

テンソル分解による百日咳の不活化した全菌体ワクチンと無細胞ワクチンの差を示す遺伝子の推定

梅木 悠加^{1,a)} 田口 善弘^{1,b)}

概要: 現在の2種類の百日咳ワクチンはそれぞれ欠点を抱えており、安全でより長期的な防御免疫を誘導する新しいワクチンが求められている。過去の研究より、百日咳の自然感染と不活化した全菌体ワクチンによる免疫は、無細胞ワクチンによる免疫と比較して、より防御的な免疫反応を誘導することが明らかになっている。このことから、不活化した全菌体ワクチンで誘導される免疫応答は、より防御的な免疫の誘導と関連しており、新たなワクチン開発のベンチマークとして、用いることができると考えられている。そこで本研究では、乳児期における無細胞ワクチン接種者と不活化した全菌体ワクチン接種者の間で、ブースターワクチンに対する遺伝子発現の違いを明らかにするために、ブースターワクチン接種前後の末梢血単核球のRNAseqデータにテンソル分解を用いた教師無し学習による変数選択法を適用し、解析を行った。その結果、無細胞ワクチンと全菌体ワクチンの間で発現が有意に異なる227個の遺伝子が同定された。選択された227個の遺伝子をEnrichrにアップロードすると、Th1サイトカインやTh17に関連する用語が有意に濃縮された。これは過去の研究における全菌体ワクチンの特徴であるTh1とTh17誘導に一致する。したがって、本研究で同定された227個の遺伝子はワクチン間で誘導される免疫応答の差を反映したものであり、より防御的な免疫の誘導の有無と関連している遺伝子の候補となる可能性がある。

Estimation of genes that showing differences between whole cell pertussis vaccines and acellular pertussis vaccines by tensor degradation.

1. はじめに

百日咳は、近年、再流行している呼吸器系の感染症である[1]。百日咳の再流行は、ワクチン接種率が高い国でも関わらず、感染者数が増加しているため、ワクチンの効果不足が問題となっており、長期的な防御免疫を誘導する改良型ワクチンの開発が求められている[2]。新たなワクチン設計には、長期的な免疫反応を誘導する遺伝子やメカニズムへのより詳細な理解が必要になる。そこで、本研究では無細胞ワクチン(aP)接種者と不活化した全菌体ワクチン(wP)接種者の間で、ブースターワクチンに対する遺伝子発現の違いを明らかにし、より効果的な免疫反応に関連する可能性がある遺伝子の探索を目的とした。

2. データと方法

2.1 データ

アメリカ国立生物工学情報センター(NCBI)のデータベースGene Expression Omnibus(GEO)からデータシリーズ:GSE152683をダウンロードした[3]。そして、このデータを、20人のワクチン接種者、5つの時刻(接種後0日、1日、3日、7日、14日)、2つのワクチン(aPワクチンとwPワクチン)からなるファイルに整形した。このファイルは全部で $20 \times 5 \times 2 = 200$ サンプルからなり、それぞれのサンプルについて遺伝子発現量が記録されている。

2.2 テンソル分解

データにテンソル分解を適用すると、ワクチン接種者、時刻、ワクチンの種類に同時に依存する遺伝子を同定することができる。 x_{ijkl} はHigher-order singular value decomposition(HOSVD)を使って(1)式のようにテンソ

¹ 中央大学大学院理工学研究科
Chuo University Graduate School of Science and Engineering

^{a)} a18.7ay7@g.chuo-u.ac.jp

^{b)} tag@granular.com

ル分解された.

$$x_{ijkl} = \sum_{l_1=1}^N \sum_{l_2=1}^{20} \sum_{l_3=1}^5 \sum_{l_4=1}^2 G(l_1, l_2, l_3, l_4) u_{l_1 i} u_{l_2 j} u_{l_3 k} u_{l_4 l} (1)$$

$u_{l_1 i} \in R^{N \times N}$, $u_{l_2 j} \in R^{20 \times 20}$, $u_{l_3 k} \in R^{5 \times 5}$, $u_{l_4 l} \in R^{2 \times 2}$ は直交行列である特異値行列. またテンソルは $\sum_i x_{ijkl} = 0$, $\sum_i x_{ijkl}^2 = N$ となるように標準化されている. さらに $G(l_1, l_2, l_3, l_4) \in R^{N \times 20 \times 5 \times 2}$ はコアテンソルであり, i, j, k, l に対する重み G を表している.

