The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	T cell fate decisions by TCR avidity
Author(s)	近藤, 健太
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55749
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　近藤健太　）	
論文題名	T cell fate decisions by TCR avidity (TCR aviditiyによるT細胞運命決定の制御)

論文内容の要旨

T cell receptor (TCR) avidityは、T細胞の運命決定において重要であることが知られている。しかしながら、多くの研究は外来抗原特異的T細胞を用いており、自己抗原特異的T細胞の運命決定におけるTCR avidityの重要性については十分に理解されていない。この問題を解決するため、我々は典型的な自己抗原かつ高い免疫原性を持つWilms' tumor gene 1 (WT1)タンパクをモデル抗原として採用した。また、野生型WT1タンパクは様々な癌で高発現し、免疫療法の標的抗原となることより、WT1特異的$CD8^+$T細胞の運命決定、つまり分化制御機構の解明は、新たな癌免疫療法の開発に貢献すると期待される。

本研究において、我々は、野生型マウスにMHC class Iエピトープである$WT1_{126}$ペプチド (a.a.126-134,RMFPNAPYL)を免疫することで誘導されたWT1特異的$CD8^+$ T細胞からTCR familyが一致した異なるTCR1とTCR2を単離し、TCR1およびTCR2を単一に発現するT細胞を胸腺で発生する骨髄キメラマウス(TCR-Retrogenic mice: Rgマウス)を作製することで、WT1特異的$CD8^+$T細胞の分化制御機構の解明を試みた。Rgマウスの作製に先立ち、$CD8^+$T細胞にTCR1とTCR2を遺伝子導入し、それぞれのTCRの$WT1_{126}$ペプチドへの反応性を評価したところ、どちらのTCR導入$CD8^+$ T細胞も$WT1_{126}$ペプチド-MHC class I　tetramer (WT1 tetramer) に結合し、$WT1_{126}$ペプチド刺激によりサイトカインを産生することから機能的なTCRであることが確認された。さらに、
$WT1_{126}$ペプチドに対するTCR avidityを評価するためにeffective dose 50 (ED50)を調べた結果、TCR1導入$CD8^+$ T細胞が0.75μM、TCR2導入$CD8^+$T細胞が1.27μMであった。これにより、TCR1導入$CD8^+$T細胞の$WT1_{126}$ペプチドに対するTCR avidityは、TCR2導入$CD8^+$ T細胞よりも約1.69倍高いことが明らかとなった。このTCR aviditiyの差により、WT1特異的$CD8^+$ T細胞の運命決定に違いが生じるのでないかと考え、Rgマウスを作製した。TCR1を用いて作製したRgマウス(TCR1-Rgマウス)およびTCR2を用いて作製したRgマウス(TCR2-Rgマウス)において、$CD8^+$ T細胞は正常に胸腺で発生し、また、$WT1_{126}$ペプチド刺激により増殖・サイトカイン産生が認められた。*In vitro*で作製されたTCR1導入$CD8^+$ T細胞とTCR2導入$CD8^+$ T細胞の$WT1_{126}$ペプチドに対するTCR aviditiyの差がRgマウス由来$CD8^+$ T細胞においても認められるか調べた結果、*in vitro*で作製されたTCR導入$CD8^+$ T細胞と同様、TCR1-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞のTCR aviditiyは、TCR2-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞より高く、その差は約1.65倍であった。興味深いことに、$WT1_{126}$ペプチドに対するaviditiyが高いTCR1-Rgマウス由来$CD8^+$T細胞は、aviditiyが低いTCR2-Rgマウス由来$CD8^+$T細胞と比較して、メモリーやエフェクターT細胞の頻度が高く、強いIFN-γ産生能を有していた。一方、TCR2-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞は、TCR1-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞に比べてナイーブT細胞の頻度が多く、これと一致して未分化なT細胞が多く産生するIL-2の産生能が高かった。RgマウスにおけるCD8+T細胞の機能の差は、ポリクローナルなT細胞やB細胞が存在するより生理的な環境に近いRgマウスにおいても再現された。重要なことに、この生理的な環境に近いRgマウスにおいて、TCR1-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞は*in vitro*でWT1を発現する癌細胞を傷害したが、TCR2-Rgマウス由来$CD8^+$T細胞は細胞傷害活性を示さなかった。これらの結果から、高いaviditiyを有するTCR1-Rgマウス由来$CD8^+$ T細胞は、自発的に分化・活性化しメモリーおよびエフェクターT細胞になることが明らかとなった。

本研究において、同一の遺伝子背景でTCRのみが異なるRgマウスモデルを用いることで自己・腫瘍抗原であるWT1特異的$CD8^+$ T細胞の運命決定、つまり分化制御にTCR aviditiyが重要な役割を果たすことがはじめて明らかとなった。この知見は、自己・腫瘍抗原特異的T細胞の分化制御機構の解明に大きく寄与すると期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　近藤　健太　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　寄附講座教授	尾路　祐介
	副 査　教授	岩谷　良則
	副 査　教授	戸邉　亨

