

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08409

研究課題名(和文)フィンゴリモドのアレルギー疾患への適用と免疫抑制を目指した抗体医薬品の開発

研究課題名(英文) Development of therapeutic monoclonal antibodies aiming at an application and the immunosuppression to an allergic disease of Fingolimod

研究代表者

八木 秀樹 (YAGI, HIDEKI)

国際医療福祉大学・薬学部・教授

研究者番号：40250740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症の治療薬であるフィンゴリモド(FTY720)の臨床適応拡大を目的に、oxazolone誘発接触性皮膚炎の動物モデルで検討したところ、FTY720の経口投与で治療効果を認めた。この効果はエフェクターT細胞や真皮樹状細胞を感作付近のリンパ節にとどめ、炎症局所への移動を抑制することによると示唆された。

FTY720の標的分子と考えられるスフィンゴシン 1-リン酸(S1P)受容体(S1PR)のうち、我々が未作製であったマウスS1P4に対する抗体作製は、成功までには至らなかった。しかし、GFP融合S1P4安定発現株の樹立に成功し、ラットへの免疫を行い、高力価の抗血清は得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性硬化症の治療薬として用いられるフィンゴリモド(FTY720)の臨床適応拡大を目的に、アレルギー性接触性皮膚炎の動物モデルで、FTY720の1 mg/kgの経口投与で治療効果が認められた。これは、フィンゴリモドが細胞移動を伴う型アレルギーへの適用拡大ができる可能性を示したものである。メカニズムもエフェクターT細胞や真皮樹状細胞を感作付近のリンパ節にとどめ、炎症局所への移動を抑制することが示唆され、作用機序との整合性もあり、有望と考える。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of clinical adaptation expansion of Fingolimod (FTY720) used as a therapeutic drug of the multiple sclerosis. We examined it in an animal model of oxazolone-induced contact hypersensitivity. Anti-inflammation effect to contact hypersensitivity was accepted by oral administration of 1 mg/kg of FTY720. This drug inhibited both effector T cell and dermis dendritic cell egress from the draining lymph node to the inflammatory lesion. On the other hand, the sphingosine 1-phosphate receptors (S1PR) considered to be target molecules of FTY720. The monoclonal antibody against mouse S1P4 were not available. We tried the production of anti-mouse S1P4 monoclonal antibody. We established three GFP-fusion mouse S1P4 receptor-expressing cells for immune cells. The rats were immunized by the mouse S1P4-expressing RH7777 cells. The antiserum of the immune rats got highly titer against mouse S1P4. However, we could not select hybridoma producing to mouse S1P4 monoclonal antibody.

