

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

再発性多発軟骨炎における II 型コラーゲン特異的細胞障害性 T 細胞関与  
の可能性に向けた CTL エピトープの予測解析

分担研究者 尾崎承一（聖マリアンナ医科大学  
リウマチ膠原病アレルギー内科教授）

**研究要旨：**再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。現在までの報告では標的臓器である軟骨に存在する II 型 collagen に対する抗体の存在報告はあるが、細胞障害性 T 細胞 (CTL) の関与を示す報告はない。この CTL の関与の可能性を検討する為に、日本人における代表的な組織主要適合因子である HLA-A2、HLA-A24 における CTL エピトープの予測検索をおこなった。この予測検索の結果 HLA-A24 においては、HLA との十分な結合力をもつ CTL エピトープは存在しなかったものの、HLA-A2 では、Type II collagen (12-20)、LLTLLVAAV および Type II collagen (1411-1419)、LLIQGSNDV の 2 つペプチドモチーフが発見された。今後これらのペプチドモチーフを人工合成し、ELISPOT などによる反応が、HLA-A2 陽性 RP 患者でのスクリーニング検索で有用である可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

再発性多発軟骨炎（relapsing polychondritis、以下 RP）は、原因不明で稀な難治性疾患であり、重症例では時に致命的となる。その病態像として、時に抗 Type II collagen 抗体の存在も指摘されているが、Kraus らの報告 (Arthritis & Rheumatism, 48: 2942, 2003) では、治療経過に平行して、Th 1 サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-12, IL-2) が血清レベルで変化しているとした報告を考慮すると、Th2 を主体とした抗体介在性の病態機序よりも、T 細胞を中心とした病態生理を検索する必要があると考えられる。細胞障害性 T

細胞 (CTL) は、CD4T 細胞とともに、Th 1 の主体をなす T 細胞である。一方、現在では Bioinformatics の発達により、これら CTL のエピトープの候補をよそおき解析することが可能となっている。今回我々は、ヒト Type II collagen に対して、日本人における代表的な主要組織適合因子である HLA-A24 と HLA-A2 に関して、Bioinformatics の手法を用いて、Type II collagen の構造中に、有力な CTL エピトープの候補が存在するかどうかを検討した。

#### B. 研究方法

検索時に使用するヒト Type II collagen のアミノ酸配列は、Cheah K. らの報告(PNAS 82, 2555, 1985)に基づいたアミノ酸配列 (COL2A1, 1487 AA) を使用した。また、予測解析計算は、米国国立衛生研究所の Bioinformatics and Molecular Analysis Section が公開している HLA Peptide Binding Predictions を使用した。

### C. 研究結果

表 1 に予測解析結果を示す。HLA-A2 拘束性の代表的な CTL エピトープである HIV-1 p17 Gag77-85 epitope, SLYNTVATL (Score157.227) と比較した場合、HLA-A24 拘束性 CTL エピトープにおいては有力な CTL エピトープになりうるペプチドモチーフの存在予測は出来なかった。しかし、HLA-A2 拘束性 CTL エピトープについては、COL2A1 (12-20) の LLTLLVAAV (Score 271.948) および、COL2A1(1411-1419) の LLIQGSNDV (Score 118.23.8) が SLYNTVATL とほぼ同等あるいはそれ以上の結合性を予測出来る結果を得た。

### D. 考察

RP は、原因不明で稀な難治性疾患である。組織学的には診断に特徴的な所見はみられないものの、軟骨周囲には多くのリンパ球浸潤が認められる。また、血清サイトカインも Th1 パターンを示すことから、T 細胞がその病態形成において大きく関わっていることが推察される。我々

は、Th1 細胞の 1 つである CTL の関与の可能性を検索する最初的手段として今回の解析をおこなった。HLA-A24 では有力な CTL エピトープの候補を呈示することは出来なかったが、HLA-A2 では、2 つの有力な CTL エピトープとなりうる候補を見つけ出した。このエピトープに CTL エピトープとしての抗原性を持ちうるかどうかを HLA-A2 トランスジェニックマウスにおいて確認後、ヒト末梢血を用いた ELISPOT にてさらにヒトでの抗原性を示すことが出来るかどうかを今後の重要な課題となる。

### E. 結論

ヒト Type II collagen 蛋白における HLA-A24 および HLA-A2 拘束性 CTL エピトープの予測解析をおこない、HLA-A2 において 2 つの CTL エピトープ候補となる配列を見いだした。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ヒトType II collagenにおけるHLA-A2, A24拘束性CTLエピトープの予測解析

1) HLA-A2

Rank	Start Position	Subsequence Residue Listing	Score (Estimate of Half Time of Disassociation of a Molecule Containing This Sequence)
1	12	LLTLLVAAV	271.948
2	1411	LLIQGSNDV	118.238
3	11	VLLTLLVAA	71.872
4	3	RLGAPQTLV	69.552
5	9	TLVLLTLLV	69.552
6	1365	NLAPNTANV	69.552
7	1373	VQMTFLRLL	23.814
8	1399	YLDEAAGNL	20.951
9	1323	CVYPNPANV	19.475
10	15	LLVA AVLRC	19.425

2) HLA-A24

1	1358	HFSYGDDNL	20.000
2	989	RGERGF PGL	14.400
3	620	KGLPGAPGL	14.400
4	707	RGSPGAQGL	11.520
5	68	ICEDVKDCL	10.080
6	275	RGFPGTPGL	9.600
7	1133	RGFTGLQGL	9.600
8	515	RGFPGQDGL	9.600
9	1130	KGHRGFTGL	9.600
10	1237	QYMRADQAA	9.000