

アスリートバイオリジカル パスポートの判定解釈に関連する候補遺伝子 バリエーション

Candidate Genetic Variants with Potential Relevance to the Interpretation of the Athlete Biological Passport

大岩奈青*1, 鈴木秀典*2, 清水和弘*1, 中嶋耕平*1

キー・ワード：genetic variants, athlete biological passport, doping test
遺伝子バリエーション, アスリートバイオリジカルパスポート, ドーピング検査

【要旨】アスリートバイオリジカルパスポート(ABP)は、繰り返し血液・尿検体を分析しデータを蓄積することにより、競技者毎の生理的なマーカーの基準値(変動範囲)を設定し、禁止物質の使用を間接的に示す証拠(生理的な変化)を捉えるためのドーピング検査手法である。ABPを用いた間接検出法は、従来の禁止物質の直接検出法と補完しあい、ドーピングの検出や抑止に大きく貢献する一方で、新しい課題も注目されている。すなわち、対象とするアスリートのABPデータが個人内変動を逸脱する要因が、ドーピングと関係がないケース(偽陽性)、あるいは反対に、ドーピングを行っているにも関わらず、検出されないケース(偽陰性)をどのように排除していくか、という点については、新たな議論が生じている。このため本総説では、これら偽陽性、偽陰性の問題の一因として考えられる候補遺伝子バリエーションについて概説することを目的とした。

1. はじめに

1999年に世界アンチ・ドーピング機構(World Anti-Doping Agency; WADA)が設立されてから現在にいたる約20年間で、多様な化学的・生物学的特性を示す多数の禁止物質の検出に関するニーズに応えるべく、これら禁止薬物に関する、定性的・定量的分析技術が大きく発展した¹⁾。また、ドーピングの検査体制についても、WADA発足当時、競技大会の成績上位者を対象とした禁止薬物を直接検出するための検査が主体であったが、高度化するドーピング違反に対応するために、従来型の検査に加えて、生体指標の変化を経時的

に追跡することで薬物使用を見つけ出そうという、従来とは異なった視点にたった検査を重視する体制へとシフトしている²⁾。

その新しい検査手法として、2009年の世界アンチ・ドーピング規程(World Anti-Doping Code; WADC)の改定を契機に、「アスリートバイオリジカルパスポート(Athlete Biological Passport; ABP)」が導入され、2014年から本格的に運用されている²⁾。ABPとは、血液検体や尿検体から直接的に「禁止物質を検出」するものではなく、繰り返し血液検体や尿検体を分析することにより、競技者毎の生理的なマーカーの基準値が設定されるとともに、「間接的に禁止物質・禁止方法を使用した結果」として生じた生理的なマーカーの変化を判断する。具体的には、血液モジュール、ステロイドモジュール(尿/血液)、内分泌モジュールという3つのモジュールからなり、現在血液モジュール、ステロイドモジュールについては、ABP対象

*1 国立スポーツ科学センター

*2 日本医科大学

Corresponding author: 中嶋耕平 (kohei.nakajima@jpnpsport.g
o.jp)

ステロイドモジュール		
Conc.	Ratio	
・ Andosterone	・ T/E	
・ Etiocholanolone	・ A/T	
・ 5 α Adiol	・ A/Etio	
・ 5 β Adiol	・ 5 α Adiol/5 β Adiol	
・ Testosterone	・ 5 α Adiol/E	
・ Epitestosterone		

血液モジュール			
・ ABPS (Abnormal Blood Profile Score)			
・ HCT	・ OFFS	・ RBC	
・ HGB	・ PLT	・ RDW-SD	
・ IRF	・ RET# ・ RET%		
・ MCH	・ MCHC	・ MCV	・ WBC

図1 アスリートバイオリジカルパスポート (ABP) の各モジュールの測定項目

競技者の継続的な検体分析データを抽出し、ベイジアンアプローチに基づいた数理モデルが自動的に非定型報告 (Atypical Passport Finding ; ATPF) を検出している (図1)。ATPFとは、a) 主要マーカーの値が競技者の個人内変動の範囲外、b) 直近5つの検体採取における有効な主要マーカーからなる長期的なプロファイルが予想される範囲 (正常値) から逸脱、のいずれかの報告を指す。ATPFが生成された場合、Athlete Passport Management Unit (APMU) は当該パスポートをExpert Panelに付議する。Expert Panelは、APMUの依頼によりADAMS上で当該ATPFの評価を行い、ドーピングの可能性に関する科学的意見 (scientific opinion) を提供する。Expert PanelはAPMUとは独立した存在であり、WADAが承認する外部の専門家名簿に基づいて通常3名以上から構成されるパネルである。その後、ドーピング規則違反 (Anti-Doping Rule Violation ; ADRV) の有無に関する判断および必要に応じた聴聞 (Hearing) は、該当選手の結果管理権限を有するアンチ・ドーピング機関 (Anti-Doping Organization ; ADO) によって、WADA International Standard for Results Management (ISRM) に基づいて実施され、ADOがADRVを最終的に審査する³⁾。

ABPを用いた間接的な評価方法は、従来の禁止物質の直接検出法と補完しあい、ドーピングの検出や抑止に大きく貢献すると思われる¹⁾一方で、新しい課題も生じている。すなわち、対象とするア

スリートのABPデータが個人内変動を逸脱する要因が、ドーピングの有無と関係がないケース (偽陽性)、あるいは反対に、ドーピングを行っているにも関わらず、ABPデータからはATPFとして検出されないケース (偽陰性) をどのように検出し、排除していくか、という点については、新たな議論が生じている⁴⁾。これらの問題の一因については、その背景に遺伝的な要因があることが報告されている⁵⁻¹¹⁾。このため本総説では、ABPの概要と判定解釈に関する知見を整理し、ABPの判定解釈に影響を及ぼす可能性のある候補遺伝子バリエーションについて概説することを目的とした。