研究分野：免疫学

キーワード：FTY720 S1P 抗体 接触性過敏症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患である多発性硬化症の特効薬として田辺三菱製薬(株)により開発された免疫調節薬フィンゴリモド(FTY720)は、リンパ球の循環系への移出を抑制することで、リンパ球をリンパ器官内に留め、病巣へと移行させないことにより薬理作用を発揮する。そこで、臓器特異的自己免疫疾患やIV型アレルギー疾患のようにリンパ球が反応局所に移行し、発症する疾患に有効であると考え、FTY720の適用拡大も視野に入れ、接触性過敏症に対する治療モデルの作製を試みることにした。FTY720は生体内で速やかに sphingosine kinase により FTY720-phosphate (FTY720-P) に変換され、スフィンゴシン 1-リン酸受容体(S1PR)作用し、リンパ球の移出を抑制することが明らかにされてきた。この作用機序解明から、リンパ球の血中やリンパ中への移出にスフィンゴシン 1-リン酸(S1P)-S1PR系が関与することが明らかにされてきた。S1PRのタイプにはS1P₁₋₅の5種類があり、どのリンパ球サブセットの移出入にどのS1PRが関与するかはS1P₁が胸腺及びリンパ節からの成熟T細胞移出に強く関与することが明らかになっている他は不明な点が多い。どのリンパ球サブセットにどのタイプのS1PRが発現し、どのような機能を司るかを明らかにすることは、新たなアレルギー疾患や自己免疫疾患治療法につながると考え、本研究に着手した。S1PRは7回膜貫通型GPCRであり、このような複数回膜貫通型受容体に対する抗体作製は難しいとされてきた。しかしながら、申請者らは抗mouse及び抗ヒトS1P₁モノクローナル抗体(mAb)の作製に成功している(Yagi H. & Masuko T., YAKUGAKU ZASSHI (2013))。また、12回膜貫通型アミノ酸トランスポーターに対するmAbの作製にも成功しており(Ohno Y, Yagi H. *et al*, Cancer Sci (2008))。このノウハウを生かして、他の抗マウスS1P₂₋₅抗体の作製を試み、S1P₂, S1P₃, S1P₅に対する抗体作製に成功している。残ったS1P₄はmRNAレベルでリンパ組織(リンパ節や脾臓、胸腺)に多いと報告されている。しかし、S1P₄のリンパ球動態への関与や働きについては不明な点が多い。そこで生体内分布や機能解析を行うため、生細胞上のS1P₄に対する新規モノクローナル抗体の作製も試みた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、多発性硬化症の特効薬として承認され、ブロックパスターでもあるフィンゴリモド(FTY720)のアレルギー疾患に対する適応拡大とその作用機序に類似した作用を示す新規抗体医薬品開発を目指したものである。近年、リンパ球の血液やリンパ中への移出に関与することで注目されている脂質メディエーター、スフィンゴシン 1-リン酸(S1P)の受容体(S1PR)に着目、S1P₁₋₅に対する機能的モノクローナル抗体(mAb)の作製を試み、リンパ球上のそれら受容体発現とその機能解析を行う。我々はすでにマウスS1P₁, S1P₂, S1P₃, S1P₅に対する抗体作製に成功している。残っているS1P₄のに対するモノクローナル抗体(mAb)の作製に成功することでS1PRのすべてのサブタイプに対する抗体を得ることになる。これらmAbに認識されるS1PRサブタイプのアレルギー発症メカニズムへの関与についての検証を通じて、関与するS1PRサブタイプに対するmAbをシーズとした抗体医薬品の開発へと発展させることも目指している。

3. 研究の方法

3-1. Oxazolone 誘発アレルギー性皮膚炎モデルマウスの作製

剃毛したマウスの背側に200 µLの1% oxazoloneを染み込ませたコットンを塗布し、シルキーテックス・E(アルケア株式会社)を巻き付け固定し、2日間感作した。感作2日後にコットンを外し、その10日後に1% oxazoloneを右耳介に塗布し惹起すると同時に、FTY720(1mg/kg)または生理食塩水を経口投与した。そして、その2日後に耳の厚みを測定し、上腕リンパ節と顎

下リンパ節のフローサイトメトリー解析を行った。

3-1-1. Flow cytometry

1. 細胞浮遊液の調整

マウスを眼窩静脈叢採血により脱血死させたのち、HBSSを入れたシャーレに胸腺、パイエル板を取り出し、ハサミで細切後ステンレスメッシュを通過させる。1,500 rpm で 7 分遠心し 2 回洗浄することにより細胞浮遊液を得た。リンパ節は採取後、Collagenase 溶液を注入し CO₂ インキュベーターで 37 °C、30 分間インキュベートし、細胞浮遊液を得た。

2. 免疫染色とフローサイトメトリー

抗体による染色は 2.0 ml マイクロチューブ中で行った。細胞を 2.0×10^5 個ずつ分注し、一次抗体 (カクテル) 100 μ L を加え、氷冷下で 30 分間反応させた。マイクロチューブに 0.2% BSA-PBS を 1 ml を加え、10,000 rpm で 4 分間 flash する洗浄操作を 3 回行い、細胞ペレットに二次抗体を 100 μ L 加え、遮光氷冷下 30 分間反応させた。遠心洗浄後、0.2% BSA-PBS にサスペンドし、40 μ m のナイロンメッシュ (BD Falcon) を通した。DAPI (1000 倍希釈) を加えた後、BD LSR (Becton Dickinson) にて測定、Cell Quest にて解析した。

