

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H04512

研究課題名(和文)細胞間相互作用の瞬間を解析する分泌細胞時間分解回収システムの開発

研究課題名(英文) Development of a secreting cell detection and collection system to analyze the moment of cell-cell interaction.

研究代表者

白崎 善隆 (Shirasaki, Yoshitaka)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・特任助教

研究者番号：70469948

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、細胞応答の出力(分泌)を指標に適切な細胞状態を収集し、活性化の始まりや細胞間相互作用の始まりにおけるInfluential minority細胞の解析を可能とする新奇1細胞・細胞間相互作用解析技術の創生を目指した。結果、リンパ球の活性化を分泌イメージングで追跡し、遷移過程において過渡的に発現する遺伝子群の同定に成功した。一方、関節リウマチにおけるリンパ球相互作用依存的な滑膜細胞からのIL-6分泌や、がん免疫におけるT細胞による細胞傷害分子の分泌に着目し、1細胞分泌イメージングの飛躍的なスループットの向上によって、細胞間相互作用に伴うこれらの分泌現象の可視化に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ハイスループット1細胞シーケンサーがもたらしている集団網羅的な1細胞遺伝子発現解析に対し、細胞の活性化や細胞間の相互作用に伴う分泌機能の発現に時空間的にフォーカスした細胞状態の解析を可能とする基盤技術を開発した。この技術を発展させることで、統計的解析によって埋もれてしまう影響力のある希少な細胞状態を高感度に捉えることが可能となり、細胞の運命決定を左右する細胞内遺伝子発現の理解と制御に貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we aimed to create a novel methodology for analyzing Influential minority cells at the "beginning of activation" and "beginning of cell-cell interaction" by collecting only appropriate cell states using the "output (secretion) of cellular responses" as an indicator. As a result, we succeeded in tracking lymphocyte activation by secretion imaging and identifying transiently induced genes during the transition process of activation. Next, we focused on lymphocyte interaction-dependent secretion of IL-6 from synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis and secretion of cytotoxic molecules by T cells in cancer immunity, and succeeded in visualizing these secretory events associated with cell-cell interactions by improving the throughput of single cell secretion imaging.

研究分野：生物物理学

キーワード：細胞分泌 1細胞解析 時間分解遺伝子発現解析

1. 研究開始当初の背景

1 細胞研究が世界的に進められ、様々な解析方法が開発された。その結果、個々の細胞は想定されていたよりもはるかに多様であり、多様性こそが生命の複雑な仕組みの基盤になっているとも考えられている。一方で、多様な細胞の集合体である生体がどのように協働することで恒常性を獲得し、外界の刺激に対して適切に応答するのかについては研究途上である。協働に必要な「細胞間相互作用」は、ある細胞が機能性のタンパク質を細胞外に放出し(これをタンパク質の分泌という)別の細胞がこれを受容する、あるいは、ある細胞の細胞表面に表出している機能性タンパク質に他の細胞が結合する、などの方法で成立する。物理的に近い距離にある細胞同士で優先的に行われると考えられ、このことを利用し、組織や器官、さらには個体に至るまでの個々の細胞の空間的配置を残したままそれぞれの遺伝子発現パターンを明らかにする「遺伝子発現マップ」を作成し、その膨大な遺伝子発現情報と空間情報から *in silico* で細胞間の相互作用を見出そうとする「セルアトラスプロジェクト」が、現在での細胞間相互作用解析の主流として挙げられる。このようなアプローチは、1細胞という限られたリソースから最大限に深く情報を得るには、原理的には1分子からでも増幅が可能のために検出力が高いトランスクリプトーム解析が最適であると考えられているためである。しかしながら、細胞間の情報ネットワークを形成しているのは主にタンパク質である。トランスクリプトームはキープレイヤーを規定し得るが、必ずしもタンパク質レベルでの機能の発現と一致するわけではない。端的な例を上げれば、炎症性応答を周囲の細胞に誘導することで知られている細胞間相互作用タンパク質のインターロイキン-1 α (IL-1 α)や IL-1 β などは、細胞内でこれらをコードする mRNA の量および、細胞内のこれら IL-1 分子のタンパク質発現が上昇したとしても、必ずしも細胞外への放出が見られるわけではない。つまり、トランスクリプトームレベルでの発現上昇があるからといって、必ずしも細胞間相互作用の起点である分泌と相関するとは限らない。

このような状況の中、我々は、細胞からの分泌をリアルタイムに直接検証できる技術として、1細胞分泌実時間イメージング法 (Live-cell imaging of secretion activity: LCI-S) を開発し、細胞内機能と細胞外への分泌機能の関連性を直接的に明らかにしてきた。さらに、LCI-S で観察している細胞をその場から1細胞ずつ回収する機構を開発することで分泌機能の差異に基づく遺伝子発現パターンの違いを見出すといった、分泌機能に基づく新たな活性分類を開発した。さらにこれらを応用し、細胞状態の瞬間を解析する時間分解選択的細胞状態選別法 (Time-Dependent Cellular State Selection: TDCSS PCT/JP2017/001770) を開発し、分泌応答が始まったタイミングからの経過時間を揃えて細胞を回収することにより、従来は細胞間の多様性として制御できないと考えられていた遺伝子発現のばらつきが非常に小さくなることを見出していた。この事実は、1細胞解析が示す細胞間の遺伝子発現のばらつきには細胞状態の時間的ゆらぎが含まれており、我々が開発した TDCSS は、細胞応答の時間的なばらつきを揃えることで、これまで見過ごしてきた過渡的な遺伝子発現を正しく解析できるポテンシャルを有することを示唆していた。セルアトラスプロジェクト等で使用される遺伝子発現マップは、ある一時点における遺伝子発現プロファイルを得ることから細胞状態の時間的ゆらぎを必然的に含むが、特に“細胞間相互作用の始まり”や細胞間相互作用により“細胞が変容する”というような過渡的な情報、いわばレアなイベントは捉えられない恐れがある。たとえ捉えられていたとしても外れ値として排除されかねず、適切に評価できていないと考えられた。さらに、このようなレアイベントであっても、イベントの発生と同期した細胞回収を行うことで時間的ゆらぎを抑え、過渡的な遺伝子発現を解析できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

我々が独自に開発した LCI-S 及び TDCSS を発展させ、細胞応答の出力(分泌)を指標に適切な細胞状態のみを収集し、活性化の始まりや細胞間相互作用の始まりにおける Influential minority 細胞の解析を可能とする新奇1細胞・細胞間相互作用解析技術の創生を目的とした。

3. 研究の方法

LCI-S を用いたライブセルイメージングによって細胞間相互作用が生じる現場を捉え、その場からの1細胞回収ならびに回収した細胞に対するトランスクリプトーム解析を実施して、細胞間相互作用という動的な現象を裏打ちする遺伝子発現動態を明らかにする。この実現に対する課題は、以下の2点である。

- (1) LCI-S における分泌活性測定の時空間分解能の向上
- (2) TDCSS における細胞回収機構の自動化

これらの課題に対し、慢性関節リウマチ患者の患部より採取した滑膜線維芽細胞およびリンパ球の共培養系、および、胃癌細胞とリンパ球の共培養系を細胞間相互作用のモデルとして用いて検証することとした。滑膜線維芽細胞-リンパ球共培養系において両者がどのように相互作用するかは不明な点が多いものの、相互作用の結果滑膜線維芽細胞からタンパク質 IL-6 が分泌されることが知られている。そこで、IL-6 分泌を指標とした細胞間相互作用検出を試み、その

上流にある細胞間相互作用がどのように観察されるものであるかを定義づけることとした。また、胃癌細胞-リンパ球共培養系では、細胞間相互作用によってリンパ球のがん傷害機能が発現する。そのため、リンパ球からのがん傷害性タンパク質グランザイム B の分泌、およびがん細胞の死滅を相互作用の指標とし、がん免疫相互作用が成立する一部始終を明らかにすることを旨とした。さらに、同定された相互作用の成立時点で細胞回収および後解析へと展開することで、より深く多角的に評価することを目指した。

4. 研究成果

(1) LCI-S における分泌活性測定の時空間分解能の向上 (達成)

滑膜線維芽細胞-リンパ球共培養系での検討

(研究協力: 東京大学 大学院医学系研究科内科学専攻生体防御腫瘍内科学講座 藤尾 圭志 教授)

まずは滑膜線維芽細胞からの IL-6 分泌検出を試みた。その結果、滑膜細胞は計測用細胞培養チップに播種してチップ底面へと接着する際に一過的に IL-6 を分泌することがわかった。このシグナルは細胞を取り扱う際のなんらかの影響と考えているが、LCI-S はチップ底面に捕捉した分泌物の解離速度が非常に遅いため、得られるシグナルは分泌累積量を検出していることになる。そのため、接着時に分泌された IL-6 に加えて新たに細胞間相互作用によって分泌された IL-6 のシグナルが重なって追加され、細胞間相互作用依存的な分泌の検出が明瞭にならなかった。また、チップ底面に捕捉された IL-6 に対して結合する蛍光標識検出抗体の結合動態をも含んでしまうため、検出された分泌シグナルがどの時点で生じたものかを明らかにする手段を講じる必要があった。そこで、ガラスキャピラリーを用いてチップ底面に一過性にリコンビナントタンパク質を吐出した際の蛍光シグナル変動、または、移動しながら分泌を示す細胞からの分泌シグナルを参考に、一過的に分泌したと思われる部位での蛍光検出抗体による染色ダイナミクスを得て、これを染色ダイナミクスのリファレンスとして、経過時間単位の参照閾数値を乗じた画像を経過時間後の画像に対して逐次的に減算することで、瞬間の分泌量を推定する画像解析法を考案した。この計算に先立ち、XY 方向のズレ補正および 5×5 ピクセルのピニングを行うことでノイズの低減を行なった。その結果、デコンボリューション後の分泌シグナルは、明視野画像における細胞像とほぼ一致することが示され、各時点における細胞からの分泌が画像として示すことに成功した。

次に、細胞間相互作用の結果である IL-6 分泌が生じた時点よりも前に、細胞間にどのような相互作用が成立しているかについて検証を行った。まず、臨床検体から分離した滑膜線維芽細胞からの IL-6 分泌は良好に検出することができ、リンパ球との共培養によって分泌が亢進することが確認された。すなわち、両者間の IL-6 誘導性の細胞間相互作用が示唆された。実際にどのような相互作用が生じているかを明らかにする目的で、明視野での細胞形態の時系列画像自動解析を試みた。滑膜細胞は非常に薄く伸びる構造を取るため、リンパ球との直接接触による相互作用がある場合は、一つの滑膜細胞が伸展して占める領域内にリンパ球が観察されることが一つの指標とできると考えた。しかしながら、滑膜線維芽細胞が薄い形状であるため明視野でのコントラストが取れず、滑膜線維芽細胞の形状検出、つまり伸展して占める領域を同定することが非常に困難であることが分かった。リンパ球との相互作用を観察する上では致命的であったため、明視野観察法の変更を試み、最終的に微分干渉法を導入することでこれを改善した。

もう一点生じた問題点は、IL-6 誘導性の細胞間相互作用が発生する頻度が低いことであった。LCI-S を用いたライブセルイメージングは、多点計測を繰り返すことによるタイムラプス撮影で行っている。より多くの細胞数を観察するためには観察点の数を増やす必要があるが、点数を増やすにしたがってタイムラプス間隔が大きくなる。タイムラプス間隔が大きくなるとリンパ球の動きを追従することが難しく、直接的相互作用を検出できない確率が高まる。そこで、株式会社ライブセルダイアグノシスの協力のもと、弱拡観察での LCI-S を可能とする光導波路型 LCI-S を導入した。これにより、広視野において時間的、空間的に分泌シグナルが安定した画像を取得することに成功し、スループットを 200 倍以上高めることができた。取得できた画像に対し、上記と同様の方法で時空間方向に画像

