

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02689

研究課題名(和文) TCRの抗原同定とTCR遺伝子療法に向けた副作用予測の基盤構築

研究課題名(英文) Establishment of Identification of TCR antigen and prediction of side effects for TCR gene therapy

研究代表者

小澤 龍彦 (Tatsuihko, Ozawa)

富山大学・学術研究部医学系・准教授

研究者番号：10432105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：T細胞に発現しているT細胞受容体(TCR)を用いた、がんの新しい治療法の研究が進んでいる。しかしながら機能的なTCRを単離することと、その反応性を解析して副作用を予測することは容易ではなかった。本研究を通じて、がんに浸潤しているT細胞から、元のがん細胞に反応するTCRを得る方法と、TCRの反応性を解析する簡便なツールであるペプチド/MHCの容易な作製法を確立した。これらの結果は、今後のTCR遺伝子療法によるがん治療を開発する上で役立つことが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんに対する新しい治療法として、T細胞が持っているT細胞受容体(TCR)を使った免疫療法、TCR遺伝子療法の研究が進んでいる。しかしながらTCR遺伝子療法に用いたTCRが類似した配列を持つ自己抗原を認識して重篤な副作用を起こす症例が報告されている。本研究では、TCRの反応性を解析する基盤作りを行い、TCRの反応性を解析する簡便なツールであるペプチド/MHCの容易な作製法を確立した。本研究成果を応用することでTCR遺伝子療法のさらなる発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Adoptive T cell therapy using TCR-modified T cells is a promising next-generation immunotherapy. However, it was not easy to isolate a functional TCR, and to analyze the reactivity and predict the side effects. In this study, we have established a method to obtain TCRs that respond to the original cancer cells from tumor-infiltrating lymphocytes, and technically simple method to generate functional p/MHC that analyze the reactivity of TCRs. These results may contribute to development of adoptive T cell therapy using TCR-modified T cells.

研究分野：免疫学、抗体工学、分子生物学

キーワード：T細胞受容体 TCR遺伝子療法 がん免疫療法 ペプチド/MHC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

T 細胞受容体(TCR)遺伝子を用いたがんに対する TCR 遺伝子療法の研究が急進展している。しかし TCR の主要組織適合抗原(MHC)による拘束性のため、対象は特定の MHC を持つ患者に限定されている。一方我々は、どのような HLA ハプロタイプを持つがん患者でも TCR 遺伝子療法が受けられることを目指す「個のがん免疫療法」の独自の研究を長年にわたり行ってきた。その過程で、TCR の α 鎖 β 鎖の正しい組み合わせを迅速・網羅的に解析できる hTEC10 法 (Kobayashi *et al Nature Medicine* 2013) を開発し、個々のがん患者から、がん細胞特異的 TCR を短期間に簡便に得るシステムを構築した。そして、坦がんマウスの TIL 由来の CD8⁺T 細胞から、がん細胞を傷害する TCR が容易に得られることを実証した。一方、近年、TCR 遺伝子療法において用いた TCR が、類似した配列をもつ自己抗原を認識し重篤な副作用を起こす症例が報告されている。我々のこれまでの研究を進展させ、臨床応用するためには「副作用の予測をどのように行うか？」が喫緊の課題である。

2. 研究の目的

本研究は、TCR 遺伝子療法を臨床応用する際に問題となる TCR 遺伝子療法の副作用を予測できる基盤を構築することを目的とする。そのために、がん患者よりがん細胞特異的 TCR を単離することと、TCR の反応性を検討するために必要なツールの開発を行う。

3. 研究の方法

(1) がん患者由来がん細胞特異的 TCR の単離

21 症例の大腸がん患者と 10 症例の乳がん患者より外科的に切除した腫瘍を腫瘍組織と TIL に分離した。TIL を PD1⁺もしくは PD1⁻の CD8⁺CD137⁺細胞をセルソーターにて単一細胞に分離し、hTEC10 法を用いて網羅的に TCR のレパートリー解析を行った。取得した TCR をヒトプライマリー CD8⁺T 細胞に発現させ、オルガノイド培養を行った患者由来のプライマリーがん細胞 (CTOS 細胞) を傷害するか検証した。

