

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07029

研究課題名(和文) 知識ベースを活用したHLA提示抗原ペプチド予測法の開発

研究課題名(英文) Development of knowledge-based method for prediction of antigenic peptide binding to HLA

研究代表者

合田 浩明 (Gouda, Hiroaki)

昭和大学・薬学部・教授

研究者番号：60276160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト主要組織適合性複合体クラスI(HLA-I)分子と抗原ペプチドの複合体結晶構造に基づき、「HLA-I抗原結合ポケットと抗原ペプチド構成アミノ酸」からなるデータベースを構築した。本データベースには、原子座標に加えて、HLA-I抗原結合ポケットの物理化学的性質をシンプルに表す特性球の座標も含まれている。本データベースから特性球の配置が類似したポケットを検索することで、解析対象のHLA-Iのポケットに結合する抗原ペプチド構成アミノ酸の傾向を予測できる。HLA-Iに薬物が結合している場合でも、薬物を特性球表現することで、HLA-I/薬物複合体構造に結合する抗原ペプチド構成アミノ酸の傾向を予測できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの主要組織適合性複合体であるHLAクラスI(HLA-I)分子は、「自己」と「非自己」の識別などの免疫反応において重要な役割を果たしているタンパク質であり、抗原ペプチドを免疫細胞に提示する役割を担っている。また、HLA-Iに薬物が結合することで、HLA-Iが提示する抗原ペプチドが変化し、このことが重症薬疹の引き金となる可能性が示唆されている。したがって、本研究の抗原ペプチド予測手法は、自己免疫疾患などの病因解析や治療に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Based on crystal structures of human leukocyte antigen class I (HLA-I) molecules complexed with antigenic peptides, a database (DB) of interactions between HLA-I antigen-binding pocket and antigen amino acid residue was constructed. The DB consists of (1) atomic coordinates of amino acid residues constituting the pocket, (2) coordinates of property spheres placed on the pocket, and (3) atomic coordinates of the antigen amino acid residue bound to the pocket. Five types of property spheres were used to simply describe physicochemical properties of the pocket. By retrieving pockets from the DB with similar arrangement of property spheres to that of the HLA-I pocket of interest, it is possible to predict the tendency of antigen amino acid residue to bind to the HLA-I pocket of interest. Even if a drug is bound to the HLA-I, the prediction of tendency of antigen amino acid residue to bind to the HLA-I/drug complex structure is also possible by describing the drug using property spheres.

研究分野：計算化学

キーワード：HLA 抗原ペプチド 相互作用 データベース 免疫反応 重症薬疹

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒトの主要組織適合遺伝子複合体である HLA クラス I 分子(HLA-I)は、ほぼすべての有核細胞に発現する膜タンパク質であり、自己あるいは外来由来のペプチドを細胞膜上で細胞障害性 T 細胞(CTL)に提示する。通常、正常細胞では免疫寛容を獲得している自己ペプチドが提示されており、CTL は活性化されない。しかし、細胞が癌化あるいはウイルスに感染した場合には、癌及びウイルス特有の外来ペプチドが HLA-I に結合し細胞膜上で提示されることで、CTL が活性化され、その細胞が除去される。このように、HLA-I は細胞(個)を犠牲にして個体(全体)を守る免疫機構の中核を担う分子である。

(2) 近年、ある特定の薬物によって引き起こされる重症薬疹の発症に HLA-I の特定のアレルが関与していることがわかってきた。例えば、アレルの一つである HLA-B*57:01 を有しているヒトは、抗 HIV 薬アバカビルの服用により非常に高い頻度で重症薬疹を発症する[1]。構造生物学的解析により、「(a)アバカビルは HLA-B*57:01 の抗原ペプチド結合部位に特異的に結合する。(b)この結合が抗原ペプチド結合部位の環境を変化させる。(c)その結果、HLA-B*57:01 に結合する抗原ペプチド群が大きく変化する」という報告がなされ、「免疫寛容を獲得していない自己ペプチドが細胞膜上に提示される可能性が生じるため、CTL による正常細胞への攻撃が誘発されてしまう」という抗原レパートリー変化モデルが重症薬疹発症メカニズムの一つとして、提唱されている[2,3]。

