

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：26301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09978

研究課題名（和文）新たな客観的アルコールパッチテスト法の開発

研究課題名（英文）Development of new evaluation method for ethanol patch test

研究代表者

脇坂 浩之（Wakisaka, Hiroyuki）

愛媛県立医療技術大学・保健科学部・教授

研究者番号：30304611

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：221名にアルコールに関する遺伝子解析とアルコールパッチテスト時の測色計による皮膚色変化の測定を行った結果、アルコールにリスクのある遺伝型（ALDH2変異型）の者は、そうでない者と比較して、測定値が測定直後より15分後まで有意に高く（赤く）なっており、測色計によってALDH2変異型の検出が可能であることが示唆された。一方で、肉眼判定は、評価者によってALDH2変異型検出の感度・特異度に大きな差があることが明らかとなった。今後の課題は、ALDH2およびADH1B遺伝子多型の組み合わせを測色計で判定可能かどうかを検討するとともに肉眼判定の評価者間格差の是正に測色計が有用か否かを検討することである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、測色計を用いることでアルコール暴露による皮膚の赤色変化の検出が可能であり、皮膚色を数値化できることを明らかにした。その結果、アルコールパッチテストの皮膚発赤の評価に測色計を用いることができ、数値による客観的な基準でALDH2変異型の検出が可能であることが示唆された。アルコールパッチテストに測色計を用いることで、誰でも簡単に低コストでアルコールに関するリスクのある者を判定することが可能であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The alcohol patch test and genetic analysis relating with alcohol degradation were performed on 221 cases. Skin color changes during alcohol patch test were evaluated by both a colorimeter and naked eyes. As a result of a colorimeter, ALDH2 variants group showed high values significantly compare to such of ALDH2 no variant group from 0 to 15 minutes after skin color measurement starts. As a result of a naked eyes evaluation by six evaluators, the each evaluators results of sensitivity and specificity for ALDH2 variant detection varied in widely, and it tend to related with evaluator's experience. These results suggested that a colorimeter can be used for objective evaluation in alcohol patch test to judge if ALDH2 no variant or not, also may be used for management for quality of naked eyes evaluation in an alcohol patch test.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：アルコールパッチテスト ALDH2 分光測色計

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食道癌や頭頸部癌といったがんの発癌やアルコール関連疾患などのリスクファクターである ALDH2 変異型を検出する方法として、遺伝子解析、アンケート、アルコールパッチテストがある。遺伝子解析は ALDH2 変異型を確実に判定する唯一の方法だが、コストと時間がかかり、スクリーニングには適さない。一方、アンケートは科学性に乏しく結果は不安定で、飲酒の既往のない者や飲酒が法的に認められていない未成年に対しては用いることができない。アルコールパッチテストは、誰でも簡単に行うことができ、高い感度を得ることのできるスクリーニング法として用いられている。しかし、アルコールパッチテストでは、ALDH2 変異型の皮膚にアルコールを暴露すると生じる皮膚の赤色変化を肉眼で評価するため、評価者の主観、周囲の明るさ等により評価が影響され、普遍性、客観性に課題が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、アルコールパッチテストにおいて、測色計を用いた定量的な色評価で皮膚色の变化を客観的に評価が可能かどうかを明らかにし、数値によるアルコールパッチテストの評価法を開発することである。同時に皮膚色変化の値と ALDH2 遺伝子変異の有無との関係についても検討を行う。さらに、評価者間格差についての検討も行い、その是正や評価基準の標準化やスクリーニング精度管理の必要性の有無についても検討する。

