

Title	口腔癌の危険因子 : 飲酒と喫煙について
Author(s)	神山, 勲; 生野, 貴裕; 成田, 真人; 野村, 武史; 椎木, さやか; 片倉, 朗; 高野, 伸夫; 柴原孝彦
Journal	歯科学報, 105(5): 446-452
URL	http://hdl.handle.net/10130/158
Right	

口腔癌の危険因子

飲酒と喫煙について

神山 勲 生野貴裕 成田真人 野村武史
椎木さやか 片倉 朗 高野伸夫 柴原孝彦

緒 言

当科では、以前より口腔癌のスクリーニングを目的とした新たなリスクファクターの解析、特に飲酒・喫煙関連の発癌因子について検討をおこなってきている。口腔癌の発癌要因として、古くより疫学的に飲酒、喫煙が知られているが、科学的な根拠に裏付けされた報告は未だ得られていない¹⁻⁴⁾。特に飲酒に関しては疫学的な発生頻度などの数値的な結果のみで、アルコール自体の発癌性は明らかでない。喫煙においてはベンゾピレンやニトロサミンといった発癌物質または発癌前駆物質が同定され、喫煙による発癌のメカニズムが解明されてきたが、口腔癌への影響は推測の域を脱していない³⁻⁵⁾。

近年、分子生物学の進歩に伴いアルコールの生体内での薬理作用が次第に明らかにされてきた⁶⁻⁸⁾。特に東洋人の約半数にみられるアセトアルデヒド脱水素酵素2(以下 ALDH2 と略す)遺伝子の欠損型は、飲酒後体内でのアセトアルデヒド代謝能を著しく低下する原因遺伝子と判明されて以来、飲酒関連癌とアセトアルデヒドの関係が特に注目されてきた⁹⁻¹¹⁾。Yokoyama らは、消化管癌のスクリーニング検査をおこない、食道癌のリスクファクターとして飲酒習慣をもつ ALDH2 欠損者を同定し、アセトアルデヒドが飲酒関連癌の carcinogenesis である

可能性を見いだした¹²⁾。また、アセトアルデヒドの薬物代謝酵素として知られるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ M1(以下 GSTM1 と略す)遺伝子にも欠損型が報告されており、ALDH2 と併せてこれらが飲酒による口腔癌の発癌に関与している可能性があると考えられている¹³⁾。さらに GSTM1 は、グルタチオンを抱合体として生体外異物の抱合、解毒にも関与しており、タバコ中のベンゾ(a)ピレンの代謝にも関与し、肺癌などで欠損型が有意に多いと報告されている¹³⁾。

以上より、われわれは口腔癌患者ならびに一般健康者に対して、飲酒と喫煙の程度について解析をおこなうとともに、ALDH2 欠損型と GSTM1 欠損型の頻度、ALDH2 および GSTM1 欠損型と飲酒歴との関係についても比較、検討をおこなった。

方 法

対象は、1996年から2000年の間に東京歯科大学口腔外科学講座を受診し、扁平上皮癌と組織学的に診断された口腔癌症例のうち、本研究に同意が得られた191名である。そのうちアンケート調査のみをおこなった対象症例が191名、さらに採血に同意いただき ALDH2 と GSTM1 の遺伝型解析までおこなえた対象症例が115名であった(表1)。本研究のコントロールとして、口腔癌ならびに他疾患が認めら

キーワード：口腔癌，危険因子，飲酒，喫煙
東京歯科大学口腔外科学講座(指導：柴原孝彦教授)
(2005年9月21日受付)
(2005年9月27日受理)

別刷請求先：〒261 8502 千葉市美浜区真砂1-2-2
東京歯科大学口腔外科学講座 神山 勲

Isao KAMIYAMA, Takahiro SHONO, Masato NARITA, Takeshi NOMURA, Sayaka SHIIKI, Akira KATAKURA, Nobuo TAKANO, Takahiko SHIBAHARA: A Study of Drinking and Smoking as Carcinogens in the Oral Cancer(Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Tokyo Dental College)

表1 対象症例

	男性	女性	平均年齢 (±SD)
方法1) 症例数 (n=191)	121	70	60.0±12
方法1) + 方法2) 症例数 (n=115)	76	39	59.8±11.2
対照 (n=121)	69	52	52.0±6.9

