

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 6 月 18 日現在

機関番号：82504

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2012

課題番号：21791601

研究課題名（和文）

エタノール摂取呼気による頭頸部発がんスクリーニング検査法の開発に関する研究

研究課題名（英文） Investigation on screening method of the head and neck carcinogenic risk by expiration air with ethanol drinking.

研究代表者

林 智誠（TOMOMASA HAYASHI）

千葉県がんセンター 頭頸科 医長

研究者番号：20510366

研究成果の概要（和文）：

頭頸部がんを早期で発見することにより、発声・嚥下等の機能温存可能になるため、そのハイリスク群をスクリーニングすることでそれが容易になる。エタノール代謝産物であるアセトアルデヒドが発癌に関与すると考えられており、ALDH2 ヘテロ欠損者はそれが長く遷延することが知られている。そこで、アセトアルデヒド呼気処理装置を用いた呼気テストを行い、スクリーニングすることを目的とした。しかしながら、アセトアルデヒドの不安定性、環境によって検査値が変動することなどから研究は難航、東日本大震災による機器の破損等もあり、当初の予定通りの成果は得られなかった。

研究成果の概要（英文）：

Early detection of the head and neck cancer is very important to preserve function of pharynx and larynx. Detection of high risk character of head and neck cancer is also easy to treat with functional preservation. One of the carcinogens of head and neck is acetaldehyde and the person who is ALDH2 heterogamete type is high risk of head and neck cancer. This research is using to expiration of ethanol drinking person to detect the high risk person. But, instability of acetaldehyde is very difficult to this research and I cannot obtain any result in this research.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物系 医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 耳鼻咽喉科学

キーワード：①咽頭科学 ②発がん

1. 研究開始当初の背景

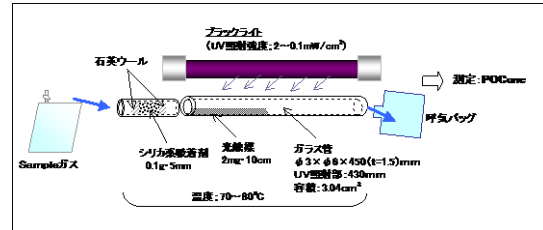
頭頸部、特に中・下咽頭は、気道と食道の境界に当たり、発声・嚥下などに関係する部位に当たる。また、癌になっても症状が出にくく、進行した状態で発見されることが多く治療により機能障害を残すことが多かった。しかしながら、近年、NBI 内視鏡等の進歩によ

り、早期の状態で見られるようになってきており、内視鏡治療が行われ、機能温存可能になってきた。つまり、早期で頭頸部癌を発見することで発声・嚥下等の機能を温存することが可能になると考えられ、頭頸部がんのハイリスク群を健診等でスクリーニングする方法が必要になった。

近年の研究にて、ALDH2 遺伝子多型と頭頸部・食道扁平上皮がんの発癌についてのメカニズムが解明されつつある。特に、エタノール摂取後の代謝産物であるアセトアルデヒドが発癌に関与すると説明されるようになってきた。また近年になり、ALDH type 2(ALDH2)欠損者に食道がんが多いことが発表され、その後 ALDH2 のみならず ADH2 や ADH3 の遺伝子多型と食道がん・頭頸部がんの関連が次々に報告されている。ALDH2 はアセトアルデヒドの主要代謝酵素で、ALDH2 をコードする遺伝子はヒト 12 番染色体上にあるが、エクソン 12 に遺伝子多型が存在し、ALDH2*2 と呼ばれる変異型遺伝子によりその機能を欠損することが報告されている。この酵素欠損は白人、黒人、黄色人種の 3 系統に分類すると前 2 者には認められず、日本人を含む黄色人種にのみ認められる。遺伝子型には、正常型(ALDH2*1/2*1)、ヘテロ欠損型(ALDH2*1/2*2)、ホモ欠損型(ALDH2*2/2*2)の 3 タイプがあり、日本人ではそれぞれ約 50%、40%、10%と報告されている。ホモ欠損型はアルコールをまったく飲めない人たちに該当するため、頭頸部・食道癌患者は少ない。一方、ヘテロ欠損型の場合、飲酒を始めた当初は飲めなかったが飲酒を重ねることでお酒を飲めるようになる場合があり、その人たちが常飲することによって発癌に強く関与することが明らかになってきた。

