

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

移植 (1999.01) 34巻1号:1～13.

HLA分子結合ペプチド
—免疫及び疾患感受性制御をめざして—

佐藤啓介, 小林博也, 片桐 一

HLA 分子結合ペプチド

—免疫および疾患感受性制御をめざして—

佐藤 啓介・小林 博也・片桐 一

I. はじめに

HLA 分子は、移植抗原であると共に、生体内で抗原性ペプチドを結合して T 細胞の分化、活性化に関わる免疫制御分子である。従ってペプチドに対する T 細胞の免疫応答に起因する疾患については、HLA 分子が疾患感受性の個体差を規定する遺伝的要因となり得る。これまでに明らかにされてきた HLA と相関を有する疾患の一部では、その相関の分子機構が HLA 分子に対応するペプチドの結合性と T 細胞の活性化から理解される可能性がある。ここでは、HLA 分子の立体構造とそこに結合する抗原性ペプチドについて述べ、次いで HLA と相関する疾患について、患者 T 細胞を活性化するペプチドを解析した例を紹介した。

II. HLA の基本的性状

HLA 分子は細胞膜に存在する糖蛋白質であり、それらの構造および機能上の特徴によりクラス I 分子とクラス II 分子に分けられる。クラス I 分子は細胞膜貫通型の H 鎖と $\beta 2$ -microglobulin ($\beta 2$ -m) から成り、これには HLA-A, -B, -C 分子が属する。クラス II 分子は両鎖共膜貫通型の α 鎖と β 鎖から成り、これには HLA-DR, -DQ, -DP 分子が属する。これらのクラス I および II 分子の細胞外側部分は、分子サイズ約 1 万の 4 個のドメインに分けられる。クラス I 分子は、赤血球、精子、卵母細胞を除く全身の有核細胞に発現されている。移植片の除去に際し、キラー T 細胞 (Tc) の標的分子として重要な機能を有している。クラス II

表 1 HLA の基本的性状

	クラス I 分子 HLA-A, -B および -C 抗原	クラス II 分子 HLA-DR, -DQ および -DP 抗原
構 造	糖蛋白質 M.W. 43,000 (H 鎖) M.W. 12,000 (β_2 -m)	糖蛋白質 M.W. 35,000 (α 鎖) M.W. 27,000 (β 鎖)
生物学的性状	全身の臓器組織 (赤血球を除く) に発現。 主要移植抗原。 免疫学的自己認識。 Tc へ抗原提示。	限られた組織細胞に発現。 移植抗原。 免疫学的自己認識。 Th へ抗原提示。
遺 伝 子 座	H 鎖: 第 6 染色体の HLA 複合体の A, B, C 座。 β_2 -m: 第 15 染色体	第 6 染色体の HLA 複合体の DR, DQ, DP 座。

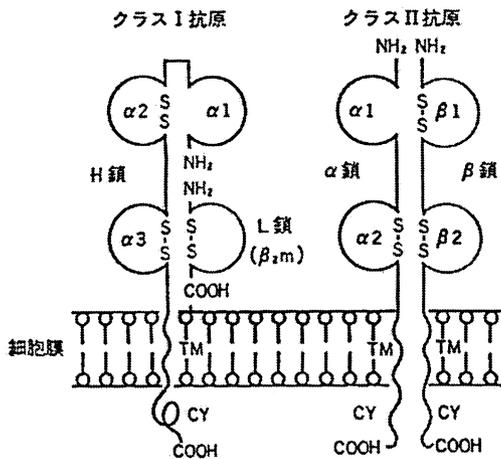


図 1 HLA 抗原の模式図

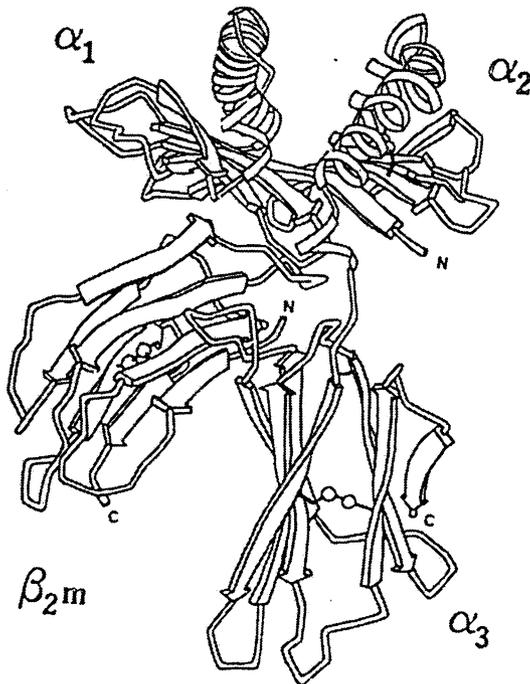


図 2 HLA-A2 分子の立体構造

分子はマクロファージ、B細胞、活性化T細胞等の限られた細胞・組織に発現され、抗原提示分子として、ヘルパーT細胞(Th)への抗原提示に重要な役割を果たしている。HLA分子は、両者とも移植抗原として働き、そして生体内ではT細胞の分化・活性化を介して免疫応答を制御している(表1、図1)。

III. HLA 分子の立体構造

Bjorkmanら(1987)は、クラスI分子(HLA-A2)を結晶化し、そのX線解析により立体構造を明らかにした¹⁾。A2分子は似た構造を有する2対のドメインから成り、 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ は細胞外側先端部に、 $\alpha 3$ と $\beta 2$ -mは膜に近接して存在していた(図2)。 $\beta 2$ -mと $\alpha 3$ ドメインは逆平行 β -strand構造をとり、 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ ドメインは β -strand構造の他に α ヘリックス構造をとっている。

