

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03600

研究課題名(和文) 先端的分分子イメージングによる新規アダプター型CAR-T細胞受容体の開発基盤研究

研究課題名(英文) Basic research for the development of a novel CAR-adaptor T cells by an advanced imaging system

研究代表者

横須賀 忠 (Yokosuka, Tadashi)

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：10359599

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：抗原提示ができる人工脂質二重膜ブレインナーメンブレンと超解像顕微鏡との革新的イメージングシステムを構築し、養子免疫療法の発展系であるヒトCD19キメラ抗原受容体T(hCD19 CAR-T)細胞の1分子イメージング解析を行った。リガンドhCD19との結合によりhCD19 CARは凝集し、TCR下流のシグナル伝達分子やリン酸化チロシンタンパク質をリクルートする機能的ドメイン「hCD19 CARマイクロクラスター」を形成した。hCD19 CARマイクロクラスターがTCRと協調的に働き、CAR-T細胞の活性化と細胞傷害およびCAR-T細胞の生存維持に寄与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ノーベル医学生理学賞受賞を機にがん免疫療法の臨床応用や研究は急速に進んでおり、中でもCAR-T細胞療法の技術革新は目覚ましい。一方、臨床応用が先行しその作用機序の解明が未解決な点など、残された課題も多く存在する。本研究で行った革新的イメージングシステムの構築、CAR-T細胞のシグナル伝達経路の可視化、CAR-T細胞のがん細胞傷害機構の解明、細胞内シグナル伝達分子を導入した新たなCARの提案からは、より高い細胞傷害機能と安全性を兼ね備えた次世代CAR-T細胞の創出が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this project, we established a brand-new and innovative imaging system combining antigen-presenting planar lipid bilayers and super-resolution microscopies and performed single cell analyses for the human CD19 chimeric antigen receptor T (hCD19 CAR-T) cells, recently used in a developing adoptive-transfer cancer immunotherapy. In a ligand-binding fashion, the hCD19 CAR gathers together and forms a functional signalosome, "hCD19 CAR microcluster", recruited by both various signaling molecules in the downstream of TCRs and a great deal of tyrosine-phosphorylated proteins. We demonstrated that the hCD19 CAR microcluster could determine the CAR-T cell activation, cytotoxic function and CAR-T cell survival, collaborating with TCR signaling.

研究分野：免疫学

キーワード：がん免疫 細胞療法 T細胞 分子イメージング シグナル伝達 キメラ抗原受容体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫応答は外来の病原体から我々の身を守ると共に、異形成やがん化した抗原など内因性の異常も検知しそれを排除する能力がある。免疫細胞の中でもナチュラルキラー (NK) 細胞や CD8⁺ 細胞傷害性 T 細胞 (Cytotoxic T lymphocyte : CTL) がこの内在性の異常、つまり腫瘍化した細胞の排除に関わる主な細胞とされ、これら 2 つに関して、多くのがん免疫療法へ応用が試みられてきた。ノーベル医学・生理学賞を受賞したことから明らかなように、近年のがん免疫療法の劇的な進歩も、これらの免疫細胞の機能を制御する画期的な方法が確立したことによる。これら一連の治療法の中でも最も臨床効果の認められている 1 つは、担がん状態における T 細胞疲弊をキャンセルする『免疫チェックポイント療法』であり、もう 1 つは T 細胞にがん特異的受容体を遺伝子導入した『キメラ抗原受容体 T (CAR-T) 細胞療法』である。

