

48 アルデヒド代謝酵素欠損によるゲノム損傷と造血不全	高田 穰
--------------------------------	------

【目的】我々は、造血幹細胞不全と MDS (Myelodysplasia) を発症した日本人若年の患者 6 例において、アセトアルデヒド分解酵素である *ALDH2* (ヘテロ) とフォルムアルデヒド分解酵素 *ADH5* (ホモ) の遺伝子欠損を同定した。我々が従来解析してきた同様の造血不全・MDS を発症するファンコニ貧血 (FA) は、*ALDH2* のバリエーション型 (Lys504 アレル) をホモで持つ場合著しく重症化するため、内因性アルデヒドによるゲノム損傷の修復不全と考えられる (Hira et al. Blood 2013)。一方、今回発見したこれらの患者は FA 遺伝子異常を持っておらず、細胞内代謝によって産生されるアルデヒド分解浄化機能の低下によるゲノム損傷蓄積 (修復可能なレベルを超えた蓄積) によって発症すると理解され、FA とは鏡像的な位置づけとなる可能性がある (表 1)。本研究の目的は、このアルデヒド分解酵素遺伝子欠損による小児遺伝性血液疾患の病態解析と、アルデヒド分解酵素群のゲノム維持における分子機構の解明にある。

【方法】同定した患者 2 名の初代繊維芽細胞から倫理委員会の承認を得て iPS 細胞化を行い、疾患 iPS 細胞を樹立し、*ADH5* 遺伝子で相補した。健常人 iPS 細胞からのゲノム編集による iPS ノックアウトも試みた。これらの細胞を用いて *in vitro* コロニー法によって造血系へ分化誘導を行った (京大 CiRA, 中畑研究室、斉藤准教授に指導を受けた)。リンパ球由来細胞株やがん細胞株を用いて、ゲノム編集による *ALDH2* および *ADH5* の遺伝子破壊を行いモデル系として解析した。

【結果】同定された 6 例の患者は *ALDH2*Lys504 アレルを必ず伴っており、本症は *ADH5* 単独欠損によるものではなく、複合型欠損症であることが示唆される。*ADH5* 単独変異による発症も完全には否定できないが、*ADH5* 単独で変異を持った個人は今まで発見できず、本疾患の発症メカニズムを確立するには、インビトロでの病態再現が必須である。そこで、患者由来 iPS 細胞をインビトロで造血系へと分化させたところ、*ADH5* の相補によって、コロニー形成能が著しく改善した。また、健常人由来 iPS 細胞から作成した *ADH5* と *ALDH2* の単独ノックアウトでは CD45 陽性細胞への分化に問題なく、*ALDH2*^{+/+}*ADH5*^{-/-} および *ALDH2*^{-/-}*ADH5*^{-/-} では低下が観察された。我々は、B 細胞株 BL2、大腸がん細胞株 HCT116、白血病細胞株 K562、ハプロイド細胞株 HAP1 等を用いて、*ALDH2*^{-/-}*ADH5*^{-/-} ダブルノックアウト細胞を作成した。いずれにおいても増殖の低下や細胞周期停止などは見られず、強いホルムアルデヒド感受性が認められた。HAP1 細胞において、姉妹染色分体交換 (SCE) を測定したところ、通常培養条件で野生型、*ADH5*^{-/-}、*ALDH2*^{-/-}*ADH5*^{-/-} を比較して SCE レベルの上昇はなく、0.5 μM のフォルムアルデヒド添加によって *ALDH2*^{-/-}*ADH5*^{-/-} において明確な SCE 上昇を認めた。正常人血液中のフォルムアルデヒド濃度が 50~100 μM と報告されていることを考えると、培養細胞ではほとんどフォルムアルデヒドの産生は起こっておらず、造血細胞への分化などの状況で初めて *ADH5* と *ALDH2* の要求性が生じると考えられる。これらの結果は、今回発見された患者の造血不全が *ALDH2* の Lys504 アレルとの複合によって発症していることをサポートしている。今後、*ADH5* と *ALDH2* をはじめとしたアルデヒド分解酵素群が、造血分化などの状況下で発生するアルデヒドを分解して造血幹細胞を維持する分子機構を明らかにしていきたい。

遺伝子型と表現型の関係

FA 遺伝子	<i>ALDH2</i>	<i>ADH5</i>	表現型
-/-			ファンコニ貧血 (FA)
-/-	AA		重症型 FA
	AA		健常 (エタノール不耐性)
		-/-	健常? (症例発見できず)
	AA	-/-	症例発見できず
	GA	-/-	BMF/MDS, 精神発達遅延
	AA	+/-	健常

空欄は遺伝子が野生型であることを示す。

G, Glu504 allele; A, Lys504 allele;

BMF, bone marrow failure; MDS, myelodysplasia