また、本稿で用いている「偽陽性」「偽陰性」という用語については、ABPに関する主要な論文において、“false-positive findings”や“false-negative decisions”といった形で記載されている^{12,13)}。加えて、違反が疑われる分析結果 (Adverse Analytical Finding ; AAF)、ABPに基づくATPF、ADRVなどの用語は世界アンチ・ドーピング規程で明確に定義されているため、科学用語として敢えてこれらと区別するために、「偽陽性」「偽陰性」という用語を用いている。

2. ドーピング判定時の偽陽性、偽陰性に関わる候補遺伝子バリエーション

1) ステロイドモジュールのATPFに影響を及ぼす遺伝的要因

体内では、コレステロールからテストステロン (Testosterone ; T) は生成され、その際同時にTのエピマー (epimer) であるエピテストステロン (Epitestosterone ; E) も同量生成される (図2)。体内でTはEに変換されることはないため、本来等量比で存在するはずのT/E比が、体外から合成された内因性ステロイドが投与されると、Tのみが増加し、結果T/E比が上昇する。

このT/E比に影響する遺伝子バリエーションとして、UDP-グルクロン酸転移酵素2B17 (UDP-glucuronyltransferase 2B17 ; UDP2B17) 欠失型が報告されている^{2,6,10)}。UDP2B17のdel/del (欠失) 型は、501名の日本人アスリート (男性255名、女性256名) を対象とした研究では、それぞれ74.5%、60.2%が欠損型だった¹⁰⁾。Raneらは、T/E比について、異なる遺伝的背景を有する民族集団の違いが、個人の変動範囲を上回る事実から、世界基準で一律のカットオフ値を設定する難しさ

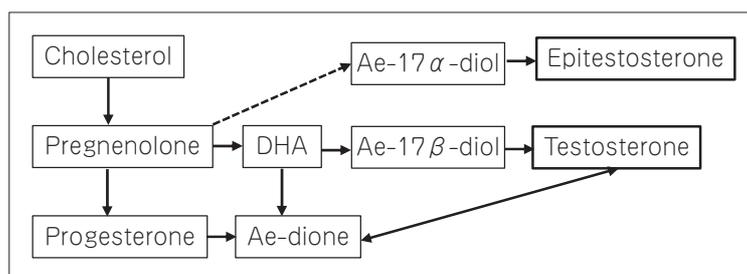


図2 コレステロールの代謝経路
コレステロールからテストステロンが生成される際、副次的にエピテストステロンも生成されるため、内因性のテストステロンとエピテストステロン比は常に一定であると考えられる。

をあげている¹¹⁾。Caucasian および Asian の民族集団 55 名を対象に外因性に T 投与を行い、T/E 比の推移を検証したところ、UDP2B17 欠失型という遺伝的背景を加味せずに T/E 比を評価する際、それぞれ 11% の偽陰性 (UDP2B17 欠失型群に T を投与しても T/E 比が 4.0 を下回る) と、31% の偽陽性 (UDP2B17 野生型群は T 投与前から、T/E 比が 4.0 を上回る被験者がいる) が生じる可能性を指摘している¹¹⁾。

これら ABP 導入以前の先行研究により、T/E 比は基準値のみで ADRV を判定するのではなく、ABP のステロイドモジュールから ATPF が検出された後、同位体比質量分析法 (Isotope Ratio Mass Spectrometry ; IRMS) による外因性の合成ステロイドを検出¹⁵⁾して初めて AAF とする、などで上述した課題は補完されている¹⁶⁾。UDP2B17 欠失型による T/E 比の違いは、遺伝的な要因がドーピング検査の判定に影響を及ぼすことを示す一例である。

2) 血液モジュールの ATPF に影響を及ぼす遺伝的要因

血液ドーピングとは、自己血や他者血を輸血することで酸素運搬能力をあげて、持久力を向上させる禁止方法である。赤血球増加を目的とした、自己血輸血や微量のエリスロポエチンの使用などによるドーピングは、禁止物質の検出に加えて、ABP 血液モジュールで、健康診断等で測定できる血液検査の項目を、個人内変動から検出することができる³⁾。

ヘモグロビン値、赤血球数や血清エリスロポエチン (Erythropoietin ; EPO) 値といった、血液検査項目が基準値を逸脱する要因の一つとして、赤血球増多症があげられる。赤血球増多症自体の発

生頻度は高くないものの、その発生機序には遺伝的背景を有する。赤血球増多症は、骨髄増殖性腫瘍である真性多血症 (Polycythaemia Vera ; PV) と、希少な遺伝性疾患である先天性または家族性赤血球増多症 (Congenital or familial erythrocytosis ; ECYT) に大別される。PV は後天的なヤヌスキナーゼ 2 (Janus Kinase 2 ; JAK2) 遺伝子の突然変異で発症する。ECYT は先天性の遺伝子疾患であり、これまでに報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾9 つの型の臨床的特徴や血液性状について表 1 に示した。

本章では、まず a) 赤血球の分化・成熟にかかわる過程について総括し、b) 赤血球増多症の臨床的な診断基準、c) PV の遺伝子レベルの発生機序および d) ECYT1-9 の遺伝的背景、e) 赤血球増多症以外で血液ドーピング検査の偽陽性にかかわる遺伝的背景について概説する。

a) 赤血球の分化・成熟に関わる過程

赤血球の分化・成熟過程を図 3 に示した。赤血球は、造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell ; HSC) から、前赤芽球の前駆体、前赤芽球 (Proerythroblast ; Pro-E)、から赤芽球、脱核を経て、網状赤血球、赤血球と分化、成熟していく (図 3)。脱核により、赤血球生成に影響を与える可能性のある遺伝子や遺伝子変異は、正赤芽球期までしか発現しない。ヘモグロビンやその他のタンパク質は、エリプトーシス (計画された赤血球死) がおこるまで機能し続ける。

赤血球の分化・成熟過程は、複数の細胞サイトカインとシグナル伝達経路によって制御されているが、重要なサイトカインとして EPO があげられる。EPO は低酸素状態時に低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor ; HIF) により腎臓から産生されるサイトカインであり、赤血球の産生を促