CAR-T 療法は、腫瘍細胞が発現している分子に対するモノクローナル抗体 (B 細胞リンフォーマに対する抗 CD19 抗体など) に CD3ζ鎖と T 細胞活性化型補助刺激受容体の細胞内シグナルドメインをタンデムに繋いでデザインされ、CD3ζ鎖のみを繋げた第 1 世代、CD3ζ鎖に CD28 細胞内ドメインを繋げた第 2 世代、さらに 4-1BB や OX-40 を繋げた第 3 世代、第 2 世代にケモカインやサイトカインなどの生理機能分子を付加した第 4 世代へと開発が進んだ。しかし、1) 可能性のある T 細胞の活性化に関わる分子を偶然繋げたに過ぎず、理論に基づいたデザイン開発の余地がまだ広く存在すること、2) 輸注後の CAR-T 細胞の記憶細胞への誘導など、生理機能を制御する手段が確立していないこと、3) 活性化型受容体のみを繋いだため、治療後の細胞傷害活性の制御法が未解決であること、4) 疾患によって奏効率に開きがあり、理論的に説明ができず、対象疾患の拡大が経験値のみに基づいている、など未解決な問題が多く残されている。

一方、これまで我々は、TCR と補助刺激受容体のシグナル伝達系の分子イメージングを基に、世界的にも先駆的な T 細胞研究を行い、T 細胞が抗原を認識し活性化や細胞傷害を起こす際、T 細胞と抗原提示細胞/標的細胞との間に形成される「免疫シナプス」が、さらに小さな TCR シグナルソーム「TCR マイクロクラスター」からできていることを発見した (Yokosuka T, *Nat Immunol*, 2005)。TCR マイクロクラスターは T 細胞の活性化を直接反映する指標となることから、CAR マイクロクラスターの挙動を解析することで CAR-T 細胞の活性化状態をデジタルに評価でき、より安全で効率的な抗腫瘍効果が期待できる CAR-T 細胞療法の創出に貢献出来ると予想される。

2. 研究の目的

抗原提示ができる人工平面脂質二重膜 (プレイナーメンブレン) と超解像顕微鏡との融合システムを構築し、この革新的イメージングシステムを用いた CAR-T 細胞のシグナル伝達経路の可視化を行い、CAR-T 細胞のがん細胞傷害機構を明らかにすると共に、新たな細胞内シグナル伝達モチーフを導入した CAR の設計を行い、より高い殺傷機能と容易な活性調節機構をもつ次世代 CAR-T 細胞の創出を目的とする。分子イメージングという刷新的な解析技術を基盤とすることによって、これまでの CAR-T 研究では達成し得なかった斬新な CAR の創出、およびそのための科学的かつ理論的な基盤を作る。

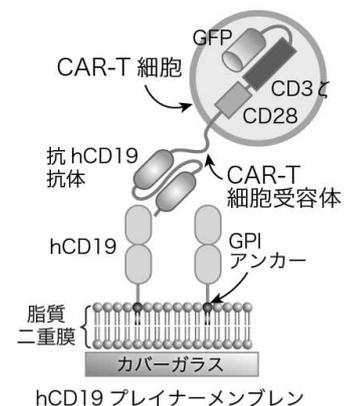
3. 研究の方法

プレイナーメンブレンと 1 分子観察が可能な全反射蛍光顕微鏡および高解像度共焦点レーザー顕微鏡を用いて、分子イメージングの視点から CD19 CAR-T 細胞の抗原認識・活性化・腫瘍細胞傷害活性に係る分子の解析を行う。その結果を基に、TCR 下流の細胞内シグナル伝達分子を新たに導入した CAR を作製し、より強力な腫瘍細胞に対する傷害活性を持ち、一方で傷害活性の調節が容易であり、かつ安全な細胞治療が期待できる新規 CAR-T 細胞の開発基盤を作る。研究計画として、1) 既存の CD19 CAR-T 細胞の 1 分子イメージング解析の実験系の構築、2) アダプター分子などを導入した新規 CAR-T 細胞受容体のデザインと創出、3) E3 ユビキチンリガーゼを導入した活性化調節機構を有する CAR-T 細胞受容体のデザインと創出、4) NSG ヒト化マウスを用いた新規 CD19 CAR-T 細胞の in vivo 細胞傷害活性の検証、を計画した。