HLA-A2分子を上方から見た構造を模式的に図3に示した。 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ は、それぞれ4個の β -strandと長い α -ヘリックス構造を有している。その結果底面を β -strand構造、側面を α -ヘリックス構造で囲まれた、長さ25Å、幅10Å、深さ11Åの溝を形成している。そしてこの溝に抗原性ペプチドが結合することが示された(図3)。

HLAクラスI分子およびクラスII分子が属する各遺伝子座には多数の対立遺伝子が存在し(HLAの多型性)、対立遺伝子産物間の違いはアミノ酸残基の違いとして表現される。このアミノ酸の違いはこの溝の構造部分に集中して存在する。

Brownら(1993)はHLAクラスII分子であるDR1分子を結晶化し、その立体構造を明らかにした²⁾。DR分子は、HLA-A2分子と基本的に同様な構造をしている。DR1分子にも β -strand構造を底面とし、 α ヘリックス構造で囲まれた溝が存在している。そして溝の両端は開いた形を取っている。DR分子 β 鎖には著明な多型性が見られる。現在知られているDR β 鎖のアミノ酸配列を比較し、アミノ酸の置換の見られる位置を検討すると、ほとんどはこの溝に集中している。DR1分子、A2分子の結晶解析によるとこれらの溝に未知なるペプチドが結合していた。そしてA2分子には、アミノ酸8~9個から成るペプチドが結合し、DR1分子にはそれより大きい、アミノ酸15個から成るペプチドが結合していた(図4)。

HLA分子の多型性、即ちアミノ酸の置換は溝に集中している。この一次構造の違いは結合するペプチドを選択し、特定のアミノ酸のペプチドのみを結合してT細胞を活性化する。従ってHLA分子はペプチドに対するT細胞の免疫応答を規定する遺伝要因として働いていると考えられる。

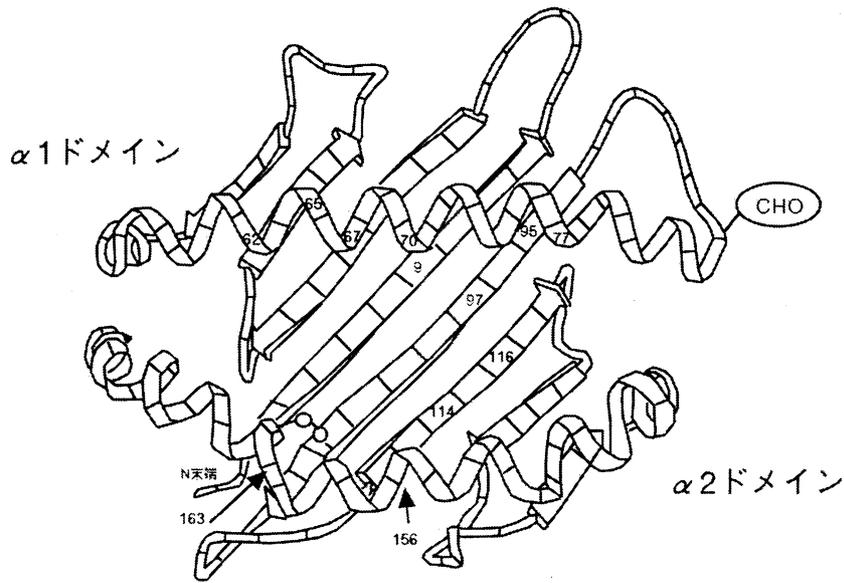


図 3 HLA-A2 分子を上方からみた構造

HLA クラス I 分子のアミノ酸置換による変異の多い部位を N 末端側からのアミノ酸番号で示している。

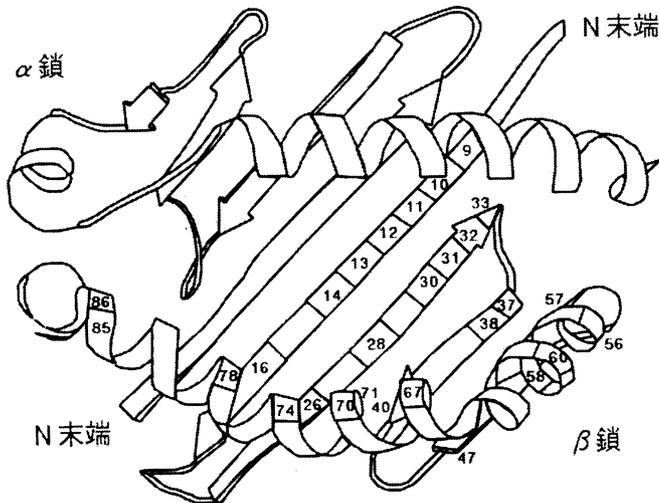


図 4 HLA-DR 分子アレル間のアミノ酸置換部位
DR β 鎖の N 末端側からのアミノ酸番号で示している。

IV. HLA 分子の溝構造と結合ペプチド

Falk ら (1991) は、HLA クラス I 分子に結合しているペプチドのアミノ酸配列を決定した²⁾。そして、

HLA クラス I 分子の多型性に対応して結合しやすいペプチドが明らかになり、その後ライブラリー法や置換法を利用して結合に関わるペプチドの中のアミノ酸残基とその位置 (アレル特異的結合モチーフ) が明ら

