

主論文の要旨

**Donor single nucleotide polymorphism in *ACAT1*
affects the incidence of graft-versus-host disease
after bone marrow transplantation**

〔 *ACAT1* 遺伝子多型と移植後慢性 GVHD 発症との
相関に関する解析 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 血液・腫瘍内科学分野

(指導：清井 仁 教授)

鴨下 園子

【緒言】

同種造血幹細胞移植は種々の血液疾患に対する有効な治療の一つであるが、移植片対宿主病 (GVHD) は早期死亡の原因となり、患者の QOL を損なう克服すべき合併症の一つである。急性 GVHD は主に患者の抗原刺激により、アロ反応性ドナーの細胞傷害性 T 細胞が患者組織を傷害することによって引き起こされる。GVHD の発症予測因子として、Human Leukocyte Antigen (HLA) 不適合が知られているが、HLA 一致移植では非 HLA 遺伝子多型が GVHD 発症率と相関することが知られている。Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase 1 (ACAT1) は、コレステロールからコレステロールエステルを合成する酵素で、白血球を含む様々な組織に発現している。ACAT1 はコレステロール合成を介して T 細胞におけるシグナル伝達制御等の機能調節を行い、T 細胞の活性化に関与する。一塩基多型 (SNP) rs11545566 は、ACAT1 遺伝子の 5'UTR に位置する。rs11545566 の A 型遺伝子を含む白血球の ACAT1 mRNA の発現レベルは、G 型よりも高いことが報告されている。本研究では同種造血幹細胞移植後の GVHD の発症率に対するドナーの ACAT1 rs11545566 遺伝子型の影響について検討した。

【対象及び方法】

対象は 1987 年から 2015 年にかけて名古屋大学医学部附属病院と名古屋第一赤十字病院で実施された HLA 一致同胞間骨髄移植のうち、GVHD 予防として短期メトトレキサートとシクロスポリンを用い、ドナーのゲノム DNA が利用可能で、臨床データが利用可能であった 116 例である。ACAT1 rs11545566 の遺伝子型の同定は、移植後患者の末梢血単核細胞から抽出されたドナーゲノム DNA を使用して、制限酵素断片多型を用いて同定を行った。本研究は名古屋大学と名古屋第一赤十字病院の倫理委員会の承認を得た。患者からは文章で同意を得た。

【結果】

ドナーのアリル頻度は、A アリル 52% (n=124)、B アリル 48% (n=108)、遺伝子型頻度は AA 型 31% (n=36)、AG 型 45% (n=52)、GG 型 24% (n=28) であった。急性 GVHD, grade II-IV の累積発症率は、AA 型 6% (n=2)、non-AA 型 (AG 型+GG 型) 18% (n=15) であった (P=0.062) (Figure 1)。急性 GVHD, grade II-IV の発症率は単変量解析では、患者の年齢が高いと有意に高く (P=0.011)、ドナーが non-AA 型では発症率が高い傾向を認め (P=0.082)、多変量解析では、患者年齢のみが発症率と相関し (P=0.011)、ドナーが non-AA 型では発症率が高い傾向を認めた (P=0.079)。移植後 100 日間以上生存した 110 例の評価可能な患者のうち、43 例が広範型慢性 GVHD を発症し、移植後 2 年の累積発症率は AA 型 7% (n=36)、AG 型 35% (n=49)、および GG 型 27% (n=25) であった (P=0.008) (Figure 2)。広範型慢性 GVHD の発症率は、単変量解析では、患者年齢が 35 歳以上 (P=0.026)、疾患リスクが高い (P=0.017)、急性 GVHD, grade II-IV (P=0.010)、ドナーが non-AA 遺伝子型 (P=0.023) が有意に高く、多変量解析では、疾患リスクが高い (P=0.014)、ドナーが non-AA 型

($P=0.021$) が有意に高いことを示した。ドナーの *ACAT1* rs11545566 の遺伝子型は生存率、非再発死亡率、再発率と相関を認めなかった。

【考察】

HLA 一致同胞間骨髄移植ではドナーの *ACAT1* SNP rs11545566 non-AA 型は、急性 GVHD, grade II-IV の発症率が高い傾向にあり、広範型慢性 GVHD の発症率が有意に高かった。*ACAT1* の活性を阻害することにより CD8 陽性 T 細胞の膜コレステロール量が増加し、T 細胞受容体 (TCR) のクラスターリングを介して免疫シナプスが形成されることによりサイトカイン産生され CD8 陽性 T 細胞が活性化することが示唆された。*ACAT1* の推定プロモーター領域は、exon1 の 648 bp または rs11545566 の上流にある。SNP rs11545566 による *ACAT1* 遺伝子の転写制御への影響は報告されていないが、rs11545566 遺伝子型と血漿 HDL-コレステロール値、冠動脈疾患の発症率の相関が報告されており、この遺伝子型は *ACAT1* の活性化に影響を与える。ドナーの rs11545566 遺伝子型と GVHD 発症率との関連については、non-AA 型は *ACAT1* 活性が低く細胞膜のコレステロールが増加することにより、ドナー由来の細胞傷害性 T 細胞の同種抗原に対する免疫応答の活性化が関与している可能性がある。GVHD 発症に対する T 細胞のコレステロール代謝の影響を明らかにするには、今後 *in vitro* および *in vivo* による実験が必要である。

慢性 GVHD の発症には T 細胞のみならず B 細胞も関与する。*ACAT1* 欠失マウスは野生型マウスと比較して、pro-B 細胞が有意に増殖し骨髄中 pre-B 細胞数が有意に高く、コレステロールの B 細胞の増加への関与が示唆される。*ACAT1* の B 細胞活性化への関与は明らかではないため、SNP rs11545566 と慢性 GVHD の発症率が T 細胞、B 細胞、またはその両方によって関連するか今後の検討が必要である。本研究は HLA 一致同胞骨髄移植での検討であり今後さらなる検討が必要である。

【結語】

本研究は、ドナー *ACAT1* SNP rs11545566 の non-AA 遺伝子型が、GVHD 予防として短期メトトレキサートとシクロスポリンを用いた HLA 一致同胞間骨髄移植における GVHD の発症率の増加への関与を明らかにした。