表 1 9つの家族性赤血球増多症 (ECYT) の責任遺伝子と臨床的特徴

ECYT 型	原因遺伝子	遺伝子座	遺伝形式	Hb 濃度, Hct 増加以外の臨床的特徴	EPO	OMIM code
ECYT1	EPOR	19p13.2	常染色体顕性	頭痛, めまい, 視覚障害, 血栓症リスク増加. 一部の患者では無症状.	低下	133100
ECYT2	VHL	3p25.3	常染色体潜性	発育遅延, 肺高血圧症, 腎細胞癌や褐色細胞腫など腫瘍の素因	上昇	263400
ECYT3	EGLN1 (PHD2)	1q42.2	常染色体顕性	低酸素応答異常, 頭痛, 易疲労感, 血栓傾向	正常または低下	609820
ECYT4	EPAS1	2p21	常染色体顕性	高地適応, 低酸素応答異常, 血管新生促進, 頭痛, めまい, 血栓傾向	上昇	611783
ECYT5	EPO	7q22.1	常染色体顕性	めまい, 動悸, 頭痛, 血栓傾向, EPO 過剰産生	明らかに上昇	617907
ECYT6	HBB	11p15.5	常染色体顕性	酸素親和性増加による組織低酸素, チアノーゼ, 疲労, 頭痛	変動あり	617980
ECYT7	HBA1/HBA2	16p13.3	常染色体顕性	酸素解離能上昇, チアノーゼ, 労作時呼吸困難, 疲労	変動あり	617981
ECYT8	BPGM	7q33	常染色体潜性	2, 3-BPG 低下による酸素解離異常, 頭痛, チアノーゼ, 労作時疲労感	変動あり	222800
ECYT9	EGLN2 (PHD1)	19q13.2	常染色体顕性	1例のみの臨床報告. 副腎性赤血球腫 (PHEO) を呈し, その後赤血球腫 (PGL) と診断	やや高値	なし

家族性赤血球増多症 (ECYT) 1-8 型については, 遺伝性疾患と遺伝子の関連を体系的にまとめたデータベース (Online Mendelian Inheritance in Man : OMIM) から, ECYT9 型については Yang ら²³⁾ から, 著者が和訳・抜粋した.

進する.

b) 赤血球増多症の臨床的な診断基準

赤血球増多症の分類について, 図 4 に示した. 原発性の赤血球増多症 (PV および ECYT1) は, JAK2 またはエリスロポエチン受容体 (Erythropoietin receptor ; EPOR) 遺伝子の変異によって, EPO-EPOR シグナル伝達経路が持続的に活性化し, 受容体の感受性が高くなるために起こる病変であり, 血清 EPO レベルは通常正常値を下回る. 一方, 先天的な赤血球症 (ECYT2-9) は, 副次的 (二次的) に EPO レベルが変化することによって起こる病変であり, 血清 EPO レベルは通常正常または上昇する. 赤血球増多症でみとめられる臨床症状は, 多血, 過粘稠度症候群(頭痛, めまい, 疲労, 倦怠感, 視覚および聴覚障害, 感覚異常, 筋肉痛), 局所の血流低下, 低酸素症による精神状態の変化, 動脈および/または静脈血栓塞栓症などが含まれる. ECYT 患者の大多数は, めまいや頭痛などの軽度の過粘稠度症状のみを示す. 発症した個人の中には, 動脈性高血圧, 脳内出血, 深部静脈血栓症, 冠動脈疾患, 心筋梗塞などの重篤で致命的な合併症を呈する者もいるが, 臨床的な病

状にはばらつきがあり, 臨床的所見がみとめられない個人も存在する. このため, ECYT 患者の臨床症状からみる懸念点としては, 赤血球増多症の診断基準である赤血球数やヘモグロビン濃度の値が, 国内検査会社の基準値上限よりも低い場合もあり, ECYT のタイプによっては, 臨床的にも自覚症状や重篤な病的症状が認められないことも多いことがあげられる. このため, 潜在的に家族性赤血球増多症を有していたとしても, 赤血球数やヘモグロビン濃度等の値が, 基準値上限をわずかに下回る値であった場合, 異常な病変として検知されず, ドーピング判定に影響を及ぼし得る病変に関わる遺伝子バリエーションを有している自覚がない選手も存在している可能性もある.

図 5 に, 赤血球合成経路に関連した家族性の赤血球増多症の発症機転について示した. PV では 2 つの遺伝子, JAK2, SH2B アダプタープロテイン 3 (SH2B adaptor protein3 ; SH2B3) が, 家族性の赤血球増多症では 9 つの遺伝子, EPOR, フォン・ヒッペル・リンドウ (Von Hippel-Lindau ; VHL), EGLN1 ファミリー低酸素誘導因子 1 または 2 (egl-9 family hypoxia inducible factor 1 or 2 ; EGLN1 or

