

氏 名 (本籍)	宮 川 史 (奈良県)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与の要件	博士第415号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位論文題目	Essential Contribution of Germline-Encoded Lysine Residues in J γ 1.2 Segment to the Recognition of Nonpeptide Antigens by Human γ δ T cells (ヒトγ δ 型T細胞が非ペプチド性抗原を認識する際にはJγ 1.2部位のジャ- ムラインにコードされたリジン残基が必要である)

審査委員	主査 教授	小笠原 一 誠
	副査 教授	佐 藤 浩
	副査 教授	瀬 戸 昭

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

ヒトγ δ 型T細胞による非ペプチド性抗原の認識においてはVγ 2、Jγ 1.2、Vδ 2の3要素が必須である。今回、TCRの欠損したJurkat細胞 (J. RT3-T3.5) にγ δ 型T細胞受容体遺伝子を導入した系を用いて、CDR3領域に位置するJγ 1.2の抗原認識における役割を検討した。

### 【方 法】

健康成人末梢血から単核球を調製し、RT-PCR法によりT細胞受容体γ鎖およびδ鎖を得た。δ鎖を一定にして様々なγ鎖をTCR欠損型Jurkat細胞 (J. RT3-T3.5) に導入し、受容体からのシグナルをIL-2の産生を指標にして解析した。また、γ鎖に点変異を導入し、抗原認識に関与するアミノ酸残基の検討を行った。

### 【結 果】

Jγ 1.2をもつtransfectantでは非ペプチド性抗原 (エチルピロリン酸、イソブチルアミン、パミドロネート) の刺激によりIL-2の産生がみられたが、Jγ 1.1、Jγ 1.3をもつtransfectantではIL-2の産生はみられなかった。また、Jγ 1.2に存在するK<sub>1</sub>K<sub>2</sub>IK<sub>3</sub>配列のリジン残基K<sub>1</sub>およびK<sub>2</sub>をグルタミン酸Eにかえたtransfectantでは非ペプチド性抗原に対する反応性が消失した。K<sub>3</sub>をEにかえたγ鎖はδ鎖と会合せず、K<sub>3</sub>に変異をもつtransfectantは樹立できなかった。

### 【考 察】

Jγ 1.2をもつtransfectantは、V、N、J regionの配列に関わらず非ペプチド性抗原に反応することより、Vγ 2Jγ 1.2Vδ 2型T細胞による非ペプチド性抗原の認識においては、germlineにコードされた3構成要素そのものが重要であり、遺伝子再構成の際のjunctional diversityは抗原認識能獲得のためには必須ではないことが明らかになった。また、Jγ 1.2に存在するプラスチャージのK<sub>1</sub>あるいはK<sub>2</sub>をマイナスチャージのEにかえると抗原に対する反応性が消失したことより、K<sub>1</sub>あるいはK<sub>2</sub>が抗原認識に重要な役割をすることが明らかとなった。K<sub>3</sub>をEにかえたγ鎖はδ鎖と会合しなかったことより、K<sub>3</sub>はδ鎖との相互作用に関係していると考えられた。

γ δ TCRの3次構造および今回のデータより、K<sub>1</sub>とK<sub>2</sub>は分子表面に出ており、K<sub>3</sub>は反対の方向を向いて分子内に埋没していると考えられる。今回のデータから判断すると、ピロリン酸モノエステル系抗原の認識の場合は、K<sub>1</sub>およびK<sub>2</sub>に直接ピロリン酸残基が相互作用することが示唆され、アルキルアミン系抗原の認識の際には、K<sub>1</sub>およびK<sub>2</sub>に無機リン酸がブリッジした形で挿入され、そこで生じたマイナスチャージにアルキルアミンが相互作用すると考えられた。以上のことから、TCRの同一部位で両非ペプチド性抗原がともに認識されることが示唆された。

## 【結 論】

V $\gamma$ 2とJ $\gamma$ 1.2との間のjunctional diversityに関わらず、非ペプチド性抗原が特異的に認識された。また、J $\gamma$ 1.2に存在するK<sub>1</sub>K<sub>2</sub>IK<sub>3</sub>配列のK<sub>1</sub>あるいはK<sub>2</sub>が抗原認識に重要な役割をすることが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

ヒト $\alpha\beta$ 型T細胞は抗原提示細胞上のMHC／抗原性ペプチド複合体をT細胞受容体依存的に認識する。一方、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞はMHC非拘束的に非ペプチド性抗原を直接認識するといわれているが、どのような抗原認識機構を有するのか正確にはまだ明らかにされていない。

本研究では、 $\gamma$ 鎖のCDR3領域を形成するJ領域の抗原認識における役割を検討するために、gene transfer studyを行った。その結果、V $\gamma$ 2J $\gamma$ 1.2を有する $\gamma\delta$ 型T細胞受容体のみがピロリン酸モノエステル系化合物等の非ペプチド性抗原を認識することが明らかとなった。さらに構造学的解析に基づいた考察から、J $\gamma$ 1.2領域に存在する2つのリジン残基が抗原認識に関わっている可能性があると考えられた。そこでリジン残基に点変異を導入し抗原認識機構への関与を検討したところ、連続するふたつのリジン残基が抗原認識に必要であることが明らかとなった。

この成果はヒト $\gamma\delta$ 型T細胞の抗原認識機構の解明に寄与するところが多大であり、本論文は博士（医学）の学位論文に値するものである。

なお、本学位授与申請者は、平成14年2月12日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた。