

表 題 ALDH2 遺伝子多型が HLA 一致非血縁ドナーからの同種骨髄  
移植の予後に与える影響

論 文 の 区 分 博士課程（甲種）

著 者 名 鵜飼 知嵩

担当指導教員氏名 教授 神田 善伸

所 属 自治医科大学大学院医学研究科  
地域医療学系専攻 総合医学専攻分野 内科系総合医学専攻科

2018年1月10日申請の学位論文

## 目次

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 1. はじめに .....                  | 1  |
| 2. 対象と方法 .....                 | 3  |
| 2.1 対象.....                    | 3  |
| 2.2 ALDH2遺伝子多型のGenotyping..... | 3  |
| 2.3 評価項目.....                  | 4  |
| 2.4 統計解析.....                  | 4  |
| 3. 結果 .....                    | 4  |
| 3.1 レシピエント、ドナー背景 .....         | 4  |
| 3.2 生存率 .....                  | 7  |
| 3.3 移植関連死亡（TRM） .....          | 9  |
| 3.3 再発率 .....                  | 12 |
| 3.4 その他の副次評価項目（生着、GVHD） .....  | 12 |
| 4. 考察 .....                    | 16 |
| 5. 終わりに .....                  | 19 |
| 6. 文献 .....                    | 20 |

## 1. はじめに

2型アルデヒド脱水素酵素 (aldehyde dehydrogenase 2 : ALDH2) は、アルコール (エタノール) の代謝で生じるアセトアルデヒドを酸化する酵素として広く知られている。このALDH2は、12番染色体長腕 (12q24.2) に機能的な遺伝子多型(rs671)を持つことが知られており、コドン504のアミノ酸がGluからLysに置換されることにより、ALDH2の酵素活性に大きな違いが現れる。Lysアリルはドミナントネガティブな効果を示すため、Glu/Lys型であってもALDH2の酵素活性はGlu/Glu型の半分以下 (6-8%) まで低下し、Lys/Lys型ではほぼALDH2の酵素活性が欠損する<sup>1</sup>。このALDH2遺伝子多型は、特にアジア人においてその不活性型アリル頻度が高いことも知られている<sup>2</sup>。ALDH2の酵素活性が低く、飲酒後にアセトアルデヒドが体内に蓄積すると、顔面紅潮や動機、嘔気、眠気、頭痛といった「フラッシング反応」を起こしやすくなるため、酒に強いかわ弱いかはALDH2の遺伝子多型に大きく依存する<sup>3</sup>。近年ALDH2遺伝子多型は、単に酒に強いかわ弱いかだけでなく、様々な疾患の発生や薬物の代謝と関連することが明らかになってきている<sup>4</sup>。

ALDH2遺伝子多型の研究が、メカニズムの解明に有用であった代表例として、飲酒とALDH2遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用の研究がある。具体的には、頭頸部がんや食道がんなどの飲酒関連がんにおいて、飲酒のがんリスクへの影響がALDH2の遺伝子多型によって全く異なることが、複数の研究グループから報告されており、その背景メカニズムにアセトアルデヒドが関わることが示されてきた<sup>5, 6</sup>。WHOの下部機関である国際がん研究機関 (IARC) は、「アルコール飲料に関連したアセトアルデヒド」をGroup 1 (ヒトに対する発癌性が認められる) と位置付けているが、こうした評価が下された背景には本邦の疫学研究が大きく寄与している。

一方、このALDH2遺伝子多型は飲酒に関わるアルデヒドによる発がんに関与しているだけでなく、薬物代謝や造血幹細胞におけるゲノム損傷にも関与していることが明らかになってきた<sup>7-9</sup>。その一例がファンコニ貧血の重症化とALDH2遺伝子多型の関連である。ファンコニ貧血は遺伝性疾患で、再生不良性

貧血、白血病、がん、奇形などの症状を伴う小児の難病であるが、近年、日本人のファンconi貧血患者において*ALDH2*遺伝子多型がその重症化や白血病の発症率に関連しているとの知見が得られた<sup>10, 11</sup>。その生物学的な背景として、*ALDH2*遺伝子多型によるALDH2酵素活性欠損の有無が造血幹細胞における内因性アルデヒドによるゲノム損傷に影響を及ぼし、最終的に骨髓不全等の造血不全の進行に関与することが考えられている<sup>12, 13</sup>。

このような背景から、*ALDH2*遺伝子多型が造血幹細胞移植の成績に関与する可能性が想定された。本研究では、ドナーとレシピエントの*ALDH2*遺伝子多型がHLA完全一致非血縁ドナーからの骨髓移植の成績に与える影響を検討した。

## 2. 対象と方法

### 2.1 対象

本研究は非血縁骨髄移植を実施された患者における後向きコホート研究である。対象は日本骨髄バンク（JMDP）に登録され、以下の適格基準を満たしHLA完全一致非血縁同胞から同種骨髄移植を施行したレシピエントとドナー、409ペアであり、この409ペアに対して*ALDH2*遺伝子多型のgenotypingを行った。

適格基準は以下の通り。

- (1) 1993年1月から2005年12月の間にHLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1抗原一致非血縁同胞から骨髄移植を施行
- (2) GVHD予防に抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンを使用していない
- (3) 初回の造血幹細胞移植
- (4) 日本人
- (5) 移植後7日以上生存

409ペアのうち、5例のレシピエントは*ALDH2*遺伝子多型のgenotypingができなかったため、解析から除外した。最終フォローアップ日は2012年9月であった。

本研究の全ての参加者（レシピエント、ドナー）はヘルシンキ宣言の精神に則り、書面で本研究参加についてのインフォームドコンセントを得ている。また、本研究は日本骨髄バンクならびに愛知県がんセンターにおいての倫理委員会で承認を受けた。

### 2.2 *ALDH2*遺伝子多型のGenotyping

各対象のDNAをFlexiGene DNA kit (Qiagen, Tokyo, Japan)を用いて、パプーコート（Papacyte）の白血球から抽出し、*ALDH2*遺伝子多型(rs671)をTaqMan法により測定した。Genotypingの質を評価する目的で、Hardy-Weinberg平衡を満たしているか確認した上、ランダムに5%をretypeして、問題がないことを確認した。

## 2.3 評価項目

主要評価項目は、全生存、再発、移植関連死亡（transplant-related mortality：TRM）とし、副次的評価項目としては、血球系別（好中球、赤血球ならびに血小板）の生着の有無、急性GVHD、慢性GVHDの有無とした。TRMは寛解時のあらゆる原因による死亡と定義した。好中球、赤血球、血小板生着日は、それぞれ好中球500/ $\mu$ L、網状赤血球10%、血小板5万/ $\mu$ L以上を3日間連続して超えた場合、その第1日目と判断した。

## 2.4 統計解析

レシピエントおよびドナーのALDH2遺伝子多型間の背景因子の比較は $\chi^2$ 検定を用いて行った。生存率はカプランマイヤー法<sup>14</sup>を用いて推定し、各グループ間の比較はログランク法を用いて評価した。遺伝子多型の評価項目に対する影響の評価は、単変量解析として生存率についてはカプランマイヤー法、その他の評価項目については累積リスク法を用いて検討を行った。さらに多変量解析として、生存率についてはコックス比例ハザードモデル<sup>15</sup>、その他の評価項目については競合リスク回帰分析<sup>16</sup>により、交絡要因を調整した上で評価を行った。交絡要因は以下の因子（移植時年齢、レシピエントとドナーのsex mismatch、疾患、疾患リスク、GVHD予防、移植前処置、移植年、ABO血液型適合度、骨髓中全有核細胞数）のうち、各評価項目についての単変量解析で $P \leq 0.05$ であったものを多変量解析のモデルに投入した。再発の競合イベントはTRM、TRMの競合イベントは再発とした。同様に、生着の競合イベントは生着前死亡、GVHDの競合イベントは、GVHDを発症していない死亡とした。主要評価項目については、ボンフェローニ補正を行い、 $0.05/3=0.017$ を有意水準とした。

