

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 5 日現在

機関番号：74314

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24111009

研究課題名(和文)免疫組織の新規構築による疾患制御のための技術開発

研究課題名(英文)Development of the technology for the synthesis of functional human lymphoid tissues

研究代表者

渡邊 武(WATANABE, Takeshi)

公益財団法人田附興風会・医学研究所・特任研究指導者

研究者番号：40028684

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 89,600,000円

研究成果の概要(和文)：高い免疫誘導能を発揮し長期間安定なヒト型リンパ節組織を人工的に構築する方法を確立した。新たに作製したヒトストローマ細胞とヒトI型コラーゲンペプチドの混合培養よりスフェロイドを形成、そのスフェロイドとヒト末梢血リンパ球を混合し免疫不全マウスの腎臓被膜下に移植して100%の確率で機能的ヒトリンパ組織を構築する事が可能となった。免疫組織は1)ヒトT細胞、B細胞、樹状細胞から構成、2)明瞭なT細胞領域とB細胞濾胞領域の形成、3)抗原刺激で抗原特異的高親和性抗体の産生、抗腫瘍キラーT細胞の誘導、4)高内皮細静脈及び機能的な小血管、リンパ管の形成、5)摘出、他の個体への再移植が容易、等の特徴を持つ。

研究成果の概要(英文)：We have succeeded to establish the technology to construct human type artificial lymphoid tissues. We first established human lymphoid tissue stromal cells from human mesenchymal stem cells. The stromal cells were then cultured with recombinant human collagen peptides, which formed spheroids of the stromal cells. The spheroids and human peripheral blood lymphocytes were mixed and transplanted into renal subcapsular space of immunodeficient NSG mice. After 2-3 weeks, human lymph node-like tissues were formed at high efficiency. The tissues are composed of B cell follicles with FDC network, T cell areas containing FRC networks and dendritic cells. They contain fine networks of blood vessels with HEV, and lymph vessels. Antigen-specific antibody production and T cell responses were efficiently induced upon antigen stimulation. The structure of the tissues is stably maintained in NSG mice and easy to remove and transplant.

研究分野：免疫学

キーワード：ヒト型人工リンパ節 ストローマ細胞 スフェロイド形成 抗原特異的免疫反応 がん免疫療法 免疫組織再生 徐放性ゲル

1. 研究開始当初の背景

免疫系は生体の恒常性を維持／調節するダイナミックで可塑性に富んだ高次システムであるが、成人における胸腺などの一次免疫組織の機能低下と退縮、加齢やがん、重症感染症などによる二次リンパ組織の変容、破綻が不可逆的に引き起こされ、そのために生命の維持が危機に曝されることがしばしば生じる。これを克服する手段は殆どないのが現状である。そこで、免疫組織の再構築の技術を確立して、加齢、がんの進行等による低下した免疫機能の回復、重症感染症、がん、自己免疫病など難治性疾患の治療に有用な免疫デバイスをあらかじめ準備できればこれらの問題の解決の有力な手段になることが期待される。我々は、これまでにマウスのリンパ組織ストローマ細胞とその組織構築を支える scaffold としてコラーゲンスポンジを用いてマウス体内で末梢リンパ節と類似した3次元組織を人工的に構築することに成功し、この人工的に構築したリンパ組織内に抗原特異的高親和性抗体を産生する免疫反応を誘導出来ることを報告してきた。また、体内でその3次元構造が長期間安定に維持されること、免疫不全マウスに移植すると免疫不全状態の個体において免疫能の著明な改善がもたらされることを示してきた。近年、各種臓器の organoids の構築など臓器組織の再構築と応用に向けた取り組みが盛んであるが、免疫研究においてもその必要性が求められる。我々は世界に先駆けて免疫組織、臓器の再構築の研究に取り組んできた。しかし我々以外には国内でも国際的にも研究が未だ殆ど行われていないのが現状である。本研究では我々の国際的にもユニークな免疫系 organoids の構築の研究をさらに推進し、有用なヒト型免疫組織を構築して癌、自己免疫病などの疾患の解析、治療に貢献することを目標とする。