れない健常者を無作為に121名抽出した。本研究の参加に際してすべての対照者からインフォームドコンセントを得た。また、この研究は「ヘルシンキ宣言」および本学における「臨床研究に関する倫理指針」に基づいておこなわれた。

1) アンケート調査の解析

質問表を用いて喫煙歴、飲酒歴を調査した。解析にあたっては毎日常用しているものを飲酒、喫煙群とし、さらに Pack-years (一日の喫煙本数 / 20 × 喫煙年数), Sake 指数 (日本酒の合数に換算した一日飲酒量 × 飲酒年数) を算出した。過去に飲酒、喫煙経験のあるものも飲酒者、喫煙者と同等に扱い、算出した。

2) ALDH2, GSTM1 遺伝型の解析

DNA の抽出：口腔癌症例および対照より末梢血 5 ml を採取し、全血より白血球分離をおこなった。そして和光社製 DNA Extractor WB kit を用いて DNA を抽出し、polymerase chain reaction (PCR 法) のための試料とした。

ALDH2 の解析：PCR-RFLP による検出をおこなった。すなわち 1 μg/μl に調整したゲノム DNA に Primer, PCR 反応液として Amplitaq, Taq DNA polymerase (宝酒造社製) を加え、Perkin elmer 社製 Geneamp9600 にて ALDH2 遺伝子の exon12 を増幅した。そして PCR によって得られた産物を制限酵素 Mbo II (GIBCO 社製) にて切断後、20% ポリアクリルアミド電気泳動をおこなった。そしてエチジウムプロマイドで染色し、その認識部位の差異で

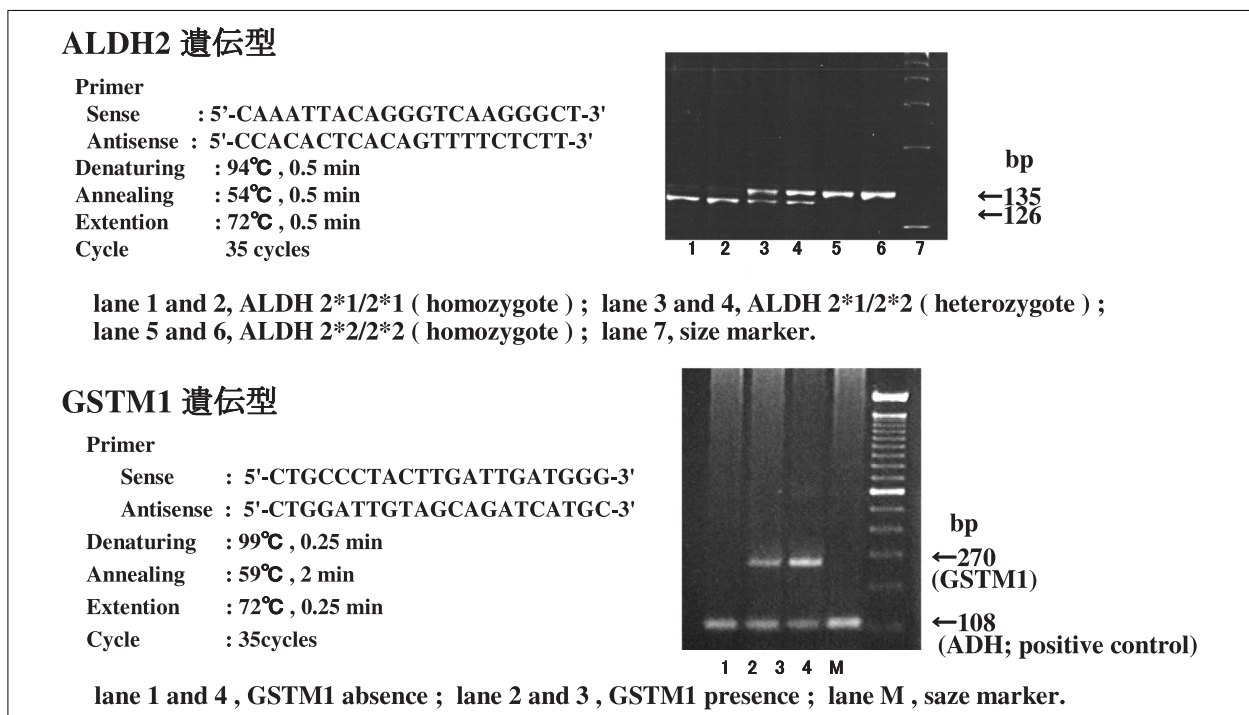


図1 ALDH2 および GSTM1 遺伝型の判定

遺伝型の判定をおこなった(図1)。

GSTM1の解析: 1 µg/µl に調整したゲノム DNA に Primer, PCR 反応液として Amplitaq, Taq DNA polymerase(宝酒造社製)を加え, Perkin elmer 社製 Geneamp9600にて GSTM1 遺伝子の exon 4 から exon 5 を増幅した。そして PCR によって得られた産物に対して 2% アガロースゲル電気泳動をおこなった。そしてエチジウムブロマイドで染色し, その認識部位の有無で遺伝型の判定をおこなった(図1)。

