

令和 6 年 5 月 7 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02962

研究課題名（和文）ACPA可変領域のN結合型糖鎖が引き起こす関節リウマチ病態メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathological mechanism of rheumatoid arthritis induced by N-linked glycans in the ACPA variable region

研究代表者

小澤 龍彦（Ozawa, Tatsuhiko）

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）：関節リウマチ(RA)患者で特異的に誘導される自己抗体であるACPAの可変領域には、N-結合型糖鎖が付加しているが、N-結合型糖鎖がRAの病態に直接関与するかは明らかにされていない。本研究を通じて、N-結合型糖鎖の新しい役割として、単球から破骨細胞への分化を促進することでRAの病態に関わっている新しい機序を示した。今後この機序に基づいた新たな作用点を持つ抗リウマチ薬の開発研究に波及することが見込まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ACPA-IgG可変領域のN-結合型糖鎖の新しい意義として、リウマチ学における新たな研究領域の形成に繋がることが期待される。さらに、RAの病因とAPCAによる病態メカニズムの関係を研究する上で重要な結果の一つになり、関連する基礎・臨床医学の発展に寄与することが期待される。また、ACPAにより破骨細胞への分化を促進するシグナル伝達を対象としたRAの新たな予防や診断、治療の研究への発展に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The variable region of most ACPA IgG molecules in the serum of RA patients carries N-glycan. Nevertheless, important issues on the effects of N-glycan on the pathological function of soluble ACPAs in RA are still unclear. The present study showed a monoclonal ACPA, CCP-Ab1, derived from the peripheral blood B-cells of patient with RA promoted osteoclast differentiation, enhanced bone resorption capacity and augmented the exacerbation of experimental arthritis in SKG mice. This insight provides clues to how ACPAs are related to the onset and exacerbation of RA. The inhibition of osteoclast-induced signalling by N-glycans is expected to lead to the development of new therapeutic agents for RA.

研究分野：免疫学、抗体工学、分子生物学

キーワード：関節リウマチ 抗シトルリン化タンパク質抗体 N-結合型糖鎖 破骨細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(RA)患者で特異的に誘導される自己抗体(anti-citrullinated protein antibody : ACPA)は、RAの病態に関与することが示唆されている。また、90%以上の ACPA IgG の可変領域には N-結合型糖鎖が付加しているが、N-糖鎖が RA の病態に直接関与するかは明らかにされていない。

我々は、RAにおける ACPA の病態メカニズムを研究するために、RA 患者の B リンパ球より、リコンビナントモノクローナル ACPA (CCP-Ab1)を樹立し、その解析を行ってきた。その結果、CCP-Ab1 はフィブリノーゲンをはじめ、様々なシトルリン化タンパク質と結合することが認められた。そして、関節炎を発症しやすい SKG マウスに CCP-Ab1 を投与することで、CCP-Ab1 を含んだ免疫複合体の形成と、炎症性サイトカインである IL-6 の誘導が認められると共に、実験的関節炎が誘導されることから、CCP-Ab1 は、RA の病態に関わっていることを示した。

CCP-Ab1 には、体細胞突然変異に起因する N-結合型糖鎖付加部位が重鎖可変領域に 2 箇所、軽鎖可変領域に 1 箇所、計 3 箇所存在しているが、これらの N-結合型糖鎖が RA の病態に直接関与するかはまだ未解決である。

2. 研究の目的

本研究は、CCP-Ab1 をモデルに、ACPA IgG 可変領域の N-糖鎖が引き起こす病態メカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

動物実験の承認

本研究では、ヒト RA と免疫病理学的に酷似した自己免疫性関節炎を自然発症する SKG マウスを用いた。SKG マウスを用いた実験計画は、広島大学動物実験委員会の承認を得ている(承認番号 : A22-94-2)。

抗体の作製

N-結合型糖鎖が付加しない CCP-Ab1 の産生のために、該当部分のアミノ酸を生殖細胞系の配列に変化させたプラスミドを作製した。N-結合型糖鎖を付加したコントロール抗体の作製のために、CCP-Ab1 の N-結合型糖鎖付加部位と同じ位置に N-結合型糖鎖が付加するよう配列に変化させたプラスミドを作製した。F(ab')₂ 抗体の作製のために、ヒンジ領域以下の定常領域を欠損させ、C 末端に 10xHisTag を付加したプラスミドを作製した。抗体の産生は、Expi293 細胞に抗体遺伝子の重鎖と軽鎖を共導入させ、1 週間後の培養上清よりプロテイン G カラムを用いて精製した。F(ab')₂ 抗体の産生は、同様に Expi293 細胞を用い、Ni-NTA カラムを用いて精製した。