3. 研究の方法

本研究では、研究対象者の前腕部にアルコールパッチを貼付し、同部位の皮膚色変化を、肉眼および測色計によって経時的に評価した。アルコールパッチはアルコール含浸綿を用い、前腕内側に貼付した後、7分後にパッチをはがした。パッチ除去前およびパッチ除去直後から15分間、1分おきに皮膚色の变化を測色計で測定し、同時に肉眼による判定を行った。また、すべての研究対象者において、ALDH2 遺伝子多型についての遺伝子解析を行った。遺伝子解析には、検査キットを使用して口腔粘膜細胞より DNA を抽出して遺伝子解析を行い、ALDH2 変異型 (ALDH2*1/*2+*2/*2) を判定した。同時に、ADH1B 遺伝子多型の解析も行った。皮膚色の測定に用いた測色計 (KONICA MINOLTA, CM-600d) は、物体に反射した光を分光し、物体の色を明度と色度に分けて表すことができる機器である。測定値は L*a*b* 表色系で出力され、L* は明度 (+方向: 明るい、-方向: 暗い)、a* (+方向: 赤色方向、-方向: 緑色方向) と b* (+方向: 黄色方向、-方向: 青色方向) は色度を表す。皮膚色の比較には a* を用い、パッチ貼付前の a* とパッチ除去後の測定時の a* の変化量を Δa^* と定義した。

4. 研究成果

(1) 測色計による皮膚色測定の安定性に関する予備検討

測色計が皮膚色を安定的に測定することが可能かどうかを検討するため、アルコールの代わりに蒸留水を用いてパッチテストを行い、蒸留水の暴露前後の皮膚色の測定値を比較検討した (20例)。蒸留水の暴露による皮膚色の a^* の変化を図1に示す。

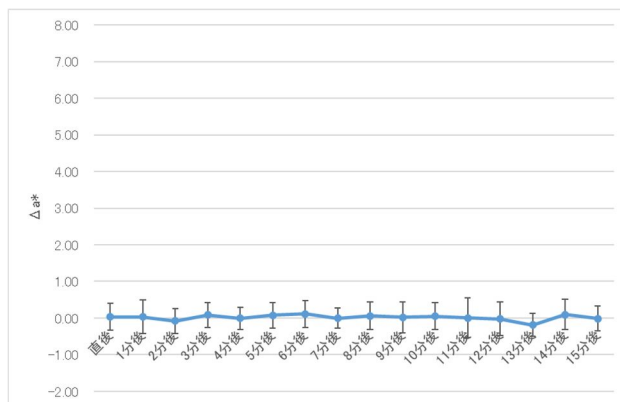


図1. 蒸留水の暴露による皮膚色の a^* の変化 (n=20)。上下のバーは標準偏差を表す。

a^* はパッチ除去直後から15分後まで安定的に0を示した。また、 a^* の標準偏差は、0.27~0.54であった。以上の結果より、測色計は皮膚色を安定的に測定可能であることが確認された。

(2) 測色計による皮膚の赤色変化の検出可否に関する検討

測色計が皮膚の赤色変化を検出可能かどうかを評価するため、皮膚色変化の肉眼判定結果と、肉眼判定時の a^* を比較した。肉眼による判定は、アルコール暴露前後の皮膚色の変化について、「発赤なし」、「やや発赤」、「発赤」の3段階で行った。「発赤なし」、「やや発赤」、「発赤」の例を図2に示す。



本検討では、肉眼判定を行う評価者をアルコールパッチテストの経験豊富な2名とした。2名により31例の肉眼判定を行った。パッチ除去10分後の判定結果が一致した30例について、判定結果と a^* を比較した(図3)。

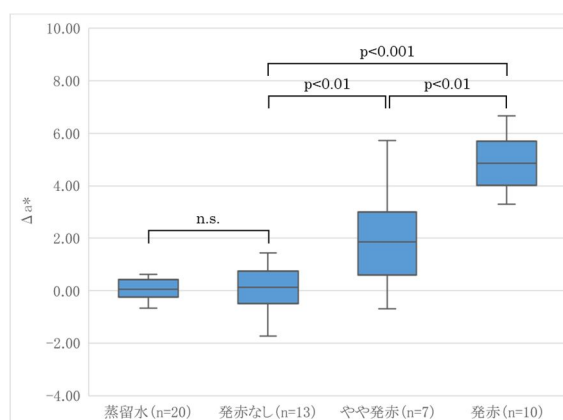


図3. パッチ除去10分後の皮膚色変化の肉眼判定結果と a^* の比較(n=30)。中央線は a^* の中央値、箱の上底と下底は a^* の75%と25%の値、上下のバーは最大値と最小値を表す。