統計処理は, ALDH2, GSTM1 遺伝型と口腔癌発症との関連性の強さを評価するために Odds 比を求め, 有意性に関しては²検定, 症例と対照との比較は Fischer の直接確率法を用いた。

結果

飲酒, 喫煙両群における口腔癌の発現頻度を表2に示す。まず男性では飲酒および喫煙単独群でともに対照と比較し有為差は認められないが, 飲酒と喫煙ともにおこなっている者は, 口腔癌症例で有意に高値を示した。また女性については単独群および両習慣をもつ群すべてが対照と比べ有為の高値を示した。

飲酒習慣における口腔癌の発生状況を表3に示す。飲酒群では, 男女ともに口腔癌症例が対照にくらべ有意に高い頻度を示した。また, sake index で指数が60以上の高度飲酒家は対照と比較した場合, 有意に発生率の上昇が認められた。平均 sake 指数においても対照に比べ高値を示したが有意差は

表2 喫煙・飲酒と口腔癌の関連性

	男性		女性	
	症例 (%)	対照 (%)	症例 (%)	対照 (%)
非飲酒・非喫煙群	7 (9.1)	13 (18.8)	19 (48.6)	48 (92.3)
非飲酒・喫煙群	10 (13.2)	26 (37.7)	6 (15.4)*	1 (1.9)
飲酒・非喫煙群	5 (6.6)	9 (13.0)	8 (20.6)*	1 (1.9)
飲酒・喫煙群	54 (71.1)*	21 (30.5)	6 (15.4)*	2 (3.9)

*: p<0.05

表3 飲酒と口腔癌の関連性

	男性		女性	
	症例 (%)	対照 (%)	症例 (%)	対照 (%)
非飲酒群	17 (22.3)	39 (56.5)	25 (64.1)	49 (94.2)
飲酒群	59 (77.7)*	30 (43.6)	14 (35.9)*	3 (5.8)
sake index ^a				
0	17 (22.3)	22 (31.9)	25 (64.1)	49 (94.2)
1~59	36 (47.4)	45 (65.2)	13 (33.3)*	3 (5.8)
60~119	16 (21.1)*	2 (2.9)	0 (0)	0 (0)
120~	7 (9.2)*	0 (0)	1 (2.6)*	0 (0)
平均 (±SD)	48.4 (±55.3)	22.9 (±24.3)	11.5 (±15.8)	7.1 (±18.1)

*: p<0.05, a: sake index = 1日アルコール換算量/27 × 飲酒年数

認められなかった。

喫煙習慣における口腔癌の発生状況を表4に示す。男女別の喫煙群を比較すると、喫煙率は総じて男性に高い傾向にあるが、男性と対照との間に有意差認められなかった。しかし pack-years で50以上の高度喫煙群では対照に比べ有意に高値を示し、喫煙量の増加が口腔癌の発生に強く関与しているものと思われた。また平均 pack-years においても男女ともに口腔癌症例で高値を示していた。すなわち従来の報告通り^{1,2)}、飲酒と喫煙の相乗効果により口腔癌の発生リスクが高まる傾向が認められた。続いて飲酒、喫煙における口腔癌の発生リスクについて Odds 比を用いた検討をおこなった(表5)。Odds

比の有意性に関しては、95%信頼区間で1を含まないか否かで判定した。

飲酒群では男性4.51倍、女性9.15倍と有意に高い発生リスクを認めた。また男性では sake index の増大に伴い、発生リスクが増加する傾向を認めた。喫煙群における口腔癌の発生リスクは、男性では有意差を認めないものの2.49倍、女性では9.15倍、とそれぞれ高値を示した。pack-years 50以上の高度喫煙群をみると男性で4.27倍と有意に高値を示した。また男性では喫煙、飲酒単独群に比べ両習慣をもつ群で高いOdds 比を認めたが、同様の傾向は女性には見られなかった。

