

2023 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	細川 晃平
研究機関名	金沢大学附属病院
所属部署名	血液内科
役職名	講師
研究課題名	骨髄不全の分子基盤の解明と臨床応用
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

### 研究成果の概要

本研究では、再生不良性貧血(AA)における自己抗原の提示に重要と考えられている HLA-B4002 に提示されるペプチドを手掛かりに AA の自己抗原を明らかにすることを目的としている。前年度までに、HLA-B4002 欠失血球を有する AA 患者の骨髄 CD8 陽性 T 細胞から、頻度の高い TCR の cDNA を同定し、健康者の T 細胞とレトロウイルスを用いて TCR トランスフェクタントを作製した。そのうち 2 種類が、同じ患者の iPS 細胞由来 CD34 陽性細胞に加えて、HLA-B\*40:02 を導入した K562 細胞に特異的に反応することを見出した。

これらの TCR トランスフェクタントを用いて TCR が認識する抗原を同定するため、CD80/CD137L を導入した HLA-B4002 陽性 293T/COS7 細胞を用いて、発現クローニング法による K562cDNA ライブラリーのスクリーニング、ならびに CRISPR Genome-Wide Library System を用いたスクリーニングを行っている。しかし、培養期間が長期になることから、KHYG-1 などの NK 細胞株や BW5147 などの T 細胞株に TCR を導入した細胞株も併せて作成し、実験に使用している。

同時に、HLA-B\*40:02 導入 K562 細胞の HLA-B4002 が提示しているペプチドを HLA クラス I 抗体で免疫沈降を行った後、Time of Flight Mass Spectrometry (TF-MS) でペプチド解析を行うことで、ペプチド候補を同定した。Luciferase assay によるレポーターアッセイを用いた抗原ペプチドのスクリーニング系を確立して、候補ペプチドに対する TCR 導入細胞の反応性を評価中である。