N-結合型糖鎖が付加しているかの確認の為に PNGaseF で処理した。その後 5-20% 勾配アクリルアミドゲルを用いて SDS-PAGE を行い、泳動後のゲルをクマシーで染色した。抗体のノイラミニダーゼ処理は、 α -2,3, 6, 8 ノイラミニダーゼを用いて行った。

SKG マウス由来細胞の破骨細胞への誘導

SKG マウス由来骨髄細胞(BMC)を 15%の FBS、50 μ M の 2-メルカプトエタノール、非必須アミノ酸、20 ng/ml のリコンビナントマウス M-CSF、100 ng/ml のリコンビナントマウス RANKL および 10 μ g/ml の各種抗体を含む α -MEM にて 37°C、5%CO₂ 下で 8 日間培養した、培地は 3 日毎に交換した。培養後、TRAP 染色を行い、蛍光顕微鏡 BZ-X800 で観察し、核が 3 個

以上ある TRAP 陽性の細胞を破骨細胞とした。また、骨吸収アッセイは、BONE RESORPTION ASSAY PLATE 48 を用いて行った。

SKG マウスの実験的関節炎誘導

SKG マウスにラミナリンを腹腔内投与した(10mg/100 μ l/マウス)。また各種抗体を尾静脈より投与した(100 μ g/100 μ l/マウス)。1 群につき 5 匹のマウスを使用した。投与 2 または 6 週間後にマウスを安楽死させ、解析を行った。

4. 研究成果

CCP-Ab1 には、体細胞突然変異に起因する N-結合型糖鎖付加部位が重鎖可変領域に 2 箇所、軽鎖可変領域に 1 箇所、計 3 箇所存在していることから、これら可変領域の N-結合型糖鎖付加部位を生殖細胞系の配列に変化させて、N-結合型糖鎖が付加しない CCP-Ab1 (CCP-Ab1 N-rev) を作製した。陰性コントロールとして、CCP-Ab1 の N-結合型糖鎖付加部位と同じ位置に N-結合型糖鎖が付加するようにアミノ酸に改変したコントロール抗体 (control Ab+N) を作製した。それ

ぞれの抗体を PNGase F で処理し SDS-PAGE を行った。その結果、これらの抗体に確かに N-結合型糖鎖が付加している、あるいは付加していないことが認められた(図 1A)。また、CCP-Ab1 N-rev は、CCP-Ab1 と同様にフィブリノーゲンをはじめ様々なシトルリン化タンパク質と結合することが認められた(図 1B)。

次にこれらの抗体を用いて *in vitro* における破骨細胞への分化促進能を検証した。SKG マウスの骨髄由来細胞を CCP-Ab1 及び RANKL 等のサイトカインと *in vitro* で共培養すると、破骨細胞へ分化、及び骨吸収活性の促進が認められた(図 2A,B)。一方で CCP-Ab1 N-

rev、及び可変領域の CDR3 以外のアミノ酸配列を生殖細胞系の配列に戻した CCP-Ab1 (CCP-Ab1 GL-rev) では、破骨細胞への分化、及び骨吸収活性の促進は認められなかった。コントロール抗体の可変領域に N-結合型糖鎖を付加したもの(control Ab + N)、及び CCP-Ab1 F(ab')₂ を用いて同様の実験を行ったが、破骨細胞への分化、及び骨吸収活性の促進は認められなかったことから(図 2A,B)、*in vitro* において SKG マウスの骨髄由来細胞が破骨細胞に分化が促進されるには、可変領域の N-結合型糖鎖、CCP-Ab1 の特異性、そして Fc 領域の 3 点が必要であることが示された。

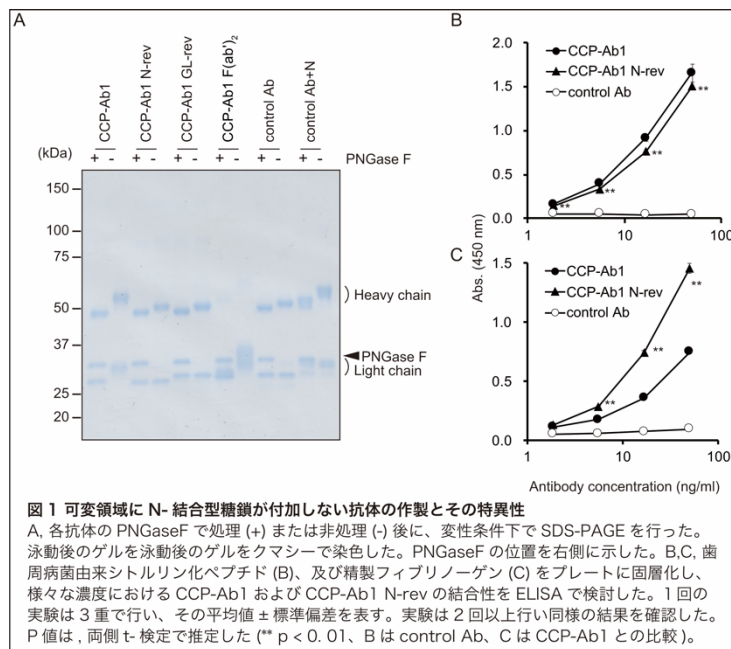


図 1 可変領域に N-結合型糖鎖が付加しない抗体の作製とその特異性
A. 各抗体の PNGaseF で処理 (+) または非処理 (-) 後に、変性条件下で SDS-PAGE を行った。泳動後のゲルを泳動後のゲルをクマシーで染色した。PNGaseF の位置を右側に示した。B,C. 歯周病菌由来シトルリン化ペプチド (B)、及び精製フィブリノーゲン (C) をプレートに固着化し、様々な濃度における CCP-Ab1 および CCP-Ab1 N-rev の結合性を ELISA で検討した。1 回の実験は 3 重で行い、その平均値 \pm 標準偏差を表す。実験は 2 回以上行い同様の結果を確認した。P 値は、両側 t-検定で推定した (** p < 0.01, B は control Ab, C は CCP-Ab1 との比較)。

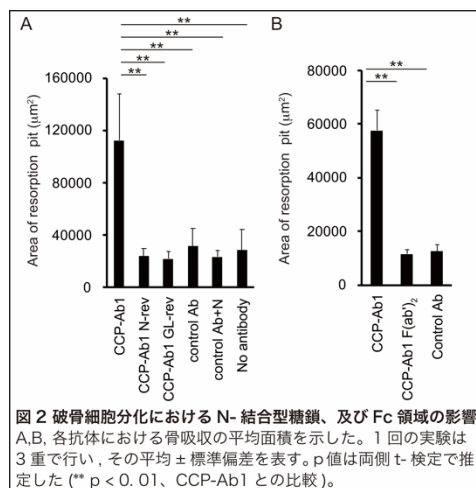


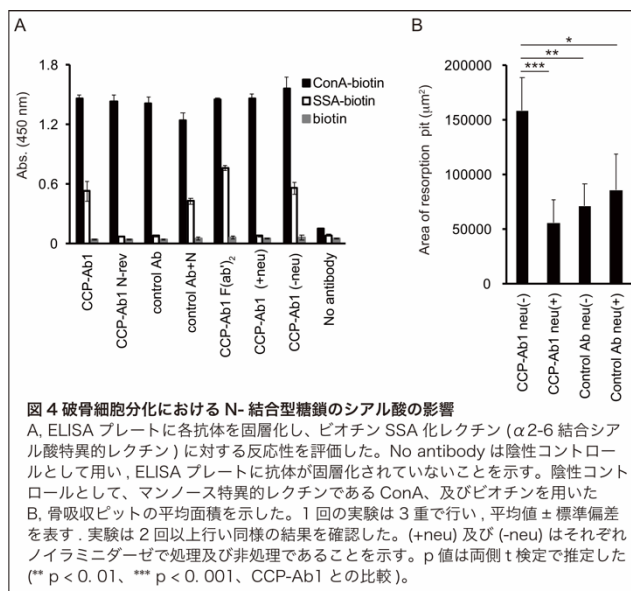
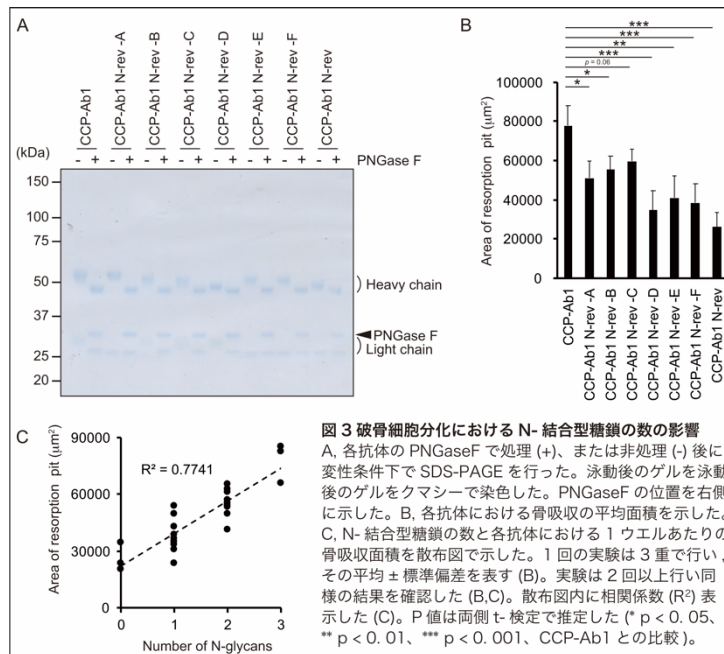
図 2 破骨細胞分化における N-結合型糖鎖、及び Fc 領域の影響
A,B. 各抗体における骨吸収の平均面積を示した。1 回の実験は 3 重で行い、その平均値 \pm 標準偏差を表す。p 値は両側 t-検定で推定した (** p < 0.01, CCP-Ab1 との比較)。