2. 研究の目的

本研究ではこれまでの我々の成果を踏まえて、抗原特異的免疫反応誘導能を有し、かつ体内において長期間安定な「ヒト」二次リンパ節様組織の人工的構築法を確立し、その感染防御能、抗腫瘍免疫誘導能、抗原特異的高親和性ヒト抗体産生細胞の樹立などを証明し、さらには自己免疫疾患の免疫細胞を用いて免疫不全マウスに人工リンパ節組織を構築して「ヒト自己免疫病モデルマウス」を作製して、人工リンパ節様組織構築研究の有用性、必要性を示す。さらに、ヒト型人工二次リンパ節組織による抗腫瘍免疫治療法の効果の定量化および抗がん剤の免疫系への影響を測定出来る新たなモニター法を確立する。また、「ヒト自己免疫病マウスモデル」を確立することにより、ヒト自己免疫病の解析、治療法開発のためのデバイスの開発を目指す。

これらの目的を達成するために以下の研究

を実施する。

(1) 二次免疫組織（リンパ節、脾臓、粘膜免疫組織など）の人工的再構築に必要な「ヒト型リンパ組織特異的ストローマ細胞」の作製を行う。さらには、作成したヒト免疫系ストローマ細胞の機能に関わる液性因子の解明、同定を行い、「人工リンパ組織特異的ストローマ」を構築してストローマ細胞を用いない液性因子のみによるヒト型人工リンパ節の構築法」の確立を行う。

(2) 人工ヒト免疫組織の形成と維持に適した生体適合高分子基材の改良、開発を行う。

(3) 生体適合性高分子基材内への抗体産生細胞、キラーT細胞、記憶T/B細胞、制御性T細胞など機能の異なる細胞集団の集積を促し、異なった免疫調節機能を発揮させる免疫デバイスの開発を試みる。

(4) 構築したヒト型人工免疫組織の臨床応用に向けた基礎的研究を免疫不全マウス、ヒト化マウスなどを用いて行う。

(5) 抗腫瘍免疫治療法の効果判定及び抗がん剤の免疫系への影響を測定しうる新たなモニター法を確立する。

(6) 自己免疫疾患患者リンパ球を用いてヒト型リンパ組織を構築して免疫不全マウスに移植して「ヒト自己免疫病マウスモデル」の構築を目指す。

(7) ヒト免疫系における4次元免疫空間での免疫反応の解析を人工的に作成した免疫組織で行う。

3. 研究の方法

(1) ヒト間葉系幹細胞より誘導したリンパ組織ストローマ細胞の樹立を行う。ヒト間葉系幹細胞株化細胞からリンフォトキシン(LT α 1 β 2)、Retinoic Acid (RA)などとの共培養によりヒトリンパ組織ストローマ様細胞を分化誘導する。

(2) リコンビナントヒト type I コラーゲンペプチドポリマーを作製し(1)で確立したヒトリンパ組織ストローマ細胞に加えて培養してストローマ細胞のスフェロイドを形成する。ついでストローマ細胞スフェロイドとヒト末梢血液リンパ球を混合してコラーゲンスポンジに吸着させて、重度免疫不全(NOG)マウス腎臓被膜下へ移植することによりヒト型人工リンパ節組織を構築する。

(3) ヒトリンパ組織ストローマ様細胞が発現するケモカイン、サイトカイン、増殖因子などの液性因子、接着因子を同定し、それらを安定して含有し徐々に放出できる新規徐放性ゲルを作成する。それら徐放性ゲルを支持体(scaffold)であるコラーゲンスポンジに結合させてリンパ組織特異的「人工ストローマ」を作製する。次に作製した「人工ストローマ」とヒト末梢血リンパ球とを混合して重度免疫不全(NOG)マウス腎臓被膜下へ移植する。

