

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04219

研究課題名(和文)次世代チップT-ISAACを用いたジカ熱、エイズペプチドワクチンの開発

研究課題名(英文)Development of Zika fever- and AIDS-peptide vaccine using next generation chip, T-ISAAC

研究代表者

村口 篤 (Muraguchi, Atsushi)

富山大学・学術研究部医学系・特別研究教授

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)：我々が開発した「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、血液や組織の病原菌特異的ヒトリンパ球を効率良く同定し、単一のTリンパ球からT細胞受容体(TCR) cDNAを迅速に単離する方法「T-ISAAC」を開発した。さらに、T-ISAACのTCR遺伝子の増幅効率を上げ、機能評価を迅速化した。また、研究室レベルで、廉価で大量にMHC/ペプチドテトラマーを作成できる方法も確立した。さらに、健康人末梢血単核球を用いてin vitroでのペプチド抗原特異的T細胞の増幅条件および検出法の最適化を行い、ジカ熱、エイズ患者のペプチド特異的T細胞の同定とTCR機能評価の基盤技術を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまでの独創的な科学基盤研究をさらに発展させるものである。すなわち、抗体産生細胞からMoAbを迅速に得るISAACシステム(原理)を展開させ、細胞性免疫(CTL)のTCRを短時間で取得し、ウイルス感染症に対する斬新的なオーダーメイドペプチド治療法の確立(原理の発展)を目指す、世界で我々しかできない新たな挑戦である。本研究は、我が国において独自のバイオ操作技術を開発し、人類を脅かす喫緊の課題である新興感染症や生物テロへの免疫治療への臨床応用可能な創造性の高い学術研究であり、その成果は人類の健康と福祉に大きく貢献できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, using an innovating lymphocyte chip method we had previously reported, we developed a novel method, T-ISAAC, to rapidly and efficiently obtain human virus-specific TCR from human blood or tissues of patients with infectious diseases. We then improved T-ISAAC to increase efficiency of TCR cDNA expansion, the speed of its function assessment, and develop an easy and cheap production method of MHC/peptide tetramer. Furthermore, we determined the optimum conditions for increasing the virus-specific T cells in vitro and detecting them efficiently. Thus, we established a basic technology to rapidly and efficiently detect peptide-specific T cells and obtain functional TCRs from patients with Zika-fever as well as AIDS patients.

研究分野：免疫学

キーワード：感染症治療学 ペプチドワクチン チップ技術

1. 研究開始当初の背景

(1) 「リンパ球チップ」の開発：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ができるシステム「リンパ球チップ」の構築に世界で初めて成功した。

(2) 世界最速ヒトMoAbクローニングシステムの開発：我々は、この「リンパ球チップ」を応用し、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。本システムを用いて、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MoAbを極めて短時間 (7日以内) に作成することに成功した。このシステムをさらに発展させ、ウサギ末梢血から極めて高親和性 ($K_d: 10^{-12}$ 以上) の蛋白あるいはペプチドに対するMoAbを7日間で取得する方法 (Rabbit ISAAC) を確立した。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：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) を開発した。hTEC10を用いて、EBウイ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10日間で取得することに成功した。さらに、リーシュマニア寄生虫ペプチド特異的TCRを解析し、ワクチン候補となるPEPCKペプチドを同定した。

(4) T-ISAACの開発とジカ熱ウイルスおよびHIVペプチドワクチン開発への挑戦：そこで、本研究では、我々が持つ革新的チップ技術をTCRの迅速取得に応用し、患者から世界最速で網羅的にTCRが取得できるシステム (T-ISAAC) を開発する。さらに、この新技术を応用して、TCRに結合する個人のTCRエピトープを同定し、ジカ熱ウイルスやHIVのペプチドワクチンをデザインする基盤技術を確立する。