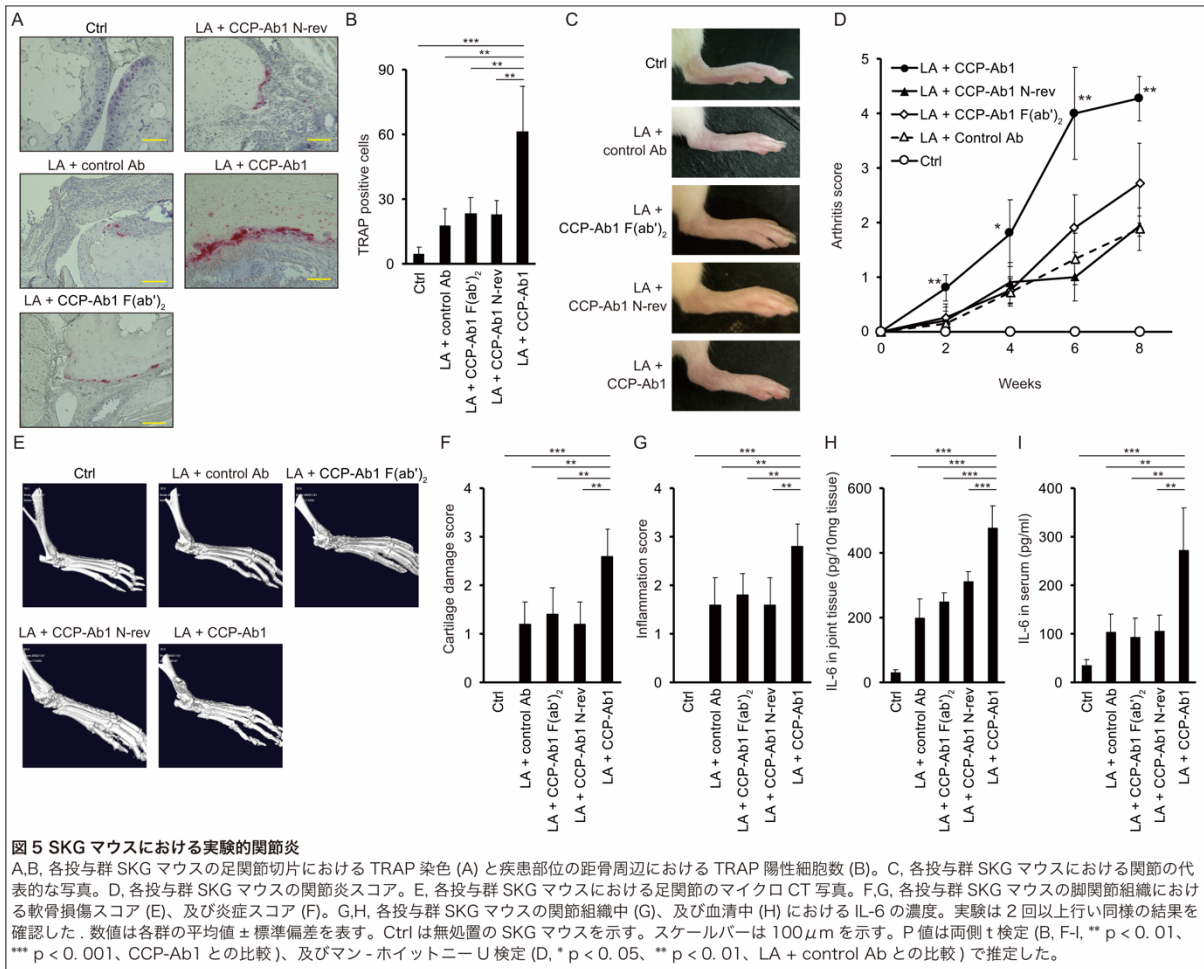
CCP-Ab1の可変領域には計3箇所
のN-結合型糖鎖が付加するが、こ
れを1箇所、及び2箇所に付加す
るように改変したCCP-Ab1を作製
した。先と同様に、それぞれの抗
体をPNGase Fで処理しSDS-PAGE
を行った結果、これらの抗体に確
かにN-結合型糖鎖が1箇所、及び
2箇所が付加していることが認め
られた(図3A)。そしてSKGマウ
スの骨髄由来細胞をそれぞれの抗
体及びRANKL等のサイトカインと
*in vitro*で共培養し、骨吸収活
性の促進を評価した。その結果、
付加されたN-結合型糖鎖の数と
骨吸収能には正の相関が認めら
れた(図3B)。