(4) 上記2、3のいずれの場合も2-3週間後に構築されてくる人工ヒトリンパ節組織を回収し①組織構造を免疫組織染色で解

析する、②人工リンパ節組織を移植された重度免疫不全(NOG)マウスを抗原で免疫して人工ヒトリンパ組織における免疫反応(抗体産生、サイトカイン産生、キラーT細胞活性、免疫抑制活性)などについて検討する。③一方、がん患者から外科的に摘除されたがん組織の組織片を免疫不全マウスで継代移植してPDX (patient-derived xenograft) マウスを確立する。摘除がん組織の供給者である同じ患者から末梢血リンパ球を調整して上記の(2)または(3)の方法で人工リンパ節組織を構築して、その人工リンパ組織を同一患者由来のPDXマウスに移植してその抗腫瘍活性を測定にする。④上記の系を用いて、抗PD-1抗体などチェックポイント抗体の投与による抗腫瘍活性の亢進の有無、さらに抗がん剤の効果と免疫組織への影響を測定出来る測定系を確立する。

(5) ヒト造血幹細胞導入により作製されたヒト化マウスをさらに改良し「新規免疫ヒト化マウス」を創出する。HLA、サイトカインを含むヒト遺伝子をヒト化マウスに導入して抗原特異的免疫反応が誘導出来るヒト化マウスの確立を目指す。NOD/SCIDマウスまたNOD/SCID/IL2rgKO(NSG)マウスからは、直接ES細胞を用いた遺伝子組換えができないことから、一旦、BALB/cバックグラウンドでの遺伝子組換えの上、NSGへのバッククロスを行う。このヒト遺伝子組み換え新規免疫不全マウスにヒト造血幹細胞を移入して「新規免疫ヒト化マウス」を作成し、これを用いてヒト免疫細胞の分化・成熟・免疫機能に関する研究を実施する。この新規免疫ヒト化マウスに、上記のスフェロイド化したヒトリンパ組織ストローマ細胞または「人工ストローマ」を移入することによりヒト型人工リンパ節の構築を試みる。

4. 研究成果

(1) リンパ組織特異的ストローマ細胞を用いたヒトリンパ節組織の構築。

ヒト間葉系幹細胞株より今回新たに確立したヒトストローマ細胞クローンはlymphotoxin- β 受容体(LT β R)及びリンパ組織特異的ケモカイン(CCL19, CCL21, CXCL12, CXCL13, CCL6など)、接着因子分子群(VCAM-1, ICAM-1など)を発現していた。確立したヒトストローマ細胞とリコンビナントヒトI型コラーゲンペプチド(細胞接着部位のタンデムリピートから構成されている)とを混合培養してヒトストローマ細胞のスフェロイドを構築した。

このヒト型ストローマ細胞スフェロイドとヒト末梢血リンパ球を混合しLT β R受容体に対するリガンドLT α 1 β 2を加えて培養し、免疫系を完全に欠損した免疫不全マウス(NSG, NOG)の腎臓被膜下に移植する。2-3週間後に「100%の頻度」で数ミリ大のヒトリンパ球のみの細胞塊の形成が得られた。

作製した人工免疫組織は以下のような特性を有する。①ヒトT細胞、B細胞、樹状細胞クラスターから構成されている、②T細胞領域とB細胞濾胞領域が明確な区別が見られた、③B細胞領域にはストローマ細胞由来の濾胞樹状細胞(FDC)が認められ、胚中心が形成され抗原刺激でB細胞の活発な増殖が誘導された、④後述するように抗原刺激により抗原特異的高親和性抗体産生細胞が人工リンパ節内に多数出現した、⑤高内皮細静脈(HEV)が形成され、毛細血管網、機能的な小血管が発達していた。また多数の機能的な毛細リンパ管が形成されていた、⑥人工リンパ節組織のT細胞領域に精緻に張り巡らされたストローマ細胞由来の線維芽様細胞ネットワークが構築されていた。⑦ヒト人工リンパ節組織の構造は免疫不全マウス体内で長期間安定である、⑧人工リンパ節組織は容易に摘出及び他の個体への再移植が容易である、⑨人工リンパ組織は皮質、髄質構造、リンパ組織の外側の皮膜構造を持たないことから我々が構築した組織は三次リンパ組織と考えられる。