4. 研究成果

(1) Glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカー型 hCD19 のタンパク質精製とプレイナーメンブレンの確立 : hCD19 CAR の超解像イメージングを行うため、プレイナーメンブレン上での運動性が担保されたヒト decay-accelerating factor (hDAF) の GPI アンカーモチーフを hCD19 の細胞外領域に付加し、この hCD19-hDAF キメラタンパク質 (hCD19-GPI) を高発現させたハムスター腫瘍細胞株 BHK を樹立した。精製した hCD19-GPI は接着分子 ICAM-1 の GPI キメラ分子 (ICAM-1-GPI) と共にプレイナーメンブレンに導入した (右図)。hCD19-GPI の運動性は蛍光ラベルした抗 hCD19 抗体を結合させ、レーザー照射後の退色回復で確認した。

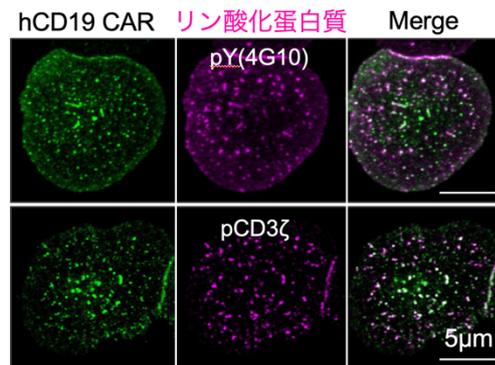
(2) hCD19 CAR の分子イメージング解析 : CAR-T 細胞の親細胞として T 細胞ハイブリドーマおよびマウスから直接採取したプラ



hCD19 プレイナーメンブレン

イマリーT細胞にTCR刺激したものを用い、EGFPをC末端に付加した hCD19 CAR (hCD19 CAR-GFP) をレトロウイルス感染により導入、同細胞を上述のプレイナーメンブレンにロードシタイムゼロからのhCD19 CARの挙動を観察した。その結果、TCRマイクロクラスターと同じようにリガンドhCD19-GPI依存的にhCD19 CAR-GFPがクラスターとなり、hCD19-GPIの分子密度に相関してhCD19 CARの大きさと数が変化することが明らかとなった。

(3) hCD19 CARマイクロクラスターが機能的シグナロソームであることを検証するためのイメージング解析：TCRマイクロクラスターにリクルートすることが分かっているCD3 ζ 鎖下流のシグナル伝達分子がhCD19 CARにもリクルートするかどうか、1分子イメージング解析を行ったところ、キナーゼZAP-70、アダプタータンパク質SLP-76の共局在を認め、構成分子に大きな差はないことが分かった。また抗リン酸化チロシン抗体による染色でもhCD19 CARマイクロクラスターと一致して検知され、活性化タンパク質を含むTCRマイクロクラスターと同等の機能を持つことが明らかになった(右図)。



(4) 接着分子Lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1)のhCD19 CARマイクロクラスター形成における機能解析：CTLは標的細胞を殺傷する際に、CTL-標的細胞間のスペース「免疫シナプス」にTCRマイクロクラスターを形成する。トリ卵アルブミン特異的TCRを発現しているOT-I TCRのトランスジェニック(Tg)マウスから採取したCD8陽性T細胞に、hCD19 CAR-GFPを導入後、hCD19-GPIとの結合の結果観察されるhCD19 CARマイクロクラスターは、LFA-1のリガンドICAM-1の存在・非存在により挙動が異なり、連続的に短時間のパルスを生むhCD19 CARシグナロソームが形成されるにはLFA-1とICAM-1との結合が必須であることが分かった。接着分子の欠落によって、CTLの免疫シナプスに過剰なシグナロソームができ、CTLがアポトーシスへと誘導されると同様に、hCD19 CAR-T細胞の細胞死の回避や維持においても、接着分子の物理的結合力とシグナル伝達は重要であると考えられる。