(2) TCR の抗原同定のための、簡便なりコンビナントペプチド/MHC 作製法の開発

ペプチド/MHC は、Single chain trier (SCT)の構造として作製した。具体的には、抗原ペプチド、 β 2 ミクログロブリン、MHC の α 鎖を一本鎖で繋ぎ、続いて部位特異的にビオチンを付加させるための AviTag、精製に用いるための HisTag を融合させた遺伝子断片を、pcDNA3.4 ベクターにクローニングした。このプラスミドとビオチン付加酵素である BirA 発現プラスミドを、哺乳類細胞株である Expi293F™ 細胞に導入し、ビオチン存在下で 1 週間培養した。培養後、細胞上清を回収し、HisTag 精製用のバッファー対して透析した。透析後、Ni-NTA カラムを用いてビオチン化 SCT を精製し、PE 標識ストレプトアビジンを用いて、ビオチン化 SCT をテトラマー化した。その後、BRLF1 ペプチド/MHC を認識する TCR(Q22)もしくは、EBNA3A ペプチド/MHC を認識する TCR(E21)を発現させたマウス T 細胞株(TG40)と反応させ、特異的に結合するかフローサイトメーターを用いて検証した。

4. 研究成果

がん患者より得られた CD8⁺CD137⁺TIL の TCR レパートリー解析を行った結果、同一 TCR 遺

伝子を発現する T 細胞が見いだされたことから、オリゴクローナルに増殖していることが示された(図 1)。

これら TCR のがん細胞への反応を解析した結果、大腸がん患者 42 の TIL 由来 TCR4 を発現させた T 細胞を、該当患者の CTOS と共培養したところ、IFN- γ の産生が認められた。一方、反応性を示した TCR の拘束性を明らかにすることはできなかった(図 2)。また、乳癌患者 10 の TIL 由来 TCR6 を発現させた T 細胞を、HLA-A*03:01 を発現させた乳がん細胞株 MCF-7 と共培養させたところ、IFN- γ の産生が認められた(図 2)。これらの結果より、がん患者よりがん細胞特異的 TCR を得ることに成功した。

次に、TCR の抗原を同定するために必要な基盤を整えるため、TCR の抗原であるペプチド/MHC を、容易に作製できる方法の開発を行った。ペプチド/MHC は、従来大腸菌で作製されており、抗原毎に条件が異なるなるリフォールディングを行う必要があったため、その作製は容易ではなかった。我々は、ペプチドと、 β 2 ミクログロブリン、HLA の α 鎖を 1 本鎖で繋ぎ、哺乳類細胞株で産生させることで、リフォールディングの工程を必要とせず、2 週間程度で 1mg 以上のペプチド/MHC が作製できるようになった(図 3)。

作製した SCT が機能的であるかを検証するため、フローサイトメータを用いて検証した。BRLF1 ペプチド/MHC を認識する TCR(Q22)もしくは、EBNA3A ペプチド/MHC を認識する TCR(E21)を発現させたマウス T 細胞株(TG40)に、PE 標識 BRLF1 もしくは EBNA3A-SCT テトラマーを反応させた。フローサイトメータの結果より、それぞれの SCT テトラマーは TCR 特異

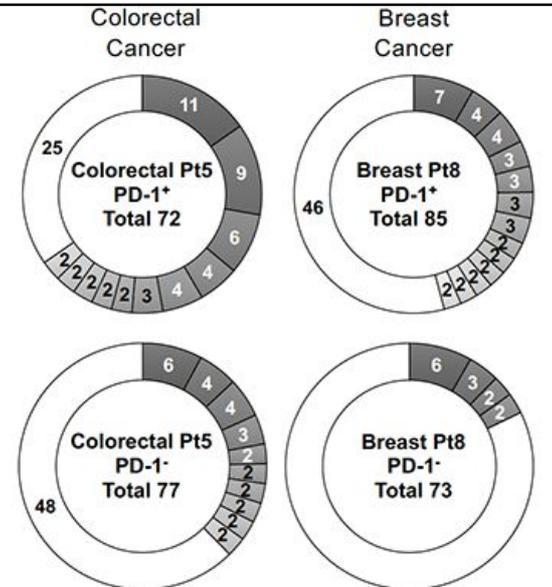


図 1 大腸がん患者、乳がん患者の PD-1⁺、PD-1⁻の CD8⁺ TIL の TCR レパトア。色付きの分画は同じ TCR β を発現した T 細胞の数を示す。白抜き分画はそれぞれ別個の TCR β を発現した T 細胞の数を示す。解析した細胞の総数をグラフの中心に示す。代表的な例を示す。

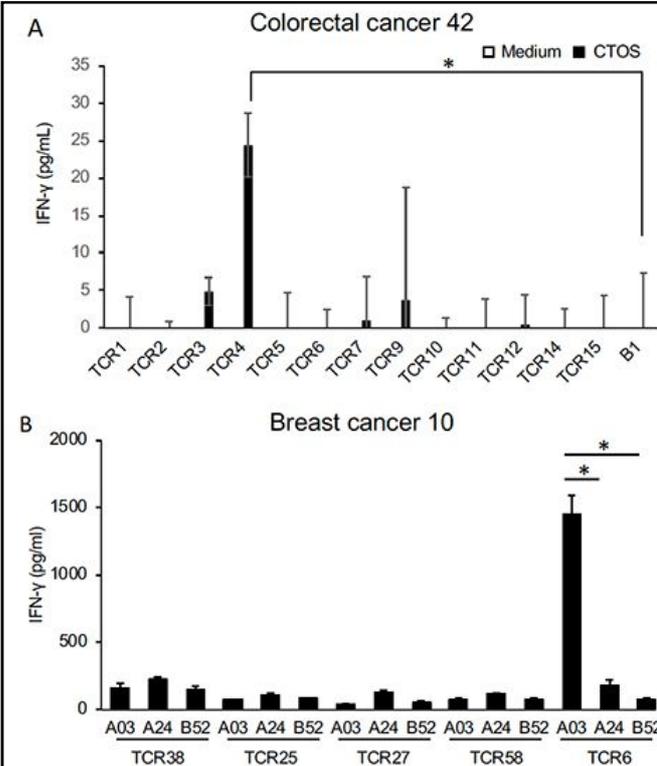


図 2 クローナルに増殖した CD8⁺ TIL 由来 TCR の腫瘍反応性。大腸がん患者 42 (CC42)(A)もしくは、乳がん患者 10 (BC10)(B)の TIL 由来 TCR を発現させた T 細胞の腫瘍細胞反応性。TIL 由来 TCR を発現させた PBMC と CC42 由来 CTOS(A)もしくは、患者 HLA-A*03:01、HLA-A*24:02、HLA-B*52:01 をそれぞれ発現させた乳がん細胞株 MCF-7(B)を 24 時間共培養し、IFN- γ の分泌を ELISA にて測定した。* p < 0.01、Student's t-test による。結果は、平均 \pm SD で示す。2 回実験したデータの代表的結果を示す。

的に結合することが認められた (図 3)。

本研究では、がん患者よりがん細胞特異的 TCR の取得が容易にできることが実証されたこと、また TCR の反応性を検出するためのペプチド/MHC を容易に作製できる方法を確認した。これらの結果より TCR 遺伝子療法を行うために必要な基盤の構築ができたことから、TCR 遺伝子療法を開発する上で役立つことが期待される。