(2) 液性因子のみで作製した「人工ストローマ」で二次リンパ組織を構築する方法の開発。

ストローマ細胞を常に準備することは必ずしも容易でない場合も考えられることからストローマ細胞を用いない方法も確立した。体内各所に存在すると思われるリンパ組織オルガナイザー(リンパ組織ストローマ細胞)を刺激するために①LT α 1 β 2, sRANKL, およびLIGHTタンパク、TNF α 、②免疫細胞増殖維持のためにIL-4, GM-CSFなどのサイトカイン、③免疫細胞の遊走促進のためにCCL19, CCL20, CXCL12, CXCL13などのケモカイン、のそれぞれのタンパクを別個に徐放性ゲル

(Medgel)に含有させる。調整された徐放性ゲルを全て混合して、VCAM-1を結合させたコラーゲンスポンジ上に添加した後に正常マウスまたはヒト化マウスの腎臓被膜下に移植した。その結果、再現性良く、移植片内にはT細胞、B細胞クラスターから構成されるリンパ組織が再現よく形成された(Y. Kobayashi, T. Watanabe. 2016)。T細胞クラスター内にはストローマ細胞follicular reticular cell (FRC)のネットワークの形成と多数の樹状細胞の分布、B細胞クラスター内にfollicular dendritic cell (FDC)ネットワークの局在を認めた。抗原刺激によりIgGクラスのhigh affinity antibodyの産生が誘導された。

(3) ヒト型人工リンパ節組織での免疫反応誘導能。 ワクチン(水痘、インフルエンザ、肝炎ウイルスなど)接種を受けた正常人の末梢血リンパ球を用いて構築したヒト型人工リンパ組織をナイーブ免疫不全マウスに移植しワクチンウイルス抗原で免疫し

た。その結果、効率よく IgG クラス抗ウイルス抗体及び T 細胞からの IFN γ の産生が誘導された。一方、人工リンパ節組織内およびその移植個体において自己抗体の産生は全く惹起されない

以上から、我々が構築したヒト型リンパ組織は二次リンパ組織とほぼ同等の構造をもつヒト型三次リンパ組織であり、抗原刺激により抗原特異的に強い免疫反応を惹起する機能を有することが示された。現在、以下の(5)において記述するようにヒトがん細胞に対するキラーT細胞誘導能などについての検討、ヒト自己免疫病モデルマウスの作製に向けた研究を開始している。

(4) 生体での脾臓の再生に関わるストローマ細胞の同定と脾臓の再構築。

脾臓の白脾髄はリンパ節と同様に重要な二次免疫組織である。また赤脾髄には大量のマクロファージが存在し循環血液中を流れる病原体を排除する役割を果たすと共に老化赤血球を処理する。従って、脾臓も二次リンパ組織として生命維持にとって重要な臓器である。脾臓は再生能力の高い臓器と考えられているが成人での脾臓の再生を制御しているストローマ細胞については全く不明であり、さらに成人における脾臓の再生について研究はこれまで皆無であった。我々は本研究において、そのストローマを同定、分離し、そのストローマ細胞を用いて成体において脾臓を再構築することに成功した。我々はまず、マウスの系において生後から adult までのマウスの非造血系の脾臓間質細胞の中に少量であるが成人での脾臓の再生を誘導できる細胞が存在することを見出した。ついでその分離同定、単離を行なった。生後3日から adult のマウス脾臓中の非造血細胞(CD45⁻)の間質細胞を調整し、細胞表面マーカーを指標にその脾臓再生能力を検討した結果、CD45⁻, CD31⁺, CD201⁺, CD105⁺, PDGFR α ⁺などの表面マーカーをもつ細胞(脾臓間質細胞の0.02%)を精製単離した。その細胞をマウス腎皮膜下に移植すると完全な構造の脾臓(白脾髄、赤脾髄)が再構築された。抗原刺激により強い二次免疫反応が誘導された。以上の結果から、生後-成人の脾臓よりストローマ細胞を精製することにより二次リンパ組織である脾臓組織 organoids を構築し、整体に移植することにより抗原特異的免疫反応を誘導できる可能性が示された。

