を使用した（図1および図2）。本装置では、様々な喫煙プロトコルを設定できるが、本研究では、Health Canada Intensive (HCI) プロトコ

ルを用いた。使用する加熱式たばことして、デバイスは IQOS3 Duo、IQOS ヒートスティックは Marlboro レギュラーをすべての研究を通じて使用した。

2. マウスを用いたばく露と生物学的ばく露量の検討

マウスへのばく露方法

ばく露の際には、実験の目的に応じて、ばく露装置のエアロゾル排出部を1ポートにした場合と4ポートにした場合で実験を行った。1ポートにした場合は図2(B)に示すようにマウスを配置して実験を行った。また4ポートの場合は図2(C)に示すようにマウスを配置して実験を行った。この時には図2(D)のようにマウスにエアロゾルがばく露される。今年度の報告書のうち、戸塚らの分担報告書で結果を示す研究においては、GPTdelta トランスジェニックマウスを4ポートのばく露方法でばく露を行ったものである。遺伝毒性実験以外のばく露ではC57BL/6Nマウスを用いた。所定の場所にマウスを置き、ばく露装置を用いて、喫煙法はHCI法で行った。マウスの保定時間は連続で60分を超えないこととした。遺伝毒性実験および組織学的解析および酸化ストレス解析においては、1日あたり5本のばく露を週5日、4週間のばく露を行った。最後のばく露ののちに、マウスは解剖に供され、血液や組織の回収を行い、実験目的に応じて固定または凍結保存を行った。

3. 病理組織解析

光学顕微鏡を用いた病理組織解析

IQOS ばく露マウスとコントロールマウスの肺を4%パラフォルムアルデヒド溶液にて浸漬固定した。緩衝液で洗浄後、アルコール系列で脱水、レモゾール液置換後、パラフィン包埋した。パラフィン包埋した肺組織は5 μ m厚に薄切し、ヘマトキシリン-エオシン(HE)液を用いて染色した。HE染色切片は、光学顕微鏡(LM)で撮影し、病

理組織解析を行なった。病理組織像観察については、i; 肺胞上皮組織(I型とII型)の変化解析、ii; 肺胞マクロファージの数と形態変化解析、iii; 肺胞中隔内の厚さ、血管内皮細胞の病理検査、iv; 肺胞腔への血球等の浸潤等について検討した。

免疫組織化学法による病理組織解析

上記病理組織解析で作製したパラフィン包埋後のIQOSばく露マウスとコントロールマウスの肺5 μ m厚に薄切し、レモゾール、アルコール系列、蒸留水に置換した。10mMクエン酸ナトリウム(pH 6.0)で95度60分間、抗原賦活化した。Block Aceにてブロッキング処理を行ったのち、下記の抗体で蛍光抗体法にて検討した。

Anti-Endothelial-cell antibody, Anti-Collagen1 antibody, Anti-CD45 antibody, Anti-CD31 antibody, Anti-F4/80 antibody, Anti-TNF-alpha antibody, Anti-MIP1alpha antibody

1次抗体は4°Cで一晩反応し、洗浄後、各2次抗体で発色した。蛍光染色切片は、蛍光顕微鏡で撮影し、病理組織解析を行なった。

電子顕微鏡を用いた微細病理組織解析

光学顕微鏡を用いた病理組織解析で使用したIQOSばく露マウスとコントロールマウスの肺の一部を用いて解析した。上記手法によりパラフィン包埋した肺組織を5 μ m厚に薄切しスライドガラスに載せた後、脱パラフィン処理、凍結乾燥後、オスミウムコートを実施した。走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて、検鏡、撮影し、微細構造変化を解析した。

4. 生化学解析

酸化ストレスマーカーの解析

凍結保存した臓器からISOGEN2を用いて、常法に従ってtotal RNAを抽出し、Invitrogen社のSuperScript IV VILO Master Mixを用いてcDNAを合成した後、表1に示すプライマーセットとTOYOBOのTHUNDERBIRD SYBR qPCR Mixを

用いて RT-PCR による遺伝子発現の解析を行った。

尿中ニコチン代謝物の定量

IQOS ヒートスティック 1 本分のエアロゾルばく露から 1、2、4、6 時間後に採尿し、尿中ニコチン代謝物の定量をするときまで -80°C で保存した。サンプル中のニコチン代謝物を LC-MS/MS (Xevo TQ-S, Waters Co) を用い定量した。また、尿中のクレアチニン濃度を定量し、尿中ニコチン代謝物濃度をクレアチニン濃度で補正した。

5. 生理学解析

マウス心電図の取得及び解析

実験の 48 時間前までに、マウス (C57BL/6N) に対して外科的に埋め込み型マウス心電図送信器 (ソフトロン) を装着した。実験直前にマウスを円筒型マウスホルダー (KN-325-C, 夏目製作所) に入れて保定をした。ホルダーを心電図受信ボードの上に置き、送信機からのアナログ信号を PowerLab4/26 (AD Instruments) を介して A/D 変換を行い PC に取り込んだ。取り込んだデジタルデータは、LabChartPro ソフトウェアおよび内臓の ECG 解析モジュール (AD Instrument) で処理および解析を行った。なお、マウスの心拍数は平時で 600~700 拍/分 (10~12 拍/秒) データの取得レートは 1kHz とした。

表 1 酸化ストレスマーカーのプライマー配列

| No | 名前 | 配列 |
|----|--------------|------------------------|
| 1 | mMt1_F301 | GTTCGTCACATCAGGCACAG |
| 2 | mMt1_R418 | GTTCGTCACATCAGGCACAG |
| 3 | mMt2_F246 | TCCTGTGCCTCCGATGGAT |
| 4 | mMt2_R340 | CAGCAGGAGCAGCAGCTTT |
| 5 | mHmox1_F715 | GTCAAGCACAGGGTGACAGA |
| 6 | mHmox1_R784 | GCAGCTCCTCAAACAGCTCA |
| 7 | mTxn1_F375 | TGTGGATGACTGCCAGGATG |
| 8 | mTxn1_R467 | AACTCCCCACCTTTTGACC |
| 9 | mTxn2_F336 | TGGACTTTCATGCACAGTGGT |
| 10 | mTxn2_R407 | GCTTGGCGACCATCTTCTCT |
| 11 | mPrdx1_F522 | GCCGCTCTGTGGATGAGATT |
| 12 | mPrdx1_R599 | CAGCTGGACACACTTCACCA |
| 13 | mNqo1_F642 | GGCCGATTCAGAGTGGCAT |
| 14 | mNqo1_R723 | GGAGTGTGGCCAATGCTGTA |
| 15 | mYwhaz_F683 | TCTGCAACGATGTACTGTCTCT |
| 16 | mYwhaz_R799 | CCTCGGCCAAGTAACGGTAG |
| 17 | mRpl13A_F301 | CAAGACCAAGAGAGGCCAGG |
| 18 | mRpl13A_R389 | CCACCATCCGCTTTTTCTTGT |