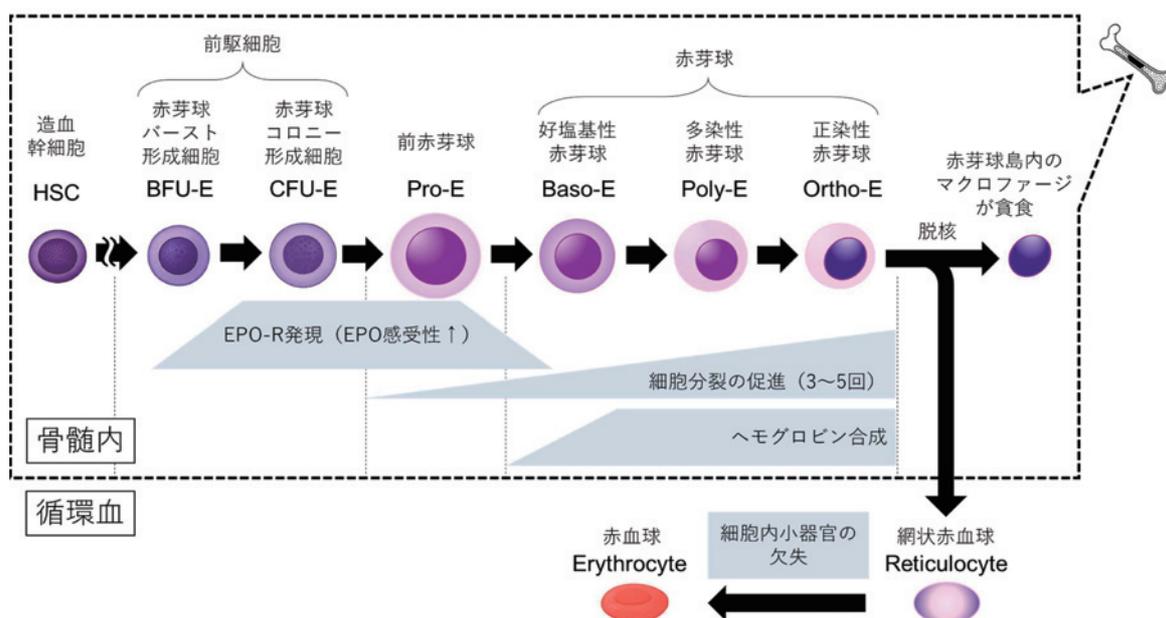


図3 造血細胞から赤血球の分化過程

赤血球は骨髓内で造血細胞 (Hematopoietic Stem Cell ; HSC), 赤芽球バースト形成細胞 (Burst-Forming Unit-Erythroid ; BFU-E), 赤芽球コロニー形成細胞 (Colony-Forming Unit-Erythroid ; CFU-E) などを経て, 前赤芽球 (Proerythroblast ; Pro-E), 好塩基性赤芽球 (Basophilic erythroblast ; Baso-E), 多染性赤芽球 (Polychromatic erythroblast ; Poly-E), 正染性赤芽球 (Orthochromatic erythroblast ; Ortho-E), 最後に脱核を経て, 網状赤血球 (Reticulocyte) となり循環血に放出される. 放出された網状赤血球は2~3日で細胞内小器官が欠失し, 成熟した赤血球となり, 約120日間体内を循環する. CFU-E, Pro-Eの段階で, EPO受容体の発現により, EPOの感受性が増大し, 細胞分裂が促進され, 赤芽球でヘモグロビン合成, 蓄積が促進する.

2), 内皮 PAS ドメイン含有タンパク質1 (Endothelial PAS domain protein 1 ; EPAS1), EPO, ヘモグロビンβサブユニット (Hemoglobin subunit beta ; HBB), ヘモグロビンαサブユニット1および2 (Hemoglobin subunit alpha1, alpha2 ; HBA1, HBA2), ビスホスホグリセリン酸ムターゼ (Bisphosphoglycerate mutase ; BPGM) が関わっている. それぞれの作用起点から, ア) 腎臓内での HIF-EPO 経路, イ) 骨髓内での EPO-EPOR 経路, ウ) 赤血球内でのヘモグロビンの酸素親和性, の3つに大別されている^{17,18)}.

PV, ECVT1 は, イ) 骨髓内での EPO-EPOR 経路, ECVT2-5,9 は, ア) 腎臓内での HIF-EPO 経路, ECVT6-8 は, ウ) 赤血球内でのヘモグロビンの酸素親和性に関わる遺伝子バリエントにより発症する.

c) PVの遺伝子レベルの発生機序

PV は, JAK2 遺伝子のエクソン14にある, V617Fのバリエントによるものが95%, その他3%がエクソン12にあるバリエントであることが報告されている. サイトカイン (EPO含む) の

感受性を増加させ, サイトカイン依存型の細胞分化や生存を誘発する遺伝子バリエントによるものである. JAK2の自己活性を抑制する偽キナーゼ領域を不活性化することで, 赤血球分化のネガティブフィードバックが機能しなくなり, 血球が増加する.

d) 家族性赤血球增多症 (ECYT) 1-9の遺伝的背景

ECYT1型は, Primary familial and congenital polycythemia (以下, PFCP) として Gene Reviews (特定の遺伝性疾患の症状や診断, 遺伝学的検査, 遺伝カウンセリングなどに関する情報が提供されているオンラインデータベース) にも掲載されている⁵⁾. ECVT1は, 脾臓の大きさが正常で, 二次性赤血球增多症を引き起こす疾患がない個人における赤血球增多症を特徴とする. フィンランド (オリンピックメダリスト) の家系での EPOR バリエントが報告されて以来²¹⁾, 現在までに, 24家族から116人の罹患が報告されている⁵⁾. ECVT1の責任遺伝子である EPOR のバリエントとしては, 2022年に Lo Riso らは33個の EPOR 遺伝子候補

