



Title	ADH1B/ALDH2遺伝子型による頭頸部癌内視鏡治療後の異時性頭頸部癌発症リスクに関する検討
Author(s)	井上, 雅貴
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第14698号
Issue Date	2021-09-24
DOI	10.14943/doctoral.k14698
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/90073">http://hdl.handle.net/2115/90073</a>
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2644
File Information	Masaki_Inoue.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

ADH1B/ALDH2 遺伝子型による  
頭頸部癌内視鏡治療後の  
異時性頭頸部癌発症リスクに関する検討

(Evaluation of the risk of metachronous multiple squamous cell carcinoma of the head and neck after endoscopic resection based on the genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase 1B and aldehyde dehydrogenase 2)

2021年9月  
北海道大学  
井上 雅貴



学位論文

ADH1B/ALDH2 遺伝子型による  
頭頸部癌内視鏡治療後の  
異時性頭頸部癌発症リスクに関する検討

(Evaluation of the risk of metachronous multiple squamous cell carcinoma of the head and neck after endoscopic resection based on the genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase 1B and aldehyde dehydrogenase 2)

2021年9月

北海道大学

井上 雅貴

## 目次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
緒言	6 頁
方法	11 頁
結果	17 頁
考察	33 頁
結論	36 頁
謝辞	37 頁
利益相反	38 頁
引用文献	39 頁

## 発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の雑誌に投稿中である。

1. Evaluation of the risk of metachronous multiple squamous cell carcinoma of the head and neck after transoral surgery based on the genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase 1B and aldehyde dehydrogenase 2  
Masaki Inoue, Yuichi Shimizu, Masanobu Taniguchi, Yuki Kimura, Hiroto Furuhashi, Akira Dobashi, Takashi Ikeya, Kenichi Goda, Masayuki Kato, Mototsugu Kato, Naoya Sakamoto, Akihito Watanabe.  
*Carcinogenesis*

本研究の一部は以下の学会にて発表した

1. 井上 雅貴、清水 勇一、渡邊 昭仁、古橋 広人、池谷 敬、郷田 憲一、加藤 元嗣、加藤 正之、坂本 直哉  
ADH1B/ALDH2 遺伝子型による頭頸部がん内視鏡治療後の異時性頭頸部がんの発症リスクに関する検討—hPad study 中間報告  
第99回日本消化器内視鏡学会総会、2020年9月2日-9月3日、京都

# 要旨

## 【背景と目的】

近年の内視鏡診断・治療技術の向上により、頭頸部表在癌として発見される症例が増えてきた。頭頸部表在癌については、内視鏡的切除（endoscopic resection: ER）の技術が発達し、それらの治療法により根治される可能性が示されてきている。ERは喉頭、咽頭の保存を可能にするがER後に温存された喉頭、咽頭からは異時性の頭頸部癌が発生することがありER後の異時性頭頸部癌の発生は根治性の点で問題となる。

飲酒と喫煙習慣は、頭頸部癌のリスクと大きな関連があることはよく知られている。酒類に含まれるエタノールはアルコールの一種であり、アルコール脱水素酵素1B (Alcohol dehydrogenase 1B: ADH1B)によってアセトアルデヒドに変化し、そのアセトアルデヒドは主にアルデヒド脱水素酵素2型(Aldehyde dehydrogenase 2: ALDH2)によって代謝され無害な酢酸塩を形成する。これらの遺伝子多型であるALDH2ヘテロ欠損型(\*1/\*2)、ADH1Bホモ低活性型(\*1/\*1)が頭頸部癌のリスクに関わっているという報告がある。これらの因子がER後の異時性頭頸部癌発症リスクにも関わっている可能性が想定される。

今回、我々はADH1B/ALDH2遺伝子型、および治療前後の飲酒喫煙習慣による頭頸部癌ER後の異時性多発頭頸部癌発症リスクを明らかにすることを目的とする多施設研究を行った。

## 【対象と方法】

新たに採取される検体を用いた多施設共同の後ろ向き研究を行った。2019年1月から2020年5月の期間で、北海道大学病院を含めた7つの施設(恵佑会札幌病院、国立病院機構函館病院、聖路加国際病院、東京慈恵会医科大学葛飾医療センター、東京慈恵会医科大学附属病院、獨協医科大学病院)で頭頸部表在癌に対してERが行われ、2年以上経過観察されている全ての患者を対象とし、文書で同意が得られた患者を前向きに登録した。文章による同意が得られた後、ADH1B/ALDH2の遺伝子検査のために頬粘膜細胞を採取する。

## 【結果】

198例が適格な対象として登録された。全経過観察期間の中央値は54ヵ月(24-184ヵ月)であった。平均年齢は65.6歳(SD, 8.2歳)、男性が180例(90.9%)であった。2次頭頸部癌は64例(32.3%)でみられた。2次頭頸部癌のリスク因子について単変量解析を行ったところ、年齢、ADH1B\*1/\*1、ALDH2\*1/\*2、治療前の飲酒、治療後の飲酒が、2次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。多変量解析では、ADH1B\*1/\*1

(HR, 1.88; 95% CI, 1.11-3.19;  $P=0.02$ )、ALDH2\*1/\*2(HR, 2.11; 95% CI, 1.00-5.16;  $P=0.048$ )、治療前の飲酒(HR, 1.17; 95% CI, 1.06-1.27;  $P=0.01$ )が2次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。3次頭頸部癌は198例中、20例(10.1%)でみられた。3次頭頸部癌のリスク因子について単変量解析を行ったところ、年齢が若いこと(HR, 0.48; 95% CI, 0.27-0.84;  $P=0.01$ )、ADH1B\*1/\*1(HR, 3.81; 1.56-10.16;  $P=0.003$ )、ALDH2\*1/\*2(HR, 4.84; 95% CI, 1.00-87.05;  $P=0.049$ )、治療後の飲酒(HR, 1.36; 95% CI, 1.05-1.70;  $P=0.02$ )が3次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。治療前に中等量以上の常習飲酒者であった182例について、治療後節酒群と非節酒群における2次頭頸部癌の5年発生率はそれぞれ20.8%と46.5%であった(HR, 0.54; 95% CI, 0.31-0.92;  $P=0.021$ )。年齢、性別、ADH1B 遺伝子型、ALDH2 遺伝子型、ER 前の飲酒量で節酒の有無のリスクを調整したが、節酒は2次頭頸部癌の発生を有意に減少させていた(調整 HR, 0.54; 95% CI, 0.29-0.96;  $P=0.036$ )。禁煙群と非禁煙群で、2次頭頸部癌の発生率に有意な差はみられなかった。節酒群と非節酒群における3次頭頸部癌の10年発生率はそれぞれ11.3%と36.1%であり、年齢、性別で調整しても節酒は有意に3次頭頸部癌の発生率を低下させていた(調整 HR, 0.22; 95% CI, 0.03-0.79;  $P=0.002$ )。

#### 【考察】

頭頸部領域及び食道に扁平上皮癌が多発することは、field cancerization 現象で説明されてきており、特に食道扁平上皮癌内視鏡切除後の異時性多発癌について、その発症リスクが報告されてきた。異時性多発癌とADH1B/ALDH2 多型との関係について、Abikoらは食道扁平上皮癌内視鏡切除症例158例について解析し、異時性多発食道癌および異時性頭頸部癌の独立したリスク因子としてALDH2 ヘテロ欠損型(\*1/\*2)、治療後の飲酒継続であることを報告した。今回の頭頸部癌に対するER後症例での検討では、異時性多発頭頸部癌の発症リスクはALDH2 ヘテロ欠損型、ADH1B ホモ低活性型(\*1/\*1)、治療前の飲酒量であったが、この違いは、アセトアルデヒドの発癌効果に加えて、アルコールの、咽頭粘膜への直接暴露による障害が関係している可能性が考えられた。

頭頸部癌は従来、予後の悪い疾患とされてきたが、早期に発見されれば良好な予後が望める。患者の quality of life を保つためにも、異時性多発頭頸部癌の早期発見、もしくは発症を予防することは重要であると考えられる。頭頸部癌に対するER後の症例において、例えば上述のリスク因子を複数有する症例に対しては経過観察を密にする等の対応をすることが望ましいのではないかと考えた。また、今回の検討では、中等量以上の飲酒継続が2次のみならず3次頭頸部癌の発症リスクを有意に増加させることが明らかとなった。治療後の飲酒量は、アルコール代謝遺伝子と違い、患者自身の意思で改善可能である。飲酒習慣のある頭頸部癌のER後の症例に対しては、異時性

頭頸部癌が進行した状態で発見されるリスクや、繰り返される全身麻酔手術、入院治療に伴う経済的、社会的負担のみならず、嚥下障害等の将来的な quality of life 低下のリスクについて十分に説明するなどして節酒指導を行うことは有用である可能性がある。節酒により2次頭頸部癌発症リスクが0.54倍と、ほぼ半減することを説明すれば、節酒に対する強い動機付けになると考えられた。一方で、禁煙が異時性多発頭頸部癌の発症に影響を与えないことは予想されなかった結果であった。喫煙が頭頸部癌の重要なリスクであることは明らかであるが、頭頸部癌発症時の喫煙による遺伝子へのダメージは、治療後も持続する可能性が考えられた。機序の解明には、さらなる分子生物学的な検討が必要と考える。

#### 【結論】

ALDH2 ヘテロ欠損型、ADH1B ホモ低活性型、治療前の飲酒量は、頭頸部癌に対するER後において、異時性多発頭頸部癌の独立したリスク因子であり、これらのリスク因子を元にfollow-up計画を考慮すべきである。また、常習飲酒者については節酒により2次頭頸部癌、3次頭頸部癌の発生が有意に低下していたため、異時性多発頭頸部癌の発生抑制のために節酒を勧めることは有用な可能性がある。

## 略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

ADH1B	alcohol dehydrogenase 1B
ALDH2	aldehyde dehydrogenase 2
CI	confidence interval
HNSCC	head and neck squamous cell carcinoma
HPV	human papillomavirus
HR	hazard ratio
ELPS	endoscopic laryngo-pharyngeal surgery
EMR	endoscopic mucosal resection
ER	endoscopic resection
ESD	endoscopic submucosal dissection
SD	standard deviation

## 緒言

従来、頭頸部扁平上皮癌は進行癌として発見されることが多く、根治手術可能であったとしても、喉頭全摘などの高侵襲な手術が適応されることが多かった。しかし、近年の内視鏡診断・治療技術の向上により、頭頸部表在癌として発見される症例が増えてきた。狭帯域光観察や拡大内視鏡(図 1)などの内視鏡技術の開発は、表在型の頭頸部癌の検出増加に貢献している (Katada et al., 2010; Muto et al., 2007; Goda et al., 2016.)(図 2)。



図1 狭帯域光観察(左)と拡大内視鏡(右)