(5) hCD19 CARを介した細胞傷害活性の評価：標的細胞としてマウス胸腺腫細胞株EL4にhCD19を発現させ標的細胞とし、OT-I-hCD19 CAR-GFPによる細胞傷害活性をin vivo CTL assayによって検証、hCD19 CARマイクロクラスターとの相関を調べたところ、細胞傷害活性の程度とhCD19 CARマイクロクラスターの数と大きさとの間に相関があることが分かった。この結果はhCD19 CARマイクロクラスターもCTLで観察されるTCRマイクロクラスターと同様に細胞傷害がシグナロソームを単位として評価されることを示している。

(6) E3ユビキチンリガーゼCbl-bとhCD19 CARマイクロクラスターのイメージング解析：インタラクトームとして多様な結合分子を持つCbl-bの調節ドメインをCAR-T細胞受容体に導入し、Cbl-bとの結合が報告されているT細胞シグナル伝達分子ZAP-70、Grb2、Nck、Vav1、イノシトールリン酸化酵素PI3K、アダプター分子CIN85を指標としてCbl-bのシグナロソームの形成を評価するため、まずCbl-bとhCD19 CARマイクロクラスターとの細胞内動態を調べた。その結果、Cbl-bもhCD19 CARマイクロクラスターにリクルートし、抑制性シグナロソームとしてフィードバック抑制として機能することが明らかとなった。さらにCbl-b遺伝子欠損マウスから調整したプライマリーT細胞にhCD19 CAR-GFPを導入したhCD19 CAR-T細胞を用いて解析した結果、Cbl-b遺伝子欠損ではhCD19 CARマイクロクラスターの中心性の移動が消失し、hCD19 CARから持続的に過剰な活性化シグナルが伝わっていることが分かった。これらの結果から、hCD19シグナロソームにおいても、ユビキチン化後のプロテオソーム依存性タンパク質分解、およびユビキチン化を契機としたCAR-T細胞受容体のエンドサイトーシス、の2つのタンパク質抑制系が機能していると同時に、E3ユビキチンリガーゼ活性を欠損させたCbl-bを用いることで、Cbl-bが巨大なアダプター分子として活性化に寄与する新たなhCD19 CARの創出に繋がると考えた。

(7) hCD5 CAR-T細胞の分子イメージング解析：CAR-T細胞の細胞傷害活性や細胞維持など生理活性に関してより一般化しCAR-T細胞の開発に普遍的に通用する概念を創出するため、hCD19 CARに加えてhCD5 CARの分子イメージング解析の実験系を構築した。hCD19-GPIと同様に、hDAFのGPIアンカーモチーフをhCD5の細胞外領域に付加し、このhCD5-hDAFタンパク質(hCD5-GPI)を高発現させたハムスター腫瘍細胞株BHKを樹立、精製したhCD5-GPIは接着分子ICAM-1のGPIキメラ分子と共にプレイナーメンブレンに導入し、hCD5 CAR-GFPを発現させたT細胞ハイブリドマおよびマウスから直接採取したプライマリーT細胞を用いて観察した。その結果hCD19 CARと同様にリガンドhCD5が存在するとhCD5 CARを形成しシグナロソームとしてCAR-T細胞の活性化と細胞傷害活性に寄与していることが分かった。

(8) hCD19 CARの各世代によるCARシグナロソームの相違点の検証：これまでの我々の研究から

T細胞活性化補助刺激受容体シグナルはTCRシグナルと構成分子を同一にしているが、寄与するそれぞれのシグナル伝達分子の分子数には差があることを見出している。CD3 ζ 鎖のみで校正されるhCD19 CARと、第二世代の中でもCD28、ICOS、4-1BBの3種類、計4種類のCAR-T細胞の間で細胞傷害活性や生体内でのCAR-T細胞の生存維持に差が現れることが予想された。補助刺激受容体の細胞内ドメインなし、CD28、ICOS、4-1BBの細胞内チロシドドメインのみを置換したhCD19 CARを作成し、それぞれのCARシグナロソームの構成分子を細胞内蛍光で検出したところ、CD3 ζ のみのCARではTCRマイクロクラスターと相同な分子のリクルートが、またCD28を含むCARではNF κ B経路に片寄ったシグナル伝達分子群が、またICOSのCARではイノシトール3リン酸経路の活性化に寄与する酵素群がそれぞれリクルートし、これらの違いがhCD19 CAR-T細胞の活性化の微妙な違いや、CAR-T細胞自身のヘルパー細胞分化の違い、またIL-2産生を伴う増殖反応と記憶CAR-T細胞への分化の違いとして現れることが予想された。

