



Title	A TCR-like antibody against a proinsulin-containing fusion peptide ameliorates type 1 diabetes in NOD mice
Author(s)	松本, 有史
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81924
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	松本 有史
論文題名 Title	A TCR-like antibody against a proinsulin-containing fusion peptide ameliorates type 1 diabetes in NOD mice (プロインスリン配列を含有する融合ペプチドに対するTCR様抗体が、NODマウスにおける1型糖尿病発症を遅らせる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>1型糖尿病 (T1D) は、インスリンを分泌する膵臓β細胞が破壊されることによって引き起こされる、自己免疫疾患の一つである。膵臓β細胞由来の抗原に応答する自己反応性 T 細胞は、T1D の発症において中心的な役割を果たすと考えられてきた。T1D の病因解明のために使用されてきた NOD マウスは、T1D 発症に不可欠なユニークな MHC class II 分子として、I-Ag7 を有している。これは、I-Ag7 に特異的に提示される特定のペプチド抗原が、NOD マウスの T1D 発症に関与していることを示している。NOD マウスにおける膵臓β細胞で発現しているペプチド抗原を標的とする CD4T 細胞クローンの中で、一部の糖尿病誘発性 T 細胞クローンは、インスリン C ペプチド配列とクロモグラニン A (Chg A) などの他のタンパク質のペプチド配列によって構成される融合ペプチドを認識する。これらの融合ペプチドは、ハイブリッドインスリンペプチド (HIP) と名付けられている。たとえば、BDC2.5 および BDC10.1 といった NOD マウスから単離された糖尿病誘発性の T 細胞クローンは、インスリン C ペプチド配列と Chg A のペプチド配列で構成されている HIP (2.5HIP) を認識する。さらに、ヒト T1D 患者から単離された CD4T 細胞クローンも、同様の融合ペプチドを認識する。これは、一部の糖尿病誘発性 CD4T 細胞が、NOD マウスだけでなくヒト T1D 患者でも MHC クラス II 分子に結合した融合ペプチドによって活性化されていることを示唆している。ただし、特定の融合ペプチドが T1D の病因に直接関与しているかどうかは不明なままであった。そこで我々は、本研究において 2.5HIP / MHC class II 複合体に対する TCR 様のモノクローナル抗体を作製し、T1D における HIP の関係性を解明することを目的とした実験を行なった。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>2.5HIPをNODマウスに免疫したところ、そのマウスの血清中には2.5HIPだけではなく、2.5HIP/I-Ag7複合体に対する抗体も産生されていることを見出した。そこでハイブリドーマ技術を用いて、2.5HIP/I-Ag7複合体に特異的に反応するモノクローナル抗体 (mAb) を作製した。この抗体の機能を確かめるために、糖尿病誘発性のT細胞クローンとして知られているBDC2.5やBDC10.1のTCRを発現するNFAT-GFPレポーターT細胞を作製し、これらの糖尿病原性TCR陽性レポーターT細胞が、実際に2.5HIP/I-Ag7複合体を認識することを確認した。次に、2.5HIP/I-Ag7複合体に特異的なmAbがBDC2.5-およびBDC10.1-TCR陽性レポーターT細胞の反応を阻害するかを検討したところ、mAbの濃度依存性にBDC2.5-およびBDC10.1-TCR陽性レポーターT細胞の2.5HIPに対する認識が阻害された。この結果から、2.5HIP/I-Ag7複合体に特異的なmAbは、糖尿病誘発性T細胞の活性化を抑制することのできるTCR様抗体としての機能を持っていることが示された。さらに、我々はこのmAbがin vivoにおいてNODマウスの糖尿病発症を抑制することができるかどうかを確かめるために、プレ糖尿病期のNODマウスに2.5HIP/I-Ag7複合体に特異的なmAbを投与したところ、mAb投与群ではアイソタイプコントロール投与群に比べて糖尿病に進展するNODマウスの割合が有意に低下した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>2.5HIP/I-Ag7 複合体に特異的な TCR 様抗体が、糖尿病原性 T 細胞の働きを阻害し、プレ糖尿病期の NOD マウスにおける糖尿病の進展を阻害することが示された。これらのことから、2.5HIP は T1D 発症において重要な役割を担っている主要な自己抗原であることが示唆された。また、本研究では TCR 様の mAb を評価するために、新しい NFAT-GFP レポーターシステムを開発した。このシステムを応用することにより、フローサイトメトリーでより簡便に TCR の機能解析を行うことができると考えられる。さらに本実験では、一つの自己抗原のみをターゲットにする TCR 様抗体で主要な糖尿病原性 T 細胞応答を阻害することにより T1D を抑制できることが示された。これは、TCR 様抗体が自己免疫疾患の有効な治療開発に繋がる可能性を示唆している。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 松本 有史				
		(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	荒瀬 尚	査 長
	副 査	大阪大学教授	山崎 晶	査 長
	副 査	大阪大学教授	竹田 潔	査 長
論文審査の結果の要旨				
<p>1型糖尿病に関わる自己抗原としてインスリンペプチドと、クロモグラニンAのペプチド配列が融合してできたハイブリッドインスリンペプチド (HIP) が知られている。本研究ではフランキング領域を付加したHIPを1型糖尿病のモデルマウスであるNODマウスに免疫して作成したハイブリドーマから、HIP/I-Ag7複合体に特異的なTCR様モノクローナル抗体を樹立した。このTCR様モノクローナル抗体は、HIPを認識する糖尿病原性T細胞の働きを阻害し、プレ糖尿病期のNODマウスにおける糖尿病の進展を阻害することが示された。これらのことから、HIPはNODマウスにおける1型糖尿病発症において重要な役割を担っている主要な自己抗原であることが示唆された。さらに本研究では、一つの自己抗原をターゲットにするTCR様モノクローナル抗体で主要な糖尿病原性T細胞応答を阻害することにより1型糖尿病発症を抑制できることが示された。これは、TCR様抗体が自己免疫疾患の有効な治療開発に繋がる可能性を示唆している。本研究論文は、査読科学雑誌である「Biochemical and Biophysical Research Communications」に投稿され受理された。これは学位論文に値するものであると考えられる。</p>				