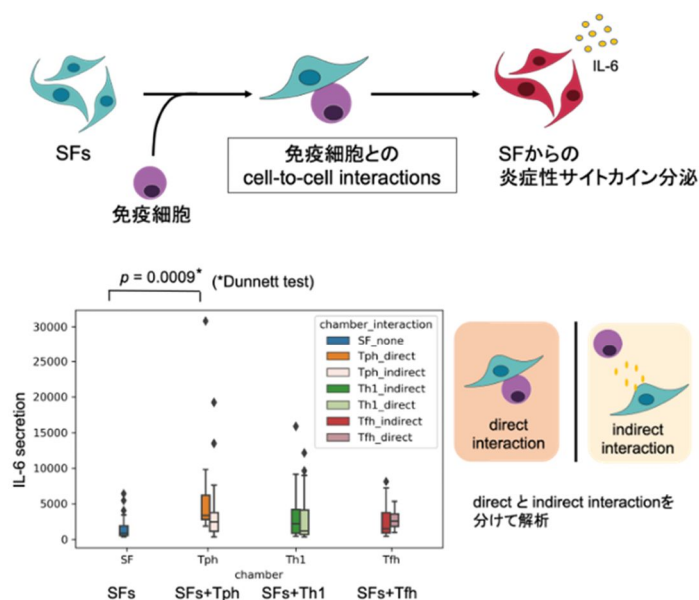


図1 滑膜線維芽細胞と免疫細胞の相互後作用によるIL-6産生

演算を行うことで蓄積した分泌シグナルから瞬間に分泌したシグナル値に時間分解することが可能であることも確認できた。滑膜線維芽細胞といくつかの種類のリンパ球のそれぞれとの共培養で IL-6 誘導性の細胞間相互作用について、上記のような直接接触による相互作用が観察できるか調べた。その結果、ある特定のリンパ球との共培養において IL-6 分泌がより多く観察され、分泌開始よりも以前に細胞間での直接接触があることが確認された。この結果より、この特定リンパ球との直接接触による細胞間相互作用によって、滑膜線維芽細胞に IL-6 分泌が誘導されていることが示された (図 1)。

胃癌細胞-リンパ球共培養系での検討

(研究協力: 東京大学医学部附属病院 免疫細胞治療講座 垣見和宏 教授)

上記での検討を踏まえ、もう一つの細胞間相互作用モデル系であるリンパ球の胃癌細胞傷害時の相互作用を観察した。細胞間相互作用成立の判断は、リンパ球に攻撃された胃癌細胞が細胞死を迎えることとし、観察されたがん細胞死とリンパ球との直接接触、あるいは、細胞傷害性タンパク質の一つであるグランザイム B のリンパ球からの分泌、およびこれを介したがん細胞-リンパ球間相互作用との関連性を調べた。光導波路型 LCI-S を用いた画像の取得には 4 倍の対物レンズを用いた広視野撮影を実施することによって、胃癌細胞およびリンパ球の運動を 1 分間隔で追跡することに成功した。取得した画像から、がん細胞は ImageJ に実装されている既存のライブラリを利用し、明視野画像から輪郭を良好に抽出することができた。一方で、リンパ球は胃癌細胞と結合して相互作用するはずであるが、明視野画像からは結合時の細胞位置を抽出することができなかった。そこで、リンパ球は細胞膜を蛍光標識し、蛍光画像から細胞位置を抽出した。解析したがん細胞およびリンパ球の位置情報に基づく細胞運動追跡と、LCI-S によって取得した細胞傷害因子グランザイム B の放出動態の相関を解析したところ、複数のリンパ球が胃癌細胞に結合した後、しばらく経ってからそれら結合リンパ球の一つがグランザイム B を過渡的に放出し、その後がん細胞が細胞死を呈する一部始終の時系列画像を取得することができた (図 2)。

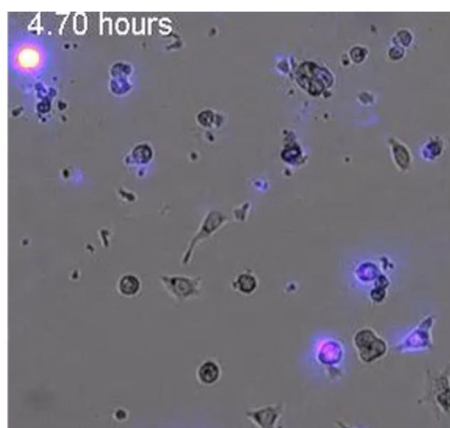


図 2 T細胞のがん細胞との相互作用と傷害性分子放出の様子

(2) TDCSS における細胞回収機構の自動化 (概ね達成)

TDCSS を用いた 2 型自然リンパ球の活性化遷移期過渡的誘導遺伝子の同定

(研究協力: 大阪大学 大学院医学系研究科 感染症・免疫学講座 生体防御学 茂呂和世 教授)

これまでに、マウスおよびヒト 2 型自然リンパ球の活性化初期状態は、IL-13 の分泌を指標として、個々細胞の分泌開始直後に回収することで、均質な細胞状態の遺伝子発現プロファイルを取得することがわかった。そこで、得られた遺伝子発現プロファイルから、TDCSS で紐付けられた活性化段階の時間順に基づいて遺伝子のクラスタリングを行ったところ、マウス、ヒト ILC2 共に活性化初期の遷移状態で強い発現誘導がかかっている遺伝子群 (Transiently induced genes: TIGs) を見出すことができた。TIGs の多くは、分泌前および分泌後しばらく時間が経過した活性化状態に遷移し切った細胞を比較した場合は、有意差がみられなかった。このことから、TIGs は分泌実時間可視化により、活性化初期を見出し、回収してくることで初めて同定可能な遺伝子群であることがわかった (図 3)。