(5) 現在進行中の取り組み。

①がん患者の外科摘除がん組織を免疫不全マウス(NOGまたはNSGマウス)に移植して継代することにより PDX (patient-derived xenograft) マウスを確立する。同時に同じ患者の末梢血リンパ球を用いて、研究成果(1)の方法で人工ヒトリンパ節組織を構築する。

(A)その人工ヒトリンパ節組織を同一患者由来の PDX マウスに移植して人工ヒトリンパ節組織の抗腫瘍活性を測定にする。これによ

り、個々の患者の腫瘍免疫能力をより正確に把握することができる。また、腫瘍免疫研究のための疾患モデルとなる。

(B)抗PD-1抗体などチェックポイント受容体に対する抗体の投与あるいは種々の免疫賦活化療法での抗腫瘍活性の亢進の程度を検定する系として有用になると期待される。

(C)抗がん剤の腫瘍に対する効果と同時に抗がん剤の免疫組織への影響の程度を測定出来る系であることから、がん治療の有効性と副作用を同時に検定出来る新たな方法となる。

②ヒト免疫細胞による自己抗体あるいは自己抗原反応性T細胞を発現するモデルマウスの作製。全身性エリテマトーデス(SLE)、関節リウマチ(RA)などの自己免疫疾患患者末梢血リンパ球から人工リンパ節組織を免疫不全マウス(NOGまたはNSGマウス)に構築し、さらにそのマウスに標的となるヒト組織、臓器片を移植して「ヒト自己免疫病モデル」を構築する。

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30件)

①J.K.H. Tan and T. Watanabe. Stromal cell subsets directing neonatal spleen regeneration. Scientific Reports. 査読あり 7:40401 (2017) doi: 10.1038/srep40401

②Y. Kobayashi, T. Watanabe. Gel-trapped lymphorganogenic chemokines trigger artificial tertiary lymphoid organs and mount adaptive immune responses in vivo. Frontiers in Immunology 査読あり 7:316,(2016). doi.10.3389/fimmu.2016.00316

③R. Ikebuchi, S. Teraguchi, A. Vandenbon, T. Honda, FHW Shand, Y. Nakanishi, T. Watanabe, M. Tomura. A rare subset of skin-tropic regulatory T cells expressing Il10/Gzmb inhibits the cutaneous immune response. Scientific Reports 査読あり 6:35002, (2016). doi: 10.1038/srep35002.

④K. Kadono, Y. Uchida, H. Hirao, T. Miyauchi, T. Watanabe, T. Iida, S. Ueda, A. Kanazawa, A. Mori, H. Okajima, H. Terajima, S. Uemoto. Thrombomodulin attenuates inflammatory damage due to liver ischemia and reperfusion injury in mice in Toll-like Receptor 4-dependent manner. American J. of Transplantation 査読あり 17(1) 69-80 (2017) doi:10.1111/ajt.13991

⑤Y. Kobayashi, K. Kato, M. Nakamura, T. Watanabe. Synthesis of functional tertiary lymphoid organs. p151-170, (2016). In "Synthetic Immunology" Springer Nature, (2016). doi: 10.1007/978-4-431-56027-2-7

⑥M. Nakamura, K. Arai, T. Mimura, K. Kato, J. Tagawa, H. Yoshida, T. Nakaji-Hirabayashi, Y. Kobayashi, T. Watanabe. Engineering of

