

平成 31 年 4 月 30 日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
平成 30 年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：滋賀医科大学

職名：教授

氏名：縣 保年

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： iPS 細胞とゲノム編集を用いた効率のよいがん抗原特異的キラーT 細胞の再生
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 河本 宏
3. 研究期間：平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

本研究は、がん抗原特異的T細胞から iPS 細胞技術を用いてキラーT細胞を再生する方法をより発展させることを目的とする。がん抗原特異的なT細胞受容体（TCR）遺伝子をゲノム編集とカセット交換法を用いて、iPS 細胞の内在性 TCR 遺伝子座へノックインすることにより、TCR の生理的な発現時期と高い発現レベルを再現し、それにより高品質でキラー活性の高い再生 T 細胞を効率よく作製することを試みた。

まず実験系を確立するために、ヒト T 細胞白血病株 Jurkat 細胞に薬剤耐性遺伝子カセットのノックインとカセット交換を行い、導入した TCR を正しく発現させることに成功した。そこで iPS 細胞でも、同様に薬剤耐性遺伝子カセットのノックインとカセット交換が起こるか検討を行った。その結果 iPS 細胞では、薬剤耐性遺伝子カセットが正しくノックインされたクローンは得られたが、カセット交換されたクローンを得ることができなかった。カセット交換されたクローンでは、Puromycin 耐性遺伝子が PGK プロモーターにより発現する設計であるが、そのプロモーター活性が iPS 細胞では低い可能性が考えられた。そこで PGK プロモーターを、iPS 細胞で活性が高いことが知られている EF-1 α プロモーターと交換したところ、正しくカセット交換されたクローンを

再現性よく得ることができるようになった。現在、カセット交換できたクローンにおいて、Puromycin 耐性遺伝子を欠失させ、導入した TCR 遺伝子を発現させることができるか、引き続き解析を行っている。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、特許取得等

学会発表

寺田晃士、近藤遼平、永野誠治、増田喬子、河本 宏、縣 保年. がん抗原特異的な TCR 遺伝子を内在性 TCR 遺伝子座へ効率よく導入する方法の確立. 第 41 回日本分子生物学会（2018 年 11 月 28 日, 横浜）

特許出願

「抗原レセプター遺伝子の細胞への導入法」
(特願 2018-140523)