「蒸留水」と「発赤なし」の a^* の間には、統計学的に有意な差はなかった。しかし、「発赤なし」と「やや発赤」の a^* を比較したところ、「やや発赤」の a^* の数値が高く、両者には有意な差があった($p<0.01$)。同様に「発赤なし」と「発赤」の a^* を比較したところ、「発赤」の a^* の数値が高く、両者には有意な差があった($p<0.001$)。さらに、「やや発赤」と「発赤」の間にも有意な差があった($p<0.01$)。以上の結果より、測色計による皮膚発赤を a^* の上昇として検出可能であることが明らかとなった。

(3) 測色計によるALDH2変異型の検出可能性

2018年9月から2022年3月末までに得られた研究対象者221名について、アルコール分解能に関連する遺伝子検査とアルコールパッチテストを行った。研究対象者のALDH2およびADH1B遺伝子多型の内訳を表1に示す。ALDH2遺伝子多型は、ALDH2変異型100例(低活性型87例、非活性型13例)、ALDH2非変異型121例(活性型121例)であった。また、ADH1B遺伝子多型は、高活性型130例、活性型70例、低活性型21例であった。

表 1. 研究対象者の ALDH2 および ADH1B 遺伝子多型の内訳 (n=221)

	ALDH2 非変異型		ALDH2 変異型	計
	活性型	低活性型	非活性型	
ADH1B 低活性型	8	13	0	21
ADH1B 活性型	38	27	5	70
ADH1B 高活性型	75	47	8	130
計	121	87	13	221

皮膚色の a^* の平均値を算出し、ALDH2 変異型 (n=100)、ALDH2 非変異型 (n=121) およびコントロール (蒸留水、n=20) の a^* の変化を経時的に比較した (図 4)。

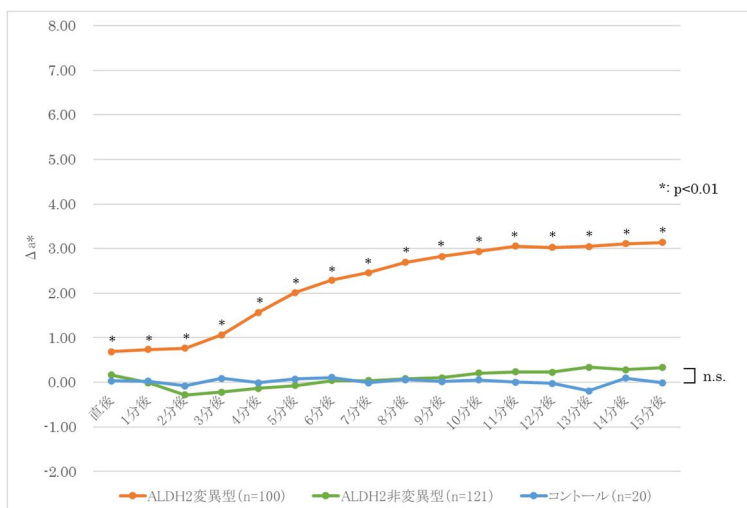


図 4. ALDH2 変異型、ALDH2 非変異型およびコントロールの a^* の経時的な変化。*は、ALDH2 変異型と ALDH2 非変異型の a^* の間に統計学的な有意差 ($p<0.01$) の存在を示す。

ALDH2 非変異型とコントロールの a^* の間には、パッチ除去直後から 15 分後まですべての測定時で統計学的に有意な差はなかった。一方、ALDH2 非変異型と ALDH2 変異型の a^* の間では、ALDH2 変異型の a^* がパッチ除去直後から 15 分後まですべての測定時で有意に高かった ($p<0.01$)。以上の結果より、ALDH2 変異型は、ALDH2 非変異型と比較して、すべての測定時の a^* が有意に上昇していたため、測色計による a^* の上昇が、ALDH2 変異型の検出に有用であることが示唆された。