2. 研究の目的

近年、ジカ熱、エボラ出血熱、エイズ等の新興・再興感染症、輸入感染症、さらには炭疽菌などの細菌兵器が人類の新たな脅威となってきた。人的交流のグローバル化、高齢化、地球温暖化等の様々な要因により、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、血液や組織の病原菌特異的ヒトTリンパ球を効率良く同定し、単一のTリンパ球からT細胞受容体 (TCR) cDNAを迅速に単離する方法「T-ISAAC」を開発し、「個の免疫医療システム」を確立する。さらにT-ISAACを応用して、個人のウイルスペプチド特異的T細胞の同定および機能評価を行い、「ジカ熱、エイズの個のペプチドワクチン開発の基盤技術を確立」することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 抗原特異的T細胞の単一細胞の検出法 (T-ISAAC) の確立：今回、我々は、Tリンパ球は、Tリンパ球自身が発現しているMHCにペプチドを載せることで、自分自身のTCRとペプチド/MHCを相互作用させ、自分自身を活性化してサイトカインを誘導する (cis-activation) ことを、リンパ球チップを用いて見出した。このT細胞のcis-activationの事象を検証するために、H-2K^b MHC class Iと卵白アルブミン (OVA) ペプチド特異的TCRトランスジェニックマウスおよびH-2D^b MHCクラスIIとH-Y抗原特異的TCRトランスジェニックマウスを用いて特異性の実験を行い、cis-activationの原理を応用して、T-ISAAC法の開発が可能であるかどうかを検証す

る。

(2) T-ISAAC によるウイルスペプチド特異的 T 細胞の同定：T-ISAAC を用いて EBV ペプチド特異的 T 細胞を検出し、TCR の特異性および機能評価を行う。具体的には、HLA-A24 拘束性の EB ウイルス由来 BRLF-1、EBNA3A、もしくは BMLF-1 及び HLA-A02 拘束性の EB ウイルス由来 BMLF-1、LMP-1、もしくは LMP-2 に対して特異的な TCR の存在を確認している健康人ボランティアより採血を行い、末梢血リンパ球 CD8+に濃縮し、リンパ球チップに播種してペプチドと 4~6 時間程度共培養する。その後刺激によって分泌されたインターフェロン もしくは IL-2 などのサイトカインを検出する。さらに、検出できた細胞を 1 つずつ回収し、機能評価を行う。HLA-A24 及び A02 陽性の健康人ボランティアより各 1 名以上、抗原は 3 種類以上で行う。

(3) T-ISAAC の TCR 遺伝子の効率的な増幅条件の検討：hTEC10 法で、我々はすでに単一 T 細胞より TCR 遺伝子を増幅できることをすでに示している。しかしながら TCR の 鎖と 鎖の両方が増幅できる効率は、回収した単一 T 細胞の 60%程度であり、さらなる効率の向上が必要である。T-ISAAC の開発に際し、RT 及び PCR の条件、用いるプライマー等を見直し、90%以上の単一 T 細胞より、鎖と 鎖の両方が増幅できる条件を検討する。

(4) T-ISAAC の機能評価の迅速化：hTEC10 は TCR 遺伝子単離後に、鎖と 鎖をレトロウイルスに組み込み、TCR を発現しない T 細胞株に感染させ TCR の機能解析を行うという煩雑な過程がある。そこで、T-ISAAC の開発に際し、単離した TCR の機能解析を簡素化するために、TAP(transcriptionally active PCR)法を応用した機能解析の改良を行う。本改良により、TCR の機能解析を大幅に短縮することを目指す。

(5) TCR の機能評価のための MHC/ペプチド тетраマーの新規作成法の開発：TCR の機能評価として種々の細胞株を用いた方法が考えられるが、MHC/ペプチド тетраマーによる FACS 解析が最も簡易的である。しかしながら、MHC/ペプチド тетраマーは従来法では大腸菌で作製しているため、研究室レベルでは困難である。そこで、哺乳類細胞株に膜型の 1 本鎖 MHC/ペプチド (SCT: single chain trimer) を可溶化型として発現させ、更に тетраマー化する方法を開発する。モデルとして、EB ウイルスの抗原 BRLF1 ペプチドを用いる。