狭帯域光観察は血液中のヘモグロビンに吸収されやすい狭帯域化された2つの波長の光を照射することにより、粘膜表層の毛細血管、粘膜微細模様の強調表示することができる。拡大内視鏡はマイクロマシン技術のアクチュエーターを内視鏡先端部に内蔵し、手元のコントローラーによるレンズ移動で拡大操作を行い、約100倍までの拡大画像を得ることができる。

(<https://www.olympus.co.jp/jp/news/2006b/nr061226evissj.html>)

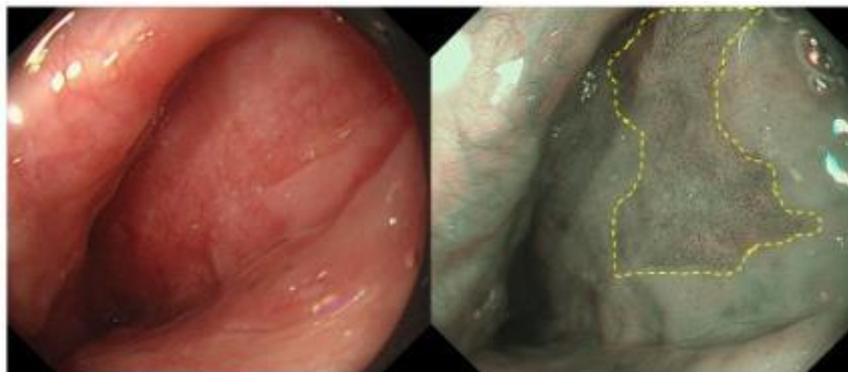


図2 右梨状陥凹の表在癌

通常光の観察では不明瞭であった病変は狭帯域光観察と拡大観察の併用によって、同定することができた。内視鏡切除が施行され、最終病理診断は扁平上皮癌であった。

頭頸部領域には同じ扁平上皮臓器である食道と異なり、粘膜層と粘膜下組織を分ける粘膜筋版に相当する構造が存在しない。頭頸部癌取扱い規約第6版によれば、この上皮下の粘膜固有層に対応する疎性結合組織層の組織学的名称は定まっておらず、上皮下層(subepithelial layer: SEP)の用語を用いる。また、頭頸部表在癌取扱い指針によれば、頭頸部表在癌は、頭頸部領域の粘膜上皮由来の上皮性悪性腫瘍で、上皮内、または上皮下層にとどまる腫瘍をさし、リンパ節転移の有無を問わないものと定義される(図3)。

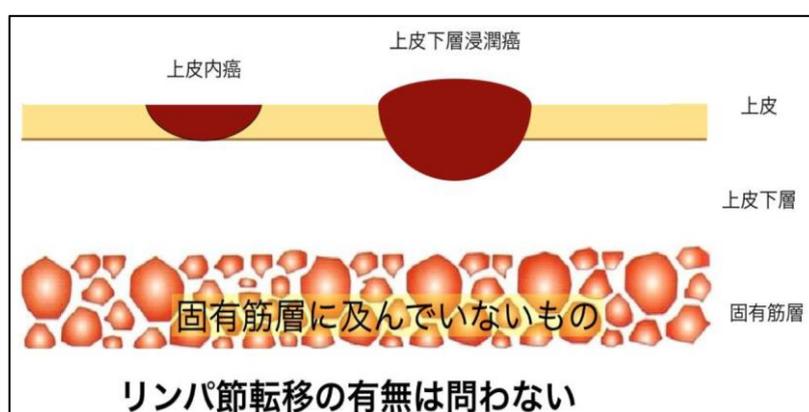


図3 頭頸部表在癌について

上皮内、上皮下層にとどまり固有筋層に及んでいない。リンパ節転移の有無は問わない。頭頸部癌取扱い規約第5版より引用。

これらの頭頸部表在癌の局所治療については、通常、狭い咽頭内で精密な操作を行うことは困難であるが、彎曲型喉頭鏡の開発によって治療を行うのに十分なスペースを確保する喉頭展開が可能となった。そして、従来、消化器内科領域で消化管腫瘍の切除に利用されてきた内視鏡的粘膜切除術 (endoscopic mucosal resection: EMR)、内視鏡的粘膜下層剥離術 (endoscopic submucosal dissection: ESD) が頭頸部領域に応用され、頭頸部表在癌の局所治療が実現した。また、耳鼻咽喉科領域では経口的に鉗子を挿入し、粘膜を切除する内視鏡的喉頭咽頭手術(endoscopic laryngo-pharyngeal surgery: ELPS)などの内視鏡的切除(endoscopic resection: ER)の手法が発達している。ERの実際の方法としては、全身麻酔下で彎曲型喉頭鏡をかけて喉頭を展開し、EMR ではスネアと呼ばれるリング状の電気メス、ESD では小型の内視鏡手術用電気メスを使用し、咽頭・喉頭の構造を変化させずに病変部のみを切除する(図4)。これら ER については良好な治療成績が報告されている(Shimizu et al., 2006; Muto et al., 2011; Hanaoka et al., 2015; Watanabe et al., 2017.)。

ER は喉頭、咽頭の保存を可能にし、言語障害、嚥下障害、美容上の変形を回避するという点で患者の生活の質を維持するのに役立っている。しかし、ER 後に温存された喉頭、咽頭からは異時性の頭頸部癌が発生することがあり、その発生率に関しては、Muto らは咽頭癌内視鏡切除症例 104 例の長期成績を後ろ向きに検討し、5 年発生割合 22%と報告している(Muto et al., 2011.)。また、Hanaoka らは、咽頭表在癌 ESD 施行症例 54 例を対象とした前向き第二相試験の結果、3 年発生割合を 18.4%と報告している(Hanaoka et al., 2015.)。ER 後の異時性頭頸部癌の発生は根治性の点で問題となるが、今まで異時性頭頸部癌の発症リスクについて検討された報告は無い。



図4 下咽頭癌に対するESD

治療前(左)と治療後(右)。全身麻酔後、彎曲型喉頭鏡の先端を喉頭蓋喉頭面にかけて展開することで治療をすることが可能となる。治療後の画像右に見えるのは挿管チューブである。

頭頸部領域及び食道に扁平上皮癌が多発することは、半世紀あまり field cancerization 現象なる概念で説明されてきた。field cancerization 現象とは飲酒や喫煙などの発癌物質の直接暴露により、食道および頭頸部領域の粘膜上皮に異型上皮や錯角化が多発し、癌が多発性に発生するという概念である(Slaughter et al., 1953.)。ここ 20 年の分子研究の発展によって field cancerization は分子生物学の分野の言葉となっている。つまり、癌細胞の周囲には肉眼的には正常でも遺伝的な変化のある上皮に囲まれた“field”を持っており、腫瘍を切除しても遺伝子的な変化のある“field”は残っており腫瘍が発生する、ということである。

飲酒と喫煙習慣は、頭頸部癌と食道癌のリスクであることはよく知られている(Yokoyama et al., 2001; Asakage et al., 2007.)。飲酒の発がんリスクに関してはアルコール自体の作用よりも、アルコールの第一代謝産物であるアセトアルデヒドの蓄積が原因である可能性が報告されている(Seitz et al., 2007; Brooks et al., 2014.)。酒類に含まれるエタノールはアルコールの一種であり、アルコール脱水素酵素 1B (Alcohol

dehydrogenase 1B: ADH1B)によってアセトアルデヒドに変化し、そのアセトアルデヒドは主にアルデヒド脱水素酵素 2 型(Aldehyde dehydrogenase 2: ALDH2)によって代謝され無害な酢酸塩を形成する(図 5)。そのアセトアルデヒドは蛋白質に結合して構造と機能変化をもたらす。その蛋白質には DNA の合成、修復に関わる蛋白や抗酸化ペプチドも含まれる(Leemans et al., 2011; Brooks et al., 2014; Seitz et al., 2007.)。

アルコール代謝速度は、これらの酵素のアミノ酸をコードする一塩基多型 (SNP) に依存する。ADH1B(rs1229984) の対立遺伝子 A(ADH1B\*2) は、対立遺伝子 G(ADH1B\*1) と比較してエタノール代謝を速くする(Chen et al., 1999; Thomasson et al., 1995; Kang et al., 2014.)。一方で ALDH2(rs671) の対立遺伝子 A(ALDH2\*2) は、対立遺伝子 G(ALDH2\*1) と比較して、アセトアルデヒド代謝活性を著しく失わせる(Lai et al., 2014.)。特に ALDH2 については四量体を形成し、四量体のうち一つでも変異をきたすと活性がなくなり、ALDH1\*2/\*2 の酵素活性はほぼ 0 となる。ADH1B\*1/\*1 または ALDH2\*2 対立遺伝子は不活性型である。

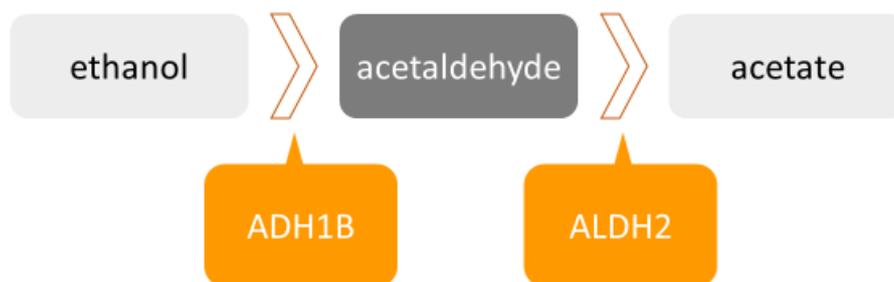


図5 エタノールの代謝と ADH1B、ALDH2

酒類に含まれるエタノールは図のように代謝され無害な酢酸塩(acetate)へ分解される。アセトアルデヒドの分解が遅いと、少量の飲酒で吐き気や頭痛といった症状を引き起こす。

これらの遺伝子多型である ALDH2 ヘテロ欠損型(\*1/\*2)の飲酒者が頭頸部癌のハイリスクであることが知られている(Koyanagi et al., 2016.)。また、ADH1B ホモ低活性型(\*1/\*1)が頭頸部癌のリスクに関わっているという報告もある(Tsai et al., 2014.)。また、同じ扁平上皮癌である食道癌の ER 後、異時性食道癌や異時性頭頸部癌の独立したリスク因子としてアルコール代謝遺伝子が関わっていることも報告されている(Abiko et al., 2018.)。以上のことから、これらの因子が ER 後の異時性頭頸部癌発症リスクにも関わっている可能性が想定される。この ADH1B/ALDH2 遺伝子解析は頬粘膜細胞採取により簡便に行うことが可能である(Murata et al., 2015.)。

今回、ADH1B/ALDH2 遺伝子型、および治療前後の飲酒喫煙習慣による頭頸部癌 ER 後の異時性多発頭頸部癌発症リスクを明らかにすることを目的とする多施設研究