2.3 テンソル分解を用いた教師無し学習による変数選択法

目的の遺伝子をテンソル分解を用いた教師無し学習による変数選択法を用いて探索する [4]. まず, 元データから作成したテンソルデータに, テンソル分解を適応した. そして遺伝子選択に用いる $u_{l_1 i}$ を特定するために, j に依存しない値, つまりワクチン接種者に依存しない $u_{l_2 j}$, また時刻 0 日目と区別できる $u_{l_3 k}$, さらに aP ワクチンと wP ワクチンを区別できる $u_{l_4 l}$ を選択した. これら要件を満たすことは, ブースターワクチン接種後, 変化した遺伝子の中で, ワクチン間の差を表す遺伝子を選択するために必要である.

次に, 要件を満たす l_2, l_3, l_4 が与えられたときに絶対値が最も大きい $G(l_1, l_2, l_3, l_4)$ を特定した. このようにして l_1 を選択することによって, 要件を満たす j, k, l の依存性と最も関連する $u_{l_1 i}$ を選択することができる.

最後に, カイ 2 乗検定検定を用いて, 遺伝子を選択した. 要件を満たす j, k, l の依存性と最も関連する $u_{l_1 i}$ がガウス分布に従うという帰無仮説のもとで, P 値を付与した.

$$P_i = P_{\chi^2} \left[> \left(\frac{u_{l_1 i}}{\sigma_{l_1}} \right)^2 \right] \quad (2)$$

ここで, $P_{\chi^2}[> x]$ は引数が x より大きい場合の χ^2 分布の累積分布で, σ_{l_1} は標準偏差である.

そして, Benjamini-Hochberg 法で多重比較補正してから有意水準 0.01 より小さい遺伝子を選択した. これにより, 要件を満たす j, k, l の依存性と有意に関連する遺伝子を選択することができる.

2.4 エンリッチメント解析

選択された遺伝子を, Enrichr[5] にアップロードした. Enrichr は, 複数のライブラリに対してエンリッチメント解析を行い, 濃縮された生物学的用語を順位付けするサーバーとして用いられているものである.

3. 結果

3.1 遺伝子選択

はじめに, 図 1 に示すように, 要件を満たす $l_2 = 1$, $l_3 = 2$, $l_4 = 2$ を特定した. 次に, 特定した $l_2 = 1$, $l_3 = 2$, $l_4 = 2$ を用いて, 計算された $G(l_1, 1, 2, 2)$ を一部リサッ

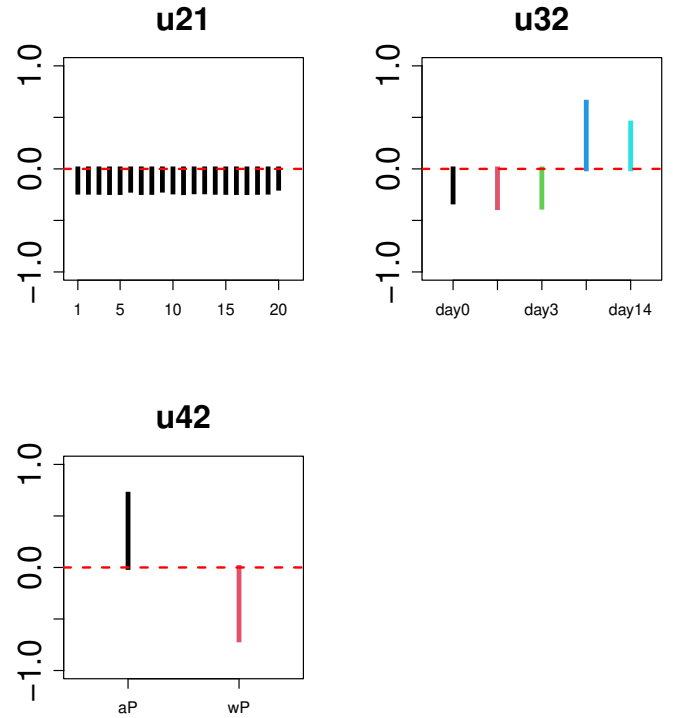


図 1 要件を満たす特異値行列

Fig. 1 Singular value matrix satisfying the requirements.