(3) 「HLA-I に薬物が結合することで、HLA-I が提示する抗原ペプチド群がどのように変化するのか」について解析できれば、重症薬疹発症機構の解明、及び重症薬疹の予防につながる可能性がある。しかし、これまでに報告されている抗原ペプチド予測法の多くは、「HLA-I のアミノ酸配列、結合する抗原ペプチドのアミノ酸配列、及びその結合親和性」からなる実験的データを訓練セットとして利用する機械学習法に基づいて予測モデルを構築する手法である。それゆえ、訓練セットの中に原因薬物の情報を含まないため、原理的に「HLA-I/薬物二者複合体構造に結合する抗原ペプチド」を予測することができない。

2. 研究の目的

(1) 「HLA-I に結合する抗原ペプチド群」だけでなく「HLA-I/薬物二者複合体構造に結合する抗原ペプチド群」の傾向を予測できる計算システムの構築を目的とした。

3. 研究の方法

(1) データベースの構築

Protein Data Bank(PDB)に登録されている解像度が 3Å 以下の HLA-I/抗原ペプチド複合体結晶構造約 600 構造を使用して、「HLA-I の抗原結合ポケット」と「そのポケットに結合している抗原ペプチド構成アミノ酸」のペアからなる相互作用データベース(DB)を構築した。HLA-I の抗原結合部位には A から F の 6 つのポケットが存在し、各ポケットに抗原ペプチドのアミノ酸残基 1 つが結合することが知られているので、これら 6 つのポケットについて、それぞれ DB を構築した。なお、6 つのポケットは、先行研究に基づいて定義した[4]。DB の構築手順を図 1 に示す。まず、結晶構造のタンパク質、及び抗原ペプチド分子に水素原子を付加し、付加した水素原子に対してエネルギー極小化計算を実施した。次に、エネルギー極小化された構造を、参照系とした Saper らの構造(PDB ID: 3HLA)に対して重ね合わせた[4]。続いて、6 つのポケットとそこに結合する抗原アミノ酸残基をそれぞれ切り出し(図 1 (i))、Mol2 フォーマットで保存した。さらに、ポケットには、ポケットを構成する各原子団の特性に応じて、図 1 に示すような、水素結合供与性(HD)、水素結合受容性(HA)、水素結合供与・受容性(DA)、芳香族性(AR)、疎水性(HP)の 5 種類の特性球を配置した(図 1 (ii))。したがって、構築した DB は、ポケットを構成する HLA-I のアミノ酸残基の原子座標、そのポケットに結合する抗原アミノ酸残基の原子座標、ポケットに配置された特性球の座標、の 3 つ一組の Mol2 ファイルからなる。なお、DB を構築する過程において必要なコンピュータプログラムの一部は Fortran 言語により作成した。

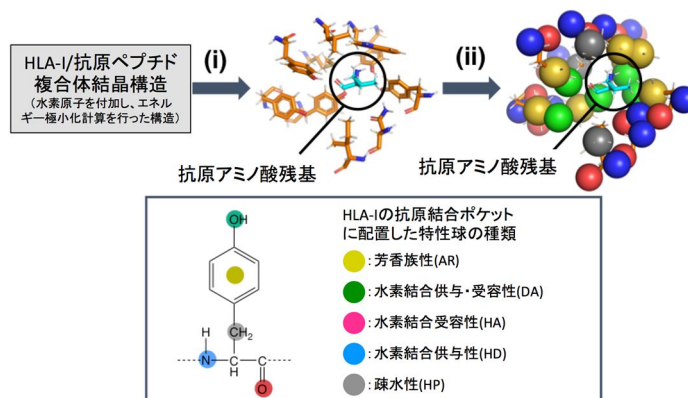


図 1 「HLA-Iの抗原結合ポケット」と「そのポケットに結合している抗原ペプチド構成アミノ酸」のペアからなる相互作用データベースの構築手順

(2) ポケットの類似性の評価法

本研究では、重ね合わされたポケット同士(具体的には、A ポケット同士、B ポケット同士、C ポケット同士、D ポケット同士、E ポケット同士、F ポケット同士)の類似性を、ポケットに定義された特性球の配置の類似性に基づいて評価した。比較したい2つのポケットを構成する特性球間の距離を測定し、最も近い特性球同士を対応する特性球とみなした。次に、対応する特性球の種類のみを組み合わせに応じて得点を与えた。この得点は、表1に示す、スコアリング行列によって与えた。ポケットを構成するすべての特性球についてこれらの得点を足し合わせ、規格化したものをそれらのポケットの Similarity score とした。この類似性評価は、先行研究で提案されている方法に従って実施した[5]。ただし、本研究では、あらかじめすべての HLA-I 構造を重ね合わせるため、先行研究で実施されているようなポケット同士の配向も変化させる計算は実施していない。また、類似性評価の計算プログラムも本研究において新規に作成した。