## 3. 結果

### 3.1 レシピエント、ドナー背景

レシピエント、ドナー背景を表1に示す。背景は、ドナー、レシピエントともに、ALDH2遺伝子多型毎に統計学的に有意な差は認められなかった。

表 1 レシピエント背景

|  | レシピエント ALDH2 遺伝子多型 |                 |                 |                | P     |
|--|--------------------|-----------------|-----------------|----------------|-------|
|  | 合計 (N=404)         | Glu/Glu (N=223) | Glu/Lys (N=153) | Lys/Lys (N=28) |       |
| 移植時年齢(中央値、範囲)                                  | 35 (20-70)         |                 |                 |                |       |
| <50 才  | 323                | 174             | 128             | 21             | 0.324 |
| ≥50 才  | 81                 | 49              | 25              | 7              |       |
| 性別   |                    |                 |                 |                |       |
| 男性   | 252                | 133             | 99              | 19             | 0.494 |
| 女性   | 153                | 90              | 54              | 9              |       |
| ドナー、レシピエントの性別                                  |                    |                 |                 |                |       |
| 性別一致   | 281                | 162             | 102             | 17             | 0.109 |
| ドナー女性/レシピエント男性                                 | 53                 | 18              | 29              | 6              |       |
| ドナー男性/レシピエント女性                                 | 70                 | 43              | 22              | 5              |       |
| 診断   |                    |                 |                 |                |       |
| 急性骨髄性白血病                                       | 126                | 72              | 47              | 7              | 0.715 |
| 急性リンパ性白血病                                      | 84                 | 44              | 34              | 6              |       |
| 慢性骨髄性白血病                                       | 63                 | 39              | 22              | 2              |       |
| 骨髄異形成症候群                                       | 60                 | 24              | 17              | 9              |       |
| 悪性リンパ腫   | 52                 | 32              | 17              | 3              |       |
| その他  | 19                 | 12              | 6               | 1              |       |
| 疾患リスク  |                    |                 |                 |                |       |
| 標準リスク  | 230                | 127             | 88              | 15             | 0.928 |
| 高リスク   | 174                | 96              | 65              | 13             |       |
| ABO血液型適合度                                      |                    |                 |                 |                |       |
| 適合   | 260                | 143             | 103             | 14             | 0.881 |
| 主不適合   | 67                 | 40              | 20              | 7              |       |
| 副不適合   | 65                 | 33              | 25              | 7              |       |
| 双方向不適合   | 8                  | 5               | 3               | 0              |       |
| 欠損   | 4                  | 2               | 2               | 0              |       |
| 移植前処置  |                    |                 |                 |                |       |
| 骨髄破壊的  | 342                | 186             | 132             | 24             | 0.741 |
| 非骨髄破壊的   | 62                 | 37              | 21              | 4              |       |
| GVHD予防   |                    |                 |                 |                |       |
| シクロスポリン  | 246                | 134             | 96              | 16             | 0.801 |
| タクロリムス   | 158                | 89              | 57              | 12             |       |
| 骨髄中全有核細胞数<br>× 10 <sup>8</sup> per kg (中央値、範囲) | 3.1 (0.1-29.6)     |                 |                 |                |       |
| < 2.0  | 43                 | 22              | 19              | 2              | 0.275 |
| 2.0-2.5  | 63                 | 35              | 21              | 7              |       |
| 2.5-3.0  | 82                 | 40              | 33              | 9              |       |
| ≥3.0   | 181                | 102             | 71              | 8              |       |
| 欠損   | 35                 | 24              | 9               | 2              |       |
| 移植年  |                    |                 |                 |                |       |
| 1993-1999                                      | 108                | 49              | 49              | 10             | 0.052 |
| 2000-2005                                      | 296                | 174             | 104             | 18             |       |

表 2. ドナー背景

|   | ドナー ALDH2 遺伝子多型 |                 |                 |                | P     |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-------|
|   | 合計 (N=409)      | Glu/Glu (N=213) | Glu/Lys (N=159) | Lys/Lys (N=37) |       |
| 移植時年齢(中央値、範囲)                                 | 35 (1-70)       |                 |                 |                |       |
| <50 才   | 328             | 175             | 128             | 25             | 0.120 |
| ≥50 才   | 81              | 38              | 31              | 12             |       |
| 性別  |                 |                 |                 |                |       |
| 男性  | 254             | 127             | 105             | 22             | 0.425 |
| 女性  | 155             | 86              | 54              | 15             |       |
| ドナー、レシピエントの性別                                 |                 |                 |                 |                |       |
| 性別一致  | 285             | 143             | 117             | 25             | 0.441 |
| ドナー女性/レシピエント男性                                | 53              | 28              | 19              | 6              |       |
| ドナー男性/レシピエント女性                                | 71              | 42              | 23              | 6              |       |
| 診断  |                 |                 |                 |                |       |
| 急性骨髄性白血病                                      | 127             | 66              | 49              | 12             | 0.977 |
| 急性リンパ性白血病                                     | 84              | 39              | 36              | 9              |       |
| 慢性骨髄性白血病                                      | 66              | 38              | 27              | 1              |       |
| 骨髄異形成症候群                                      | 60              | 36              | 16              | 8              |       |
| 悪性リンパ腫  | 52              | 25              | 22              | 5              |       |
| その他   | 20              | 9               | 9               | 2              |       |
| 疾患リスク   |                 |                 |                 |                |       |
| 標準リスク   | 234             | 125             | 92              | 17             | 0.345 |
| 高リスク  | 175             | 88              | 67              | 20             |       |
| ABO血液型マッチ                                     |                 |                 |                 |                |       |
| マッチ   | 263             | 135             | 105             | 23             | 0.866 |
| 主不適合  | 68              | 38              | 25              | 5              |       |
| 副不適合  | 66              | 34              | 23              | 9              |       |
| 双方向不適合  | 8               | 4               | 4               | 0              |       |
| 不明  | 4               | 2               | 2               | 0              |       |
| 移植前処置   |                 |                 |                 |                |       |
| 骨髄破壊的   | 346             | 179             | 135             | 32             | 0.921 |
| 非骨髄破壊的  | 63              | 34              | 24              | 5              |       |
| GVHD予防  |                 |                 |                 |                |       |
| シクロスポリン                                       | 251             | 127             | 96              | 28             | 0.172 |
| タクロリムス  | 158             | 86              | 63              | 9              |       |
| 骨髄全有核細胞数<br>× 10 <sup>8</sup> per kg (中央値、範囲) | 3.2 (0.1-29.6)  |                 |                 |                |       |
| < 2.0   | 43              | 23              | 16              | 4              | 0.257 |
| 2.0-2.5                                       | 63              | 30              | 23              | 10             |       |
| 2.5-3.0                                       | 83              | 51              | 26              | 6              |       |
| ≥3.0  | 185             | 96              | 76              | 13             |       |
| 不明  | 35              | 13              | 18              | 4              |       |
| 移植年   |                 |                 |                 |                |       |
| 1993-1999                                     | 113             | 60              | 47              | 6              | 0.255 |
| 2000-2005                                     | 296             | 153             | 112             | 31             |       |