表 1 計算された $G(l_1, 1, 2, 2)$ の一部

Table 1 Part of the computed $G(l_1, 1, 2, 2)$.

l_1	$G(l_1, 1, 2, 2)$	l_1	$G(l_1, 1, 2, 2)$
1	61.721381	6	8.654405
2	32.344485	7	7.146653
3	14.301662	8	3.577691
4	45.188808	9	13.080684
5	13.108894	10	2.017871

プした (表 1). 表 1 から $G(1, 1, 2, 2)$ が最も絶対値が大きいことが分かった. これにより, 要件を満たす $l_2 = 1$, $l_3 = 2$, $l_4 = 2$ に最も関連するのが u_{l_1} だと分かったので, (2) 式を用いて P 値を付与し, Benjamini-Hochberg 法で補正 P 値を求めた. 最後に, 補正 P 値が 0.01 未満の遺伝子を抽出すると, 227 個の遺伝子が選択された (表 2).

3.2 エンリッチメント解析

選択された 227 個の遺伝子は Enrichr にアップロードされ, 以下に示すような生物学的用語が濃縮された.

3.2.1 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)

選択された 227 個の遺伝子がどのような経路にカテゴリされるのか調べるため, KEGG[6] を調査した. その結果, 本研究で扱っている百日咳はもちろん, その他複数の感染症に関連する経路が有意に濃縮されていた (表 3).

表 2 選択された 227 個の遺伝子

Table 2 Two hundred and twenty-seven genes selected .

ACTB ACTG1 ADAMTSL4-AS1 AHNAK ANXA1 APLP2 ARHGDIB ARHGEF1 ARL4C ARPC2 ATM B2M BCLAF1 BTG1 BTG2 CCNL1 CD14 CD44 CD74 CDC42SE1 CELF2 CFL1 CHD2 CLK1 CORO1A CSDE1 CSF3R CTSS CXCL8 CXCR4 CYLD CYTH1 DAZAP2 DDX17 DDX3X DDX5 DUSP1 EEF1A1 EEF2 EIF1 EIF4A2 EIF4G2 ENO1 ETS1 EVL FAU FCN1 FLNA FOS FOSL2 FTL FUS GAPDH GLUL GNLY GRK2 H3-3B HBB HCLS1 HIF1A HLA-A HLA-B HLA-C HLA-DPA1 HLA-DRA HLA-E HNRNPA1 HNRNPA2B1 HNRNPDL HNRNPH1 HNRNPK HSP90AA1 HSP90AB1 HSPA8 IL10RA IL1B IL7R ITGB2 ITM2B JAK1 JUNB LAPTM5 LCP1 LENG8 LYZ MACF1 MALAT1 MBNL1 MCL1 MPEG1 MSN MT-ATP6 MTATP6P1 MT-CO1 MTCO1P12 MT-CO2 MT-CO3 MT-CYB MT-ND1 MT-ND2 MT-ND3 MT-ND4 MT-ND4L MT-ND5 MT-ND6 MT-RNR1 MT-RNR2 MYH9 NACA NAMPT NAP1L1 NCL NEAT1 NFKBIA NFKBIZ NKTR NLRC5 NLRP1 OAZ1 OGT PABPC1 PER1 PFN1 PIK3IP1 PLEK PNISR PRRC2C PSAP PTMA PTPRC RACK1 RBM39 RGS2 RHOA RIPOR2 RNF213 RPL10 RPL10A RPL11 RPL12 RPL13 RPL13A RPL14 RPL15 RPL18 RPL19 RPL23 RPL24 RPL27 RPL27A RPL28 RPL3 RPL31 RPL32 RPL34 RPL35A RPL37 RPL37A RPL4 RPL5 RPL6 RPL7A RPL8 RPLP0 RPLP1 RPLP2 RPS11 RPS12 RPS13 RPS14 RPS16 RPS18 RPS19 RPS2 RPS20 RPS24 RPS25 RPS27A RPS29 RPS3 RPS4X RPS5 RPS6 RPS8 RPS9 S100A4 S100A8 S100A9 SARAF SAT1 SELL SF1 SF3B1 SFPQ SLC2A3 SMAP2 SMCHD1 SOD2 SON SORL1 SPOCK2 SRGN SRRM2 SRSF5 STK17B TAGLN2 TGOLN2 THBS1 TMBIM6 TMC8 TMEM123 TMSB10 TMSB4X TNFAIP2 TNFAIP3 TPM3 TPT1 TRIM22 TSC22D3 UBA52 UBC UBE2D3 VCAN VIM YWHAZ ZFP36 ZFP36L2
--