を行った。

# 方法

## 1. 対象

新たに採取される検体を用いた多施設共同の後ろ向き研究を行った。2019年1月から2020年5月の期間で、北海道大学病院を含めた7つの施設(恵佑会札幌病院、国立病院機構 函館病院、聖路加国際病院、東京慈恵会医科大学葛飾医療センター、東京慈恵会医科大学附属病院、獨協医科大学病院)で頭頸部表在癌に対して ER が行われ、2年以上経過観察されている全ての患者を対象とし、文書で同意が得られた患者を前向きに登録した。患者は少なくとも1年に1度は診察と耳鼻咽喉科医による喉頭鏡検査を受けている必要がある。

選択基準と除外基準は下記の通りである。

### 選択基準

- (1) 最初の ER で病理組織学的に扁平上皮癌と診断されている
- (2) ER で完全に切除されている
- (3) 患者から文書で同意を得られている
- (4) 遺伝子検査のために頬粘膜細胞の採取が可能である

### 除外基準

- (1) 喉頭全摘が行われている
- (2) 追加の手術が行われている
- (3) 筋層に浸潤がみられる
- (4) 研究対象として不適切と判断されること
- (5) 20歳未満である
- (6) 妊娠中である

尚、登録対象はあくまで ER にて治療された表在癌であるため、舌癌などの口腔癌は対象に含めない。また、進行癌に対して化学療法や放射線療法を行い縮小した病変を ER で治療した症例も含めない。

文書による同意が得られた後、ADH1B/ALDH2 の遺伝子検査のために頬粘膜細胞を採取する。年齢、性別、ER の状況(治療日、切除方法、完全切除の有無、病変の部位)、病理組織診断、過去の手術歴の有無、異時性頭頸部癌の発生状況などの情報は電子カルテを用いて収集した。また、過去の飲酒歴、喫煙歴は問診票を用いて情報を収集する。

本研究は、北海道大学医学部医学科、医の倫理委員会の承認の下に行われた(医

18-028)。また、University Hospital Medical Information Network Clinical Trials Registry に登録した(ID: 000034980)。

## 2. 飲酒と喫煙習慣

対象患者が常習飲酒、喫煙者であった場合、原則的に、初回の治療後に、主治医から飲酒と喫煙を止める、もしくは量を減らすように指導されている。診察または検査前に問診票を記入してもらい情報を収集する。初回の頭頸部癌を ER で治療した日を基準として、治療より前の飲酒歴(飲んでいる酒の種類、度数、量、1 週間に飲んでいる日数)、喫煙歴(喫煙開始年齢、喫煙終了年齢、1 日の本数)、治療後の飲酒歴(飲んでいる酒の種類、度数、量、1 週間に飲んでいる日数)、喫煙歴(喫煙継続の有無、1 日の本数、喫煙終了年齢)を記載してもらう。問診票については過少申告を避けるため、飲酒歴や喫煙歴の情報は生活指導ではなく、臨床研究に用いるために収集するので正しく記載するように説明し、最終的には主治医が対面で、問診票の内容に不足や記載間違いが無いかを確認する。

アルコールの量は unit で表し、1 unit はおよそ 22g のエタノールを含む酒とし、ビールであれば約 500ml、ワインであれば約 1/4 本のボトルの量となる。飲酒量については表 1 の通り heavy drinkers、moderate drinkers、light drinkers、rare drinkers の 4 段階で分類する。

表 1 飲酒量ごとの分類

分類	飲酒量
Rare drinkers	< 1 unit/week
Light drinkers	1 to 9 units/week
Moderate drinkers	9 to 18 units/week
Heavy drinkers	≥ 18 units/week

喫煙については pack year で示し、1 pack year はたばこ 1 箱(20 本)を 1 年間吸っていることで、30 pack years はたばこ 1 箱を 30 年間吸っていたこととなる。飲酒と同様に表 2 の通り、heavy smokers、light smokers、rare smokers の 3 段階で分類する。

表2 喫煙量ごとの分類

分類	喫煙量
Rare smokers	Nonsmoker
Light smokers	< 30 pack years
Heavy smokers	≥ 30 pack years

節酒群については heavy、または moderate の飲酒量が ER 後に light、または rare に下がった群とし、heavy、または moderate の飲酒量で継続している群は非節酒群とする。同様に、禁煙群は heavy、または light の喫煙量であったが ER 後に喫煙を中止した群とし、喫煙群は heavy、または light の喫煙量であったものが喫煙を継続している群とする。

### 3. ADH1B/ALDH2 の遺伝子多型

診察前、または内視鏡検査前に遺伝子検査のために頬粘膜細胞を採取する。まず、採取前の 30 分間、飲食がないことを確認し、口を 3 回程度ゆすいでもらう。専用の綿棒を使用し(図6)、頬粘膜の左右を 10~20 回ずつこする。綿棒は 15 分以上乾かし、専用のプラスチック容器に入れて保存、以下の方法で解析する。

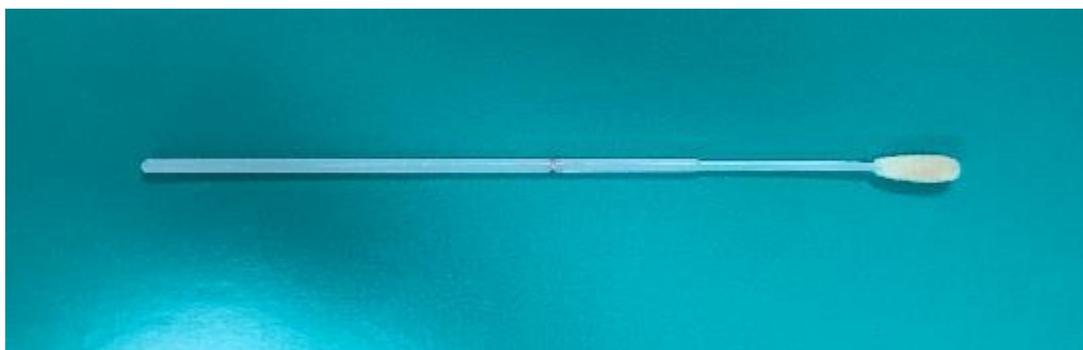


図6 頬粘膜細胞採取の際に使用する綿棒  
頬粘膜の左右を 10-20 回こすり、頬粘膜細胞を採取する。15 分以上乾かして解析会社へ郵送する。

ADH1B と ALDH2 の SNPs (single nucleotide polymorphisms) は、TaqMan assay on an applied biosystems 7300 Real Time PCR System によって、解析した(Hayashida et al., 2014.)。THUNDERBIRD Probe qPCR Mix(QPS-101、TOYOBO)5 $\mu$ L、50 $\times$ ROX reference dye(TOYOBO)0.2 $\mu$ L、20 $\times$ ALDH2 TaqMan Probe & ALDH2 Primer

Mix(C\_11703892\_10, applied biosystems)あるいは 20×ADH1B TaqManProbe & ADH1B Primer Mix(C\_2688467\_20、TaqMan®Drug Metabolism Genotyping Assays、applied biosystems)を 0.5 μL、PCR 増幅産物 1 μL、および蒸留水を添加し合計 10 μL の反応溶液とした。反応条件は applied biosystems 社の推奨条件を参考にして、50°C 2 分、95°C 10 分、40 サイクルの熱変性 95°C 15 秒、アニーリングおよび伸長反応 60°C 1 分にて実施した。

ADH1B の低活性型は ADH1B\*1 アリルでエンコードされ、ALDH2 の不活性型は ALDH2\*2 アリルでエンコードされる。我々は低活性型の ADH1B\*1/\*1 と ADH1B\*1/\*2 + ADH1B\*2/\*2 と比較、不活性型の ALDH2\*1/\*2+ALDH2\*2/\*2 と ALDH2\*1/\*1 を比較することとした。

#### 4. 定義

##### 頭頸部癌

頭頸部癌取扱い規約第 6 版(日本頭頸部癌学会編)の病理分類に従う、口腔、中・下咽頭、喉頭に存在する、上皮内癌を含む扁平上皮癌を「頭頸部癌」とする。同規約における異型成 2 分法による high-grade dysplasia、異型成 3 分法による severe dysplasia は癌に含まない。

##### 食道癌

食道癌取扱い規約第 11 版(日本食道疾患研究会編)の病理分類に従う扁平上皮癌を示し上皮内癌を含める。intraepithelial neoplasia は「扁平上皮内腫瘍」として「食道癌」には含めない。

##### 異時性頭頸部癌

初回の頭頸部癌に対する ER から 1 年以上経過してから診断されたものを異時性頭頸部癌と定義する。なお、内視鏡検査時の生検にてとりきれられるような微小病変であっても異時性頭頸部癌と定義する。頭頸部癌の一括切除標本において、病理組織学的に側方断端が陰性であった場合については、瘢痕近傍に発生しても、異時性頭頸部癌と扱うこととする。尚、初回の頭頸部癌に対する ER から 1 年以内に診断されたものは同時性頭頸部癌とする。

##### 異時性食道癌

頭頸部癌に対しての ER 後に 1 年以上を経過したあとに、食道に発生した癌と定義

する。なお、内視鏡検査時の生検にてとりきれのような微小病変であっても異時性食道癌と定義する。一括切除標本において、病理組織学的に側方断端が陰性であった場合については、瘢痕近傍に発生しても、異時性食道癌と扱うこととする。尚、初回の頭頸部癌に対する ER から 1 年以内に診断されたものは同時性食道癌とする。

### 局所再発

ER 後瘢痕にかかる場合を局所再発と定義する(図 7)。尚、内視鏡検査時の生検にてとりきれのような微小病変も局所再発と定義する。ただし、一括切除標本において、病理組織学的に側方断端が陰性であった場合については、瘢痕近傍に発生しても、異時性食道癌または異時性頭頸部癌と扱うこととする。

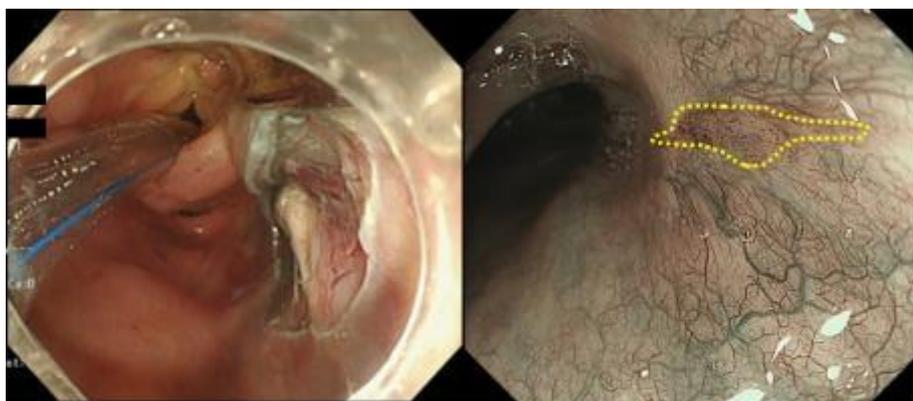


図 7 局所再発が疑われる病変  
ER で切除後の画像(左)とその後のフォローアップの上部消化管内視鏡検査の NBI 画像(右)。切除後の瘢痕部に一致してドット状の血管が観察され局所再発が疑われた。