### 3.2 生存率

レシピエントの*ALDH2*遺伝子多型ごとの Kaplan-Meier 生存率曲線を図 1 に示す。*ALDH2*の酵素活性非欠損アレルのホモ型 (Glu/Glu型) の5年生存率は48% (95% 信頼区間、41%–54%) に対し、Glu/Lys型は48% (40%–56%)、*ALDH2*酵素活性欠損アレルのホモ型 (Lys/Lys型) は39% (21%–56%) であり、3群間に統計学的に有意な違いは見られなかった ( $P = 0.631$ )。次にドナーの*ALDH2*遺伝子多型毎の Kaplan-Meier 生存率曲線を図 2 に示す。Glu/Glu型の5年生存率は48% (44%–52%) に対し、Glu/Lys型は44% (34%–52%)、*ALDH2*酵素活性欠損アレルのホモ型 (Lys/Lys型) は58% (40%–72%) であり、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型の3群間においても、統計学的に有意な違いは見られなかった ( $P = 0.631$ )。次に単変量および多変量解析の結果を表3に示す。単変量解析、多変量解析の結果でも、レシピエントならびにドナー*ALDH2*遺伝子多型と生存率の間に統計学的に有意な関連は認められなかった。

図1 レシピエント*ALDH2*遺伝子多型ごとの生存率

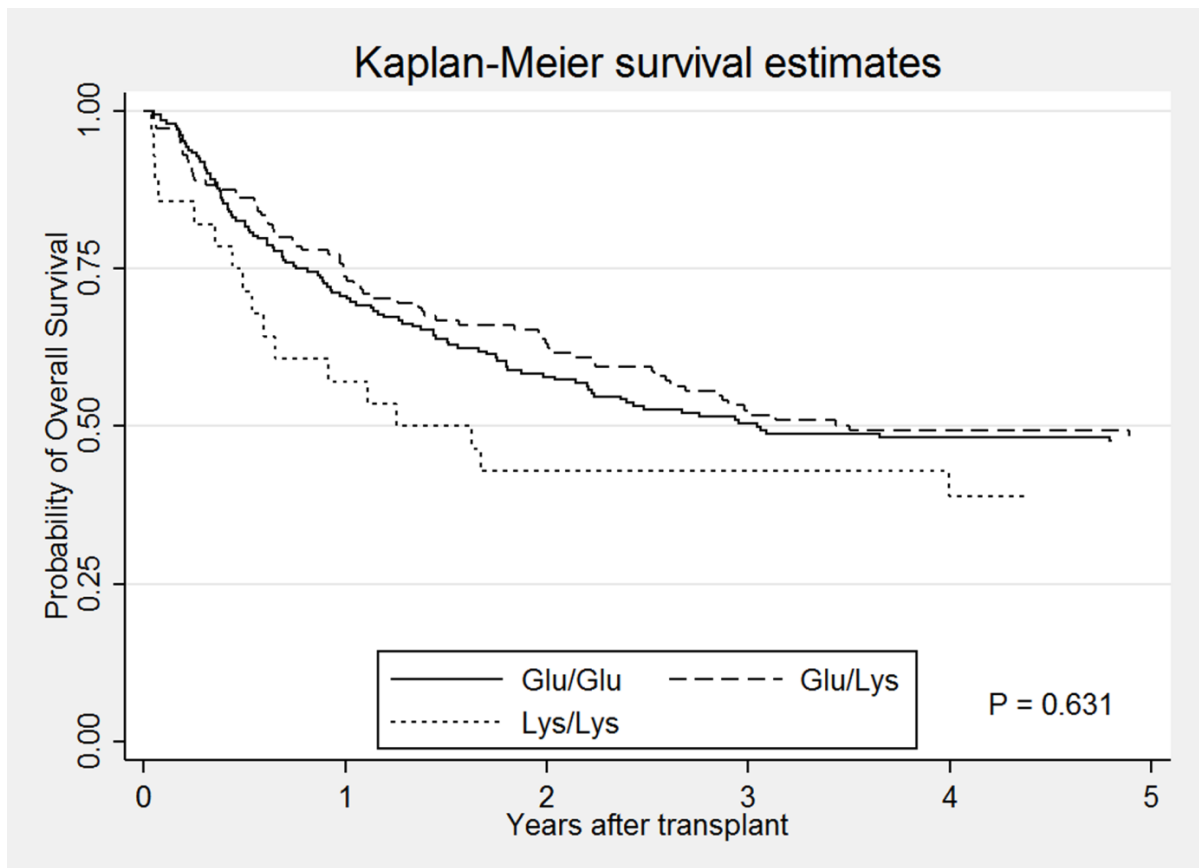


図2 ドナー*ALDH2*遺伝子多型ごとの生存率

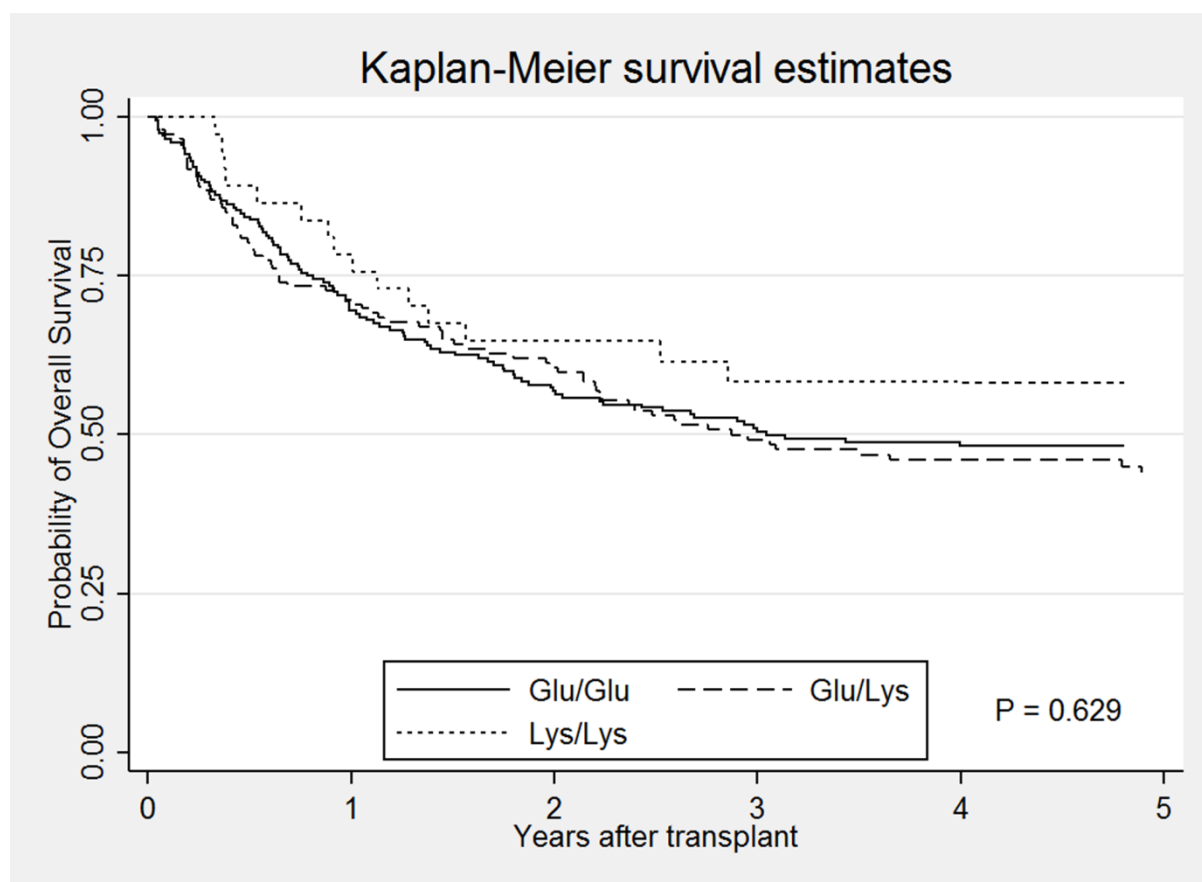


表3 レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と生存率

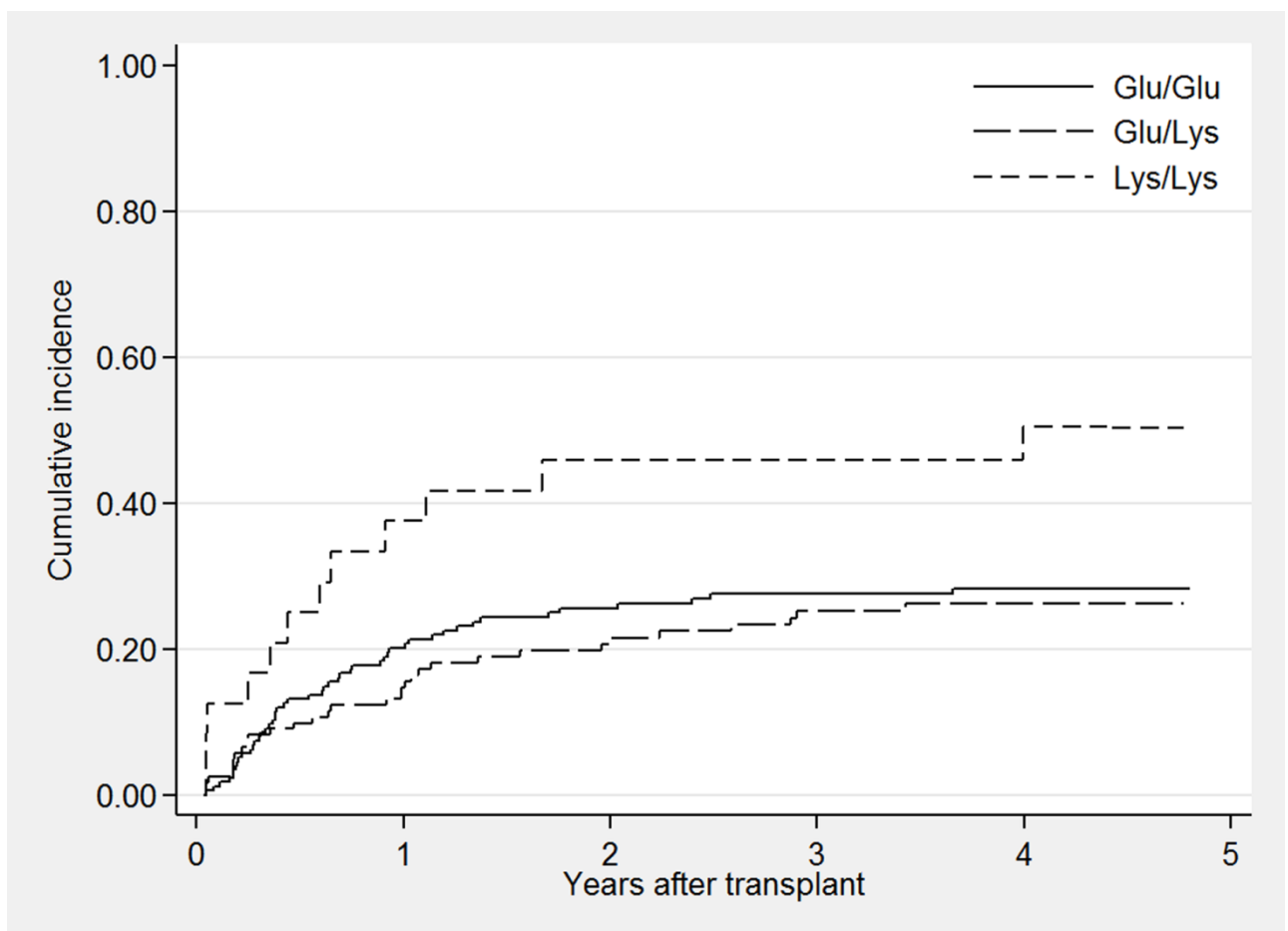
|            | レシピエント <i>ALDH2</i> 遺伝子多型 |                    |                           |                           |
|------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|
|            | 合計<br>(N=404)             | Glu/Glu<br>(N=223) | Glu/Lys<br>(N=153)        | Lys/Lys<br>(N=28)         |
| HR(単変量解析)  |                           | 1 (ref)            | 0.98 (0.74-1.30, p=0.887) | 1.26 (0.76-1.20, p=0.375) |
| HR(多変量解析)* |                           | 1 (ref)            | 0.98 (0.73-1.32, p=0.914) | 1.26 (0.74-2.14, p=0.395) |
|            | ドナー <i>ALDH2</i> 遺伝子多型    |                    |                           |                           |
|            | 合計<br>(N=409)             | Glu/Glu<br>(N=213) | Glu/Lys<br>(N=159)        | Lys/Lys<br>(N=37)         |