(9) TCRから発信されるhCD19 CARシグナロソームへのクロストークの解明：エフェクターT細胞から記憶細胞への分化誘導や生体内での維持には、継続的に起こっているMHCと自己抗原に結合したTCRからの微弱なトニックシグナルが重要と考えられる。hCD19 CAR-T細胞では、抗hCD19抗体からの、TCRとは比較にならない程高いリガンド親和性に起因する強いシグナルが惹起されると予想する。また腫瘍細胞の駆逐後、抗原のない体内においてCAR-T細胞が維持されるにはCAR以外の受容体からの持続的なシグナルが必須であると考えられる。この仮説に基づきhCD19-CAR T細胞におけるTCRの挙動を1分子観察した結果、hCD19 CARマイクロクラスターの形成に伴い、TCRもクラスターリングすることが分かった。MHC上にcognateな抗原が存在する場合はTCRマイクロクラスターはhCD19 CARマイクロクラスターと完全に共局在し、一方自己抗原しかない場合もTCRマイクロクラスターは観察され、hCD19 CARマイクロクラスターに併走するように観察された。この結果はhCD19 CARの強力なシグナロソーム形成によってTCR下流のシグナル伝達分子が活性化し、これらがアダプターの役目を果たしながらinside-outのシグナルを經由してTCRマイクロクラスターの形成に繋がると考えられ、TCRとhCD19 CARの間にはシグナルのクロストークが存在すると予想された。一方、hCD5 CARでは同様の現象は弱く、リガンドに対する親和性やCARのキメラ分子としてのデザインの違いがhCD19とhCD5を差別化していることが考えられる。