(4) 研究対象者本人の肉眼判定による ALDH2 変異型検出の感度と特異度に関する検討

アルコールパッチテスト (肉眼判定による) の ALDH2 変異型検出の感度と特異度に関する検討を行った。肉眼判定には、研究対象者本人による判定結果を用いた。研究対象者には、アルコールパッチ除去直後と 10 分後に皮膚色を「発赤なし」、「やや発赤」、「発赤」の 3 段階で評価してもらい、「やや発赤」もしくは「発赤」の評価を「発赤あり」、「発赤なし」の評価を「発赤なし」とした。最終判定は、パッチ除去直後もしくは 10 分後の評価が「発赤あり」の場合に「発赤あり」、それ以外は「発赤なし」とした。パッチ除去直後と 10 分後の ALDH2 変異型検出の感度と特異度、および最終判定の ALDH2 変異型検出の感度と特異度を表 2 に示す。

表 2. 研究対象者本人の肉眼判定による ALDH2 変異型検出の感度と特異度 (n=221)

直後		10分後		最終判定	
感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)
13.0	100.0	66.0	94.2	66.0	94.2

研究対象者本人の肉眼判定によるアルコールパッチテストの感度と特異度は、最終判定でそれぞれ 66.0%、94.2%であった。

(5) 評価者間の格差に関する検討

評価者によってアルコールパッチテストの肉眼判定に格差があるか否かを明らかにするために、複数の評価者によって行ったアルコールパッチテスト (肉眼判定による) の評価者別の ALDH2 変異型検出の感度と特異度に関する検討を行った。評価者は、アルコールパッチテストの経験豊富な 2 名、研究対象者本人、アルコールパッチテスト初心者 3 名とした。アルコールパッチテス

ト経験者2名を評価者AとB、研究対象者本人を評価者C、アルコールパッチテスト初心者を経験者D~Fとした。各評価者には、(4)と同様の方法で肉眼判定を行ってもらった。各評価者の判定数は、評価者Aが41例、評価者Bが55例、評価者Cが221例、評価者Dが152例、評価者Eが103例、評価者Fが101例であった。評価者別の肉眼判定によるALDH2変異型検出の感度と特異度を表3に示す。

表3. 評価者別の肉眼判定によるALDH2変異型検出の感度と特異度の比較

	直後		10分後		最終判定		判定数 (n)
	感度(%)	特異度(%)	感度(%)	特異度(%)	感度(%)	特異度(%)	
評価者A(経験者)	25.0	95.2	90.0	85.7	90.0	81.0	41
評価者B(経験者)	11.1	100.0	96.3	92.9	96.3	92.9	55
評価者C(本人)	13.0	100.0	66.0	94.2	66.0	94.2	221
評価者D	15.2	98.8	77.3	87.2	78.8	86.0	152
評価者E	15.6	100.0	77.8	87.9	80.0	87.9	103
評価者F	18.2	93.0	84.1	89.5	86.4	86.0	101

パッチ除去直後は各評価者の感度が11.1%~25.0%であり、10分後の感度は66.0%~96.3%であった。また、最終判定の感度は、66.0%~96.3%であった。以上の結果より、直後、10分後、最終判定のいずれの感度にも、各評価者の結果にばらつきが生じた。その原因としては、各評価者の判定基準に格差があることが考えられた。

(6) まとめ

本研究の結果より、測色計は皮膚色を安定的に測定可能であり、皮膚発赤を a^* の上昇として検出可能であることが明らかとなった。また、アルコールパッチテストによる皮膚色の变化を、ALDH2変異型とALDH2非変異型の a^* と比較した結果、パッチ除去直後から15分後までALDH2変異型の a^* は統計学的に有意に高かった。そのため、測色計による a^* の上昇が、ALDH2変異型の検出に有用であることが示唆された。