3-2. 抗マウス S1PR4 に対する mAb の作製

3-2-1. AcGFP 融合マウス S1P₄ 受容体トランスフェクタントの作製

抗体作製時の免疫原やスクリーニング、受容体の機能解析に用いる目的で、Aequorea coerulescens green fluorescent protein (AcGFP) 融合マウス S1P₄ 受容体のトランスフェクタントを作製した。Lipofectamine® 3000 を用いてヒト胎児腎細胞 HEK293 細胞、ラット肝癌細胞 RH7777 細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO 細胞に、AcGFP 融合マウス S1P₄ 受容体発現ベクターをトランスフェクトし、G418 (200 μ g/ml) 存在下で 8% fetal calf serum (FCS) 含有 DMEM 培地で培養した。G418 による薬剤耐性選択の後、GFP の発現量を指標に J-San セルソーターにてマウス S1P₄ 受容体高発現細胞を分取した。

3-2-2. セルソーターを用いた細胞膜安定発現細胞株の樹立

生細胞に反応する機能的なモノクローナル抗体の作製を目指すためには、免疫原となる細胞の細胞膜表面上に受容体を発現させることが重要である。そこで、免疫原となる RH7777 細胞、スクリーニング及び受容体の機能を検索するために用いられる HEK293 細胞、CHO 細胞において、細胞膜表面上に安定的に AcGFP 融合マウス S1P₄ を発現している細胞株の樹立を目指した。AcGFP 融合マウス S1P₄ をトランスフェクトした各々の細胞を、J-San セルソーターを用いて GFP の蛍光強度により分画、培養した。

3-2-3. 共焦点レーザー顕微鏡による遺伝子導入 S1P₄ 発現の局在検索

マウス S1P₄-AcGFP/HEK293 細胞、マウス S1P₄-AcGFP/RH7777 細胞、マウス S1P₄-AcGFP/CHO 細胞をコラーゲンコートされたガラスボトム 3.5 mm シャーレに 1×10^4 個播き、G418 含有 DMEM 培地を 2 mL 加え、37 °C、5% CO₂ 存在下インキュベーターで培養した。1 日後、共焦点レーザー顕微鏡 FV1200 (OLYMPUS) にて S1P₄ の局在を検索した。

3-2-4. GFP 融合マウス S1PR4 発現 RH7777 細胞の F344/N ラットへの免疫

AcGFP 融合マウス S1P₄ 受容体発現トランスフェクタント mS1P₄-AcGFP/RH7777 細胞 $1.0 \sim 2.0 \times 10^7$ 個を 200 μ L の生理食塩水に懸濁し、完全フロイントアジュバント 200 μ L と混合した。超音波によりエマルジョン化した後、FN シリンジを用いて雌性 F344/N ラットの両後肢足底部及び尾根部皮下に注射した。2 週間の間隔をあけ、2 回目以降の免疫を行った。2 回目以降最終免疫までは、 $1.5 \sim 2.0 \times 10^7$ 個をラット腹腔内へ投与した。3 回目及び 4 回目の免疫から 1 週間後にラット尾静脈から採血を行い、血清中の抗体価を mS1P₄-AcGFP/HEK293 細胞との反

応性としてフローサイトメトリー (BD Accuri™ C6^{Plus} flow Cytometer : 日本 BD 社) を用いて検討した。十分な抗体価を獲得した段階で、mS1P₄-AcGFP/RH7777 細胞 1.6×10^7 個を生理食塩水に懸濁し、ラット尾静脈より静脈内投与で注射し最終免疫とした。

3-2-5. 細胞融合とスクリーニング

常法に従い、マウスミエロームと免疫リンパ球とを融合、GFP 融合マウス S1PR4 発現 HEK293 細胞を用いたフローサイトメトリー法で、スクリーニング (Accuri C6) を行った。

本研究の遺伝子組換え実験については、「国際医療福祉大学遺伝子組換え実験安全委員会」に研究計画書を提出し、既に研究計画が認可されており、「国際医療福祉大学遺伝子組換え実験安全管理規程」に従い研究を遂行した。さらに、本研究における動物実験においては「国際医療福祉大学動物実験委員会」に研究計画書を提出し、研究計画の承認を得て、「動物の愛護および管理に関する法律」と「国際医療福祉大学動物実験規程」等を遵守し、適正に実験を行った。