尿中ニコチン代謝物の定量

IQOS ヒートスティック 1 本分ないしは 5 本分

のエアロゾルばく露から 1、2、4、6 時間後に採尿し、尿中ニコチン代謝物の定量をするときまで -80

°C で保存した。サンプル中のニコチン代謝物を LC-MS/MS (Xevo TQ-S, Waters Co) を用い定量した。また、尿中のクレアチニン濃度を定量し、尿中ニコチン代謝物濃度をクレアチニン濃度で補正した。

C. 結果及び考察

1. マウスのばく露装置と化学物質の定量

本研究では我々が独自に開発したばく露装置を用いて実験を行った(図1、図2)。昨年報告した通り、ばく露装置を用いて収集した物質を分析したところ、エアロゾルの化学分析結果において粒子状およびガス状物質ともに化学分析用の捕集装置(LM4E)の捕集結果と比較してほぼ同量である(昨年度報告書参照)。昨年度とは異なり今年度は、マウスの保定においてカスタムメイドの保定筒ではなく、市販の円筒型マウスホルダー(KN-325-C, 夏目製作所)を用いた。

2. 光学顕微鏡(LM)による病理組織解析

昨年度での解析同様に、肺の病理組織解析において、i; 肺胞上皮組織(I型とII型)の変化解析、ii; 肺胞マクロファージの数と形態変化解析、iii; 肺胞中隔内の厚さ、血管内皮細胞の病理検査、iv; 肺胞腔への血球等の浸潤等について、光学顕微鏡下で解析を行なった。

コントロールマウスの肺組織の病理組織検査によって、加熱式タバコの主流煙をばく露していない肺組織(図3)は、どの検査項目によっても正常構造を示した。次にIQOSばく露マウス(図4)について同様の検討を行った。今回の検討した肺組織を網羅的に解析した結果、ほぼ全ての領域において正常肺組織構造を示していた。しかし1個体の肺組織の1箇所においては、炎症様構造変化を呈していた(図3)。これらの一連の一般病理組織学的検査の結果から、今回のIQOSばく露では、ほぼ全ての肺構造へ有意な異常構造変化を誘発していないものと示唆されるが、ごく一部の肺組織において炎症様構造が今回初めて確認さ

れたことは、その病理組織学的変化が稀な変化であるのか、普遍的な変化であるのかを今後詳細に検討する必要があると考察される。

3. 電子顕微鏡(SEM)による病理組織解析

光学顕微鏡下で炎症様構造が認められた部位を詳細に解析するため、電子顕微鏡を用いて肺の微細構造変化解析を行った。パラフィンを除去(脱パラフィン)し、走査型電子顕微鏡(SEM)にて微細構造を解析した。その結果、図4に示すように、コントロールと比較しIQOSばく露では、細胞が密になっていることが示された。しかし、この解析手法では細胞内の微細形態を解析することが困難であるため、次年度に、透過型電子顕微鏡を用いて本格的な解析を行うことで、光学顕微鏡では明らかにすることができなかった微細構造変化の有無を明らかにできるものと考えている。

4. 免疫組織化学法による病理組織解析

病理組織学的解析から細胞の集積が認められた領域において、マクロファージの集積や肺の線維化の有無を免疫組織学的解析により検討した。解析部位は炎症様構造を用いた。

まず、血管内皮のマーカー染色(図5の左: Endthelial-cell)では、有意な差異は認められなかった。線維化の有無を検討するためcollagenマーカー染色をおこなった(図5の右: collagen)。この結果でも有意な差は認められず、IQOSばく露群では肺の線維化が起こっていないものと示唆された。

次に、各細胞における発現マーカーを用いて検討した。CD45陽性白血球数(図6: CD45)は、両群に有意な差が認められなかった。同様にCD31陽性血管内皮/血小板(図6: CD31)においても有意な差が認められなかった。マクロファージを認識するF4/80でも有意な差が認められなかった(図6: F4/80)。同様にマクロファージから分泌されるTNF alphaにおいても有意な差は認め

られなかった (図6 : TNF alpha)。

マクロファージの集積等が確認されなかったが、マクロファージの機能の亢進の有無を検討するため、マクロファージから分泌され好中球等を誘引する MIP1alpha について検討した (図7 : MIP1alpha)。その結果、IQOS 暴露群の肺で炎症様構造部位ではほぼ全てのマクロファージが MIP1alpha 陽性であった。

この結果から、今回異常が認められた部位においては、マクロファージの集積などは認められなかったが、その部位に分布するマクロファージは活性化し、他の細胞を誘引する可能性が示唆された。しかし、これらのマクロファージの活性化を示す結果は肺全体では認められず、極めて微細な変化であることも事実である。IQOS ばく露では、今回の病理組織学的検討から肺全体での炎症という結果を導くことは難しいが、微小変異が個体差ではなく普遍的な変化であるか本格的な解析を行うことで、肺の構造変化と肺の炎症との関連を明らかにすることが可能であり、必要であると考察される。

5. 酸化ストレスマーカーの発現解析

加熱式タバコのエアロゾルへのばく露影響を検討するため、肺および肝臓における酸化ストレスマーカーとして以下の7種の遺伝子発現量を RT-PCR 法を用いて測定した。測定対象はメタロチオネイン : Mt1, Mt2、ヘムオキシゲナーゼ1 : Hmox1、チオレドキシシン : Txn1, Txn2、ペルオキシレドキシシン : Prdx1、NAD(P)H キノンデヒドロゲナーゼ1 : Nqo1 である。また、ハウスキーピング遺伝子として、Ywhaz と Rpl13A を測定し、それぞれで補正した結果が同様であることを確認した。

IQOS のエアロゾルに直接ばく露される臓器として、肺の酸化ストレスマーカーの発現量を RT-PCR 法を用いて測定した。ケージで飼育したコントロール群の発現量を1とし、各遺伝子のシャムばく露群と IQOS ばく露群の相対的な発現量を

図8に示した。Mt1 と Mt2 のみがコントロール群に対して2倍以上の発現誘導が観察された。しかし、この影響はシャムばく露群にも同等の影響が認められており、拘束ストレスによる影響の可能性が高いと考えられる。また、Mt1 と Mt2 以外の酸化ストレスマーカーでは、発現の誘導が観察されていない。Mt1 と Mt2 はコルチゾールによる発現誘導を受けることが報告されており、肺における発現誘導は IQOS エアロゾルによる酸化ストレスではなく、拘束ストレスによってコルチゾールの分泌量が増えたことを示唆する結果である。

次に、肝臓における酸化ストレスマーカーの遺伝子発現量を測定した。肺と同様に、ケージで飼育したコントロール群の発現量を1とし、各遺伝子のシャムばく露群と IQOS ばく露群の相対的な発現量を図9に示した。肝臓では、シャムばく露群と IQOS ばく露群においてコントロール群と比較して Mt1 と Mt2 の発現量が100倍以上に誘導されていた。それ以外の酸化ストレスマーカーでは、Hmox1 で2倍以上の誘導が認められたが、IQOS ばく露群だけではなく、シャムばく露群により強い誘導が認められた。さらに、Trx や Prdx および Nqo1 では、誘導が観察されなかった。これらの結果は、肺と同様に肝臓においても拘束ストレスにより、Mt1 と Mt2 がコルチゾール依存的に誘導されたことを示唆する結果である。

IQOS エアロゾルに直接ばく露する肺と化学物質の代謝を担う肝臓において酸化ストレスマーカーの遺伝子発現量を測定した。その結果、Mt1 と Mt2 の誘導が認められたが、シャム群と IQOS 群における誘導が同等であったことと、Nqo1 や Prdx および Trx などの酸化ストレスマーカーの誘導が観察されなかった。これらの結果は、酸化ストレスを介した発現誘導ではなく、コルチゾール依存的な拘束ストレスによる影響であることを示唆している。今後、IQOS エアロゾルのばく露影響を評価するためには、非拘束下のばく露方法を検討することが必要であると考えている。

6. エアロゾルばく露中のマウス心電図への影響

本研究では、マウスの循環器への急性影響を明らかにするため、埋め込み型マウス心電図送信器を C57BL/6N マウスに装着し、テレメトリー法によりマウスの覚醒下の心電図を取得した。IQOS エアロゾルは HCI 法によりばく露をおこなった。加熱式たばこばく露装置にたばこを挿さずに装置を稼働した場合、すなわち空気のみをばく露を行った場合は、心電図に大きな変化を認めないが、IQOS をセットしばく露を行うとパフの直後に心拍に変化が観察された (図 1 0)。心電図から RR 間隔を 1 拍毎に算出し、プロットをおこなったものが図 1 1 である。この結果から、IQOS エアロゾルのばく露により心拍に変動が見られることがわかる。また図 1 2 に示すように、IQOS を連続してばく露しても同様の変化が見られた。しかしながらばく露して数分以内には RR 間隔はベースラインに回復する現象もみられ、RR 間隔の変化は可逆的なものであった。なおデータは示さないが、茶葉から作られたニコチンを含まないスティックのエアロゾルばく露でも類似の可逆的な現象が確認された。マウスを用いた実験であることから、これらの変化は限定的なものかもしれないが、エアロゾル中の化学物質が肺から血流に取り込まれ、肺静脈を経て心臓に血液が到達した際に心臓に作用している可能性がある。今後その作用機序も含めて詳細に検討が必要である。

D. 結論

本研究では、加熱式たばこ専用の動物用ばく露装置を用いて動物実験を実施した。本装置を用いてマウスに IQOS 主流煙をばく露したところ、光学顕微鏡および電子顕微鏡観察による組織学的変化、および肺と肝臓の酸化ストレスマーカーの変化については、ばく露による影響は見られなかった。ばく露の際の拘束ストレスによって影響がマスクングされている可能性があり、今後は非拘束かつ長期間のばく露による影響の検討が必要である。一方で、マウスの覚醒下 (保定器による

拘束条件) で、テレメトリーによる ECG 解析を行ったところ、IQOS のパフの直後、数秒間にわたって RR 間隔の乱れが観察された。またこれは実験した範囲においてはばく露終了後にベースラインに戻る可逆的な変化であった。しかしながらこのような変化が繰り返し起こることにより、心臓にストレスが生じる可能性もあるため、今後詳細に検討を進める必要がある。

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.

F. 研究発表

1. 論文発表

Sawa M, Ushiyama A, Inaba Y, Hattori K. Increased oxidative stress and effects on inflammatory cytokine secretion by heated tobacco products aerosol exposure to mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022 Jun 25;610:43-48.

Koike S, Sato K, Sawa M, Inaba Y, Hattori K, Nakadate K, Ushiyama A, Ogasawara Y. Exposure to Heated Tobacco Products Aerosol Causes Acute Stress Responses in the Lung of Mouse. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Nov 25;11(12):2329.

2. 学会発表

澤麻理恵、牛山明、稲葉洋平、服部研之。加熱式たばこの生体影響を検索するための動物用ばく露装置の開発とその有用性に関する研究。第 69 回日本実験動物学会総会 (仙台) 2022.5.18-20.

牛山明, 澤 麻理恵, 茂木貴博, 稲葉洋平, 服部 研之. 加熱式たばこエアロゾルばく露が血中サイトカイン濃度へ及ぼす影響. フォーラム 2022 : 衛生薬学・環境トキシコロジー (熊本) 2022.8.30-31. 抄録集 p.226

牛山明, 稲葉洋平, 内山茂久. 加熱式たばこエアロゾルばく露による健康ハザード探索のための動物実験システムの構築 第 81 回日本公衆衛生学会総会. 2022.10.7-9. (甲府) 同講演抄録集. p442."

牛山明, 茂木博貴, 澤麻理恵, 稲葉洋平. 加熱式たばこエアロゾルばく露による血中サイトカインの変動とその要因の検討, 第 93 回日本衛生学会学術総会. 2023.3.2-4. (東京). 同講演集 S217.