アセトアルデヒドは、飲酒後の唾液や呼気に存在するが、ALDH2 ヘテロ欠損者の呼気中アセトアルデヒドは健常者と比較して有意に高く長時間遷延することがわかっている。スクリーニング方法として、遺伝子解析を行うことが考えられるが、高価であるとともに倫理的にも問題が発生する。そこで、呼気中のアセトアルデヒドを用いてスクリーニングする方法が考えられた。しかしながら、健診時に大量のアルコールを飲用させることは不可能であるため、少量のアルコール摂取にてスクリーニングする必要がある。そこで、国立がんセンターの武藤らは、アセトアルデヒド含有呼気処理装置を開発した。これは、吸着剤(シリカゲル)にて $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ を吸着し、光触媒にて CH_3CHO を 2CO_2 に変換させる装置である。(図 1) その CO_2 を測定し、エタノール摂取前の呼気の CO_2 と比較し、その増分を見ることで呼気中アセトアルデヒドを推定することが可能となる。特に摂取する $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ の C を 13C とすることで標識し、摂取したエタノール由来であることを明確にすることが可能である。この装置を用いて測定された呼気中アセトアルデヒド濃度の結果と ALDH2 遺伝子多型の関連についての研究は未だされておらず、この関連が証明されることにより頭頸部発

癌の高リスク群をスクリーニング可能となり、禁酒等の指導と、早期発見により機能温存治療の適応症例が増加するものと考えられる。それによって、臨床的研究および実臨床医療に大きな革命を起こすことが期待できる研究になると考えられる。



(図 1) CH_3CHO 処理装置の概念

2. 研究の目的

背景を踏まえて本研究では

- (1) アセトアルデヒド呼気処理装置を用いた呼気テストに際し、摂取エタノールの至適量を決定する
- (2) 得られた結果と ALDH2 遺伝子多型についての関連性を検討する
- (3) 健康診断等で使用可能な機器・方法を開発することを目標とする。

ALDH2 遺伝子多型と頭頸部発癌の関連性についてはさまざまな報告が存在する。また、呼気中アセトアルデヒド濃度と ALDH2 遺伝子多型との関連性も報告されているが、ある程度の量のエタノール摂取後のものしか存在しない。今回国立がんセンターの武藤らが開発したアルデヒド処理装置を用いることにより、少量のエタノール摂取下での呼気中アセトアルデヒドの増分を測定することが可能になったが、その装置の実用性に関しては未だ明らかにされていない。

本研究における特色として、そのエタノール少量摂取下における呼気中アセトアルデヒドを本装置にて処理し測定することにより、ALDH2 遺伝子多型との関連性が推定することが可能となり、頭頸部発癌の高リスク群をスクリーニング可能となることが考えられる。その結果、頭頸部癌の早期発見が可能になり、機能温存につながり、患者の QOL 向上に役立つと思われる。

さらに、この装置の実用化に向けより安全で簡便な方法を開発し、健康診断等にて使用されることにより、頭頸部癌の高リスク群をすべての人々に対してスクリーニング可能になると考えられ、頭頸部癌の予防とより早期に頭頸部癌が発見可能になり、機能温存治療の適応症例が広がると考えられる。

3. 研究の方法

摂取エタノールの至適量についての検討
エタノール摂取により、ADH によりアセトアルデヒドに変換され、ALDH により CO_2 へと変

換される。その途中代謝産物であるアセトアルデヒドと頭頸部発がんについての関連性は横山らによって証明されている。そして、国立がんセンターの武藤らによって発明された、このアルデヒド呼気処理装置は CH₃CHO を 2CO₂ に変換し、効率よく呼気中のアセトアルデヒドを測定するのに寄与する。そのため、少量のエタノール摂取のみで効率よくアセトアルデヒド濃度を CO₂ の増分として測定できるようになると考えられる。そのため、まずは予備試験として、どの程度のエタノールを摂取することで安定してアセトアルデヒドを測定できるようになるのかを調べる。

(a) ALDH2 遺伝子多型の検索

ボランティア 30-50 人程度に協力してもらい、採血により ALDH2 遺伝子多型を検索する。採血は 1ml 程度で、SMAP 法を用いたリアルタイム PCR により ALDH2 遺伝子多型を検索する。それにより、それぞれ正常型 (ALDH2*1/2*1)、ヘテロ欠損型 (ALDH2*1/2*2)、ホモ欠損型 (ALDH2*2/2*2) の 3 タイプの症例について数人程度ずつをピックアップし、被験者とする。その被験者数はできるだけ多数のほうが望ましい。

(b) 至適エタノール摂取量の検討

ピックアップされた被験者に対し、13C エタノールを摂取させ、それぞれの呼気を経時的に採取する。武藤らの研究に倣い、摂取前、1 分、3 分、5 分、7 分の各々に呼気を採取し、アルデヒド呼気処理装置を用い、POCone にて測定することとする。