(6) 健康人でのウイルスペプチド特異的 T 細胞の同定と機能評価：我々は、特定の HLA に提示されやすいペプチドを予測できる String-Kernel Support Vector Machine を用いた HLA 結合性ペプチド予測プラットフォームを開発している。この方法を用いて特定の MHC に提示されうるジカ熱ウイルスおよびエイズウイルスの HLA 拘束性ウイルスペプチドを予測し、これらのペプチドに应答する T リンパ球が末梢血中に存在するかどうかを T-ISAAC を用いて検証することが可能となる。そのための基礎実験として、健康人末梢血単核球を用いて in vitro でのペプチド抗原特異的 T 細胞の増幅条件および検出法の最適化を行う。具体的には、健康人の末梢血 T リンパ球を、リンパ球チップに播種して、BRLF-1 ペプチド等の存在下で 4~6 時間程度培養する。その後、刺激によって分泌されたインターフェロン などのサイトカインを検出する。

4 . 研究成果

(1) 抗原特異的 T 細胞の単一細胞の検出法 (T-ISAAC) の確立：H-2K^b MHC class I と OVA ペプチド特異的 TCR トランスジェニックマウスおよび H-2D^b MHC クラス と H-Y ペプチド特異的 TCR トランスジェニックマウスを用いて T-ISAAC の特異性を確認する実験を行った。すなわち、OVA ペプチド特異的 TCR トランスジェニックマウスの脾臓 T 細胞をチップに 1 個ずつ播種し、OVA ペプチドあるいは H-Y ペプチドで刺激したところ、細胞は OVA ペプチドに反応してサイトカインを産生したが、H-Y ペプチドには無反応であった。逆に H-Y ペプチド特異的 T 細胞

は H-Y ペプチドのみに反応し、OVA ペプチドに反応しなかった。この反応は TCR 付随分子の抗体により阻止された。これらの結果により、T 細胞の cis-activation の原理を用いて、T-ISAAC の開発が可能であることが示された。

(2) T-ISAAC によるヒトウイルスペプチド特異的 T 細胞の同定：T-ISAAC 法を用いて EBV ペプチド特異的 T 細胞を検出し、TCR の特異性と機能評価を行った。具体的には、HLA-A24 拘束性の EB ウイルス由来 BRLF-1、EBNA3A、及び HLA-A02 拘束性の EB ウイルス由来 BMLF-1 に対して特異的な TCR の存在を確認しているボランティアより末梢血リンパ球を単離し、CD8+T リンパ球に濃縮し、リンパ球チップに播種してペプチドと 4~6 時間共培養し、分泌されたインターフェロン- γ を検出した。さらに、これら検出した細胞が確かにペプチドに应答しているかを検証するために、検出できた細胞を 1 つずつ回収し、得られた TCR 遺伝子の機能評価を行った。HLA-A24 及び A02 陽性の健常人ボランティアより各 1 名以上、抗原として合計 3 種類以上で行い、EBV ペプチド特異的 TCR の特異性を確認した。

(3) T-ISAAC の TCR 遺伝子の効率的な増幅条件の検討：hTEC10 法で、我々は単一 T 細胞より TCR 遺伝子を増幅できることをすでに示している。しかしながら TCR の α と β の両方が増幅できる効率は、回収した単一 T 細胞の 60%程度であり、さらなる効率の向上が必要である。T-ISAAC の開発に際し、RT 及び PCR の条件、用いるプライマー等を見直し、90%以上の単一 T 細胞より、 α と β の両方が増幅できる条件を検討した結果、回収した細胞の 80%以上で α と β の両方の増幅が可能となった。

(4) T-ISAAC の機能評価の迅速化：hTEC10 は TCR 遺伝子単離後に、 α と β をレトロウイルスに組み込み、TCR を発現しない T 細胞株に感染させ TCR の機能解析を行うという煩雑な過程がある。そこで、T-ISAAC の開発に際し、単離した TCR の機能解析を簡素化するために、TAP(transcriptionally active PCR)法を応用した機能解析の改良を行った。本改良により、TCR の機能解析を 10 日間から 4 日間に短縮することが可能となった。