### 頭頸部の 2 次癌および 3 次癌

異時性頭頸部癌のことを頭頸部の 2 次癌と扱うこととする。2 次癌治療後に再度、異時性頭頸部癌が出来た場合は頭頸部の 3 次癌と扱うこととする。

### 食道の 2 次癌および 3 次癌

異時性食道癌のことを食道の 2 次癌と扱うこととする。2 次癌治療後に再度、異時性食道癌が出来た場合は食道の 3 次癌と扱うこととする。

## 5. 統計

頭頸部癌 ER 後の異時性頭頸部癌の発生リスクを主要評価項目として解析する。年齢は平均と標準偏差(standard deviation: SD)で示す。度数の分布の違いは Chi-square test、20%以上で期待数が5未満であれば Fisher's exact test を用いる。P値は  $P < 0.05$  で統計的に有意差があると判断する。異時性頭頸部癌の発生までの時間は、初回の ER 後から新たな異時性頭頸部癌が診断されるまでとする。Cox 比例ハザードモデルを使用し、hazard ratio(HR)と 95% confidence interval (CI)を求め単変量解析、多変量解析を行い異時性頭頸部癌のリスク因子を調べる。多変量解析については単変量解析で有意なものを変数として選択した。

また、副次評価項目として、節酒群と非節酒群、禁煙群と喫煙群で異時癌の発生率を解析し、節酒と禁煙の異時癌発生の抑制効果について検討する。異時癌の発生については Kaplan–Meier method を用いて、2群の差については log-rank test を用いて統計解析を行う。節酒群、非節酒群、及び禁煙群、非禁煙群についても Cox 比例ハザードモデルを利用して HR を算出する。

統計解析は JMP® Pro 14.0.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)を用いて行った。

## 結果

### 対象

研究期間中に 200 例の患者が登録された。1 例は遺伝子検査の測定エラーのために除外された。1 例は ER 後に追加の外科的切除が行われており、除外基準を満たしていることがわかり除外された。最終的に 198 例が適格な対象として登録された。

最初に ER が行われた際の患者背景は表 3 にまとめた。全経過観察期間の中央値は 54 ヶ月(24-184 ヶ月)であった。平均年齢は 65.6 歳(SD, 8.2 歳)、男性が 180 例(90.9%)であった。最初の頭頸部癌の発生部位は下咽頭が 157 例(79.3%)、中咽頭が 27 例(13.6%)、喉頭 14 例(7.1%)であった。ER については、ELPS が 144 例(72.7%)、EMR が 31 例(15.7%)、ESD が 23 例(11.6%)であった。初回治療時、対象症例は全て明らかになリンパ節転移や遠隔転移はなく、日本頭頸部癌学会診療ガイドラインにおける ER の推奨基準である clinical N0、M0 であった。観察期間中に局所再発を認めた症例はなく、原病死例も無かった。

表3 初回 ER 時の患者背景

			全症例 (n = 198) n (%)
年齢(歳), 平均(SD)			65.6 (8.2)
性別(男性)			180 (90.9)
飲酒量			
Heavy			141 (71.2)
Moderate			41 (20.7)
Light			11 (5.6)
Rare			5 (2.5)
喫煙量			
Heavy			148 (74.7)
Light			40 (20.2)
Rare			10 (5.1)
ADH1B			
*1/*1			67 (33.8)
*1/*2			56 (28.3)
*2/*2			75 (37.9)
ALDH2			
*1/*1			45 (22.7)
*1/*2			153 (77.3)
*2/*2			0 (0.0)
遺伝子型の組み合わせ			
	ADH1B	ALDH2	
A	*1/*1	*1/*1	11 (5.6)
B	*2 carrier	*1/*1	34 (17.2)
C	*1/*1	*1/*2	56 (28.3)
D	*2 carrier	*1/*2	97 (49.0)
E	any	*2/*2	0 (0.00)

(次項に続く)

表3 初回 ER 時の患者背景(続き)

		全症例 (n = 198) n (%)
治療方法		
ELPS		144 (72.7)
EMR		31 (15.7)
ESD		23 (11.6)
病変の亜部位		
下咽頭	輪状後部	8 (4.0)
	梨状陥凹	117 (59.1)
	後壁	32 (16.2)
中咽頭	前壁	5 (2.5)
	側壁	3 (1.5)
	後壁	11 (5.6)
	上壁	8 (4.0)
喉頭	喉頭蓋	6 (3.0)
	披裂	8 (4.0)
深達度		
上皮内癌		113 (57.1)
上皮下浸潤癌		85 (42.9)
局所再発		0 (0)

## 2次頭頸部癌

2次頭頸部癌発生は64例(32.3%)でみられ、観察人年は886人年、発生率は72(/1000人年)であった。全例、ERによる再治療が行われた。

2 次頭頸部癌のリスク因子について単変量解析、及び多変量解析を行った(表 4)。単変量解析では、年齢、ADH1B、ALDH2、治療前の飲酒、治療後の飲酒が、2 次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。多変量解析では、ADH1B\*1/\*1 (HR, 1.88; 95% CI, 1.11-3.19;  $P=0.02$ )、ALDH2\*1/\*2(HR, 2.11; 95% CI, 1.00-5.16;  $P=0.048$ )、治療前の飲酒量(HR, 1.17; 95% CI, 1.06-1.27;  $P=0.01$ )が 2 次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。

表 4 Cox 比例ハザードモデルによる 2 次頭頸部癌のリスク因子

観察人年 全イベント数	886 人年 64	観察人年 (人年)	イベント数	単変量		多変量	
				HR (95% CI)	$P$	HR (95% CI)	$P$
年齢, +10 歳				0.60 (0.44-0.81)	<0.001	0.80 (0.57-1.13)	0.20
性別							
女性		55	8	1 (ref)	0.052	-	-
男性		831	56	0.44 (0.22-1.01)		-	
ADH1B 遺伝子型							
*1/*2 + *2/*2		614	31	1 (ref)	<0.001	1 (ref)	0.018
*1/*1		272	33	2.44 (1.49-4.00)		1.88 (1.11-3.19)	
ALDH2 遺伝子型							
*1/*1		213	7	1 (ref)	0.007	1 (ref)	0.048
*1/*2 + *2/*2		673	57	2.62 (1.28-6.31)		2.11 (1.00-5.16)	
治療前の飲酒量, +10 units/week				1.17 (1.06-1.28)	0.002	1.15 (1.03-1.27)	0.014
治療後の飲酒量, +10 units/week				1.23 (1.07-1.41)	0.005	1.10 (0.94-1.26)	0.22
喫煙量, +1 pack year				1.00 (0.99-1.01)	0.46	-	-
治療後の喫煙							
No		696	45	1 (ref)	0.120	-	-
Yes		190	19	1.55 (0.89-2.62)		-	

### 3 次頭頸部癌

3 次頭頸部癌の発生した群と発生しなかった群の特徴を表 6 に示す。3 次頭頸部癌は 198 例中、20 例(10.1%)でみられ、観察人年は 1059 人年、発生率は 19(/1000 人年)であった。全例、ER による再々治療が行われた。

3 次頭頸部癌のリスク因子について単変量解析を行った(表 5)。単変量解析では、年齢が若いこと(HR, 0.48; 95% CI, 0.27-0.84;  $P=0.01$ )、ADH1B\*1/\*1 (HR, 3.81; 1.56-10.16;  $P=0.003$ )、ALDH2\*1/\*2(HR, 4.84; 95% CI, 1.00-87.05;  $P=0.049$ )、治療後の飲酒量(HR, 1.36; 95% CI, 1.05-1.70;  $P=0.02$ )が 3 次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。性別、治療前の飲酒量、治療前後の喫煙量については差が認められなかった。

イベント数(3 次頭頸部癌発症例数)が少ないため、多変量解析は行わなかった。

表 5 Cox 比例ハザードモデルによる 3 次頭頸部癌のリスク因子

観察人年 全イベント数	1059 人年 20	観察人年 (人年)	イベント数	単変量	
				HR (95% CI)	<i>P</i>
年齢, +10 歳				0.48 (0.27-0.84)	0.010
性別					
女性		79	3	1 (ref)	0.130
男性		980	17	0.34 (0.11-1.46)	
ADH1B 遺伝子型					
*1/*2 + *2/*2		700	7	1 (ref)	0.003
*1/*1		359	13	3.81 (1.56-10.16)	
ALDH2 遺伝子型					
*1/*1		227	1	1 (ref)	0.049
*1/*2 + *2/*2		832	19	4.84 (1.00-87.05)	
治療前の飲酒量, +10 units/week				1.09 (0.90-1.30)	0.36
治療後の飲酒量, +10 units/week				1.36 (1.05-1.70)	0.020
喫煙量, +1 pack year				1.00 (0.98-1.01)	0.49
治療後の喫煙					
No		810	15	1 (ref)	0.90
Yes		248	5	1.07 (0.35-2.80)	

## 小括①

2 次頭頸部癌発生のリスク因子について、多変量解析では、ADH1B\*1/\*1、ALDH2\*1/\*2、治療前の飲酒量が有意なリスク因子であった。

3 次頭頸部癌発生のリスク因子について、単変量解析では、年齢が若いこと、ADH1B\*1/\*1、ALDH2\*1/\*2、治療後の飲酒量が有意なリスク因子であった。

## 2次頭頸部癌と3次頭頸部癌における節酒と禁煙の効果

2次頭頸部癌と3次頭頸部癌について、それぞれ節酒と禁煙の効果を検討した。

図8は moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群における2次頭頸部癌の累積発生率を示している。moderate 以上の飲酒歴を有したのは182例であり、飲酒量が治療後に light 以下に下がった節酒群は80例、moderate 以上で継続していた非節酒群は102例であった。182例のうち2次頭頸部癌は63例でみられ、観察人年は774人年、発生率は81(1000人年)であった。