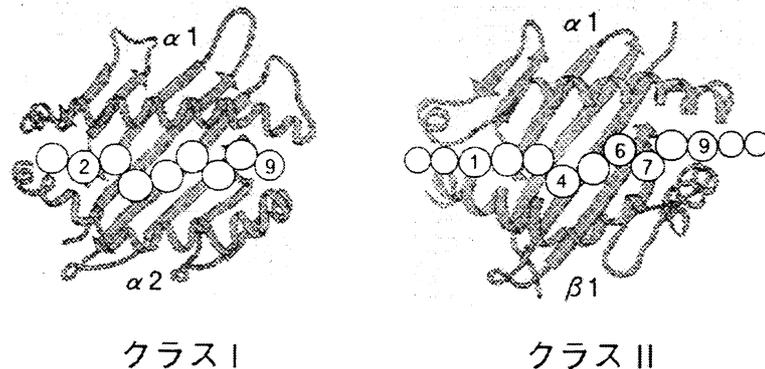


図5 HLA分子と結合ペプチドの模式図
ペプチドの結合モチーフ部位とそのアミノ酸のポジションを番号で示している。

かにされた。多くのクラスI分子では、ペプチドの結合部位としてN末端側から2番目と9番目(または10番目)のアミノ酸が溝の両端にあるポケットに結合している。そして表に示したようなペプチドのアリル特異的結合モチーフが報告されている(図5, 表2)。

Sternら(1993)は、HLAクラスII分子DR1を結晶化し、X線解析を行った。ペプチド結合溝の左端に大きなポケット(第一ポケット)があり、その右方に浅く小さなポケットが4個存在すると報告した⁴⁾。われわれは、日本人に高頻度にみられ、そして免疫応答が関わる疾患と相関を有するHLA-DR9およびDR4分子について、それぞれに結合している十数種類のペプチドのアミノ酸配列を決定した^{5,6)}。Sternらの報告を参考にして、大きな第一ポケットに結合するペプチドN末端側の疎水性アミノ酸を決め、これに続くC末端側にみられる共通のアミノ酸をペプチドの結合モチーフと推定した(表3)。

DR9分子では、N末端側の疎水性アミノ酸から4番目にセリンまたはアラニンが位置し、この位置に極小アミノ酸を有することがDR9分子への結合に特徴的と推定した。DR4分子では、N末端側の疎水性アミノ酸としてチロシン残基があり、そしてそのC末端9番目または10番目にアスパラギン酸が認められ、この位置に酸性アミノ酸があることが重要とみなされた。その他のHLAクラスII分子について、それぞれのアリル特異的モチーフが報告されており、表に示した(表4)。それぞれのDR分子のアリルに対応して、ペプチドのN末端側の疎水性アミノ酸からC末端側4番目、6番目、7番目、9番目に結合モチーフが存在し

ている。また、HLAクラスII分子のDQ, DPについてもこれまでに報告されているアリル特異的モチーフを表5に示した。

V. HLAと相関を有する疾患と HLA分子結合ペプチド

これまでに多数の疾患と特定のHLAの相関が明らかにされてきた。一部の疾患では、その相関の分子機構がHLA分子の多型性に対応する抗原性ペプチドのHLA分子との結合性をT細胞の活性化から説明される可能性がある(表6)。

白樺花粉症はHLA-DR9と弱い相関を有し、北海道、北欧、北米にみられるI型アレルギー疾患である。花粉抗原のうち17kDaフラグメント(Bet vI)は患者血清中のIgE抗体と強く反応し、主要な抗原性フラグメントである。このフラグメントは160個のアミノ酸からなる(図6)。このアミノ酸配列をもとにして、アミノ酸15個からなるオーバーラッピングペプチドを合成してHLA-DR9を有する患者リンパ球との反応を解析した。患者リンパ球からフラグメントに反応する2種類のT細胞クローンを樹立した。それぞれのクローンはフラグメントの80番から87番までの配列、109番から117番までの配列をリンパ球増殖反応に重要な配列として認識した。これらの配列にはTyr...Ser, Pro...GlyというDR9分子結合モチーフがみられた。17kDaフラグメント中には、IgE産生促進に働くT細胞を活性化するアミノ酸配列が存在し、そしてそこにはDR9分子結合モチーフが存在するために白樺花粉症とDR9との相関がみられるものと推測し

表 2 HLA クラス I 分子結合モチーフ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	REF
A*0101		TS	DE	P			L		Y		11,12
A*0201		LM				V			VL		3,13,14
A*0205		VLIM				IVLA			L		15
A*0301		LVM	FY			IMFVL	ILMF		KYF	K	16,17,18,19,20
A*1101		VIFY	MLFYIA				LIYVF		K	K	11,16.20
A*2402		YF			IV	F			FWLI		18,19
A*2601	DE	VTIFL				ILVM			YF		21
A*2602	DE	VTIFL				ILVFYM			YFML		21
A*2603	E	VTIFL				FILVY			YFML		21
A*2902		E	F						Y		22
A*31012		LVYF	FLYW			LFVI			R		11
A*3302		AILFYV							R		11
A*68		VT							RK		23,24
B*0702		P	R	E					L		25
B*0703		P	R					E	L		25
B*0705		P	ALM						L		25
B*08			K		KR				L		26
B*1501		QL			IV				FY		27
B*1516									IVYFM		28
B*2702		R							FYILW		29,30,31,32
B*2705		R							LF		33,34
B*2707		R							L		35
B*3501		PA							YFMLI	Y	36,37
B*3503		P							MLF		38
B*3701		DE			VI			FML	IL		36
B*3801		H	DE						FL		39
B*39011		RH				IVL			L		39
B*3902		KQ			ILFV				L		39
B*40012		E					IV		L		27
B*4006		E	FILVYW			I			V		27
B*4402		E							FY	FY	40
B*4403		E							YF	YF	40
B*5101		PAG							IVLMF		41
B*5102		PAG	Y						IV		41
B*5103		APG	Y						VIF		41
B*5201		Q	FYW		LIV			IV	IV		41
B*5301		P							FL		42,43
B*5801		AST		PEK	VILMF				FW		27
B*7801		PAG				ILFV			A		41
C*0301			VIYLM			FY			LFMI		44
C*0401		YPF				VIL			LFM		44
C*0602					ILFM	VIL			LIVY		44
C*0702		YP			VYILFM	VILM			YFL		44
HLA-E	VMA	MLAV	APD	PRG	RST	TL	LV	L	L		45
HLA-G		IL	P						L		46