| HR(単変量解析)  |                           | 1 (ref)            | 1.07 (0.80-1.42, p=0.664) | 0.83 (0.51-1.37, p=0.469) |
| HR(多変量解析)* |                           | 1 (ref)            | 1.10 (0.82-1.47, p=0.518) | 0.67 (0.40-1.11, p=0.118) |

\*移植時年齢、疾患、疾患リスク、移植前処置を交絡因子として調整した

### 3.3 移植関連死亡 (TRM)

レシピエントのALDH2酵素活性非欠損アレルのホモ型 (Glu/Glu型) のTRMの5年の累積発症率は28% (95% 信頼区間、22%–34%) に対し、Glu/Lys型は26% (19%–34%)、ALDH2酵素活性欠損アレルのホモ型 (Lys/Lys型) は50% (29%–68%)であり、Lys/Lys型のTRMの累積発生率は、Glu/Glu型と比較して高かった (図3)。

図3 レシピエントALDH2遺伝子多型ごとのTRMの累積発症率



多変量解析の結果、ALDH2 Lys/Lys型は統計学的に有意にTRMの上昇と関連しており、Glu/Glu型に対するHRは2.45 (95% 信頼区間、1.22–4.90、 $P = 0.012$ )であった。一方、ドナーのALDH2遺伝子多型とTRMの間に有意な関連は認められなかった (表4)。

表4 レシピエント、ドナーのALDH2遺伝子多型とTRM

|            | レシピエント ALDH2 遺伝子多型 |                    |                           |                           |
|------------|--------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|
|            | 合計<br>(N=404)      | Glu/Glu<br>(N=223) | Glu/Lys<br>(N=153)        | Lys/Lys<br>(N=28)         |
| HR(単変量解析)  |                    | 1 (ref)            | 0.91 (0.61-1.40, p=0.681) | 1.90 (0.98-3.68, p=0.056) |
| HR(多変量解析)* |                    | 1 (ref)            | 0.97 (0.62-1.51, p=0.883) | 2.45 (1.22-4.90, p=0.012) |
|            | ドナーALDH2 遺伝子多型     |                    |                           |                           |
|            | 合計<br>(N=409)      | Glu/Glu<br>(N=213) | Glu/Lys<br>(N=159)        | Lys/Lys<br>(N=37)         |
| HR(単変量解析)  |                    | 1 (ref)            | 0.79 (0.51-1.22, p=0.285) | 0.76 (0.39-1.48, p=0.416) |
| HR(多変量解析)* |                    | 1 (ref)            | 0.77 (0.49-1.20, p=0.251) | 0.68 (0.35-1.33, p=0.260) |

\*移植時年齢、疾患、疾患リスクを交絡因子として調整した

さらに前処置におけるTBIの有無でGlu/Glu型に対するLys/Lys型のTRMのHRが異なるか検定した（表5）。TBIを含む前処置を受けた群では、Glu/Glu型に対するLys/Lys型のTRMのHRは3.60（95% 信頼区間、1.42–9.15、 $P = 0.007$ ）であったのに対し、TBIを含まない前処置を受けた群では、Glu/Glu型に対するLys/Lys型のTRMのHRは1.21（95% 信頼区間、0.37–3.90、 $P = 0.751$ ）であり、全身放射線照射（total body irradiation：TBI）を含まない前処置を受けた群と比較して、TBIを含む前処置を受けた群の方が統計学的に有意にLys/Lys型のTRMが高いこと判明した（ $P$  for heterogeneity=0.041）。

表5 レシピエントのALDH2遺伝子多型とTRM（前処置による層別化解析）

|                    | レシピエント ALDH2 遺伝子多型 |         |                              |                              | $P$ for heterogeneity |
|--------------------|--------------------|---------|------------------------------|------------------------------|-----------------------|
|                    | 合計                 | Glu/Glu | Glu/Lys                      | Lys/Lys                      |                       |
| <b>TBIを含む前処置</b>   | (N=311)            | (N=171) | (N=122)                      | (N=18)                       | 0.041                 |
| HR(多変量解析)*         |                    | 1 (ref) | 1.36<br>(0.81-2.29, p=0.240) | 3.60<br>(1.42-9.15, p=0.007) |                       |
| <b>TBIを含まない前処置</b> | (N=93)             | (N=52)  | (N=31)                       | (N=10)                       |                       |
| HR(多変量解析)*         |                    | 1 (ref) | 0.29<br>(0.10-0.90, p=0.031) | 1.21<br>(0.37-3.90, p=0.751) |                       |

\*移植時年齢、疾患、疾患リスクを交絡因子として調整した

レシピエント*ALDH2*遺伝子多型ごとのTRMの原因を表6に示す。*ALDH2* Glu/Glu型に対してTRM のリスクが統計学的に有意に上昇していたLys/Lys型のTRMの原因は臓器不全の割合が多く（33%）、臓器不全の内訳は心不全、呼吸不全、肝不全、多臓器不全が1例ずつであった。

表6 レシピエント*ALDH2*遺伝子多型毎のTRMの原因

| 死因     | レシピエント <i>ALDH2</i> 遺伝子多型 |      |                |      |                |      |
|--------|---------------------------|------|----------------|------|----------------|------|
|        | Glu/Glu (N=52)            |      | Glu/Lys (N=37) |      | Lys/Lys (N=12) |      |
|        | No.                       | (%)  | No.            | (%)  | No.            | (%)  |
| 生着不全   | 1                         | 1.9  | 0              | 0    | 0              | 0    |
| 感染症    | 9                         | 17.3 | 7              | 18.9 | 2              | 16.7 |
| 間質性肺炎  | 8                         | 15.4 | 5              | 13.5 | 2              | 16.7 |
| ARDS   | 1                         | 1.9  | 0              | 0    | 0              | 0    |
| 急性GVHD | 3                         | 5.8  | 4              | 10.8 | 0              | 0    |
| 慢性GVHD | 3                         | 5.8  | 2              | 5.4  | 0              | 0    |
| 臓器不全   | 11                        | 21.2 | 7              | 18.9 | 4              | 33.3 |
| 心不全    | 2                         | 3.8  | 1              | 2.7  | 1              | 8.3  |
| 呼吸器不全  | 2                         | 3.8  | 2              | 5.4  | 1              | 8.3  |
| 肝不全    | 2                         | 3.8  | 2              | 5.4  | 1              | 8.3  |
| 腎不全    | 1                         | 1.9  | 0              | 0    | 0              | 0    |
| 多臓器不全  | 4                         | 7.7  | 2              | 5.4  | 1              | 8.3  |
| 2次がん   | 2                         | 3.8  | 1              | 2.7  | 0              | 0    |
| 出血     | 1                         | 1.9  | 1              | 2.7  | 1              | 8.3  |
| その他    | 3                         | 5.8  | 3              | 8.1  | 0              | 0    |
| 不明     | 10                        | 19.2 | 7              | 18.9 | 3              | 25.0 |
| 合計     | 52                        | 100  | 37             | 100  | 12             | 100  |

### 3.3 再発率

レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と再発率の関連について、単変量解析と多変量解析の結果を表7に示す。結果として、レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と再発の間に統計学的に有意な関連は認められなかった。

表7 レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と再発

|            | レシピエント <i>ALDH2</i> 遺伝子多型 |         |                           |                           |
|------------|---------------------------|---------|---------------------------|---------------------------|
|            | 合計                        | Glu/Glu | Glu/Lys                   | Lys/Lys                   |
|            | (N=404)                   | (N=223) | (N=153)                   | (N=28)                    |
| HR(単変量解析)  |                           | 1 (ref) | 1.12 (0.66-1.89, p=0.670) | 0.62 (0.20-1.95, p=0.416) |
| HR(多変量解析)* |                           | 1 (ref) | 1.46 (0.85-2.51, p=0.172) | 0.76 (0.24-2.39, p=0.638) |
|            | ドナー <i>ALDH2</i> 遺伝子多型    |         |                           |                           |
|            | 合計                        | Glu/Glu | Glu/Lys                   | Lys/Lys                   |
|            | (N=409)                   | (N=213) | (N=159)                   | (N=37)                    |
| HR(単変量解析)  |                           | 1 (ref) | 1.14 (0.67-1.97, p=0.614) | 0.80 (0.32-2.02, p=0.641) |
| HR(多変量解析)* |                           | 1 (ref) | 1.10 (0.63-1.90, p=0.739) | 0.74 (0.29-1.88, p=0.522) |

\*移植時年齢、ドナーとレシピエントのsex mismatch、疾患リスク、GVHD予防法、移植年を交絡因子として調整した

### 3.4 その他の副次評価項目（生着、GVHD）

レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型の関連についての単変量、多変量解析の結果を表8に示す。好中球生着、赤血球生着については、レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型との統計学的に有意な関連は認められなかった。一方、移植後day50の血小板生着の累積発生率は、レシピエント*ALDH2* Glu/Glu型は80% (95%CI、74–85%)なのに対し、Glu/Lys型は82% (75–87%)、Lys/Lys型は57% (37–73%) であり、Glu/Glu型に比べ、Lys/Lys型の移植後day50の血小板生着の累積発生率は低かった（図4）。多変量解析の結果、レシピエントの*ALDH2* Lys/Lys型は、Glu/Glu型に比して、血小板の生着が遅い傾向にあった。（表8、HR = 0.66, 95% CI = 0.43–1.03, P = 0.067）