このことから選択された遺伝子は、百日咳を含む感染症になんらかの関連があるものをうまく同定できていると考えられる。また、リボソームや Th17 応答に関連した用語も有意に濃縮されていた (表 7, 表 5)。

3.2.2 Gene Ontology (GO)

次に選択された 227 個の遺伝子がどのような遺伝子機能に関連しているのか調べるため、GO[7]を調査した。その結果、Th1 サイトカインである IFN- γ や IL-12 に関連する用語が有意に濃縮されていた (表 4)。Th1 サイトカインは wP で生産されるサイトカインであることから [8]、ワクチン間の差を示す重要な遺伝子をうまく同定できていると考えられる。また、好中球に関連する用語や NF- κ B に関する用語なども有意に濃縮された (表 5, 表 6)。

3.2.3 Reactome

さらに、Reactome[9]も調査したところ、KEGG や GO で濃縮されていた用語以外にも Toll-like 受容体 4 (TLR4) に関連する用語が有意に濃縮されていた (表 6)。Toll-like

受容体 4 (TLR4) により生じる反応の連鎖は Th1 と Th17 誘導する経路として知られており、また TLR4 による一連の免疫反応は wP において誘導されることが報告されているため [10]、aP と wP の差を示す遺伝子をうまく選択できていると考えられる。

3.2.4 Jensen COMPARTMENTS

最後に、Jensen COMPARTMENTS[11]を調査したところ、KEGG や GO, Reactome で濃縮されていた用語以外にも呼吸鎖複合体に関連する用語が有意に濃縮されていた (表 8)。

4. 考察

本研究では、過去に aP と wP の接種を受けた人の、ブースターワクチン接種に対する遺伝子発現プロファイルに、テンソル分解を用いた教師無し学習による変数選択法を用いることで、過去に接種したワクチンの種類に応じて異なる発現を示す遺伝子の探索を目的とした。

選択された遺伝子を Enrichr にアップロードしたところ、以下に示すようないくつかの用語が有意に濃縮された。まず、Th1 サイトカインである IFN- γ や IL-12 について、これらのサイトカインは wP で誘導されることが分かっており、これによって引き起こされる Th1 応答の強力な免疫反応は、肺での百日咳感染防御に重要な役割を担っている [8], [12]。また強力な Th1 応答を誘導することは次世代ワクチンの設計において重要な要素であると考えられており、研究開発が進んでいる [13]。本研究においては、aP と wP で異なる発現を示す IFN- γ 関連遺伝子として HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, B2M, HLA-DRA, HLA-DPA1, JAK1, HSPA8, HSP90AA1, HSP90AB1, TRIM22, CD44, GAPDH, RPL13A などが選択されており、IL-12 関連遺伝子としては HNRNPDL, CFL1, RPLP0, HNRNPA2B1, MSN, LCP1, SOD2, JAK1 などが選択されていた。