次に TIGs に対して、GO エンリッチメント解析を行ったところ、リンパ球の活性化に必要なタームが濃縮されていることがわかった。興味深いことに、ヒト ILC2 においては、通常のパルク解析では分泌が検出されないが、遺伝子レベルでは検出されることがわかってきた IL-4 が TIGs に分類された。そこで、TDCSS の分泌検出手法である LCI-S を用いて IL-4 分泌を測定したところ、非常に少ない割合ではあるが、過渡的に IL-4 を分泌する ILC2 が存在することが確

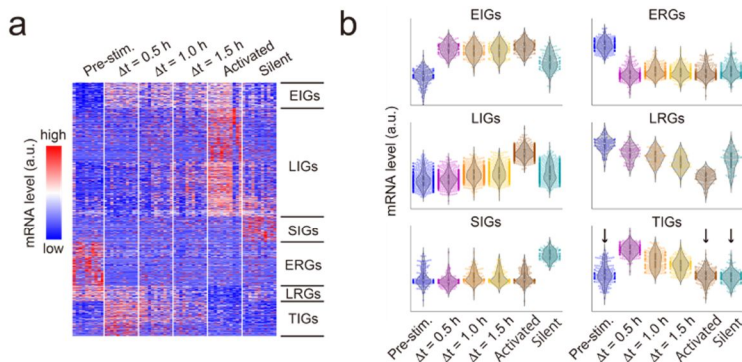


図 3 マウス ILC2 の分泌活性化過程における遺伝子発現プロファイリング

a) 活性化段階における遺伝子発現の k-means クラスタ

b) 各クラスターの遺伝子発現の変動パターン

定された。非常に少ない割合ではあるが、過渡的に IL-4 を分泌する ILC2 が存在することが確

認められた。一方、マウスおよびヒト ILC2 では、miR-155 のホスト遺伝子 MIR155HG が TIGs として分類された。miR-155 は、ILC2 の活性化誘導刺激として用いた IL-33 の受容シグナルを阻害する DUSP10 などの抑制因子の発現を阻害することが知られている。そこで、増殖培養したヒト ILC2 に miR-155 阻害 RNA または陰性コントロール RNA をエレクトロポレーションで導入し、IL-33 刺激による活性化を比較した。結果、miR-155 阻害 RNA を導入した ILC2 は、陰性コントロール群と比較して、活性化する細胞の割合が半分程度に抑えられた。このことから、ILC2 の活性化初期に強い誘導がかかる miR-155 は、活性化後期で誘導される DUSP10 などの活性抑制遺伝子の機能を調整し、ILC2 の活性化を正に維持していることが示唆された。このように、TDCSS は、これまでの手法では見出すことができなかった、活性化初期の遺伝子発現制御を詳しく調べることが可能であることが実証された。