節酒群と非節酒群における2次頭頸部癌の5年発生率はそれぞれ20.8%と46.5%であった。

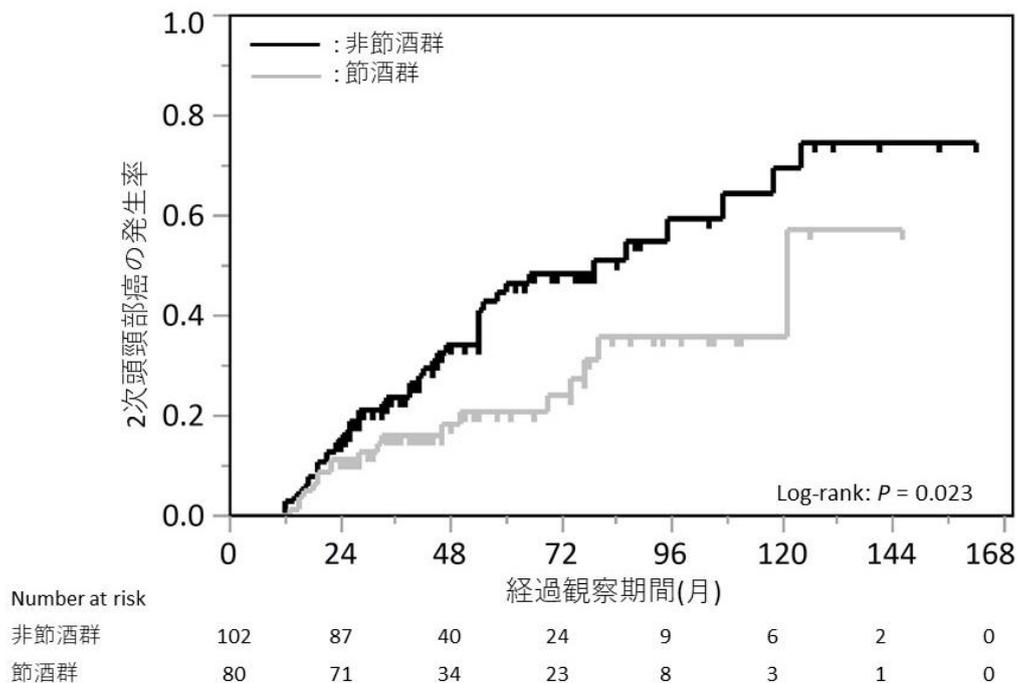


図8 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群における2次頭頸部癌の発生率  
節酒群と非節酒群における5年発生率はそれぞれ20.8%と46.5%であった。

表6では、年齢、性別、ADH1B 遺伝子型、ALDH2 遺伝子型、ER 前の飲酒量で節酒の有無のリスクを調整している。節酒は2次頭頸部癌の発生を有意に減少させていた(調整 HR, 0.54; 95% CI, 0.29-0.96;  $P=0.036$ )。

表6 moderate以上の飲酒歴を有する群の節酒の効果をCox比例ハザードモデルによって調整

観察人年 全イベント数	774人年 63	観察人年 (人年)	イベント数	単変量		多変量	
				HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
年齢, +10歳				0.66 (0.48-0.91)	0.010	0.97 (0.67-1.40)	0.85
性別							
女性		43	8	1 (ref)	0.010	1 (ref)	0.089
男性		731	55	0.66 (0.48-0.91)		0.45 (0.20-1.14)	
ADH1B 遺伝子型							
*1/*2 + *2/*2		635	31	1 (ref)	<0.001	1 (ref)	0.065
*1/*1		240	32	2.34 (1.42-3.85)		1.66 (0.97-2.86)	
ALDH2 遺伝子型							
*1/*1		187	7	1 (ref)	0.007	1 (ref)	0.028
*1/*2 + *2/*2		587	56	2.61 (1.27-6.29)		2.27 (1.09-5.56)	
治療前の飲酒量, +10 units/week				1.13 (1.01-1.24)	0.034	1.14 (1.03-1.27)	0.025
節酒の有無							
非節酒群		428	44	1 (ref)	0.021	1 (ref)	0.036
節酒群		346	19	0.54 (0.31-0.92)		0.54 (0.29-0.96)	

図9はlight以上の喫煙歴を有する禁煙群と非禁煙群における2次頭頸部癌の累積発生率を示している。heavyまたはlightの喫煙量であった188例のうち、治療後に喫煙を中止した禁煙群は140例、継続していた非禁煙群は48例であった。light以上の喫煙歴を有する188例のうち2次頭頸部癌は63例でみられ、観察人年は836人年、発生率は75/(1000人年)であった。

禁煙群と非禁煙群で、2次頭頸部癌の発生率に有意な差はみられなかった(図9)。

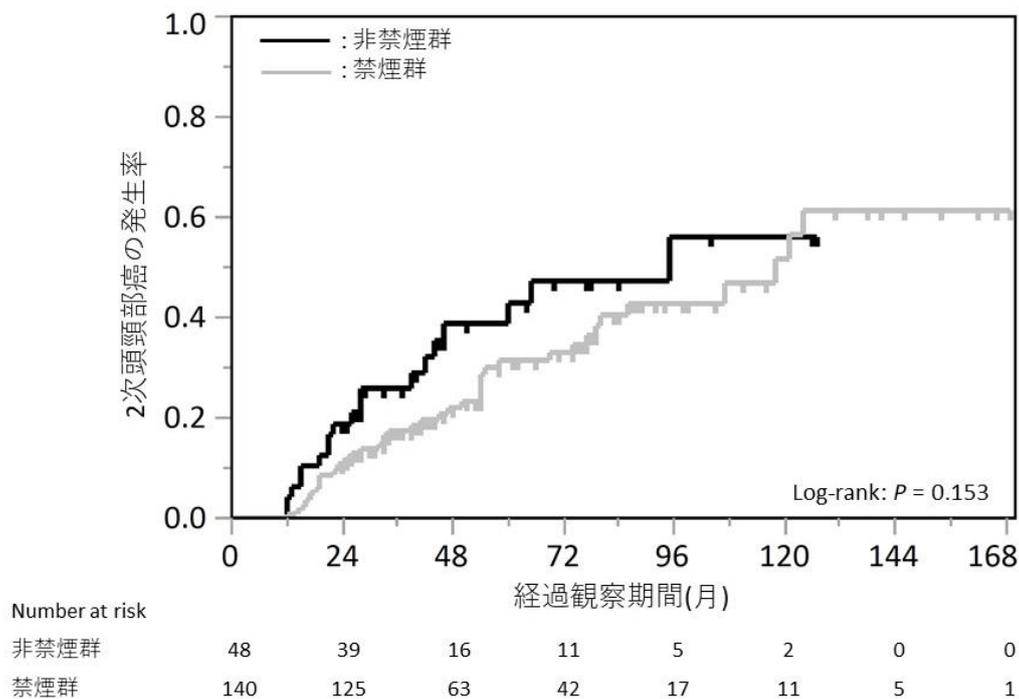


図9 light以上の喫煙歴を有する禁煙群と非禁煙群における2次頭頸部癌の発生率  
禁煙群と非禁煙群において、2次頭頸部癌の発生率については有意な差はみられなかった。

図 10 は moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群における 3 次頭頸部癌の累積発生率を示している。moderate 以上の飲酒歴を有する 182 例のうち 3 次頭頸部癌は 20 例でみられ、観察人年は 946 人年、発生率は 21(/1000 人年)であった。

節酒群と非節酒群における 3 次頭頸部癌の 10 年発生率はそれぞれ 11.3%と 36.1%であった(図 10)。年齢、性別で調整しても節酒は有意に 3 次頭頸部癌の発生率を低下させていた(調整 HR, 0.22; 95% CI, 0.03-0.79;  $P=0.017$ )。

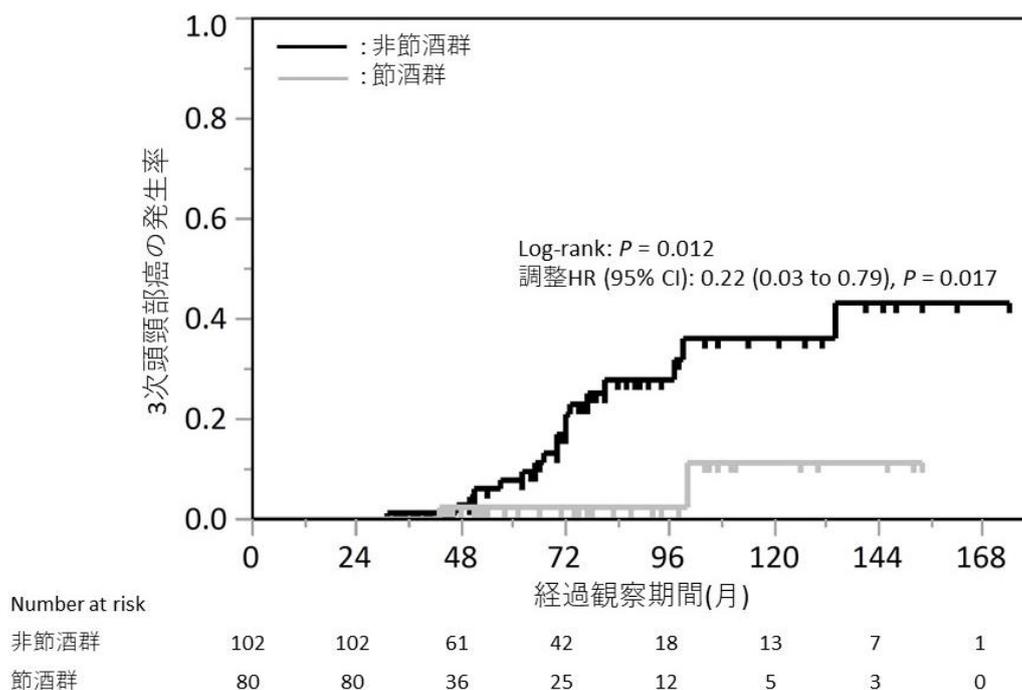
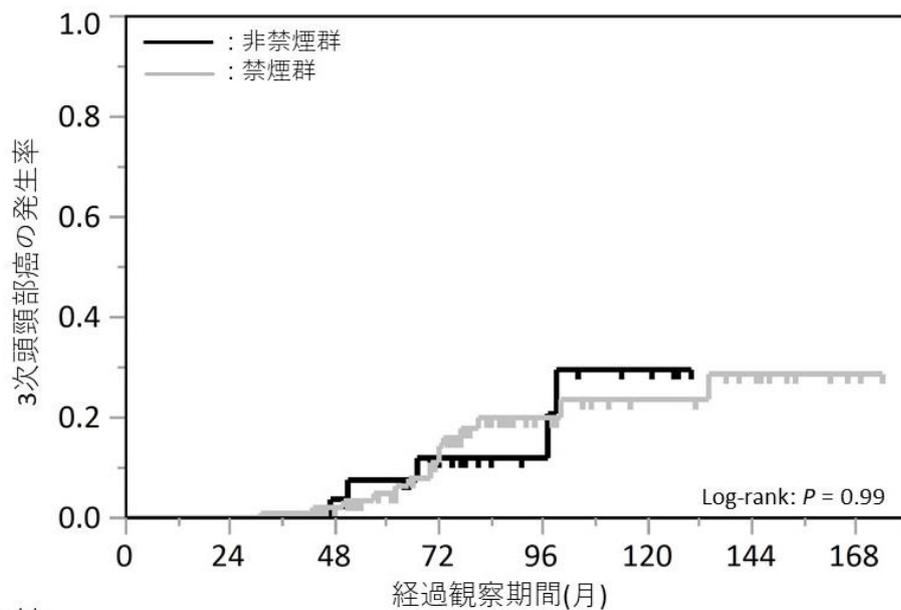


図 10 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群における 3 次頭頸部癌の発生率  
節酒群と非節酒群における 10 年発生率はそれぞれ 11.3%と 36.1%であった。