(10) hCD19 CARシグナロソーム抑制に寄与するPD-1:E3ユビキチンリガーゼによるタンパク分解や受容体のインターナリゼーションによるhCD19 CARシグナロソームの抑制に対し、hCD19 CARマイクロクラスターにリクルートするリン酸化タンパク質の脱リン酸化反応も同等の抑制機構の候補である。その1つの可能性としてPD-1シグナロソームとhCD19 CARとの関連性を解析した。PD-1はリガンドであるPD-L1およびPD-L2との結合を機にPD-1マイクロクラスターを形成する。PD-1マイクロクラスターにリクルートされた脱リン酸化酵素SHP2は、hCD19 CARマイクロクラスターと局在を同じにし、hCD19 CARを含めたhCD19 CARマイクロクラスターの脱リン酸化反応に寄与していた。この結果は、PD-1がhCD19 CAR-T細胞の過剰な活性化を制御できる機序の1つとして応用できるだけでなく、腫瘍微小環境に遊走したhCD19 CAR-T細胞がPD-1を高発現することによって起こるCAR-T細胞疲弊からも回避可能とする応用価値の高い結果と考える。またhCD5 CARなど他のCARとhCD19 CARとの隔たりもあり、デザインの違いによってPD-1との相互作用の違いがあることから、疲弊しにくいCARのデザイン等も可能であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kong MS, Hashimoto-Tane A, Kawashima Y, Sakuma M, Yokosuka T, Kometani K, Onishi R, Carpino N, Ohara O, Kurosaki T, Phua KK, Saito T	4. 巻 12
2. 論文標題 Inhibition of T cell activation and function by the adaptor protein CIN85.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Signal.	6. 最初と最後の頁 1609-1625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aav4373.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Abe Yasuharu, Nambu Aya, Yamaguchi Sachiko, Takamori Ayako, Suto Hajime, Hirose Sachiko, Yokosuka Tadashi, Nakae Susumu, Sudo Katsuko	4. 巻 12
2. 論文標題 Role of interleukin-25 in development of spontaneous arthritis in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 62 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiroaki Machiyama, Takamitsu J. Morikawa, Kazuko Okamoto, Tomonobu M. Watanabe, Hideaki Fujita	4. 巻 14
2. 論文標題 The use of a genetically encoded molecular crowding sensor in various biological phenomena	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophys Physicobiol.	6. 最初と最後の頁 119-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.2142/biophysico.14.0_119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiroaki Machiyama, Tomoyuki Yamaguchi, Tomonobu M. Watanabe, Hideaki Fujita	4. 巻 13
2. 論文標題 A novel c-Src recruitment pathway from the cytosol to focal adhesions.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FEBS Lett.	6. 最初と最後の頁 1940-1946
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1002/1873-3468.12696.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masahiro Okada, Shunsuke Chikuma, Taisuke Kondo, Sana Hibino, Hiroaki Machiyama, Tadashi Yokosuka, Miyako Nakano, Akihiko Yoshimura	4. 巻 20
2. 論文標題 Blockage of Core Fucosylation Reduces Cell-Surface Expression of PD-1 and Promotes Anti-tumor Immune Responses of T Cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 1017-1028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.027.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計38件 (うち招待講演 25件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤と癌治療の進歩ー臨床と基礎の視点からー
3. 学会等名 第22回日本がん分子標的治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 チェックポイントから学ぶことー科学的思考は疫学や過去の結論から新天地を築くー
3. 学会等名 第35回日本呼吸器外科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秦喜久美、町山裕亮、若松英、豊田博子、古畑昌枝、矢那瀬紀子、横須賀忠
2. 発表標題 胸腺ダブルポジティブT細胞におけるc-Cblのシグナルソーム形成と胸腺選択との相関
3. 学会等名 Kyoto T cell Conference 第28回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠、若松英、矢那瀬紀子、竹原朋宏、秦喜久美、町山裕亮
2. 発表標題 分子イメージングによる免疫チェックポイント療法によるT細胞の疲弊解除とその分子メカニズムの解明
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 がん免疫と分子イメージング先端的研究－免疫チェックポイント分子とキメラ抗原受容体CARの分子メカニズム－
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 免疫チェックポイント療法はなぜ効くのか？分子イメージングが明らかにするT細胞活性化の時空間的制御機構
3. 学会等名 国立がんセンター東がん免疫セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くT細胞活性化機構の解明とがん免疫応答～免疫チェックポイント分子とキメラ抗原受容体CARのシグナルソーム形成～
3. 学会等名 三重大学院医学研究科セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが解明する免疫チェックポイント療法によるT細胞の疲弊解除とその分子メカニズム