- artificial lymph node. p181-200, (2016).
Synthetic Immunology. Springer Nature,
doi: 10.1007/978-4-431-56027-2-7
- ⑦R. Parmentier, Y. Zhao, M. Perier, H. Akaoka, M. Lintunen, Y. Hou, P. Panula, T. Watanabe, P. Franco, J-S. Lin. Role of histamine H1-receptor on behavioral states and wake maintenance during deficiency of a brain activating system: A study using a knockout mouse model. *Neuropharmacology* 査読あり 106:20-34, (2016)
doi:10.1016/j.neuropharm.2015.12.014
- ⑧Y. Najima, M. Tomizawa-Murasawa, Y. Saito, T. Watanabe, R. Ono, T. Ochi, Suzuki N, H. Fujiwara, O. Ohara, LD. Shultz, M. Yasukawa, F. Ishikawa. Induction of WT1-specific human CD8+ T cells from human HSCs in HLA class I Tg NOD/SCID/IL2rgKO mice. *Blood* 査読あり 127: 722-734 (2016)
doi: 10.1182/blood-2014-10-604777
- ⑨S. Kobayashi, T. Watanabe, R. Suzuki, M. Furu, H. Ito, J. Ito, S. Matsuda, H. Yoshitomi. TGF- β induces the differentiation of human CXCL13-producing CD4⁺ T cells. *European J. Immunol.* 査読あり 46(2):360-371, (2015)
doi: 10.1002/eji.201546043
- ⑩M. Hara-Chikuma, H. Satooka, Y. Miyachi, T. Watanabe, AS. Verkman. Aquaporin-3 mediated hydrogen peroxide transport required for NF- κ B signaling in epidermal keratinocytes and development of psoriasis. *Nature Communication* 査読あり 6:7454. (2015)
doi: 10.1038/ncomms8454
- ⑪H. Hirao, Y. Uchida, K. Kadono, H. Tanaka, T. Niki, A. Yamauchi, K. Hata, T. Watanabe, H. Terajima, S. Uemoto. The protective function of galectin-9 in liver ischemia and reperfusion injury in mice. *Liver Transplantation* 査読あり 21(7): 969-81. (2015) doi: 10.1002/lt.24159
- ⑫Y. Aoki, T. Watanabe, Y. Saito, Y. Kurok, A. Hijikata, M. Takagi, D. Tomizawa, M. Eguchi, M. Eguchi-Ishimae, A. Kaneko, R. Ono, K. Sato, N. Suzuki, S. Fujiki, K. Koh, E. Ishii, LD. Shultz, O. Ohara, S. Mizutani, F. Ishikawa. Identification of CD34⁺ and CD34⁻ leukemia-initiating cells in MLL-rearranged human acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 査読あり 125:967 (2015)
doi: 10.1182/blood-2014-03-563304
- ⑬M. Tomura, A. Hata, S. Matsuoka, F.H.W. Shand, Y. Nakanishi, R. Iiebuchi, S. Ueda, H. Tsutsui, K. Inaba, K. Matsushima, A. Miyawaki, K. Kabashima, T. Watanabe, O. Kanagawa. Tracking and quantification of dendritic cell migration and antigen trafficking between the skin and lymph nodes. *Scientific Reports*. 査読あり 4: 6030, (2014) doi: 10.1038/srep06030
- ⑭J.K.H. Tan and T. Watanabe. Murine spleen tissue regeneration from neonatal spleen capsule requires lymphotoxin priming of stromal cells. *The Journal of Immunology*. 査読あり 193:1194-1203, (2014) doi:10.449/jimmunol.1302115
- ⑮T. Hirayama, Y. Asano, H. Iida, T. Watanabe, T. Nakamura, R. Goitsuka. Meis1 is required for the maintenance of postnatal thymic epithelial cells. *PLoS One*. 査読あり 9(3):e89885, (2014). doi: 10.1371/journal.pone.0089885
- ⑯H. Shiheido, C. Chen, M. Hikida, T. Watanabe, and J. Shimizu. Modulation of the human T cell response by a novel non-mitogenic anti-CD3 antibody. *PLoS One* 査読あり 9(4): e94324. (2014).
doi:10.1371/journal.pone.0094324
- ⑰H. Shiheido, K. Kitagori, C. Sasaki, S. Kobayashi, T. Aoyama, K. Urata, T. Oku, Y. Hirayama, H. Yoshitomi, M. Hikida, H. Yoshifuji, T. Mimori, T. Watanabe, and J. Shimizu. Human T cells expressing BEND3 on their surface represent a novel subpopulation that preferentially produces IL-6 and IL-8. *Immunity, Inflammation and Diseases*. 査読あり 2(1): 35-43, (2014) doi:10.1002/iid3.17
- ⑱H. Shiheido, T. Aoyama, H. Takahashi, K. Hanaoka, T. Abe, E. Nishida, C. Chen, O. Koga, M. Hikida, Y. Shibagaki, A. Morita, T. Nikawa, S. Hattori, T. Watanabe, and J. Shimizu. A novel CD3-specific antibody induces immunosuppression via impaired phosphorylation of LAT and PLC γ 1 following T-cell stimulation. *Europ. J. Immunol.* 査読あり 44: 1770-1780, (2014) doi: 10.1002/eji.201344146
- ⑲LD Shultz, Goodwin N, Ishikawa F, Hosur V, Lyons BL, Greiner DL. Human cancer growth and therapy in immunodeficient mouse models. *Cold Spring Harb Protocol*. 査読あり 694 (2014)doi: 10.1101/pdb.top073585
- ⑳Nomachi A., M.Yoshinaga, J.Liu, K.Tohyama, P.Kanchanawong, D.Thumkeo, T. Watanabe, S.Narumiya, T.Hirata. Moesin controls clathrin-mediated S1PR1 internalization in T cells. *PLoS One*. 査読あり 8 (12):e82590, (2013). doi: 10.1371/journal.pone.0082590
- ㉑S. Kobayashi, K. Miura, H. Shibuya, M. Morita, M. Ishikawa, M. Furu, H. Ito, S. Matsuda, T. Watanabe, H. Yoshitomi. A distinct human CD4⁺ T cell subset that secretes CXCL13 in rheumatoid synovitis. *Arthritis and Rheumatism*. 査読あり 65:3063-3072, (2013)
doi: 10.1002/art.38173
- ㉒A. Otsuka, S. Nakajima, M. Kubo, G. Egawa, T. Honda, A. Kitoh, T. Nomura, S.Hanakawa, C. Moniaga, B. Kim, S Matsuoka, T. Watanabe, Y. Miyachi, K.Kabashima. Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nature Comm.* 査読あり 4:1739, (2013). doi: 10.1038/ncomms2740.
- ㉓R. Frei, R. Ferstl, P. Konieczna, M. Ziegler, T.Simon, TM Rugeles, S. Mailand, T. Watanabe, R. Lauener, C. Akdis, L. O'Mahony. Histamine receptor 2 modifies dendritic cell responses to microbial ligands. *J. Allergy and Clinical*