常習飲酒者においてALDH2欠損型の頻度は対

表4 喫煙と口腔癌の関連性

	男性		女性	
	症例 (%)	対照 (%)	症例 (%)	対照 (%)
非喫煙群	12 (15.8)	22 (31.9)	25 (64.1)	49 (94.2)
喫煙群	64 (84.2)	47 (68.1)	14 (35.9)*	3 (5.8)
pack-years ^b				
0~50	57 (75.0)	64 (92.8)	38 (97.4)	52 (100)
50~	19 (25.0)*	5 (7.2)	1 (2.6)	0 (0)
平均(±SD)	34.4 (±31.2)	20.1 (±18.4)	9.4 (±15.6)	0.8±(3.6)

* : p<0.05, b: pack-years = 1日の喫煙本数/20×喫煙年数

表5 各因子における口腔癌の発生リスク

	男性	女性
	O.R. ^c (95%信頼区間)	O.R.(95%信頼区間)
喫煙群	2.49 (1.14~5.56)	9.15 (2.77~30.24)
pack-years		
50~	4.27 (1.59~11.46)	- (-)
飲酒群	4.51 (2.50~8.09)	9.15 (2.77~30.24)
sake index		
1~60	1.04 (1.02~1.06)	8.49 (2.56~18.23)
60~119	10.35 (3.64~29.42)	- (-)
120~	- (-)	- (-)
喫煙・非飲酒	0.71 (0.22~0.87)	15.15 (2.66~86.74)
非喫煙・飲酒	1.03 (1.01~4.06)	20.21 (3.87~103.90)
喫煙・飲酒	4.78 (1.76~13.01)	7.58 (1.69~33.93)

c: Odds 比

照と比較し,有意差は見られないものの口腔癌症例でのOdds比は2.1倍と高い値を示した(表6)。口腔癌患者のGSTM1欠損率は,63.5%で,対照群(52.9%)との間に有意差は認められなかった。喫煙群におけるGSTM1欠損率は,口腔癌症例で有意

に高値を示し,Odds比は2.2であった。飲酒群におけるGSTM1欠損率は,口腔癌症例で有意に高値を示し,Odds比は2.8であった。

ALDH2欠損者におけるGSTM1欠損率は,口腔癌症例で有意に高値を示し,Odds比は2.8で

表6 飲酒群におけるALDH2次欠損型の頻度

	口腔癌症例 (%) n = 73	対照 (%) n = 33	O.R. ^c (95%信頼区間)
ALDH2欠損型	23 (31.5)	6 (18.2)	2.1 (1.7 ~ 5.8)

c: Odds比

表7 GSTM1欠損型の頻度

対象	口腔癌症例 (%) n = 115	対照 (%) n = 121	O.R. ^c (95%信頼区間)
GSTM1欠損型	72 (63.5)	64 (52.9)	1.5 (1.3 ~ 2.4)
喫煙群	n = 77	n = 48	
GSTM1欠損型	50 (64.9)**	22 (45.8)	2.2 (1.1 ~ 4.6)
飲酒群	n = 70	n = 35	
GSTM1欠損型	51 (72.9)**	17 (48.6)	2.8 (1.2 ~ 6.4)
ALDH2欠損者	n = 23	n = 21	
GSTM1欠損型	18 (78.3)**	12 (57.1)	2.7 (2.4 ~ 9.8)

c: Odds比、*: p < 0.05

表8 常用飲酒者における口腔癌発生部位

口腔癌部位	n	常用飲酒者		χ^2	p ^d	O.R. ^c (95%信頼区間)
		- (%)	+ (%)			
口腔癌部位	191	77 (40.3)	114 (59.7)	31.23	< 0.01	3.9 (2.4-6.3)
舌	74	30 (40.5)	44 (59.5)	17.67	< 0.01	3.9 (2.1-7.4)
下顎歯肉	46	19 (41.3)	27 (58.3)	14.30	< 0.01	3.8 (1.9-7.6)
上顎歯肉	21	12 (57.1)	9 (42.9)	2.09	0.2	- (- -)
頬粘膜	17	7 (41.2)	10 (58.8)	0.01	0.9	- (- -)
口底	15	3 (20.0)	12 (80.0)	14.46	< 0.01	- (- -)
上顎洞	6	1 (16.7)	5 (83.3)	-	-	- (- -)
口蓋	5	3 (60.0)	2 (40.0)	-	-	- (- -)
咽頭	4	0 (0)	4 (100)	-	-	- (- -)
口唇	3	2 (66.7)	1 (33.3)	-	-	- (- -)

