



## Prognostic value of ALDH2 polymorphism for patients with oropharyngeal cancer in a Japanese population

Shinomiya, Hirotaka

---

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7459号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007459>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



## 学位論文の内容要旨

### Prognostic value of ALDH2 polymorphism for patients with oropharyngeal cancer in a Japanese population

日本人中咽頭癌患者における ALDH2 遺伝子多型の予後への影響

四宮 弘隆 四宮 瞳 久保 美恵 斎藤 祐毅  
吉田 昌史 安藤 瑞生 手島 直則 大月 直樹  
清田 尚臣 佐々木 良平 丹生 健一

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻  
耳鼻咽喉科頭頸部外科学  
(指導教員: 丹生 健一 教授)

四宮 弘隆

#### 背景

喫煙や飲酒が頭頸部扁平上皮癌のリスク因子であることはよく知られている。喫煙や飲酒率の減少とともにこれらの疾患は減少傾向にあるが、近年 HPV 関連中咽頭癌は増加傾向となっている。UCCN/AJCC の TNM 分類第 8 版においては p16 陽性中咽頭癌として従来のいわゆる喫煙、飲酒と関連した中咽頭癌とは別疾患としてとらえるようになった。これらの改訂は HPV-status が強い予後因子であることが証明され、治療の方法によらず予後良好であることが示されたことによっている。

しかし予後因子としての喫煙、飲酒の状況は欧米と日本では異なっている。Ang 等は HPV-status および喫煙が中咽頭癌の予後因子であることを示したが、飲酒については言及していない。逆に日本において斎藤等は HPV-status および飲酒が中咽頭癌の予後と関連すると報告している。こういった欧米と日本との差はアセトアルデヒド分解酵素である ALDH2 の遺伝子多型と関連している可能性がある。ALDH2 ヘテロタイプの場合、ホモに比較してアルデヒドの血中濃度が 6 倍にもなるとされ、ヘテロタイプでは食道癌の発生リスクが上昇することが知られている。日本人においては約半数がヘテロタイプであるとされるのに対し、欧米ではほとんどがホモタイプである。

ALDH2 の遺伝子多型と発生リスクに関する報告は散見されるが、予後との関連を報告したものはない。ALDH2 と中咽頭癌の予後との関連について検討を行った。

#### 方法

##### 対象

2006 年から 2011 年に神戸大学医学部附属病院で初回治療を行った中咽頭癌患者 98 例のうち根治治療をうけたのは 92 例であった。そのうち病理組織検体が入手可能で、飲酒量、喫煙量の記載があり、書面での informed consent の得られた 82 例を対象とした。

年齢は 31 歳から 85 歳、中央値 63 歳であった。観察期間は 2 ヶ月から 90 ヶ月で中央値 42 ヶ月であった。TNM 分類には UICC/AJCC の TNM 分類第 7 版を使用した。

##### Genotyping

パラフィン包埋病理検体から DNA を抽出し、Taqman probe 法を用いて ALDH2 1951G/A (rs671) の多型の検索を行った。5 検体については ALDH2 のシークエンスを確認した。

##### P16 免疫染色

HPV-status の検索には p16 の免疫染色を代替マーカーとして使用した。腫瘍細胞の内、核、細胞質が 70%以上染色されているものを p16 陽性と判断した。

#### 結果

##### <p16 と予後との関連>

p16 陽性患者は女性に多くみられ (68.7% vs 36.4% ; p=0.025)、非飲酒者に多く認められた (75.0% vs 32.2% ; p=0.004)。p16 と喫煙との関連は認めず、p16 陽性者ではリンパ節転移がより進行している傾向があった。

3年粗生存率は p16 陽性、陰性でそれぞれ 87%、68% ( $p=0.007$ ) で 3 年疾患特異的生存率はそれぞれ 87%、72% ( $p=0.057$ ) であった。

#### <p16 と ALDH2 遺伝子多型の関係>

p16 陰性患者では p16 陽性患者に比較して ALDH2 ヘテロの割合が高い傾向があった。ALDH2 の遺伝子多型により生存率の有意な差は認められなかったが、ヘテロタイプで予後が悪い傾向があった。 $(p=0.086)$

単変量解析では粗生存率の性別、年齢、N 分類、p16 で有意差が見られ、疾患特異的生存率では性別、p16 に有意差が見られた。これらの項目で多変量解析を行うと粗生存率の p16 のみで有意差が示された。