TDCSS の自動化に向けたマニピュレータシステムの全電動化および画像解析との連動

これまで TDCSS で用いてきた細胞回収機構は XYZ 軸は電動化されていたが、ガラスキャピラリーで吸引した細胞を PCR チューブに入れる際の動作である回転軸動作は手動であった。そこで、既存のマニピュレータに新たに電動回転軸を追加した。次に、これまで顕微鏡での撮影・取得画像の解析による細胞状態検出・マニピュレータによる回収作業の制御は、独立したプログラムであったが、自動化に向けて、統一的に制御できるプログラムの開発を行なった。特に画像解析では、ディープラーニングなどのライブラリに富む Python の使用が望ましかった。そこで、顕微鏡および周辺装置の撮像システム制御には "ImageJ" ベースで動作する Python ライブラリ "Pychromanager" を採用した。また、回収用マニピュレータは独自に DLL を制御するコードを Python に実装した。次に、回収した細胞を吐出する PCR チューブに関しても、これまで手動で移動させるステージを用いていたが、これの電動化を行った。これにより、顕微鏡上から細胞をガラスキャピラリーで吸引・回収し、PCR チューブへ吐出し、精製水で洗浄を行う一連の動作をプログラムで一元制御することに成功した。本研究では、マニピュレータ、細胞吸引吐出電動ポンプの制御プログラムを構築し、LCI-S 画像のリアルタイム解析との統合を目指していたが、1 での新たな LCI-S 測定技術の確立に時間を要したため、研究期間内に達成することができなかったが、引き続き統合に向けての開発を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Baba Rie, Kabata Hiroki, Shirasaki Yoshitaka, Kamatani Takashi, Yamagishi Mai, Irie Misato, Watanabe Risa, Matsusaka Masako, Masaki Katsunori, Miyata Jun, Moro Kazuyo, Uemura Sotaro, Fukunaga Koichi	4. 巻 1
2. 論文標題 Upregulation of IL-4 receptor signaling pathway in circulating ILC2s from asthma patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global	6. 最初と最後の頁 299 ~ 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacig.2022.07.007	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 Matsui Yudai, Takemura Naoki, Shirasaki Yoshitaka, Takahama Michihiro, Noguchi Yoshihiko, Ikoma Kenta, Pan Yixi, Nishida Shuhei, Taura Manabu, Nakayama Akiyoshi, Funatsu Takashi, Misawa Takuma, Harada Yoshie, Sunazuka Toshiaki, Saitoh Tatsuya	4. 巻 34
2. 論文標題 Nanaomycin E inhibits NLRP3 inflammasome activation by preventing mitochondrial dysfunction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 505 ~ 518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxac028	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 Murai Shin, Shirasaki Yoshitaka, Nakano Hiroyasu	4. 巻 2274
2. 論文標題 Time-Lapse Imaging of Necroptosis and DAMP Release at Single-Cell Resolution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 353 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1258-3_29	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 Yamagishi Mai, Shirasaki Yoshitaka	4. 巻 2274
2. 論文標題 Live-Cell Imaging Technique to Visualize DAMPs Release During Regulated Cell Death	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 337 ~ 352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1258-3_28	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21件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 白崎善隆
2. 発表標題 細胞外微粒子放出動態の1細胞イメージング
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江 美聡, 加畑 宏樹, 松坂 雅子, 馬場 里英, 鎌谷 高志, 正木 克宜, 宮田 純, 白崎 善隆, 福永 興吉
2. 発表標題 LCI-Sを用いた2型自然リンパ球の新規制御機構の解明
3. 学会等名 第62回日本呼吸器学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場 里英, 加畑 宏樹, 入江 美聡, 渡辺 理沙, 松坂 雅子, 白崎 善隆, 山岸 舞, 福永 興吉
2. 発表標題 LCI-Sを用いた喘息患者における末梢血由来2型自然リンパ球の解析
3. 学会等名 第62回日本呼吸器学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鎌谷高志、白崎善隆、井澤和司、西小森隆太
2. 発表標題 細胞死様式依存性をもつヒト単球 IL-1 放出の1細胞イメージング解析
3. 学会等名 第30回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 栗栖悠斗、楊倬皓、長岡孝治、垣見和宏、船津高志、白崎善隆
2. 発表標題 がん免疫において細胞傷害性指標となる液性因子分泌のライブセルイメージング
3. 学会等名 第34回 バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 栗栖悠斗、楊倬皓、上村想太郎、長岡孝治、垣見和宏、船津高志、白崎善隆
2. 発表標題 がん免疫において細胞傷害性指標となる液性因子分泌のライブセルイメージング
3. 学会等名 日本生物物理学会第60回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬場 里英,加畑 宏樹,入江 美聡,渡辺 理沙,鎌谷 高志,白崎 善隆,山岸 舞,福永 興吉
2. 発表標題 喘息患者の末梢血由来2型自然リンパ球のシングルセル解析
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江 美聡,加畑 宏樹,松坂 雅子,馬場 里英,鎌谷 高志,正木 克宜,白崎 善隆,福永 興吉
2. 発表標題 ヒト2型自然リンパ球における内因性活性化制御機構の解明
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤健太郎、井澤和司、本田吉孝、宮本尚幸、田中孝之、山岸舞、白崎善隆、日衛嶋栄太郎、滝田順子、小原収、八角高裕、西小森隆太
2. 発表標題 クリオピリン関連周期熱症候群における体細胞モザイク変異率の推移とシングルセル解析による病態解明