(5) TCR の機能評価のための MHC/ペプチドテトラマーの新規作成法の開発：我々が以前までに哺乳類細胞株にて作製に成功した膜型の 1 本鎖 MHC/ペプチド (SCT) を可溶化型として発現させ、更にテトラマー化する方法を開発した。モデルとして、EB ウイルスの抗原 BRLF1 ペプチドの SCT を作製してテトラマー化し、既に我々がクローニングした BRLF1 特異的 TCR を発現させた T 細胞と結合するかどうかを実証した。研究室レベルで、1 週間程度で安価 (10 万円程度) で大量 (10 mg 以上) の MHC/ペプチドテトラマーを作成できる方法を確立した。

(6) 健常人でのウイルスペプチド特異的 T 細胞の同定と機能評価：低頻度のペプチド特異的 T 細胞をより高感度に検出するために、EB ウイルス抗原をモデル抗原として、T-ISAAC の検出系の検討と *in vitro* での刺激条件を検討した。具体的には、IFN- γ 以外のサイトカイン (IL-2、TNF- α 等) を産生する抗原特異的 T 細胞の検出およびそれら TCR のクローニングを行い、検出効率および TCR 親和性を IFN- γ を指標に取得した TCR と比較評価した。また、健常人 PBMC を *in vitro* で種々のペプチド濃度で刺激し、TCR 遺伝子のクローニングを行い、誘導効率および取得した TCR の親和性を評価し、指摘濃度を決定した。以上、ジカ熱、エイズ患者のペプチド特異的 T 細胞の同定と TCR 機能評価の基盤技術を確立した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiramoto T, Tahara M, Liao J, Soda Y, Miura Y, Kurita R, Hamana H, Inoue K, Kohara H, Miyamoto S, Hijikata Y, Okano S, Yamaguchi Y, Oda Y, Ichiyangi K, Toh H, Sasaki H, Kishi H, Ryo A, Muraguchi A, Takeda M, Tani K.	4. 巻 28
2. 論文標題 Non-transmissible MV Vector with Segmented RNA Genome Establishes Different Types of iPSCs from Hematopoietic Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 129 ~ 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2019.09.007	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 Lyu Fulian, Ozawa Tatsuhiko, Hamana Hiroshi, Kobayashi Eiji, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki	4. 巻 49
2. 論文標題 A novel and simple method to produce large amounts of recombinant soluble peptide/major histocompatibility complex monomers for analysis of antigen-specific human T cell receptors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Biotechnology	6. 最初と最後の頁 169 ~ 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbt.2018.11.005	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 Hu Z, Anandappa AJ, Sun J, Kim J, Leet DE, Bozym DJ, Chen C, Williams L, Shukla SA, Zhang W, Tabbaa D, Steelman S, Olive O, Livak KJ, Kishi H, Muraguchi A, Guleria I, Stevens J, Lane WJ, Burkhardt UE, Fritsch EF, Neuberger D, Ott PA, Keskin DB, Hacohen N, Wu CJ	4. 巻 132
2. 論文標題 A cloning and expression system to probe T-cell receptor specificity and assess functional avidity to neoantigens	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 1911 ~ 1921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2018-04-843763	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 Tsuda Sayaka, Zhang Xiaoxin, Hamana Hiroshi, Shima Tomoko, Ushijima Akemi, Tsuda Kei, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki, Saito Shigeru	4. 巻 9
2. 論文標題 Clonally Expanded Decidual Effector Regulatory T Cells Increase in Late Gestation of Normal Pregnancy, but Not in Preeclampsia, in Humans	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1934
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2018.01934	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 Shitaoka Kiyomi, Hamana Hiroshi, Kishi Hiroyuki, Hayakawa Yoshihiro, Kobayashi Eiji, Sukegawa Kenta, Piao Xiuhong, Lyu Fulian, Nagata Takuya, Sugiyama Daisuke, Nishikawa Hiroyoshi, Tanemura Atsushi, Katayama Ichiro, Murahashi Mutsunori, Takamatsu Yasushi, Tani Kenzaburo, Ozawa Tatsuhiko, Muraguchi Atsushi	4. 巻 6
2. 論文標題 Identification of Tumoricidal TCRs from Tumor-Infiltrating Lymphocytes by Single-Cell Analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 378 ~ 388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2326-6066.CIR-17-0489	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 Miyama Takahiko, Kawase Takakazu, Kitaura Kazutaka, Chishaki Ren, Shibata Masashi, Oshima Kumi, Hamana Hiroshi, Kishi Hiroyuki, Muraguchi Atsushi, Kuzushima Kiyotaka, Saji Hiroh, Shin-I Tadasu, Suzuki Ryuji, Ichinohe Tatsuo	4. 巻 7