表8 レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と生着

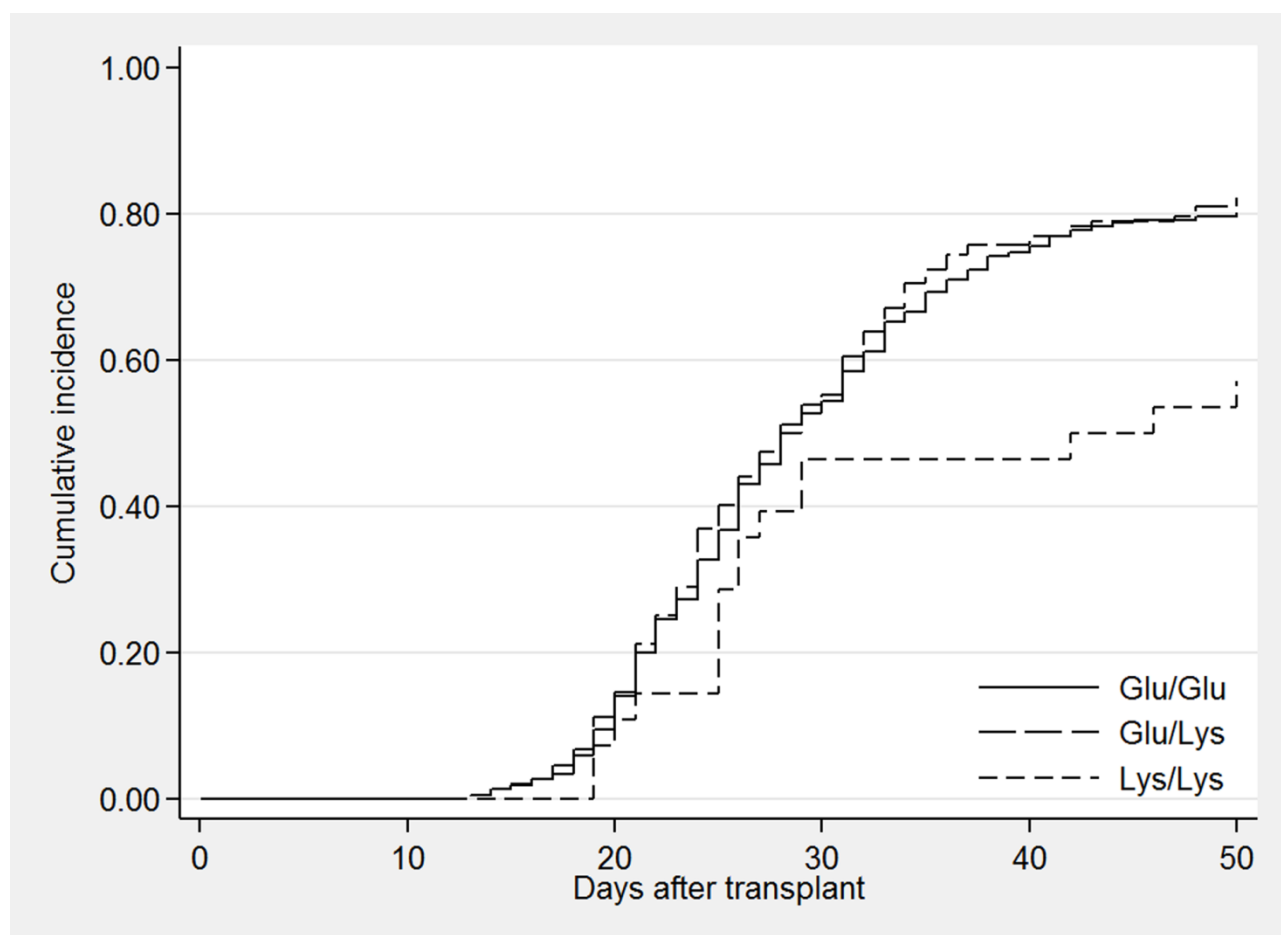
|                        | レシピエント <i>ALDH2</i> 遺伝子多型 |                    |                           |                           |
|------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|
|                        | 合計<br>(N=404)             | Glu/Glu<br>(N=223) | Glu/Lys<br>(N=153)        | Lys/Lys<br>(N=28)         |
| <b>好中球生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 1.10 (0.91-1.33, p=0.309) | 0.79 (0.50-1.25, p=0.315) |
| HR(多変量解析) <sup>1</sup> |                           | 1 (ref)            | 1.10 (0.91-1.32, p=0.341) | 0.81 (0.51-1.27, p=0.360) |
| <b>赤血球生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 1.08 (0.88-1.32, p=0.480) | 0.71 (0.44-1.13, p=0.150) |
| HR(多変量解析) <sup>2</sup> |                           | 1 (ref)            | 1.06 (0.86-1.30, p=0.609) | 0.70 (0.43-1.15, p=0.160) |
| <b>血小板生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 1.04 (0.84-1.28, p=0.736) | 0.63 (0.41-0.97, p=0.035) |
| HR(多変量解析) <sup>3</sup> |                           | 1 (ref)            | 1.00 (0.80-1.25, p=0.976) | 0.66 (0.43-1.03, p=0.067) |
|                        | ドナー <i>ALDH2</i> 遺伝子多型    |                    |                           |                           |
|                        | 合計<br>(N=409)             | Glu/Glu<br>(N=213) | Glu/Lys<br>(N=159)        | Lys/Lys<br>(N=37)         |
| <b>好中球生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 0.98 (0.80-1.19, p=0.821) | 1.02 (0.79-1.33, p=0.854) |
| HR(多変量解析) <sup>1</sup> |                           | 1 (ref)            | 0.95 (0.79-1.16, p=0.632) | 1.03 (0.78-1.37, p=0.837) |
| <b>赤血球生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 0.95 (0.77-1.16, p=0.590) | 1.05 (0.76-1.45, p=0.766) |
| HR(多変量解析) <sup>2</sup> |                           | 1 (ref)            | 1.05 (0.76-1.45, p=0.766) | 0.99 (0.71-1.38, p=0.961) |
| <b>血小板生着</b>           |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)              |                           | 1 (ref)            | 0.94 (0.76-1.17, p=0.604) | 0.92 (0.74-1.13, p=0.419) |
| HR(多変量解析) <sup>3</sup> |                           | 1 (ref)            | 0.92 (0.74-1.13, p=0.419) | 0.78 (0.55-1.12, p=0.175) |

1 移植時年齢、疾患リスク、ABO血液型マッチを交絡因子として調整した

2 ABO血液型マッチを交絡因子として調整した

3 移植時年齢、疾患、疾患リスク、ABO血液型マッチ、骨髓中全有核細胞数、移植年を交絡因子として調整した

図4 レシピエント*ALDH2*遺伝子多型ごとの血小板生着の累積発症率



最後に、レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と急性GVHD、慢性GVHDの関連についての単変量、多変量解析の結果を表9に示す。結果として、レシピエント、ドナーの*ALDH2*遺伝子多型とGradeII以上の急性GVHD、GradeIII以上の急性GVHD、慢性GVHDの間も統計学的に有意な関連は認められなかった。