次に、Th17 分化と好中球活性化について、これらも wP で誘導されることが分かっており、Th17 によって活性化され感染部位に誘導される好中球は、鼻腔での百日咳菌のコロニー形成を阻止するために重要な役割を果たしている [8]。鼻腔でのコロニー形成を防ぐ効果は、次世代ワクチンで誘導される効果として有望視されているものであり、現在臨床中の経鼻投与ワクチン BPZE1 も、Th17 応答を介して鼻腔でのコロニー形成を防ぐよう設計されている [14], [15]。本研究においては、aP と wP で発現の差がある Th17 関連遺伝子として NFKBIA, HSP90AA1, CXCL8, HSP90AB1, IL1B, TNFAIP3, FOS, S100A9, S100A8 などが選択されており、好中球活性化関連遺伝子としては FCN1, DDX3X, ITGB2, HBB, SLC2A3, LYZ, EEF2, CTSS, RHOA, EEF1A1, PTPRC, SELL, PSAP, CD14, S100A9, CD44, S100A8, FTL, HLA-B, HLA-C,

B2M, HSPA8, HSP90AA1, HSP90AB1 などが選択されていた。

最後に、Toll-like 受容体 4 (TLR4) と NF- κ B について、これらは wP で強力な Th1 および Th17 を誘導するために必要であることが知られている [10]。TLR4 は MyD88 シグナル経路と TRIF シグナル経路の両方を活性化し、NF- κ B を活性化する。活性化された NF- κ B は Th1 と Th17 の誘導に重要な役割を担っている [16]。TLR4 による Th1 と Th17 の誘導は、次世代ワクチンの設計においても利用されているものであり、TLR4 に結合する Lipopolysaccharide (LPS) 誘導体を含むワクチンが現在研究開発中である [17]。本研究においては、aP と wP で発現量が異なる TLR4 カスケード関連遺伝子として NFKBIA, UBE2D3, UBC, ITGB2, CD14, FOS, RPS27A, UBA52 などが選択されており、NF- κ B 関連遺伝子としては NFKBIA, CYLD, DDX3X, TMSB4X, CXCL8, IL1B, UBC, RPS3, LAPTM5, TNFAIP3, ATM, CD14, RHOA, RPS27A, S100A9, UBA52, TRIM22, S100A8 などが選択されていた。

ここでこの研究の注意点として、エンリッチメント解析の結果に Th2 関連の用語がヒットしていないことを挙げる。Th2 は aP に含まれるアジュバント (ミョウバン) によって強く誘導されることが知られており、強力に誘導される Th2 による誤った免疫反応は aP が百日咳感染を防ぐことができない主要な要因となっていることが分かっている [13]。本研究でも、これまでの報告で示されるように aP の特徴として Th2 に関連する遺伝子が含まれていることが予想されたが、選択された遺伝子の中に Th2 に関するものは含まれていないようであった。これについては、ブースターワクチンとして用いられた Tdap の影響が考えられた。過去の研究より Tdap は乳児期に接種したワクチンが aP, wP に関わらずブースト接種後の免疫維持期間を制限することが示唆されており [18]、これと Tdap も aP ワクチンの一種であり含まれているミョウバンの効果で Th2 が誘導されることを踏まえると、ブースターワクチンによって、乳児期に接種したワクチンに関係なく aP でも wP でも Th2 応答が少なからず誘導されている可能性があり、百日咳に対する有効な防御免疫の誘導を制限しているのかもしれない。とはいえ aP と wP の差として Th2 が検出されない理由は明らかではないので、選択された遺伝子の Th2 に関連した解釈には注意する必要がある。

また、本研究で検出された遺伝子のうち、過去の研究では報告されておらず、百日咳ワクチンによって誘導される遺伝子としてどんな役割をもつのか不明な遺伝子も複数選ばれていた。それらの遺伝子もいくつか以下に示す。

エンリッチメント解析の結果よりリボソームに関連する用語が複数のライブラリにおいて有意に濃縮されていた (表 7)。具体的には、RPL4, RPL5, RPL3, RPL32, RPL31, RPL34, RPLP1, RPLP0,