13C エタノール摂取は、この装置を健診にて使用可能とするため、酒帯び運転とならない程度のごくごく少量のみでなければならない。したがって、13C エタノール摂取量は、一回につき 0.1ml~0.3ml を限度とする予定である。その前後には十分水分を取ることが望まれる。武藤らの予備実験によると、0.1ml 程度でも測定できるとされているが、この 3 タイプについて有意差が生じる至適エタノール量を決定する。

エタノール摂取・呼気採取方法については後に記す方法とする。しかし、その方法については適宜改良を加え、至適エタノール量の決定とともに、最も効率的に呼気中アセトアルデヒド濃度を測定する方法を検討することとする。

ALDH2 遺伝子多型と呼気中アセトアルデヒド濃度の相関性についての検討

平成 20 年度に行われた研究により決定された至適エタノール摂取量をもとに、ALDH2 遺伝子多型との相関性を見る。武藤らの研究によると、正常型 (ALDH2*1/2*1) とヘテロ欠損型 (ALDH2*1/2*2)、ホモ欠損型 (ALDH2*2/2*2) の間に呼気中アセトアルデヒド濃度に関して有意差が生じることが証明

されている。平成 21 年度では、この 13C エタノール至適摂取量に対し、呼気中アセトアルデヒド濃度を測定し、有意差検定することによりカットオフ値を求め、実用化に一步近づけるのを目標とする。

(a) ALDH2 遺伝子多型の検索

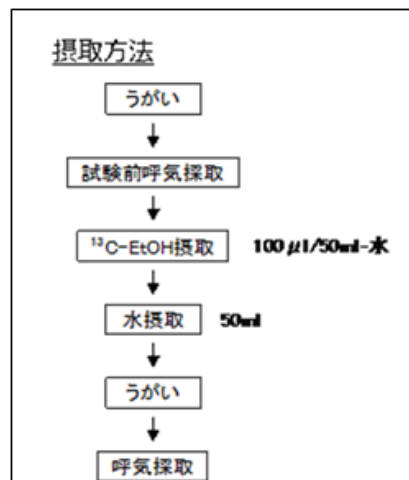
ボランティア 100-150 人程度に協力してもらい、採血により ALDH2 遺伝子多型を検索する。採血は 1ml 程度で、SMAP 法を用いてリアルタイム PCR により ALDH2 遺伝子多型を検索する。それにより、それぞれ正常型 (ALDH2*1/2*1)、ヘテロ欠損型 (ALDH2*1/2*2)、ホモ欠損型 (ALDH2*2/2*2) の 3 タイプの症例について分類され、それぞれすべての被験者を対象とする。

(b) 呼気中アセトアルデヒド濃度と ALDH2 遺伝子多型の相関性に関する検討

ピックアップされた被験者に対し、平成 20 年度に検討された 13C エタノール至適量を摂取させ、それぞれの呼気を経時的に採取する。平成 20 年度 (b) と同様に摂取前、1 分、3 分、5 分、7 分の各々に呼気を採取し、アルデヒド呼気処理装置を用い、POCone にて測定する。それによって測定された、被験者の呼気中アセトアルデヒド濃度と ALDH2 遺伝子多型について相関性を検討する。

【参考】エタノール摂取方法の案

今回の研究に際し、エタノール摂取方法について下図のように計画している。最初に、うがいをする事により、口腔内在菌によって発生するアセトアルデヒドの影響を除去する。その後少量の 13C エタノールを摂取させ、水分を摂取させることにより、13C エタノールの吸収を促進する。13C エタノール摂取後うがいをさせることにより、口腔内に残存した 13C エタノールによる干渉を予防する。その後、呼気を採取し、処理・測定を行う。



このように、13C エタノール摂取に対し、う

がい等を行うことにより、より確実に呼気中アセトアルデヒドを効率的に測定することを考えている。
この摂取方法については、適宜再評価することとする。

4. 研究成果

予備実験として、どの程度の量のエタノールを飲用し、どのタイミングで呼気採取するのがふさわしいかを検討した。外来でできる手軽で簡便な検査として考えた時、飲酒運転等の危険がないようにするため、微量のエタノールで検査することが必要であった。そこでまずは、100 μ l 前後のエタノールで研究可能か考えた。被験者一人に対し、ALDH-2 遺伝子多型を検索。その被験者は ALDH-2 のヘテロであり、ハイリスクに当てはまった。そこで、エタノール 100 μ l をミネラルウォーターとともに飲用。数回繰り返した。しかしながら、常に同一の結果は得られず、検査を行った時間、場所、体調によって検査値にばらつきがあることがわかった。そのばらつきには明らかな傾向はなく、補正することも困難であった。今回この方法での研究は断念し、他の方法でこの研究開発を継続すべく計画中である。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 智誠 (TOMOMASA HAYASHI)
千葉県がんセンター・頭頸科 医長
研究者番号：20510366