

日本人における原因不明重症急性肝炎と HLA との関連を発見

—特定の HLA タイピングにおいて本症への罹患が有意に少ない—

概要

急性肝炎は、何らかの原因により炎症性に肝細胞の破壊が起こり、肝機能が低下する病気です。肝炎ウイルス感染など原因が明らかな場合がある一方で、未だに原因が不明な「原因不明急性肝炎」と呼ばれる病態が存在します。2022年4月にWHOは、英国において主に10才未満の小児に、この原因不明急性肝炎が流行している事を報告し、世界各国に注意喚起を行ないました。また、世界的に本症に対する原因解明研究が進められました。

京都大学大学院医学研究科 外科学講座（小児外科） 岡本 竜弥 助教、同講座 岡島 英明 非常勤講師（金沢医科大学教授）、同講座 波多野 悦朗 教授らの研究グループは、本症に罹患し、京都大学病院において肝移植を行なった症例について、免疫応答に関わる重要な分子であるヒト白血球抗原（HLA）のタイピング結果を集計し、これを健常日本人のコントロールと比較しました。また、HLA分子のアミノ酸配列についても比較を行ない、疾患と関連するアミノ酸変異の有無を調査しました。その結果、特定の HLA タイピングを持つ個体で、本症への罹患が有意に少ない事を見出し、さらに、これと有意に関連するアミノ酸変異も同定しました。これらの結果は、本症の発症もしくは増悪に、HLA分子が関連する因子である事を示しており、今後の病態解明に向けた手がかりとなる可能性があります。

本研究成果は、2023年9月12日に国際学術誌「*HLA: Immune Response Genetics*」にオンライン掲載されました。

原因不明重症急性肝炎症例のHLAタイピング結果において 以下のアレルの出現頻度が有意に低い（赤、青、緑字）

10才未満小児（n=25）

HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02

10才以上小児～成人（n=47）

HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02

全症例（n=72）

HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02



HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02

この日本人集団において最も出現頻度が高いハプロタイプを持つ場合、原因不明重症急性肝炎に罹患する率が低い可能性がある。

1. 背景

急性肝炎は、何らかの原因により肝細胞が炎症性に破壊され、肝機能に障害を及ぼす病気です。多くの患者さんは内科的治療により治癒する一方で、1-2%程度の患者さんにおいては、急速に黄疸、出血傾向、意識障害などを呈する急性肝不全（劇症肝炎）と呼ばれる状態へ進行し、高率に死に至ります。唯一の救命手段は肝移植ですが、適切なタイミングで行う事が出来なければ救命は難しく、肝臓病治療における最も重要な課題の一つです。この病態を引き起こす原因としては、B型肝炎ウイルスやC型肝炎ウイルスなどの、肝炎ウイルス感染が最も多く、その他薬剤やアルコールなどの摂取、脂肪肝、自己免疫性反応などにより惹起されることが知られていますが、未だにその原因がわからない、いわゆる原因不明急性肝炎（本研究では Acute hepatitis of unknown origin : AHUO と呼称します）も一定数存在します。

2022年3月、英国の保健当局は、スコットランドにおいて2022年1月以降、10才未満の小児にこの原因不明急性肝炎（以下AHUO）が急増していることを報告しました。これを受けて、WHO（世界保健機関）も調査を開始し、本症のアウトブレイクに関する注意喚起を各国に要請しました。我が国においても、厚生労働省が研究班を立ち上げて調査を開始し、本邦においては2021年10月から2023年6月までの間に186例の報告があり、このうち3例が肝移植を受け、2例が死亡したことが明らかになりました（文献1）。

この小児におけるAHUOのパンデミックを受けて、特に英国及び米国において精力的に病態解明への研究が進められ、本疾患の患児においては、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスの共感染が高率に認められる事が明らかとなり、これらのウイルスへの感染が本疾患の引き金となっている可能性が示されました。さらにこれらの報告は、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスへの感染が、肝炎ウイルスのように直接的な肝細胞破壊を引き起こす訳ではなく、これらのウイルス感染により引き起こされた宿主側の何らかの免疫応答が、過剰な肝細胞破壊を引き起こしている可能性を示唆しました（文献2-4）。その一方で、同時期に我が国においてAHUOに罹患した患児を調査したところ、アデノウイルスへの感染を認めた症例は全症例の1割程度と低く、また、特定のウイルスに偏った感染兆候なども認められず、欧米における観察結果とは異なる結果を示しており、我が国におけるAHUOの原因は引き続き不明のままです（文献5）。