3. 学会等名 中外製薬株式会社セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが明らかにするT細胞活性化の時空間的制御機構～免疫チェックポイント分子とCAR～
3. 学会等名 第59回日本肺癌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが明らかにするマイクロクラスターによるT細胞活性化制御機構～免疫チェックポイント受容体とCARのマイクロクラスター～
3. 学会等名 第一三共株式会社細胞治療研究所講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yokosuka Tadashi, Wakamatsu Ei, Yanase Noriko, Toyota Hiroko, Furuhata Masae, Hata Kikumi, Machiyama Hiroaki
2. 発表標題 Dynamics of the PI3K signaling pathway induced by a T cell costimulator, ICOS.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikumi Hata, Hiroaki Machiyama, Noriko Yanase, Masae Furuhashi, Hiroko Toyota, Ei Wakamatsu, Tadashi Yokosuka
2. 発表標題 Cooperative regulation of thymic selection by receptor endocytosis and signal strength through TCR and E3 ubiquitin ligase c-Cbl microcluster formation.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yanase Noriko, Machiyama Hiroaki, Wakamatsu Ei, Toyota Hiroko, Furuhashi Masae, Hata Kikumi, Mamonkin Maksim, Brenner Malcolm K, Yokosuka Tadashi
2. 発表標題 Molecular imaging of the hCD19 CAR signalosomes, "CAR microclusters".
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Machiyama, Ei Wakamatsu, Noriko Yanase, Kikumi Hata, Masae Furuhashi, Hiroko Toyota, Tadashi Yokosuka
2. 発表標題 Single molecule imaging unveils a distinct difference in Lck-dynamics between CD4+ and CD8+ T cells.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tadashi Yokosuka, Ei Wakamatsu, Tomohiro Takehara, Kikumi Hata, Noriko Yanase, Hiroaki Machiyama
2. 発表標題 Molecular imaging unveils a mechanism of T cell activation regulation by immune checkpoint microclusters.
3. 学会等名 The 23rd JFCR-ISCC New Antitumor Agents under Development in the US, Europe and Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くT細胞活性化機構の解明とがん免疫応答ーチェックポイント分子とキメラ抗原受容体CARのシグナルソーム形成ー
3. 学会等名 Immuno-Oncology Forum in Ehime (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町山裕亮
2. 発表標題 Lckキナーゼの構造・局在・ダイナミクスによるT細胞シグナル制御
3. 学会等名 理研シンポジウム「細胞システムの動態と理論XI」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓くT細胞活性化の時空間的制御機構 - シグナルソームの視点から免疫チェックポイントを解釈する -
3. 学会等名 Expert Seminar of Immunology (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓く免疫チェックポイント分子による細胞活性化の時空間的制御機構
3. 学会等名 第32回日本肺癌学会ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓く免疫チェックポイント分子によるT細胞活性化の時空間的制御機構
3. 学会等名 第2回肺癌バイオカンファレンス（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓く免疫チェックポイント分子によるT細胞活性化の時空間的制御機構
3. 学会等名 上総イムノオンコロジーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが明らかにするT細胞の活性化制御機構 - がんの免疫チェックポイント療法はなぜ効くのか？ -
3. 学会等名 第71回東邦医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓くT細胞活性化の時空間的制御機構-T細胞シグナルソームの視点から免疫チェックポイント分子を解釈する-
3. 学会等名 Meet The Specialist 2017（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yokosuka T, Machiyama H, Hata K, Yanase N, Hashimoto-Tane A, Siato T
2. 発表標題 Microclusters as a functional unit for endocytosis of TCRs
3. 学会等名 第46回日本免疫学会総会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 イメージングが拓くT細胞活性化の時空間的制御機構－免疫チェックポイントはなぜ効くのか？－
3. 学会等名 第12回肝免疫フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yokosuka T
2. 発表標題 Molecular imaging unveils spatiotemporal regulation of T cell activation by immune checkpoint receptors.
3. 学会等名 The 1st International Cancer Research Symposium of Training Plan for Oncology Professionals（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takehara T, Wakamatsu E, Machiyama H, Yanase N, Hata K, Toyoda H, Furuhashi M, Yasuda H, Soejima K, Yokosuka T
2. 発表標題 Programmed cell death 2 forms coinhibitory microclusters that directly attenuate T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2