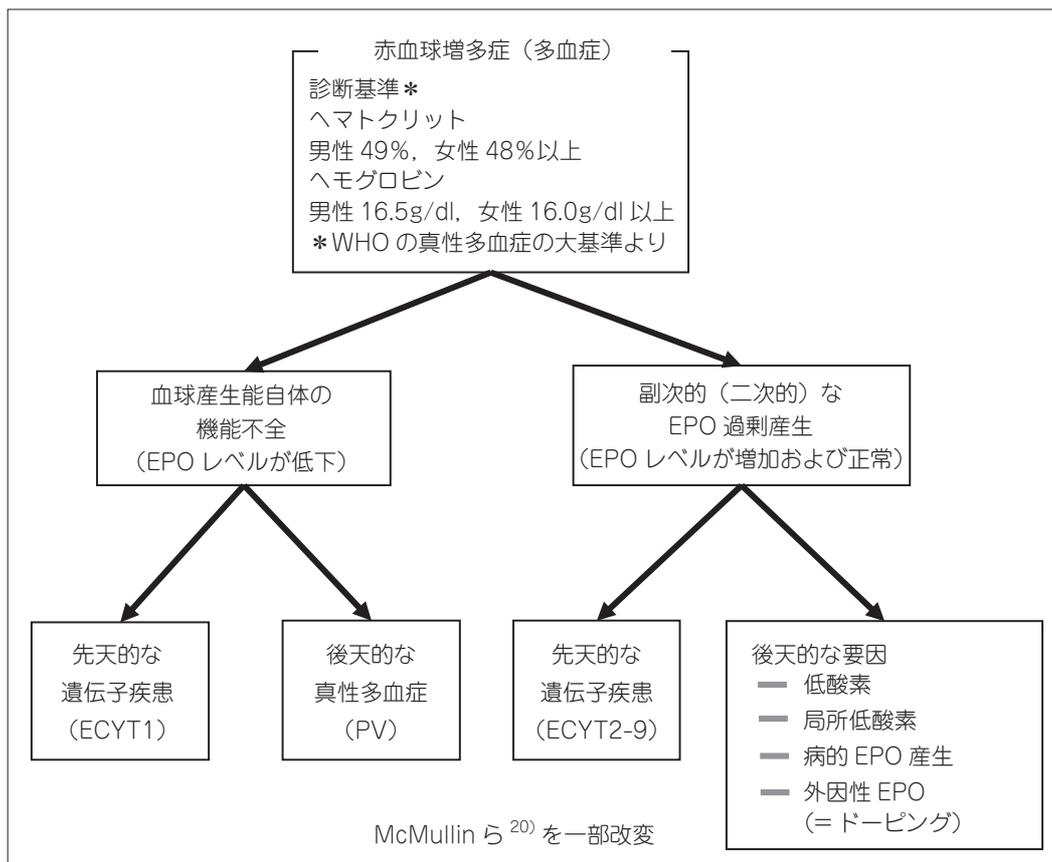


図4 赤血球増多症（多血症）の分類

を報告している⁷⁾。

ECYT2-5 および9は、HIF-EPO シグナル伝達経路に影響を及ぼす遺伝子と関連している。これらの変異の根底にある疾患メカニズムは、HIF- α 発現が増大し低酸素応答配列（hypoxia responsive element；HRE）へHIF- β ファミリーが結合することでEPOなど低酸素応答遺伝子発現を誘導する。結果、常酸素状態でのEPO産生が増加し、その二次的な結果として、赤血球の過剰産生がおこると考えられる。

ECYT2型は、15個のVHL遺伝子バリエントがあり、チュバック増多症が最も有名なECYT2疾患として知られている¹⁷⁾。VHL遺伝子は腫瘍を抑制する遺伝子でもあるため、この機能を阻害するバリエントを有している場合、CNSの血管腫や網膜血管芽腫、膵臓神経内分泌腫瘍、褐色細胞腫、および明細胞型腎細胞癌を引き起こす可能性が高くなる。

ECYT3型では、15個のEGLN1のヘテロ接合性の遺伝子バリエントに関する報告がある¹⁷⁾。プロリン水酸化酵素周辺領域を含むEGLN1遺伝子

のバリエントが報告されている。MYND型ジnkフィンガーの特定領域のバリエントも赤血球増多症を引き起こす可能性がある。このEGLN1遺伝子バリエントは、10年前にドーピング陽性により永久追放されたテコンドー選手からも発見されており、このケースでは彼の妹がECYTと診断され、次世代シーケンシング（Next Generation Sequencing：NGS）解析が後に行われたことにより明らかになった²²⁾。

常染色体優性疾患であるECYT4型の疾患を引き起こす9つのEPAS1遺伝子のバリエントのほとんどは、酸素依存性分解ドメインをコードするエクソン12のヘテロ接合性のバリエントである¹⁷⁾。これらのバリエントは、EGLN1ヒドロキシラーゼのEPAS1タンパク質への結合と、その後引き起こされるVHLタンパク質のヒドロキシル化および結合を阻害する。Maazizらは、過去に血液検査でドーピング陽性となった父親をもつ赤血球増多症患者のNGS解析を行ったところ、ERAS1遺伝子のバリエントを発見したことを事例として報告している²²⁾。