2. 研究手法・成果

私達の研究グループは、過去に当科にて肝移植を行なった重症AHUO症例の臨床データを振り返り、特にヒトの免疫系が自己由来と非自己由来の抗原を識別し、免疫応答の制御を行う上で重要な分子であるヒト白血球抗原(Human leukocyte antigen:以下HLA)のタイピング^{注1}に注目して集計し、既に報告されている健常日本人集団のHLAタイピング結果との比較を行ないました。さらに、HLA分子のアミノ酸配列に注目し、特定のアミノ酸変異とAHUOとの間の関連性について検討を行ないました。

私達はまず、英国において流行が報告された、10才未満の小児におけるAHUO症例について、過去22年間に経験した25症例を集計し、HLAタイピング及びアミノ酸配列の比較を行ないました。すると、健常日本人において最多、もしくは2番目に多い頻度で認められるHLA-B*52:01、HLA-C12:02、及びDQB1*06:01アレルが、本疾患に罹患した患児においては殆ど出現せず、タイピングの出現頻度に統計学的に有意な偏りがあることを見出しました。また、HLA-B分子及びHLA-C分子のアミノ酸配列を、健常日本人のそれらと比較したところ、特定のアミノ酸変異において、AHUOへの罹患が有意に低い事を見出しました。これらの結果は、AHUOとHLAとの間に直接的な関連がある可能性を示しています。また、特定のHLAタイピングを持つ個体がAHUOに罹患しにくい事を世界で初めて見出しました。そして、私達はこの研究結果をレター論文にまとめて報告し、2023年7月3日（中部欧州標準時）国際学術誌「Journal of Hepatology」にオンライン掲載さ

れました（文献6）。

AHUOは必ずしも小児に特有の病態ではなく、成人にも認められる病態です。私達は、成人も含めた全年齢相におけるAHUOについても、過去22年間に当科において肝移植を受けた72例（先の25例も含む）全体のHLAタイピングを集計し、同様の比較検討を行ないました。すると、特に10才以上の本症47症例の比較集計においては、HLA-A*24:02アレルの頻度が疾患群において有意に低く、また全症例72例の比較検討においては、既に報告されたHLA*B52:01, HLA-C*12:02,DQB1*06:01に加えて、DRB1*15:02アレルの頻度も疾患群において有意に低いという結果が得られました。また、アミノ酸配列の比較においては、全症例72例の比較検討において、HLA-C分子及びDQB1分子における特定のアミノ酸変異と本症への罹患率の間に有意な低下を認め、小児のみならず、全年齢層におけるAHUOとHLA分子との間に関連がある事を見出しました。

さらに、私達はこれらの結論が、もう一つの可能性を示している事に気づきました。アレルの組み合わせはハプロタイプと呼称されますが、個体のHLAタイピングは、両親から受け継ぐハプロタイプの組み合わせにより決定されます。今回AHUO症例において出現頻度が有意に低いことが判明したアレルを全て組み合わせると、HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02というハプロタイプが浮かび上がります。このハプロタイプは、健常日本人集団において8.59%に認められる最頻出のハプロタイプですが、私達が検討した72例においては、144ハプロタイプ（ハプロタイプは両親から一つずつ受け継ぐため、ヒトには2つ存在します）中に最大でも4ハプロタイプしか出現（出現率2.78%）せず、AHUO症例において日本人最頻出ハプロタイプの出現率が有意に低いことを見出しました。

これらの知見を総合すると、HLA分子とAHUOとの間に有意な関連がある事に加えて、HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02ハプロタイプを持つ個体においては、肝移植を必要とするような重症のAHUOに罹患しにくい可能性があることが、世界で初めて示されました。

これらの研究成果は、2023年9月12日13時40分（協定世界時）に国際学術誌「HLA: Immune Response Genetics」にオンライン掲載されました。