類似性評価において、上述の5種類の特性球に加え、hidden layer(HL)球を定義した。これは、抗原アミノ酸とポケットが重なることにより生じる立体反発を考慮し、抗原アミノ酸残基と大きく接触するようなポケットについては、類似性得点を減ずるための対処である。

表1 スコアリング行列

	HP	AR	HD	HA	DA	HL
HP	+3	+3	-2	-2	-2	-133
AR	+3	+3	-2	-2	-2	-133
HD	-2	-2	+2	-2	+1	-133
HA	-2	-2	-2	+2	+1	-133
DA	-2	-2	+1	+1	+1	-133
HL	-133	-133	-133	-133	-133	0

4. 研究成果

(1) HLA-I の A~F の6つのポケットのそれぞれについて、約600個の「HLA-Iの抗原結合ポケット」と「そのポケットに結合している抗原ペプチド構成アミノ酸」のペアを収集できた。各ポケットに結合する抗原アミノ酸残基の内訳を図2に示す。

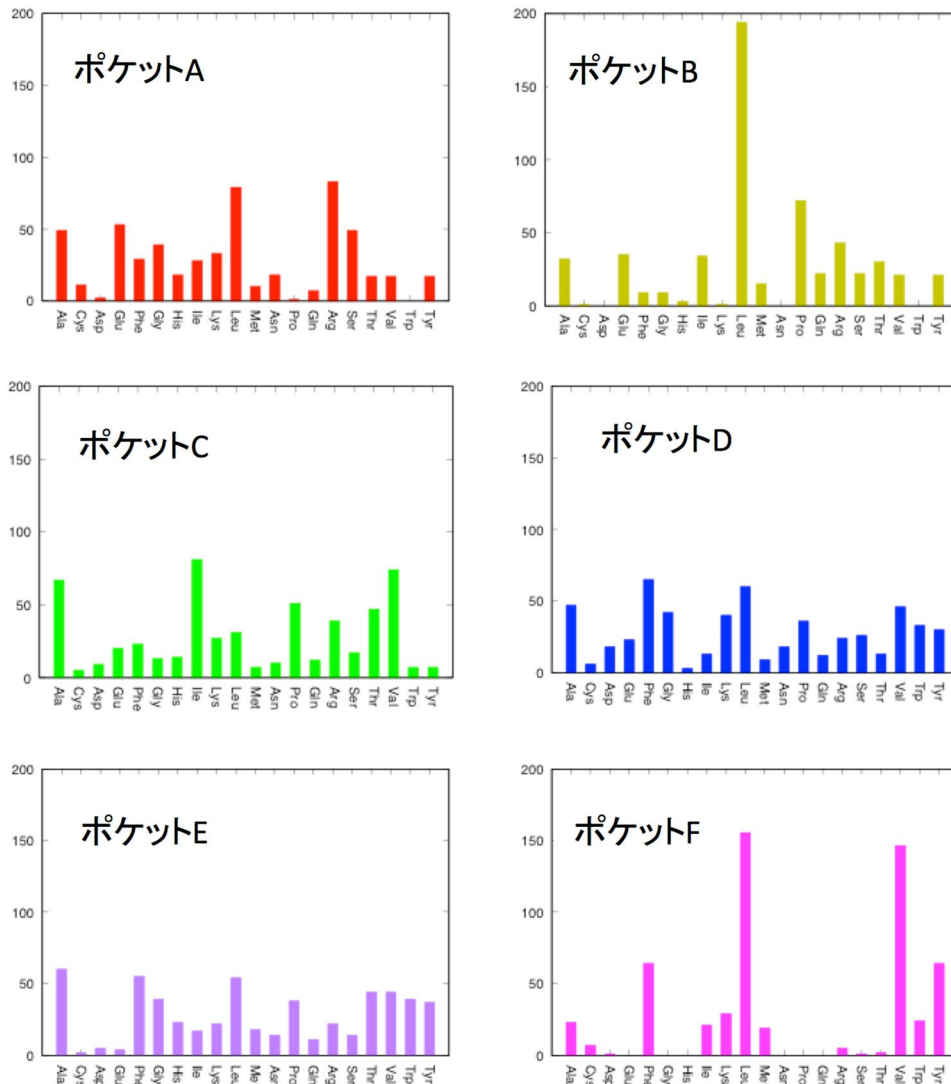


図2 HLA-Iの各ポケットに結合する抗原アミノ酸残基の内訳

図2より、HLA-IのポケットA、C、D、Eには多様なアミノ酸残基が結合し得るが、ポケットB、Fにはある特定のアミノ酸残基が結合しやすい傾向がみられる。すなわち、ポケットBにはLeuやProなどが、ポケットFにはLeu、Val、Phe、及びTyrなどが結合しやすい傾向がみられる。この解析結果は、ポケットBとFは、他のポケットに比べて特異性が高く、HLAによるペプチド認識における重要性が高いことを示唆している。これは先行研究において提唱されている、「ポケットBとポケットFへ結合するアミノ酸残基が、HLAによる抗原ペプチド結合の際のアンカーになる」というモデルに矛盾しない結果である。

(2) 抗HIV薬アバカビルはHLA-B*57:01に結合することで、HLA-B*57:01が提示する抗原ペプチドを変化させることが知られている[2,3]。そこで次に、本研究で構築したDBを活用することで、このような抗原ペプチドの変化を捉えることができるか確認した。