

令和元年6月20日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19629

研究課題名(和文) B型肝炎ワクチン反応性を規定するClass II HLAアレルの探究

研究課題名(英文) Identification of genetic factors in Class II HLA associated with hepatitis B vaccine response

研究代表者

酒井 愛子 (Sakai, Aiko)

筑波大学・附属病院・医員

研究者番号：40592184

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：B型肝炎ワクチン初回接種後の若年成人574名のワクチン反応性とHLA-DP, DQ, DRアレルの関連を検討した。HLA-DP, DQ, DRそれぞれにワクチン反応性と関連するアレルが存在し、さらにアミノ酸・蛋白構造レベルで検討するとHLA-DP分子の抗原結合溝の抗原結合ポケット1及びHLA-DR分子のポケット4がB型肝炎ワクチン反応性に重要であった。同定されたアレルはB型肝炎慢性化と関連するものと同じであり、慢性化と関連が報告されているSNPsはワクチン反応性とも関連を示した。Class II HLAを介したHBs抗原に対する宿主の免疫応答を通じて、同様の機序が個人差に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

B型肝炎ワクチンの反応性は個人差が大きく、特に5-10%存在するといわれるワクチン無反応者に対する解決策はいまだない。本研究の社会的意義として、ワクチン反応性を規定する宿主要因を明らかにすることでワクチン抗原ペプチドの改良に寄与する可能性がある。また、ワクチン反応性とB型肝炎慢性化に共通する機序があることが示唆され、今後B型肝炎罹患患者における予後マーカーやウイルス排除治療に有用な知見となる可能性がある。学術的には、宿主の免疫応答に重要であると従来言われている抗原結合領域のポケットのうち、B型肝炎ワクチンではHLA-DPのポケット1およびHLA-DRのポケット4が重要であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We assessed hepatitis B vaccine response in 574 healthy Japanese young adults, and identified HLA-DP, -DQ, and -DR alleles and amino acid variants associated with hepatitis B vaccine response. The protein structural study revealed that the identified amino acid variants were located at the antigen-binding pockets in antigen-binding grooves of HLA molecules. The same HLA alleles were also reported to be associated with chronic hepatitis B susceptibility previously. These facts suggest that the host immune response through the interaction between class II HLA molecules and HBsAg may affect both hepatitis B vaccine response and chronic hepatitis B susceptibility in a same manner.

研究分野：小児科

キーワード：HLA 遺伝子多型 B型肝炎 ワクチン免疫 感染免疫 蛋白構造 個人差 抗原提示

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

B型肝炎(HB)ワクチン定期接種化が開始されて全ての乳児が接種の対象となったが、一般集団の5-10%存在するとされるワクチン無反応者の対策は未解決である。HBワクチン反応性を規定する因子として、これまで他人種における網羅的な遺伝子解析(GWAS)によりClass II HLA領域の遺伝子多型が報告されているが、その詳細は明らかではない。

2. 研究の目的

本研究ではHBワクチン反応性を規定するClass II HLAアレルを明らかにする。申請者らは先行研究でHBワクチン反応者と関連するHLA-DPアレルを見出した。このHLA-DPの特定のアレルを有する人は97%以上で十分なHBs抗体価を獲得する一方で、このアレルを持たないにもかかわらずHBs抗体を獲得する人が存在する。この結果およびGWASでHBワクチン反応性と関連する遺伝要因として、HLA-DRなどHLA-DP以外のClass II HLAのSNPも同定されていることをあわせて考えると、HLA-DP以外のClass II HLAアレルもHBワクチン反応性に寄与していると推測される。本研究ではHBワクチン反応性と関連するHLA-DQおよびDRアレルを検討し、DP、DQ、DR各アレルの関係、さらにワクチン反応性に寄与するアミノ酸を同定することを目的とした。また、慢性肝炎とワクチンで共通する遺伝要因の有無についても検討した。

3. 研究の方法

HBワクチンの接種を初めてつける日本人健常若年成人(医学生)574名を対象として、標準的なスケジュールで初回1シリーズ(3回)接種を行った。接種完了の1-2か月後にHBs抗体価を測定してワクチン反応性を評価するとともにDNAを抽出して、Wak-Flow HLAタイプングキット®を用いて、PCR-SSOP法によりHLA-DPB1、DQB1、DRB1のアレルタイプングを行った。