4 . 研究成果

4-1. アレルギー性接触性皮膚炎の動物モデルの作製と FTY720 の治療効果の検証

4-1-1. アレルギー性接触性皮膚炎の動物モデルの作製

C57BL/6 マウスの背側にエタノールに溶解させた 1% oxazolone または、エタノールのみを 2 日間塗布して感作した。その 10 日後にマウスの右耳介に 1% oxazolone を塗布 (チャレンジ) したものを接触性過敏症 (Contact hypersensitivity : CHS) モデルマウスとした。コントロールとして左耳介にはエタノールのみを塗布した。チャレンジ後、24 時間後の耳介の厚さを電子ノギスで測定、チャレンジ前後の耳介の厚さの差で、アレルギー性皮膚炎を評価した。対照のエタノール感作群に比較して、1% oxazolone 感作群では、約 0.22 mm ほど肥厚していた。この時の CHS モデルマウスの耳介組織を HE 染色し、病理学的解析をしたところ、表皮層の角化、真皮層の肥厚、リンパ球の浸潤が認められたため、oxazolone 誘発 CHS モデルマウスが作製できたと考えた。

4-1-2. FTY720 を用いたアレルギーモデル動物の治療実験

1% oxazolone 感作マウスの右耳介に 1% oxazolone を塗布すると同時に FTY720 (1 mg/kg) または生理食塩水を経口投与した。その 24 時間後に、マウスの右、左耳介の肥厚を電子ノギスで測定し、FTY720 投与により oxazolone 特異的なアレルギー応答が抑制されるか否かを検索した。その結果、生理食塩水投与群に比べ FTY720 投与群において右耳介 (1%oxazolone 塗布) の肥厚が有意に抑えられた。この時のマウスの耳介組織を HE 染色し、組織学的検索を行った。Oxazolone 感作、生理食塩水投与群では真皮層の肥厚、炎症性細胞の浸潤、真皮層の炎症の表皮層への波及が認められた。しかし、FTY720 投与群ではこれら所見がすべて抑制されていた。

CHS の組織学的検索により、FTY720 投与におけるアレルギー所見の軽減が認められた。そこで、その際の所属リンパ節におけるリンパ球サブセットの変化について検討した。FTY720 (1mg/kg) または生理食塩水を経口投与した CHS モデルマウスの上腕リンパ節、顎下リンパ節を採取し、フローサイトメトリー解析を行った。FTY720 投与群では、感作箇所所属リンパ節である上腕リンパ節において CD62L⁺CD44⁺エフェクター T 細胞の割合が増加した。顎下リンパ節においては CD62L⁺CD44⁺エフェクター T 細胞の増加は見られなかった。

次に、抗原提示細胞として皮膚から所属リンパ節へと移動する抗原提示細胞の移動に関して FTY720 の投与効果について検証した。ハプテンとして FITC を使い、エタノールに溶解させた 1% FITC を C57BL/6 マウスの背側に塗布すると同時に、生理食塩水、または FTY720 (1 mg/kg) を経口投与し、3 日後に上腕リンパ節と腋窩リンパ節を採取しフローサイトメトリー解析を行った。その結果、FTY720 投与によりリンパ節内における CD11c⁺ FITC⁺細胞の割合が増加した。