表 3 HLA-DR 4 と DR 9 分子結合モチーフの比較

DR 分子	結合に重要なアミノ酸残基			
	1	4	6	9
DR 9 (DRB1 * 0901)	YFWL	AS		LI
DR 4 (DRB1 * 0405)	YWLV	MIVL	TV	DQE

表 4 HLA-DR 分子結合モチーフ

	1	3	4	6	7	9	Ref
DRB1*0101	YFWM		ALM	AGSTCP		ILAMYW	4,47,48,49,50
DRB1*0102	ILVM		ALM	AGSTCP		ILAMYW	51
DRB1*1501	IVL		FYI		ILVMF		52
DRB1*0301	LIFMV		D	KREQN		YFL	53,54,55
DRB1*0401	FLVWY		MAVL	NST	LQMN		56,57,58
DRB1*0402	VILM			NQST			56
DRB1*0405	FLVY			NQST		DE	6,56
DRB1*1101	YFW		LVMAFY	RKH		AGSP	58,59
DRB1*1104	ILV		LVMAFY	RKH		AGSP	51
DRB1*1201	ILFYV	LMNVA		VYFINA		YFMIV	49
DRB1*1301	IVF		YWLVAM	RK		YFAST	51
DRB1*1302	YFVAI		YWLVAM	RK		YFAST	51
DRB1*0801	FILVY		HRK				50
DRB1*0901	YFILMW		ASHTV				5,60
DRB3*0202	YFIL		N	ASPDE		LVISG	51
DRB3*0301	ILV		N	ASPDE		ILV	51
DRB4*0101	K		I		RK	I	61
DRB5*0101	YFLM		QVIM			RK	52,62,63

表 5 HLA-DQ, -DP 分子結合モチーフ

	1	3	4	5	6	7	8	9	Ref
DQA1*0501/DQB1*0201	IL		EDA		PA	EDWA		WYA	64,65,66
DQA1*0501/DQB1*0301	FYIM			VLIM		YFLM			49
DQA1*0301/DQB1*0301		AGST		ALVI					67
DQA1*0302/DQB1*0401	VLIW						R	R	68
DQA1*0301/DQB1*0302	YEDTSQ		WAVID		AVIR	TIKEDQN		EDQPN	69,70
DQA1*0301/DQB1*0303	Y		W				TRVLI		70
DPA1*0201/DPB1*0401	FLYM				FLYM			VYIA	49
DPA1*0102/DPB1*0201	FLMVVY			FLMY			IAMV		71

表 6 HLA と疾患の相関

疾 患	相関する HLA	抗原頻度 (%)		相対危険率
		患者	健康者	
白樺花粉症	DR 9	67	38	2.1
	DQ 3	71	42	2.1
重症筋無力症 (小児)	DR 9	19	27	9.9
	DQ 3	98	51	52.7
インスリン依存性 糖尿病 (IDDM)	DR 4	61	39	2.6
	DR 9	42	26	2.1
	DR 53	83	55	3.9
Graves 病 Vogt-小柳-原田病	DQ 4	74	32	6.0
	DR 5	30	5	7.5
	DR 4	90	32	19.2
Behcet 病	DR 53	100	53	74.6
	B 51	61	21	5.8
潰瘍性大腸炎 Crohn 病	DR 2	70	33	4.9
	DR 4	62	37	3.0
高安病	DQ 3	68	52	2.0
	DR 2	77	35	6.0
Burger 病	DQ 1	96	70	9.9
	DR 2	84	35	9.8
尋常性乾癬 尋常性天疱瘡	DQ 1	100	70	19.0
	Cw 6	36	4	11.5
強直性脊椎炎 慢性関節リウマチ	A 26	42	17	3.4
	DR 4	49	32	2.0
ナルコレプシー	B 27	67	0	305.6
	DR 4	71	42	3.5
	DR 2	100	34	358.1

た⁷⁾。

Vogt-小柳-原田病は、肉芽腫性葡萄膜炎、皮膚白斑症等をきたすメラノサイトに対する自己免疫疾患である。この疾患は HLA-DR 4 および DR 53 と強い相関を有している。メラニン合成に関わる Tyrosinase に着目し、このアミノ酸配列をもとにして合成したペプチドに反応する患者 T 細胞ラインを得た。この T 細胞ラインは HLA-DR 4 分子を介して、Tyrosinase の N 末端側 193 番から 203 番目までの配列を認識した。そしてその重要配列には、DR 4 結合モチーフとみなされる W……E という配列が存在していた。この Vogt-小柳-原田病患者は、自己の Tyrosinase に反応する T 細胞を有しており、この T 細胞は DR 4 分子を

介して活性化された⁸⁾。活性化 T 細胞が病態形成に関与していると推測され、今後症例を増やして更に検討をすすめている。

VI. おわりに

HLA とその結合ペプチドの臨床応用は、クラス I 分子では腫瘍およびウイルス疾患の治療、クラス II 分子ではアレルギーおよび自己免疫疾患へと展開している。

腫瘍に用いられた最初の例としては、Kawakami らによるメラノーマの治療である。多くのメラノーマ特異抗原はすでに治療に応用されており、患者の樹状細胞を用いて in vitro で患者末梢血リンパ球から CTL