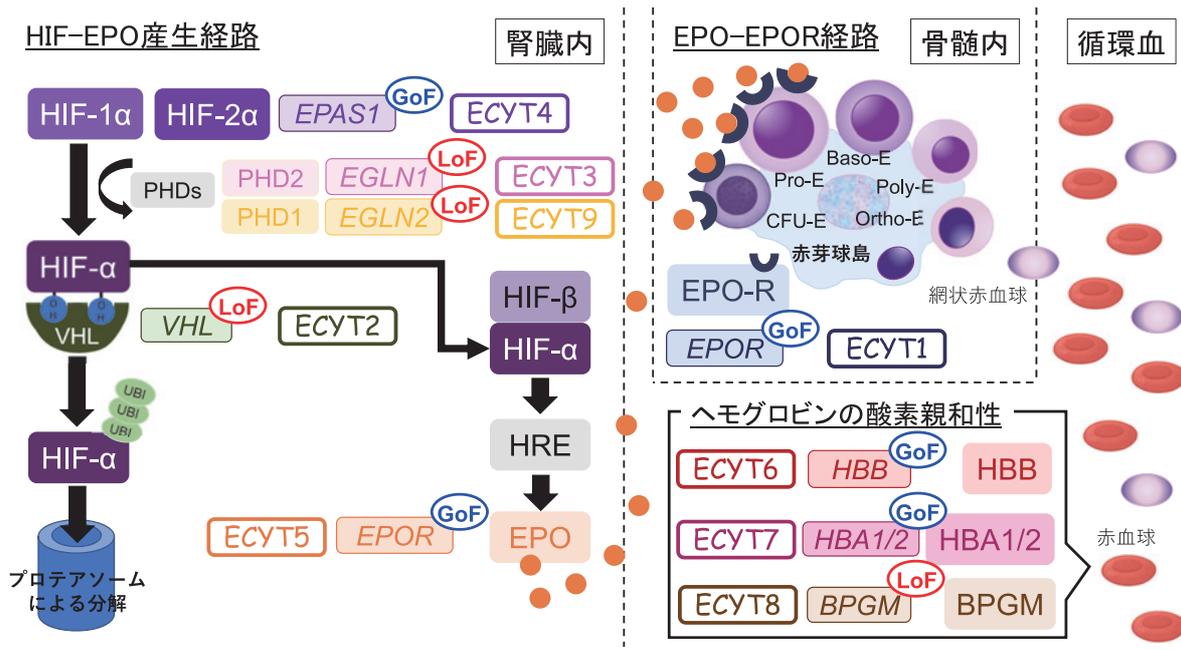


図5 赤血球合成経路に関連した家族性の赤血球増多症
 赤血球合成経路に関連した家族性の赤血球増多症 (ECYT1-9) は、その作用起点から3つに大別される。各責任遺伝子のバリエントにより、生理機能の亢進 (Gain of Function; GoF), および欠如 (Loss of Function; LoF) が起こることによって発症する。
 略語: 家族性赤血球増多症 (Congenital or familial erythrocytosis; ECYT), 低酸素誘導因子 (Hypoxia Inducible Factor; HIF), 内皮 PAS ドメイン含有タンパク質 1 (Endothelial PAS domain protein 1; EPAS1), EGL9 ファミリー低酸素誘導因子 1 または 2 (egl-9 family hypoxia inducible factor 1 or 2; EGLN1 or 2), ヴァンホッペルリンドウ (Von Hippel-Lindau; VHL), ヘモグロビンβサブユニット (Hemoglobin subunit beta; HBB), ヘモグロビンαサブユニット 1 (Hemoglobin subunit alpha1; HBA1), ヘモグロビンαサブユニット 2 (Hemoglobin subunit alpha2; HBA2), またはビスホスホグリセリン酸ムターゼ (Bisphosphoglycerate mutase; BPGM)

ECYT5型は常染色体優性疾患であり、最近見つけた遺伝子疾患の一つである¹⁷⁾。2つのフレームシフト変異がメインストリームの EPO mRNA の転写を中断し、イントロンの代替プロモーターを介して EPO の過剰生産を引き起こすことが知られている。

ECYT6-8型は、ヘモグロビンサブユニットの変異により、酸素の親和性が変化するためにおこる遺伝子疾患である¹⁷⁾。ECYT6型は、HBBサブユニットの遺伝子バリエントであり、80個のバリエントが報告されている。一方、ECYT7型については、HBA1と2のサブユニットの変異が起こっており、24個のバリエントが報告されている。

ヘモグロビン変異による赤血球増多症のメカニズムは、遊離酸素濃度の低下に基づいており、その結果、組織低酸素症と EPO 産生の増加が起こる。ヘモグロビン変異体は、鎌状赤血球貧血、サラセミア、不安定溶血性貧血などの大きな病変を引き起こす可能性がある。

ECYT8型は、ヘモグロビン修飾酵素 BPGM のバリエントで現在4つのバリエントが報告されている¹⁷⁾。活性化を誘発する結合部位の近接部が変異することで BPGM 欠損が引き起こされると考えられている。

Yangらは、低酸素誘導因子2α (HIF2A) 変異を持たないにも関わらず、同様の臨床症状を呈した2名の患者について解析を行ったところ、その下流にあるプロリルヒドロキシラーゼ (PHD) 1, 2の変異をそれぞれ報告している²³⁾。このうちの1名の PHD2 (EGLN2 遺伝子) 変異について ECYT9として分類されると考えられるが¹⁸⁾、1名のみでの事例報告で、表現型の一貫性に疑問があり、データベース (OMIM) への登録はなされていない。

これら ECYT のタイプについては、近年発達した NGS 解析により検出力が飛躍的に向上し、新しい遺伝子バリエントについての報告が相次いでいる。現在の NGS 解析では、家族性赤血球増多症

表 2 ECVT が血液モジュールの ATPF 判定に影響を及ぼす可能性 (想定されるケース)

ケース分類	ATPF との関係	状況	ECYT との関連が想定されるケース
Case 1	ATPF 発出なし	ベースラインは高値だが安定しており、個人内変動の範囲内 = 逸脱と見なされない	従来型のドーピング検査方法では、カットオフ値で検出されてきた ECVT1, ECVT3 などが該当していた可能性がある。ABP の導入により、プロフィール構築後の一貫した高値は ATPF とならない。
Case 2	偽陽性 = ATPF 発出	ベースラインが高値を推移しており、さらに脱水・低酸素刺激・トレーニング負荷等で一時的上昇 → ATPF に	ECYT2 ~ 5 型 (HIF 経路変異) での組織の低酸素応答の変化により血液モジュールの測定項目が一過性に変動することが想定される。
Case 3	偽陽性 = ATPF 発出	プロフィール構築初期において“高値”を記録 → 後日の測定でさらに上昇した場合、異常と誤検知される	ECYT 全般で検出リスクあり。
Case 4	偽陰性	実際にドーピングをしても、もともとベースラインが高い場合、変動が検出されにくい	高値を「正常」と学習した場合の ABP モデルの限界。

の疑いのある患者の 70% 以上で原因遺伝子が同定されず、特発性と分類されている¹⁷⁾。今後 NGS 解析が広く行われるようになれば、より多くの ECVT に関わる遺伝子バリエーションが報告される可能性が高い。

e) 赤血球増多症以外で血液ドーピング検査の偽陽性に関わる遺伝的背景

赤血球増多症以外では、ドーピング検査時に遺伝子組み換えヒト EPO (Human recombinant erythropoietin ; rEPO) の同定に用いられる SDS/SAR-PAGE 法で、誤って陽性と判断される可能性がある EPO の遺伝子バリエーションが報告されている²⁴⁾。これは、EPO 遺伝子の c.577 欠失型で見られる変異であり、変異した遺伝子からコードされる EPO たんぱくが野生型のそれよりも分子量が大きくなる (アミノ酸 27 個分)。c.577 欠失ヘテロ接合体を有するアスリートは、野生型 EPO と別で、さらに rEPO とほぼ同位置にバンドが二重で認められることとなり、rEPO と同位置にバンドがでてしまうために起こる誤判定例である²⁵⁾。