2. 論文標題 Highly functional T-cell receptor repertoires are abundant in stem memory T cells and highly shared among individuals	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3663
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-03855-x	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 Guo Lu, Sun Xin, Hao Zhichao, Huang Jingjing, Han Xiaojian, You Yajie, Li Yaying, Shen Meiyong, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki, Muraguchi Atsushi, Jin Aishun	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of Novel Epitopes with Agonistic Activity for the Development of Tumor Immunotherapy Targeting TRAIL-R1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2542 ~ 2553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.19918	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 Feng Yinnian, Brazin Kristine N., Kobayashi Eiji, Mallis Robert J., Reinherz Ellis L., Lang Matthew J.	4. 巻 114
2. 論文標題 Mechanosensing drives acuity of T-cell recognition	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 E8204 ~ E8213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1703559114	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55件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Shitaoka K, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 A novel TCR cloning system of peptide-specific T cells using immunospot array assay on a chip(T-ISAAC) technology.
3. 学会等名 International Conference on Lymphocyte Engineering 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浜名 洋, 下岡 清美, 祐川 健太, 佐伯しおり, 長田任一哉, 小林 栄治, 小澤 龍彦, 藤井 努, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 患者HLA遺伝子導入乳がん細胞株を用いた乳がん患者TIL中の腫瘍反応性TCRの探索.
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 祐川 健太, 佐伯しおり, 下岡 清美, 浜名 洋, 宮原 慶裕, 小林 栄治, 長田任一哉, 小澤 龍彦, 藤井 努, 珠玖 洋, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 腫瘍浸潤CD8+ T細胞におけるPD-1の発現はTCRレパトアに規定される.
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津田 桂, 浜名 洋, 中島 彰俊, 森田 恵子, 津田さやか, 島 友子, 下岡 清美, 小林 栄治, 小澤 龍彦, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 Clonally expanded populations of cytotoxic T cell in TILs and peripheral blood in endometrial cancer patients.
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸 裕幸, 祐川 健太, 下岡 清美, 浜名 洋, 小林 栄治, 津田 桂, 長田任一哉, 佐伯しおり, 小澤 龍彦, 齋藤 滋, 藤井 努, 村口 篤.
2. 発表標題 腫瘍浸潤CD8+ T細胞のTCRとPD-1の発現との関連: 大腸癌における考察.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小澤 龍彦, 呂 福蓮, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 ISAAC法を用いたTCR様抗体の迅速単離法の開発.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hamana H, Shitaoka K, Sukegawa K, Saeki S, Nagata T, Kobayashi E, Ozawa T, Fujii T, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Screening of tumor-reactive TCRs from TILs of breast cancer patients using a patients' HLA-transduced breast cancer cell line.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Shitaoka K, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Cloning of tumor antigen-specific TCRs using immunospot array assay on a chip (T-ISAAC) technology.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shitaoka K, Hamana H, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 A new epitope is identified derived from envelope protein of an endogenous murine leukemia virus.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ucche S, Mojic M, Shitaoka K, Kishi H, Muraguchi A, Tahara H, Hayakawa Y.
2. 発表標題 NKG2D as a marker of active tumor-antigen specific CD8+ T cells during antitumor immune response.
