

氏名(本籍)	はかま 袴	だ 田	たく 拓	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第2941号			
学位授与年月日	平成14年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	新しいC型肝炎ウイルス特異的細胞傷害性T細胞エピトープに関する検討			
主査	筑波大学教授	医学博士	中内啓光	
副査	筑波大学助教授	医学博士	内田和彦	
副査	筑波大学助教授	医学博士	轟健	

論文の内容の要旨

(目的)

C型肝炎ウイルス(HCV)特異的細胞傷害性Tリンパ球(CTL)はHCV感染細胞を傷害すると同時に、ウイルスを排除する。CTLはHLA class (I)に提示されたウイルス蛋白断片(8~11アミノ酸)を認識する。そこでHCV抗原のアミノ酸配列に基づき作製した合成ペプチドに対するC型慢性肝炎患者由来のCTL分画の免疫応答を検討し、新たなHCV特異的CTLエピトープの同定を試みた。

(対象と方法)

HCVの全アミノ酸配列よりHLA-A24結合モチーフに一致する8~11アミノ酸のペプチド87種を合成した。HLA-A24陽性C型慢性肝炎患者由来のCTL分画及び単球分画を分離し、各種合成ペプチド刺激に対するCTLの免疫応答をIFN- γ 産生を指標とするELISPOT assayにて評価した。また判明したエピトープを特異的に認識するCTLを患者PBMCよりクローニングし、これらのHLA拘束性をHLAハプロタイプの異なるいくつかの標的細胞パネルを用いた細胞傷害試験により検討した。

(結果)

- 1) 87ペプチドのうちp1443-1452で刺激した場合のみIFN- γ 産生応答が陽性であった。
- 2) 最小サイズのエピトープを調べるため、C末端を1アミノ酸削ったp1443-1451で検討した結果、より強いIFN- γ 産生応答が認められた。
- 3) エピトープを同定しえた患者由来のCTLクローンは、p1443-1451を添加した標的細胞のみならず、HCVタンパクを内因性に発現する標的細胞も傷害した。
- 4) 本CTLクローンのHLA拘束性はA*0206であることが明らかとなった。

(考察)

C型慢性肝炎患者末梢血リンパ球と合成ペプチドを用いたELISPOT assayにより同定したp1443-1452は、細胞傷害性を誘導できなかった。これは使用したCTLクローンの中にHLA-A24拘束性エピトープを認識するクローンが存在しなかったためと考えられる。しかし、C末の1アミノ酸を削ったp1443-1451がHLA-A*0206拘束性

HCV 特異的 CTL エピトープであることを明らかにした。HLA-A * 0206 は日本人の約 15% に発現しており、p1443 - 1451 は HCV 蛋白の比較的変異の少ない領域 (NS3 領域) に存在していることから治療ワクチン開発に向けて極めて有用なものとして期待される。

(結論)

リバースジェネティクスの手法を用いて HLA-A * 0206 拘束性 HCV 特異的 CTL エピトープ (NS3 : 1443 - 1451) を新たに同定した。一方、NS3 : 1443 - 1452 が HLA-A24 拘束性である可能性が残されており、さらに複数の CTL クローンを樹立しその特異的細胞傷害活性を検証する必要があると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

感染者数が全世界で 1 億 7 千万人と言われる HCV 感染症に対してワクチン開発の必要性が求められている。ワクチンによる治療効果の主体は CTL と考えられるため、HLA の型別の CTL エピトープの同定が必要とされる。しかしながらこれまでの研究は欧米人で頻度の高い HLA-A2 に関するものがほとんどで、日本人で頻度の高い HLA-A24 などについてエピトープが同定されていない。本研究は、こういった状況を打破するためにリバースジェネティクスの手法を用いて新しいエピトープの同定を試みたものである。細胞傷害性試験に使用する患者由来の CTL クロンの数と種類に限りがあったため、当初の目的である HLA-A24 拘束性エピトープは未だ同定できていないが、日本人の 15% が持つ HLA-A0206 に拘束された新しいエピトープを同定することに成功している。HCV に対するワクチン療法の開発につながる重要な知見である。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。