

氏 名	うえにしひろひで 上西博英
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 1967 号
学位授与の日付	平成 10 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科生物学専攻
学位論文題目	レトロウイルスで誘発したマウス腫瘍の T 細胞標的抗原の機能解析

論文調査委員 (主 査)
教授 山岸秀夫 教授 竹市雅俊 教授 藤吉好則

論 文 内 容 の 要 旨

本研究は、腫瘍拒絶に関わる免疫系の働きについて、特に T 細胞の関わる細胞性免疫の側面からの解析を行っている。T 細胞には直接腫瘍細胞を殺傷する CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞 (CTL) や、CTL を含めた他の免疫系細胞を制御する働きを持つ CD4 陽性のヘルパー T 細胞 (Th) などがある。主要組織適合抗原複合体 (MHC) クラス I 分子上に提示された 9 残基前後のペプチドを CD8 陽性 T 細胞が、MHC クラス II 分子上に提示されたおよそ 13 残基以上のペプチドを CD4 陽性 T 細胞が MHC-ペプチド複合体の形で認識し、非自己として判別した際には標的細胞の破壊や各種サイトカインの分泌などの免疫応答が起こる。

マウスのレトロウイルスであるフレンドウイルスで誘発された腫瘍である EBL-3 の同系マウスでの拒絶においては、CTL 及び Th が関与していることが知られている。EBL-3 特異的 CTL 及び Th の標的抗原ペプチドがこれまでの研究で明らかにされてきたが、申請者はそれぞれが T 細胞によって認識される際における各残基の寄与等の分子機構について合成ペプチド等を用いての解析を行った。

EBL-3 特異的 CTL の標的抗原ペプチドは、申請者らが同定したもの以外にもう 1 種同定されている。これら 2 種の CTL の標的抗原ペプチドは 5 残基を共有して重複し、極めて疎水性が強く、かつ酸化されやすい性質を持つ。本研究においてはそれらが同一の T 細胞受容体によって認識されることを示した。また、これら 2 つの EBL-3 腫瘍特異的 CTL 標的抗原ペプチドは、一般的に知られている親水性のペプチドの主要組織適合抗原複合体 (MHC) 分子への結合モチーフと異なる様式で結合することを示した。

EBL-3 特異的 Th の標的抗原ペプチド i (Env462-479) については、その TCR による認識に必要な残基の長さについての解析を行い、EBL-3 特異的 Th 標的抗原ペプチドが活性を持つために必要な範囲として 9 残基をコア配列とする 13 残基長を同定した。更に各残基アラニン置換ペプチドを用いて MHC への結合及び TCR への認識に必要な残基を同定した。これまでにマウス MHC クラス II I-Eb 分子に結合するペプチドのコンセンサス配列等は提唱されていたが、本研究の結果は I-Eb 分子結合ペプチドの新しいモチーフを示すものである。また、EBL-3 の Th 標的抗原ペプチドと、フレンドウイルスと近縁のウイルスであるモロニー白血球ウイルスや内在性ウイルス由来のペプチドとの間の抗原特異性を決定する残基の同定を行った。この T 細胞標的抗原の解析から、T 細胞標的抗原ペプチドの MHC 分子への結合モチーフの多様性と、そのペプチド-MHC 複合体の T 細胞による認識の多様性が明らかとなった。T 細胞の標的抗原認識におけるこれらの多様性は、免疫系の攻撃対象である腫瘍やウイルス感染細胞の抗原の変異に対応しうる T 細胞の認識を許容するものである。

申請者は T 細胞による標的抗原ペプチド認識機構の解析から有効な抗腫瘍ペプチドワクチン設計への展望を示した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脊椎動物はその生体防御のために高度に発達した免疫系を保持しており、その機能は抗体や補体が担う体液性免疫と、免

疫系の細胞それ自体が主役となる細胞性免疫の二つに大別される。ウイルス感染細胞あるいは腫瘍細胞の排除においては、細胞性免疫がその主役となることが多い。細胞性免疫の理解においては、直接これら異常細胞を殺傷する細胞傷害性T細胞(CTL)だけでなく、サイトカイン等を分泌することによってCTLなどを制御するヘルパーT細胞(Th)の解析も重要となる。またT細胞がその受容体を用いて実際に認識するのは主要組織適合抗原複合体(MHC)分子と短い標的抗原ペプチドの複合体である。申請者はマウスのレトロウイルスであるフレンドウイルスで誘発された腫瘍FBL-3の系を用いて、これらCTL及びThの標的抗原ペプチドの機能解析を行った。FBL-3腫瘍特異的CTLの標的抗原ペプチドは、フレンド白血病ウイルス(F-MuLV)のgag遺伝子にコードされる非構造タンパクPr75^{gag}の小胞体輸送リーダーシグナル配列内に局在しており、これまでに2つ同定されているが、申請者はこれら2つの標的抗原ペプチドが同一のT細胞抗原受容体(TCR)によって認識されることを示した。この現象はMHCクラスI分子に提示されるペプチドとしては初めての報告である。

FBL-3腫瘍特異的Thの標的抗原ペプチドについては、F-MuLVのEnvタンパク内に2つ同定されているが、申請者は本研究において、それらの内MHCクラスII-E^b分子に提示される、iと呼称する18残基のペプチドについての詳細な解析を行った。種々の残基短縮ペプチドを用いた実験より、ペプチドiはその活性を保持するために13残基を必要とするものの、活性を有するためのコアとなる9残基の部分を持つことが明らかとなった。更に各残基の置換ペプチドを用いた実験より、ペプチドiのTCR認識に関わる残基、MHCへの結合に重要な残基を同定した。この結果から、MHCクラスII分子へのペプチド結合モチーフの多様性が示唆された。また、ペプチドiには、F-MuLVと近縁のM-MuLVやマウスの内在性ウイルスに対応した配列が存在する。しかし、ペプチドi特異的Thは、M-MuLV誘発腫瘍や、M-MuLVや内在性ウイルス由来のiに対応するペプチドには反応性を持たない。申請者は、ペプチドiと、それに対応するM-MuLVや内在性ウイルス由来ペプチドとの間の抗原特異性を決定する残基の同定を行った。F-MuLVとM-MuLVのThクローンに対する抗原特異性が主要TCR結合残基1つによって決定されているということは、ウイルスが変異によって抗原性の変化をもたらすモデルとなる。しかしペプチドiに類似する内在性抗原ペプチドの改変によるペプチドi特異的Thに対する反応性の回復が困難であることは、自己反応性T細胞の除去が比較的広範囲に行われていることを示唆するものである。

これらの研究は、*in vivo*における抗腫瘍、抗ウイルスペプチドワクチンの設計に有益なものであり、実際に*in vitro*におけるTh増殖効果と*in vivo*の抗ウイルス効果との高い相関が見られるので、実際のワクチン設計に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成10年1月19日、主論文及び参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。