肉眼判定においては、複数の評価者間の感度と特異度に関する検討で、評価者によって感度と特異度の結果にばらつきがあり、各評価者の肉眼判定基準には、格差があることが明らかとなった。したがって、この格差の是正や評価基準の標準化およびスクリーニング精度管理のために、測色計が有用である可能性が考えられた。

今後の課題は、ALDH2およびADH1B遺伝子多型の組み合わせを測色計で判定可能かどうかを検討するとともに、肉眼判定の評価者間格差の是正に測色計が有用か否かを検討することである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Mitani Sohei, Nishio Naoki, Kitani Takashi, Ugumori Toru, Wakisaka Hiroyuki, Tanaka Keiko, Miao Beiping, Chan Jason Y. K., Holsinger F. Christopher, Hato Naohito	4. 巻 2
2. 論文標題 Verbalization, Categorization, and Evaluation of Fundamental Surgical Skills	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Surgery Open	6. 最初と最後の頁 e059 ~ e059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/AS9.0000000000000059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Hiroyuki, Kai Naruhiko, Hiratsuka Yoshiyasu, Mitani Sohei, Suehiro Satoshi, Shiraishi Yasuhiro, Kimura Takuya, Takagi Taro, Iwata Shinji, Teraoka Masato, Wakisaka Hiroyuki, Hato Naohito	4. 巻 132
2. 論文標題 Comparison of the Signal Intensity of Vestibular Schwannoma Between Growing and Nongrowing Tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 198 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.29834	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taniguchi Miho, Nabeka Hiroaki, Yamamiya Kimiko, Khan Md. Sakirul Islam, Shimokawa Tetsuya, Islam Farzana, Doihara Takuya, Wakisaka Hiroyuki, Kobayashi Naoto, Hamada Fumihiko, Matsuda Seiji	4. 巻 16
2. 論文標題 The expression of prosaposin and its receptors, GRP37 and GPR37L1, are increased in the developing dorsal root ganglion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0255958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0255958	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Takuya, Yamada Hiroyuki, Teraoka Masato, Joko Tomonori, Iwata Shinji, Tabata Yasuhiro, Wakisaka Hiroyuki, Hato Naohito	4. 巻 42
2. 論文標題 Intratympanic Insulin-like Growth Factor-1 Administration Via the Otic Bulla in a Severe Facial Paralysis Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Otology & Neurotology	6. 最初と最後の頁 e1376 ~ e1381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MAO.00000000000003263	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunihiro Joji, Nabeka Hiroaki, Wakisaka Hiroyuki, Unuma Kana, Khan Md. Sakirul Islam, Shimokawa Tetsuya, Islam Farzana, Doihara Takuya, Yamamiya Kimiko, Saito Shouichiro, Hamada Fumihiko, Matsuda Seiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Prosaposin and its receptors GRP37 and GPR37L1 show increased immunoreactivity in the facial nucleus following facial nerve transection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0241315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0241315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimokawa Tetsuya, Nabeka Hiroaki, Khan Sakirul Islam, Yamamiya Kimiko, Doihara Takuya, Kobayashi Naoto, Wakisaka Hiroyuki, Matsuda Seiji	4. 巻 383
2. 論文標題 Prosaposin in the rat oviductal epithelial cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell and Tissue Research	6. 最初と最後の頁 1191 ~ 1202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-020-03339-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tohyama Taiji, Sakamoto Katsunori, Tamura Kei, Nakamura Taro, Watanabe Jota, Wakisaka Hiroyuki, Takada Yasutsugu	4. 巻 18
2. 論文標題 Pharyngeal metastasis following living-donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a case report and literature review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-020-01873-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 金澤知典、富所雄一、山田啓之、脇坂浩之
2. 発表標題 アルコールパッチテストのための皮膚色測定システムの構築
3. 学会等名 情報処理学会 第84回全国大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山田 啓之 (Yamada Hiroyuki) (00403808)	愛媛大学・医学系研究科・准教授 (16301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	金澤 知典 (Kanazawa Tomonori) (50777133)	愛媛県立医療技術大学・保健科学部・准教授 (26301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------