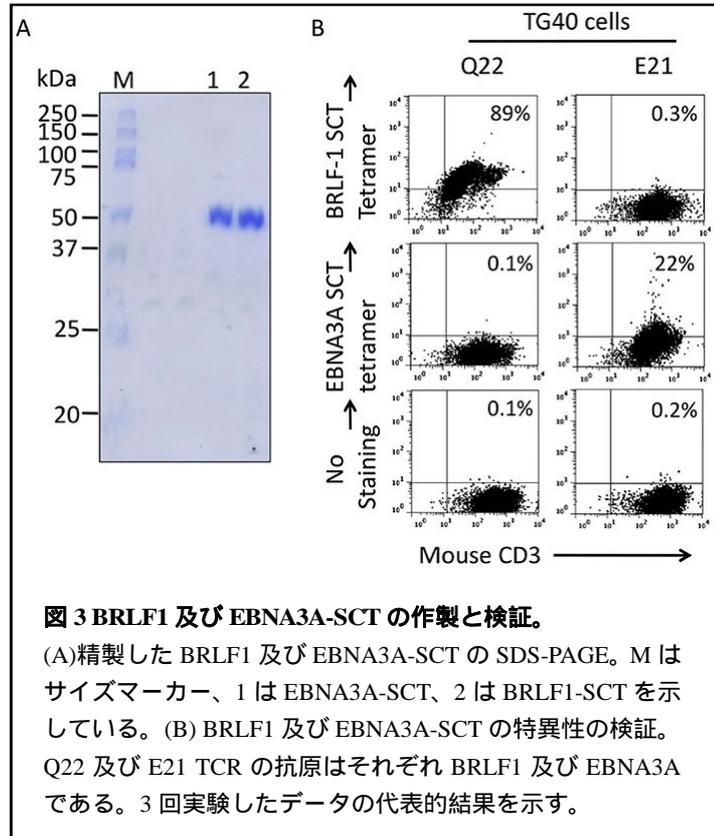


図 3 BRLF1 及び EBNA3A-SCT の作製と検証。

(A)精製した BRLF1 及び EBNA3A-SCT の SDS-PAGE。M はサイズマーカー、1 は EBNA3A-SCT、2 は BRLF1-SCT を示している。(B) BRLF1 及び EBNA3A-SCT の特異性の検証。Q22 及び E21 TCR の抗原はそれぞれ BRLF1 及び EBNA3A である。3 回実験したデータの代表的結果を示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|------------------|
| 1. 著者名 Tani Hideki, Kimura Miyuki, Tan Long, Yoshida Yoshihiro, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki, Fukushima Shuetsu, Saijo Masayuki, Sano Kaori, Suzuki Tadaki, Kawasuji Hitoshi, Ueno Akitoshi, Miyajima Yuki, Fukui Yasutaka, Sakamaki Ippei, Yamamoto Yoshihiro, Morinaga Yoshitomo | 4. 巻 18 |
| 2. 論文標題 Evaluation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using a vesicular stomatitis virus possessing SARS-CoV-2 spike protein | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Virology Journal | 6. 最初と最後の頁 16 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12985-021-01490-7 | 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 Kimura Miyuki, Egawa Kazutaka, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki, Shimojima Masayuki, Taniguchi Satoshi, Fukushima Shuetsu, Fujii Hikaru, Yamada Hiroshi, Tan Long, Sano Kaori, Katano Harutaka, Suzuki Tadaki, Morikawa Shigeru, Saijo Masayuki, Tani Hideki | 4. 巻 556 |
| 2. 論文標題 Characterization of pseudotyped vesicular stomatitis virus bearing the heartland virus envelope glycoprotein | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Virology | 6. 最初と最後の頁 124 ~ 132 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.virol.2020.10.006 | 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 Sukegawa Kenta, Shitaoka Kiyomi, Hamana Hiroshi, Kobayashi Eiji, Miyahara Yoshihiro, Fujii Keisuke, Tsuda Kei, Saeki Shiori, Nagata Takuya, Ozawa Tatsuhiko, Saito Shigeru, Fujii Tsutomu, Muraguchi Atsushi, Shiku Hiroshi, Kishi Hiroyuki | 4. 巻 50 |
| 2. 論文標題 Relationship between T cell receptor clonotype and PD 1 expression of tumor infiltrating lymphocytes in colorectal cancer | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Immunology | 6. 最初と最後の頁 1580 ~ 1590 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/eji.201948399 | 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 Ozawa Tatsuhiko, Ouhara Kazuhisa, Tsuda Reina, Munenaga Syuichi, Kurihara Hidemi, Kohno Hiroki, Hamana Hiroshi, Kobayashi Eiji, Taki Hirofumi, Tobe Kazuyuki, Sugiyama Eiji, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki | 4. 巻 72 |
| 2. 論文標題 Physiologic Target, Molecular Evolution, and Pathogenic Functions of a Monoclonal Anti-Citrullinated Protein Antibody Obtained From a Patient With Rheumatoid Arthritis | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology | 6. 最初と最後の頁 2040 ~ 2049 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41426 | 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 Mizumaki H, Hosomichi K, Hosokawa K, Yoroidaka T, Imi T, Zaimoku Y, Katagiri T, Nguyen M A T, Tran D C, Elbadry M I Y, Chonabayashi K, Yoshida Y, Takamatsu H, Ozawa T, Azuma F, Kishi H, Fujii Y, Ogawa S, Tajima A, Nakao S. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 A frequent nonsense mutation in exon 1 across certain HLA-A and -B alleles in leukocytes of patients with acquired aplastic anemia | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Haematologica | 6. 最初と最後の頁 1581-1590 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2020.247809 | 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 Miyoshi Shogo, Tokunaga Soh, Ozawa Tatsuhiko, Takeda Hiroyuki, Aono Mitsuo, Miyoshi Takanori, Kishi Hiroyuki, Muraguchi Atsushi, Shimizu Shin-ichi, Nozawa Akira, Sawasaki Tatsuya | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 Production of a rabbit monoclonal antibody for highly sensitive detection of citrus mosaic virus and related viruses | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 PLOS ONE | 6. 