#### <p16、ALDH2 遺伝子多型に基づくリスク分類>

p16、ALDH2 遺伝子多型を用いて 3 群に分けて検討した。p16 陽性を低リスク群、p16 陰性で ALDH2 ホモタイプを中リスク群、p16 陰性で ALDH2 ヘテロタイプを高リスク群とした。3 年粗生存率はそれぞれ 87%、78%、48%、3 年疾患特異的生存率はそれぞれ 93%、84%、55% であった。高リスク群は中リスク群と比較して予後が悪い傾向が見られた。 $(p=0.15)$

#### <頭頸部、食道同時性、異時性重複癌について>

頭頸部、食道重複癌についての検討は東京大学で治療を行った中咽頭癌症例 37 例を追加して行った。全 119 例中 29 例 (24%) に頭頸部食道重複癌がみられた。p16 陽性に比較して 16 陰性患者で多く発生していた (11% vs 32%  $p=0.017$ )。さらに p16 陽性者の中では ALDH2 ヘテロの患者が ALDH2 ホモに比較して重複癌が多く発生していた (18% vs 49% ;  $p=0.0065$ ) さらに重複癌があった患者はなかった患者に比較して有意に予後が短かった ( $p=0.009$ )。

#### 考察

本研究では日本人における ALDH2 の遺伝子多型に着目し、人種による遺伝的な違いが疾患の性質、予後に影響を及ぼす可能性を考え、検討を行った。中咽頭癌の予後因子について、欧米では HPV-status に加えて、喫煙が予後因子として重要となり、飲酒の影響は少ないと認識されている。しかし日本を含めたアジアではいわゆる フラッシュヤーというアルデヒドの分解酵素が弱い人の割合が多く、発癌に強く関与している可能性が示唆された。

生存率の多変量解析では p16 のみが予後因子として残り、やはり HPV-status が最も強い予後因子であることは間違いない。p16 陰性患者では p16 陽性患者に比較して ALDH2 ヘテロタイプの割合が多いことから、p16 陰性患者の発癌に ALDH2 の遺伝子多型の関与が見られる可能性が示唆された。

そこで先出の報告に習い、p16、ALDH2 の多型により 3 つのリスクグループに分類したところ、p16 陰性、ALDH2 ヘテロタイプが最も予後が悪い傾向が見られた。ただ有意差は見られず、今後さらに症例数を増やした検討が必要となる。

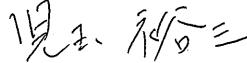
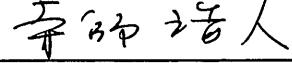
頭頸部、食道重複癌の頻度について検討したところ、p16 陰性患者の方が陽性患者に比較して重複癌の頻度が高かった。さらに p16 陰性患者の中で、ALDH2 ヘテロタイプの患者はホモタイプの患者に比較して有意に重複癌が多かった( $p=0.0065$ )。粗生存率を重複癌の有無で比較すると、重複癌が発生した患者で有意に予後不良であったのに対して、疾患特異的生存率では有意な差までは認められなかった。この結果から、ALDH2 ヘテロタイプで予後不良となる説因の 1 つに、重複癌が関連していることが示唆された。すなわち、ALDH2 ヘテロタイプで重複癌が発生しやすいため、重複癌の存在により生存に影響を及ぼしている可能性がある。この観点から、中咽頭癌患者でも特に p16 陰性で、ALDH2 ヘテロタイプ (フラッシュヤー) の患者には頭頸部食道重複癌の検索が生命予後にも重要と考えられ、定期的な上部消化管内視鏡検査が必須となるとかんがえられる。ただ疾患特異的生存率においても、ALDH2 ヘテロ患者はホモ患者に比較して予後不良の傾向が見られていることから、重複癌のみがその要因とはいはず、他の要因も関与していると考えられる。他の要因として想定される事項として、ALDH2 ヘテロ患者では TP53 mutation や DNA methylation が起こりやすい事が考えられた。

本研究は限られた症例数による後方視的な研究で、多くのバイアスが含まれており、結果の解釈に制限がかかる。今後症例数を増やした前向き研究が

#### 結論

日本人の中咽頭癌患者において喫煙は有意な予後因子とはならなかった。その代わりに ALDH2 の遺伝子多型が予後と関連している可能性が示唆された。HPV 陰性で、ALDH2 ヘテロの患者群が予後不良となる理由として、頭頸部、食道重複癌が多いことが一因となっている可能性がある。本研究は中咽頭癌において ALDH2 の遺伝子多型、種族の差が予後と関連している可能性を示した初めての研究である。