RPL10A, RPL8, RPL6, RPS4X, RPS14, RPL7A, RPS16, RPS19, RPS18, RPLP2, RPL37, RPS11, RPS13, RPS12, RPS9, RPS8, RPL23, RPS5, RPS6, RPL13A, RPL37A, RPL24, RPL27, RPL28, RPL10, RPL12, RPL11, RPL14, RPS3, RPL13, RPL15, RPS2, RPL18, RPS27A, RPL19, RPL35A, RPS25, RPS29, RPL27A, RPS20, RPS24, FAU, UBA52 などがリボソーム関連遺伝子として選択されていた。

また呼吸鎖複合体に関連する用語も有意に濃縮された (表 8)。具体的には MT-ND6, MT-ND4L, MT-ND4, MT-ND5, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3, MT-ND2, MT-CYB, MT-ND3, MT-ND1 などが呼吸鎖複合体に関連する遺伝子として選択されていた。しかしこれらの遺伝子が aP と wP の差としてなにを反映したものなのかは、不明のため追加で研究が必要である。

5. 結論

次世代ワクチンの設計において、百日咳感染防御に関与する遺伝子やメカニズムへの詳細な理解は、より効果的で安全なワクチンの開発のために重要なものである。本研究により選択された遺伝子群は、現在研究開発中の新規ワクチンで有望視されている免疫誘導メカニズムに関与する遺伝子を複数含んでおり、より防御的でより長期的な免疫反応に関連する遺伝子の候補となる可能性がある。

参考文献

- [1] 中野貴司: 再興感染症としての百日咳-わが国においても対策の大切さを認識しましょう-, 小児科臨床 (Japanese Journal of Pediatrics), Vol. 59, No. 7, pp. 1673-1680 (2006).
- [2] Brummelman, J. et al.: Roads to the development of improved pertussis vaccines paved by immunology, *Pathogens and Disease*, Vol. 73, No. 8 (online), DOI: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv067> (2015).
- [3] soldevila, F.: Series GSE152683, La Jolla Institute for Immunology (online), available from (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ezproxy.upec.fr/geo/query/acc.cgi?acc=GSE152683>) (accessed 2022-05-20).
- [4] Taguchi, Y.: *Unsupervised Feature Extraction Applied to Bioinformatics, A PCA Based and TD Based Approach*, Springer International (2020).
- [5] Ma'ayan, A.: Enrichr, The Ma'ayan Lab (online), available from (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) (accessed 2022-04-29).
- [6] Kanehisa, M. et al.: KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, Kanehisa Laboratories (online), available from (https://www.genome.jp/kegg/kegg_ja.html) (accessed 2022-05-20).
- [7] Paul, T. et al.: Gene Ontology (GO), The Gene Ontology Consortium (online), available from (<http://geneontology.org/>) (accessed 2022-05-20).
- [8] Wilk, M. M. et al.: Immunization with whole cell but not acellular pertussis vaccines primes CD4 TRM cells that sustain protective immunity against nasal colonization with *Bordetella pertussis*, *Emerging Microbes and*

表 3 百日咳と細菌感染症に対する KEGG でのエンリッチメント解析結果

Table 3 Results of enrichment analysis in KEGG for pertussis and bacterial infections.

Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
Shigellosis	18/246	4.55×10^{-10}	2.11×10^{-08}
Salmonella infection	18/249	5.54×10^{-10}	2.11×10^{-08}
Pathogenic Escherichia coli infection	16/197	9.57×10^{-10}	3.03×10^{-08}
Legionellosis	8/57	2.49×10^{-07}	4.74×10^{-06}
Tuberculosis	11/180	6.95×10^{-06}	6.29×10^{-05}
Pertussis	7/76	2.49×10^{-05}	1.97×10^{-04}
Yersinia infection	9/137	2.72×10^{-05}	2.06×10^{-04}

表 4 Th1 サイトカインについてのエンリッチメント解析結果

Table 4 Results of enrichment analysis for Th1 cytokines.

