

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15290

研究課題名(和文) 抗MHC抗体産生による新たな抗原特異的T細胞応答制御機構の解明

研究課題名(英文) Antigen-specific regulation of T cell response by anti-MHC antibodies

研究代表者

荒瀬 尚 (Hisashi, Arase)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：10261900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：MHCクラスII分子はペプチドをヘルパーT細胞に提示することで、免疫応答の中心的な役割を担う。一方、我々は、免疫応答においてペプチド/MHCクラスII分子複合体に対する抗体が産生されることを発見した。本研究では、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の解析を行った。その結果、特定のペプチド配列により抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が産生されること、抗原特異的なT細胞応答を阻害すること、さらに、免疫疾患モデルマウスにおいて疾患の発症が抑制されることが判明した。以上より、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体はT細胞の活性化の制御に関与している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：MHC class II molecules play an important role by presenting peptides to helper T cells. We have found that antibodies against peptide/MHC class II complex are produced during immune response. In this study, we analyzed the anti-peptide/MHC class II complex antibodies. We found that anti-peptide/MHC class II complex antibodies are produced by specific peptide sequence, block T cell response and suppress autoimmune diseases. These findings suggested that anti-peptide/MHC class II complex antibodies play an important role by suppressing T cell response.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫制御 抗体 MHC

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

MHC クラス II 分子は、ペプチドをヘルパーT細胞に提示することで、免疫応答の中心的な役割を担っている。T細胞レセプターはペプチドとMHCの双方を認識することによって、MHC拘束性を示す。一方、我々はMHCクラスII分子に提示されたミスフォールド蛋白質が自己免疫疾患で産生される自己抗体の標的になっていることを明らかにしてきた。つまり、MHCクラスII分子に提示された蛋白質抗原が抗体産生に関与していることを明らかにしてきた。

一方、以前よりT細胞レセプターと同様にペプチド・MHCクラスII分子複合体を認識するモノクローナル抗体は知られており、それらはMHCによる抗原提示機構の解析のツールとして使われてきた。しかし、通常の免疫応答では、そのような抗体が産生されるかどうかは解析されておらず、免疫学的な機能はほとんど解析されてこなかった。ところが、我々は特定の抗原に対する免疫応答では、ペプチド/MHCクラスII分子複合体に対する抗体が非常に強く産生されることを発見した。したがって、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の産生機序や抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の機能の解明が免疫応答の制御機構を解明する上で重要である。

2. 研究の目的

MHCクラスII分子はペプチド抗原をヘルパーT細胞に提示する免疫応答の中心分子である。しかし、ペプチド/MHC複合体に対する抗体応答は解析されていない。我々は、抗原とMHCクラスIIアレルによって、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が非常に強く産生されることを発見した。さらに、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体は抗原特異的なT細胞応答を阻害することが明らかになった。そこで、本研究では、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が免疫応答においてどのように産生され、どのような機能を担っているかを解明する。

3. 研究の方法

本研究では、まず蛋白質抗原のどのようなペプチド配列が抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の産生を誘導するかを解析する。そのために、蛋白質抗原のペプチドライブラリーを作成し、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体を誘導するペプチド配列のパターンを明らかにする。さらに、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体がT細胞の活性化制御に関与しているかどうかを *in vitro* および *in vivo* で明らかにする。

- ① ペプチドライブラリーを作成し、それぞれのペプチドをMHCクラスIIトランフェクタントにパルスし、それに対する抗体が産生されているかどうかを解析する。
- ② ペプチド/MHCクラスII分子複合体に対する抗体を誘導するペプチドと誘導しない

ペプチドを比べることによって、抗体誘導に関わるペプチド配列を明らかにする。

- ③ ペプチド/MHCクラスII分子複合体を認識するモノクローナル抗体を樹立する。
- ④ 抗ペプチド・MHCクラスII分子複合体抗体が、CD4T細胞の反応性にどのように影響を与えるかを解析する。
- ⑤ 抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が自己免疫疾患発症に関与するかを免疫疾患モデルマウスを用いて解析する。

4. 研究成果

抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の産生機序を解明するために、ペプチドライブラリーを用いて、抗体産生機構の解析を行った。その結果、特定のペプチド配列により抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が産生されることが判明した。

次に、どのようなペプチド配列が抗体産生に関与しているかを解析したところ、C末もしくはN末の配列が抗体産生に重要であることが判明した。

また、抗原を免疫したマウスからハイブリドーマの作成を行った所、ペプチド単独、MHCクラスII単独は認識しないが、ペプチド・MHCクラスII複合体に特異的なモノクローナル抗体を得ることができた。