神戸大学大学院医学(系)研究科 (博士課程)

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2858 号	氏名	四宮 弘隆
論文題目 Title of Dissertation	日本人中咽頭癌患者における ALDH2 遺伝子多型の予後への影響 Prognostic value of ALDH2 polymorphism for patients with oropharyngeal cancer in a Japanese population		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner  副査 Vice-examiner  副査 Vice-examiner 		

(要旨は1, 000字~2, 000字程度)

背景

喫煙や飲酒が頭頸部扁平上皮癌のリスク因子であることはよく知られている。喫煙や飲酒率の減少とともにこれらの疾患は減少傾向にあるが、近年 HPV 関連中咽頭癌は増加傾向となっている。UCCN/AJCC の TNM 分類第 8 版においては p16 陽性中咽頭癌として従来のいわゆる喫煙、飲酒と関連した中咽頭癌とは別疾患としてとらえるようになった。これらの改訂は HPV-status が強い予後因子であることが証明され、治療の方法によらず予後良好であることが示されたことによっている。

しかし予後因子としての喫煙、飲酒の状況は欧米と日本では異なっている。Ang 等は HPV-status および喫煙が中咽頭癌の予後因子であることを示したが、飲酒については言及していない。逆に日本において齋藤等は HPV-status および飲酒が中咽頭癌の予後と関連すると報告している。こういった欧米と日本との差はアセトアルデヒド分解酵素である ALDH2 の遺伝子多型と関連している可能性がある。ALDH2 ヘテロタイプの場合、ホモに比較してアルデヒドの血中濃度が 6 倍にもなるとされ、ヘテロタイプでは食道癌の発生リスクが上昇することが知られている。日本人においては約半数がヘテロタイプであるとされるのに対し、欧米ではほとんどがホモタイプである。

ALDH2 の遺伝子多型と発生リスクに関する報告は散見されるが、予後との関連を報告したものはない。ALDH2 と中咽頭癌の予後との関連について検討を行った。

方法

対象

2006 年から 2011 年に神戸大学医学部附属病院で初回治療を行った中咽頭癌患者 98 例のうち根治療をうけたのは 92 例であった。そのうち病理組織検体が入手可能で、飲酒量、喫煙量の記載があり、書面での informed consent の得られた 82 例を対象とした。

年齢は 31 歳から 85 歳、中央値 63 歳であった。観察期間は 2 ヶ月から 90 ヶ月で中央値 42 ヶ月であった。TNM 分類には UICC/AJCC の TNM 分類第 7 版を使用した。

Genotyping

パラフィン包埋病理検体から DNA を抽出し、Taqman probe 法を用いて ALDH2 1951G/A (rs671) の多型の検索を行った。5 検体については ALDH2 のシークエンスを確認した。

P16 免疫染色

HPV-status の検索には p16 の免疫染色を代替マーカーとして使用した。腫瘍細胞の内、核、細胞質が 70% 以上染色されているものを p16 陽性と判断した。

結果

<p16 と予後との関連>

p16 陽性患者は女性に多くみられ (68.7% vs 36.4% ; p=0.025)、非飲酒者に多く認められた (75.0% vs 32.2% ; p=0.004)。p16 と喫煙などの関連は認めず、p16 陽性者ではリンパ節転移がより進行している傾向があった。

3年粗生存率はp16陽性、陰性でそれぞれ87%、68% ( $p=0.007$ )で3年疾患特異的生存率はそれぞれ87%、72% ( $p=0.057$ )であった。

#### <p16とALDH2遺伝子多型の関係>

p16陰性患者ではp16陽性患者に比較してALDH2ヘテロの割合が高い傾向があった。

ALDH2の遺伝子多型により生存率の有意な差は認められなかったが、ヘテロタイプで予後が悪い傾向があった。 $(p=0.086)$

単変量解析では粗生存率の性別、年齢、N分類、p16で有意差が見られ、疾患特異的生存率では性別、p16に有意差が見られた。これらの項目で多変量解析を行うと粗生存率のp16のみで有意差が示された。