図 11 は light 以上の喫煙歴を有する禁煙群と非禁煙群における 3 次頭頸部癌の累積発生率を示している。light 以上の喫煙歴を有する 188 例のうち 3 次頭頸部癌は 20 例でみられ、観察人年は 1007 人年、発生率は 20/(1000 人年)であった。

喫煙については、禁煙群と非禁煙群で、3 次頭頸部癌の発生率に有意な差はみられなかった(図 11)。



Number at risk

非禁煙群	48	48	26	19	10	4	0	0
禁煙群	140	140	76	54	25	16	12	2

図 11 light 以上の喫煙歴を有する禁煙群と非禁煙群における 3 次頭頸部癌の発生率  
禁煙群と非禁煙群において、3 次頭頸部癌の発生率については有意な差はみられなかった。

## 小括②

治療前に中等量以上の常習飲酒者であった 182 例について、治療後節酒群と非節酒群における 2 次頭頸部癌の 5 年発生率はそれぞれ 20.8%と 46.5%と、節酒群で有意に低率であった。

年齢、性別、ADH1B 遺伝子型、ALDH2 遺伝子型、ER 前の飲酒量で節酒の有無のリスクを調整したが、節酒は 2 次頭頸部癌の発生を有意に減少させていた。

禁煙群と非禁煙群で、2 次頭頸部癌の発生率に有意な差はみられなかった。

節酒群と非節酒群における 3 次頭頸部癌の 10 年発生率はそれぞれ 11.3%と 36.1%と、節酒群で有意に低率であった。

禁煙群と非禁煙群で、3 次頭頸部癌の発生率に有意な差はみられなかった。

## 節酒の効果についての追加解析

節酒の効果については、交互作用を考慮して再検討が必要と考え、追加で解析を行った。

エタノールの代謝活性の低い ADH1B\*1/\*1 は、血中の高いエタノール濃度を維持し、アルコール依存症のリスクになると報告されており、節酒または禁酒の行動に影響を与えるとされる(Hurley et al., 2012.)ため、節酒の有無と ADH1B の遺伝子型の関係を検討した(表 7)。ALDH2 についても同様に検討した(表 8)。非節酒群は節酒群に比べて ADH1B\*1/\*1 の遺伝子型が有意に多かった(節酒群：22.5% vs 非節酒群：44.1%;  $P < 0.001$ )。一方で、ALDH2 の遺伝子型については、節酒の有無で差はみられなかった。

表 7 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群の ADH1B 遺伝子型

	節酒群 (n=80)	非節酒群 (n=102)	<i>P</i>
ADH1B*1/*1, n (%)	18 (22.5)	45 (44.1)	<0.001
ADH1B*1/*2+*2/*2, n (%)	62 (77.5)	57 (55.9)	

表 8 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群と非節酒群の ALDH2 遺伝子型

	節酒群 (n=80)	非節酒群 (n=102)	<i>P</i>
ALDH2*1/*2+*2/*2, n (%)	60 (75.0)	81 (79.4)	0.48
ALDH2*1/*1, n (%)	20 (25.0)	21 (20.6)	

続いて ADH1B と ALDH2 の遺伝子型の組み合わせ、性別、治療前の飲酒量でサブグループ解析を追加した。

まず、2次頭頸部癌発生に対する節酒効果について、ADH1B と ALDH2 の遺伝子型の組み合わせで分けたサブグループ解析の結果を図 12 に示す。節酒の効果を検討した図 12(A)の ADH1B\*1/\*1 と ALDH2\*1/\*1 の組み合わせは 10 例、図 12(B)の ADH1B\*1/\*2+\*2/\*2 と ALDH2\*1/\*1 の組み合わせは 31 例、図 12(C)の ADH1B\*1/\*1 と ALDH2\*1/\*2+\*2/\*2 の組み合わせは 53 例、図 12(D)の ADH1B\*1/\*2+\*2/\*2 と ALDH2\*1/\*2+\*2/\*2 の組み合わせは 88 例であった。

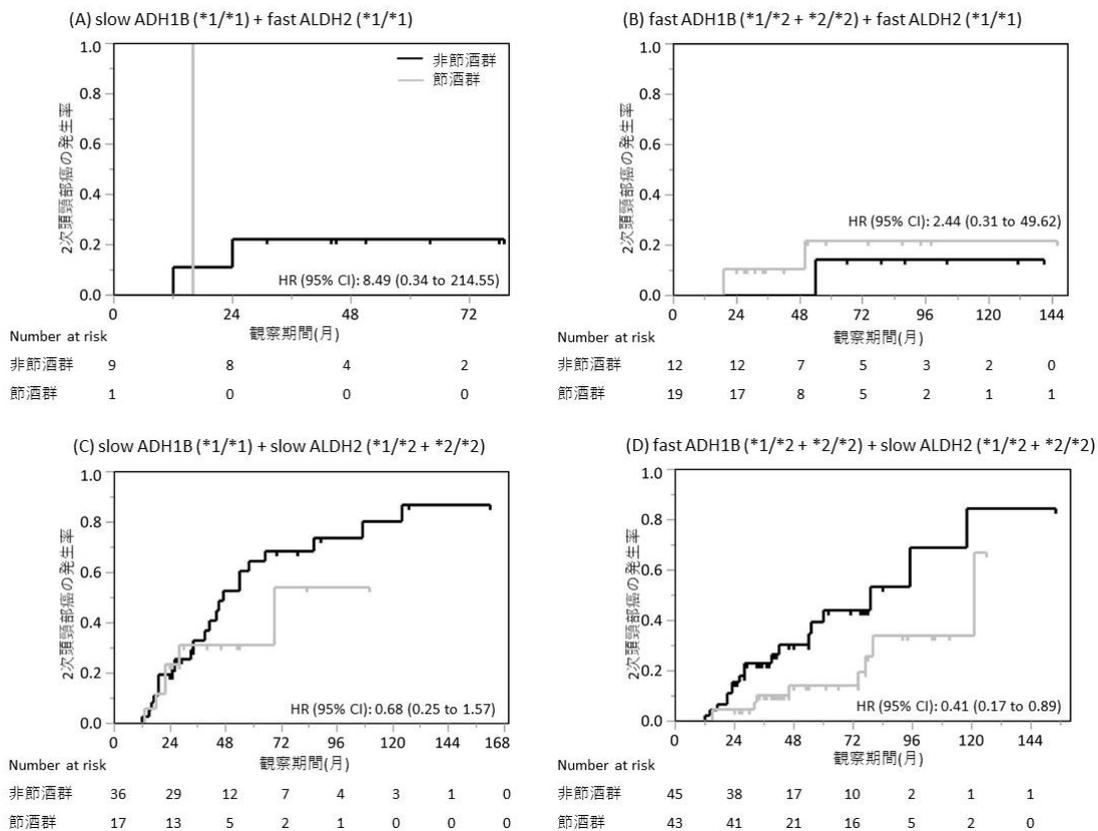


図 12 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群、非節酒群における ADH1B と ALDH2 の遺伝子型の組み合わせごとの 2次頭頸部癌発生率 (D)にて節酒による 2次頭頸部癌発生抑制効果が顕著に認められた。

節酒による 2次頭頸部癌発生を抑制する効果については、図 13(A)、(B)では差を認めなかったが、(C)では発生が抑えられている傾向が見られた。(D)の ADH1B\*1/\*2+\*2/\*2 と ALDH2\*1/\*2+\*2/\*2 の組み合わせで 2次癌発生の抑制効果は顕著であった。

性別と治療前の飲酒量でサブグループ解析を行った結果をそれぞれ図 13、図 14 に示す。節酒の効果を検討した男性は 169 例、女性は 13 例であった。治療前の飲酒量については、治療前に heavy、moderate であったものの中の中央値で 2 グループに分けた。中央値の 28.6 units/week 以上のグループを治療前の飲酒量が多かったグループ、それ以外を治療前の飲酒量が少なかったグループとし、それぞれ 94 例と 88 例であった。

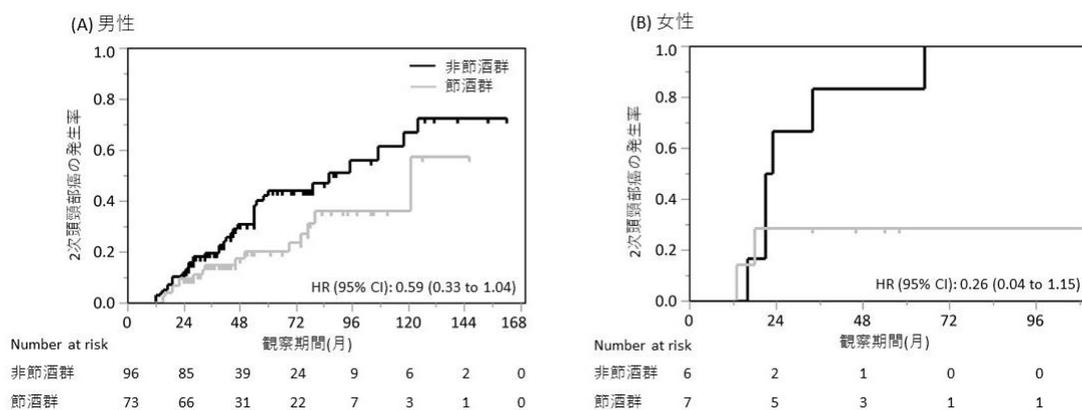


図 13 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群、非節酒群における性別ごとの 2 次頭頸部癌発生率  
節酒により 2 次頭頸部癌の発生が抑えられている傾向が、両群共、同等にみられた。

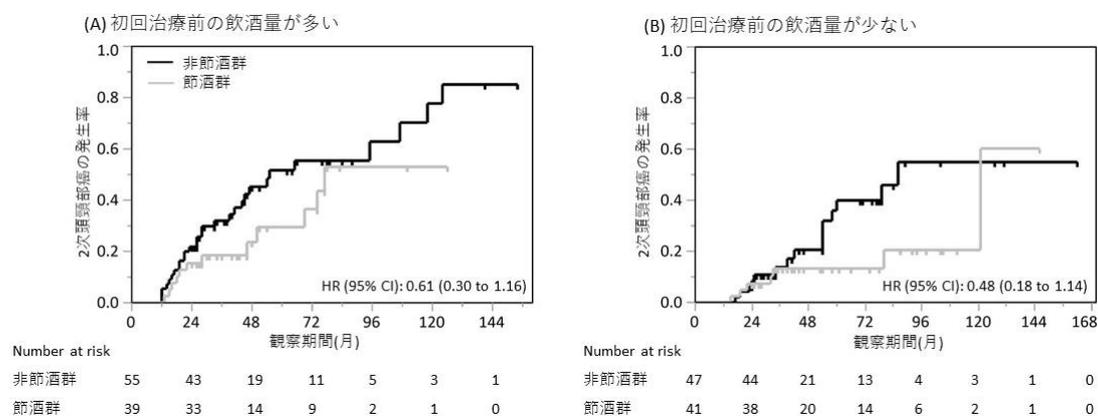


図 14 moderate 以上の飲酒歴を有する節酒群、非節酒群における治療前の飲酒量ごとの  
2 次頭頸部癌発生率  
節酒により 2 次頭頸部癌の発生が抑えられている傾向が、両群共、同等にみられた。

