

論文内容の要旨

報告番号		氏名	森本 堯之
CRISPR-Cas9-Mediated TIM3 Knockout in Human Natural Killer Cells Enhances Growth Inhibitory Effects on Human Glioma Cells.			
(和訳) CRISPR-Cas9 を用いて TIM3 をノックアウトしたヒト NK 細胞の膠芽腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討			

論文内容の要旨

【背景】膠芽腫は原発性脳腫瘍の中でも最も悪性度が高く、予後不良な腫瘍の一つである。標準治療である Stupp regimen を施行しても全生存期間は 15 ヶ月であるため、新たな治療法の開発が期待されており、免疫療法もその一つである。NK 細胞は細胞傷害活性を介してウイルス感染や腫瘍増大を制御するにあたって重要な役割を担っている。また、膠芽腫の免疫逃避機構として考えられるチェックポイント機構についても着目し、抑制性受容体の中でも TIM3 に着目し、CRISPR/Cas9 を用いてヒト初代 NK 細胞の TIM3 をノックアウトし、膠芽腫細胞への抗腫瘍効果について解析を行った。

【方法】健常人の末梢血より NK 細胞を単離し、7日間培養を行った後に、CRISPR-Cas9 を用いて TIM3 のノックアウトを行った。さらに7日間、NK 細胞を培養し、Real Time Cell Analyzer(RTCA)を用いて膠芽腫細胞株への抗腫瘍効果を解析した。さらにゲノム編集後の NK 細胞の on target/ off target 効果についても解析を行った。

【結果】TIM3 をコードする HAVCR2 の exon2 と exon5 をターゲットとしてゲノム編集を行った。また、ゲノム編集後の NK 細胞の on target / off target 効果を解析することで目的とする遺伝子領域に対するゲノム編集を行うことができおり、その他の遺伝子領域にほとんど影響を与えていないことも確認した。RTCA における抗腫瘍効果の検討では、TIM3 ノックアウト NK 細胞は、2種類の膠芽腫細胞株(T98G, LN-18)に対して、抗腫瘍効果を増強していることを証明できた。

【結論】CRISPR-Cas9 を用いた TIM3 ノックアウトヒト NK 細胞において、膠芽腫細胞株に対する抗腫瘍効果の増強を認めた。この結果は膠芽腫に対するデザイナー細胞療法の分野において、NK 細胞療法の可能性を大きく広げるものとなった。