HLAのアレルはアミノ酸多型の組み合わせで規定されている。HBワクチン反応性を規定するアミノ酸多型を明らかにするために、IMGT-HLAデータベースによりアレル毎のアミノ酸配列を取得し、conditional logistic regression法を用いて、連鎖不平衡と関係なくHBワクチン反応性と関連するアミノ酸を同定した。

さらにProtein Data Bank(PDB)のデータを用いて、同定されたアミノ酸が、HLA蛋白の構造上どのような意義を持つのかを明らかにするために、立体構造学的検討を行った。

また、既報でB型慢性肝炎との関連が報告されているSNPsとHBワクチン反応性との関連についても検討し、「HBワクチン反応性」と「慢性肝炎に罹患しやすさ」の関係について比較検討した。

4. 研究成果

日本人若年健常者におけるHBワクチン反応性は、HBs抗体価が10 mIU/mL未満の無反応者が27/574(4.7%)、10以上100未満の低反応者が129/574(22.5%)、100 mIU/mL以上の反応良好者が418/574(72.8%)であった。また、男性は有意に無・低反応群が多かった($P < 0.0001$, OR2.79, 95%CI 1.90-4.09)。

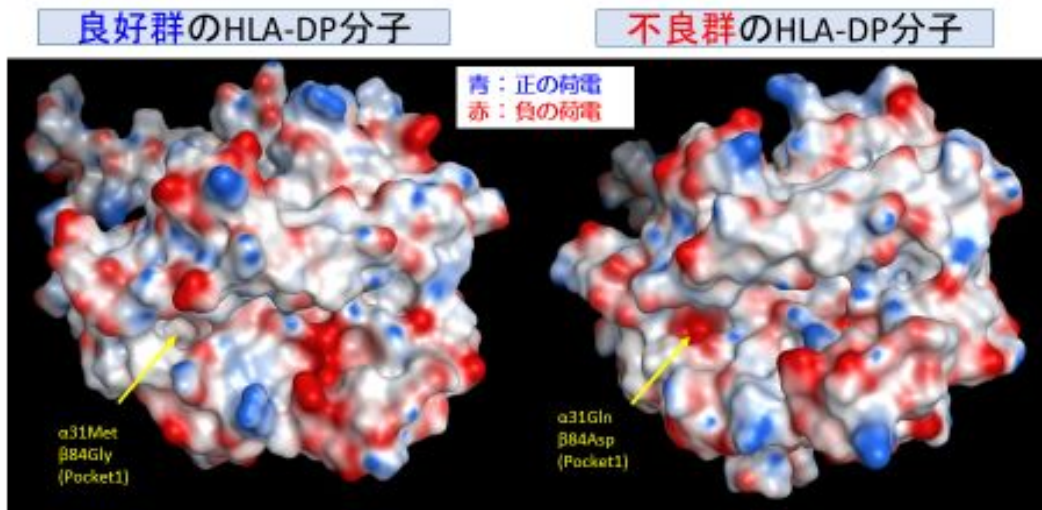
先行研究でHLA-DPB1の検討を行った574例について、HLA-DQB1、DRB1のアレルタイプングを行った。本研究で同定されたアレル頻度は、HLA研究所による日本人のアレル頻度と同様であった。HLA-DPB1*04:02、HLA-DQB1*05:01、HLA-DRB1*01:01、HLA-DRB1*08:03はHBワクチン反応良好群と有意な関連を示し、HLA-DPB1*05:01はワクチン反応不良群と有意な関連を示した。一方で、当初の課題であった、「HLA-DPだけでなくDQやDRを組み合わせるとHBワクチン反応性を説明できるのではないか」という仮説については、ハプロタイプや様々な組み合わせを検討しても、HLAのみでHBワクチン反応性を完全に説明することはできなかった。Class II HLAの多型は、ワクチン抗原を抗原提示細胞がCD4陽性T細胞に提示する際の抗原結合能に影響を与えることによりワクチン反応性を規定していると推測される。他方、男女差や年齢差等HLA以外の要因もHBワクチン反応性に関連していることを考慮すると、抗原提示後のリンパ球の反応性や抗体産生能もワクチン反応性に寄与しているものと考えられる。

