

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293237

研究課題名(和文)革新的細胞チップ技術を用いた感染症に対する個の免疫医療の創成

研究課題名(英文)Development of an innovative lymphocyte chip to establish personalized immuno-therapy for infectious diseases

研究代表者

村口 篤(MURAGUCHI, Atsushi)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：20174287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：細胞チップを用いた個の免疫医療の創生を目的として、1) 磁気盤をチップに配置した磁気チップに、磁気ビーズをコートした細胞を播種する方法を開発した。2) 抗原特異的サイトカイン産生T細胞を、各ウェルから細胞を1個ずつ回収し、TCR alpha鎖、beta鎖の遺伝子配列を効率良く決定することができた。3) 細胞チップ上で抗原特異的CD4+ T細胞を検出する方法を確立した。4) 取得したTCRの機能解析法を改良した。5) sTCR(V領域とC領域を含む2量体)とscFv-TCR(単鎖可変領域からなる1量体)の構築に成功した。6) 中和能を有するヒト抗ウエストナイルウイルスモノクローナル抗体を4個樹立した。

研究成果の概要(英文)：To develop an innovative lymphocyte chip to establish personalized immuno-therapy for infectious diseases, 1) We developed a new lymphocyte chip using microwave-coated chip that were able to efficiency trap single microwave-beads coated lymphocytes. 2) We succeeded in retrieving a single antigen-specific T lymphocytes from lymphocyte chip and efficiently analyzing TCR gene sequences of alpha- and beta-TCR gene. 3) We succeeded in detection of antigen-specific CD4-positive T lymphocytes using lymphocyte chip. 4) We improved a method for verifying TCR function using various target cell lines. 5) We successfully constructed sTCR (a dimer containing TCR V-region and TCR C-region) and scFv-TCR (a monomer containing V-alpha gene and V-beta gene in a single polypeptide). 6) We established 4 kinds of human anti-West Nile virus monoclonal antibodies with neutralizing activities.

研究分野：免疫学

キーワード：リンパ球チップ Tリンパ球 T細胞受容体 免疫治療 個の免疫

1. 研究開始当初の背景

(1) 「個の免疫医療システムの開発」: 「個の免疫医療システムの開発」とは、患者から抗体やT細胞が発現するTCRのcDNAを迅速に取得し、遺伝子工学手法で治療用モノクローナル抗体 (MoAb) や傷害性Tリンパ球 (CTL) を作製し、感染症やがん患者の治療に用いるものである。その基盤技術として、1個のリンパ球から抗体やTCR遺伝子を迅速に取り出す技術が必須であるが、その基盤技術の開発は困難であった。

(2) 「リンパ球チップの開発」: 個々の細胞を解析するための細胞マイクロアレイとして、スライドガラスに蛋白質を結合したチップの開発 (MacBeath G. *Science* 289;1760, 2000) や、発現型ベクターに挿入したcDNAをスポットしたマイクロアレイの開発 (Ziauddin J. *Nature* 411:107, 2001) が報告されたが、これらの方法はスライドガラス一面に細胞を培養するので、細胞は不均一に分布し、さらに細胞の回収ができないというデメリットがあった。我々は、1個のリンパ球を直径10 μ mのマイクロチップに補填し、それを回収し、単一細胞の遺伝子解析、特に抗体遺伝子解析ができる画期的なシステム「リンパ球チップ」の構築に世界で初めて成功した (Yamamura S. et al. *Analytical Chemistry*, 2005)。さらに、このリンパ球チップを用いて、ヒト抗原特異的B細胞の同定とヒトMoAbの迅速作製法 (ISAAC: Immunospot array assay on a chip) を確立した (Jin A. et al, *Nature Medicine*, 2009, Jin A. et al, *Nature Protocols*, 2011)。

そして、このISAAC法を用いて、ワクチン接種されたヒト末梢血からB型肝炎ウイルス、インフルエンザウイルスに対する強力な中和活性を有する多数のヒトモノクローナル抗体 (MoAb) を極めて短時間 (7日以内) に作成することに成功した (Tajiri K. *Antiviral Res.* 2010, Ozawa et al. *Antiviral Res.* 2011)。

さらに、このシステムを発展させ、ウサギの末梢血、骨髄、リンパ節から極めて高親和性 (Kd:10⁻¹²以上) の蛋白あるいはリン酸化ペプチドに対するMoAbを7日間で取得する方法 (Rabbit ISAAC) を確立した (Ozawa T, et al. *PLoS One*, 2012)。これらのヒト・ウサギISAACシステムは、世界最速で高品質のヒト・ウサギMoAb作製法として世界で注目されている。

(3) 世界最速の TCR 遺伝子クローニングシステムの開発に成功: 次に、我々は、細胞性免疫の中心的役割を担うT細胞受容体 (TCR) 遺伝子を迅速に単離するシステム (hTEC10: human TCR efficient cloning within 10 days) の開発に挑戦した。その結果、EB ウィ

ルス感染者とがん患者の末梢血から、それぞれ 200 個以上の機能的なキラーT細胞の TCR 遺伝子を、世界最短の 10 日間で取得することに成功した (Kobayashi E. et al. *Nature Medicine*, 2013)。しかしながら、hTEC10 システムの問題点は、抗原特異的T細胞を検出するために特定の MHC/ペプチドのテトラマーで染色し、FACS で単細胞を分離する必要があり、臨床応用に限界があることである。

(4) 新技術 (T-ISAAC) の開発と臨床応用への挑戦: そこで、本研究では我々が持つ革新的チップ技術を TCR 遺伝子の迅速取得に応用し、感染症から世界最速で網羅的に TCR が取得できる新技術 (T-ISAAC) を開発し、エイズやウエストナイル脳症などのウイルス感染症や細菌兵器に対する「個の免疫医療の基盤技術の創成」に挑戦する。

2. 研究の目的

近年、SARS、トリインフルエンザ、赤痢菌、エイズ、ウエストナイル脳炎などの新興・再興感染症、日和見感染症、輸入感染症、さらには、天然痘などの細菌兵器が、人類にとっての新たな脅威となってきている。人的交流のグローバル化、高齢化、地球温暖化等のさまざまな要因により、感染症は今後ますます深刻化することが懸念される。本研究は、我々が独自に開発した「リンパ球チップ」という革新的なリンパ球単離技術を基盤として、感染症の血液や組織から、病原菌特異的ヒトBリンパ球とTリンパ球を効率良く同定し、抗体およびT細胞受容体 (TCR) cDNA を迅速に単離し、感染症に対する「個の免疫医療システム」を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

平成 26 年度に、1) 新規マイクロエルチップの開発、2) T-ISAAC 法の確立、3) 抗原特異的 CD8⁺T細胞の単一細胞の検出法、4) 抗原特異的 CD4⁺T細胞の検出、5) 単一T細胞からの TCR 遺伝子取得法の改良を行なう。その成果を基盤に、平成 27 年度以降に、6) 取得 TCR の機能解析法の改良、7) 可溶化 TCR (fsTCR) 作製法の確立、8) エイズウイルスに対する有効な迅速ヒト抗体/TCR 取得、9) ウエストナイルウイルスに対する有効な迅速ヒト抗体/TCR 取得を目指す。

4. 研究成果

平成 26 年度の研究成果

(1) リンパ球チップ法のための、新規マイクロエルチップの開発を目的として、磁気盤

をチップに配置した磁気チップに、磁気ビーズをコートした細胞を播種する方法で、細胞導入率を飛躍的に上げることができた。本年度は、1個1個の細胞の回収率の向上に挑戦した。具体的には、富山県工業技術センターと連携し、各ウェルから細胞を下面に吸引する方法、あるいは上方から磁気を利用して吸い上げる方法の両者について検討した。下面から細胞を吸引する方法については、技術上ハードルが高いが、上方から細胞を吸引する方法に進展が見られた。

(2) 抗原特異的T細胞の単一細胞の検出法 (T-ISAAC) の確立を目的として、直径10 μ mのウェルに1個ずつT細胞を播種し、チップ上で細胞をPMA/ionomycinで刺激し、23万個のT細胞のサイトカイン産生を単一細胞レベルで検出できる方法を確立している。今回、サイトカイン産生T細胞を、各ウェルから細胞を1個ずつ回収し、遺伝子解析を行った結果、alpha鎖、beta鎖の遺伝子配列を効率良く決定することができた。

(3) 次に、抗原特異的 CD8⁺T細胞を T-ISAAC で検出するために、MHC クラス 分子を発現したミセルを作製し、チップ内で抗原刺激をしたが、バックグランドが高く、再現性が取れなかった。ミセルの作成法にも問題があった。そこで、CD8⁺T細胞自身の MHC クラス 分子に抗原ペプチドを負荷し、チップ内で刺激したところ、抗原(ペプチド)特異的にサイトカイン産生細胞を検出することができた。

平成27年度の研究成果

(1)細胞チップ上で抗原特異的CD4⁺T細胞を検出する方法を確立した。実験には、I-A^bMHC クラス 分子に結合した結核菌由来ペプチドを認識するP25 TCR トランスジェニックマウスを用いた。まず、I-A^b分子を発現した細胞から細胞膜ミセルに抗原ペプチドを負荷してT細胞を刺激した結果、ペプチド負荷でT細胞のサイトカイン産生が見られた。次に、I-A^b分子組換えタンパクを細胞で発現させ、界面活性剤で抽出後、抗原ペプチドを負荷してT細胞を刺激した結果、抗原ペプチド負荷によりT細胞のサイトカイン産生が見られた。

(2)単一細胞からの TCR 遺伝子の単離は、T細胞の持つ TCR-mRNA の量が少ないため、困難を伴う。この困難を克服するために、T細胞をあらかじめ anti-CD3, IL-2, IL-4, マイトゲン等で in vitro で活性化して、RT-PCR を行うと増幅率が上がるかどうかを検討した。その結果、活性化により TCR 遺伝子の単

離の確率が飛躍的に上昇した。

(3)これまで、取得した TCR の機能解析は、発現ベクターに組み込んだ TCR 遺伝子を、レトロウイルスベクターを用いて TCR 欠損、CD4 あるいは CD8 遺伝子を導入した T細胞株 (TG40) に導入し、TCR/CD3 分子を膜に発現させて、ペプチドを発現させた抗原提示細胞で刺激し、活性化マーカーCD69 の発現あるいは IL-2 産生を FACS で測定してきたが、バックグランドが高いという課題があった。そこで、EG40 細胞以外のさまざまな細胞株に外来性 TCR を発現させ、機能解析ができるか否かを検証した。その結果、他の細胞株を用いて、より確実に迅速に機能解析が行えることが示された。また、その細胞株で直接、細胞を傷害できる可能性も示された。

平成 28 年度の研究成果

(1) TCR は抗体と同様に MHC/ペプチドの形で抗原(ペプチド)に特異的に反応するが、抗体と異なり膜型蛋白であるために、T細胞に発現させる形でしか扱うことができない。それを可溶化型にすることでモノクローナル抗体と同様に、病変部位の検出やがん治療に応用できる可能性がある。しかし、可溶性型 TCR を作成する場合、TCR ベクターを大腸菌で発現させると構造が不安定になることが指摘されている。

そこで、2種類の sTCR (V領域とC領域を含む2量体)と scFv-TCR (単鎖可変領域からなる1量体)の TCR 遺伝子を構築した。この遺伝子を CHO 細胞に発現させ、安定化した可溶性 TCR を得ることができた。さらに、可溶性 TCR を、ピオチンを用いてマルチマー化(4量化)することで、より安定した高親和性の可溶性 TCR を得ることができた。

(2)日本脳炎ウイルス(JEV)に近縁のウエストナイルウイルス(WNV)は、高齢者層を中心に致死性の脳炎・髄膜炎を惹き起こす蚊媒介性のヒト感染性ウイルスであり、本邦にも普遍的に存在する自然宿主(鳥・蚊)と国際間の交通事情によりウイルス侵入の危険は常在しており、また今後の高齢化を鑑みれば、その感染症対策は急務である。これまでに、日本脳炎ワクチン接種によって獲得されるウエストナイルウイルスに対する交差中和抗体ができる可能性が示唆されている。そこで、本研究では、日本脳炎ワクチン接種後約1ヶ月後の血液から、ヒト抗ウエストナイルウイルスモノクローナル抗体を4個樹立した。これらの抗体のウエストナイルウイルス感染に対する予防・治療効果を、マウスを使った動物実験

で確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

Zaimoku Y, Takamatsu H, Hosomichi K, Ozawa T, Nakagawa N, Imi T, Maruyama H, Katagiri T, Kishi H, Tajima A, Muraguchi A, Kashiwase K, Nakao S. Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia. *Blood*. 査読有, 129(21): 2908-2916, 2017.

doi: 10.1182/blood-2016-11-752378.

Nakagawa H, Mizukoshi E, Kobayashi E, Tamai T, Hamana H, Ozawa T, Kishi H, Kitahara M, Yamashita T, Arai K, Terashima T, Iida N, Fushimi K, Muraguchi A, Kaneko S. Association between high-avidity T-cell receptors, induced by α -fetoprotein-derived peptides, and anti-tumor effects in patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 査読有, 152(6): 1395-1406, 2017.

doi: 10.1053/j.gastro.2017.02.001.

