

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22407

研究課題名（和文）ハイスループットリンパ球抗原同定法の開発

研究課題名（英文）Development of highthrouput antigen determination method

研究代表者

城口 克之（Shiroguchi, Katsuyuki）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：00454059

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、がんなどに関わる重要な抗原を同定するために、傷害性T細胞がターゲットとする細胞（抗原を提示している細胞）を死滅させる現象を、新しい手法で捉えることを目的とした。様々な条件を試し、最終的に、再現性の高い傷害活性を計測することができた。また、この細胞殺傷活性は、マッチするT細胞受容体と抗原の組み合わせに特異的であることを示すことができた。この成果は、生物学的に重要な抗原を同定することにチャレンジする機会につながり、萌芽的な研究の成果を得られたと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫反応における抗原を同定することは、科学的だけでなく医療応用的にも重要であり、例えば、がんの撲滅へ向けた免疫治療に有効だと考えられている。本研究では、効率よく抗原を同定するために、これまでのアプローチの課題の一つを解消するための基礎技術の開発を行い、基礎的であるが重要な成果を得ることができた。本研究の成果は、今後、応用研究へ展開できる機会を得ることにつながる。ここで開発した基礎技術は、がん以外の治療に応用できる可能性もある。

研究成果の概要（英文）：In this study, for finding important antigens, we intended to measure the killing activity of cytotoxic T lymphocyte to a target cell (that presents an antigen) by developing a new method. After multiple trials, we finally measured the killing activity with high reproducibility by the new method. We also showed that this activity was specific for a matched TCR-antigen pair. These results provide us with an opportunity to identify biologically important antigens, which is valuable progress as an exploratory research.

研究分野：生物物理学

キーワード：抗原 T細胞 受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ノーベル賞の対象となった PD-1 の研究もそうであるように、様々ながん免疫治療の方法が開発されている現在、多様ながんの撲滅へ向けて、複数のアプローチを組み合わせることが重要だと考えられている。その中で、がん抗原を体内に注入して免疫システムを活性化し、自己の力によりがんを攻撃する方法は、重要なアプローチの1つである。しかしながらこの手法はまだ多くのがんに適用されておらず、その大きな原因の1つが、がん抗原の同定が困難なことにある。近年、複数のグループがチャレンジしているが、候補として調べている抗原の数に制限があり、この問題は、国際一流誌でも指摘されていた^{*1)}。

2. 研究の目的

我々は、上記の免疫治療法のボトルネックを解消するため、これまでにない高効率ながん抗原同定法を開発することを目的とした。本研究では萌芽的研究の第一歩として、傷害性 T 細胞がターゲットとする細胞 (抗原を提示している細胞) を死滅させる現象を、新しい手法で捉えることを目的とした。上記したように、がん抗原を用いた治療法のフレームワークが構築されている今、本開発は、がん抗原を用いた治療の広い適用に寄与する可能性がある。また、がん以外の治療にも応用できる可能性もある。

3. 研究の方法

- (1) T 細胞がターゲット細胞を殺傷する活性を測定できる系を構築し、条件検討を行った。
- (2) 特定の T 細胞受容体を持つ CD8⁺ T 細胞と、その受容体が認識する抗原を強発現しているターゲット細胞を共培養し、殺傷活性を計測した。
- (3) 特定の T 細胞受容体を持つ CD8⁺ T 細胞と、その受容体が認識しない抗原を強発現している細胞を共培養し、殺傷活性を計測した。
- (4) 特定の T 細胞受容体を持つ CD8⁺ T 細胞と、特定の抗原を強発現していない細胞を共培養し、殺傷活性を計測した。
- (5) 上記の共培養において、細胞の密度、計測時間などを変えて、CD8⁺ T 細胞の傷害活性を比較した。
- (6) 高い活性を得るために、CD8⁺ T 細胞の調製法を検討した。

4. 研究成果

- (1) 様々な条件を検討した結果、最終的に、CD8⁺ T 細胞の傷害活性を測定できる新しい系を構築することができた。
- (2) 上記の 3 - (2) において、多くのターゲット細胞が死滅することが分かった。同様の実験系で、上記の 3 - (3) (4) の条件では死滅する細胞が極めて少なかったため、3 - (2) の傷害活性は、抗原と T 細胞受容体のペアがマッチした場合にのみ見られることが確認できた。
- (3) 上記 3 - (5) において、計測時間とともに、死滅する細胞が増えていくことが確認でき

た。細胞の密度も重要なことが分かり、低すぎると問題があるので、高い密度を保つことにした。

(4) 上記3 - (2) (3) (4)において再現性の高い活性を得るためには、プライマリ CD8⁺ T細胞を用いると良いことが分かった。毎回プライマリ細胞を調製するのは時間がかかってしまうので、凍結したプライマリ細胞を用いた実験も実施した。解凍した後の培養条件が重要なことが分かり、その結果、再現性の高い結果を得ることができた。

これらの成果は、生物学的、医科学的に重要な抗原を同定することにチャレンジする機会につながり、萌芽的研究としての成果は十分に得られた。

<引用文献>

* 1) The problem with neoantigen prediction, Nat. Biotech. 35, 97 (2017).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------