HLAのアレルはアミノ酸多型の組み合わせで規定されており、HLAの多型がどのようにワクチン反応性と関連するかさらに詳細を検討するために、アミノ酸レベルでの解析を行った。HLA領域の強い連鎖不平衡の影響を考慮してconditional logistic regression法を用いて、連鎖不平衡と関係なく、独立してHBワクチン反応性と関連するアミノ酸部位を同定した。HLA-DRB1の26番目のアミノ酸とHLA-DPB1の84-87番目のアミノ酸多型が独立してHBワクチン反応性と関連することが明らかとなった。

蛋白構造学的な解析を行うと、HLA-DRB1の26番目のアミノ酸はDR分子の抗原結合領域のポケット4に位置しており、さらにHLA-DPB1の84番目のアミノ酸はDP分子のポケット1に位置していることが判明した。さらにHLA-DP分子のポケット1は反応良好群と関連するグリシンであれば疎水性を呈するのに対し、反応不良群と関連するアスパラギン酸では負の荷電を帯びることが明らかとなった(図1)。

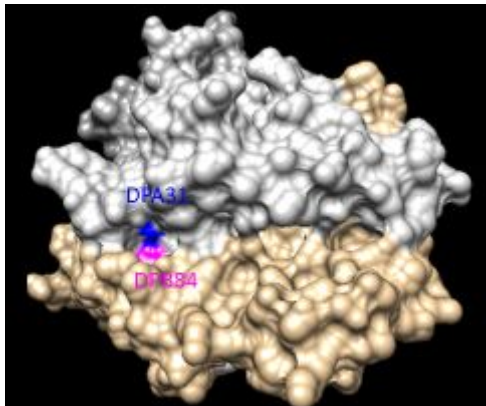
<図1>

HLA-DP 分子表面の静電ポテンシャル：疎水性を白、負の荷電をおびるところを赤、正の荷電をおびるところを青で示した。



Class II HLA は二量体であり、DP 分子についてさらに詳細に検討するために、DPA1 を direct sequence でタイピングし、同様にアミノ酸レベルでの解析を行った。有意な関連を示した HLA-DPA1 の 31 番目のアミノ酸はポケット 1 で HLA-DPB1 の 84 番目のアミノ酸と会合していた (図 2)。

<図2> HLA-DP 分子：HLA-DPA にコードされる 鎖を銀で、HLA-DPB にコードされる 鎖を金で示した。HLA-DPA1 の 31 番目のアミノ酸 (青) と HLA-DPB1 の 84 番目のアミノ酸 (ピンク) は抗原結合領域のポケット 1 で会合していた。



日本人コホートの GWAS で、B 型慢性肝炎の疾患感受性と関連すると報告されている rs3077 および rs9277535 は HB ワクチン反応性とも有意な関連を示した。すなわち、慢性肝炎の感受性と関連する rs3077G アリルおよび rs9277535G アリル、HLA-DPB1*05:01、HLA-DPA1*02:02 はワクチン無・低反応群と有意な関連を示した。一方で、慢性肝炎の疾患抵抗性と関連を示した rs3077A アリル、rs9277535A アリル、HLA-DPB1*04:02、HLA-DPA1*01:03 はワクチン反応群と有意な関連を示した。HLA 多型による HBs 抗原への反応性の個人差という共通の機序を介して、これらの免疫応答の個人差が説明しうると考えられた。

現在、本研究の過程であきらかとなった新たな SNP s について、その有用性についての検討をすすめている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

Kakisaka K, Sakai A, Yoshida Y, Miyasaka A, Takahashi F, Sumazaki R, Takikawa Y. Hepatitis B surface antibody titers at one and two years after hepatitis B virus vaccination in healthy young Japanese adults. Internal Medicine. 査読あり. 2019 May 22 [Epub ahead of print] doi:10.2169/internalmedicine.2231-18.

Nishida N, Sugiyama M, Sawai H, Nishina S, Sakai A, Ohashi J, Khor SS, Kakisaka K, Tsuchiura T, Hino K, Sumazaki R, Takikawa Y, Murata K, Kanda T, Yokosuka O, Tokunaga K, Mizokami M. Key HLA-DRB1-DQB1 haplotypes and role of the BTNL2 gene for response

to a hepatitis B vaccine. Hepatology. 査読あり. 2018 Mar 13. [Epub ahead of print].
Doi: 10.1002/hep.29876.