3. 波及効果、今後の予定

今回の研究成果は、ヒト免疫応答の直接の引き金となるHLA分子が、AHUOの病態と関わっている事を示す知見であり、本症の病態解明研究への新たな手がかりとなる可能性を示唆しています。その一方で、今回の研究における限界は、検討症例が全て、肝移植を必要とした極めて重症のAHUO症例に偏っている事です。厚生労働省による集計調査が明らかにした通り、AHUO症例のなかで、肝移植が必要となるような最重症例は、全体の1-2%程度と限られた症例数です。従って、軽症例も含めた全てのAHUO症例に、今回の結論が当てはまるかは不明です。その点において、HLA分子が本症の発症に関連するのか、あるいは本症の増悪に関わる要因なのかは、本研究からは不明です。さらに、ハプロタイプとの関連が示されたという事は、理屈上はハプロタイプと連鎖不平衡にある何らかの遺伝的素因もまた、本症と有意に関連する因子の候補に浮上する可能性が考えられます。そこで、HLAが本症発症に対する直接の要因であることを明らかにするためには、軽症例も含めた広範な症例でのHLAタイピングを確認する事が今後の検討課題と考えられます。さらには、本症と有意に関連する可能性があるHLA以外の遺伝的素因について、ゲノムワイドな検索を行ない明らかにする事もまた重要な検討課題です。引き続き、当研究グループにおいてこれらの検証を進めて行ければと考えております。

<参考文献>

文献 1 : 国立感染症研究所 : 複数国で報告されている小児の急性肝炎について (第 6 報). 2023. Available at : <https://www.niid.go.jp/niid/en/from-lab-e/2521-cepr/12165-hepatitis-children-6.html>

文献 2 : Ho A, Orton R, Tayler R, Asamaphan P, Herder V, Davis C et al. Adeno-associated virus 2 infection in children with non-A-E hepatitis. Nature. 2023 Mar 30. doi: 10.1038/s41586-023-05948-2.

文献 3 : Servellita V, Gonzalez AS, Lamson DM, Foresythe A, Huh HJ, Bazinet AL, et al. Adeno-associated virus type 2 in US children with acute severe hepatitis. Nature. 2023 Mar 30. doi: 10.1038/s41586-023-05949-1.

文献 4 : Morfopoulou S, Buddle S, Torres Montaguth OE, Atkinson L, Guerra-Assunção JA, Moradi Marjaneh M, et al. Genomic investigations of unexplained acute hepatitis in children. Nature. 2023 Mar 30. doi: 10.1038/s41586-023-06003-w.

文献 5 : Otake S, Ikenoue C, Sudani N, Kobayashi M, Takahashi K, Shimada T, et al. National Surveillance of Pediatric Acute Hepatitis of Unknown Etiology, Japan, October 2021–December 2022. Emerg Infect Dis. 2023 Jun;29(6):1288–1291. doi: 10.3201/eid2906.221579.

文献 6 : Okamoto T, Okajima H, Ogawa E, Yurugi K, Hatano E. The protective association of HLA-B*52:01, HLA-C*12:02, and DQB1*06:01 alleles with severe acute hepatitis of unknown origin in Japanese children. J Hepatol. 2023 Jul 3: S0168-8278(23)04930-9. doi: 10.1016/j.jhep.2023.06.007.

<用語解説>

注 1 : HLA (ヒト白血球抗原:Human Leukocyte Antigen[HLA]) タイピングについて

例えば、ヒトの赤血球に血液型があるように、白血球にも「型」が存在し、HLAはこの「型」を決定している抗原として発見されました。その後、HLAは白血球のみならず、有核細胞全てに発現しており、ヒト免疫系が自己由来と非自己由来の抗原を識別する上で重要な分子である事が明らかになり、HLAは組織適応抗原 (Major histocompatibility complex: MHC) とも呼ばれます。現在、骨髄移植や臓器移植など、非自己の細胞や臓器を治療に用いる際には、HLA「型」を確認し、移植を行なっても問題ない組み合わせであるかを確認します。この「型」を調べて決定する事を「タイピング」と言いますが、「HLA タイピング」と「HLA 型」は、ほぼ同義語です。