ACPA 可変領域の N-結合型糖鎖は、 α 2-6
結合のシアル酸を多く含む複合型糖鎖が
主体であることが示されている。マン
ノースに特異的なレクチンである ConA
を用いた ELISA により、CCP-Ab1 N-rev と
control Ab の N-結合型糖鎖にはマン
ノースが存在するが、 α 2-6 結合シ
アル酸に特異的なレクチンである SSA
を用いた ELISA により CCP-Ab1、
control Ab + N、及び CCP-Ab1 F(ab')₂
の N-結合型糖鎖は α 2-6 結合シ
アル酸を含んでいることが示された
が、CCP-Ab1 N-rev と control Ab は
 α 2-6 結合シアル酸を含まないことが
示された(図4A)。さらに CCP-Ab1
をノイラミダーゼで処理すると、
 α 2-6 結合シアル酸が除去されることが
観察された(図4A)。これらの結果より
CCP-Ab 1、control Ab + N、及び
CCP-Ab1 F(ab')₂の N-結合型糖鎖は、
 α 2-6 結合シアル酸を含んでいることが
示された。そして、ノイラミダーゼ
により先端のシアル酸を除去した
CCP-Ab1 では、TRAP 陽性の大き
き細胞の誘導、及び誘導された細胞
における骨吸収能の増強は認められ
なかった(図4B)。これらの結果より、
*in vitro*において SKG マウスの骨
髄由来細胞が破骨細胞に分化が促進
されるには、CCP-Ab1 の可変領域に
付加された N-結合型糖鎖のシアル酸
が必要であることが示された。

最後に、CCP-Ab1 可変領域の N-結合型糖鎖と Fc 領域が SKG マウスの実験的関節炎の増悪に
影響を与えるか検討した。ラミナリン(LA) + CCP-Ab1 投与群では LA + control Ab 投与群と比較
して破骨細胞の誘導、及びリウマチスコアの上昇、さらに関節の破壊が観察された(図 5A-G)。
一方、LA + CCP-Ab1 N-rev 及び LA + CCP-Ab1 F(ab')₂を投与してもそれらの上昇は認められな
かった。IL-6 の産生は、RA の病態に関与していることが報告されている。そこでマウスモデル
における関節および全身の炎症における IL-6 の関与について検討した。LA + CCP-Ab1 投与群で

最後に、CCP-Ab1 可変領域の N-結合型糖鎖と Fc 領域が SKG マウスの実験的関節炎の増悪に
影響を与えるか検討した。ラミナリン(LA) + CCP-Ab1 投与群では LA + control Ab 投与群と比較
して破骨細胞の誘導、及びリウマチスコアの上昇、さらに関節の破壊が観察された(図 5A-G)。
一方、LA + CCP-Ab1 N-rev 及び LA + CCP-Ab1 F(ab')₂を投与してもそれらの上昇は認められな
かった。IL-6 の産生は、RA の病態に関与していることが報告されている。そこでマウスモデル
における関節および全身の炎症における IL-6 の関与について検討した。LA + CCP-Ab1 投与群で





は LA + control Ab 投与群と比較して、関節組織および血清中における IL-6 誘導量の上昇が認められた(図 5H,I)。一方、LA + CCP-Ab1 N-rev 及び LA + CCP-Ab1 F(ab)₂ を投与してもそれらの上昇は認められなかった(図 5H,I)。これらの結果より、*in vivo* における実験的関節炎の増悪には、可変領域の N-結合型糖鎖と Fc 領域が必要であることが示された。

