

HLA genotyping: H L A 対立遺伝子と子宮頸がんワクチン接種後副反応との関連解析

研究分担者 太田 正穂 信州大学医学部内科学第2 特任教授

研究要旨

子宮頸がんワクチン接種後の神経障害発症に遺伝学的要因が関与するか検討した。そのために、獲得免疫および自然免疫では重要、かつヒトの遺伝子で最も多型性に富む組織適合性抗原 (HLA) の対立遺伝子 (アレル) について、特定のアレルが疾患発症に関与するか解析した。前年度に4名の患者群を加えた総数84名について、ワクチン接種後、神経障害を示した患者群 (50人) と神経障害の発症が認められなかった患者群(34名)のHLA遺伝子頻度に有意な差が見られるか検討したが、有意な相違は認められなかった。また、一般健常者との間でもアレル頻度に有意な相違は見られなかった。今回の解析では子宮頸がんワクチン接種後の副作用発症に特定のHLAアレルが関与している所見は得られなかった。

A. 研究目的

子宮頸がんワクチン接種後の神経障害発症に遺伝学的要因が関与するか検討した。そのために、獲得免疫および自然免疫では重要、かつヒトの遺伝子で最も多型性に富む組織適合性抗原 (HLA) の対立遺伝子 (アレル) について、特定のアレルが疾患発症に関与するか解析した。

B. 研究方法

子宮頸がんワクチン接種を受けた患者さん84人からDNAを抽出して、HLA遺伝子タイピングを行った。84名のなかで、50名は神経障害が認められ、34名は神経障害発症が認められていない。タイピング解析はPCR-rSSO (reverse sequence specific oligonucleotide, LABType HD, One Lambda社) 法とLuminex 分析機(LABScan100, Thermo Fische Scientific社)で行なった。患者群と健常者群のアレル頻度の有意差比較は、 χ 二乗検定で行った。有意差補正にはBonferroni の多重比較検定を用いた。健常者のHLA遺伝子頻度は、我々が報告した371名のデータを使用した (Tissue Antigens, 2000, 56:522-529)。

(倫理面への配慮)

「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って研究を行なった。また、検査資料は被験者の個人情報とは無関係の番号を付して、対応表を作成し、連結可能匿名化をして検査した。

また、本研究は信州大学医学部倫理審査の承諾の基で行なわれた。

C. 研究結果

84人の患者さんについて、HLAクラス I 遺伝子座 (A, B, C) とクラス II HLA遺伝子座 (DRB1, DQB1, DPB1) アレルタイピングを行った。健常人の遺伝子頻度は我々(Saito等)が以前発表したデータ (Tissue Antigens, 2000:56:522-529) を用いた。HLAクラス I 遺伝子座 (A, B, C) とクラス II HLA遺伝子座 (DRB1, DQB1, DPB1) の各アレル頻度は、患者群と健常人群との間で統計的な有意差を示さなかった。また、子宮頸がんワクチン接種後の副反応者群、無反応者群および健常人との間においてもHLAクラス I, II 遺伝子頻度に有意な差は認められなかった (表1-4)。

D. 考察

今回、抗原提示機能をもつHLAクラス I 遺伝子、クラス II 遺伝子では疾患発症に関わる遺伝因子が認められなかったが、ウイルス抗原提示機能をもつHLAクラス I 様抗原 (UL18等) やTLR(Toll-like receptor)との関連性も興味を持たれる。

E. 結論

子宮頸がんワクチン接種後の副反応と古典的 HLA クラス I 遺伝子およびクラス II 遺伝子との相関は認められなかった。

F. 研究発表 (本研究課題に関連したもの)

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 3. HLA-クラス II 遺伝子との関連解析：HLA-DRB1 遺伝子座

