

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「アレルギー疾患・
自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」

研究課題「自己免疫疾患制御分子の同定による
新規治療法の開発」

研究終了報告書

研究期間 平成21年 9月～平成27年 3月

研究代表者:岡崎 拓
(徳島大学疾患プロテオゲノム
研究センター、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

ヒト自己免疫疾患の多くは、複数の遺伝子が発症に関与する多遺伝子疾患であると考えられているが、その遺伝要因はほとんど分かっていない。本研究課題では、病態成立の遺伝要因が比較的単純であるモデル動物を利用することにより、自己免疫疾患発症に関与する遺伝子を全て同定し、自己免疫疾患制御ネットワークシステムの全貌を解明すること、およびその結果をもとに新たな自己免疫疾患治療薬を開発することを目的とした。

研究代表者らが独自に樹立した自己免疫疾患自然発症モデルマウスの原因が、LAG-3 という抑制性受容体に突然変異として導入された機能欠失変異であることを見出した。T 細胞の抗原受容体刺激に対する LAG-3 の抑制機能を鋭敏に評価し得る実験系を樹立し、抑制機能に必要な細胞内および細胞外の領域を同定するとともに、LAG-3 の細胞内領域に会合する分子を探索し、複数の候補分子を得た。さらに、LAG-3 のリガンド特異性を解明し、LAG-3 が通常の免疫応答において、どのような免疫応答を選択的に抑制しているのかを明らかとした。これらの結果から、LAG-3 が、各種免疫疾患において創薬標的となることを示した。すなわち、LAG-3 の機能を増強することにより、過剰な免疫応答が原因である自己免疫疾患やアレルギー疾患、劇症型感染症等の治療につながると期待されるとともに、LAG-3 の機能を阻害することにより、免疫不全が原因である日和見感染症等の治療やがん免疫応答の増強によるがんの治療につながると期待される。

LAG-3 と別の抑制性受容体である PD-1 とを同時に欠損することにより、自己免疫寛容が破綻することから、両分子による協調作用が自己免疫寛容の成立と維持に必須であることを明らかとした。また、LAG-3 と PD-1 が T 細胞の活性化を相乗的に抑制すること、LAG-3 と PD-1 の抑制シグナルは、類似しているものの、相違する点があることを明らかとした。さらに、PD-1 の機能を特異的に制御する機構を見出し、T 細胞の活性化が、従来の想定よりもさらに複雑な分子間ネットワークにより制御されていることを明らかとした。これらの結果から、免疫応答を人為的に操作するには、LAG-3 と PD-1 両者の機能を同時に制御することが極めて重要であることを明らかとした。また、PD-1 の機能制御機構が、各種免疫疾患において創薬標的となることを示した。

PD-1 欠損マウスが、マウスの系統により異なる臓器に、異なる病態の自己免疫疾患を自然発症したことから、各系統のマウスが有する臓器特異的自己免疫疾患感受性遺伝子を遺伝解析により同定することを試みた。これまでに、NOD マウスに発症する I 型糖尿病を PD-1 欠損が大幅に促進することを見出すとともに、PD-1 欠損下で I 型糖尿病の発症に関与する遺伝子座を 4 個同定していたが、C57BL/6-PD-1 欠損マウスにこれらの 4 遺伝子座を導入することにより I 型糖尿病を再現することに成功したため、導入する染色体領域が異なるコンジュニックマウスを複数作製し、遺伝子座を狭小化して候補遺伝子を絞り込んだ。また、MRL-PD-1 欠損マウスが致死性の心筋炎を自然発症することを見出し、連鎖解析により心筋炎の発症に関与する 6 遺伝子座を同定した。さらに、心筋炎抵抗性系統にこれらの遺伝子座を導入することにより、心筋炎を遺伝学的に再構築することに成功した。疾患が遺伝学的に再構築できたことは、疾患の発症にかかわる全遺伝要因が揃っていることを意味するため、今後、各遺伝子座から原因遺伝子を同定し、自己免疫疾患制御ネットワークシステムの全貌を解明することに大きく貢献すると期待される。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. LAG-3 機能不全により自己免疫疾患が発症することを見出した。

概要：研究代表者らが独自に樹立した自己免疫疾患自然発症モデルマウスの原因が LAG-3 遺伝子に導入された機能欠失型変異であることを明らかとした。LAG-3 が PD-1 と協調的に T リンパ球の活性化を制御することにより、自己免疫疾患の発症を抑制すること等を明らかとした。PD-1 と LAG-3 が末梢性自己免疫寛容の成立と維持において必須の役割を果たしていることを明らかとした。

<科学技術イノベーション・臨床応用に大きく寄与する成果>

1. LAG-3 が創薬標的となることを示した

概要：LAG-3 の機能不全により自己免疫疾患が自然発症することを見出した。このことから、LAG-3 の機能を増強することにより、自己免疫疾患を治療できる可能性があることが示された。また、がんに対する免疫応答も、自己抗原に対する反応であることから、LAG-3 の機能を阻害することにより、がん免疫が増強される可能性が示唆された。さらに、その他の免疫関連疾患についても、LAG-3 が創薬標的となることが示唆された。

