

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究（C）一般

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22500645

研究課題名（和文） 未規制たばこ製品、特にガムたばこの有害性に関する研究

研究課題名（英文） A Study on the Toxicity of a Smokeless Tobacco, Gum Tobacco

研究代表者

遠藤 治 (ENDO OSAMU)

麻布大学・生命・環境科学部・准教授

研究者番号：10194028

研究成果の概要（和文）：未規制たばこ製品とその使用による健康影響対策に資する基礎的資料を作成することを目的として、近年日本国内でも流通が確認されていた未規制たばこ製品、特にガムたばこについて、発がん性と関連の深い遺伝子毒性など生体影響を調べた。その結果、口腔がん等のリスク要因とされている噛みたばこ同様、ガムたばこについても亜硝酸処理により、発がん関連物質が生成する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：A study on the toxicity of smokeless tobacco, such as gum tobacco which had been recently sold in Japan, was demonstrated. Some reactive products of tobacco manufactures such as tobacco leaves and gum tobacco with nitrite showed the mutagenicity for Salmonella strains. It was suggested that there were mutagens and/or carcinogens in the reactive products of gum tobacco as well as chewing tobacco which had been associated with oral cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：喫煙・薬物乱用防止教育

1. 研究開始当初の背景

たばこはがんをはじめとする様々な疾病の要因となっており、世界保健機関（WHO）は、喫煙による健康被害の拡大を憂慮し、その加盟国に対し総合的なたばこ対策の実施を呼びかけてきた。2003 年「たばこ規制枠組条約（FCTC）」が策定され、わが国もこの国際条約を批准している。また国内においても健康増進法（2003 年）、がん対策基本法

（2007 年）などが整備され、日本学術会議も 2008 年 3 月「脱タバコ社会の実現に向けて」を発表するなど、たばこ対策は前進しつつある。しかしながら、喫煙率は男性 41.3%、女性 12.4%（日本たばこ産業発表）となっており、男性の喫煙率が減少している一方、20 代 30 代の女性では喫煙率が増加してきており、先進国のなかでは際立って高い喫煙率を示しているのが現状であった。日本国内で消費されるたばこ製品の大部分は紙巻たばこ

であるが、国際的にみると様々な形態のたばこ製品が存在しており、近年インターネット通販等の普及にとともに、このような従来とは形態の異なるたばこ製品の購入が容易になってきた。特に受動喫煙対策の強化にとともに、無煙であることを強調した新しい製品として紹介されているスウェーデン製の「ガムたばこ」は日本市場をターゲットとしてつくられたもので、ネット通販だけでなく一部私鉄売店などでも販売されていた。

「ガムたばこ」は、医薬品として認可されている禁煙補助剤と形状は似ているが、禁煙補助剤が純粋なニコチンのみを成分としているのに対し、たばこそのものをガムベースに練りこんでいるため、ニコチン以外の多種多様な有害物質も摂取してしまい、健康影響や小児の誤飲などが懸念されることから、厚生労働省ホームページ上で注意喚起を促していたものの、あくまで財務省管轄の「たばこ製品」として認可されているため、その詳細な成分や、有害性についてはほとんど公表されていなかった。また、試料前処理操作も含め、成分分析手法、毒性試験のための有害成分抽出手法など基礎的な科学データがほとんど得られていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、未規制たばこ製品とその使用による健康影響対策に資する基礎的資料を作成することを目的として、近年日本国内でも流通が確認されていた未規制たばこ製品、特にガムたばこについて、試料前処理操作を含む成分分析手法を確立し、有害成分の同定・定量を行うとともに、発がん性と関連の深い遺伝子毒性など生体影響を調べることとした。

3. 研究の方法

未規制たばこ製品のうち国内流通が確認されているガムたばこについて、試料前処理操作を含む成分分析手法を検討し、発がん性と関連の深い遺伝子毒性（変異原性）試験を実施した。

(1) 初年度にあたる平成 22 年度は、ガムベース試料から変異原性成分抽出手法の作成を中心に研究を実施した。

(2) 平成 23 年度は、スウェーデン製ガムたばこ「ファイヤーブレイク」及び国産紙巻たばこ 3 種（マイルドセブンオリジナル、セブンスター、ホープ）を被験試料とし、それらの抽出物及び亜硝酸反応生成物の変異原性評価を中心に研究を実施した。変異原性試験はサルモネラ TA100 及び TA98 両菌株を用い、ラット肝 S9mix 添加・無添加両条件下でプレインキュベーション法により行った。

(3) 平成 24 年度は、比較対照試験を目的として、たばこ葉を含まないチューイングガム

の亜硝酸反応生成物の変異原性について調べた。変異原性試験はサルモネラ TA100 及び TA98 両菌株を用い、ラット肝 S9mix 添加・無添加両条件下でプレインキュベーション法により行った。また、ガムたばこ関連製品のニコチン分析や動物投与試料の検討も行った。