1	Met	Gly	Val	Phe	Asn	Tyr	Glu	Thr	Glu	Thr	Thr	Ser	Val	Ile	Pro
					20										30
	Ala	Ala	Arg	Leu	Phe	Lys	Ala	Phe	Ile	Leu	Asp	Gly	Asp	Asn	Leu
										40					
	Phe	Pro	Lys	Val	Ala	Pro	Gln	Ala	Ile	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ile
					50										60
	Glu	Gly	Asn	Gly	Gly	Pro	Gly	Thr	Ile	Lys	Lys	Ile	Ser	Phe	Pro
										70					
	Glu	Gly	Phe	Pro	Phe	Lys	Tyr	Val	Lys	Asp	Arg	Val	Asp	Glu	Val
					80										90
	Asp	His	Thr	Asn	<u>Phe</u>	<u>Lys</u>	<u>Tyr</u>	<u>Asn</u>	<u>Tyr</u>	<u>Ser</u>	<u>Val</u>	<u>Ile</u>	Glu	Gly	Gly
										100					
	Pro	Ile	Gly	Asp	Thr	Leu	Glu	Lys	Ile	Ser	Asn	Glu	Ile	Lys	Ile
					110										120
	Val	Ala	Thr	<u>Pro</u>	<u>Asp</u>	<u>Gly</u>	<u>Gly</u>	<u>Ser</u>	<u>Ile</u>	<u>Leu</u>	<u>Lys</u>	<u>Ile</u>	Ser	Asn	Lys
										130					
	Tyr	His	Thr	Lys	Gly	Asp	His	Glu	Val	Lys	Ala	Glu	Gln	Val	Lys
					140										150
	Ala	Ser	Lys	Glu	Met	Gly	Glu	Thr	Leu	Leu	Arg	Ala	Val	Glu	Ser
										160					
	Tyr	Leu	Leu	Ala	His	Ser	Asp	Ala	Tyr	Asn					

図 6 白樺花粉の 17 kBa フラグメント (Bet v1) のアミノ酸配列
□で囲まれた部分は T 細胞エピトープのコアペプチドで、下線で示したアミノ酸は DR 9 特異的結合モチーフに一致する配列。

MLLAVLYCLL WSFQTSAGHF PRACVSSKNL MEKECCPPWS GDRSPCGQLS 50
GRGSCQNILL SNAPLGPQFP FTGVDDRESW PSVFYNRTCQ CSGNFMGFNC 100
GNCKFGFWGP NCTERRLLVR RNIFDLSAFE KDKFFAYLTL AKHTISSDYV 150
IPIGTYGQMK NGSTPMFNDI NIYDLFVVMH YVVSMDALLG GSEIWRDIDF 200
AHEAPAFLPW HRLFLLRWEQ EIQKLTGDEN FTIPYWDWRD AEKCDICTDE 250
YMGGOHPTNP NLLSPASFFS SWQIVCSRLE EYNHQSLCN GTPGGLRRN 300
PGNHDKSRTP RLPSSADVEF CLSLTQYESG SMDKAANFSF RNTLEGFASP 350
LTGIADASQS SMHNALHIYM NGTMSQVQGS ANDPIFLLHH AFVDSIFEQW 400
LRRHRPLQEV YPEANAPIGH NRESYMPFI PLYRNGDFFI SSKDLGYDYS 450
YLQSDPDSF QDYIKSYLEQ ASRIWSWLLG AAMVGAVLTA LLAGLVSLLC 500
RHKRKQLPEE KQPLLM EKED YHSLYQSHL 529

図 7 Tyrosinase のアミノ酸配列
□で囲まれた部分は T 細胞エピトープのコアペプチドで、下線で示したアミノ酸は DR 4 特異的結合モチーフに一致する配列。

を誘導し患者へ戻すことで腫瘍の転移巣での退縮を示す結果が得られている⁹⁾。自己免疫疾患やアレルギーの治療はT細胞エピトープの一部置換したペプチドを用いてT細胞の反応を抑制しようという試みが行われている。これらは、そのin vivo投与ではペプチドの量と濃度維持が問題となっているが、そのペプチドの発現ベクターなどDNAを用いた治療の研究が進行中であり、その研究成果が待たれる。