論文審査の結果の要旨

本研究は、獲得免疫の主たる担い手であるT細胞の分化について、T細胞レセプター(TCR)と抗原の親和性を表すTCR aviditiyがT細胞の分化に及ぼす影響を検討した免疫分野の基礎的研究である。論文の概要は下記の通りである。

T cell receptor (TCR) avidityは、T細胞の運命決定において重要であることが知られている。しかしながら、多くの研究はOVAタンパクなどの外来抗原特異的T細胞を用いており、本来の意味での自己抗原特異的なT細胞の運命決定におけるTCR avidityの重要性については十分に理解されていない。本研究では典型的な自己抗原かつ高い免疫原性を持つWilms' tumor gene 1 (WT1)タンパクをモデル抗原としてWT1 に対するTCR aviditiyがＴ細胞の分化について及ぼす影響を*in vitro*および*in vivo*で検討した。

まず、野生型マウスにMHC class IエピトープであるWT1-126ペプチド (a.a.126-134,RMFPNAPYL)を免疫することで誘導されたWT1特異的CD8$^+$ T細胞からTCR familyが一致した異なるTCR1とTCR2の遺伝子を単離した。CD8$^+$ T細胞にTCR1とTCR2遺伝子を導入し、それぞれのTCRのWT1-126ペプチドへの反応性を評価したところ、どちらのTCR導入CD8$^+$ T細胞もWT1-126ペプチド-MHC class I tetramer (WT1 tetramer) に結合し、WT1-126ペプチド刺激によりサイトカインを産生することから機能的なTCRであることが確認された。さらに、WT1-126ペプチドに対するTCR avidityを評価するためにeffective dose 50 (ED50)を調べた結果、TCR1導入CD8$^+$ T細胞が0.75μM、TCR2導入CD8$^+$ T細胞が1.27μMであり、TCR1導入CD8$^+$ T細胞のWT1-126ペプチドに対するTCR avidityは、TCR2導入CD8+ T細胞よりも約1.69倍高いことが明らかとなった。

次に、TCR1とTCR2を遺伝子導入した骨髄細胞を骨髄移植し、これらのTCRを単一に発現するT細胞を胸腺で発生する骨髄キメラマウス(TCR-Retrogenic mice: Rgマウス)を作製することで、WT1特異的CD8$^+$ T細胞の分化制御機構の解明を試みた。TCR1およびTCR2を用いて作製したRgマウス(TCR1-RgマウスおよびTCR2-Rgマウス)のいずれにおいても、 CD8$^+$ T細胞は正常に胸腺で発生し、WT1-126ペプチド刺激により増殖・サイトカイン産生が認められた。TCR1-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞のTCR aviditiyは、*in vitro*で作製されたTCR導入CD8$^+$ T細胞と同様、TCR2-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞より高く、その差は約1.65倍であった。興味深いことに、WT1-126ペプチドに対するaviditiyが高いTCR1-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞は、aviditiyが低いTCR2-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞と比較して、メモリーやエフェクターT細胞の頻度が高く、強いIFN-γ産生能を有していた。一方、TCR2-Rgマウス由来CD8+ T細胞は、TCR1-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞に比べてナイーブT細胞の頻度が多く、これと一致して未分化なT細胞が多く産生するIL-2の産生能が高かった。さらに、RgマウスにおけるCD8$^+$ T細胞の機能の差は、ポリクローナルなT細胞やB細胞が存在するより生理的な環境に近いRgマウスにおいても再現された。重要なことに、この生理的な環境に近いRgマウスにおいて、TCR1-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞は*in vitro*でWT1を発現する癌細胞を傷害

したが、TCR2-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞は細胞傷害活性を示さなかった。これらの結果から、高いavidityを有するTCR1-Rgマウス由来CD8$^+$ T細胞は、自発的に分化・活性化しメモリーおよびエフェクターT細胞になることが明らかとなった。

本研究において、同一の遺伝子背景でTCRのみが異なるRgマウスモデルを用いることで自己・腫瘍抗原であるWT1特異的CD8$^+$ T細胞の運命決定、つまり分化制御にTCR avidityが重要な役割を果たすことがはじめて明らかとなった。本研究で明らかになったTCR avidityによるT細胞分化の決定は、自己・腫瘍抗原特異的T細胞の分化制御機構について重要な知見であり、また、今回確立した実験系は、腫瘍免疫に関与するT細胞の分化やその維持についての実験モデルとしても有用であると考えられる。

以上のように本研究の科学的価値は高く、学位授与に値する内容であると認める。