4. 研究成果

(1) 平成 22 年度はガムベース試料から変異原性成分抽出手法の作成を中心に研究を実施した。得られた結果の概要は以下の通りである。

① 試料前処理方法：ガムたばこには甘味料・香料などたばこ以外の成分も添加されていることが知られている。そこで、食品や環境試料からの変異原性有機成分の抽出に汎用されている 4 種類の有機溶媒（ジクロロメタン、ジメチルスルホキシド、メタノール、アセトン）を用いて試料前処理方法について検討を行った。ジクロロメタン抽出物には比較的大量のガムベースが含まれ、濃縮操作にも支障が生じた。メタノールおよびアセトン抽出ではガムベース成分は殆ど溶出しなかったが、濃縮過程で析出した成分が（変異原性試験用の）ジメチルスルホキシドに溶媒転換した際不溶性成分として残存が認められた。ジメチルスルホキシドで直接抽出した場合、ジクロロメタンほどではないもののガムベースの溶出が認められた。

② 毒性試験：遺伝子毒性（変異原性）試験への応用を念頭に、ガムたばこ試料を定性的な変異原性試験であるスポット・テストに供した。代表的なエイムス試験菌株 5 種類（TA1535, TA100, TA98, TA97, YG1024）を用いラット肝 S9mix による代謝活性化を行った場合と行わない場合の両条件下で試験したところ、いずれの菌株・条件下でもコロニー数の増加は認められず、また明瞭な菌の生育阻害も認められなかった。一方、試料前処理方法の妥当性を検討するために、たばこ葉抽出物とその亜硝酸処理試料の変異原性を比較した結果、亜硝酸処理により変異原性の増強が認められた。

(2) 平成 23 年度は、スウェーデン製ガムたばこ「ファイヤーブレイク」及び国産紙巻たばこ 3 種（マイルドセブンオリジナル、セブンスター、ホープ）を被験試料とし、それらの抽出物及び亜硝酸反応生成物の変異原性評価を中心に研究を実施した。変異原性試験はサルモネラ TA100 及び TA98 両菌株を用い、ラット肝 S9mix 添加・無添加両条件下でプレインキュベーション法により行った。

その結果、①ガムたばこ単独では明瞭な変異原性は認められなかった。②国産紙巻たばこ葉 3 種は主に TA98 株 S9mix 添加条件下で弱い変異原性が認められた。③被験試料に亜

硝酸処理を行ったところ国産紙巻たばこ葉 3 種はいずれも菌株・S9mix 添加の有無にかかわらず明瞭な変異原性が認められ、またガムたばこでも条件により変異原性が認められた (図 1、図 2)。④亜硝酸反応過程における pH の比較実験から酸性条件下でより強い変異原性が認められた。これらの結果から、口腔がん等のリスク要因とされている噛みたばこ同様、ガムたばこについても亜硝酸処理により、発がん関連物質が生成する可能性が示唆された。

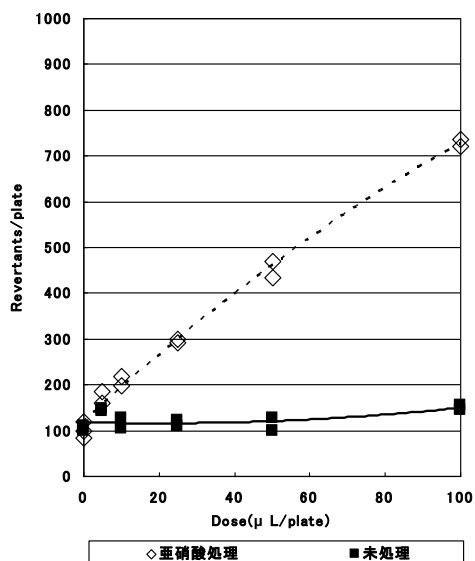


図 1 たばこ葉の亜硝酸反応生成物の変異原性試験結果の一例 (TA100-S9)

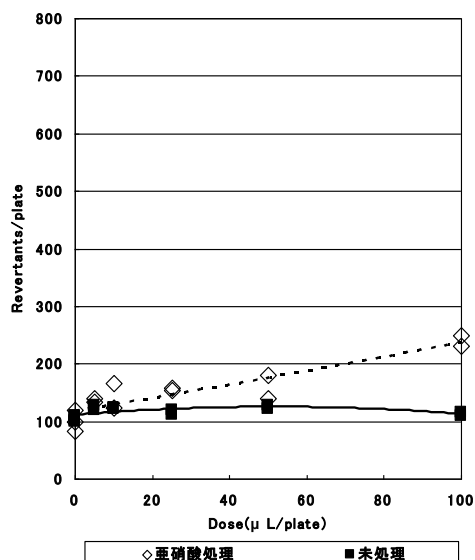


図 2 ガムたばこの亜硝酸反応生成物の変異原性試験結果の一例 (TA100-S9)