性別および治療前の飲酒量は、節酒による 2 次頭頸部癌発生抑制効果に影響を与えず、一貫した 2 次頭頸部癌発生の抑制効果がみられていた。

## 考察

本研究では、ER 後の異時性頭頸部癌のリスク因子と、節酒や禁煙が異時性頭頸部癌の発生を抑制するかどうかを調査した。

頭頸部領域及び食道に扁平上皮癌が多発することは、field cancerization 現象で説明されてきており、特に食道扁平上皮癌内視鏡切除後の異時性多発癌について、その発症リスクが報告されてきた(Urabe et al., 2009; Urabe et al., 2019.)。さらに異時性多発癌と ADH1B/ALDH2 多型との関係について、Abiko らは食道扁平上皮癌内視鏡切除症例 158 例について解析し、異時性多発食道癌および異時性頭頸部癌の独立したリスク因子として ALDH2 ヘテロ欠損型(\*1/\*2)、治療後の飲酒継続であることを報告した (Abiko et al., 2018.)。今回の検討では、2次頭頸部癌の発生リスクに関する多変量解析では、ADH1B\*1/\*1、ALDH2\*1/\*2+\*2/\*2、治療前の飲酒量が2次頭頸部癌発生と有意な関連がみられていた。この違いは、アセトアルデヒドの発癌効果に加えて、アルコールの、咽頭粘膜への直接暴露による障害が関係している可能性が考えられた。実際、WHO では、アセトアルデヒドのみならずアルコールも発癌物質として認定している (Baan et al., 2007; IARC, 2010.)。また、エタノールの代謝活性の低い ADH1B\*1/\*1 は、血中の高いエタノール濃度を維持し、アルコール依存症のリスクになると報告されており (Hurley et al., 2012.)、非節酒群となる要因とも考えられる。実際、年齢、性別、ADH1B 遺伝子型、ALDH2 遺伝子型、ER 前の飲酒量で節酒の有無のリスクを調整した多変量解析では、非節酒は2次頭頸部癌発生の有意なリスク因子であったが、ADH1B\*1/\*1 は有意なリスク因子とはならなかった。節酒の効果についてのサブグループ解析では、効果の大きさに違いがあるものの2次頭頸部癌発生の抑制効果の方向は一貫していた。なお、節酒については、頭頸部癌は飲酒、喫煙がリスクであると知られている癌であるため、全施設において節酒(または禁酒)、禁煙の指導がなされており、今回の非節酒群についてはそれでも飲酒を続けてしまう人々が非節酒群となっている。

頭頸部癌は従来、予後の悪い疾患とされてきたが、早期に発見されれば良好な予後が望めることが明らかにされつつある。表在型頭頸部癌に対する ER 後の疾患特異 5 年生存割合は 97%-100%と報告されている (Muto et al., 2011; Satake et al., 2015.)。患者の quality of life を保つためにも、異時性多発頭頸部癌の早期発見、もしくは発症を予防することは重要であると考えられる。頭頸部、特に下咽頭領域は嚥下や発声に重要な役割を持つが、内腔が狭く、切除を繰り返すことにより切除後瘢痕が複数生じ、嚥下障害や誤嚥を引き起こすことが考えられる(図 18)。それゆえ、異時性多発頭頸部癌を可能な限り早く、小さいうちに発見することが重要である。頭頸部癌に対する ER 後の

症例において、例えば上述のリスク因子を複数有する症例に対しては経過観察を密にする等の対応をすることが望ましいのではないかと考えた。また、今回の検討では、moderate以上の飲酒継続が2次のみならず3次頭頸部癌の発症リスクを有意に増加させることが明らかとなった。治療後の飲酒量は、アルコール代謝遺伝子と違い、患者自身の意思で改善可能である。飲酒習慣のある頭頸部癌のER後の症例に対しては、異時性頭頸部癌が進行した状態で発見されるリスクや、繰り返される全身麻酔手術、入院治療に伴う経済的、社会的負担のみならず、嚥下障害等の将来的な quality of life 低下のリスクについて十分に説明するなどして節酒指導を行うことは有用である可能性がある(図 15)。節酒により2次頭頸部癌発症リスクが0.54倍と、ほぼ半減することを説明すれば、節酒に対する強い動機付けになると考えられた。また、2次癌発生の抑制効果については、Kaplan-Meier 曲線を見ると節酒から2年を過ぎて3年目以降に徐々に差が開いてくることから、節酒をしていても3年を過ぎたあたりまでは異時癌の発生に注意する必要があると考えられた。一方で、禁煙が異時性多発頭頸部癌の発症に影響を与えないことは予想されなかった結果であった。禁煙の異時性癌予防の効果については、Katadaらは食道癌に対して内視鏡的な切除を行った食道癌患者、330例の前向き試験を行ったが、禁煙は異時性食道癌と頭頸部癌の発生を抑制しなかった(Katada et al., 2016.)。喫煙が頭頸部癌の重要なリスクであることは明らかであるが、頭頸部癌発症時の喫煙による遺伝子へのダメージは、治療後も持続するという可能性が考えられた。機序の解明には、さらなる分子生物学的な検討が必要と考える。

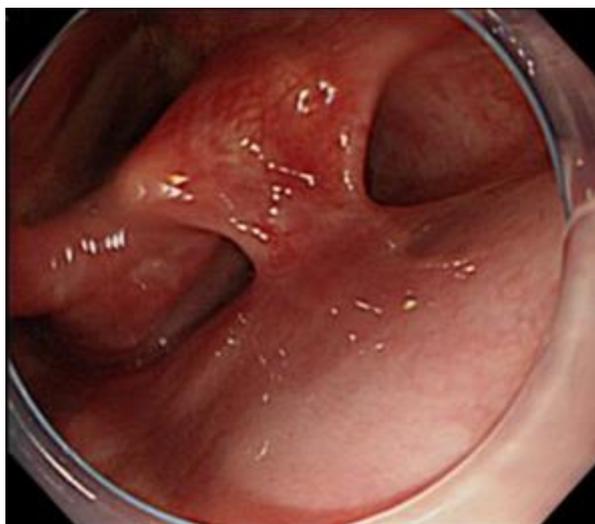


図 15 咽頭癌の局所切除後に癒着が生じた症例  
咽頭後壁と披裂に癒着が生じ、嚥下機能に障害をきたした。

本研究の limitation として、第一に retrospective study であることがあげられる。そ

のため、適格基準を満たす症例のうち、研究期間内に受診した症例しか登録されず、通院中断例や他病死例は評価されないことが最大の limitation と考える（北海道大学病院においては過去の適格症例 64 例のうち、死亡例 27 例、他院経過観察例 7 例、通院自己中断 3 例で、実際に登録されたのは 27 例であった）。しかし、表在型頭頸部癌の発見は、高度な診断技術を要するため、prospective study として十分な症例数を集積し、長期間の追跡調査を行うことは、現時点では容易でないと考えられた。retrospective study であるからこそ、多数例の長期経過観察データが得られたと考えている。第二に、本研究では、中咽頭癌の発癌因子として知られている Human papillomavirus (HPV) 感染について調べていない (Marur et al., 2010.)。しかし、HPV 関連の中咽頭癌は、主に中咽頭側壁に発生するとされている (Hama et al., 2014.)。本研究における中咽頭側壁癌症例は、わずか 1.5% であり、本研究結果に HPV 感染が及ぼす影響は極めて限定的であると考えられた。第三に、今回の対象症例は全て日本人であるが、アルコール代謝遺伝子多型は人種によりその頻度が異なり、特に東アジア人と欧米人とで大きく異なることが知られている。ALDH2 ヘテロ欠損型は欧米人では 5% 未満であるが、日本人では 35% であると報告されており、一方、ADH1B ホモ低活性型は欧米人では 90% にのぼるが、日本人では 7% にすぎないと報告されている (Li et al., 2009; Higuchi et al., 1995.)。例えば酒類に含まれるアセトアルデヒド量は酒の種類によって大きく差があることは知られており、遺伝子型の割合の違いに加えて生活環境の違いについても考慮する必要がある。今回のアルコール代謝遺伝子多型に関する結果は、欧米人にはそのまま当てはまらない可能性があると考えられた。また、追加解析であるため limitation には当たらないが、節酒効果についてのサブグループ解析では、最も数が多い ADH1B\*1/\*2+\*2/\*2 と ALDH2\*1/\*2+\*2/\*2 の組み合わせのみで顕著に節酒の効果がみられた。これは、図 12(A)、(B) はそれぞれ 10 例、31 例と症例数が少なかったこと、また図 12(C) においては slow ADH1B が節酒を妨げる要因であるため、節酒群が 53 例中 17 例しかなく、正確な統計解析に必要な数が満たされなかったためと考えられる。これらのサブグループ毎における結果を導くためには、さらなる大規模な多施設研究が必要であると思われる。

結論として、ALDH2 ヘテロ欠損型、ADH1B ホモ低活性型、治療前の飲酒量は、頭頸部癌に対する ER 後において、異時性多発頭頸部癌の独立したリスク因子であり、これらのリスク因子を元に follow-up 計画を考慮すべきである。また、常習飲酒者については節酒により 2 次頭頸部癌、3 次頭頸部癌の発生が有意に低下していたため、異時性多発頭頸部癌の発生抑制のために節酒を勧めることは有用な可能性がある。

## 結論

本研究では以下の知見が得られた。

- 1) 頭頸部癌に対する ER 後に 2 次頭頸部癌が発生するリスク因子は ADH1B ホモ低活性型(\*1/\*1)、ALDH2 ヘテロ欠損型(\*1/\*2)、および ER 前のアルコール消費量が多いことであった。
- 2) 継続的に heavy または moderate の飲酒を行うことが 2 次および 3 次頭頸部癌発生のリスクを有意に増加させた。
- 3) 喫煙習慣は異時性頭頸部癌発生に影響与えず、多変量解析および Kaplan-Meier 法の結果からは、禁煙は異時性頭頸部癌のリスクを減少させなかった。

### 今後の予定

我々は食道癌の内視鏡治療で切除した検体を用いて HPV 感染の有無を調べ、アルコール代謝遺伝子に基づいて検討し、食道癌の発生と HPV の関連性について報告している(Inoue et al., 2020.)。それらの解析結果では食道癌と HPV の関連は否定的なものであったが、頭頸部については HPV の重要性はかねてより報告されており、本研究では HPV 感染の影響は少ないと考えてはいるものの、HPV 感染について追加検討することも考慮中である。

また、本研究では多数の食道癌術後症例が含まれていたので、頭頸部癌 ER 後の食道癌については 2 次食道癌をみているものが多かった。本研究における異時性食道癌については食道癌手術の既往を検討項目に入れて再解析、再検討が必要であると考ええる。

