



SARS-CoV-2 の T 細胞エピトープ探索

研究代表者：宮寺 浩子（筑波大学医学医療系）

1) 研究期間

中期型（2020年5月25日～2021年3月31日）

2) 応募時の目的・目標・達成イメージなど

本研究は SARS-CoV-2 Spike 抗原の T 細胞エピトープ候補領域を見出すことを目的として行った。これまでに我々は HLA クラス II（ヒト白血球抗原クラス II）（HLA II）結合ペプチドの新規測定系を確立し、この手法が CD4+T 細胞エピトープの判別に有用であることを見出した。そこで本研究ではこの手法を用いて Spike 抗原中の HLA II 結合領域を明らかにしようと考えた。

ワクチンによりウイルス感染防御能を獲得するためには、ワクチン抗原が樹状細胞の HLA II を介して提示され、これを認識する CD4+T 細胞を介して B 細胞、memory T 細胞が作られる必要がある。HLA II はペプチドを結合して T 細胞受容体に提示する役割を担う（図 1）。HLA による抗原提示は一連の獲得免疫応答の最初の段階であるため、Spike 抗原中の HLA 提示領域を明らかに出来れば、この知見はワクチン開発に有用である。通常、T 細胞エピトープを明らかにするためには、HLA 遺伝型が既知の多数の患者検体を用いた免疫アッセイが必要となるが、本研究で用いる HLA II 結合測定は培養細胞を用いて抗原提示能を定量化し、結合測定値が一定の閾値以上を示すペプチドを T 細胞エピトープ候補として絞り込むことが出来るため、患者末梢血を用いた T 細胞アッセイが困難な疾患での T 細胞エピトープ予測に有用である。本研究では東アジア集団に高頻度で認められる HLA-DP5 および、欧米・インド等の多様な集団で高頻度に認められる HLA-DP0401 を解析対象として、Spike 全領域について HLA クラス II 結合領域の探索を行い結合領域を見出すことを達成目標とした。

3) 本プログラムで実施した研究の内容と成果

ワクチンによりウイルス感染防御能を獲得するためには、ワクチン抗原が樹状細胞の HLA クラス II（ヒト白血球抗原クラス II）（HLA II）を介して提示され、これを認識する CD4+T 細胞を介して B 細胞、memory T 細胞が作られる必要がある。HLA II はペプチドを結合して T 細胞受容体に提示する役割を担う（図 1）。本研究では、「Spike 抗原中のどの領域が HLA II に提示されやすく、T 細胞に認識されやすいのか」を明らかにすることを目的として、我々がこれまでに開発した HLA II-ペプチド結合測定法（図 2、3）を用いて、Spike 全領域について HLA クラス II 結合領域を探索した。東アジア集団に高頻度で認められる HLA-DP5 アリルおよび、欧米・インド等の多様な集団で高頻度に認められる HLA-DP0401 アリルを解析対象とした。Spike は巨大な分子であるため、患者検体を用いた T 細胞応答解析を Spike 全領域について詳細に行うことには多大な労力を伴うが、本研究では培養細胞を用いたアッセイで T 細胞エピトープ候補領域の知見を得ることが出来るため、効率よく T 細胞エピトープ領域候補を探索することが出来る。また、従来法では測定困難な疎水性領域

の結合解析も可能である。Spike は構成アミノ酸の約 47%が疎水性アミノ酸残基であるため、従来法（合成ペプチドを用いた結合解析・T細胞アッセイ）では解析困難な領域についても、T細胞エピトープを新たに見出せる可能性がある。

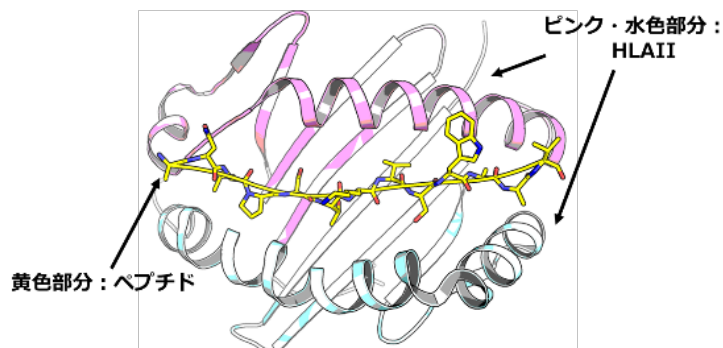


図1 HLA II とペプチド複合体の立体構造の例 (PDB: 1 UVQ)