source	Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
GO:BP	interferon-gamma-mediated signaling pathway (GO:0060333)	10/68	4.76×10^{-09}	3.68×10^{-07}
GO:BP	cellular response to interferon-gamma (GO:0071346)	12/121	1.35×10^{-08}	9.08×10^{-07}
GO:BP	interleukin-12-mediated signaling pathway (GO:0035722)	8/46	4.38×10^{-08}	2.69×10^{-06}
GO:BP	cellular response to interleukin-12 (GO:0071349)	8/48	6.21×10^{-08}	3.71×10^{-06}
Reactome	Interferon gamma signaling Homo sapiens R-HSA-877300	10/93	1.03×10^{-07}	1.72×10^{-06}
Jensen:C	interleukin-12 complex	19/504	5.27×10^{-06}	8.29×10^{-05}

- Infections*, Vol. 8, No. 1, pp. 169–185 (online), DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2018.1564630> (2019).
- [9] Lincoln, S., D' Eustachio.Peter, Henning, H., Guanming, W.: Reactome, The Reactome group (online), available from (<https://reactome.org/about/team>) (accessed 2022-05-23).
- [10] Higgins, S. C. et al.: TLR4 Mediates Vaccine-Induced Protective Cellular Immunity to *Bordetella pertussis*: Role of IL-17-Producing T Cells, *The Journal of Immunology*, Vol. 177, No. 11, pp. 7980–7989 (online), DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.11.7980> (2006).
- [11] Binder, J., Frankild, S., Tsafo, K., Stolte, C., O'Donoghue, S., Schneider, R. and Jensen, L. J.: jensen COMPARTMENTS, COMPARTMENTS (online), available from (<https://compartments.jensenlab.org/Search>) (accessed 2022-05-25).
- [12] Ross, P. J. et al.: Relative Contribution of Th1 and Th17 Cells in Adaptive Immunity to *Bordetella pertussis*: Towards the Rational Design of an Improved Acellular Pertussis Vaccine, *PLoS PATHOGENS*, Vol. 9, No. 4, p. e1003264 (online), DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003264> (2013).
- [13] Chasaide, C. N. et al.: Next-Generation Pertussis Vaccines Based on the Induction of Protective T Cells in the Respiratory Tract, *Vaccines*, Vol. 8, No. 4, p. 621 (online), DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8040621> (2020).
- [14] Solans, L. et al.: IL-17-dependent SIgA-mediated protection against nasal *Bordetella pertussis* infection by live attenuated BPZE1 vaccine, *Mucosal Immunology*, Vol. 11, p. 1753–1762 (online), DOI: <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0073-9> (2018).
- [15] Mielcarek, N. et al.: Live attenuated *B. pertussis* as a single-dose nasal vaccine against whooping cough, *PLoS PATHOGENS*, Vol. 2, No. 7, p. e65 (online), DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020065> (2006).
- [16] Abbas, A. k., Lichtman, A. H. and Pillai, S.: 分子細胞免疫学, 原著第 9 版, Elsevier (2018).
- [17] Geurtsen, J. et al.: Lipopolysaccharide analogs improve efficacy of acellular pertussis vaccine and reduce type I hypersensitivity in mice, *Clinical and Vaccine Immunology*, Vol. 14, No. 7, pp. 821–829 (online), DOI: <https://doi.org/10.1128/CVI.00074-07> (2007).
- [18] Acosta, A. M. et al.: Tdap Vaccine Effectiveness in Adolescents During the 2012 Washington State Pertussis Epidemic, *Pediatrics*, Vol. 135, No. 6, p. 981–989 (online), DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2014-3358> (2015).

表 5 Th17 と好中球活性化についてのエンリッチメント解析結果
 Table 5 Results of enrichment analysis for Th17 and neutrophil activation.

source	Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
GO:BP	neutrophil degranulation (GO:0043312)	24/481	1.40×10^{-09}	1.22×10^{-07}
GO:BP	neutrophil activation involved in immune response (GO:0002283)	24/485	1.64×10^{-09}	1.37×10^{-07}
GO:BP	neutrophil mediated immunity (GO:0002446)	24/488	1.86×10^{-09}	1.49×10^{-07}
KEGG	IL-17 signaling pathway	9/94	1.23×10^{-06}	1.67×10^{-05}
KEGG	Th17 cell differentiation	9/107	3.65×10^{-06}	3.85×10^{-05}
KEGG	Leukocyte transendothelial migration	6/114	1.93×10^{-03}	7.96×10^{-03}