その他にも、ABP による ATPF によりドーピング陽性と判断されたオリンピックメダリストの NGS 解析を行った結果、PIEZO1 遺伝子のバリエーションが発見され、それが ATPF と関連する可能性を示す事例も報告されている²⁶⁾。Filser らは、特発性赤血球増多症患者 110 名のうち 4% に PIEZO1 遺伝子の病原性変異が認められたことを報告している²⁷⁾。これらの患者ではヘモグロビン濃度の上

昇と溶血の症状を呈し、静脈血 P50 値が低下していた。これは酸素親和性の増加による組織低酸素症と代償性の赤血球増多症につながると考えられるが、生理的意義が不明のバリエーション (Variant Unknown Significance ; SUV) として位置づけられており、対象者のドーピング偽陽性の可能性を検証するにはいたっていない。

3) ECVT が血液モジュールの ATPF 判定に影響を及ぼす想定例

ABP における血液モジュールでは、対象アスリートの縦断的な血液検査データに基づいて、個人の生理的変動を逸脱したパターンが非定型報告 (ATPF) として統計的に検出される。一方で、ECYT を有する選手では、生理的に高いヘモグロビン濃度や赤血球数が一貫して観察される場合がある。こうした縦断的に高値で安定しているケースでは、ABP 導入以前の単回測定によるカットオフ値超過と異なり、ATPF とは認定されにくい。

しかし一部の ECVT タイプ、特に HIF- α 経路や酸素感知機構に関連する遺伝子バリエーション (EGLN1, EPAS1, VHL など) では、その作用機序の影響に加えて環境要因 (低酸素刺激、トレーニング負荷、脱水など) が重なった場合、血液モジュールの測定項目が一時的に大きく変動し、ATPF として検出される可能性がある。特に、ベースラインが基準値上限をわずかに下回るアスリートでは、軽度な生理的変化によって予測範囲を逸脱し、ATPF 発出につながるおそれもある (表 2)。

このような背景から、血液モジュールにおいて ATPF が報告された際には、対象者の疾患歴や遺伝的背景を精査するプロセスが重要であり、専門家による解釈 (Scientific Opinion)、あるいは聴聞 (Hearing) の段階で、既知の遺伝子バリエーションの存在が判定に影響を及ぼす可能性があることを共有する意義は大きいと考える。

3. おわりに

本総説では、ドーピング検査時の偽陽性・偽陰性に関わる遺伝的要因、主に血液ドーピング時の偽陽性に関わる遺伝子バリエーションについて概説した。これら新規の候補遺伝子については、その生理的作用機序や、民族間での発現頻度の違いを踏まえて、そのエビデンスレベルや生理的意義を精査した上で検査パネルに組み込み、ドーピング検査時の ATPF を検証する際の専門家による審査、およびその後の聴聞に用いる参考資料として活用することも有用であると考えられる。

ECYT は、自覚症状に乏しく、国内の血液検査基準値上限をわずかに下回るケースも多いため、診断が見逃されやすく、ABP における ATPF を誘発する潜在的要因となる可能性がある。こうした背景から、アスリートに関わるメディカルスタッフ、スポーツドクター、検査従事者等が、本稿を予備知識として共有し、アスリートのメディカルコンディションを整える一助となれば幸いである。

さらに、本邦における ECYT の発現頻度や病態解明は未だ限定的であり、今後は我が国独自の検査パネルの開発も見据えた、基礎・臨床両面からのさらなる研究推進が求められることも付記する。

謝辞

本研究は JISS 研究事業の助成を受けたものである。

利益相反

本論文に関連し、開示すべき利益相反はなし。

著者貢献

本研究における大岩奈青、鈴木秀典、清水和弘、中嶋耕平の貢献を以下に示す。Conceptualization (概念化) : 大岩奈青、鈴木秀典、清水和弘、中嶋耕平、Data curation (データ管理) : 大岩奈青、鈴木秀典、Formal analysis (正式な分析) : 大岩奈青、Funding acquisition (資金獲得) : 大岩奈青、清水和弘、中嶋耕平、Investigation (調査) : 大岩奈青、

鈴木秀典、Methodology (方法論) : 大岩奈青、清水和弘、Project administration (プロジェクト管理) : 清水和弘、中嶋耕平、Supervision (指導) : 鈴木秀典、清水和弘、中嶋耕平、Validation (検証) : 大岩奈青、鈴木秀典、清水和弘、中嶋耕平、Visualization (可視化) : 大岩奈青、Writing original draft (草稿の執筆) : 大岩奈青、Writing review & editing (原稿の見直しとエディティング) : 大岩奈青、鈴木秀典、清水和弘、中嶋耕平。

文 献

- 1) 浅川 伸. ドーピング検査の厳格化とアスリートの権利擁護 — バランスの取れた体制構築の必要性 —. 入手先 : <https://www.ssf.or.jp/knowledge/spi/36.html> [参照日 2025 年 8 月 4 日].
- 2) 鈴木秀典. ドーピング検査の現状と未来. 生物試料分析. 2016; 39: 164-168.
- 3) Japan Anti-Doping Agency. Athlete Biological Passport. Available at: https://www.playtruejapan.org/entry_img/ABP.pdf [Accessed 4 August, 2025].
- 4) Krumm B, Faiss R. Factors Confounding the Athlete Biological Passport: A Systematic Narrative Review. Sports Med Open. 2021; 7: 65 doi: 10.1186/s40798-021-00356-0.
- 5) Bento C, McMullin MF, Percy M, et al. Primary Familial and Congenital Polycythemia. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al, eds. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024, 2016.
- 6) Jakobsson J, Ekström L, Inotsume N, et al. Large differences in testosterone excretion in Korean and Swedish men are strongly associated with a UDP-glucuronosyl transferase 2B17 polymorphism. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91: 687-693 doi: 10.1210/jc.2005-1643.
- 7) Lo Riso L, Vargas-Parra G, Navarro G, et al. Identification of Two Novel EPOR Gene Variants in Primary Familial Polycythemia: Case Report and Literature Review. Genes. 2022; 13: 1686 doi: 10.3390/genes13101686.
- 8) Lu Y, Yan J, Ou G, et al. A Review of Recent Progress in Drug Doping and Gene Doping Control Analysis. Molecules. 2023; 28: 5483 doi: 10.3390/molecules28145483.
- 9) Martín-Escudero P, Muñoz-Guerra J, Del Prado N,