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuda S, Kishi H, Xiaoxin Z, Shima T, Hamana H, Tsuda K, Ushijima A, Muraguchi A, Saito S.
2. 発表標題 Clonally expanded decidual effector Treg cells increase in late gestation of normal pregnancy, but not in preeclampsia in human.
3. 学会等名 The 38th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Immunology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林栄治, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 T-ISAAC法を用いたペプチド特異的T細胞のTCRレパトア解析.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 下岡清美, 浜名 洋, 小林栄治, 早川芳弘, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 TILでクローナルなT細胞受容体は, 腫瘍に対して細胞障害性を示し, 腫瘍関連抗原を認識する.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津田さやか, Zhang Xiaoxin, 浜名 洋, 島 友子, 牛島明美, 津田 桂, 村口 篤, 岸 裕幸, 齋藤 滋.
2. 発表標題 ヒトの妊娠高血圧腎症と胎児染色体正常流産症例では脱着膜effector制御性T細胞のクローナリティと数が異なる.
3. 学会等名 第39回日本妊娠高血圧学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 祐川健太, 浜名 洋, 下岡清美, 小林栄治, 北條莊三, 奥村知之, 長田拓哉, 村口 篤, 岸 裕幸, 藤井 努.
2. 発表標題 効率的な大腸癌免疫療法の確立に向けた腫瘍浸潤リンパ球レパトリー解析.
3. 学会等名 第29回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津田さやか, チャン シャオシン, 浜名 洋, 島 友子, 牛島明美, 津田 桂, 村口 篤, 岸 裕幸, 齋藤 滋.
2. 発表標題 制御性T細胞のsingle-cell TCRレパトリー解析により示唆された流産と妊娠高血圧腎症の免疫学的病態の相違.
3. 学会等名 第33回日本生殖免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小澤龍彦, 大貫 耀, 浜名 洋, 小林栄治, 呂 福蓮, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 酵母表面ディスプレイ法を用いたTCRの抗原ペプチド/MHCライブラリーの作製とそのスクリーニング.
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Shitaoka K, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 TCR repertoire analysis of peptide-specific T cells using immunospot array assay on a chip (T-ISAAC) technology.
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 Hamana H, Ozawa T, Kobayashi E, Shitaoka K, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 A rapid and simple protocol for cDNA cloning of tumor antigen-specific TCR.
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 Ohnuki Y, Ozawa T, Hamana H, Kobayashi E, Lyu F, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 The development of antigen detection system using yeast surface display library.
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 Sukegawa K, Hamana H, Shitaoka K, Kobayashi E, Saeki S, Nagata T, Fujii T, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Tumor infiltrating lymphocyte repertoire analysis of colon cancer.
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 Tsuda K, Kishi H, Nakashima A, Hamana H, Tsuda S, Shima T, Shitaoka K, Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A, Saito S.
2. 発表標題 Clonally expanded populations of cytotoxic T cell in tumor infiltrated lymphocyte and peripheral blood in uterine endometrial cancer.
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 Yamaguchi S, Kishi H, Shitaoka K, Hamana H, Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A.
2. 発表標題 Development of TCR-antigen identification system using “cis-interaction” of TCR and peptide/MHC complex on a T cell.
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 Mojic M, Shitaoka K, Kishi H, Muraguchi A, Tahara H, Hayakawa Y. Mojic M, Shitaoka K, Kishi H, Muraguchi A, Tahara H, Hayakawa Y.
2. 発表標題 Time-scale analysis of interplay between immunogenic tumor and immune response.
3. 学会等名 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (ICIS)2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takamatsu H, Ozawa T, Zaimoku Y, Tsuji A, Hanamura I, Kuroda J, Tanaka H, Kawai S, Kishi H, Nakao S.
2. 発表標題 Novel Human Anti-HLA-Bw4 and B61 Monoclonal Antibodies Kill Malignant B Cells Via CDC/ADCC While Sparing Normal Peripheral Blood Cells.
