

(甲)

学位論文抄録

HIV特異的細胞傷害性T細胞の抗原認識と抗ウイルス機能に関する研究
(Antigen recognition and antiviral activity of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes)

本園千尋

熊本大学大学院医学教育部博士課程病態制御学専攻ウイルス制御学

指導教員

滝口 雅文 教授
熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻ウイルス制御学

学位論文抄録

[目的]

ウイルス特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) は、T 細胞レセプター (TCR) を介してウイルス感染細胞上の MHC クラス I 分子に提示されたウイルス蛋白質由来の抗原ペプチドを認識し、それらを殺傷することによりウイルスの感染制御に重要な役割を果たしている。しかしながら、CTL の抗ウイルス機能は一様ではなく、CTL の抗原特異性によって異なることが明らかになってきた。このことは CTL が認識する抗原ペプチドの性質が CTL の抗ウイルス機能を規定していることを示唆している。本研究では、HIV-1 Nef 蛋白質由来で、同一の MHC 分子に提示され且つ構造が非常によく類似した 2 つの抗原ペプチドに対する CTL 応答を基に、どのような抗原ペプチドの性質が CTL の抗ウイルス機能制御に影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

[方法]

HIV 感染者から樹立した CTL クローンの HIV 感染 CD4⁺ T 細胞に対する抗ウイルス活性を ⁵¹Cr 放出試験により評価した。次に、CTL クローンから同定した TCR を TCR 欠損の T 細胞株に機能的に再構築し、MHC テトラマー (ペプチド・MHC 複合 4 量体) に対する結合活性ならびに抗原刺激に伴う IL-2 産生量を指標として、TCR-抗原ペプチド・MHC 複合体 (pMHC) 相互作用を解析した。

[結果]

HLA-B35 陽性 HIV 感染者でよく認識され HIV-1 Nef 蛋白質由来の 2 つのオーバーラップした抗原である VY8 (VPLRPMTY) と N 末端が 3 アミノ酸長い RY11 (RPQVPLRPMTY) に特異的な CTL 応答に着目した。VY8 特異的 CTL は、RY11 特異的 CTL に比べて、HIV 感染 CD4⁺ T 細胞に対する抗ウイルス活性が有意に高かった。抗ウイルス活性の違いが生じる原因を明らかにするため、まず TCR と pMHC の相互作用を解析した。TCR を再構築した細胞の MHC テトラマーに対する結合活性を調べたが両者に顕著な差は認められなかった。一方で、抗原ペプチドをパルスした細胞に対する T 細胞の活性化を調べたところ、VY8 特異的 TCR を発現した細胞は、RY11 特異的 TCR を発現した細胞に比べて高い活性を示すことが明らかになった。このことから、TCR-pMHC 相互作用よりも、むしろ抗原ペプチドと MHC 分子の相互作用が重要であると考えた。そこで、TCR を再構築した細胞を pMHC を検出するツールとして用い pMHC からの抗原ペプチドの離れ易さを測定した。その結果、VY8 は、RY11 に比べて HLA-B35 分子に長く結合することが明らかになった。さらに、様々な変異ペプチドを探索したところ、VY8-5A (VPLRAMTY) ならびに RY11-8A (RPQVPLRAMTY) がそれぞれ野生型ペプチドよりも、より長く HLA-B35 分子と結合し、TCR により強く認識されることを見出した。VY8-5A ならびに RY11-8A が共に Nef の 82 番目のプロリンからアラニンの 1 アミノ酸変異 (Ala-82) に起因するという利点を活かし、Ala-82 変異 Nef を発現させた CD4⁺ 細胞に対する CTL の細胞傷害活性を調べた。VY8 ならびに RY11 特異的 CTL は、共に野生型 Nef よりも Ala-82 変異 Nef を発現した細胞を効率的に殺傷することが明らかになった。このことから、抗原ペプチドが長く MHC 分子に結合することが CTL の優れた抗ウイルス機能に寄与することが示された。

[考察]

TCR-pMHC 相互作用のみならず、抗原ペプチドが pMHC の安定性を高めることを通じて CTL の抗ウイルス機能を制御することを明らかにした。このことから、pMHC の安定性を高める変異ペプチドをデザインすることで、合理的に抗ウイルス機能に優れた CTL 応答を誘導できる可能性が示唆された。

[結論]

本研究は、抗原ペプチドがペプチド・MHC 複合体を安定化させる作用を通じて、CTL の優れた抗ウイルス機能に影響することを明らかとした。