文 献

- 1) Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigens. *Nature* 1987 ; 329 : 506-511.
- 2) Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JG, Stein LJ, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 1993 ; 364 : 33-39.
- 3) Falk K, Rötzschke O, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. *Nature* 1991 ; 315 : 290-296.
- 4) Stern LJ, Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC. Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. *Nature* 1994 ; 368 : 215-221.
- 5) Futaki G, Kobayashi H, Sato K, Kimura S, Taneichi M, Katagiri M. Naturally processed HLA-DR9/53 (DRB1*0901/DRB4*0101) -bound peptides. *Immunogenetics* 1995 ; 42 : 299-301.
- 6) Kinouchi R, Kobayashi H, Sato K, Kimura S, Katagiri M. Peptide motifs of HLA-DR4 (DR53 (DRB1*0405/DRB1*0101) molecules. *Immunogenetics* 1994 ; 40 : 376-378.
- 7) Mizumoto K, Kimura S, Abe Y, Uehara M, Katagiri M. Analysis of T cell epitopes on birch pollen allergen. *Hokkaido J Med Sci* 1997 ; 72 : 59-67.
- 8) Kobayashi H, Kokubo T, Takahashi M, Sato K, Miyokawa N, Kimura S, Kinouchi R, Katagiri M. Tyrosinase epitope recognized by an HLA-DR-restricted T-cell line from a Vogt-Koyanagi-Harada disease patient. *Immunogenetics* 1998 ; 47 : 398-403.
- 9) Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, Robbins PF, Sakaguchi K, Appella E, Yanneli JR, Adema GJ, Miki T, Rosenberg SA. Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-filtrating lymphocytes associated with in vivo tumor rejection. *Proc Natr Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 6458-6462.
- 10) Rammensee HG, Friede T, Stevanovic S. MHC ligands and peptide motifs : first listing. *Immunogenetics* 1995 ; 41 : 178-228.
- 11) Falk K, Rötzschke O, Takiguchi M, Grahovac B, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Peptide motifs of HLA-A1, -A11, -A31 and -A33 molecules. *Immunogenetics* 1994 ; 40 : 238-241.
- 12) Kondo A, Sidney J, Southwood S, del Guercio M-F, Appella E, Sakamoto H, Grey HM, Celis E, Chestnut RW, Kubo RT, Sette A. Two distinct HLA-A*0101-specific submotifs illustrate alternative peptide binding modes. *Immunogenetics* 1997 ; 45 : 249-258.
- 13) Ruppert J, Sidney J, Celis E, Kubo R, Grey HM, Sette A. Predominant role of a human secondary anchor residues in peptide binding to HLA-A2.1 molecules. *Cell* 1993 ; 74 : 929-937.
- 14) Sudo T, Amikawaji N, Kimura A, Date Y, Savoie CJ, Nakashima H, Furuichi E, Kuhara S, Sasazuki T. Differences in MHC class I self peptide repertoires among HLA-A2 subtypes. *J Immunol* 1995 ; 155 : 4749-4756.
- 15) Rötzschke O, Falk K, Stevanovic S, Jung G, Rammensee H-G. Peptide motifs of closely related HLA class I molecules encompass substantial differences. *Eur J Immunol* 1992 ; 22 : 2453-2456.
- 16) Dibino M, Parker KC, Shiloach L, Knierman M, Lukszo J, Turner RV, Biddison WE, Coligan JE. Endogenous peptides bound to HLA-A3 possess a specific combination of anchor residues that permit identification of potential antigenic peptides. *Proc Natr Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 1508-1512.

- 17) Zhung Q-J, Gavioli R, Klein G, Masucci MG. An HLA-A11-specific motif in nonamer peptides derived from viral and cellular proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 2217-2221.
- 18) Maier R, Falk K, Rötzschke O, Maier B, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG, Meyerhans Peptide motifs of HLA-A3, -A24, and -B7 molecules as determined by pool sequencing. *Immunogenetics* 1994 ; 40 : 306-308.
- 19) Ibe M, Ikeda Y, Miwa K, Kaneko Y, Yokota S, Takiguchi M. Role of strong anchor residues in the effective binding of 10-mer and 11-mer peptides to HLA-A*2402 molecules. *Immunogenetics* 1996 ; 44 : 233-241.
- 20) Kubo RT, Sette A, Grey HM, Appella E, Sakaguchi K, Zhu N-Z, Arrot D, Sherman N, Shabanowitz J, Michel H, Bodnar WM, Davis TA, Hunt D. Definition of specific peptide motifs for four major HLA-A alleles. *J Immunol* 1994 ; 152 : 3913-3924.
- 21) Dumrese T, Stevanovic S, Seeger FH, Yamada N, Ishikawa Y, Tokunaga K, Takiguchi M, Rammensee H-G. HLA-A26 subtype A pockets accommodate acidic N-termini of ligands. *Immunogenetics* 1998 ; 48 : 350-353.
- 22) Boisgérault F, Khalil I, Tieng V, Connan F, Tabary T, Cohen JHM, Choppin J, Charron D, Toubert A. Definition of the HLA-A29 peptide ligand motif allows prediction of potential T-cell epitopes from the retinal soluble antigen, a candidate autoantigen in birdshot retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 3466-3470.
- 23) Guo HC, Jardetzky TS, Garrett TPJ, Lane WS, Strominger JL, Wiley DC. Different length peptides bind to HLA-Aw68 similarly at their ends but bulge out in the middle. *Nature* 1992 ; 360 : 364-366.
- 24) Garret TP, Saper MA, Bjorkman PJ, Strominger JL, Wiley DC. Specificity of pockets for the side chains of peptide antigens in HLA-Aw68. *Nature* 1989 ; 342 : 692-696.
- 25) Smith KD, Epperson DE, Lutz C T. Alloreactive cytotoxic T-lymphocyte-defined HLA-A7 subtypes differ in peptide antigen presentation. *Immunogenetics* 1995 ; 43 : 27-37.
- 26) Dibrino M, Parker KC, Shiloach J, Turner RV, Tsuchida T, Garfield M, Biddison WE, Colligan JE. Endogenous peptides with distinct amino acid anchor residue motifs bind to HLA-A1 and HLA-B8. *J Immunol* 1994 ; 152 : 620-631.
- 27) Falk K, Rötzschke O, Takiguchi M, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Peptide motifs of HLA-B58, B60, B61 and B62 molecules. *Immunogenetics* 1995 ; 41 : 165-168.
- 28) Seeger FH, Arnold D, Dumrese t, de la Salle H, Flicker D, Schild H, Rammensee H-G, Stevanovic S. The HLA-B*1516 motif indicates HLA-B specific P2 pocket characteristics. *Immunogenetics* 1998 ; 48 : 156-160.
- 29) Rötzschke O, Falk K, Stevanovic S, Gnau V, Jung G, Rammensee H-G. Dominant aromatic/aliphatic C-terminal anchor in HLA-B*2702 and B*2705 peptide motifs. *Immunogenetics* 1994 ; 39 : 74-77.
- 30) Madden DR, Gorga JC, Strominger JL, Wiley DC. The structure of HLA-B27 reveal nonamer self-peptides bound in an extended conformation. *Nature* 1991 ; 353 : 321-325.
- 31) Madden DR, Gorga JC, Strominger JL, Wiley DC. The three-dimensional structure of HLA-B27 at 2.1 Å resolution suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC. *Cell* 1992 ; 70 : 1035-1048.
- 32) Tanigaki N, Fruci D, Vigneti E, Starace G, Rovero P, Londei M, Butler RH, Tosi R. The peptide binding specificity of HLA-B27 subtypes. *Immunogenetics* 1994 ; 40 : 192-198.
- 33) Jardetzky TS, Lane WS, Robinson RA, Madden DR, Wiley DC. Identification of self peptides bound to purified HLA-B27. *Nature* 1991 ; 353 : 326-329.
- 34) Fruci D, Rovero P, Falasca G, Butler R, Sorrentino R, Tosi R, Tanigaki N. HLA class I binding of synthetic nonamer peptides carrying major anchor residue motifs of HLA-B27 (B*2705) binding. *Immunogenetics* 1993 ; 38 : 41-46.
- 35) Tieng V, Dulphy N, Boisgerault F, Tamouza R, Charron D, Toubert A. HLA-A*2707 peptide