3. 学会等名 American Association for Cancer Research（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くがん免疫応答とT細胞活性化メカニズムの解明
3. 学会等名 第75回日本口腔科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町山裕亮、若松英、秦喜久美、矢那瀬紀子、古畑昌枝、豊田博子、横須賀忠
2. 発表標題 末梢T細胞ではLckと共受容体CD4/CD8との協調的クラスター形成によって初期のTCRシグナルが惹起される
3. 学会等名 Kyot T cell Conference 第29回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くT細胞活性化機構の解明とがん免疫療法への応用 -チェックポイント分子のとキメラ抗原受容体CARのシグナルソーム形成-
3. 学会等名 Urology Conference at Shinanomachi（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠、若松英、矢那瀬紀子、秦喜久美、竹原朋宏、西航、町山裕亮
2. 発表標題 CARマイクロクラスターによる腫瘍抗原の認識とCAR-T細胞活性化の時空間的制御機構
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠、若松英、矢那瀬紀子、秦喜久美、竹原朋宏、西航、町山裕亮
2. 発表標題 多様なT細胞シグナルソームによる腫瘍およびネオ・セルフ抗原認識の分子機構
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くT細胞活性化機構の解明とがん免疫療法
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横須賀忠
2. 発表標題 分子イメージングが拓くT細胞活性化機構の解明とがん免疫療法 -免疫チェックポイント分子とキメラ抗原受容体のシグナルソーム-
3. 学会等名 Scientific Exchange Meeting in 北九州2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yanase N, Machiyama H, Toyota H, Furuhashi M, Hata K, Takehara T, Wakamatsu E, Yokosuka T
2. 発表標題 Extrinsic and intrinsic inhibition of T cell response by co-inhibitory receptors, TIGIT and CD96.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takehara T, Wakamatsu E, Machiyama H, Yanase N, Toyota H, Furuhashi M, Koichi F, Soejima K, Yokosuka T
2. 発表標題 Programmed cell death 2 forms coinhibitory microclusters that directly attenuate T cell receptor signaling by recruiting the phosphatase SHP2.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakamatsu E, Machiyama H, Toyota H, Furuhashi M, Hata K, Yanase N, Yokosuka T
2. 発表標題 Indirect suppression of CD4+ T cell activation by LAG3-mediated trogocytosis of MHC Class II.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Machiyama H, Wakamatsu E, Hata K, Yanase N, Furuhashi M, Toyota H, Yokosuka T
2. 発表標題 Different requirement of the coreceptors CD4 and CD8 for initiation of T cell activation.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 横須賀忠、監訳：中尾篤人	4. 発行年 2018年
2. 出版社 エルゼビア・ジャパン	5. 総ページ数 577
3. 書名 アブスーリックマンープレ分子細胞免疫学原著9版 第7章免疫受容体とシグナル伝達	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、古畑昌枝、豊田博子、秦喜久美、矢那瀬紀子、町山裕亮	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 138
3. 書名 実験医学 すべてはここから始まった、CTLA-4	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、秦喜久美、矢那瀬紀子、竹原朋宏、町山裕亮	4. 発行年 2018年
2. 出版社 東邦医学会雑誌編集事務局	5. 総ページ数 22
3. 書名 東邦医学会雑誌 分子イメージングが拓く免疫チェックポイント受容体のT細胞活性化制御機構	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、古畑昌枝、豊田博子、秦喜久美、矢那瀬紀子、町山裕亮	4. 発行年 2018年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 119
3. 書名 臨床免疫・アレルギー科 分子イメージングから考察した免疫チェックポイント分子のT細胞抑制機構	

1. 著者名 横須賀忠、監訳：笹月健彦、吉開泰信	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 884
3. 書名 Janeway's免疫生物学原著第9版 第7章リンパ球レセプターシグナル	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、矢那瀬紀子、秦喜久美、町山裕亮	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本生物物理学会	5. 総ページ数 64
3. 書名 生物物理	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、秦喜久美、竹原朋宏、西航、矢那瀬紀子、町山裕亮	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 268
3. 書名 がん免疫療法の個別化を支える新・腫瘍免疫学	

1. 著者名 横須賀忠、若松英、町山裕亮	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株NTS	5. 総ページ数 624
3. 書名 「膜タンパク質工学ハンドブック」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京医科大学免疫学分野 https://tokyo-med-imm.jimdo.com</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	矢那瀬 紀子 (Yanase Noriko) (10210303)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	
研究 分 担 者	町山 裕亮 (Machiyama Hiroaki) (40704606)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	