

る分子標的を明らかにすることを目的とする。

【方法】 肺癌細胞株 A549 において、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集により、チロシンキナーゼ阻害薬の標的として報告されている分子 (EGFR, GAK, RIPK2, NQO2) のノックアウト細胞株を樹立した。これら細胞株におけるオートファジーの変動について、抗 LC3B 抗体を用いたイムノブロットングにより評価を行うとともに、A549 細胞において EGFP-LC3B の安定導入株を作製し、オートファゴソーム形成についても解析を行った。

【結果・考察】 作製したノックアウト細胞株を用いた解析により、定常状態における基底レベルのオートファジーフラックスおよびゲフィチニブ添加による変動は、GAK ノックアウト細胞株において最も顕著であることが示された。さらに、A549/EGFP-LC3B 細胞株において GAK のノックダウンを行うと、定常状態における EGFP-LC3B 発現亢進と、飢餓誘導による EGFP 輝点の増加が観察され、オートファゴソーム形成の亢進が示された。以上の結果から、チロシンキナーゼ阻害薬によるオートファジー調節作用に関して、今回解析を行った分子の中では、GAK の関与が最も大きいと考えられた。現在、GAK によるオートファジー調節作用の分子メカニズムについての解析を進行中である。

P2-20

Molecular imaging of the hCD19 CAR signalosomes, “CAR microclusters”

(免疫学)

○町山 裕亮、矢那瀬紀子、若松 英
豊田 博子、古畑 昌枝、秦 喜久美
横須賀 忠

(Center for Cell and Gene Therapy, Baylor College of Medicine)

Mamonkin Maksim, Brenner Malcolm K

CAR-T cell therapy is certainly one of the recent remarkable advantages in tumor immunotherapy. Human CD19 CAR is particularly shown to possess anti-tumor effects against CD19-positive B cell lymphomas and already applied for clinical use in the United States. In comparison with its worthwhile evaluation, little is known about the molecular mechanisms how

CAR introduces the activation signaling by T cells to kill the target cells and to develop into effector/memory CAR-T cells. To address these issues, we newly established hCD19 CAR imaging system by the combination of single molecule-based total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) and hCD19-expressing lipid bilayers. We've really defined the distinct signalosomes, we-called “microclusters”, and demonstrated that T cell activation is harmoniously regulated by microclusters constructed by not only TCRs but also immune checkpoint receptors in a spatio-temporal fashion. We this time identified “hCD19 CAR microclusters” by using that new imaging technique and unveils the precise mechanism of T cell activation through hCD19 CAR microclusters. These results will further develop more efficient CAR-T cells and may lead to the next generation of immunotherapy.

P2-21

リウマチ滑膜細胞における過増殖メカニズムの解明

(大学院修士課程2年運動器科学研究部門)

○横田 真穂

(医学総合研究所、未来医科学研究寄附講座、臨床共同研究センター)

中島 利博

(未来医科学研究寄附講座、医学総合研究所)

藤田 英俊

(バイオメテイクスシンポジウム (BM-S) 幹細胞治療学研究講座)

荒谷 聡子

関節リウマチは、関節腔に存在する滑膜細胞の異常増殖に伴って滑膜組織が肥大化する疾患であり、全身性の種々の免疫異常、滑膜細胞の過増殖、骨・軟骨破壊、線維化などの多段階の病的プロセスが相互作用しながら、進行することが知られているが、滑膜細胞の過増殖の根本的な原因はいまだ不明である。当研究室では、これまでリウマチ滑膜細胞の過増殖に着目し、ヒトリウマチ滑膜組織より滑膜細胞を分離・培養し、研究を行い、ほとんどの細胞は繊維芽細胞であり、均一の性質を維持していると考えてきた。しかしながら、癌細胞の研究から、癌組織