- motif : Tyr C-terminal anchor is not shared by all disease-associated subtypes. *Immunogenetics* 1997 ; 47 : 103-105.
- 36) Falk K, Rötzschke O, Grahovac B, Schendel D, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Peptide motifs of HLA-B35 and -B37 molecules. *Immunogenetics* 1993 ; 38 : 161-162.
- 37) Smith KJ, Reid SW, Stuart DJ, McMichael AJ, Jones EY, Bell JI. An altered position of the 2 helix of MHC class I is revealed by the crystal structure of HLA-B*3501. *Immunity* 1996 ; 4 : 203-214.
- 38) Steinle A, Falk K, Rötzschke O, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Schendel DJ, Rammensee HG. Motif of HLA-B*3503 peptide ligands. *Immunogenetics* 1995 ; 43 : 105-107.
- 39) Falk K, Rötzschke O, Takiguchi M, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Peptide motifs of HLA-B38 and -B39 molecules. *Immunogenetics* 1995 ; 41 : 162-164.
- 40) Fleischhauer K, Avila D, Vibois F, Traversari C, Bordignon C, Wallney H-J. Characterization of natural peptide ligands for HLA-B*4402 and -B*4403 : implications for peptide involvement in heavy chain. *Tissue Antigens* 1994 ; 44 : 311-317.
- 41) Falk K, Rötzschke O, Takiguchi M, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee H-G. Peptide motifs of HLA-B51, -B52, and -B78 molecules and implications for Bectet's disease. *Int Immunol* 1995 ; 7 : 223-228.
- 42) Hill AVS, Elvin J, Willis AC, Aidoo M, Allsopp CEM, Gotch FM, Gao XM, Takiguchi M, Greenwood BM, Townsend ARM, McMichael AJ, Whittle HC. Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature* 1992 ; 360 : 434-439.
- 43) Smith KJ, Reid SW, Harlos K, McMichael AJ, Stuart DJ, Bell JI, Jones EY. Bound water structure and polymorphic amino acids act together to allow the binding of different peptides to MHC class I HLA-B58. *Immunity* 1996 ; 4 : 215-228.
- 44) Falk K, Rötzschke O, Grahovac B, Schendel D, Stevanovic S, Gnau V, Jung G, Strominger JL, Rammensee HG. Allele-specific peptide ligand motifs of HLA-C molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 12005-12009.
- 45) Braud V, Jones EY, McMichael A. The human major histocompatibility complex class Ib molecule HLA-E binds signal sequence-derived peptides with primary anchor residues at positions 2 and 9. *Eur J Immunol* 1997 ; 27 : 1164-1169.
- 46) Diehl M, Munz C, Keilholz W, Stevanovic S, Holmes N, Lokes YW, Rammensee HG. Non-classical HLA-G molecules are classical peptide presenters. *Current Biology* 1996 ; 6 : 305-314.
- 47) Chicz RM, Urban RG, Lane WS, Gorga JC, Stern LJ, Vignali DAA, Strominger JL. Predominant naturally processed peptides bound to HLA-DR1 are derived from MHC-related molecules and heterogeneous in size. *Nature* 1992 ; 358 : 764-768.
- 48) Hammer J, Takacs B, Sinigaglia F. Identification of a motif for HLA-DR1 binding peptides using M13 display libraries. *J Exp Med* 1992 ; 176 : 1007-1013.
- 49) Falk K, Rötzschke O, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Pool sequencing of natural HLA-DR, DQ and DP ligands reveals detailed peptide motifs, constraints of processing, and general rules. *Immunogenetics* 1994 ; 39 : 230-242.
- 50) Chicz RM, Urban RG, Gorga JC, Vignali DAA, Lane WS, Strominger JL. Specificity and promiscuity among naturally processed peptides bound to HLA-DR alleles. *J Exp Med* 1993 ; 178 : 27-47.
- 51) Verreck FAW, van de Poel A, Drijfhout JW, Amons R, Coligan JE, Koning F. Natural peptides isolated from Gly⁸⁶/Val⁸⁶-containing variants of HLA-DR1, -DR11, -DR13, and -DR52. *Immunogenetics* 1996 ; 43 : 392-387.
- 52) Vogt AB, Kropshofer H, Kalbacher H, Kalbus M, Rammensee H-G, Coligan JE, Martin R. Ligand motifs of HLA-DRB5*0101 and DRB1*

