

第13回 北陸銀行若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
細川 晃平	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部 助教		600,000 円
研究課題名	CRISPR Genome-Wide sgRNA Library System を用いた再生不良性貧血自己抗原の同定		
研究の概要	<p>[研究開始当初の背景, 研究の目的, 研究の方法等について記入]</p> <p>T細胞が認識する造血幹細胞上の自己抗原の同定は、再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)を始めとする特発性造血不全の研究においてもっとも重要なテーマである。申請者はこれまでの研究において、AAの自己抗原提示に最も重要な役割を果たすHLAクラスIアレル(HLA-B*40:02)を同定するとともに、このアレルを有する患者由来の細胞傷害性T細胞株が、自己のiPS細胞由来造血幹前駆細胞(HSPC)をHLA-B4002拘束性に傷害することを明らかにしてきた。本研究の目的は、新規の抗原同定法であるCRISPR Genome-Wide sgRNA Library Systemを用いてHLA-B4002が提示するAAの自己抗原を明らかにすることである。</p>		
研究の成果	<p>[成果の具体的内容、意義、重要性及び今後の展望等について記入]</p> <p><成果の具体的内容> まず予備実験として、HLA導入K562細胞からHLAクラスI抗体を用いて免疫沈降を行いHLA結合ペプチドを精製したのち、nanoLC-MS/MSで解析することにより、HLA分子により提示されるペプチドを同定した。これらのペプチドのうち、造血幹細胞に発現していることが知られている遺伝子をCRISPR/Cas9によりノックアウトしたK562細胞を作製し、今回明らかにしたTCR導入T細胞との反応性をIFNγのELISA法により評価したところ、コントロールと比較して有意に反応が減弱していた。</p> <p><意義、重要性> 今回同定されたTCR導入T細胞はAAの自己抗原の同定に非常に有用なツールである。ペプチド解析により同定された、特定の遺伝子をCRISPR/Cas9を用いてノックアウトしたところ、TCR導入T細胞の細胞傷害活性が減弱したことから、AAの自己抗原となっている可能性がある。AAの自己抗原が同定できれば、これまでの非特異的な免疫抑制療法とは異なる「自己抗原に対する免疫反応を抑制する新規治療薬」の開発につながる。</p> <p><今後の展望> 今後、候補ペプチドとHLA-B4002蛋白を用いてHLAテトラマーを作製し、HLA-B4002を保有するAA患者の末梢血に抗原特異的T細胞が高頻度に検出されるかを明らかにする。</p>		
研究成果発表状況	<p>[雑誌論文, 学会発表, 図書, 新聞掲載, 研究に関連して作成したWebページ等について記入]</p> <p>特になし</p>		
経費の執行状況	費目	事項 (主な使用事項を記載)	執行額(円) (費目毎総額を記入)
	物品費	細胞培養関連試薬、モノクローナル抗体など	600,000 円
	旅費		0 円
	人件費・謝金		0 円
	その他		0 円