3. 学会等名 ASH the 59th Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 浜名 洋, 長田拓哉, 下岡清美, 祐川健太, 小澤龍彦, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 乳がん浸潤リンパ球の迅速・簡便TCRレパトリー解析.
3. 学会等名 第21回日本がん免疫学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤井啓介, 宮原慶裕, 問山裕二, 井上靖浩, 浜名 洋, 遠藤洋子, 楠 正人, 井上正宏, 岸 裕幸, 珠玖 洋.
2. 発表標題 ヒト大腸がんにおける腫瘍浸潤CD8+T細胞のクロナリティと腫瘍反応性の解析.
3. 学会等名 第21回日本がん免疫学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岸 裕幸.
2. 発表標題 単一細胞TCRレパトア解析による, HLA及び抗原に依存しない, 腫瘍特異的TCRの取得.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤井啓介, 宮原慶裕, 問山裕二, 井上靖浩, 浜名 洋, 遠藤洋子, 楠 正人, 井上正宏, 岸 裕幸, 珠玖 洋.
2. 発表標題 ヒト大腸がんにおける腫瘍浸潤CD8+T細胞のクロナリティと腫瘍反応性の解析.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村橋睦了, 浜名 洋, 岸 裕幸, 山口 類, 宮野 悟, 緒方久修, 岡崎利彦, 佐々木秀法, 宮本将平, 谷憲三朗, 大西秀哉, 高松 泰, 中西洋一.
2. 発表標題 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫における腫瘍浸潤CD8+Tリンパ球の解析.
3. 学会等名 第9回血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中川紀温, Mahmoud I. Elbadry, 赤塚美樹, 下岡清美, 浜名 洋, 吉田善紀, 井美達也, 材木義隆, 石山 謙, 岸 裕幸, 中尾眞二.
2. 発表標題 再生不良性貧血患者骨髄中のCD8陽性単一T細胞解析によるHLA-B5401拘束性CTLの同定.
3. 学会等名 第9回血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮尾康太郎, 寺倉精太郎, 奥野真吾, 渡邊慶介, 浜名 洋, 岸 裕幸, 酒村玲央奈, Jakrawadee Julamanee, 後藤辰徳, 西田徹也, 村田誠, 清井 仁.
2. 発表標題 新規人工アダプター分子の遺伝子導入は抗原特異的CTLのpersistenceを向上させる.
3. 学会等名 第9回血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩崎研太, 三輪祐子, 打田和治, 堀見孔星, 松岡 裕, 岡田 学, 浜名 洋, 岸 裕幸, 村口 篤, 小林孝彰.
2. 発表標題 内皮細胞HLA-class II DRとアロ応答するCD4 T細胞は, anti-A/B抗体接着により抑制される.
3. 学会等名 第26回日本組織適合性学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 津田さやか, 岸 裕幸, 島 友子, 浜名 洋, 牛島明美, 村口 篤, 齋藤 滋.
2. 発表標題 ヒト妊娠子宮の脱落膜では, 妊娠後期にクローナルなeffector制御性T細胞が増加する.
3. 学会等名 第32回日本生殖免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小澤龍彦, 津田玲奈, 浜名 洋, 小林栄治, 多喜博文, 戸邊一之, 村口 篤, 岸 裕幸.
2. 発表標題 関節リウマチ患者由来自己抗体が認識する非変性状態の抗原の同定と自己抗体誘導仮説.
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 尾崎 司, 惣宇利正善, 小澤龍彦, 村口 篤, 一瀬白帝.
2. 発表標題 自己免疫性出血病XIII/13症例より作製したヒト単クローン抗体のエピトープ解析.
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ozawa T, Tsuda R, Hamana H, Kobayashi E, Taki H, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Evolution of anti-citrullinated peptide antibody (ACPA): analysis of autoantigen under native condition using a human monoclonal ACPA.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Lyu F, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 TCR repertoire analysis of antigen-specific T cells using immunospot array assay on a chip (T-ISAAC) technology.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hamana H, Nagata T, Shitaoka K, Sukegawa K, Ozawa T, Kobayashi E, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 T cell receptor (TCR) gene cloning from tumor infiltrating lymphocytes of breast cancer patients toward TCR gene therapy.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shitaoka K, Hamana H, Kobayashi E, Ozawa T, Hayakawa Y, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Majority of tumor infiltrating lymphocytes in B16F10 melanoma recognized tumor-associated antigens, but not melanoma-associated antigens or neoantigens.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Lyu F, Ozawa T, Hamana H, Kobayashi E, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 A novel method to produce high amounts of recombinant MHC/peptide complexes for isolation of antigen-specific human TCRs.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ohnuki Y, Ozawa T, Hamana H, Kobayashi E, Lyu F, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 The model of antigen detection system using yeast surface display library.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahashi Y, Nagata T, Sukegawa K, Hamana H, Kishi H.