3.その他

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

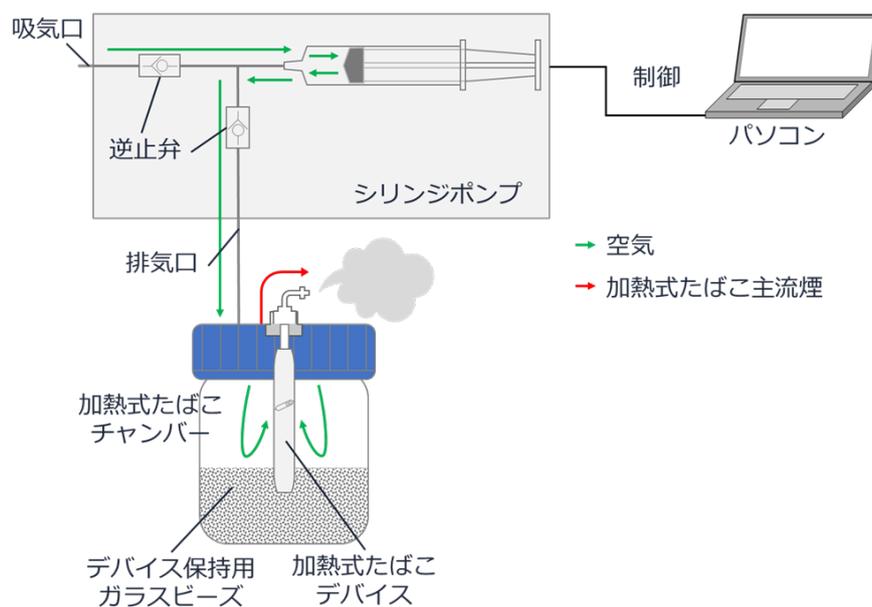


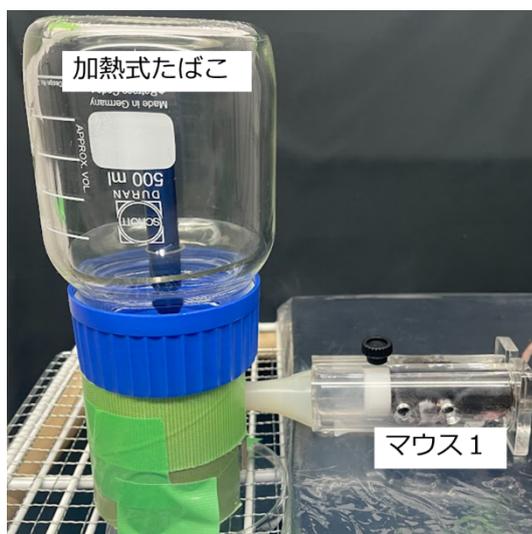
図1 加熱式たばこエアロゾルの動物用ばく露装置（概念図）

ばく露装置全体の概念図を示す。加熱式たばこデバイスはたばこスティックを入れた状態で密閉されたチャンバー内に固定する。ばく露装置はコンピューターで様々な喫煙法で制御可能であり、本研究では国際規格に則り、一定の空気量（55 mL）を一定の間隔（30 秒ごと）でスティック 1 本あたり 12 回排気する。送気された空気はデバイスを通じてスティックの吸い口からエアロゾルとして排出される。

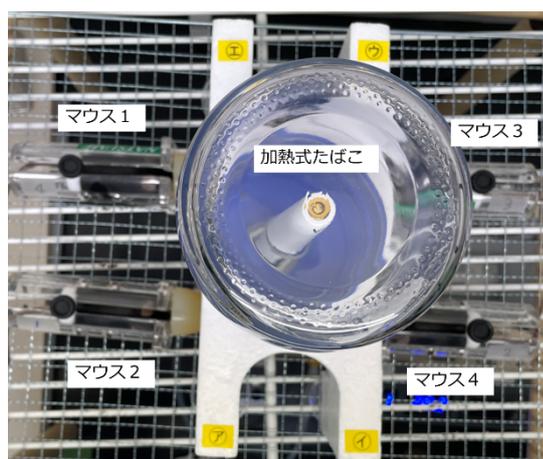
(A)



(B)



(C)



(D)

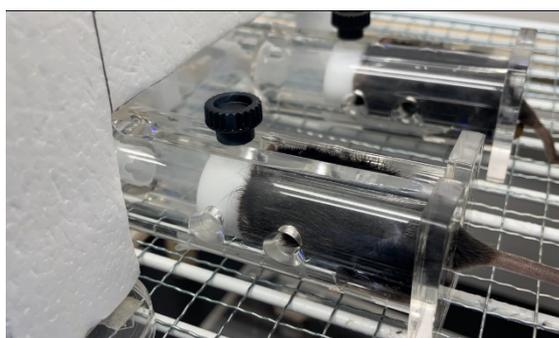


図2 加熱式たばこエアロゾルの動物用ばく露装置

(A) ばく露装置の全体写真を示す。(B)IQOS デバイスおよびスティックをセットした状態の加熱式たばこチャンバーを示す。1ポートばく露の場合は、写真のようにマウスを配置してばく露を行う。(C) 4ポートばく露の際にはエアロゾルの出口を4分岐した上で、保定器に入れたマウスを4匹配置する。(D) 4ポートばく露の際のマウスの配置状況（例として右側2匹のみを示す。左側も同様にマウスを配置する。

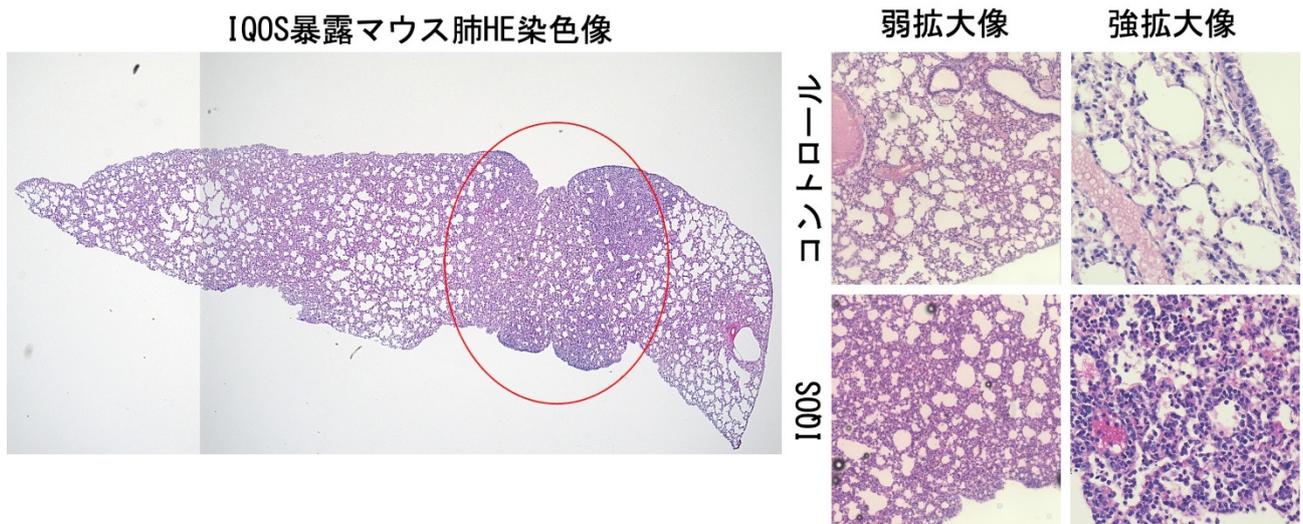


図3 HE染色像

コントロール肺では、肺胞、肺胞上皮細胞、血管、気管支においても異常構造は認められない。IQOS暴露マウス肺では、ほぼ全ての肺領域ではコントロールマウス肺同様に正常構造であるが、ごく一部では、正常と異なり炎症様構造（赤丸）が観察された。