最初と最後の頁 e0229196 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0229196 | 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 Hamamoto Yuta, Ouhara Kazuhisa, Munenaga Syuichi, Shoji Mikio, Ozawa Tatsuhiko, Hisatsune Jyunzo, Kado Isamu, Kajiya Mikihiro, Matsuda Shinji, Kawai Toshihisa, Mizuno Noriyoshi, Fujita Tsuyoshi, Hirata Shintaro, Tanimoto Kotaro, Nakayama Koji, Kishi Hiroyuki, Sugiyama Eiji, Kurihara Hidemi | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Effect of Porphyromonas gingivalis infection on gut dysbiosis and resultant arthritis exacerbation in mouse model | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy | 6. 最初と最後の頁 249 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-020-02348-z | 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 Yamada Hisakata, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki, Okada Seiji, Nakashima Yasuharu, Muraguchi Atsushi, Yoshikai Yasunobu | 4. 巻 201 |
| 2. 論文標題 Cutting Edge: B Cells Expressing Cyclic Citrullinated Peptide-Specific Antigen Receptor Are Tolerized in Normal Conditions | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Immunology | 6. 最初と最後の頁 3492 ~ 3496 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1800826 | 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 Okumura Maiko, Ozawa Tatsuhiko, Hamana Hiroshi, Norimatsu Yu, Tsuda Reina, Kobayashi Eiji, Shinoda Koichiro, Taki Hirofumi, Tobe Kazuyuki, Imura Johji, Sugiyama Eiji, Kishi Hiroyuki, Muraguchi Atsushi | 4. 巻 48 |
| 2. 論文標題 Autoantibodies reactive to PEP08 are clinically related with morbidity and severity of interstitial lung disease in connective tissue diseases | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Immunology | 6. 最初と最後の頁 1717 ~ 1727 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.201747381 | 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 Ozawa Tatsuhiko, Masaki Hideyuki, Takasaki Tomohiko, Aoyama Ikuko, Yumisashi Takahiro, Yamanaka Atsushi, Konishi Eiji, Ohnuki Yoh, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki | 4. 巻 154 |
| 2. 論文標題 Human monoclonal antibodies against West Nile virus from Japanese encephalitis-vaccinated volunteers | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Antiviral Research | 6. 最初と最後の頁 58 ~ 65 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.antiviral.2018.04.011 | 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 Kishi Hiroyuki, Ozawa Tatsuhiko, Hamana Hiroshi, Kobayashi Eiji, Muraguchi Atsushi | 4. 巻 1904 |
| 2. 論文標題 Isolation of Antigen-Specific, Antibody-Secreting Cells Using a Chip-Based Immunospot Array | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Methods Mol Biol | 6. 最初と最後の頁 147 ~ 162 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8958-4_6 | 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 Ozawa Tatsuhiko, Kobayashi Eiji, Hamana Hiroshi, Nakamura Tomoko, Lyu Fulian, Hayashi Atsushi, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Rapid and efficient generation of T cell receptor like antibodies using chip based single cell analysis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Immunology | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.202049083 | 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30件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 浜名洋, 宮原慶裕, 下岡清美, 祐川健太, 小林栄治, 小澤龍彦, 村口篤, 藤井努, 珠玖洋, 岸裕幸 |
| 2. 発表標題 Jurkat細胞を用いたTCRのネオアンチゲン反応性解析 |
| 3. 学会等名 第24回日本がん免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 小澤龍彦, 小林栄治, 浜名洋, 村口篤, 岸裕幸 |
| 2. 発表標題 ISAAC法を用いたTCR様抗体の迅速作製とその応用 |
| 3. 学会等名 第24回日本がん免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Muraguchi A, Kishi H. |
| 2. 発表標題 Development of a novel tumor antigen-specific TCR cloning system using a microarray chip. |
| 3. 学会等名 第24回日本がん免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小林淳, 小澤龍彦, 正木秀幸, 加藤龍一 |
| 2. 発表標題 複数のエピトープと結合するモノクローナル抗体の認識機構—クラスター状結晶からの構造解析— |
| 3. 学会等名 日本結晶学会2020年度年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 徳永聡, 長岡ひかる, 小澤龍彦, 岸裕幸, 村口篤, 坪井敬文, 高島英造, 澤崎達也 |