(3) 前述のようにガムにたばこ葉を練り込んだ「ファイヤーブレイク」の亜硝酸反応生成物が変異原性を示した。そこで、最終年度にあたる平成 24 年度は、その比較対照試験として、たばこ葉を含まないチューイングガムの亜硝酸反応生成物の変異原性について調べた。変異原性試験はサルモネラ TA100 及び TA98 両菌株を用い、ラット肝 S9mix 添加・無添加両条件下でプレインキュベーション法により行った。また、ガムたばこ関連製品のニコチン分析や動物投与試料の検討も行った。

その結果、①被験ガム試料の 50%DMSO/DW 抽出物は菌株・S9mix 添加の有無にかかわらず変異原性は認められなかった。②被験ガム試料に亜硝酸処理を行ったところ、主に塩基対置換型の突然変異を検出する TA100 株に対して、3 種類のガムが S9mix 無添加条件下で変異原性を示した。また、③主にフレームシフト型の突然変異を検出する TA98 株に対して、4 種類のガムが S9mix 無添加条件下で変異原性を示した (図 3)。④亜硝酸処理反応時における pH 比較実験を行ったところ、変異原性を示した被験ガム試料に関して、酸性条件下のみで変異原性が認められた。これらの結果から、ガムたばこのみならず、たばこ葉を含まないチューイングガムについても亜硝酸処理により、発がん関連物質が生成する可能性が示唆された。⑤ガムたばこ関連製品として禁煙補助剤等のニコチン分析を試みたが回収率が 70%と悪く定量値は得られなかった。⑥動物に投与可能な試料調製を試みたが、定量的な溶解度が得られなかった。

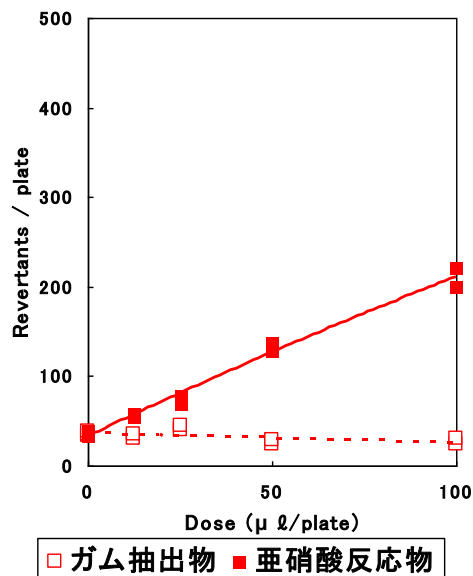


図 3 チューイングガムの亜硝酸反応生成物の変異原性試験結果の一例 (TA98-S9)

現在ガムたばこ「ファイヤーブレイク」は日本市場から姿を消し、ネット通販などでも入手困難となっているが、これ以外にも無煙であることを強調したたばこ製品が存在しており、今後も注意していく必要がある。また、比較対照試験結果から、たばこ葉を含まないチューイングガムについても亜硝酸処理により、発がん関連物質が生成する可能性が示唆されており、対象を拡大した研究が望まれる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ①Matsumoto M, Inaba Y, Yamaguchi I, Endo O, Hammond D, Uchiyama S, Suzuki G. Smoking topography and biomarkers of exposure among Japanese smokers: associations with cigarette emissions from machine smoking protocols. Environmental Health and Preventive Medicine 査読あり, 18, 2013, 95-103. DOI 10.1007/s12199-012-0293-7
- ②後藤純雄、遠藤治、内山茂久、稲葉洋平. たばこ煙中の成分測定、臨床化学, 39, 2010, 123-129

[学会発表] (計 5 件)

- ①遠藤治、諏訪由希子、三ッ木毬恵、後藤純雄. チューイングガムの亜硝酸反応生成物の変異原性、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日、横浜
- ②鈴木洵、高橋稚愛、後藤純雄、稲葉洋平、遠藤治. 喫煙者の尿中変異原の固相抽出手法の比較 (II)、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌
- ③宇田一成、三ッ木毬恵、高木敬彦、後藤純雄、遠藤治. ガムたばこの変異原性、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌
- ④遠藤治. たばこ煙の有害性：化学物質の観点から、第 2 回日本小児禁煙研究会学術集会 (招待講演)、2011 年 12 月 11 日、静岡
- ⑤高橋稚愛、瀬尾卓磨、後藤純雄、稲葉洋平、遠藤治. 喫煙者の尿中変異原の固相抽出手法の比較日本薬学会第 131 年会、2011 年 3 月 30 日、静岡

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 治 (ENDO OSAMU)

麻布大学・生命・環境科学部・准教授

研究者番号：10194028

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

後藤 純雄 (GOTO SUMIO)

麻布大学・生命・環境科学部・教授

研究者番号：30112890

守口 徹 (MORIGUCHI TORU)

麻布大学・生命・環境科学部・教授

研究者番号：10512006

高木 敬彦 (TAKAGI YUKIHIKO)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：30163182