

研究題目 EB ウイルス感染不死化B細胞に発現するT細胞エピトープの同定

研究組織

研究代表者：山崎 晶（大阪大学微生物病研究所）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：石川 絵里（大阪大学微生物病研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

EB ウイルス（EBV）は世界人口の 95%が感染するウイルスで、B 細胞に潜伏感染する。EBV 感染により不死化したB細胞は健常人の体内においては細胞障害性T細胞により排除されるが、免疫機能が十分でない場合は増殖してBリンパ腫へと移行し、生命を脅かすことが知られている。しかし実際どのような TCR を持つ T 細胞が排除に寄与しているかは明らかになっていない。

我々は、EBV 感染により不死化した自家 B 細胞（EBV-LCL）に反応するヒト TCR クロノタイプを複数見出し、その拘束性 HLA も同定した。また、当該 TCR が EBV 由来抗原ではなく、EBV 感染・不死化によって新たに発現するようになったと考えられる自己抗原を認識することを示唆する結果を得た。そこで本研究では、我々が見出した EBV-LCL 特異的 TCR が LCL の制御や、EBV 関連自己免疫疾患に寄与する可能性を考え、当該 TCR が認識する抗原エピトープを同定し、この TCR を発現する T 細胞の機能を明らかにすることを目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

2023 年度の共同研究において、当該 TCR の応答が見られる培養細胞（抗原が発現していると考えられる細胞）と応答が見られない培養細胞（抗原が発現していないと考えられる細胞）にタグをつけた拘束性 HLA を発現させ、HLA 上に提示されているペプチドを質量分析により同定し、比較解析を行った。その結果、いくつかの候補ペプチドが見出されたが、合成したペプチドを用いて実際に当該 TCR が反応するか否かを検討したところ、いずれもエピトープ

ではないと考えられる結果であった。拘束性 HLA より溶出されるペプチドは膨大な種類に上ることから、本共同研究では、質量分析を行う前に溶出したペプチドを HPLC により分画し、その TCR 刺激活性を見ることで候補ペプチド含む画分を絞り込んだ後、この画分の質量分析を行うこととした。また、TCR 下流の細胞内シグナル分子に変異を入れた、これまでより感度の高い TCR 発現レポーター細胞を作製し、各分画および質量分析により同定された候補ペプチドでの刺激に用いることとした。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

分画したペプチドで感度を上げた TCR 発現レポーター細胞の刺激を行った結果、高い活性が見られた画分はなかったが、他の画分に比べ活性の高い画分および、その前後の活性の低い画分を選び、質量分析を行った。これらの画分に含まれるペプチドを比較し、活性の高い画分にはのみ含まれる、あるいは多く含まれる 28 種類のペプチドを候補ペプチドとして絞り込んだ。さらに、候補ペプチドを合成し、TCR 発現レポーター細胞の活性を検討した。このうち 1 種類のペプチドについてごく弱いながら活性が見られたものの、濃度依存的な活性は見られず、抗原エピトープではないと考えられた。

その後の詳細な検討により、当該 TCR は自己抗原ではなく、培地中のウシ血清由来成分を認識していることを強く示唆する結果が得られた。そのため、本実験方法で抗原エピトープを同定できなかったことは、妥当な結果と考えられた。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発

展性

EBV は非常に感染率の高いウイルスであり、EBV-LCL 様細胞は健常人では排除される一方、骨髄移植を含めた臓器移植後の免疫抑制剤投与時や原発性免疫不全および AIDS 患者においては、B 細胞リンパ腫へと移行することが知られている。また、加齢に伴う免疫能低下によると考えられる EBV 関連 B 細胞リンパ腫や、EBV 再活性化に伴う自己免疫疾患の発症も知られており、EBV-LCL 特異的 T 細胞はその制御に重要な役割を担っていると考えられる。

我々は、本研究に用いたヒト TCR クロノタイプ以外にも、複数の EBV-LCL 反応性 TCR クロノタイプを見出しており、その中で EBV 由来抗原や培地中の成分を認識していないことが確認できた TCR クロノタイプも複数同定した。これらの EBV-LCL 特異的 TCR クロノタイプおよび抗原の同定と、その機能解析は、EBV 関連疾患の制御に繋がることが期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

Sho Yamasaki, Antigen-specific T cell responses against infection and vaccination, 第 1 回日本サイトカイン学会国際学術集会 2024 年 7 月 25 日

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

結果的に本共同研究で行った実験手法がワークしていたかを確認することはできなかったが、今後 EBV-LCL 反応性 TCR クロノタイプの抗原エピトープの同定を目指すにあたり、確度を上げる必要があると考えている。具体的には、細胞表面分子が直接相互作用した相手分子をビオチン化する新しい手法を用いて、TCR が認識した、つまり抗原エピトープが提示されている HLA のみを精製し、そこから溶出したペプチドを解析することで、抗原エピトープ同定を目指す予定である。