Kato M, Hamada-Tsutsumi S, Okuse C, Sakai A, Matsumoto N, Sato M, Sato T, Arito M, Omoteyama K, Suematsu N, Okamoto K, Kato T, Itoh F, Sumazaki R, Tanaka Y, Yotsuyanagi H, Kato T, Kurokawa MS. Effects of vaccine-acquired polyclonal anti-HBs antibodies on the prevention of HBV infection of non-vaccine genotypes. J Gastroenterology. 査読あり. 2017 Sep;52(9):1051-1063. doi:10.1007/s00535-017-1316-3.

Sakai A, Noguchi E, Fukushima T, Tagawa M, Iwabuchi A, Kita M, Kakisaka K, Miyasaka A, Takikawa Y, Sumazaki R. Identification of amino acids in antigen-binding site of class II HLA proteins independently associated with hepatitis B vaccine response. Vaccine. 査読あり. 2017 Jan 23;35(4):703-710. doi:10.1016/j.vaccine.2016.08.068.

酒井愛子. B型肝炎ワクチン反応性とHLA多型、医学のあゆみ、査読なし、263(7), 2017, p603-604.

酒井愛子、須磨崎亮. 母子感染で問題となるウイルス感染症 肝炎ウイルス感染症、臨床検査、査読なし、61(11), 2017, p1393-1397

酒井愛子、須磨崎亮. B型肝炎ワクチン定期接種化とワクチン戦略. 保健師ジャーナル、査読なし、73(6), 2017, p481-485

酒井愛子、須磨崎亮. 特集 B型肝炎の現状とワクチン定期接種化の意義 7. B型肝炎ワクチン定期接種化の経緯とその意義、化学療法の領域、査読なし、33(11), 2017, p70-78.

〔学会発表〕(計10件)

酒井愛子 他. B型肝炎およびB型肝炎ワクチン反応性の個人差に関する研究 第122回日本小児科学会 2019.

酒井愛子 他. B型肝炎ウイルス感染とワクチン反応性の個人差におけるクラスII HLA蛋白の意義 第2回日本免疫不全・自己炎症学会 2019.

酒井愛子 他. 小児B型肝炎ウイルス感染疫学調査によるHBV感染率や再活性化リスクの現状とB型肝炎ワクチン任意接種の重要性について 第54回日本肝臓学会 2018.

酒井愛子 他. HBs抗原に対する免疫応答の個人差にHLA-DP分子の抗原結合領域のポケット1が関連する 第50回日本小児感染症学会 2018.

須磨崎亮、酒井愛子、B型肝炎ワクチン応答性の遺伝的背景とnon-responder対策、第33回日本DDS学会学術集会 シンポジウム、2017.

酒井愛子 他. B型肝炎ワクチン反応性の個人差はクラスII HLA蛋白の構造と関連する 第21回日本ワクチン学会、2017.

酒井愛子 他. B型肝炎ワクチン反応性に関連するClass II HLA抗原結合領域のアミノ酸の同定 第43回日本小児栄養消化器肝臓学会 2016

Aiko Sakai et al. Human leukocyte antigen-DPA1 and -DPB1 alleles are important genetic factors for both hepatitis B vaccine response and chronic hepatitis B infection. Pediatric Academic Societies Meeting (PAS) 2016 U.S.A

Aiko Sakai et al. The same genetic factors in human leukocyte antigen (HLA)-DP are important for both hepatitis B vaccine response and the clinical outcomes of hepatitis B infection. World Congress of Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (WCPGHAN) 2016. Canada.

酒井愛子 他. Class II HLA分子はB型肝炎ワクチン反応性の個人差とどのように関連するか? 第48回日本小児感染症学会 2016

〔図書〕(計1件)

酒井愛子、須磨崎亮. 中外医学社 よくわかる予防接種のキホン 改定第2版(2章各論 定期接種ワクチン 9. B型肝炎ワクチン) 2018. 20ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：須磨崎 亮

ローマ字氏名：Ryo Sumazaki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。