| 2. 発表標題 新規マリアワクチン候補PFRiprにより誘導されるウサギモノクローナル抗体の評価 |
| 3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Mizumaki H, Hosomichi K, Tanabe M, Yoroidaka T, Imi T, Hosokawa K, Katagiri T, Takamatsu H, Ozawa T, Azuma F, Kishi H, Tajima A, Nakao S. |
| 2. 発表標題 The identification of a common loss-function mutation across different HLA class alleles frequently detected in patients with acquired aplastic anemia. |
| 3. 学会等名 24th Congress of European Hematology Association (国際学会) |
| 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 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 善家弘貴, 武智昭彦, 小澤龍彦, 宮川拓也, 伊東祐二, 澤崎達也, 竹田浩之 |
| 2. 発表標題 エイラクブカを用いた抗Venus VNAR抗体の作製 |
| 3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 |
| 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 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 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 Tsuda K, Hamana H, Nakashima A, Tsuda S, Shima T, Shitaoka K, Kobayashi E, Ozawa T, Kishi H. |
| 2. 発表標題 TCR repertoire analysis of cytotoxic T cells in tumor-infiltrated lymphocytes and peripheral blood lymphocytes in endometrial cancers. |
| 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 Morita K, Kobayashi E, Tsuda S, Shitaoka K, Ozawa T, Hamana H, Saito S, Kishi H. |
| 2. 発表標題 Common TCRb repertoire was found in both decidual and peripheral CD8+ T cells in normal term pregnancy. |
| 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 小澤龍彦 |
| 2. 発表標題 ヒト、ウサギ、サメモノクローナル抗体の迅速作製と創薬への応用 |
| 3. 学会等名 フォーラム富山「創薬」第49回研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Masaki H, Ozawa T, Takasaki T, Aoyama I, Yumisashi T, Yamanaka A, Konishi E, Muraguchi A, Kishi H. |
| 2. 発表標題 Human anti-WNV monoclonal antibodies established from JEV-vaccinated volunteers. |
| 3. 学会等名 ファーマラボEXPOアカデミックフォーラム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ozawa T |
| 2. 発表標題 Isolation of monoclonal anti-CCP antibody from RA patient using ISAAC method and identification of autoantigen of the antibody |
| 3. 学会等名 Antibody Engineering & Therapeutics Asia 2019 (国際学会) |
| 4. 発表年 2019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 Physiological target and molecular evolution of ACPA obtained from RA patients |
| 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 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 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 Mizumaki H, Hosomichi K, Mikoto T, Yoroidaka T, Imi T, Zaimoku Y, Hosokawa K, Katagiri T, Takamatsu H, Ozawa T, Azuma F, Kishi H, Tajima A, Nakano S |
| 2. 発表標題 Loss-of function mutations in HLA-class II alleles in acquire aplastic anemia: evidence for the involvement of limited class II alleles in the auto-antigen presentation of aplastic anemia |
| 3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting and Exposition (国際学会) |
| 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 善家弘貴, 成田公義, 武智昭彦, 小澤龍彦, 岸本聡, 伊東祐二, 澤崎達也, 竹田浩之 |
| 2. 発表標題 愛媛県産サメを用いた抗Venus VNARの開発と性状解析 |
| 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 津田桂, 岸裕幸, 中島彰俊, 浜名洋, 牛島明美, 津田さやか, 島友子, 下岡清美, 小林栄治, 小澤龍彦, 吉野修, 齋藤滋 |
| 2. 発表標題 子宮体癌患者における末梢血CD8T細胞のTCRレパートリー解析 |
| 3. 学会等名 第33回日本生殖免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 惣宇利正善, 尾崎司, 小澤龍彦, 村口篤, 一瀬白帝 |
| 2. 発表標題 自己免疫性第XIII因子欠乏症例で生じた抗第XIII因子自己抗体のモノクローン化による機能解析 |
| 3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|-------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 TCR様抗体の製造方法およびその利用 | 発明者 小澤龍彦、岸裕幸、 村口篤 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-202428 | 出願年 2019年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔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 |
|-------|---|-------------------------------------|----|
| 研究協力者 | 浜名 洋 (Hamana Hiroshi) (90551549) | 富山大学・学術研究部医学系・助教 (13201) | |
| 研究協力者 | 小林 栄治 (Kobayashi Eiji) (70459733) | 富山大学・学術研究部医学系・助教 (13201) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|