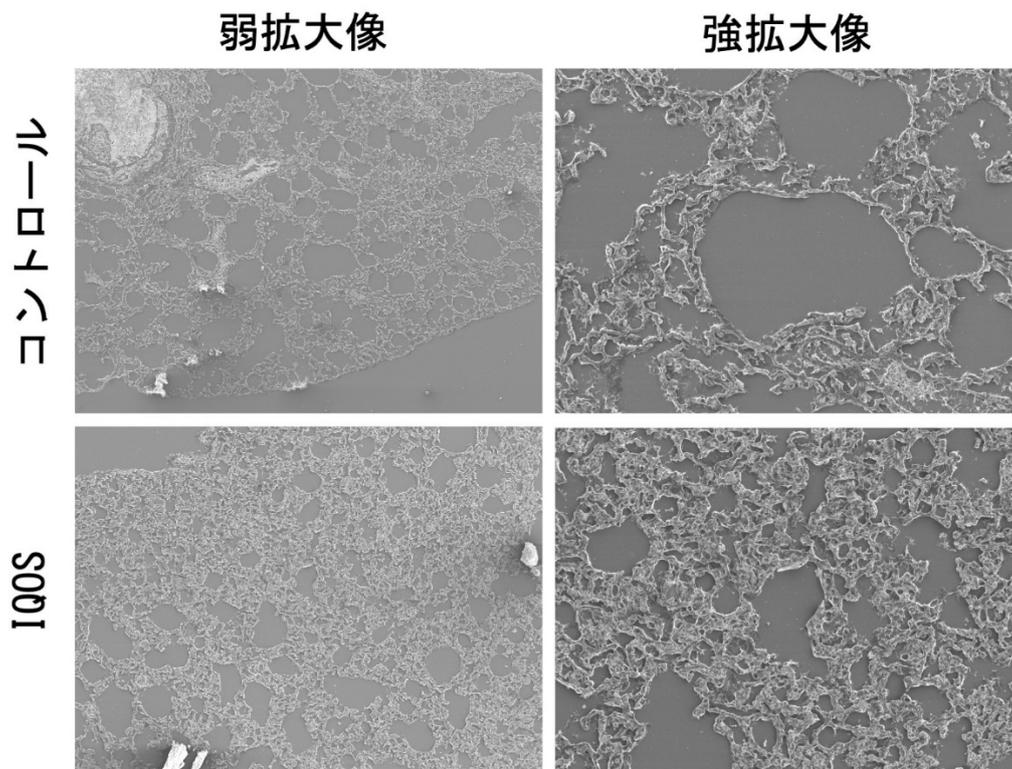


図4 操作型電子顕微鏡（SEM）像

コントロール肺では、異常構造は認められない。IQOS暴露マウス肺では、ほぼ全ての肺領域ではコントロールマウス肺同様に正常構造であるが、HE染色において炎症様構造を呈した部位では、細胞の集積が確認された。

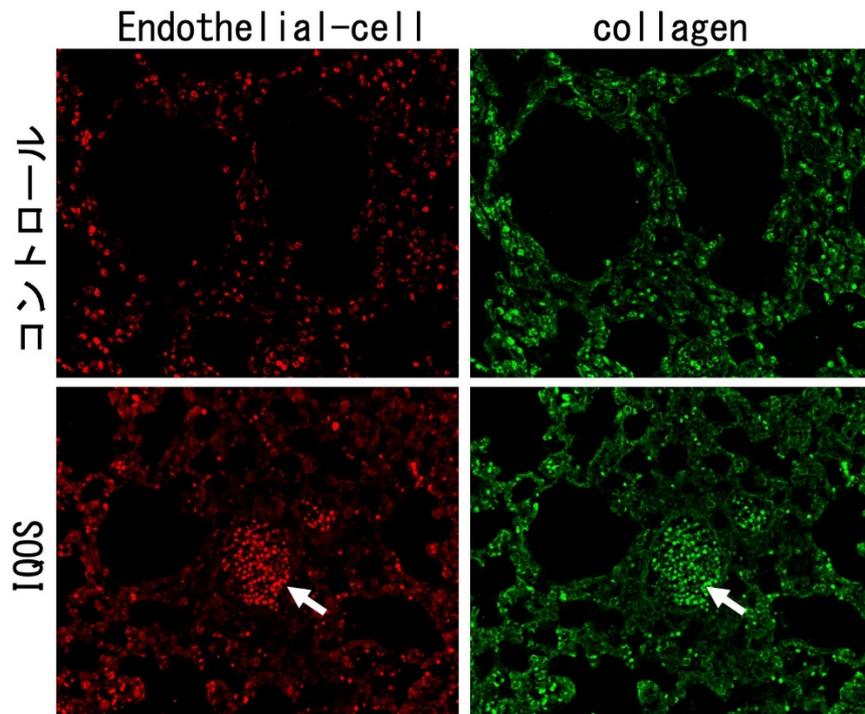


図5 各抗体を用いた免疫組織化学法による像。

コントロール肺では、血管内皮細胞マーカー（赤）、コラーゲン染色（緑）とも異常構造は認められない。IQOS 暴露マウス肺の集積部位でも異常所見は観察されなかった。矢印は血管内であり、肺組織の所見を反映していない。