- 1501 molecules delineated from self-peptides. *J Immunol* 1994 ; 153 : 1665-1673.
- 53) Malcherek G, Falk K, Röttschke O, Rammensee H-G, Stevanovic S, Gnau V, Jung G, Melms A. Natural ligand motifs of two HLA molecules associated with myasthenia gravis. *Int Immunol* 1993 ; 5 : 1229-1237.
- 54) Geluk A, van Meijgaarden KE, Southwood S, Oseroff C, Drijfhout JW, de Vries RRP, Ottenhoff THM, Sette A. HLA-DR3 molecules can bind peptides carrying two alternative specific submotifs. *J Immunol* 1994 ; 152 : 5742-5748.
- 55) Geluk A, van Meijgaarden KE, Janson AAM, Drijfhout JW, Meloen RH, Ee Vries RRP, Ottenhoff THM. Functional analysis of DR17 (DR3)-restricted mycobacterial T-cell epitopes reveals DR17-binding motif and enables the design of allele specific competitor peptides. *J Immunol* 1992 ; 149 : 2864-2871.
- 56) Fried T, Gnau V, Jung G, Keilholz W, Stevanovic S, Rammensee H-G. Natural ligand motifs of closely related HLA-DR4 molecules predict features of rheumatoid arthritis associated peptides. *Biochimica et Biophysica Acta* 1996 ; 1316 : 85-101.
- 57) Sette A, Sidney J, Oseroff C, Del Guercio MF, Southwood S, Arrhenius T, Powell MF, Colon SM, Gaeta FCA, Grey HM. HLA-DR4w4-binding motifs illustrate the biochemical basis of degeneracy and specificity in peptide-DR interactions. *J Immunol* 1993 ; 151 : 3163-3170.
- 58) Hammer J, Valsasni P, Tolba K, Bolin D, Higelin J, Takacs B, Sinigaglia F. Promiscuous and allele-specific anchors in HLA-DR-binding Peptides. *Cell* 1993 ; 74 : 197-203.
- 59) Newcomb JR, Cresswell P. Characterization of endogenous peptides bound to purified HLA-DR molecules and their absence from invariant chain-associated alpha-beta-dimers. *J Immunol* 1993 ; 150 : 499-507.
- 60) Fujisao S, Nishimura Y, Matsushita S. Evaluation of peptide-HLA-binding by an enzymelinked assay and its application to the detailed peptide motif for HLA-DR9 (DRB1*0901). *J Immunol Methods* 1997 ; 201 : 157-163.
- 61) Kobayashi H, Kokubo T, Abe Y, Sato K, Kimura S, Miyokawa N, Katagiri M. Analysis of anchor residues in a naturally processed HLA-DR53 ligand. *Immunogenetics* 1996 ; 44 : 366-371.
- 62) Wucherpfennig KW, Sette A, Southwood S, Oseroff C, Matsui M, Strominger JL, Hafler DA. structural requirement for binding of an immunodominant myelin basic protein peptide to DR2 isotypes and for its recognition by human T cell clones. *J Exp Med* 1994 ; 179 : 279-290.
- 63) O'Sullivan D, Sidney J, del Guercio MF, Colon SM, Sette A. Truncation analysis of several DR binding epitopes. *J Immunol* 1991 ; 146 : 1240-1246.
- 64) van de Wal Y, Kooy YMC, Drijfhout JW, Amons R, Koning F. Peptide binding characteristics of the coeliac disease-associated DQ ($\alpha 1^*0501, \beta 1^*0201$) molecule. *Immunogenetics* 1996 ; 44 : 246-253.
- 65) Vartdal F, Johansen BH, Friede T, Thorpe CJ, Stevanovic S, Eriksen JE, Sletten K, Thorsby E, Rammensee H-G, Sollid LM. The peptide binding motif of the disease associated HLA-DQ ($A1^*0501, B1^*0201$) molecule. *Eur J Immunol* 1996 ; 26 : 2764-2772.
- 66) Verreck FAW, Van de Poel A, Termijtelen A, Amons R, Drijfhout JW, Koning F. Identification of an HLA-DQ2 peptide binding motif and HLA-DPw3-bound self peptide by pool sequencing. *Eur J Immunol* 1994 ; 24 : 375-379.
- 67) Sidney J, Oseroff C, Del Guercio MF, Southwood S, Krieger JL, Ishioka GY, Sakaguchi K, Appella E, Sette A. A definition of a DQ 3.1-specific binding motif. *J Immunol* 1994 ; 152 : 4516-4525.
- 68) Matsushita S, Nishi T, Yamaoka K, Motoki M, Yone K, Kanai T, Nishimura Y. HLA-DQ-binding peptide motifs. I. Comparative binding analysis of type II collagen-derived peptides to DR and DQ molecules of rheumatoid arthritis-susceptible haplotypes. *Int Immunol* 1996 ; 6 : 757-764.

- 69) Godkin A, Friede T, Davenport M, Stevanovic S, Willis A, Jewell J, Hill A, Rammensee H-G. Use of eluted peptide sequence data to identify the binding characteristics of peptides to the insulin-dependent diabetes susceptibility allele HLA-DQ8 (DQ3. 2). *Int Immunol* 1997 ; 9 : 905-911.
- 70) Oiso M, Nishimura Y, Nishi T, Matsushita S. Differential binding of peptides substituted at putative C-terminal anchor residues to HLA-DQ8 and DQ9 differing only at β 57. *Human Immunol* 1997 ; 52 : 47-53.
- 71) Rötzchke O, Falk K. Origin, structure and motifs of naturally processed MHC class II ligands. *Current Opin Immunol* 1994 ; 6 : 45-51.
-