表 6 TLR4 と NF- κ B についてのエンリッチメント解析結果
 Table 6 Results of enrichment analysis for TLR4 and NF- κ B.

source	Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
GO:BP	regulation of NIK/NF-kappaB signaling (GO:1901222)	9/80	3.07×10^{-07}	1.53×10^{-05}
GO:BP	positive regulation of NIK/NF-kappaB signaling (GO:1901224)	6/53	2.94×10^{-05}	7.15×10^{-04}
GO:BP	positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity (GO:0051092)	9/155	7.14×10^{-05}	1.52×10^{-03}
GO:BP	TRIF-dependent toll-like receptor signaling pathway (GO:0035666)	5/30	2.04×10^{-05}	5.39×10^{-04}
GO:BP	MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway (GO:0002756)	5/31	2.41×10^{-05}	6.13×10^{-04}
GO:BP	response to lipopolysaccharide (GO:0032496)	9/159	8.69×10^{-05}	1.78×10^{-03}
KEGG	NF-kappa B signaling pathway	7/104	1.85×10^{-04}	1.04×10^{-03}
Reactome	Toll Like Receptor 4 (TLR4) Cascade Homo sapiens R-HSA-166016	8/122	7.72×10^{-05}	6.91×10^{-04}
Reactome	MyD88-independent TLR3/TLR4 cascade Homo sapiens R-HSA-166166	7/97	1.20×10^{-04}	9.02×10^{-04}
Reactome	TRIF-mediated TLR3/TLR4 signaling Homo sapiens R-HSA-937061	7/97	1.20×10^{-04}	9.02×10^{-04}
Reactome	Activated TLR4 signalling Homo sapiens R-HSA-166054	7/112	2.92×10^{-04}	1.83×10^{-03}
Jensen:C	NF-kappaB complex	30/864	5.14×10^{-08}	1.21×10^{-06}
Jensen:C	Lipopolysaccharide receptor complex	5/57	4.67×10^{-04}	3.80×10^{-03}

表 7 リボソームについてのエンリッチメント解析結果
 Table 7 Results of enrichment analysis for ribosome.

source	Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
GO:BP	cytoplasmic translation (GO:0002181)	50/93	7.43×10^{-74}	7.76×10^{-71}
GO:BP	peptide biosynthetic process (GO:0043043)	50/162	1.33×10^{-58}	3.96×10^{-56}
GO:BP	ribosome biogenesis (GO:0042254)	40/192	3.47×10^{-39}	5.18×10^{-37}
KEGG	Ribosome	51/158	5.87×10^{-61}	1.12×10^{-58}
Reactome	Peptide chain elongation Homo sapiens R-HSA-156902	53/84	8.49×10^{-84}	5.22×10^{-81}
Reactome	Eukaryotic Translation Elongation Homo sapiens R-HSA-156842	53/89	8.96×10^{-82}	2.75×10^{-79}
Reactome	Translation Homo sapiens R-HSA-72766	55/151	2.70×10^{-69}	9.78×10^{-68}
Jensen:C	Cytosolic ribosome	50/107	1.04×10^{-69}	1.23×10^{-66}
Jensen:C	Cytosolic part	54/205	3.86×10^{-59}	2.28×10^{-56}
Jensen:C	Ribosomal subunit	50/161	9.25×10^{-59}	3.64×10^{-56}

表 8 呼吸鎖複合体に対する Jensen COMPARTMENTS でのエンリッチメント解析結果
 Table 8 Results of enrichment analysis in Jensen COMPARTMENTS for respiratory chain complex.

Term	Overlap	P-value	Adjusted P-value
Respiratory chain	11/92	7.58×10^{-09}	2.03×10^{-07}
Mitochondrial respiratory chain	9/84	4.69×10^{-07}	9.39×10^{-06}
Mitochondrial respiratory chain complex I	6/47	1.46×10^{-05}	1.93×10^{-04}