ACPA 可変領域の N-結合型糖鎖については、これまでは該当 ACPA を発現する B 細胞の生存に優位性をもたらすことが報告されていたが、今回の研究により可溶性の ACPA 可変領域に付加された N-結合型糖鎖が RA の病態に影響を及ぼしている新しい知見を見いだした。この知見は、ACPA 可変領域の N-結合型糖鎖の新しい意義として、新たな研究領域の形成に繋がることを期待されるだけでなく、RA の病因と N-結合型糖鎖による病態メカニズムの関係を研究する上で、重要な知見となることが期待される。今後、ACPA 可変領域の N-結合型糖鎖によって促進される破骨細胞への分化メカニズムを明らかにすることで、ACPA による RA の病態解明に寄与するだけでなく、ACPA により破骨細胞への分化を促進する機序に基づいた新たな作用点をもつ抗リウマチ薬の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ozawa T, Ikeda Y, Chen L, Suzuki R, Hoshino A, Noguchi A, Kita S, Anraku Y, Igarashi E, Saga Y, Inasaki N, Taminishi S, Sasaki J, Kirita Y, Fukuhara H, Maenaka K, Hashiguchi T, Fukuhara T, Hirabayashi K, Tani H, Kishi H, Niimi H	4. 巻 32
2. 論文標題 Rational in silico design identifies two mutations that restore UT28K SARS-CoV-2 monoclonal antibody activity against Omicron BA.1	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 263 ~ 272.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.str.2023.12.013	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 Kawataka Masatoshi, Ouhara Kazuhisa, Kobayashi Eiji, Shinoda Koichiro, Tobe Kazuyuki, Fujimori Ryousuke, Mizuno Noriyoshi, Sugiyama Eiji, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki	4. 巻 62
2. 論文標題 N-glycan in the variable region of monoclonal ACPA (CCP-Ab1) promotes the exacerbation of experimental arthritis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 3968 ~ 3977
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/kead130	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 Takeda Hiroyuki, Ozawa Tatsuhiko, Zenke Hiroki, Ohnuki Yoh, Umeda Yuri, Zhou Wei, Tomoda Honoka, Takechi Akihiko, Narita Kimiyoshi, Shimizu Takaaki, Miyakawa Takuya, Ito Yuji, Sawasaki Tatsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 VNAR development through antigen immunization of Japanese topeshark (<i>Hemistriakis japonica</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1265582
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2023.1265582	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 Yamada Kohdai, Soga Fumiya, Tokunaga Soh, Nagaoka Hikaru, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki, Takashima Eizo, Sawasaki Tatsuya	4. 巻 13
2. 論文標題 GATS tag system is compatible with biotin labelling methods for protein analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10243
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-36858-y	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 Thi Viet Ha My, Hamana Hiroshi, Shitaoka Kiyomi, Hayee Abdul, Kobayashi Eiji, Yoshikawa Toshiaki, Nakatsura Tetsuya, Saikawa Reiko, Sato Eri, Osawa Mitsujiro, Hitoshi Yasumichi, Son Dang Tung, Ozawa Tatsuhiko, Kishi Hiroyuki	4. 巻 114
2. 論文標題 Selection of highly responsive T cell receptors by an analysis combining the expression of multiple markers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2254 ~ 2264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15776	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 Kobayashi E, Jin A, Hamana H, Shitaoka K, Tajiri K, Kusano S, Yokoyama S, Ozawa T, Obata T, Muraguchi A, Kishi H	4. 巻 6
2. 論文標題 Rapid cloning of antigen-specific T-cell receptors by leveraging the cis activation of T cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 806 ~ 818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41551-022-00874-6	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 Nakamura T, Kobayashi E, Hamana H, Hayakawa Y, Muraguchi A, Hayashi A, Ozawa T, Kishi H	4. 巻 113
2. 論文標題 Evaluation of chimeric antigen receptor of humanized rabbit derived T cell receptor like antibody	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3321 ~ 3329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15478	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 Ozawa T, Tani H, Anraku Y, Kita S, Igarashi E, Saga Y, Inasaki N, Kawasuji H, Yamada H, Sasaki S I, Somekawa M, Sasaki J, Hayakawa Y, Yamamoto Y, Morinaga Y, Kurosawa N, Isobe M, Fukuhara H, Maenaka K, Hashiguchi T, Kishi H, Kitajima I, Saito S, Niimi H	4. 巻 14
2. 論文標題 Novel super-neutralizing antibody UT28K is capable of protecting against infection from a wide variety of SARS-CoV-2 variants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 mAbs	6. 最初と最後の頁 2072455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420862.2022.2072455	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 Tsuji N, Hosokawa K, Urushihara R, Tanabe M, Katagiri T, Ozawa T, Takamatsu H, Ishiyama K, Yamazaki H, Kishi H, Ogawa S, Nakao S	4. 巻 36
2. 論文標題 Frequent HLA-DR loss on hematopoietic stem progenitor cells in patients with cyclosporine-dependent aplastic anemia carrying HLA-DR15	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 1666 ~ 1675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-022-01549-6	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 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Muraguchi A, Kishi H	4. 巻 383
2. 論文標題 Gene modified NK cell line as a powerful tool for evaluation of cloned TCRs for TCR-T cell therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cellular Immunology	6. 最初と最後の頁 104656 ~ 104656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cellimm.2022.104656	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 Souri M, Ozawa T, Osaki T, Koyama T, Muraguchi A, Ichinose A	4. 巻 21
2. 論文標題 Cloning of human anti-factor XIII monoclonal antibody dissects mechanisms of polyclonal antibodies in a single patient	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 255 ~ 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtha.2022.11.019	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, Kobayashi Eiji, Hamana Hiroshi, Nakamura Tomoko, Lyu Fulian, Hayashi Atsushi, Muraguchi Atsushi, Kishi Hiroyuki	4. 巻 51
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 1850 ~ 1853
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 -