| 全患者 vs 健常者 HLA-DRB1* | | | | 副反応確実 vs 健常者 HLA-DRB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 健常者 HLA-DRB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 無反応(-) HLA-DRB1* | | | |
|-------------------------|---------------|----------------|-------|---------------------------|-----------------|----------------|-------|----------------------------------|---------------|----------------|-------|-------------------------------------|---------------|---------------|-------|
| Allele | (+) n=84x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | 副反応確実 n=17x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | (-) n=34x2 | p |
| 01:01 | 9 | 48 | 0.591 | 01:01 | 2 | 48 | 0.892 | 01:01 | 5 | 48 | 0.570 | 01:01 | 5 | 4 | 0.658 |
| 04:01 | 1 | 5 | 0.909 | 04:01 | 0 | 5 | 0.631 | 04:01 | 1 | 5 | 0.716 | 04:01 | 1 | 0 | 0.437 |
| 04:03 | 8 | 30 | 0.674 | 04:03 | 1 | 30 | 0.748 | 04:03 | 3 | 30 | 0.614 | 04:03 | 3 | 5 | 0.134 |
| 04:04 | 1 | 1 | 0.250 | 04:04 | 1 | 1 | 0.002 | 04:04 | 1 | 1 | 0.095 | 04:04 | 1 | 0 | 0.437 |
| 04:05 | 16 | 85 | 0.472 | 04:05 | 5 | 85 | 0.563 | 04:05 | 13 | 85 | 0.651 | 04:05 | 13 | 3 | 0.102 |
| 04:06 | 8 | 26 | 0.438 | 04:06 | 0 | 26 | 0.267 | 04:06 | 2 | 26 | 0.431 | 04:06 | 2 | 6 | 0.041 |
| 04:10 | 2 | 13 | 0.606 | 04:10 | 0 | 13 | 0.436 | 04:10 | 1 | 13 | 0.581 | 04:10 | 1 | 1 | 0.713 |
| 08:02 | 7 | 30 | 0.942 | 08:02 | 2 | 30 | 0.598 | 08:02 | 4 | 30 | 0.984 | 08:02 | 4 | 3 | 0.896 |
| 08:03 | 15 | 60 | 0.720 | 08:03 | 3 | 60 | 0.878 | 08:03 | 8 | 60 | 0.976 | 08:03 | 8 | 7 | 0.441 |
| 09:01 | 22 | 92 | 0.806 | 09:01 | 5 | 92 | 0.691 | 09:01 | 14 | 92 | 0.650 | 09:01 | 14 | 8 | 0.673 |
| 10:01 | 0 | 7 | 0.206 | 10:01 | 0 | 7 | 0.569 | 10:01 | 0 | 7 | 0.329 | 11:01 | 1 | 1 | 0.783 |
| 11:01 | 2 | 25 | 0.133 | 11:01 | 0 | 25 | 0.277 | 11:01 | 1 | 25 | 0.199 | 12:01 | 6 | 2 | 0.454 |
| 12:01 | 8 | 28 | 0.553 | 12:01 | 1 | 28 | 0.802 | 12:01 | 6 | 28 | 0.288 | 12:02 | 4 | 1 | 0.412 |
| 12:02 | 5 | 11 | 0.183 | 12:02 | 1 | 11 | 0.500 | 12:02 | 4 | 11 | 0.074 | 13:01 | 1 | 1 | 0.713 |
| 13:01 | 2 | 5 | 0.489 | 13:01 | 1 | 5 | 0.140 | 13:01 | 1 | 5 | 0.716 | 13:02 | 11 | 9 | 0.661 |
| 13:02 | 20 | 57 | 0.076 | 13:02 | 5 | 57 | 0.140 | 13:02 | 11 | 57 | 0.253 | 14:03 | 3 | 1 | 0.601 |
| 14:03 | 4 | 11 | 0.409 | 14:03 | 1 | 11 | 0.500 | 14:03 | 3 | 11 | 0.265 | 14:05 | 2 | 3 | 0.291 |
| 14:05 | 5 | 8 | 0.061 | 14:05 | 0 | 8 | 0.543 | 14:05 | 2 | 8 | 0.424 | 14:06 | 0 | 1 | 0.195 |
| 14:06 | 1 | 13 | 0.271 | 14:06 | 0 | 13 | 0.436 | 14:06 | 0 | 13 | 0.182 | 14:54 | 6 | 2 | 0.361 |
| 14:54 | 8 | 31 | 0.736 | 14:54 | 3 | 31 | 0.196 | 14:54 | 6 | 31 | 0.404 | 15:01 | 6 | 3 | 0.654 |
| 15:01 | 9 | 63 | 0.174 | 15:01 | 1 | 63 | 0.250 | 15:01 | 6 | 63 | 0.394 | 15:02 | 8 | 5 | 0.878 |
| 15:02 | 13 | 74 | 0.374 | 15:02 | 2 | 74 | 0.433 | 15:02 | 8 | 74 | 0.532 | 16:02 | 0 | 2 | 0.066 |
| 16:02 | 2 | 7 | 0.770 | 16:02 | 0 | 7 | 0.569 | 16:02 | 0 | 7 | 0.329 | | | | |