Immunolog 査読あり 132:194-204, (2013)
doi:org: 10.1016/j.jaci.2013.01.013

②⑥ F. Ishikawa. Modeling normal and malignant human hematopoiesis in vivo through newborn NSG xenotransplantation. Int J Hematol. 査読あり 98: 634 (2013) doi:

10.1007/s12185-013-1467-9

②⑦ T. Mashimo, A. Takizawa, J Kobayashi, Y. Kunihiro, K Yoshimi, Sa Ishida, K Tanabe, A. Yanagi, A Tachibana, J Hirose, J Yomoda, S Morimoto, T Kuramoto, B Voigt, T Watanabe, H Hiai, C Tateno, K Komatsu, T Serikawa. Generation and Characterization of Severe

Combined Immunodeficiency Rats. Cell Reports 査読あり 2:685-694, (2012).

doi.org/10.1016/j.celrep.2012.08.009

②⑧ Y, Saito, Yuki H, Kuratani M, Hashizume Y, Takagi S, Honma T, Tanaka A, Shirouzu M, Mikuni J, Handa N, Ogahara I, Sone A, Najima Y, Tomabechi Y, Wakiyama M, Uchida N, Tomizawa-Murasawa M, Kaneko A, Tanaka S, Suzuki N, Kajita H, Aoki Y, Ohara O, Shultz LD, Fukami T, Goto T, Taniguchi S, Yokoyama S, Ishikawa F. A pyrrolo-pyrimidine derivative targets human primary AML stem cells in vivo. Sci Transl Med. 査読あり 5:181ra52. (2013) doi: 10.1126/scitranslmed.3004387