1. 著者名 Yamaguchi Satoshi, Hamana Hiroshi, Shitaoka Kiyomi, Sukegawa Kenta, Nagata Takuya, Hayee Abdul, Kobayashi Eiji, Ozawa Tatsuhiko, Fujii Tsutomu, Muraguchi Atsushi, Tobe Kazuyuki, Kishi Hiroyuki	4. 巻 51
2. 論文標題 TCR function analysis using a novel system reveals the multiple unconventional tumor reactive T cells in human breast cancer infiltrating lymphocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 2306 ~ 2316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.202049070	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 Angata Kiyohiko, Wagatsuma Takanori, Togayachi Akira, Sato Takashi, Sogabe Maki, Tajiri Kazuto, Ozawa Tatsuhiko, Nagashima Izuru, Shimizu Hiroki, Iijima Sayuki, Korenaga Masaaki, Kuno Atsushi, Kaji Hiroyuki, Mizokami Masashi, Narimatsu Hisashi	4. 巻 1866
2. 論文標題 O-glycosylated HBsAg peptide can induce specific antibody neutralizing HBV infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 130020 ~ 130020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2021.130020	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 Kohno Hiroki, Ouhara Kazuhisa, Mokuda Sho, Tokunaga Tadahiro, Sugimoto Tomohiro, Watanabe Hirofumi, Ishitoku Michinori, Yoshida Yusuke, Mizuno Noriyoshi, Ozawa Tatsuhiko, Kawataka Masatoshi, Hirata Shintaro, Kishi Hiroyuki, Sugiyama Eiji	4. 巻 89
2. 論文標題 The Lipopolysaccharide Mutant Re-LPS Is a Useful Tool for Detecting LPS Contamination in Rheumatoid Synovial Cell Cultures	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathobiology	6. 最初と最後の頁 92 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000520022	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26件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小澤龍彦, 池田幸樹, Chen L, 鈴木理滋, 星野温, 野口映, 喜多俊介, 安楽佑樹, 五十嵐笑子, 蘇我由美子, 稲崎倫子, 民西俊太, 佐々木慈英, 桐田雄平, 福原秀雄, 前仲勝実, 橋口隆生, 福原崇介, 平林健一, 谷英樹, 岸裕幸, 仁井見英樹
2. 発表標題 In silicoで改変したUT28KIはSARS-CoV-2オミクロン BA.1に対して中和活性を回復した
3. 学会等名 第2回日本抗体学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹田浩之, 小澤龍彦, 善家弘樹, 大貫耀, Zhou W, 友田帆乃香, 宮川拓也, 伊東祐二, 澤崎達也
2. 発表標題 VNAR ディスプレイライブラリの濃縮に翻訳系が与える影響
3. 学会等名 第2回日本抗体学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 NK cell line for evaluation of cytotoxicity of cloned TCRs
3. 学会等名 第52回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Hayee A, Kobayashi E, Hamana H, Yamaguchi S, MY H, Ozawa T, Kishi H
2. 発表標題 Evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs)-derived MR1 restricted TCRs of breast cancer patients
3. 学会等名 第52回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小林とも子, 加藤成樹, 菅原正晃, 小澤龍彦, 井上謙一, 高田昌彦, 恩田正徳, 小林和人
2. 発表標題 マウスCD25特異的組換え体イムノトキシンを利用したコモンマーモセット脳内神経細胞種の選択的ターゲティング
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川誠仁, 加藤龍一, 小澤龍彦, 正木秀幸, 宮下尚之
2. 発表標題 MDシミュレーションを用いたWNVエンベロープ蛋白質部分モデルと中和ヒトモノクローナル抗体との相互作用に関する研究
3. 学会等名 第29回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chen L, 小澤龍彦, 谷英樹, 五十嵐笑子, 佐賀由美子, 稲崎倫子, 安楽佑樹, 喜多俊介, 川筋仁史, 山田博司, 佐々木宗一郎, 染川真由, 佐々木慈英, 早川芳弘, 山本善裕, 森永芳智, 黒澤信幸, 磯部正治, 福原秀雄, 前仲勝実, 橋口隆生, 岸裕幸, 北島勲, 齋藤滋, 仁井見英樹
2. 発表標題 スーパー中和抗体UT28KとSARS-CoV-2結合の構造解析
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木村美幸, 小澤龍彦, 吉河智城, 佐野芳, 鈴木忠樹, 西條政幸, 谷英樹
2. 発表標題 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するモノクローナル中和抗体の作製と性状解析
3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 曾我郁弥, 山田航大, 徳永聡, 降旗大岳, 長岡ひかる, 小澤龍彦, 岸裕幸, 村口篤, 高島英造, 澤崎達也
2. 発表標題 ピオチン標識タンパク質解析に適した新規GATS タグシステムの開発
3. 学会等名 第1回日本抗体学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 常陸圭介, 山口央輝, 清藤友梨, 中谷直史, 乾雅史, 小澤龍彦, 茅元司, 土田邦博
2. 発表標題 タンパク質メチル化修飾を介した速筋型ミオシン重鎖活性の制御
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 喜多俊介, 小澤龍彦, 谷英樹, 安楽佑樹, 五十嵐笑子, 佐賀由美子, 稲崎倫子, 川筋仁史, 山田博司, 佐々木宗一郎, 染川真由, 佐々木慈英, 早川芳弘, 山本善裕, 森永芳智, 黒澤信幸, 磯部正治, 福原秀雄, 前仲勝実, 橋口隆生, 岸裕幸, 北島勲, 齋藤滋, 仁井見英樹