2. 発表標題 T cell receptor repertoire of PD-1+CD137+ and PD1-CD137- tumor infiltrating lymphocytes in various cancers.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okumura M, Ozawa T, Taki H, Muraguchi A, Kishi H.
2. 発表標題 Production of Ro52/TRIM21 autoantibodies that react to PEP08 epitope in Ro52 clinically relate to the morbidity and severity of interstitial lung disease in connective tissue disease.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mojic M, Shitaoka K, Kishi H, Muraguchi A, Tahara H, Hayakawa Y.
2. 発表標題 Tumor-specific CTL ' s reduced clonality and proliferation index, not the inhibitory immune checkpoint expression, as hallmarks of B16 melanoma immune evasion.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Fujii K, Miyahara Y, Toiyama Y, Inoue Y, Hamana H, Endo Y, Kusunoki M, Inoue M, Kishi H, Shiku H.
2. 発表標題 Phenotypic and clonality analysis of tumor-reactive CD8+ T cells among TILs in human colorectal tumor tissue.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iwasaki K, Hamana H, Kishi H, Muraguchi A.
2. 発表標題 Differential response of allo-reactive CD4 T-cells against HLA class II expressed on endothelial cells in the presence of HLA and ABO antibody.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsui H, Hazama S, Tamada K, Udaka K, Koki Y, Uematsu T, Arima H, Furukawa H, Miyakawa T, Doi S, Nakajima M, Kitahara M, Kanekiyo S, Tokumitsu Y, Iida M, Tokuhisa Y, Sakamoto K, Suzuki N, Takeda S, Yamamoto S, Yoshino S, Ueno T, Nagano H
2. 発表標題 A phase I study of novel multi-HLA binding peptides and a new combination of immune adjuvants against solid tumors.
3. 学会等名 2017 American Society of Clinical Oncology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 弓場英司、能崎優太、原田敦史、宇高恵子、西村泰治、河野健司
2. 発表標題 pH応答性高分子修飾リポソームの抗原ペプチドデリバリーキャリアとしての機能
3. 学会等名 第33回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kawasaki Y, Udaka K, Ueba T
2. 発表標題 Novel WT1 peptide vaccination for newly diagnosed malignant gliomas.
3. 学会等名 The 36th Sapporo International cancer Symposium
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宇高恵子
2. 発表標題 腫瘍に対するT細胞戦略
3. 学会等名 第65回NPO法人日本口腔科学会中国・四国地方部会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shimizu T, Komatsu T, Udaka K
2. 発表標題 Construction of a TAP deficient HLA class I-binding assay system with the use of CRISPR/Cas9 system
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Komatsu T, Iwade R, Kijima M, Sato T, Udaka K
2. 発表標題 Extravasation of CTLs occurs by recognizing the MHC-peptide complexes cross-presented by vascular endothelial cells.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kasai M, Sano S, Udaka K
2. 発表標題 Application with nano-sized cyanoacryl particles ameliorates experimental dermatitis through the bacteriocidal activity.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Udaka K, Kasai M, Ayano Kawaguchi, Kamijima R, Matsuzaki S, Suzuki K, Yamamoto M, Sano S, Shirotake S
2. 発表標題 Topical application of nano-sized, bactericidal polymer particles ameliorates hapten-induced dermatitis.
3. 学会等名 日本研究皮膚科学会第42回年次学術大会・総会
4. 発表年 2017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
研究分担者	岸 裕幸 (Kishi Hiroyuki) (60186210)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	

6. 研究組織（つづき）

	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	小澤 龍彦 (Ozawa Tatsuhiko) (10432105)	富山大学・学術研究部医学系・助教 (13201)	
研究 分担者	小林 栄治 (Kobayashi Eiji) (70459733)	富山大学・学術研究部医学系・助教 (13201)	
研究 分担者	宇高 恵子 (Udaka Keiko) (40263066)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授 (16401)	