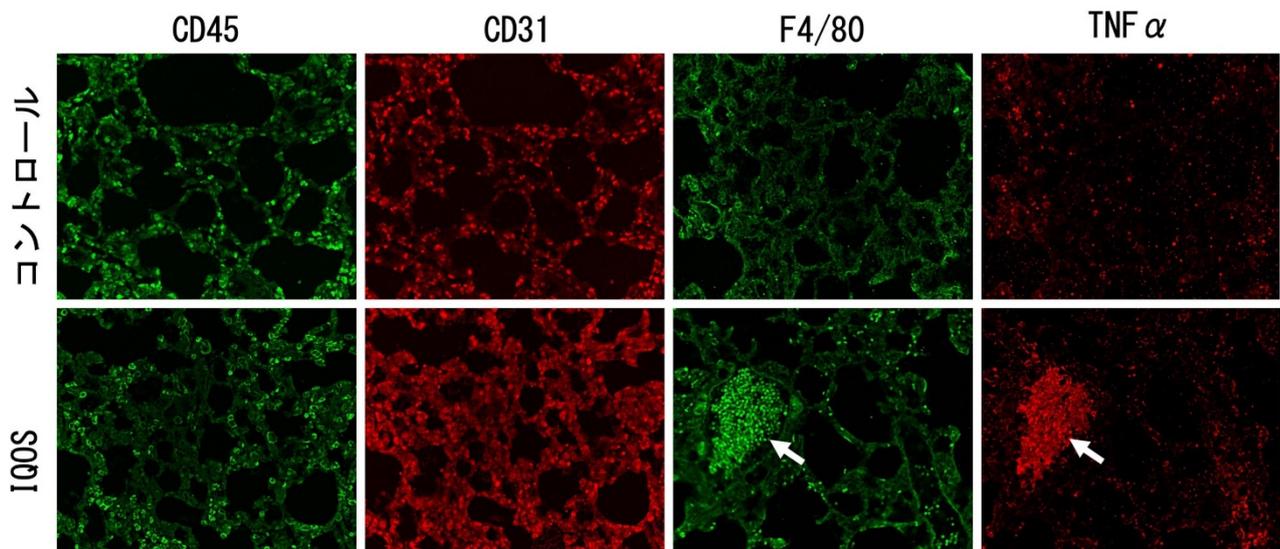


図6 各抗体を用いた免疫組織化学法による像

コントロール肺ではマクロファージ細胞の異常集積や高発現は認められない。IQOS 暴露マウス肺における炎症様構造部位では、マクロファージ細胞の若干の発現上昇と集積が認められるが有意な変化ではなかった。矢印は血管内であり、肺組織の所見を反映していない。

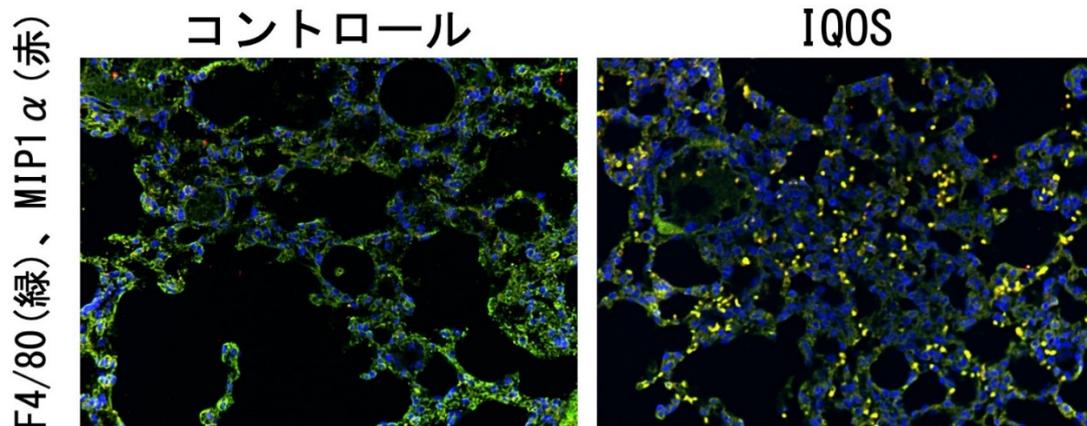


図7 免疫組織化学法による像

コントロール肺ではマクロファージからの分泌は認められない。IQOS 暴露マウス肺の炎症様構造を呈した部位では、マクロファージからのサイトカインが確認された (黄色)。