c: Odds比, d: 対照と比較

あった。しかし喫煙，飲酒，ALDH2欠損者におけるGSTM1欠損型の頻度はOdds比で，それぞれ2.2, 2.8, 2.7と有意に高い発癌リスクを示した。すなわちGSTM1遺伝子単独では，口腔癌の遺伝的背景と成りうる可能性は低く，ALDH2と同様喫煙，飲酒による環境要因との組み合わせにより強い関連性を示していた(表7)。

口腔癌患者191名に対して常習飲酒者における口腔癌発生を部位別にみると，舌，口底，下顎歯肉が有意に高い結果を示した。その他頬粘膜，上顎などに関しては，各症例数も少なく有意差を示さなかった(表8)。

考 察

口腔癌症例191名と一般健常者121名を対象とした疫学調査の結果，従来から報告されていたように飲酒習慣が口腔癌の発生に極めて大きく関与していることが確認された¹⁻³⁾。これを部位別にみると口底，舌，下顎歯肉において有意性が証明され，飲酒関連癌の好発部位である可能性が示された。また，酒種類による検討をしてみると口腔癌症例は対照に比べ日本酒，焼酎，ウイスキーといった比較的濃いアルコール飲料を好む傾向にあり，酒が口腔粘膜に直接接触することの重要性が示唆された。飲酒による発癌のメカニズムに関してはRistowらがアセトアルデヒドの関与している可能性があることを報告している¹⁴⁾。アセトアルデヒドの発癌実験ではWoutersenらが吸入実験により鼻腔粘膜に扁平上皮癌を確認している¹⁵⁾。

今回の研究では，口腔癌の飲酒関連の発癌因子を明らかにする目的で疫学的調査と合わせ，ALDH2とGSTM1の欠損型を検討した。ALDH2は飲酒後に体内に生じるアセトアルデヒドの主要な代謝酵素である。東洋人の約半数においてはALDH2*2と命名された変異遺伝子が存在し，その代謝酵素活性が欠損している。近年消化管領域において，飲酒習慣をもつ食道癌患者のALDH2遺伝型を分析し，ALDH2のヘテロ欠損型が健常者に比べ著しく高い結果になったと報告している¹²⁾。口腔癌について解析した報告は未だ少ないため，今回このALDH2に注目して，解析をおこなった。

一方，グルタチオンは肝臓でアセトアルデヒドや

ベンゾ(a)ピレンと速やかに結合しその毒性を除去する。そして生体高分子(DNAやタンパク質)に作用して発癌剤ないしその代謝産物の実効濃度を低下させ発癌を抑制すると報告されている¹³⁾。この際，グルタチオンS-トランスフェラーゼはグルタチオンを抱合体として用いて，多数の薬剤の抱合，生体外異物の抱合，解毒に関与している。このうちGSTM1はタバコ中のベンゾ(a)ピレンの代謝に関与し肺癌，胃癌，乳癌，大腸癌，膀胱癌などで欠損型が有意に多いと報告されている^{12,13)}。これについても口腔癌との関連をみた報告は少ないので，ALDH2と同様に遺伝子多型について追究した。

常習飲酒者におけるヘテロのALDH2欠損型の頻度は，口腔癌症例で2.1倍のOdds比を示し高かった。GSTM1欠損型の頻度は口腔癌症例で2.8倍のオッズ比で有意に高い傾向にあった。口腔癌患者の中でALDH2欠損者であり，かつGSTM1欠損型をもつ症例は78.3%を示し，Odds比も2.7倍の高値であった。GSTM1遺伝型の多型は，他の薬剤代謝酵素と同様に口腔癌の発生リスクを高めている可能性が示唆された。すなわちALDH2，GSTM1欠損者は，口腔癌の新たなリスクファクターとなる可能性が示された。新たな発癌ハイリスクグループを特定することは，口腔癌の1次予防に今後重要と思われる。飲酒による発癌の研究は1970年頃より始まり，その発癌性について論じられてきた。しかしながら，種々の毒性試験でエタノールの発癌性は無いと結論づけられた。しかし，今回の結果から，アルコールの中間代謝産物であるアセトアルデヒドは，Yokoyamaらが報告しているように飲酒による発癌のメカニズムに重要な役割を果たしている可能性が高いと考えられた¹²⁾。