- et al. Impact of UGT2B17 gene deletion on the steroid profile of an athlete. *Physiol Rep.* 2015; 3: e12645 doi: 10.14814/phy2.12645.
- 10) Okano M, Ueda T, Nishitani Y, et al. UDP- glucuronosyltransferase 2B17 genotyping in Japanese athletes and evaluation of the current sports drug testing for detecting testosterone misuse. *Drug Test Anal.* 2013; 5: 166-181 doi: 10.1002/dta.1394.
 - 11) Rane A, Ekström L. Androgens and doping tests: genetic variation and pit- falls. *Br J Clin Pharmacol.* 2012; 74: 3-15 doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04294.x.
 - 12) Sottas PE, Robinson N, Saugy M. The Athlete's Biological Passport and Indirect Markers of Blood Doping. *Handb Exp Pharmacol.* 2010; 195: 305-326 doi: 10.1007/978-3-642-11185-7_16.
 - 13) Robinson N, Saugy M, Schutz Y, et al. The Athlete Biological Passport: An Effective Tool in the Fight against Doping. *Clin Chem.* 2011; 57(7): 969-976 doi: 10.1373/clinchem.2011.162271.
 - 14) World Anti-Doping Agency. International Standard Prohibited List. Available at: <https://www.wada-ama.org/en/resources/world-anti-doping-code-and-international-standards/prohibited-list> [Accessed 4 August, 2025].
 - 15) Strahm E, Mullen JE, Gårevik N, et al. Dose-dependent testosterone sensitivity of the steroidal passport and GC-C-IRMS analysis in relation to the UGT2B17 deletion polymorphism. *Drug Test Anal.* 2015; 7: 1063-1070 doi: 10.1002/dta.1841.
 - 16) World Anti-Doping Agency. TD2021EAAS. Available at: <https://www.wada-ama.org/en/resources/lab-documents/td2021eaas#resource-download> [Accessed 4 August, 2025].
 - 17) Gašperšič J, Kristan A, Kunej T, et al. Erythrocytosis: genes and pathways involved in disease development. *Blood Transfus.* 2021; 19: 518-532 doi: 10.2450/2020.0197-20.
 - 18) Semenza GL. Breakthrough science : hypoxia-inducible factors, oxygen sensing, and disorders of hematopoiesis. *Blood.* 2022; 139: 2441-2449 doi: 10.1182/blood.2021011043.
 - 19) 川端 浩, 高折晃史. 赤血球の生理機能と産生調節. *日本内科学会雑誌.* 2015; 104: 1367-1374.
 - 20) McMullin MF. Genetic Background of Congenital Erythrocytosis. *Genes.* 2021; 12: 1151 doi: 10.3390/genes12081151.
 - 21) Juvonen E, Ikkala E, Fyhrquist F, et al. Autosomal dominant erythrocytosis caused by increased sensitivity to erythropoietin. *Blood.* 1991; 78: 3066-3069.
 - 22) Maaziz N, Martin L, Marchand A, et al. Olympic Games: When the haematocrit does not fit, the athlete is not always a cheat. *J Intern Med.* 2024; 296: 213-214 doi: 10.1111/joim.13822.
 - 23) Yang C, Zhuang Z, Fliedner SM, et al. Germ-line PHD1 and PHD2 mutations detected in patients with pheochromocytoma / paraganglioma-polycythemia. *J Mol Med.* 2015; 93:104 doi: 10.1007/s00109-014-1205-7.
 - 24) Zhou X, He S, Zezhou L, et al. "Discovery of c.577 del in EPO: Investigations into endogenous EPO double-band detected in blood with SAR-PAGE". *Drug Test Anal.* 2022; 14: 622-633 doi: 10.1002/dta.3200.
 - 25) World Anti-Doping Agency. WADA Technical Document - TD2024EPO. Available at: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2024-03/td2024epo_eng_final.pdf [Accessed 4 August, 2025].
 - 26) Sonkodi B, Kováts T, Gálik B, et al. Prohibited Olympic Medalist with PIEZO1 VUS Who Claims Innocence. *Int J Mol Sci.* 2024; 25: 11842 doi: 10.3390/ijms252111842.
 - 27) Filser M, Giansily-Blaizot M, Grenier M, et al. Increased incidence of germline PIEZO1 mutations in individuals with idiopathic erythrocytosis. *Blood.* 2021; 137: 1828-1832 doi: 10.1182/blood.2020008424.

(受付 : 2025 年 6 月 2 日, 受理 : 2025 年 10 月 14 日)

Candidate Genetic Variants with Potential Relevance to the Interpretation of the Athlete Biological Passport

Ohiwa, N.^{*1}, Suzuki, H.^{*2}, Shimizu, K.^{*1}, Nakajima, K.^{*1}

^{*1} Japan Institute of Sports Sciences

^{*2} Nippon Medical School

Key words: genetic variants, athlete biological passport, doping test

[Abstract] The Athlete Biological Passport (ABP) is an out-of-competition doping test that sets baseline values for physiological markers for each athlete by repeatedly analyzing blood and urine samples, and detects changes in physiological markers (atypical reports) that occur because of the indirect use of prohibited substances and methods. Indirect detection methods using ABP complement traditional direct detection methods for prohibited substances and make a substantial contribution to the detection and prevention of doping. New issues can also be addressed, for example, how to eliminate cases in which the factors that cause the ABP data of the target athletes to deviate from the intra-individual variability are unrelated to doping (false positives), or conversely, cases in which the data are not detected despite the athletes having doped (false negatives). The purpose of this review is to provide an overview of candidate gene variants that may contribute to these false positive and false negative results.