Hao Z, Han X, Sun X, Shen M, Huang J, Li Y, Ozawa T, Pang D, Jin S, Kishi H, Muraguchi A, Jin A. Fully human monoclonal antibodies to TRAIL-R1 enhance TRAIL-induced apoptosis via activation of caspase-8 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有, 475(2): 238-44, 2016.

doi: 10.1016/j.bbrc.2016.05.089.

Hamana H, Shitaoka K, Kishi H, Ozawa T, Muraguchi A. A novel, rapid and efficient method of cloning functional antigen-specific T-cell receptors from single human and mouse T-cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有, 474(4): 709-14, 2016.

doi: 10.1016/j.bbrc.2016.05.015.

Piao X, Ozawa T, Hamana H, Shitaoka K, Jin A, Kishi H, Muraguchi A. TRAIL-receptor 1 IgM antibodies strongly induce apoptosis in human cancer cells in vitro and in vivo. *Oncoimmunology*. 査読有, 5(5): e1131380, 2016.

doi: 10.1080/2162402X.2015.1131380.

Mou Z, Li J, Boussoffara T, Kishi H, Hamana H, Ezzati P, Hu C, Yi W, Liu D, Khadem F, Okwor I, Jia P, Shitaoka K, Wang S, Ndao M, Petersen C, Chen J, Rafati S, Louzir H, Muraguchi A, Wilkins JA, Uzonna JE. Identification of broadly conserved cross-species protective Leishmania antigen and its responding CD4+ T cells. *Sci Transl Med*. 査読有,

7(310): 310ra167, 2015.

doi: 10.1126/scitranslmed.aac5477.

Takeda H, Ogasawara T, Ozawa T, Muraguchi A, Jih PJ, Morishita R, Uchigashima M, Watanabe M, Fujimoto T, Iwasaki T, Endo Y, Sawasaki T. Production of monoclonal antibodies against GPCR using cell-free synthesized GPCR antigen and biotinylated liposome-based interaction assay. *Sci Rep*. 査読有, 5: 11333, 2015.

doi: 10.1038/srep11333.

Tsuda R, Ozawa T, Kobayashi E, Hamana H, Taki H, Tobe K, Sugiyama E, Iwamoto M, Imura J, Kishi H, Muraguchi A. Monoclonal antibody against citrullinated peptides obtained from rheumatoid arthritis patients reacts with numerous citrullinated microbial and food proteins. *Arthritis Rheumatol*. 査読有, 67(8): 2020-31, 2015.

doi: 10.1002/art.39161.

Simhadri VR, Dimitrova M, Mariano JL, Zenarruzabeitia O, Zhong W, Ozawa T, Muraguchi A, Kishi H, Eichelberger MC, Borrego F. A Human Anti-M2 Antibody Mediates Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC) and Cytokine Secretion by Resting and Cytokine-Preactivated Natural Killer (NK) Cells. *PLoS One*. 査読有, 10(4): e0124677, 2015.

doi: 10.1371/journal.pone.0124677.

Kobayashi E, Kishi H, Ozawa T, Hamana H, Nakagawa H, Jin A, Lin Z, Muraguchi A. A chimeric antigen receptor for TRAIL-receptor 1 induces apoptosis in various types of tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有, 453(4): 798-803, 2014.

doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.024.

[学会発表](計 53 件)

Kishi H, Hamana H, Shitaoka K, Lyu F, Ozawa T, Muraguchi A. TCR repertoire of CD4+CD25+CD137+Foxp3+ tumor infiltrating lymphocytes in mice. 第 45 回 日本免疫学会学術集会; 2016 Dec 5-7; 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市).

Ozawa T, Kishi H, Hamana H, Tajiri K, Muraguchi A. Single-T-cell manipulation method using microwell array chip (T-ISAAC) allows rapid and efficient cloning of antigen-specific TCRs. 第 45 回 日本免疫学会学術集会; 2016 Dec 5-7; 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市).