表9 レシピエント、ドナーの *ALDH2* 遺伝子多型とGVHD

|                              | レシピエント <i>ALDH2</i> 遺伝子多型 |                    |                           |                           |
|------------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|
|                              | 合計<br>(N=404)             | Glu/Glu<br>(N=223) | Glu/Lys<br>(N=153)        | Lys/Lys<br>(N=28)         |
| <b>Grade II以上の急性GVHD</b>     |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 1.12 (0.78-1.61, p=0.533) | 0.97 (0.48-1.97, p=0.941) |
| HR(多変量解析) <sup>1</sup>       |                           | 1 (ref)            | 1.18 (0.82-1.69, p=0.377) | 1.15 (0.56-2.37, p=0.706) |
| <b>Grade III以上の急性GVHD</b>    |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 1.07 (0.58-1.96, p=0.832) | 0.88 (0.26-2.99, p=0.838) |
| HR(多変量解析) <sup>2</sup>       |                           | 1 (ref)            | 1.13 (0.62-2.08, p=0.690) | 1.10 (0.33-3.68, p=0.880) |
| <b>慢性GVHD</b>                |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 0.98 (0.69-1.38, p=0.886) | 0.82 (0.44-1.54, p=0.539) |
| HR(多変量解析) <sup>3</sup>       |                           | 1 (ref)            | 0.94 (0.66-1.33, p=0.730) | 0.88 (0.45-1.70, p=0.703) |
|                              | ドナー <i>ALDH2</i> 遺伝子多型    |                    |                           |                           |
|                              | 合計<br>(N=409)             | Glu/Glu<br>(N=213) | Glu/Lys<br>(N=159)        | Lys/Lys<br>(N=37)         |
| <b>Grade II to IV急性GVHD</b>  |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 1.08 (0.76-1.57, p=0.660) | 0.80 (0.43-1.51, p=0.492) |
| HR(多変量解析) <sup>1</sup>       |                           | 1 (ref)            | 1.06 (0.74-1.53, p=0.736) | 0.75 (0.40-1.43, p=0.385) |
| <b>Grade III to IV急性GVHD</b> |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 1.16 (0.64-2.11, p=0.629) | 0.63 (0.19-2.05, p=0.443) |
| HR(多変量解析) <sup>2</sup>       |                           | 1 (ref)            | 1.15 (0.63-2.10, p=0.648) | 0.76 (0.23-2.53, p=0.656) |
| <b>慢性GVHD</b>                |                           |                    |                           |                           |
| HR(単変量解析)                    |                           | 1 (ref)            | 0.83 (0.58-1.18, p=0.294) | 0.77 (0.43-1.37, p=0.379) |
| HR(多変量解析) <sup>3</sup>       |                           | 1 (ref)            | 0.85 (0.60-1.21, p=0.374) | 0.90 (0.49-1.64, p=0.723) |

1 疾患リスク、ABO血液型マッチ、GVHD予防法を交絡因子として調整した

2 ABO血液型マッチを交絡因子として調整した

3 移植時年齢、疾患、疾患リスクを交絡因子として調整した

#### 4. 考察

・ レシピエントALDH酵素活性欠損アリのホモ型 (Lys/Lys型) のTRMが高い理由について

今回の解析の結果、HLA一致非血縁骨髄移植において、*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントは、Glu/Glu型のレシピエントよりTRMが高いことが示された。さらに、前処置のTBIの有無でGlu/Glu型に対するLys/Lys型のTRMのHRが統計学的に有意に異なることが判明した。このことから、TBIがレシピエント*ALDH2* Lys/Lys型のTRMが上がる原因に影響を与えた可能性が示唆された。*ALDH2*は内因性および外因性アルデヒドの解毒酵素としての一面があり<sup>4</sup>、*ALDH2* Lys/Lys型は*ALDH2*の酵素活性が欠損しているため、アルデヒドによる臓器障害が発症した可能性が考えられる。

放射線等により酸化ストレスが起こると、4-hydroxy-2E-hexenal (4-HHE)やマロンジアルデヒドなどの内因性アルデヒドが上昇することが知られている<sup>17, 18</sup>。最近のマウスモデルの研究で、合成*ALDH2*活性化剤であるAlda-1を用いて*ALDH2*の酵素活性を高めると、これらの内因性のアルデヒドが分解され、放射線による皮膚障害が軽減されることが報告されている<sup>19</sup>。それ以外に、別の*ALDH*のアイソフォームである*ALDH1A1*、*ALDH3A1*の酵素活性が高いことが、紫外線後の角膜障害の軽減に重要であるというマウスモデルの報告もある<sup>9</sup>。これらの知見から、*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントはTBI後に発生するtoxicな内因性アルデヒドを分解できず、TRMが上昇した可能性が考えられた。

また、*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントのTRMが高かった理由として考えられる別のメカニズムとしては、*ALDH2*の薬物代謝酵素としての働きがある。*ALDH2*を始めとする*ALDH*はシクロフォスファミドやメルファランなどのアルキル化剤の代謝酵素として知られている<sup>8</sup>。これらのアルキル化剤は造血細胞移植の前処置としてよく用いられる薬剤である。*ALDH2*はシクロフォスファミドの代謝産物であるクロロアセトアルデヒドを分解する酵素であることが知られており<sup>20</sup>、*ALDH*酵素活性欠損アリのホモ型 (Lys/Lys型) では、移植前処置で用いられるアルキル化剤の代謝が低下し、クロロアセトアルデヒドなどの

toxicなアルデヒドが増加し、TRMの上昇につながった可能性が考えられる。大量メルファラン療法を前処置とした多発性骨髄腫の自家移植の症例において、*ALDH2*遺伝子多型が前処置の毒性や生存率と関連していたという報告があり<sup>21</sup>、この考察を裏付けるものである。また*ALDH1A*の遺伝子多型がシクロフォスファミドの抗がん剤の治療効果に影響を与えたという報告もあり<sup>22</sup>、*ALDH2*以外の*ALDH*の遺伝子多型が造血幹細胞移植の予後に与える影響も、今後の検討課題であると考えられた。

・ アセトアルデヒドが臓器障害を起こすメカニズムについて

前述の通り*ALDH2*はアセトアルデヒドだけでなく、内因性、外因性アルデヒドの代謝にも関っており、それらのアルデヒドが心筋や肝臓の細胞内に取り込まれて、細胞膜障害やプロテアソームの機能異常、ミトコンドリアの機能異常を起こして、細胞毒性を引き起こすと考えられている<sup>4</sup>。また、*ALDH2*は全身で発現しているが、特に心臓、肝臓、肺、腎臓などで発現量が多いことも知られている<sup>4, 23</sup>。本研究で、レシピエント*ALDH2* Lys/Lys型はGlu/Glu型と比べてTRMが統計学的に有意に多いことが判明したが、その中で頻度が高い原因は心不全、肝不全、腎不全、多臓器不全などの臓器不全であった。*ALDH2*の発現量の多い心臓、肝臓、腎臓などの臓器では、Lys/Lys型の*ALDH*酵素活性低下の影響が大きく、toxicなアルデヒドがこうした臓器の細胞内に多く取り込まれ、その細胞毒性によりTRMに発展した可能性が考えられた。

・ レシピエント*ALDH2* Lys/Lys型の血小板生着が遅い傾向であった理由について（ドナーの*ALDH2*遺伝子多型と生着の間には統計学的な関連は認めなかったことについて）

背景で述べた通り*ALDH2*の酵素活性が造血幹細胞のゲノム損傷に寄与しているという生物学的な背景からは、当初ドナーの*ALDH2*遺伝子多型が造血幹細胞移植後の生着に関与していると想定されたが、実際には関連は認めなかった。一方、レシピエントの*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントはGlu/Glu型のレシピエ

ントと比較して血小板生着が遅い傾向が認められた。

*Aldh2*<sup>+/+</sup>*Fancd2*<sup>+/+</sup>のFanconi貧血のモデルマウスは再生不良性貧血や白血病を発症する一方、*Aldh2*遺伝子を持っているマウス(*Aldh2*<sup>+/+</sup>*Fancd2*<sup>+/+</sup>)では発症しないことが報告されている<sup>12,13</sup>。また、京都大学の平らは、日本人のFanconi貧血患者において、*ALDH2*遺伝子のLysアレル保持者は、酵素活性の低下していないGlu/Glu型と比較して、骨髄不全やAMLの進展が急速に進行することを示し、前述のマウスモデルで観察された現象が、実際のヒトにおいてもapplicableであることを示している<sup>11</sup>。しかし、これらの一連の報告は、全て先天性貧血のFanconi貧血において観察された事象である。Fanconi貧血では*FANCD*遺伝子の異常によりDNA鎖間架橋を修復できず、*ALDH2*酵素活性低下により上昇したアセトアルデヒドによるDNA障害が造血幹細胞に蓄積して、発がんや骨髄不全に繋がると考えられている。一方、今回検討したドナーは*FACND*遺伝子の異常がないことが想定される健常人であり、*ALDH2*遺伝子多型単独では造血幹細胞のDNA障害に影響を来たさず、生着には影響を及ぼさなかった可能性が考えられた。