日本において，口腔癌は全臓器癌の3%程度と比較的少ないためか，他臓器癌に比べ検診制度が普及していない。その口腔癌は口腔内で目に見える部位に発生する癌であるにも関わらず必ずしも初期癌の頻度は高くない。癌の一次スクリーニングとして一般母集団のなかから口腔癌を発見するのは，コスト・ベネフィットの点から有用ではない¹⁶⁾。今後はいかにハイリスクファクターの母集団をとらえ，効率よく初期癌を発見できるかが重要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) Wynder EL, Bross IJ: A Study of the etiology factors in cancer of the mouth. *Cancer*, 10 : 1300 ~ 1323 , 1957 .
- 2) Zeng Y: Seroepidemiological studies on nasopharyngeal carcinoma in China. *Advan in Canc Resear*, 44 : 121 ~ 138 , 1985 .
- 3) Nam JM, McLauhlin JK, Blot WJ: Cigarette smoking, alcohol, and nasopharyngeal carcinoma, a case-control study among U.S. whites. *JNat Canc Inst*, 84 : 619 ~ 622 , 1992 .
- 4) Kobat GC, Chang CJ, Wynder EL: The role of tobacco, alcohol use, and body mass index in oral pharyngeal cancer. *Int J Epid*, 23 : 1137 ~ 1144 , 1994 .
- 5) Mabudhi K, Bross DS, Kessler II: Cigarette smoking and nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*, 55 : 2874 ~ 2876 , 1985 .
- 6) Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T, Higuchi S, Hayashida M, Ishii H: Esophageal cancer and aldehyde dehydrogenase 2 genotype in Japanese males. *Cancer Epid*, 5 : 99 ~ 102 , 1996 .
- 7) Battiston L, Moretti M, Tulissi P, Fanni-Canelles M, Pozzato G: Alcohol hepatic toxicity in rat: evidence of the utility of gastric ethanol metabolism. *Int Hepat Commun*, 6 : 61 ~ 70 , 1996 .
- 8) 野村武史, 野間弘康, 柴原孝彦: エタノールおよびアセトアルデヒドの長期投与によるラット舌粘膜上皮の変化に関する病理組織学的研究. *日口外誌*, 46 : 317 ~ 329 , 2000 .
- 9) Harada S, Zhang S: New strategy for detection of ALDH 2 mutant. *Alcoh Alcoh supp*, 1 A : 11 ~ 13 , 1993 .
- 10) Nomura T, Noma H, Shibahara T, Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T: Aldehyde dehydrogenase 2 and glutathione S-transferase M 1 polymorphisms in relation to the risk for oral cancer in Japanese drinkers. *Oral Oncol*, 36 : 42 ~ 46 , 2000 .
- 11) Higuchi S, Mutsushita S, Nurayama M, Takagi S, Hayashida M: Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and the risk for alcoholism. *Amer Psyc Assoc*, 152 : 1219 ~ 1221 , 1995 .
- 12) Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T, Yokoyama T, Okuyama K, Takahashi H, Hasegawa Y, Higuchi S, Murayama K, Shirakura K, Ishii H: Alcohol-related cancers and aldehyde dehydrogenase 2 in Japanese alcoholics. *Carcinoge*, 19 : 1383 ~ 1387 , 1998 .
- 13) Oude OMB, van Leishout EMM, Roelofs HMJ, Peters WHM, Manni JJ. Glutathione S-transferase M 1 and T 1 and cytochrome P4501A1 polymorphisms in relation to the risk benign and malignant head and neck lesions. *Cancer*, 82 : 936 ~ 943 , 1998 .
- 14) Ristow H, Obe G: Acetaldehyde induce cross-link in DNA and causes sister-cromatid exchanges in human cells. *Mut Resear*, 58 : 213 ~ 231 , 1986 .
- 15) Woutersen RA, Appelman LM, van Garderen-Hoetmer A, Feron VJ: Inharation toxicity of acetaldehyde in rats. *Toxic*, 41 : 213 ~ 231 , 1986 .
- 16) Dikshit RP, Kanhere S: Tobacco habits and risk of lung, oropharyngeal and oral cavity cancer: a population based case control study in Bhopal, India. *Int J Epidemiol*, 29 : 609 ~ 614 , 2000 .