②⑨ S. Takagi, Saito Y, Hijikata A, Tanaka S, Watanabe T, Hasegawa T, Mochizuki S, Kunisawa J, Kiyono H, Koseki H, Ohara O, Saito S, Taniguchi S, Shultz LD, Ishikawa F. Membrane-bound human SCF/KL promotes in vivo human hematopoietic engraftment and myeloid differentiation. Blood 査読あり 119:2768-2777, (2012)

doi:10.1182/blood-2011-05-353201

③⑩ T. Hirata, A. Nomachi, K. Tohya, M. Miyasaka, S. Tsukita, T. Watanabe, S. Narumiya. Moesin-deficient mice reveal a non-redundant role for moesin in lymphocyte homeostasis. Int. Immunol. 査読あり 24: 705-717, (2012) doi:10.1093/intimm/dxs077

[学会発表] (計 9件)

① 小林由佳、渡邊 武: “Trial of the generation of artificial lymph nodes by a cell-free method”

シンポジウム “Environment Controlling normal and diseased hematopoietic and immune systems” 2016年3月2日。理化学研究所、横浜市。

② 小林由佳、渡邊 武: “The generation of human-type artificial lymphoid tissues (aLTs)” 第45回日本免疫学会学術集会 2016年12月5日。沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市。

③ 小野林太郎、石川文彦: Understanding the role of IL-6 in human immunity 国際免疫学会、2016年8月24日、メルボルン、オーストラリア

④ 小野林太郎、石川文彦: Understanding the role of IL-6 in human immunity 第45回日本免疫学会学術集会 2016年12月5日。沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市。

⑤ 渡邊 武 「京都大学産学連携プロジェクト: 創薬医学融合拠点 AK プロジェクトの取り組み」「人工リンパ節組織の構築とその免疫機能」北海道大学産学連携拠点形成シンポジウム。2013年1月23日。札幌市。

⑥ 渡邊 武: 「高い免疫誘導能を発揮するリンパ節組織の人工的構築」日本アレルギー学会春季臨床大会教育講演。2012年5月12日。大阪国際会議場、大阪市。

⑦ T. Watanabe: “Construction of artificial lymphoid tissues”. 招待講演、於 Institute for Immunology, Medizinische Hochschule, 2012年10月4日。ドイツ国、ハノーバー市。

⑧ 小林由佳、渡邊 武: “Trial of the generation of artificial lymph nodes by a cell-free method” 第41回日本免疫学会学術集会 2012年12月5日。神戸国際会議場、神戸市。

⑨ 渡邊 武、高浜洋介: Workshop on Synthetic Immunology 主催、講演。2012年5月18, 19日及び2013年11月15, 16日、芝蘭会館、京都市。

[図書] (計1件)

“Synthetic Immunology”

編集及び執筆: Takeshi Watanabe, Yosuke Takahama. Springer Nature 社 (2016) 200ページ doi: 10.1007/978-4-431-56027-2

[産業財産権]

○取得状況 (計1件)

名称: Artificial Lymph Node for Treating Cancer (癌治療用人工リンパ節)

発明者: Takeshi Watanabe, Kouji Tanaka

権利者: Takeshi Watanabe

種類: United States Patent

番号: US8, 101, 195 B2 (米国)

特許 5526441 号 (国内)

取得年月日: Jan 24, 2012

国内外の別: 米国、国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 武 (WATANABE, Takeshi)

公益財団法人田附興風会・医学研究所・

特任研究指導者

研究者番号: 4 0 0 2 8 6 8 4

(2) 研究分担者

石川文彦 (ISHIKAWA, Fumihiko)

国立研究開発法人理化学研究所・

統合生命医科学研究センター・

グループディレクター

研究者番号: 3 0 4 0 3 9 1 8