

氏 名	鵜飼 知 高
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第 558 号
学位授与年月日	平成 30 年 3 月 19 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	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 審 査 委 員	(委員長) 教 授 岩 本 禎 彦 (委 員) 教 授 室 井 一 男 教 授 大 森 司

論文内容の要旨

1 研究目的

日本を含む東アジアにおいて、アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) の酵素活性が著明に変化する遺伝子の多型性が存在する事が知られている。近年、この ALDH2 の遺伝子多型は飲酒に関わるアルデヒドによる発癌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。その一例がファンconi貧血の重症化と ALDH2 の遺伝子多型の関連である。ファンconi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。こ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、最終的に骨髄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。

このような生物学的背景から、*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る。本研究では、ドナーとレシピエント *ALDH2* の遺伝子多型と HLA 完全一致非血縁ドナーからの骨髄移植の成績との関連を検討することを目的とした。

2 研究方法

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、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 ペアである。

想定される曝露要因はドナー並びにレシピエントの *ALDH2* 遺伝子多型 (rs671)であり、この遺伝子多型は、愛知県がんセンターにおいて TaqMan 法により測定した。

プライマリーエンドポイントは、全生存、再発、移植関連死亡とし、セカンダリーエンドポイントとしては、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 とした。

遺伝子多型のエンドポイントに対する影響の評価は、競合リスク回帰分析、比例ハザードモデルにより、移植時のリスク要因などの交絡要因を調整した上で評価を行った。併せて単変量解析として Kaplan-Meier 法、累積リスク法を用いて検討を行った。

本研究の全ての参加者（レシピエント、ドナー）は、書面にて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。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ている。

3 研究成果

レシピエントの ALDH2 の酵素活性非欠損アレルのホモ型（Glu/Glu 型）に比して、レシピエントの ALDH 酵素活性欠損アレルのホモ型（Lys/Lys 型）は移植関連死亡（TRM）が統計学的に有意に多いことが判明した。（HR = 2.45, 95% CI = 1.22–4.90, P = 0.012）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ところ、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 TRM が高いことが判明した（P for heterogeneity=0.041）。Lys/Lys 型の TRM の原因は臓器不全の割合が多く、その内訳は心不全、呼吸不全、肝不全、多臓器不全であった。また、レシピエント Glu/Glu 型に比して、Lys/Lys 型は血小板の生着が遅い傾向になることも判明した。（HR = 0.66, 95% CI = 0.43–1.03, P = 0.067）一方、ドナーの ALDH2 の遺伝子多型は移植成績と統計学的に有意な関連は認めなかった。

4 考察

・レシピエント ALDH2 Lys/Lys 型の TRM が統計学的に有意に高い理由について
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ていることを示唆される。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、放射線による皮膚障害によって内因性のアルデヒドが上昇することが報告されている。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。

その他の考えられるメカニズムとして、ALDH2 の薬物代謝酵素としての働きがある。ALDH2 はシクロフォスファミドなどのアルキル化剤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、ALDH2 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
ALDH2 はアセトアルデヒドだけでなく、放射線等による酸化ストレスによって産生される 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の代謝に関っており、それらの内因性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。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。本研究で、レシピエント ALDH2 Lys/Lys 型は TRM が統計学的に有意に多いことが判明したが、その内訳は肝不全、心不全、腎不全、多臓器不全であった。ALDH2 の発現量の多い肝臓、腎臓、心臓などの臓器では、Lys/Lys 型の ALDH 酵素活性低下の影響が大きく、内因

性アルデヒドがこうした臓器の細胞内に多く取り込まれ、TRM に発展した可能性があると考えられた。

・ レシピエント *ALDH2*Lys/Lys 型の血小板生着が遅い傾向だった理由について

(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)

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、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ず、逆に 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。

Fanconi 貧血のマウスモデルでは *Aldh2*^{-/-}*Fancd2*^{-/-}マウスは再生不良性貧血を発症する一方、*Aldh2* を持っているマウス(*Aldh2*^{+/+}*Fancd2*^{-/-})では発症しないことが報告されている。さらに、日本人の Fanconi 貧血患者において、*ALDH2* 遺伝子の Lys アリル保持者は、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、マウスモデルで観察された現象が、実際にヒトにおいても applicable であることを示している。しかし、これらの一連の報告は、全て 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ルデヒドによる DNA 障害が造血幹細胞に蓄積すると考えられている。一方、今回検討したドナーは *FANCD* 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 障害に影響を来さない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り、こちらも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 Lys/Lys 型による *ALDH2* 酵素の欠損をドナーの *ALDH2* が補完した可能性もあるが、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、また実際に移植後に *ALDH2* の酵素活性を測定した報告もないため、検討は難しかった。

5 結論

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、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。

論文審査の結果の要旨

申請者は、ファンconi貧血においてアルデヒド脱水素酵素 (ALDH2) の機能喪失性バリエーション (Glu504Lys, rs671) が、その重症化や白血病発症に関連していることに着目し、非血縁者間同種骨髄移植において、移植成績、とりわけ造血不全と関連するのではないかと仮説を立て、日本骨髄バンク登録データを用いて後ろ向きコホート解析を行った。その結果、ドナーではなくレ

レシピエントの rs671 遺伝子型は移植関連死亡に関連すること、とりわけ移植前処置に全身放射線照射 (TBI) を受けたレシピエントで Lys/Lys 型の死亡率が高いことを明らかにした。さらに、その死亡原因として臓器不全の割合が高いことを明らかにし、その理由は TBI などによる酸化ストレスによって発生する内因性アルデヒドが臓器障害を引き起こすのではないかと考察した。

以上の結果は、ALDH2 遺伝子型が骨髄移植の予後に関連することを初めて明らかにしたものであり、TBI による臓器不全のリスク回避など、将来の骨髄移植に関わる precision medicine にとって重要な発見となった。従って、本研究内容は学位論文に相応しいものであると全員一致で判断した。

最終試験の結果の要旨

申請者は、研究の背景、目的、対象と方法、結果とその解釈を、第 1 次審査での審査委員からの疑問点に答えながら、明快に説明した。また、本研究は後ろ向きコホート研究であり、さらなるアジアとりわけ日本人での大規模な検証を要すること（欧米では ALDH2Lys アリルが低頻度であるため解析困難であり、他のアジア地域では骨髄移植の歴史が浅く症例が少ないため検証不可能である）、臨床に実装するためには実験的検証も必要であることなど、疫学解析の限界を自ら示し、今後の検討の必要性を紹介した。

発表後、審査委員からの質問に対しても明確に答え、ほとんど疑問点の残らない内容であった。また、申請者は在学中に、本申請に関わる主論文以外に 4 報の英語原著論文を publish し、3 報が in press としている。これらの内容も臨床疫学解析に基づくものであり、それぞれ興味深い内容であることも示された。

以上より、申請者の学識および研究能力は学位授与に充分値するものと審査委員全員一致で判断した。