Hamana H, Kishi H, Shitaoka K, Ozawa T, Muraguchi A. A rapid and easy system for cDNAs cloning of antigen specific TCRs from single human and mouse T-cells

within 4 days. 第 45 回日本免疫学会学術集会；2016 Dec 5-7；沖縄コンベンションセンター（沖縄県宜野湾市）.
Shitaoka K, Kishi H, Hamana H, Hayakawa Y, Ozawa T, Muraguchi A. T cell receptor obtained from tumor-infiltrating lymphocytes without using tumor-specific antigens exhibits cytotoxicity to tumors in vitro and in vivo. 第 45 回日本免疫学会学術集会；2016 Dec 5-7；沖縄コンベンションセンター（沖縄県宜野湾市）.
Lyu F, Shitaoka K, Hamana H, Hayakawa Y, Kishi H, Muraguchi A. TCR repertoire analysis of OVA-specific T-cells infiltrating into OVA-expressing-melanoma during tumor progression. 第 45 回日本免疫学会学術集会；2016 Dec 5-7；沖縄コンベンションセンター（沖縄県宜野湾市）.
Okumura M, Ozawa T, Taki H, Kishi H, Muraguchi A. Epitopes and tissue reactivity of monoclonal anti-TRIM21/Ro52 autoantibodies isolated from collagen disease-patients with interstitial lung disease. 第 45 回日本免疫学会学術集会；2016 Dec 5-7；沖縄コンベンションセンター（沖縄県宜野湾市）.
Takamatsu H, Zaimoku Y, Ozawa T, Kawai S, Tanaka H, Kishi H, Muraguchi A, Nakao S. Development of novel human anti-HLA-monoclonal antibodies for clinical applications using peripheral blood B cells derived from anti-HLA antibody-positive donors. 58th ASH Annual Meeting & Exposition; 2016 Dec 3-6; San Diego (米国).
Ozawa T, Kishi H, and Muraguchi A. Rapid generation of monoclonal antibodies using lymphocyte-microarray chip. 第 68 回日本生物工学会大会国際シンポジウム；2016 Sep 28-30；富山国際会議場(富山県富山市)。(招待講演)
Kishi H, Jin A, Hamana H, Shitaoka K, Tajiri K, Kobayashi E, Kusano S, Yokoyama S, Ozawa T, Nagai T, Obata T, Hatakeyama S, Horii M, Hu Y, Zhang F, Muraguchi A. *Cis*-interaction of TCRs and antigen/MHC class I complexes on CD8⁺ T cells causes their activation. 2016 International Congress of Immunology; 2016 Aug 21-26; Melbourne (豪州).
Ozawa T, Kishi H, Hamana H, Tajiri K, Lyu F, Muraguchi A. A rapid and efficient single-cell manipulation method using microwell array chip (ISAAC) technology for screening antigen-specific cytokines-secreting T-cells. 2016 International Congress of Immunology; 2016 Aug 21-26; Melbourne (豪州).
Hamana H, Kishi H, Shitaoka K, Piao X,

Ozawa T, Muraguchi A. A rapid and easy system for screening of antigen-specific TCRs. 2016 International Congress of Immunology; 2016 Aug 21-26; Melbourne (豪州).
Shitaoka K, Hamana H, Kishi H, Ozawa T, Muraguchi A. Identification of tumor-specific T cell receptors of primary tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) from B16F10 melanoma-bearing mice at single cell levels. 2016 International Congress of Immunology; 2016 Aug 21-26; Melbourne (豪州).
Masaki H, Ozawa T, Takasaki T, Aoyama I, Yumisashi T, Konishi E, Kishi H, and Muraguchi A. Establishment of West Nile virus-neutralizing human monoclonal antibodies derived from the individuals vaccinated with inactivated Japanese encephalitis virus by ISAAC technology. 2016 International Congress of Immunology; 2016 Aug 21-26; Melbourne (豪州).
Kishi H, Hamana H, Shitaoka K, Ozawa T, Muraguchi A. Assessment of T cell receptor function. 第 44 回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）.
Ozawa T, Tsuda R, Hamana H, Taki H, Kishi H, Muraguchi A. Reactivity of a monoclonal ACPA obtained from RA patient with numerous citrullinated antigens. 第 44 回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）.
Hamana H, Kishi H, Shitaoka K, Piao X, Ozawa T, Muraguchi A. Development of an NFAT-luciferase reporter system for screening of antigen-specific TCRs using non-T cells. 第 44 回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）.
Shitaoka K, Kishi H, Hamana H, Ozawa T, Muraguchi A. Identification of tumor-specific T cell receptors from primary tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) obtained from B16F10 melanoma-bearing mice. 第 44 回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）.
Tamai T, Kishi H, Shitaoka K, Hamana H, Ozawa T, Muraguchi A. Identification of T-cell receptors of the CD8⁺ T cells in response to HLA-A24 restricted epitopes from hepatitis B virus. 第 44 回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).
Piao X, Ozawa T, Kishi H, Shitaoka K, Hamana H, Muraguchi A. TRAIL