#### <p16、ALDH2遺伝子多型に基づくリスク分類>

p16、ALDH2遺伝子多型を用いて3群に分けて検討した。p16陽性を低リスク群、p16陰性でALDH2ホモタイプを中リスク群、p16陰性でALDH2ヘテロタイプを高リスク群とした。3年粗生存率はそれぞれ87%、78%、48%、3年疾患特異的生存率はそれぞれ93%、84%、55%であった。高リスク群は中リスク群と比較して予後が悪い傾向が見られた。 $(p=0.15)$

#### <頭頸部、食道同時性、異時性重複癌について>

頭頸部、食道重複癌についての検討は東京大学で治療を行った中咽頭癌症例37例を追加して行った。全119例中29例(24%)に頭頸部食道重複癌がみられた。p16陽性に比較して16陰性患者で多く発生していた( $11\% \text{ vs } 32\% \ p=0.017$ )。さらにp16陽性者の中ではALDH2ヘテロの患者がALDH2ホモに比較して重複癌が多く発生していた( $18\% \text{ vs } 49\% \ p=0.0065$ )。さらに重複癌があった患者はなかった患者に比較して有意に予後が短かった( $p=0.009$ )。

#### 考察

本研究では日本人におけるALDH2の遺伝子多型に着目し、人種による遺伝的な違いが疾患の性質、予後に影響を及ぼす可能性を考え、検討を行った。中咽頭癌の予後因子について、欧米ではHPV-statusに加えて、喫煙が予後因子として重要となり、飲酒の影響は少ないと認識されている。しかし日本を含めたアジアではいわゆる「フラッシャー」というアルデヒドの分解酵素が弱い人の割合が多く、発癌に強く関与している可能性が示唆された。

生存率の多変量解析ではp16のみが予後因子として残り、やはりHPV-statusが最も強い予後因子であることは間違いない。p16陰性患者ではp16陽性患者に比較してALDH2ヘテロタイプの割合が多いことから、p16陰性患者の発癌にALDH2の遺伝子多型の関与が見られる可能性が示唆された。

そこで先出の報告に習い、p16、ALDH2の多型により3つのリスクグループに分類したところ、p16陰性、ALDH2ヘテロタイプが最も予後が悪い傾向が見られた。ただ有意差は見られず、今後さらに症例数を増やした検討が必要となる。

頭頸部、食道重複癌の頻度について検討したところ、p16陰性患者の方が陽性患者に比較して重複癌の頻度が高かった。さらにp16陰性患者の中で、ALDH2ヘテロタイプの患者はホモタイプの患者に比較して有意に重複癌が多かった( $p=0.0065$ )。粗生存率を重複癌の有無で比較すると、重複癌が発生した患者で有意に予後不良であったのに対して、疾患特異的生存率では有意な差までは認められなかった。この結果から、ALDH2ヘテロタイプで予後不良となる誘因の1つに、重複癌が関連していることが示唆された。すなわち、ALDH2ヘテロタイプで重複癌が発生しやすいため、重複癌の存在により生存に影響を及ぼしている可能性がある。この観点から、中咽頭癌患者でも特にp16陰性で、ALDH2ヘテロタイプ(「フラッシャー」)の患者には頭頸部食道重複癌の検索が生命予後にも重要と考えられ、定期的な上部消化管内視鏡検査が必須となるとかんがえられる。ただ疾患特異的生存率においても、ALDH2ヘテロ患者はホモ患者に比較して予後不良の傾向が見られていることから、重複癌のみがその要因とはいえない、他の要因も関与していると考えられる。他の要因として想定される事項として、ALDH2ヘテロ患者ではTP53 mutationやDNA methylationが起こりやすい事が考えられた。

本研究は限られた症例数による後方視的な研究で、多くのバイアスが含まれており、結果の解釈に制限がかかる。今後症例数を増やした前向き研究が待たれる。

#### 結論

日本人の中咽頭癌患者において喫煙は有意な予後因子とはならなかった。その代わりにALDH2の遺伝子多型が予後と関連している可能性が示唆された。HPV陰性で、ALDH2ヘテロの患者群が予後不良となる理由として、頭頸部、食道重複癌が多いことが一因となっている可能性がある。

本研究は中咽頭癌において、その予後を規定する因子について検討した研究である。ALDH2の遺伝子多型、種族の差が予後と関連している可能性を示した初めての研究として価値ある集積であると認める。よって、本研究は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。