この HLA タイピングですが、血液型の場合は、「A 型」などですが、HLA 型の場合は、「A-B-C-DQ(B1)-DR(B1)」と組み合わせで表現します。この A や DR などは「Locus:座」と呼び、10 以上の座が存在するのですが、臨床的には A,B,C,DQB1,DRB1 の 5 座を調べる事が通常です。そのタイピングの方法ですが、それぞれの座に複数の抗原があり、当初はこれらの抗原に対応する抗体を用いて決定していました。母親由来の抗原と父親由来の抗原が両方発現しますから、「A2/A24, B35/B52,C3/C12, DQ3/DQ6, DR9/DR15」などと 2 つずつ記載されます。しかしながら、遺伝子検査の進歩に伴い、抗原を同定するよりも、PCR 法などの DNA を調べる手法で、抗原に対応する遺伝子を調べる方が、より容易で正確な HLA タイピングが可能であるため、この方法が HLA タイピングの決定法として主流となります。それぞれの座にある遺伝子 (これを Allele:アレルと呼びます) を同定してタイピングを行ない、「A*02:06/A*24:02, B*35:01/B*52:01, C*03:03/C*12:02, DQB1*03:03/DQB1*06:01, DRB1*09:01/DRB1*15:02」、などとそれぞれの座にあるアレルを 4 桁の数字で表記します。この 4 桁の数字は、HLA-A 抗原や B 抗原などのアミノ酸の配列を現しており、数字が異なればアミノ酸の配列が異なります。

ここで、もしこの表記例の母親の HLA タイピングを行なったとして、その結果が「A*02:02/A*24:02, B*35:03/B*52:01, C*03:01/C*12:02, DQB1*03:01/DQB1*06:01, DRB1*09:02/DRB1*15:02」であったとしましょう。そうすると、「A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02」が共通しています。つまり、この 5 座のアレルの組み合わせは、母親から遺伝したものであることがわかります。そうすると、残りの「A*02:06-B*35:01-C*03:03-DQB1*03:03-DRB1*09:01」は、父親から遺伝したものに相違ありません。この、親から受け継がれる HLA 座のアレルの組み合わせをハプロタイプと呼びます。この例の通り、個体のハプロタイプは、少なくともどちらか一方の親の HLA タイピングを決定して、どのアレルが受け継がれているかを確認しないと正確にはわかりません。そこで、今回私たちが報告したハプロタイプであるこの「HLA-A*24:02-B*52:01-C*12:02-DQB1*06:01-DRB1*15:02」は、私たちの決定した 72 人の HLA タイピングからは最大でも 4 ハプロタイプしか出現しない、という推定で表現する事になります。

<研究者のコメント>

小児期における原因不明急性肝炎は、以前から肝疾患の領域において重要な課題でした。疾患の初期にはありふれた胃腸かぜのような症状を呈していただけの乳幼児が、数日の経過で明らかな黄疸に進行し、更には出血傾向及び意識レベルの低下から集中治療を必要とし、救命のために緊急の肝移植を余儀なくされます。私たちの診療グループも、なぜこれほど急激な症状を来す疾患が原因不明なのか、つねに疑問を感じていました。2022 年の英国を発端とする本症の流行は、図らずも世界中の医療者、研究者にもう一度この疾患の原因究明に向けた取り組みを推進する機運をもたらし、アデノウイルスやアデノ随伴ウイルスなどの外的要因や、HLA といった有病者側の内的要因がこの疾患の誘因となっている可能性を示しました。しかしながら、私たちも含めたこれらの研究結果は、「この劇的な肝炎がどのように惹起されるのか」という問題に対する本質的な解答ではなく、「ウイルス」や、「HLA」が本症発症とどのように関連するかを追及することが、この問題の最終的な解答を得るための近道ではないか、という予想を立てたに過ぎません。この問題の最終的な解決に向けて、引き続き私たちも、本症の臨床と研究を推進して行きたいと考えております（岡本 竜弥）。

<論文タイトルと著者>

タイトル：The protective association of HLA-C*12:02 and HLA-DQB1*06:01 with severe acute hepatitis of unknown origin in the Japanese population. (日本人集団において、HLA-C*12:02 及び HLA-DQB1*06:01 は、原因不明重症肝炎に対して抑制的に関連する)

著者：Tatsuya Okamoto, Hideaki Okajima, Eri Ogawa, Masashi Kadohisa, Miki Yamamoto, Elena Yukie Uebayashi, Kimiko Yurugi, Takashi Ito, and Etsuro Hatano,

掲載誌：HLA: Immune Response Genetics. DOI : 10.1111/tan.15215