2. 発表標題 新型コロナウイルスに対するスーパー中和抗体UT28Kの分子基盤
3. 学会等名 日本結晶学会2022年度年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Suzuki T, Anraku Y, Kimura K, Kita S, Sasaki J, Ozawa T, Niimi H, Sato K, Maenaka K, Hashiguchi T
2. 発表標題 Structural basis for neutralization of a pan-SARS-CoV-2 antibody and ACE2 recognition by BA.4/5 variants
3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 My H, Hamana H, Kobayashi E, Ozawa T, Son D, Hayee A, Kishi H
2. 発表標題 Selection of highly responsive TCRs by analysis combining the expression of multiple markers on BW5147.3 T cells
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 My H, Hamana H, Kobayashi E, Ozawa T, Hayee A, Kishi H
2. 発表標題 Selection of high avidity TCRs based on the expression of marker on BW cells
3. 学会等名 第26回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Tajiri K, Kusano S, Yokoyama S, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Rapid cloning of antigen-specific T-cell receptors by applying T cell cisactivation
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 Hayee A, Yamaguchi S, Hamana H, Shitaoka K, Kobayashi E, Ozawa T, MY H, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Analysis of HLA-class-I unrestricted T cell receptors obtained from tumor infiltrating lymphocytes of breast cancer patients
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 Hayee A, Yamaguchi S, Hamana H, Shitaoka K, Kobayashi E, Ozawa T, H. M, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Detection of HLA-independent T cell receptors derived from tumor infiltrating lymphocytes of breast cancer patients
3. 学会等名 第26回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小澤龍彦, 中村友子, 小林栄治, 浜名洋, 林篤, 村口篤, 岸裕幸
2. 発表標題 ISAAC法を用いたTCR様抗体の効率的な取得法の開発とがん免疫療法への応用
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kobayashi J, Ozawa T, Masaki H, Kato R.
2. 発表標題 Recognition mechanism of a monoclonal antibody which neutralizes different species of flavivirus
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浜名洋, 宮原慶裕, 小林栄治, 小澤龍彦, 村口篤, 珠玖洋, 岸裕幸
2. 発表標題 汎用培養細胞株を用いたネオアンチゲン特異的TCRのクローニング
3. 学会等名 第25回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口智史, 浜名洋, 小林栄治, 小澤龍彦, 村口篤, 戸邊一之, 岸裕幸
2. 発表標題 内在性抗原反応性TCRの網羅的スクリーニング法の開発および乳癌浸潤T細胞解析への応用
3. 学会等名 第25回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Abdul Hayee, Yamaguchi S, Hamana H, Shitaoka K, Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Characterization of HLA class I-unrestricted T cells found in tumor infiltrating lymphocytes of breast cancer patients
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kishi H, Yamaguchi S, Hamana H, Shitaoka K, Nagata T, Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A.
2. 発表標題 Comprehensive TCR-function analysis in TILs of breast cancer revealed multiple tumor-reactive MR1-restricted TCRs
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kobayashi E, Ozawa T, Hamana H, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Identification of tumor antigen-specific TCRs using immunospot array assay on a chip(T-ISAAC) technology
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hamana H, Miyahara Y, Kobayashi E, Ozawa T, Muraguchi A, Shiku H, Kishi H
2. 発表標題 Screening of neoantigen-specific TCRs using TAP fragment and Jurkat cells
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakamura T, Ozawa T, Kobayashi E, Hamana H, Muraguchi A, Kishi H
2. 発表標題 Humanization of rabbit-derived T cell receptor-like antibodies and their evaluation
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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	應原 一久 (Ouhara Kazuhisa) (80550425)	広島大学・医系科学研究科(歯)・助教 (15401)	

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
---------	---------