

京都大学	博士（医学）	氏名	牟安峰
論文題目	Analysis of disease model iPSCs derived from patients with a novel Fanconi anemia-like IBMFS <i>ADH5/ALDH2</i> deficiency (ファンコニ貧血類似の新規遺伝性骨髄不全症候群である <i>ADH5/ALDH2</i> 欠損症患者由来疾患モデル iPS 細胞の解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>遺伝性の再生不良性貧血は小児の重症難病で、白血病への進行も多く、その解明は医学・生命科学の重要な研究課題である。</p> <p>医薬基盤研究所の JCRB 細胞バンクに保管された一群の SCE (Sister Chromatid Exchange) 高値を示す小児再生不良性貧血症例サンプルのエクソーム解析を発端に、ホルムアルデヒド分解酵素 <i>ADH5</i> の両アレル変異を持つ 10 代の患者を 7 名見出した。臨床的に奇形はなく、低身長、精神発達遅延、再生不良性貧血、骨髄異型性症候群 (MDS)、白血病発症等を示し、造血幹細胞移植を必要とした。面白いことに、これらの症例は、全例アセトアルデヒド分解酵素 <i>ALDH2</i> のヘテロ変異 (E504K、A 型アレル) を伴っていた。この変異はドミナントネガティブ効果を示し、ヘテロ接合体において <i>ALDH2</i> の酵素活性は 20% 以下に低下しているとされる。<i>ALDH2</i> はアルコールからできるアセトアルデヒドを分解する酵素であり、その遺伝子は変異によってお酒が飲めない体質となる。<i>ALDH2</i> の変異自体は日本人の～50%が持っている。</p> <p>今回同定された <i>ADH5/ALDH2</i> 欠損症の患者は、臨床所見からは DNA 修復欠損症のファンコニ貧血類似の、新規の遺伝性骨髄不全症候群であるが、DNA 修復能は正常である。<i>ADH5</i> に加えて <i>ALDH2</i> もホルムアルデヒドを分解するため、体内のホルムアルデヒド分解ができなくなり、そのために DNA 損傷が蓄積し SCE として検出されたものと考えられた (Dingler, Wang, Mu et al. Mol Cell 2020)。</p> <p>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、これらの欠損症患者 2 名の初代線維芽細胞でリプログラミングを行い、iPS 細胞を樹立した。これらの細胞を <i>ADH5</i> 遺伝子で相補するため、CRISPR/CAS9 によるゲノム編集を用いて、safe harbor ローカスとされる <i>ROSA26</i> 遺伝子座にドキシサイクリン誘導プロモータにつないだ <i>ADH5</i> 発現プラスミドをノックインした。これらの細胞とインビトロ造血分化システムを用いて、コロニーアッセイを行った。<i>ADH5/ALDH2</i> 欠損 iPS 細胞からの造血コロニー数は著しく減少しており、<i>ADH5</i> の発現によって回復した。さらに、<i>ALDH2</i> 活性化剤 C1 の添加により、造血コロニー数が増加することが観察された。また、正常人由来 iPS 細胞である 201B7 株をゲノム編集し、<i>ADH5</i> と <i>ALDH2</i> のシングルとダブルのノックアウト細胞を樹立した。これらのモデル iPS 細胞を、モノレイヤー培養系で造血系へ分化させたところ、シングルノックアウトでは野生型とかわりなかったが、ダブルノックアウトでは <i>CD34</i> 陽性プロジェニター細胞において分化増殖のブロックを認め、結果として <i>CD45</i> 陽性の血球細胞への分化が明確に低下していた。</p> <p>したがって、作製したモデル iPS 細胞において <i>ADH5/ALDH2</i> 欠損症の病態が再現されたと考えられた。これらの結果は、造血分化の過程で内因性ホルムアルデヒドが産生され、<i>ADH5</i> と <i>ALDH2</i> が協調してその除去を行っていること、これらの防護機構の不全状態では造血幹細胞の障害が惹起されること等を示している。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>遺伝性の再生不良性貧血は、小児の重症難病で、白血病や固形がんの原因ともなり、その解明は医学・生命科学の重要な研究課題である。</p> <p>申請者らは、放射線生物研究センターの佐々木正夫名誉教授が在職中に収集した患者サンプルのゲノム解析を発端に、いままで見逃されていた新たな遺伝性再生不良性貧血症である「<i>ADH5/ALDH2</i> 欠損症」を発見した。<i>ALDH2</i> は飲酒時にアルコールからできるアセトアルデヒドを分解する酵素であり、その遺伝子は変異によってお酒が飲めない体質となる有名なものである。本疾患の患者たちは、<i>ALDH2</i> に加えてホルムアルデヒド分解酵素の <i>ADH5</i> が変異していた。</p> <p>今回の主論文において、申請者らはこの疾患の発症メカニズムについて、iPS細胞などのモデル系を作成して検討を加えている。その結果、<i>ALDH2</i> も実はホルムアルデヒドを分解する重要なバックアップ分子であることが判明した。また、作製した患者モデルiPS細胞を人為的にインビトロで造血分化誘導したところ、DNA損傷を蓄積して増殖を停止することから、ホルムアルデヒドが作られるのは造血分化プロセス自体であることが示唆された。また、新規に開発された<i>ALDH2</i>活性化剤を添加すると、添加に伴って血球系への増殖障害が回復することがわかった。</p> <p>以上の研究は、造血分化メカニズムの解明に貢献し、小児の重症難病の診断や治療などに寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 3年 3月 29日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降