## 謝辞

本研究の機会を与えて下さった、北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室 坂本直哉教授に深く感謝申し上げます。

また、このような研究を遂行する貴重な機会を与えていただき、研究方法の指導から論文作成まで、御指導・御支援を賜りました、北海道大学病院 光学医療診療部 清水勇一准教授に心より感謝申し上げます。

また、本研究を支えて下さった消化器内科学分野の皆様に感謝申し上げます。

本検討の実施に関連して検討内容に関する助言やご協力をいただいた恵佑会札幌病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 渡邊昭仁先生、谷口雅信先生、木村有貴先生、東京慈恵会医科大学附属病院 内視鏡医学講座 土橋昭先生、古橋広人先生、聖路加国際病院 消化器内科 池谷敬先生、獨協医科大学病院 消化器内科 郷田憲一先生、東京慈恵会医科大学葛飾医療センター 内視鏡部 加藤正之先生、国立病院機構函館病院 消化器科 加藤元嗣先生に深く御礼申し上げます。

統計解析についてご指導いただきました、医療・ヘルスサイエンス研究開発機構 プロモーションユニット データサイエンスセンター センター長 伊藤陽一教授に深く御礼申し上げます。

2021年9月

井上 雅貴

## 利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

## 引用文献

Abiko, S., Shimizu, Y., Miyamoto, S., Ishikawa, M., Matsuda, K., Tsuda, M., Mizushima, T., Yamamoto, K., Ono, S., Kudo, T., et al. (2018). Risk assessment of metachronous squamous cell carcinoma after endoscopic resection for esophageal carcinoma based on the genetic polymorphisms of alcoholdehydrogenase-1B aldehyde dehydrogenase-2: temperance reduces the risk. *J. Gastroenterol.* *53*, 1120-1130.

Asakage, T., Yokoyama, A., Haneda, T., Yamazaki, M., Muto, M., Yokoyama, T., Kato, H., Igaki, H., Tsujinaka, T., Kumagai, Y., et al. (2007). Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases, and drinking, smoking and diet in Japanese men with oral and pharyngeal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* *28*, 865-874.

Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El, Ghissassi, F., Bouvard, V., Altieri, A., and Coglianò, V.; WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. (2007). Carcinogenicity of alcoholic beverages. *Lancet Oncol.* *8*, 292-293.

Brooks, P.J., and Zakhari, S. (2014). Acetaldehyde and the genome: beyond nuclear DNA adducts and carcinogenesis. *Environ. Mol. Mutagen.* *55*, 77-91.

Chen, C.C., Lu, R.B., Chen, Y.C., Wang, M.F., Chang, Y.C., Li, T.K., and Yin, S.J. (1999). Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol-metabolism genes in protection against alcoholism. *Am. J. Hum. Genet.* *65*, 795-807.

Goda, K., Dobashi, A., Yoshimura, N., Aihara, H., Kato, M., Sumiyama, K., Toyozumi, H., Kato, T., Saijo, H., Ikegami, M., et al. (2016). Dual-focus versus conventional magnification endoscopy for the diagnosis of superficial squamous neoplasms in the pharynx and esophagus: a randomized trial. *Endoscopy* *48*, 321-329.

Hama, T., Tokumaru, Y., Fujii, M., Yane, K., Okami, K., Kato, K., Masuda, M., Mineta, H., Nakashima, T., Sugawara, M., et al. (2014). Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal cancer: a multicenter study in Japan. *Oncology* *87*, 173-82.

Hanaoka, N., Ishihara, R., Takeuchi, Y., Suzuki, M., Otozai, S., Kida, K., Yoshii, T., Fujii, T., Yoshino, K., Sugawa, T., et al. (2015). Endoscopic submucosal dissection as minimally invasive treatment for superficial pharyngeal cancer: a phase II study (with video). *Gastrointest. Endosc.* *82*, 1002-1008.

Hayashida, M., Ota, T., Ishii, M., Iwao-Koizumi, K., Murata, S., and Kinoshita, K. (2014). Direct detection of single nucleotide polymorphism (SNP) by the TaqMan PCR assay using dried saliva on water-soluble paper and hair-roots, without DNA extraction. *Anal. Sci.* *30*, 427-429.

Hurley, T.D., Edenberg, H.J. (2012) Genes encoding enzymes involved in ethanol metabolism. *Alcohol Res.* *34*, 339-344.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2010). Alcohol consumption and ethyl carbamate. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* *96*, 3-1383.

Inoue, M., Shimizu, Y., Ishikawa, M., Abiko, S., Shimoda, Y., Tanaka, I., Kinowaki, S., Ono, M., Yamamoto, K., Ono, S., et al. (2020). Relationships of early esophageal cancer with human papillomavirus and alcohol metabolism. *World J. Gastroenterol.* *26*, 6047-6056.

Kang, G., Bae, K.Y., Kim, S.W., Kim, J., Shin, H.Y., Kim, J.M., Shin, I.S., Yoon, J.S., and Kim, J.K. (2014). Effect of the allelic variant of alcohol dehydrogenase ADH1B\*2 on ethanol metabolism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* *38*, 1502-1509.

Katada, C., Tanabe, S., Koizumi, W., Higuchi, K., Sasaki, T., Azuma, M., Katada, N., Masaki, T., Nakayama, M., Okamoto, M., et al. (2010). Narrow band imaging for detecting superficial squamous cell carcinoma of the head and neck in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy* *42*, 185-190.

Katada, C., Yokoyama, T., Yano, T., Kaneko, K., Oda, I., Shimizu, Y., Doyama, H., Koike, T., Takizawa, K., Hirao, M., et al. (2016). Alcohol Consumption and Multiple Dysplastic Lesions Increase Risk of Squamous Cell Carcinoma in the Esophagus, Head, and Neck. *Gastroenterology* *151*, 860-869.

Koyanagi, Y.N., Ito, H., Oze, I., Hosono, S., Tanaka, H., Abe, T., Shimizu, Y., Hasegawa, Y., and Matsuo, K. (2017). Development of a prediction model and estimation of cumulative risk for upper aerodigestive tract cancer on the basis of the aldehyde dehydrogenase 2 genotype and alcohol consumption in a Japanese population. *Eur. J. Cancer Prev.* *26*, 38-47.

Lai, C.L., Yao, C.T., Chau, G.Y., Yang, L.F., Kuo, T.Y., Chiang, C.P., and Yin, S.J. (2014). Dominance of the inactive Asian variant over activity and protein contents of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 in human liver. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* *38*, 44-50.

Li, H., Borinskaya, S., Yoshimura, K., Kal'ina, N., Marusin, A., Stepanov, V.A., Qin, Z., Khaliq, S., Lee, M.Y., Yang, Y., et al. (2009). Refined geographic distribution of the oriental ALDH2\*504Lys (nee 487Lys) variant. *Ann. Hum. Genet.* *73*, 335-345.

Leemans, C.R., Braakhuis, B.J., and Brakenhoff, R.H. (2011). The molecular biology of head and neck cancer. *Nat. Rev. Cancer* *11*, 9-22.

Marur, S., D'Souza, G., Westra, W.H., and Forastiere, A.A. (2010). HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol.* *11*, 781-789.

Murata, S., Hayashida, M., Ishiguro-Tanaka, Y., Imazeki, H., Hayashi, E., Yokoyama, A., and Kinoshita K. (2015). Verification and Validation on Single Nucleotide Polymorphism Analysis of Alcohol Metabolism-Related Genes ADH1B and ALDH2, Using Dried-Saliva Samples. *Rinsho Byori* *63*, 1253-1258.

Muto, M., Saito, Y., Ohmori, T., Kaise, M., Inoue, H., Ishikawa, H., Sugiura, H., Ochiai, A., Shimoda, T., Watanabe, H., et al. (2007). Multicenter prospective randomized controlled study on the detection and diagnosis of superficial squamous cell carcinoma by back-to-back endoscopic examination of narrow band imaging and white light observation. *Gastrointest. Endosc.* *65*, AB110-0.

Muto, M., Satake, H., Yano, T., Minashi, K., Hayashi, R., Fujii, S., Ochiai, A., Ohtsu, A., Morita, S., Horimatsu, T., et al. (2011). Long-term outcome of transoral organ-preserving pharyngeal endoscopic resection for superficial pharyngeal cancer. *Gastrointest. Endosc.* *74*, 477-484.

Seitz, H.K., and Stickel, F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. (2007). *Nat. Rev. Cancer* 7, 599-612.

Shimizu, Y., Yamamoto, J., Kato, M., Yoshida, T., Hirota, J., Ono, Y., Nakagawa, M., Nakagawa, S., Oridate, N., and Asaka, M. Endoscopic submucosal dissection for treatment of early stage hypopharyngeal carcinoma. *Gastrointest. Endosc.* 64, 255-259.

Slaughter, D.P., Southwick, H.W., Smejkal, W. (1953). Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 6, 963-968.

Thomasson, H.R., Beard, J.D., and Li, T.K. (1995). ADH2 gene polymorphisms are determinants of alcohol pharmacokinetics. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 19, 1494-1499.

Tsai, S.T., Wong, T.Y., Ou, C.Y., Fang, S.Y., Chen, K.C., Hsiao, J.R., Huang, C.C., Lee, W.T., Lo, H.I., Huang, J.S., et al. (2014). The interplay between alcohol consumption, oral hygiene, ALDH2 and ADH1B in the risk of head and neck cancer. *Int. J. Cancer* 15, 2424-2436.

Urabe, Y., Hiyama, T., Tanaka, S., Oka, S., Yoshihara, M., Arihiro, K., and Chayama, K. (2009). Metachronous multiple esophageal squamous cell carcinomas and Lugol-voiding lesions after endoscopic mucosal resection. *Endoscopy* 41, 304-309.

Urabe, Y., Kagemoto, K., Nakamura, K., Mizumoto, T., Sanomura, Y., Oka, S., Ochi, H., Tanaka, S., and Chayama, K. (2019). Construction of a risk model for the development of metachronous squamous cell carcinoma after endoscopic resection of esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus* 16, 141-146.

Watanabe, A., Taniguchi, M., Kimura, Y., Hosokawa, M., Ito, S., Tsukamoto, S., and Sasaki, S. (2017). Synopsis of transoral endoscopic laryngopharyngeal surgery for superficial pharyngeal cancers. *Head Neck* 39, 1779-1787.

Yokoyama, A., Muramatsu, T., Omori, T., Yokoyama, T., Matsushita, S., Higuchi, S., Maruyama, K., and Ishii, H. (2001). Alcohol and aldehyde dehydrogenase gene polymorphisms and oropharyngolaryngeal, esophageal and stomach cancers in Japanese alcoholics. *Carcinogenesis* 22, 433-439.

Yokoyama, A., Brooks, P.J., Yokoyama, T., Mizukami, T., Shiba, S., Nakamoto, N., and Maruyama, K. (2017). Recovery from anemia and leukocytopenia after abstinence in Japanese alcoholic men and their genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2. *Jpn. J. Clin. Oncol.* *47*, 306-312.