また、FTY720 投与により CD11c⁺ Langerin⁻ 細胞の割合が生理食塩水投与のマウスよりも増加していた

4-1-3. 考察

FTY720 投与により耳介の炎症部位の肥厚が抑制されており、フィンゴリモドの接触性皮膚炎への適応拡大の可能性が示された。HE 染色による病理所見より、真皮層の肥厚、炎症性細胞の浸潤、表皮層への炎症の波及などが FTY720 により抑制されることが確認できた。これらの惹起相における FTY720 の効果は、CD44⁺エフェクター T 細胞をリンパ節内に留め、炎症部位への浸潤を阻害することで炎症反応を抑制していると考えられる。感作を行った背中の中所属リンパ節である上腕リンパ節において CD62L⁻CD44⁺T 細胞が FTY720 により増加したのに対し、チャレンジを行った耳介の所属リンパ節である顎下リンパ節では生理食塩水投与群と FTY720 投与群の間で CD62L⁻CD44⁺T 細胞の割合に大きな差が見られなかった。このことから、感作箇所の中所属リンパ節においてメモリー T 細胞や、メモリー T 細胞が分化・増殖したエフェクター T 細胞が FTY720 によってリンパ節内へ留められると考えられた。

また、FITC 塗布の結果から、FTY720 は皮膚からリンパ節への抗原提示細胞の遊走を阻害するのではなく、リンパ節からリンパ節への樹状細胞の遊走を阻害し、全身性の免疫応答の誘導を抑制する可能性が示唆された。また、CD11c⁺Langerin⁺細胞に比べ、CD11c⁺Langerin⁻細胞において FTY720 投与による FITC⁺細胞の増加が確認されたことから、FTY720 によってリンパ節内に留められる樹状細胞は、ランゲルハンス細胞ではなく真皮樹状細胞であると考えられる。

4-2. S1P₄に対する新規モノクローナル抗体の作製

4-2-1. S1P₄遺伝子導入細胞株の樹立

AcGFP 融合マウス S1P₄受容体遺伝子発現ベクターを Lipofectamine® 3000 を用いて、RH7777 細胞、HEK293 細胞、CHO 細胞にトランスフェクトした。薬剤耐性下ではそれぞれの細胞において GFP 陽性細胞が少なかったが、ソーティングを重ね AcGFP 融合マウス S1P₄受容体安定発現株の樹立に成功した。RH7777 細胞では、薬剤耐性では GFP 陽性細胞が 17% だったが、ソーティングにより 99% 以上の純度となり樹立に成功した。mS1P₄-AcGFP/RH7777 細胞は主に抗体作製時の免疫原に使用した。同様に HEK293 細胞ではソーティングにより 88% 以上の純度での樹立に成功し、主に抗体のスクリーニングに使用した。CHO 細胞でもソーティングにより 97% 以上の純度で作製に成功し、抗体の希釈倍率の決定等に用いた。

共焦点レーザー顕微鏡を用いたトランスフェクタントにおける S1P₄の局在の検索を行った結果、HEK293 細胞においては細胞膜上に S1P₄の局在を多く確認した。RH7777 細胞および CHO 細胞では、細胞膜上および細胞質に S1P₄が局在していることが認められた。

4-2-2. S1P₄に対するモノクローナル抗体の作製

マウス S1P₄に対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立を目指し、F344/N ラットへ mS1P₄-AcGFP/RH7777 細胞を免疫した。初回免疫は Freund の完全アジュバントとともに免疫後、さらに 3 回免疫した。免疫 7 日後のラット血清を用いて S1P₄に対する抗体価を mS1P₄-AcGFP/HEK293 細胞を用いたフローサイトメトリーにて検索した。ラット抗血清 12800 倍希釈においても、抗体の反応性を確認できたため、最終免疫をし、細胞融合を行った。ラット脾臓細胞とミエローマ P3X63Ag8. 653 (X63) 細胞を polyethylene glycol (PEG) 1500 を用いて融合し、HAT 選択を行った。1 回目はハイブリドーマの産生に至らなかった。その後 2 回細胞融合を行ったが、いずれも抗体産生ハイブリドーマの選択に至らず、現在モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの樹立には至っていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Funayama Hiromi, Tashima Itaru, Okada Satoru, Ogawa Takuya, Yagi Hideki, Tada Hiroyuki, Wakita Ryo, Asada Yoshinobu, Endo Yasuo	4. 巻 42
2. 論文標題 Effects of Zoledronate on Local and Systemic Production of IL-1, IL-18, and TNF- in Mice and Augmentation by Lipopolysaccharide	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 929 ~ 936
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Haraguchi Kazuhiro, Kumamoto Hiroki, Konno Kiju, Yagi Hideki, Tatano Yutaka, Odanaka Yuki, Shimbara Matsubayashi Satoko, Snoeck Robert, Andrei Graciela	4. 巻 75
2. 論文標題 Synthesis of 4 -substituted 2 -deoxy-4 -thiocytidines and its evaluation for antineoplastic and antiviral activities	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 4542 ~ 4555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.06.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Niwa Kanji, Tanaka Naonobu, Tatano Yutaka, Yagi Hideki, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 82
2. 論文標題 Hypascyrins A-E, Prenylated Acylphloroglucinols from Hypericum ascyron	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2754 ~ 2760
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 中村雅典、八木秀樹、大塚裕忠、遠藤康男	4. 巻 27
2. 論文標題 造血組織と骨、ビスフォスフォネートの関与	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 炎症と免疫	6. 最初と最後の頁 463 ~ 468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Hara Yuta, Torii Ryota, Ueda Shiho, Kurimoto Erina, Ueda Eri, Okura Hiroshi, Tatano Yutaka, Yagi Hideki, Ohno Yoshiya, Tanaka Toshiyuki, Masuko Kazue, Masuko Takashi	4. 巻 109
2. 論文標題 Inhibition of tumor formation and metastasis by a monoclonal antibody against lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3171 ~ 3182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13755	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Jia Yuyu, Niwa Kanji, Imabayashi Kiyoshi, Tatano Yutaka, Yagi Hideki, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 74
2. 論文標題 Phloroglucinol derivatives and a chromone glucoside from the leaves of Myrtus communis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 117 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2017.11.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okura Miyuki, Fujii Tatsuya, Yagi Hideki, Ogawa Takuya, Kishi Shinji, Hosono Naoko, Shigemi Hiroko, Yamauchi Takahiro, Ueda Takanori, Yoshida Akira	4. 巻 8
2. 論文標題 YM155 exerts potent cytotoxic activity against quiescent (G₀/G₁) multiple myeloma and bortezomib resistant cells <i>via</i> inhibition of survivin and Mcl-1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 111535-111550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.22871	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Otsuka H, Yagi H, Endo Y, Soeta S, Nonaka N, Nakamura M.	4. 巻 367
2. 論文標題 Nitrogen-containing bisphosphonate induces a newly discovered hematopoietic structure in the omentum of an anemic mouse model by stimulating G-CSF production.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Tissue Res.	6. 最初と最後の頁 297-309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-016-2525-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takamura S, Yagi H, Hakata Y, Motozono C, McMaster SR, Masumoto T, Fujisawa M, Chikaishi T, Komeda J, Itoh J, Umemura M, Kyusai A, Tomura M, Nakayama T, Woodland DL, Kohlmeier JE, Miyazawa M.	4. 巻 213
2. 論文標題 Specific niches for lung-resident memory CD8+ T cells at the site of tissue regeneration enable CD69-independent maintenance.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Exp Med	6. 最初と最後の頁 3057-3073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20160938	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

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 菅井一真、高野みどり、太田智之、常田百合、多田納豊、八木秀樹
2. 発表標題 フローサイトメトリーによる細胞傷害試験法の開発
3. 学会等名 第29回日本サイトメトリー学会学術集会 (東京)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 将、百百 純里奈、常田 百合、岩崎 洸、太田 智之、松本 光史、多田納 豊、八木 秀樹
2. 発表標題 高骨転移性肺癌細胞株由来新規破骨細胞誘導因子の探索
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小太刀菜月、高橋健人、桑島みなみ、物江静香、小川拓哉、多田納豊、八木秀樹
2. 発表標題 ヒトlysophosphatidyl serine受容体に対する新規モノクローナル抗体の作製
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 百百純里奈、池内晶哉、三浦眞今子、常田百合、松本光史、益子高、多田納豊、八木秀樹
2. 発表標題 高リンパ節転移ヒト乳癌細胞株由来新規リンパ管新生因子の探索
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
連携研究者	多田納 豊 (Tatano Yutaka) (70432614)	国際医療福祉大学・薬学部・准教授 (32206)	