また、血小板生着がドナーではなくレシピエントの*ALDH2*遺伝子多型と関連していたという点から、造血幹細胞ニッチなどの支持組織の*ALDH2*の活性が生着に影響を与えた可能性もあるが、関連する研究は少なく今後の検討課題である。また別の可能性として、レシピエントの*ALDH2* Lys/Lys型による*ALDH2*酵素の欠損を生着後、ドナー由来の細胞の*ALDH2*が補完した可能性もあるが、実際に移植後に*ALDH2*の酵素活性を測定した報告はなく、評価は難しかった。また、今回の検討ではドナー、レシピエントのLys/Lys型の症例数が少なくドナー、レシピエントともに*ALDH2* Lys/Lys型の症例はさらに少数となり、層別化解析は困難であった。今後、メカニズムについて基礎的な検討が進むとともに、より大規模な前向き研究で今回の結果が再現され、さらに詳細な解析が追加されるのが望ましいと考えられた。

## 5. 終わりに

本研究では、HLA一致非血縁骨髄移植において、*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントは、Glu/Glu型のレシピエントよりTRMが高いことが示された。さらに、*ALDH2* Lys/Lys型のレシピエントはGlu/Glu型のレシピエントよりも、血小板生着が遅い傾向にあった。今回の結果から*ALDH2*遺伝子多型が、内因性および外因性のアルデヒドの代謝に影響し、移植成績に影響を与えた可能性が示唆された。本研究結果は今後さらに大規模な研究で再現されるとともに、そのメカニズムについて、基礎的な検討が進むことが期待される。

## 6. 文献

1. Crabb, D. W., H. J. Edenberg, W. F. Bosron, and T. K. Li. Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. The inactive ALDH2(2) allele is dominant. *J Clin Invest* 83:314-6.1989
2. Li, H., S. Borinskaya, K. Yoshimura, N. Kal'ina, A. Marusin, V. A. Stepanov, Z. Qin, S. Khaliq, M. Y. Lee, Y. Yang, A. Mohyuddin, D. Gurwitz, S. Q. Mehdi, E. Rogaev, L. Jin, N. K. Yankovsky, J. R. Kidd, and K. K. Kidd. Refined geographic distribution of the oriental ALDH2\*504Lys (nee 487Lys) variant. *Ann Hum Genet* 73:335-45.2009
3. Brooks, P. J., M. A. Enoch, D. Goldman, T. K. Li, and A. Yokoyama. The alcohol flushing response: an unrecognized risk factor for esophageal cancer from alcohol consumption. *PLoS Med* 6:e50.2009
4. Stewart, M. J., K. Malek, and D. W. Crabb. Distribution of messenger RNAs for aldehyde dehydrogenase 1, aldehyde dehydrogenase 2, and aldehyde dehydrogenase 5 in human tissues. *J Invest Med* 44:42-6.1996
5. Yokoyama, A., T. Muramatsu, T. Ohmori, S. Higuchi, M. Hayashida, and H. Ishii. Esophageal cancer and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes in Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5:99-102.1996
6. Oze, I., K. Matsuo, S. Hosono, H. Ito, T. Kawase, M. Watanabe, T. Suzuki, S. Hatooka, Y. Yatabe, Y. Hasegawa, M. Shinoda, K. Tajima, and H. Tanaka. Comparison between self-reported facial flushing after alcohol consumption and ALDH2 Glu504Lys polymorphism for risk of upper aerodigestive tract cancer in a Japanese population. *Cancer Sci* 101:1875-80.2010
7. Chen, C. H., J. C. Ferreira, E. R. Gross, and D. Mochly-Rosen. Targeting aldehyde dehydrogenase 2: new therapeutic opportunities. *Physiol Rev* 94:1-34.2014
8. Vasiliou, V., and A. Pappa. Polymorphisms of human aldehyde dehydrogenases. Consequences for drug metabolism and disease. *Pharmacology* 61:192-8.2000
9. Marchitti, S. A., C. Brocker, D. Stagos, and V. Vasiliou. Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 4:697-720.2008
10. Yabe, M., H. Yabe, T. Morimoto, A. Fukumura, K. Ohtsubo, T. Koike, K. Yoshida, S. Ogawa, E. Ito, Y. Okuno, H. Muramatsu, S. Kojima, K. Matsuo, A. Hira, and M. Takata. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. *Br J Haematol* 175:457-461.2016
11. Hira, A., H. Yabe, K. Yoshida, Y. Okuno, Y. Shiraishi, K. Chiba, H. Tanaka, S. Miyano, J. Nakamura, S. Kojima, S. Ogawa, K. Matsuo, M. Takata, and M. Yabe. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood* 122:3206-9.2013
12. Garaycochea, J. I., G. P. Crossan, F. Langevin, M. Daly, M. J. Arends, and K. J. Patel. Genotoxic consequences of endogenous aldehydes on mouse haematopoietic stem cell function. *Nature* 489:571-5.2012
13. Langevin, F., G. P. Crossan, I. V. Rosado, M. J. Arends, and K. J. Patel. Fancd2 counteracts the toxic effects of naturally produced aldehydes in mice. *Nature*

- 475:53-8.2011
14. Kaplan, E. L., and P. Meier. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association* 53:457-481.1958
  15. Cox, D. R. 1992. Regression models and life-tables, p. 527-541, Breakthroughs in statistics. Springer.
  16. Fine, J. P., and R. J. Gray. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *Journal of the American statistical association* 94:496-509.1999
  17. Aldini, G., P. Granata, M. Orioli, E. Santaniello, and M. Carini. Detoxification of 4-hydroxynonenal (HNE) in keratinocytes: characterization of conjugated metabolites by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 38:1160-8.2003
  18. Cui, L., D. Pierce, K. E. Light, R. B. Melchert, Q. Fu, K. S. Kumar, and M. Hauer-Jensen. Sublethal total body irradiation leads to early cerebellar damage and oxidative stress. *Curr Neurovasc Res* 7:125-35.2010
  19. Ning, S., G. R. Budas, E. N. Churchill, C. H. Chen, S. J. Knox, and D. Mochly-Rosen. Mitigation of radiation-induced dermatitis by activation of aldehyde dehydrogenase 2 using topical alda-1 in mice. *Radiat Res* 178:69-74.2012
  20. Farres, J., X. Wang, K. Takahashi, S. J. Cunningham, T. T. Wang, and H. Weiner. Effects of changing glutamate 487 to lysine in rat and human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. A model to study human (Oriental type) class 2 aldehyde dehydrogenase. *J Biol Chem* 269:13854-60.1994
  21. Dumontet, C., S. Landi, T. Reiman, T. Perry, A. Plesa, I. Bellini, R. Barale, L. M. Pilarski, J. Troncy, S. Tavitgian, and F. Gemignani. Genetic polymorphisms associated with outcome in multiple myeloma patients receiving high-dose melphalan. *Bone Marrow Transplant* 45:1316-24.2010
  22. Hassan, M., and B. S. Andersson. Role of pharmacogenetics in busulfan/cyclophosphamide conditioning therapy prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Pharmacogenomics* 14:75-87.2013
  23. Goedde, H. W., and D. P. Agarwal. Pharmacogenetics of aldehyde dehydrogenase (ALDH). *Pharmacol Ther* 45:345-71.1990