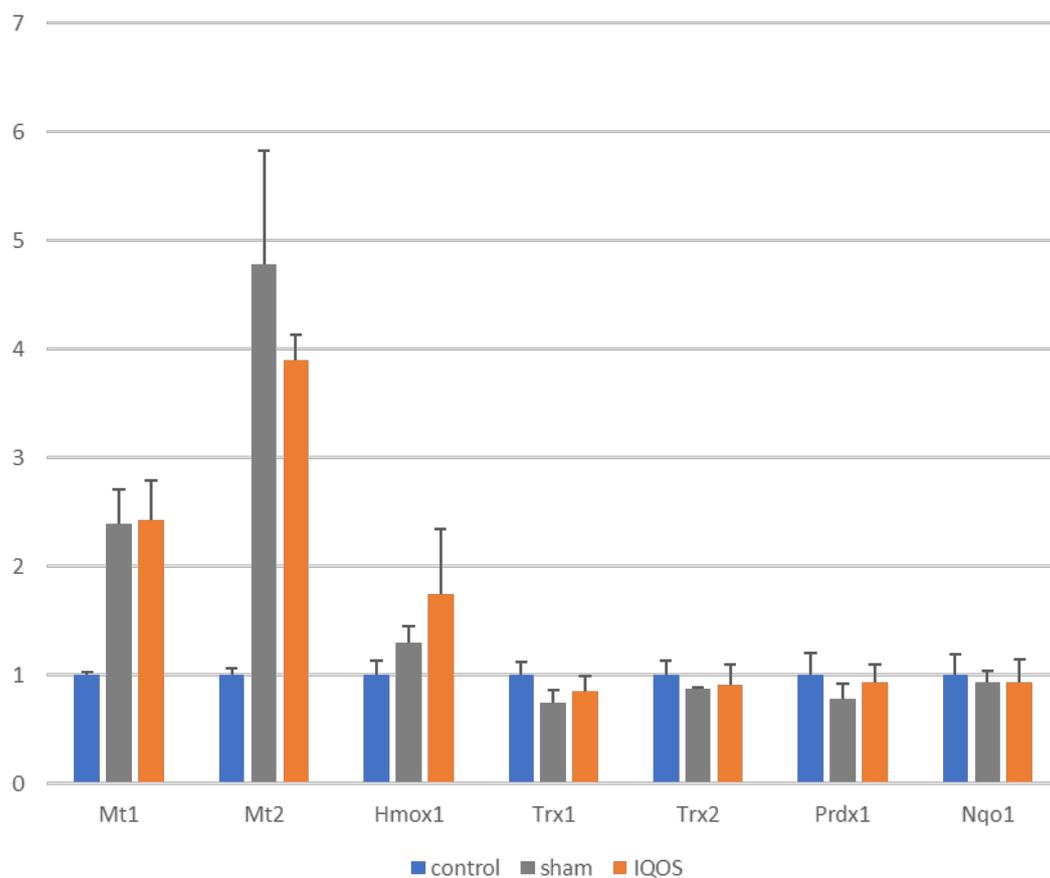


図8 肺における酸化ストレスマーカー遺伝子の相対発現量

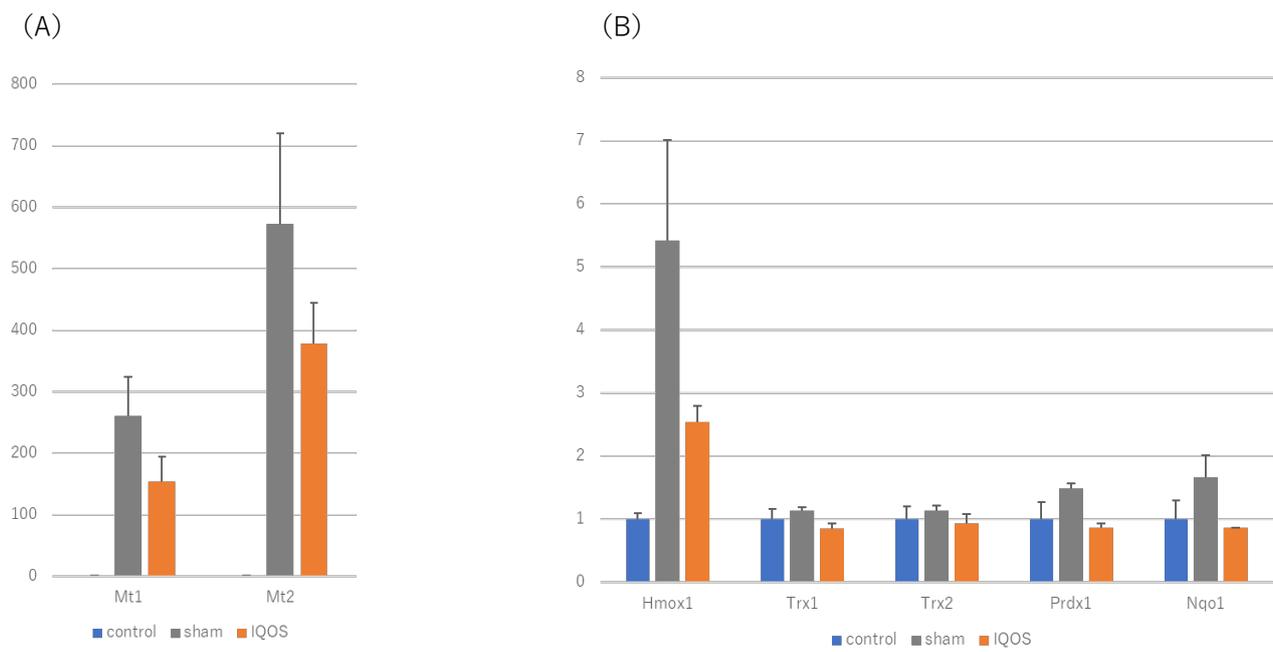


図9 肝臓における酸化ストレスマーカー遺伝子の相対発現量

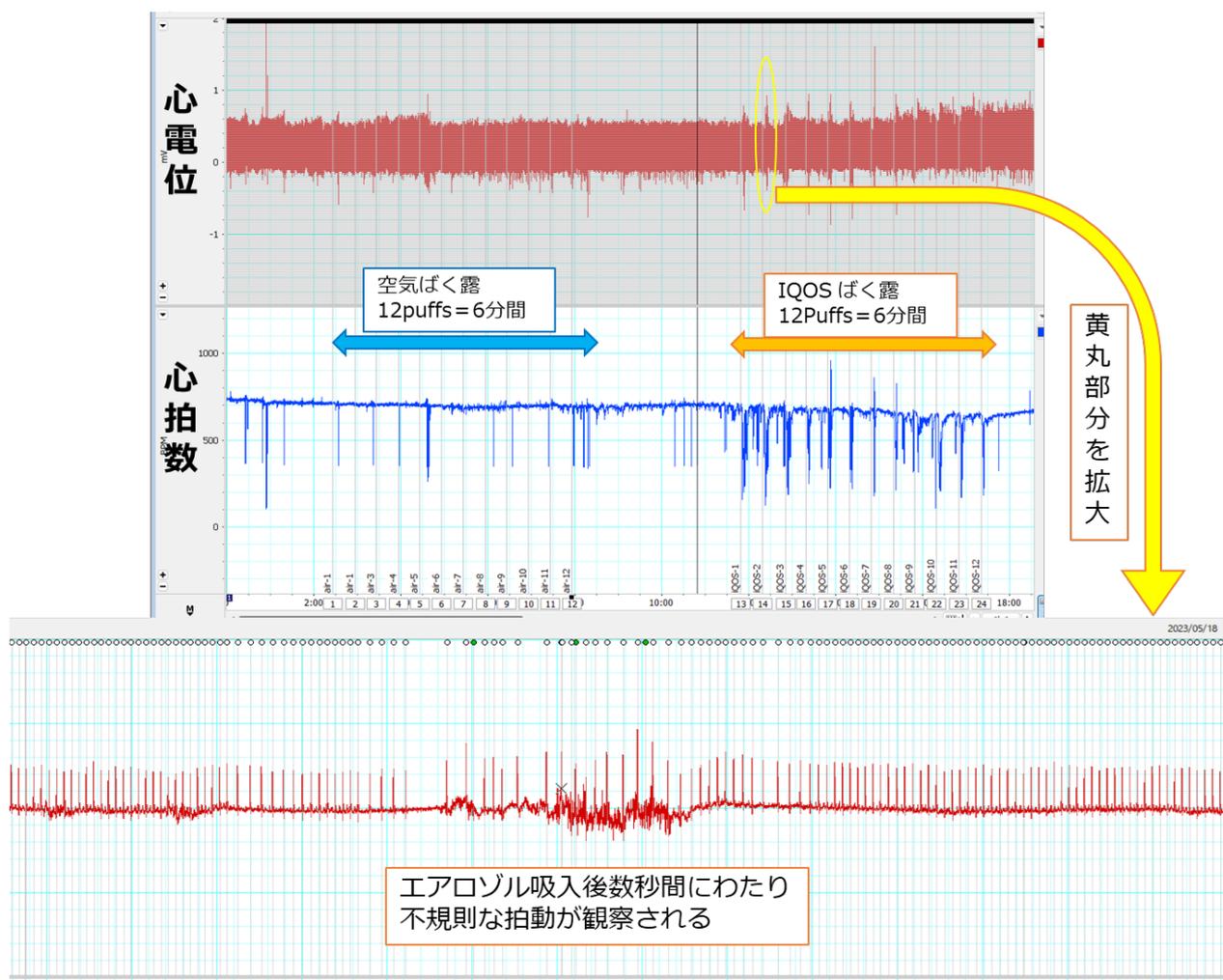


図 10 IQOS ばく露中の心電図

上図は埋め込み型マウス心電図送信器を装着したマウスで、連続的に心電図を記録した一例である。上図の左側で加熱式たばこばく露装置にたばこを挿さずに装置を稼働した場合、すなわち空気のみをばく露を行った場合を示す。また図の右側では、IQOS をセットしばく露を行った場合を示す。心電図の収集と同時に、心電図の RR 間隔から自動的に心拍数が算出されグラフ化されている。心拍数のグラフを見ると IQOS をばく露すると、パフ毎に心電図が乱れる傾向が見られた。そこで、IQOS の 2 パフ目 (黄丸部分) の心電図を拡大したものが下図となる。エアロゾル吸入後、数秒間にわたり不規則な拍動が見られている。

