

後天性・血栓性血小板減少性紫斑病における日本人の疾患感受性 HLA の解析

松本雅則

奈良県立医科大学 輸血部

【研究の背景】

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) は極めて稀な致死性血栓症であり、von Willebrand 因子切断酵素である ADAMTS13 活性が著減することで、微小血管内に血小板血栓が多発し、虚血性臓器障害を来す。免疫原性 TTP (iTTP) は ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることで発症する。自己免疫性疾患においては特定のアレルの保有が疾患発症リスクとして認知されている (疾患感受性 HLA アレル)。2010 年代前半にヨーロッパ系集団の iTTP 患者を対象とした HLA タイピング結果より DRB1*11 が疾患感受性 TTP アレルと同定され、引き続き同アレルについてアレル拘束性 T 細胞エピトープの検索を目的とした *in vitro* 研究が行われている。

【目 的】

我々は日本人集団の iTTP 患者を対象とした HLA タイピング研究を行い、ヨーロッパ系集団と異なる DRB1*08:03 を疾患感受性 HLA アレルと同定した¹⁾。今回、我々は同アレルにおける拘束性 T 細胞性エピトープの *in silico* 予測および、予測結果を検証するため MHC density assay による *in vitro* 検討を行った。

【方 法】

先行研究よりヨーロッパ系集団および日本人集団における iTTP 疾患感受性アレルはそれぞれ DRB1*11:01 および DRB1*08:03 と同定された。我々は MHC-ペプチド結合予測ソフトウェアである NetMHCIIpan (ver 3.2) による *in silico* 解析を実施した。これらの予測結果は NetMHCIIpan のデータベースにおける各アレルの情報量にその精度が依存しているため、*in vitro* 実験系を用いて、予測結果の妥当性を追加で検証した。すなわち、抗原提示細胞質内の HLA-ペプチド安定性が、細胞表面の HLA-ペプチド複合体発現量に相関する原理を用いた HLA-density assay²⁾ を用いて、既報の DRB1*11:01 のアレル拘束性 T 細胞エピトープおよび NetMHCIIpan (ver 4.0) の高親和性 ADAMTS13 ペプチドの中から選出した 24 種のペプチドと各 DR 分子 (DRB1*08:03 および DRB1*11:01) の結合親和性を検討した。

【結 果】

In silico 解析結果からは DRB1*08:03 および DRB1*11:01 分子はそれぞれ異なるペプチド結合モチーフを有しており、同一のペプチドに対する結合力は異なると予想された。また、既知の ADAMTS13 アミノ酸配列に対する高親和性ペプチドの検索では、いずれの DR 分子も複数の ADAMTS13 ドメインに高親和性ペプチドが検出された。

引き続き実施した MHC density assay では各 DR 分子に対して、上記予測結果を含む 24 種の ADAMTS13 ペプチドとの結合親和性を計測した。*in silico* 解析と同様に、いずれの DR 分子とも複数の領域について結合性を示し、それらは ADAMTS13 の複数のドメインにまたがって存在することが明らかになった。また、DRB1*08:03 分子に特異的かつ非常に強く提示される領域が Spacer ドメインに存在することが示された。

【考 察】

我々は日本人集団でヨーロッパ系集団と異なる疾患感受性 HLA アレルが存在することを同定し、さらに DRB1*08:03 および DRB1*11:01 由来の各 DR 分子を対象とした *in silico* 予測結果を裏付けすべく、*in vitro* 検証を実施し、複数のアレル拘束性 T 細胞エピトープが複数の ADAMTS13 ドメインに存在することを示した。さらに、一方で、日本人集団 (DRB1*08:03) とヨーロッパ系集団 (DRB1*11:01) とでは T 細胞エピトープの多様性や提示効率が異なることが示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今後 T 細胞エピトープについてエビデンスレベルの高い同定結果が集積されれば、①分子相同性の解析により疾患の原因の特定につながる可能性 (ウイルスタンパクとの相同性など) ②抗原特異的 T 細胞のモニタリングによる疾患活動性や治療効果の評価、③改変ペプチドやナノ粒子などを使用した抗原特異的免疫治療への応用などが期待できると考えられる。

【参考・引用文献】

1. Sakai, K., M. Kuwana, H. Tanaka, et al., HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood*. 135(26): p. 2413-2419 2020.
2. Miyadera, H., J. Ohashi, A. Lernmark, et al., Cell-surface MHC density profiling reveals instability of autoimmunity-associated HLA. *J Clin Invest*. 125(1): p. 275-91 2015.