さらに、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の機能を調べるために、T細胞活性化における抗体の機能を解析したところ、T細胞の抗原特異的な活性化を阻害することが判明した。

また、自己免疫疾患モデルマウスにおいても、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体に疾患の抑制効果が認められた。

以上より、免疫応答によって抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体が産生され、T細胞の活性化の制御に関与している可能性が考えられた。今後、さらに研究を進めることによって、抗ペプチド/MHCクラスII分子複合体抗体の免疫応答における機能が明らかにすることが期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

- ① 辻 英輝, 荒瀬 尚, MHCクラスIIの再発見-ネオ・セルフ:ミスフォールドタンパク質/MHCクラスII分子複合体による新たな自己免疫疾患発症機構-, The LUNG, 2017. 25(4):61-65. 査読なし
- ② Saito F, Hirayasu K, Satoh T, Wang CW, Lusingu J, Arimori T, Shida K, Palacpac NMQ, Itagaki S, Iwanaga S, Takashima E, Tsuboi T, Kohyama M, Suenaga T, Colonna M, Takagi J, Lavstsen T, Horii T, Arase H. Immune evasion of Plasmodium falciparum by RIFIN via inhibitory receptors. *Nature*. 2017. 552(7683):101-105. 査読有 DOI: 10.1038/nature24994.

- ③ 末永忠広, 荒瀬 尚, 自己抗体の新たな標的分子: ネオ・セルフ, リウマチ科, 2017. 58(3):326-333. 査読なし
- ④ Furukawa A, Kakita K, Yamada T, Ishizuka M, Sakamoto J, Hatori N, Maeda N, Ohsaka F, Saitoh T, Nomura T, Kuroki K, Nambu H, Arase H, Matsunaga S, Anada M, Ose T, Hashimoto S, Maenaka K. Structural and thermodynamic analyses reveal critical features of glycopeptide recognition by the human PILR α immune cell receptor. *J. Biol. Chem.* 2017. 292(51):21128-21136. 査読有
DOI: 10.1074/jbc.M117.799239.
- ⑤ Hiwa R, Ohmura K, Arase N, Jin H, Hirayasu K, Kohyama M, Suenaga T, Saito F, Terao C, Atsumi T, Iwatani H, Mimori T, Arase H. Myeloperoxidase/HLA Class II Complexes Recognized by Autoantibodies in Microscopic Polyangiitis. *Arthritis. Rheumatol.* 2017. 69(10):2069-2080. 査読有
DOI: 10.1002/art.40170.
- ⑥ Arase N, Tanimura K, Jin H, Yamaoka T, Kishibe M, Nishioka M, Kiyohara E, Tani M, Matsuoka S, Ohmura K, Takasugi K, Yamamoto T, Murota H, Arase H, Katayama I. Novel autoantibody against the β 2-glycoprotein I/human leucocyte antigen-DR complex in patients with refractory cutaneous ulcers. *Br. J. Dermatol.* 2018. 178(1):272-275. 査読有
DOI: 10.1111/bjd.15571.
- ⑦ 末永忠広, 荒瀬 尚, ネオ・セルフ MHC クラス II 分子による新たな自己免疫疾患発症機構, 臨床免疫・アレルギー科, 2017. 66(3):234-240. 査読なし
- [学会発表](計 22 件)
- ① 荒瀬 尚, HLA を標的とした免疫疾患の新たな治療法へ向けて, 大阪アトピー性皮膚炎談話会, コンラッド大阪(大阪), 2018 年 3 月 19 日
- ② 荒瀬 尚, ネオセルフによる新たな自己免疫疾患発症機構, 埼玉関節リウマチセミナー-2018, 川越プリンスホテル(埼玉), 2018 年 3 月 7 日
- ③ 荒瀬 尚, 顕微鏡的多発血管炎におけるミエロペルオキシダーゼ/HLA クラス II 分子複合体, 血管炎病因病態研究会, 東邦大学(東京), 2018 年 3 月 3 日
- ④ 荒瀬 尚, HLA class II-associated neo-self antigens and autoimmune diseases, 第 42 回日本研究皮膚科学会, 高知市文化プラザ(高知), 2017 年 12 月 16 日
- ⑤ Noriko Arase, Hui Jin, Yutaro Hayashi, Hiroyuki Murota, Hisashi Arase, Ichiro Katayama, Recognition of SS-A/IgG/HLA-DR complex by autoantibodies in Sjögren's syndrome, 第 42 回日本研究皮膚科学会, 高知市文化プラザ(高知), 2017 年 12 月 15 日
- ⑥ Noriko Arase, Hui Jin, Ichiro Katayama, Hisashi Arase, Recognition of SS-A/IgG/HLA-DR complex by autoantibodies in Sjögren's syndrome, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 14 日
- ⑦ Satoko Morikami, Kenji Tanimura, Noriko Arase, Kouyuki Hirayasu, Tadahiro Suenaga, Masako Kohyama, Tatsuya Atsumi, Hideto Yamada, Hisashi Arase, Prothrombin complexed with HLA class II molecules is an autoantibody target in antiphospholipid syndrome, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 14 日
- ⑧ Yuki Sasagawa, Kenji Tanimura, Hui Jin, Noriko Arase, Tadahiro Suenaga, Masako Kohyama, Kouyuki Hirayasu, Satoko Morikami, Yasuhiko Ebina, Tatsuya Atsumi, Hideto Yamada, Hisashi Arase, Antiphospholipid antibody recognizes β 2GPI complexed with HLA class II molecules via its domain V, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 14 日
- ⑨ Kazuki Kishida, Kouyuki Hirayasu, Masako Kohyama, Tadahiro Suenaga, Hisashi Arase, Antigen-specific immune regulation mediated by TCR-like antibodies, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 14 日
- ⑩ Hisashi Arase, MHC: New perspectives for an old molecule, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 14 日
- ⑪ Yuta Shimizu, Kyoko Shida, Kouyuki Hirayasu, Masako Kohyama, Tadahiro Suenaga, Hisashi Arase, Chemical compounds that specifically inhibit aberrant MHC class II expression, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 13 日
- ⑫ Tatsuya Shishido, Masako Kohyama, Kouyuki Hirayasu, Tadahiro Suenaga, Hisashi Arase, Crucial role of CD74 in hematopoietic cell differentiation, 第 46 回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター(宮城), 2017 年 12 月 12 日
- ⑬ 荒瀬 尚, 異所性 MHC クラス II 発現によるネオセルフ抗原の生成と自己免疫疾患, 第 67 回 日本薬学会近畿支部大会, 兵庫医療大学(兵庫), 2017 年 10 月 14 日
- ⑭ Hisashi Arase, HLA class II-associated neo-self antigens as a target for autoimmune disease, Science Day, Yokohama, Japan, Oct. 10th, 2017.
- ⑮ Hisashi Arase, MHC class II-induced neo-self antigens in autoimmune diseases,

RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology, Tokyo International Exchange Center, Japan, Jun. 23th, 2017.

- ⑩ Hisashi Arase, Cellular misfolded proteins transported to the cell surface by aberrantly expressed MHC class II molecules are major autoantibody targets in autoimmune diseases, AAI2017, Washington, D.C., U.S.A., May. 14th, 2017.
- ⑪ 荒瀬 尚, ネオセルフ化自己抗原による新たな自己免疫疾患発症機構, 第 61 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 福岡国際会議場 (福岡), 2017 年 4 月 21 日
- ⑫ Hisashi Arase, MHC class II-associated neo-self antigens are targets for autoantibodies in autoimmune diseases, KTCC2017, 7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference, Kyoto, Japan, Mar. 15th, 2017.
- ⑬ 荒瀬 尚, MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化と自己免疫疾患, 第 25 回日本組織適合性学会大会, 北海道大学(北海道), 2016 年 10 月 24 日
- ⑭ 荒瀬 尚, MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化を介した新たな自己免疫疾患発症機構, 第 26 回日本小児リウマチ学会総会・学術集会, 千葉市民会館(千葉), 2016 年 10 月 22 日
- ⑮ Hisashi Arase, MHC class II-associated neo-self antigens are novel targets for autoantibodies, IWAA2016, The Westin Miyako Kyoto, Japan, Oct. 11th, 2016
- ⑯ 荒瀬 尚, MHC クラス II 分子による自己抗原のネオ・セルフ化を介した新たな自己免疫疾患発症機構, 第 28 回日本神経免疫学会学術集会, 長崎ブリックホール(長崎), 2016 年 9 月 29 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://immchem.biken.osaka-u.ac.jp>

5. 研究組織

(1) 研究代表者

荒瀬 尚 (ARASE, Hisashi)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号:10261900

(2) 連携研究者

岸田 一輝 (KISHIDA, Kazuki)

大阪大学・微生物病研究所・特任研究員(常勤)

研究者番号:90755662