- receptor-1 IgM antibodies strongly induced apoptosis in cancer cells. 第44回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）。
- Obi M, Ozawa T, Taki H, Kishi H, Muraguchi A. Isolation of monoclonal anti-TRIM21/Ro52 autoantibodies from collagen disease-patients with interstitial lung disease and their reactivity to the peptide library. 第44回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）。
- ⑳ Masaki H, Ozawa T, Takasaki T, Kishi H, Muraguchi A. Establishment of West Nile virus-neutralizing human monoclonal antibodies derived from the individuals vaccinated with inactivated Japanese encephalitis virus by ISAAC technology. 第44回日本免疫学会学術集会；2015 Nov 18-20；札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）。
- ㉑ Kishi H. Single Cell Analysis of Antigen Receptors of Lymphocytes for Tumor Immunology and Immunotherapy. The Korean Association of Immunologists 2015 Fall Conference; 2015 Nov 12-13; Seoul (韓国)。(Invited lecture)
- ㉒ Iwamoto M, Honne K, Hanai S, Sekiya H, Ozawa T, Kishi H, Muraguchi A, Minota S. Distinct pattern of the binding of human monoclonal anti-cyclic citrullinated peptide antibody to joint synovium in between osteoarthritis and rheumatoid arthritis. 2015 Henry Kunkel Meeting; 2015 Apr 14-16; Annecy (フランス)。
- ㉓ Kishi H, Hamana H, Tajiri K, Ozawa T, Muraguchi A. Cis-interaction of TCR and antigen/MHC class I complexes on a CD8⁺ T cell. 第43回日本免疫学会学術集会；2014 Dec 10-12；京都国際会館（京都府京都市）。
- ㉔ Ozawa T, Piao X, Kishi H, Muraguchi A. Rapid generation of rabbit monoclonal antibodies against G-protein coupled receptor and application of these antibodies. 第43回日本免疫学会学術集会；2014 Dec 10-12；京都国際会館（京都府京都市）。
- ㉕ Hamana H, Kishi H, Ozawa T, Muraguchi A. Development of simple and efficient method for amplification of TCR ab cDNA from single human T cells. 第43回日本免疫学会学術集会；2014 Dec 10-12；京都国際会館（京都府京都市）。
- ㉖ Piao X, Kobayashi E, Kishi H, Hamana H, Ozawa T, Muraguchi A. Identification of T cell antigen by an artificial reporter-cell system. 第43回日本免疫学会学術集会；2014 Dec 10-12；京都国際会館（京都府京都市）。
- ㉗ Masaki H, Ozawa T, Takasaki T, Kishi H, Muraguchi A. Establishment of West Nile virus-neutralizing human monoclonal antibodies derived from the individuals vaccinated with inactivated Japanese encephalitis virus by ISAAC technology. 第43回日本免疫学会学術集会；2014 Dec 10-12；京都国際会館（京都府京都市）。
- ㉘ Nakagawa H, Mizukoshi E, Kobayashi E, Terashima T, Kitahara M, Iida N, Kishi H, Muraguchi A, Kaneko S. Functional features of antigen-specific T-cell receptors reflected clinical responses of a-fetoprotein-derived peptides vaccine treatment for advanced hepatocellular carcinoma. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; 2014 Nov 7-11; Boston (米国)。
- ㉙ Muraguchi A. Rapid generation of human monoclonal Abs and TCRs from single human lymphocyte: application for gene therapy of infectious diseases and cancer. The 6th China-Russia International Conference on Medicine; 2014 Jul 1-3; Harbin (中国)。(Invited Lecture)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村口 篤 (MURAGUCHI, Atsushi)
 富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
 教授
 研究者番号：20174287

(2) 研究分担者

岸 裕幸 (KISHI, Hiroyuki)
 富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
 准教授
 研究者番号：60186210

小澤 龍彦 (OZAWA, Tatsuhiko)
 富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
 助教
 研究者番号：10432105

小林 栄治 (KOBAYASHI, Eiji)
 富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
 助教
 研究者番号：70459733
 (平成26年度8月まで)

浜名 洋 (HAMANA, Hiroshi)
 富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
 助教
 研究者番号：90551549
 (平成26年度9月以降)