3. 学会等名 第31回日本小児リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 島田紗也華、楊倬皓、小嶋 良輔、山岸 舞、芝清隆、船津高志、白崎善隆
2. 発表標題 サンドイッチ蛍光イムノアッセイによる細胞外小胞検出法の開発
3. 学会等名 第9回日本細胞外小胞学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuto Kurisu, Zhuohao Yang, Koji Nagaoka, Kazuhiro Kakimi, Takashi Funatsu, Yoshitaka Shirasaki
2. 発表標題 Live Cell Imaging of Humoral Factor Secretion as an Indicator of Cytotoxicity in Cancer Immunity
3. 学会等名 33rd 2022 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Haruka Takahashi, Zhuohao Yang, Haruka Tsuchiya, Risa Yoshihara, Yumi Tsuchida, Mai Yamagishi, Yoshitaka Shirasaki, Sotaro Uemura, Takashi Funatsu, Sakae Tanaka, Tomohisa Okamura, Keishi Fujio
2. 発表標題 Analysis of IL-6 secretion from synovial fibroblasts related to cell-to-cell interactions
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白崎善隆
2. 発表標題 免疫細胞の活性化の瞬間を視て採って調べる
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshitaka Shirasaki, Yasutaka Motomura, Hiroki Kabata, Koichi Fukunaga, Kazuyo Moro
2. 発表標題 Single-cell analysis of gene expression transition of ILC2 associated with the exertion of secretory function
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshitaka Shirasaki, Nobutake Suzuki, Tamiko minamisawa, Ryosuke Kojima, Mai Yamagishi, Kiyotaka Shiba, Sotaro Uemura, Takashi Funatsu
2. 発表標題 Live-cell imaging of release activity of extracellular vesicles
3. 学会等名 The international chemical congress of Pacific Basin Societies 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mai Yamagishi, Kazushi Izawa, Sotaro Uemura, Ryuta Nishikomori, Takashi Funatsu, Yoshitaka Shirasaki
2. 発表標題 Method for a selective gene analysis of single cells with abnormal cytokine production
3. 学会等名 The international chemical congress of Pacific Basin Societies 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Zhuohao Yang, Mai Yamagishi, Nobutake Suzuki, Mamoru Hirafuji, Kazuyo Moro, Tetsuro Kobayashi, Tsuyoshi Kiniwa, Takashi Funatsu and Yoshitaka Shirasaki
2. 発表標題	High-throughput system for real-time single-cell secretion imaging with optical waveguide chip
3. 学会等名	32nd 2021 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Yumiko Tanaka, Yoshitaka Shirasaki, Mai Yamagishi, Takashi Kamatani, Kaede Miyata, Nobutake Suzuki, Osamu Ohara, Kazuyo Moro, Hiroki Kabata, Koichi Fukunaga, Sotaro Uemura
2. 発表標題	Novel cell recovery method “ChronoS” revealed a gene set transiently expressed within early phase of ILC2’s immune response
3. 学会等名	CSHL Gene Expression & Signaling in the Immune System 2020 Meeting (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	寺山由夏, 高橋悠, 田中優実子, 土屋遥香, 藤尾圭志, 佐久間臣耶, 白崎善隆, 上村想太郎
2. 発表標題	1 細胞回収システムによる細胞間相互作用解析法の確立
3. 学会等名	化学とマイクロ・ナノシステム学会第42回研究会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	白崎善隆
2. 発表標題	1 細胞分泌実時間イメージングが映し出すダイナミックな炎症応答
3. 学会等名	第7回JCRベーシックリサーチカンファレンス (招待講演)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 白崎善隆
2. 発表標題 炎症性細胞死の1細胞イメージング
3. 学会等名 第 27 回日本免疫毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中野 明彦、吉森 保、華山 力成	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 210
3. 書名 EVs 細胞外小胞の生物学	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 物質推定装置、全反射照明顕微鏡、物質推定方法およびプログラム	発明者 白崎善隆、山岸舞、 依田和樹	権利者 東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-196355	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 細胞および細胞関連物質の分析方法およびシステム	発明者 山岸舞、鈴木信勇、 楊倬皓、白崎善隆	権利者 株式会社来プセル ダイアグノシス、東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-21253	出願年 2023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	茂呂 和世 (Moro Kazuyo)	大阪大学・医学部・教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	藤尾 圭志 (Fujio Keishi)	東京大学・医学部・教授 (12601)	
研究協力者	垣見 和宏 (Kakimi Kazuhiro)	東京大学・医学部・教授 (12601)	

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			
米国	Genentech			