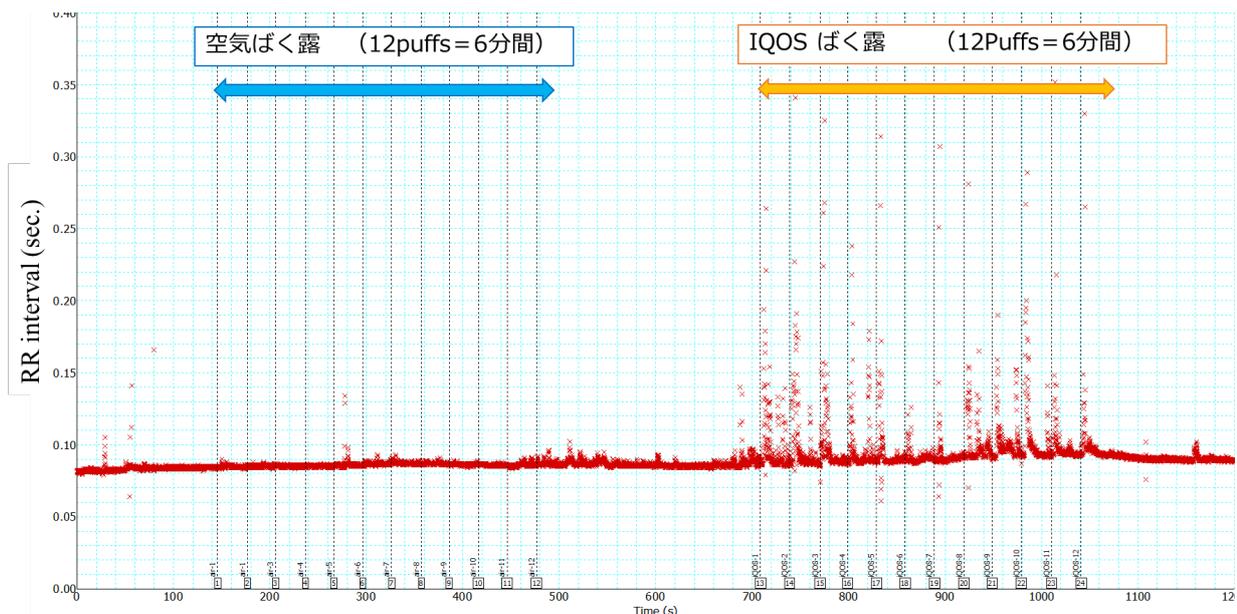


図 1.1 IQOS ばく露中の RR 間隔の変化

図 1.0 のデータから 1 拍毎 RR 間隔プロットした。空気ばく露中は RR 間隔に大きな変化は見られないが、IQOS ばく露においては、縦の点線で示すパフ毎に RR 間隔の延長が見られた。しかしながら 12 回のパフが終わるとベースラインに戻る現象が見られた。

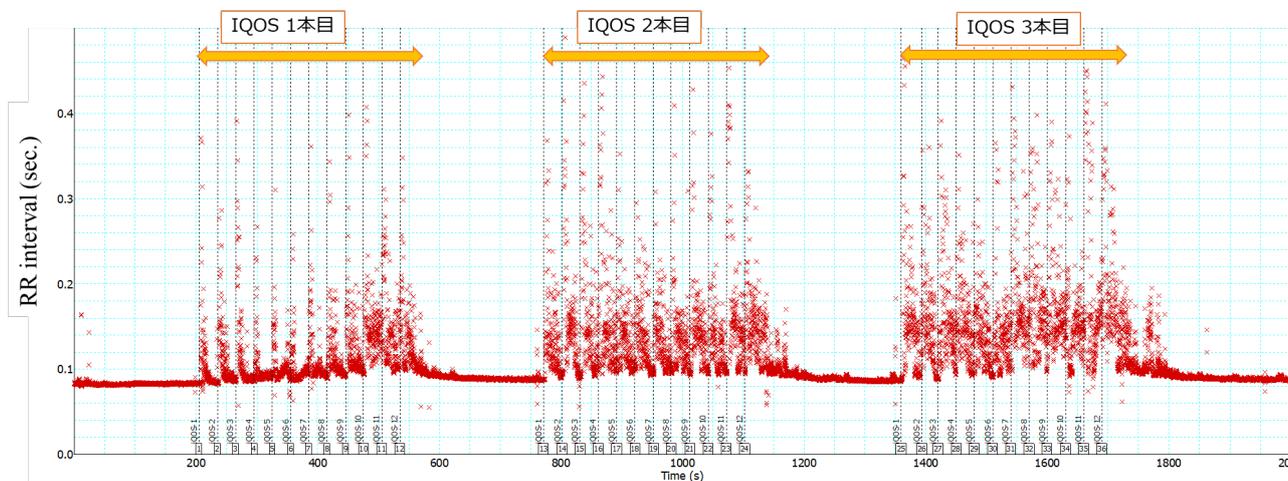


図 1.2 IQOS を連続で 3 本ばく露した際の RR 間隔の変化

IQOS を一定のインターバルをおいて連続で 3 本ばく露した際に記録された心電図をもとに 1 拍ごとの RR 間隔をプロットした。IQOS のばく露中はパフ毎に変動が見られたが、ばく露が終わるとベースラインに戻り、次のばく露が始まると、再度 RR 間隔の乱れが見られた。図中の黄色の矢印は IQOS1 本分のばく露時間（6 分間）を示す。