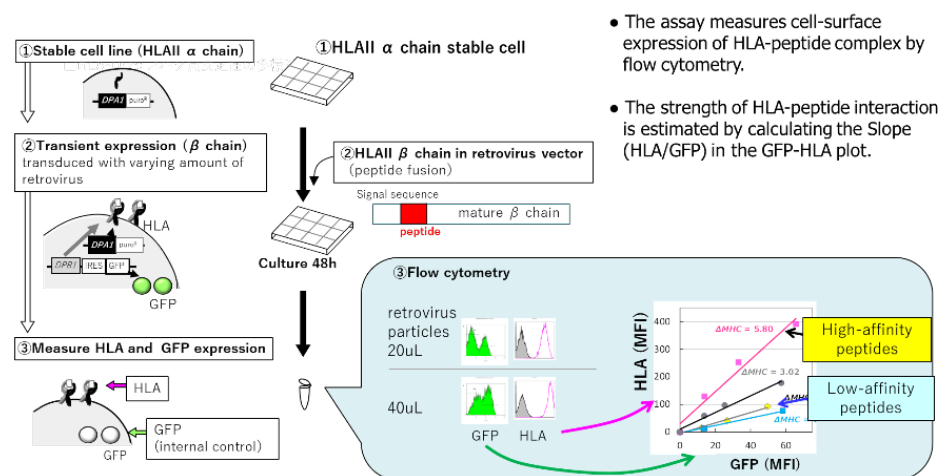


図2 本研究で用いた HLAII-ペプチド結合測定法

- 211 peptides (15 mer) that cover the entire Spike protein were analyzed.

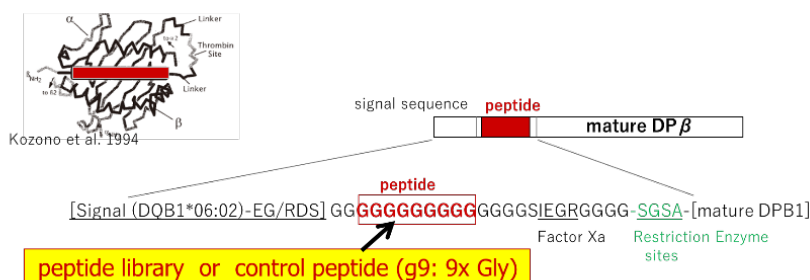


図3 HLAII-ペプチド融合タンパク質の概要

本研究の結果、これまでに HLA II が結合しうる複数の領域を見出し、その一部は米国での先行研究で報告された Immunodominant 領域および、SARS-CoV について報告されている既知の T 細胞エピトープ領域と重複した。これらの先行研究での解析対象 HLA アリルは本研究での解析対象アリ



ルとは異なるため、結果の解釈には注意が必要であるものの、これまでに得られた結果は、本手法が SARS-CoV-2 の T 細胞エピトープ探索に有用であることを示唆するものであった。本研究で得られたデータセットは免疫応答解析で重点的に解析すべき領域を示す指標として有用であるだけでなく、今後、新規変異株やワクチンエスケープ株が出現した場合、その機序探索にも寄与しうる可能性がある。

4) 研究業績・研究広報

Miyadera, H, and Jiang N. 2021. HLA class II binding analysis for SARS-CoV-2 Spike through cell-surface MHC density assay. Presented at: *Virtual IMMUNOLOGY 2021™, Annual Meeting of The American Association of Immunologists, May 5-15, The American Association of Immunologists, Inc.*,

5) 最新の成果・情報

筑波大学「知」活用プログラムウェブサイト>宮寺 浩子

https://www.osi.tsukuba.ac.jp/fight_covid19/miyadera/

インタビュー記事

https://www.osi.tsukuba.ac.jp/fight_covid19_interview/miyadera/