アバカビルが結合していないHLA-B*57:01のポケット(PDB ID: 2RFX)、及びアバカビルが結合したHLA-B*57:01のポケット(PDB ID: 3VRI)について、DBに収載されているポケットとの類似性を特性球の配置の観点から評価した。この際、HLA-B*57:01に結合しているアバカビルにも特性球を配置することで、HLA-B*57:01のポケットに対する薬物結合の影響を特性球の配置の変化として取り入れた。アバカビルはHLA-B*57:01のポケットF近傍に結合する。そこで、アバカビル非結合状態のHLA-B*57:01のポケットF、及びアバカビル結合状態のHLA-B*57:01のポケットFと類似性の高いDB中のポケットFを抽出し、抽出されたポケットFに結合している抗原アミノ酸残基を解析した。その結果を図3に示す。図3より、アバカビル非結合状態では、HLA-B*57:01のポケットFに芳香族アミノ酸、及び脂肪族アミノ酸がともに結合しそうなことが予測された。また、芳香族アミノ酸の割合が脂肪族アミノ酸よりも多いので、芳香族アミノ酸の方が結合しやすいと予測された。一方、アバカビル結合状態では、ポケットFに結合しそうな抗原アミノ酸残基として、芳香族アミノ酸の割合が著しく減少し、脂肪族アミノ酸の割合が大きくなった。これは、アバカビルが結合することで、HLA-B*57:01のポケットFが、芳香族アミノ酸も結合できる構造から、脂肪族アミノ酸と結合しやすいポケットへと性質が変化することを示唆している。この傾向は先行研究の実験結果ともおおよそ一致した[2,3]。この結果より、本研究で構築したDBは、薬物結合に伴う抗原ペプチドの変化を捉えることができそうなことが示唆された。ポケットFと同じくアバカビルの結合部位に近いポケットEについては、立体障害によって抗原アミノ酸が結合し難くなることが示唆された。アバカビル結合部位から離れているポケットA~Dに関しては、アバカビル結合に伴う抗原アミノ酸残基の傾向の変化はほとんど見られず、これについても実験結果の傾向と一致した。また、本研究で作成した類似性評価を実施するsubroutineを一部改良し、分子相互作用場計算法と組み合わせることで、タンパク質/リガンド間の相互作用エネルギーを見積もる手法の開発にも成功した[6]。これは、本研究で作成した類似性評価を実施するsubroutineがタンパク質ポケットの特性を適切に記述できることを示唆している。