表 4. HLA-クラス II 遺伝子との関連解析：HLA-DPB1,-DQB1 遺伝子座

| 全患者 vs 健常者 HLA-DPB1* | | | | 副反応確実 vs 健常者 HLA-DPB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 健常者 HLA-DPB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 無反応(-) HLA-DPB1* | | | |
|-------------------------|---------------|----------------|-------|---------------------------|-----------------|----------------|-------|----------------------------------|---------------|----------------|-------|-------------------------------------|---------------|---------------|-------|
| Allele | (+) n=84x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | 副反応確実 n=17x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | (-) n=34x2 | p |
| 02:01 | 53 | 187 | 0.092 | 02:01 | 10 | 187 | 0.569 | 02:01 | 27 | 187 | 0.698 | 02:01 | 27 | 26 | 0.124 |
| 02:02 | 3 | 25 | 0.283 | 02:02 | 1 | 25 | 0.122 | 02:02 | 2 | 25 | 0.466 | 02:02 | 2 | 1 | 0.880 |
| 03:01 | 7 | 32 | 0.933 | 03:01 | 0 | 32 | 0.387 | 03:01 | 5 | 32 | 0.753 | 03:01 | 5 | 2 | 0.512 |
| 04:01 | 14 | 43 | 0.220 | 04:01 | 2 | 43 | 0.760 | 04:01 | 9 | 43 | 0.211 | 04:01 | 9 | 5 | 0.885 |
| 04:02 | 13 | 91 | 0.096 | 04:02 | 2 | 91 | 0.631 | 04:02 | 6 | 91 | 0.065 | 04:02 | 6 | 7 | 0.204 |
| 05:01 | 62 | 267 | 0.822 | 05:01 | 15 | 267 | 0.830 | 05:01 | 42 | 267 | 0.241 | 05:01 | 42 | 20 | 0.193 |
| 09:01 | 12 | 72 | 0.300 | 09:01 | 4 | 72 | 0.710 | 09:01 | 7 | 72 | 0.384 | 09:01 | 7 | 5 | 0.931 |
| 13:01 | 1 | 10 | 0.420 | 13:01 | 0 | 10 | 0.830 | 13:01 | 0 | 10 | 0.243 | 13:01 | 0 | 1 | 0.195 |
| 14:01 | 3 | 11 | 0.773 | 14:01 | 0 | 11 | 0.625 | 14:01 | 2 | 11 | 0.694 | 14:01 | 2 | 1 | 0.880 |
| 19:01 | 0 | 2 | 0.501 | 19:01 | 0 | 2 | 0.179 | 19:01 | 0 | 2 | 0.603 | | | | |

| 全患者 vs 健常者 HLA-DQB1* | | | | 副反応確実 vs 健常者 HLA-DQB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 健常者 HLA-DQB1* | | | | 副反応確実+疑い (+) vs 無反応(-) HLA-DQB1* | | | |
|-------------------------|---------------|----------------|-------|---------------------------|-----------------|----------------|-------|----------------------------------|---------------|----------------|-------|-------------------------------------|---------------|---------------|-------|
| Allele | (+) n=84x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | 副反応確実 n=17x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | 健常者 n=371x2 | p | Allele | (+) n=50x2 | (-) n=34x2 | p |
| 03:01 | 19 | 84 | 0.997 | 03:01 | 3 | 84 | 0.652 | 03:01 | 13 | 84 | 0.621 | 03:01 | 13 | 6 | 0.401 |
| 03:02 | 23 | 80 | 0.283 | 03:02 | 4 | 80 | 0.857 | 03:02 | 10 | 80 | 0.812 | 03:02 | 10 | 13 | 0.092 |
| 03:03 | 23 | 100 | 0.942 | 03:03 | 5 | 100 | 0.838 | 03:03 | 15 | 100 | 0.677 | 03:03 | 15 | 8 | 0.549 |
| 03:06 | 0 | 1 | 0.634 | 03:06 | 0 | 1 | 0.830 | 03:06 | 0 | 1 | 0.713 | 04:01 | 13 | 4 | 0.208 |
| 04:01 | 17 | 85 | 0.620 | 04:01 | 5 | 85 | 0.563 | 04:01 | 13 | 85 | 0.651 | 04:02 | 1 | 2 | 0.292 |
| 04:02 | 3 | 29 | 0.177 | 04:02 | 0 | 29 | 0.240 | 04:02 | 1 | 29 | 0.141 | 05:01 | 5 | 4 | 0.656 |
| 05:01 | 9 | 56 | 0.320 | 05:01 | 2 | 56 | 0.718 | 05:01 | 5 | 56 | 0.356 | 05:02 | 3 | 2 | 0.907 |
| 05:02 | 5 | 26 | 0.733 | 05:02 | 1 | 26 | 0.861 | 05:02 | 3 | 26 | 0.795 | 05:03 | 6 | 4 | 0.975 |
| 05:03 | 10 | 20 | 0.033 | 05:03 | 2 | 20 | 0.274 | 05:03 | 6 | 20 | 0.073 | 06:01 | 16 | 12 | 0.779 |
| 06:01 | 28 | 136 | 0.613 | 06:01 | 5 | 136 | 0.592 | 06:01 | 16 | 136 | 0.570 | 06:02 | 6 | 3 | 0.654 |
| 06:02 | 9 | 61 | 0.208 | 06:02 | 1 | 61 | 0.267 | 06:02 | 6 | 61 | 0.441 | 06:03 | 1 | 1 | 0.713 |
| 06:03 | 2 | 5 | 0.489 | 06:03 | 1 | 5 | 0.140 | 06:03 | 1 | 5 | 0.716 | 06:04 | 10 | 9 | 0.516 |
| 06:04 | 19 | 54 | 0.082 | 06:04 | 4 | 54 | 0.331 | 06:04 | 10 | 54 | 0.335 | 06:09 | 1 | 0 | 0.437 |
| 06:09 | 1 | 3 | 0.736 | 06:09 | 1 | 3 | 0.043 | 06:09 | 1 | 3 | 0.416 | | | | |