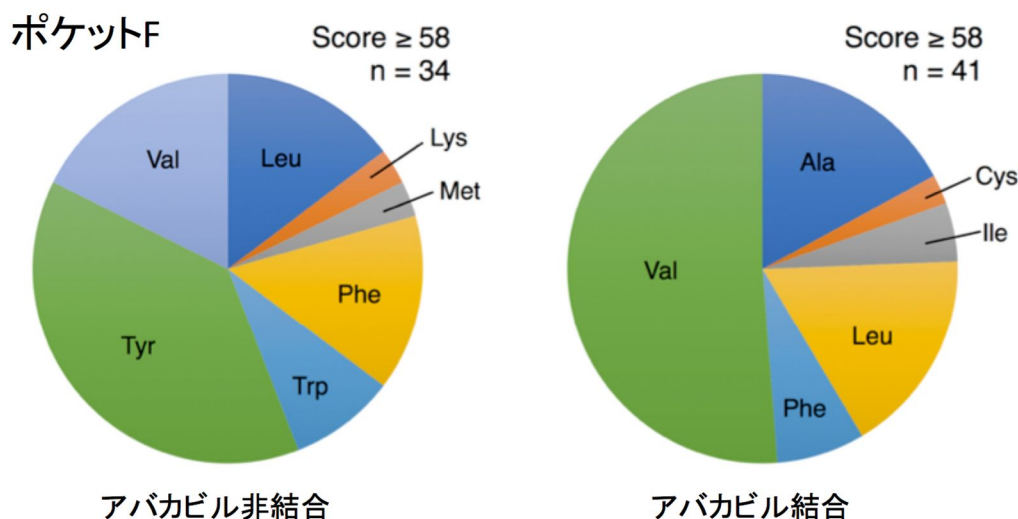


図3 アバカビル非結合状態、およびアバカビル結合状態のHLA-B*57:01のポケットFと類似性の高いDB中のポケットFに結合している抗原アミノ酸残基の内訳

(3) HLA-B*57:01/アバカビル複合体(PDB ID: 3VRI)の各ポケットに結合している抗原アミノ酸と、そのポケットと類似性の高いポケットに結合している同種の抗原アミノ酸について位置に関するRMSD(root mean square deviation)を算出した。これによって、本手法による抗原アミノ酸の結合ポーズ予測の可能性について検証した。ポケットA、B、Fでは、HLA-B*57:01/アバカビル/抗原ペプチドの三者複合体結晶構造で観測される抗原アミノ酸の結合ポーズとDB中の

類似性の高いポケットにおいて観測された結合ポーズが、よく一致することが確認できた(図4)。このことから、本DBは、ポケットA、B、Fに結合する抗原アミノ酸の結合ポーズの予測にも使用できることを示唆している。



図4 HLA-B*57:01/アバカビル複合体構造のA、B、およびFポケットに結合しているアミノ酸残基と、これらのポケットと類似性の高いDB収載のポケットに結合している抗原アミノ酸残基の重ね合わせ構造。(a) HLA-B*57:01/アバカビル複合体(PDB ID: 3VRI)のポケットAに結合するArg(灰色)と、このポケットAと類似性の高いDB中のポケットAに結合するArg残基(水色)の重ね合わせ。(b) HLA-B*57:01/アバカビル複合体(PDB ID: 3VRI)のポケットBに結合するVal(灰色)と、このポケットBと類似性の高いDB中のポケットBに結合するVal残基(水色)の重ね合わせ。(c) HLA-B*57:01/アバカビル複合体(PDB ID: 3VRI)のポケットFに結合するIle(灰色)と、このポケットFと類似性の高いDB中のポケットFに結合するIle残基(水色)の重ね合わせ。ここでは、アバカビル分子(PDB ID: 3VRI)、Ser116(PDB ID: 3VRI)、Tyr116(PDB ID: 3MRR, 5C09)も示している。

< 参考文献 >

- S. Mallal et al. N. Engl. J. Med. 2008, 358(6), 568-579.
- P. T. Illing et al. Nature 2012, 486(7404), 554-558.
- D. A. Ostrov et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012, 109(25), 9959-9964.
- M. A. Saper et al. J. Mol. Biol. 1991, 219(2), 277-319.
- N. Yamaotsu et al. J. Comput. Aid. Mol. Des. 2018, 32(11), 1229-1245.
- D. Hayakawa et al. J. Mol. Graph. Model. 2020, 96, 107515.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Daichi Hayakawa, Nahoko Sawada, Yurie Watanabe, Hiroaki Gouda	4. 巻 96
2. 論文標題 A molecular interaction field describing nonconventional intermolecular interactions and its application to protein-ligand interaction prediction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Graphics and Modelling	6. 最初と最後の頁 107515
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jmgs.2019.107515	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 早川大地、渡邊友里江、合田浩明
2. 発表標題 物理化学的性質を表す特性球に基づいたHLA-抗原ペプチド相互作用のデータベース構築と解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	早川 大地 (Hayakawa Daichi)		
研究協力者	渡邊 友里江 (Watanabe Yurie)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------