§2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

④「岡崎」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岡崎 拓	徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター	教授	H21.10～
岡崎 一美	同上	准教授	H21.10～
杉浦 大祐	同上	特任助教	H22.4～
丸橋 拓海	同上	特任助教	H25.9～
高橋 涼香	同上	C R E S T 研究員	H22.4～H26.3
Won Cheolhee	同上	C R E S T 研究員／特別研究員	H22.11～H24.3
岡本 陽子	同上	教務補佐員	H21.10～
土佐野憲幸	同上	教務補佐員	H23.6～H24.3
都築 仁美	同上	技術補佐員	H23.11～
大塚 愛弓	同上	技術補佐員	H24.6～
岸 真帆美	同上	技術補佐員	H23.12～H24.9
室田友紀子	同上	大学院生	H22.4～H23.3
梶原 武雄	同上	大学院生	H22.4～
水野 玲奈	同上	大学院生	H26.4～

研究項目

- ・ 実施項目全て

§ 3 研究実施内容及び成果

3. 1 モデルマウスを用いた連鎖解析 (徳島大学 岡崎グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

効果的な診断・治療法を開発する上で、疾患の成立機序を解明することは必須であるが、ほとんど全ての自己免疫疾患は多遺伝子疾患であるため、原因遺伝子を解明することは極めて困難であり、思うように進んでいない。そこで、病態成立の遺伝要因がより単純であり、かつヒトの病態を良く反映しているモデル動物を利用して疾患の発症に十分な全ての遺伝子 (変異) を解析することにより、自己免疫疾患制御ネットワークシステムの全貌を解明することを目的としている。

研究代表者らはこれまでに、免疫抑制受容体PD-1の欠損マウスの解析から、PD-1欠損がマウスの各系統の自己免疫素因を増強し、系統特異的な病態を惹起することを明らかにしてきた。遺伝背景により病態が変化することや、病態がヒトの自己免疫疾患に類似していることなどから、PD-1欠損マウスは極めて有用な自己免疫疾患のモデルマウスであると考えられている。早期にI型糖尿病を発症するNOD-PD-1欠損マウスを用いて連鎖解析を行ったところ、PD-1欠損下でI型糖尿病の発症に有意な連鎖を示す遺伝子座がわずか4個であることを見出し、さらにそれらを汎用系統であるC57BL/6系統に導入したコンジェニックマウスを作製したところ、I型糖尿病の発症が再現された。疾患が遺伝的に再構築されたことは、疾患発症に必要な遺伝子座が特定できていることを意味するため、それらの責任遺伝子を解析することにより自己免疫疾患制御ネットワークシステムの全貌が解明されると言える。そこで、当該研究期間内には、C57BL/6系統に導入したNOD系統由来染色体領域を短縮させた様々なサブコンジェニックマウスを作製することにより、責任遺伝子の絞り込みを試みた。

PD-1欠損下でのI型糖尿病発症における、IL-2 (*Idd3*) 遺伝子座の必要性について、NOD遺伝子背景においても検討した。NODマウスの*Idd3*遺伝子座をC57BL/6系統由来染色体と置換したNOD.B6*Idd3*-PD-1欠損マウスを作製したところ、NOD-PD-1欠損マウスとほぼ同様の時期に全てのマウスがI型糖尿病を発症した。従って、PD-1欠損下でI型糖尿病を惹起するには、NOD型のIL-2遺伝子多型は不要ということが確認された。以上の結果から、NOD遺伝子背景かつPD-1欠損下では、I型糖尿病の遺伝素因が十分に高いため、NOD型IL-2遺伝子多型によるI型糖尿病発症促進効果は検出されなかったが、C57BL/6遺伝子背景ではPD-1を欠損していてもI型糖尿病の遺伝素因が弱いため、I型糖尿病発症促進効果が観察されたと考えられる。

NOD系統以外の系統が有する自己免疫素因を解析する目的で、様々な系統にPD-1欠損マウスを戻し交配して解析したところ、Fasの機能欠失変異である*lpr*変異存在下で重篤なSLE様の病態を発症することが知られているMRL系統に戻し交配して作製したMRL-PD-1欠損マウスが、心筋炎を発症するという予備的結果が得られた。そこで、まず、MRL-PD-1欠損マウスの免疫学的解析を行った。MRL-PD-1欠損マウスでは、激しい心筋炎を発症して早期に死亡したが (図5)、心臓以外の臓器にも、高頻度に炎症が認められた (表I)。そこで、免疫系細胞の非特異的な活性化を検討したところ、PD-1欠損により脾細胞の増加や活性化マーカー陽性細胞の増加が確認されたが、その程度は、加齢による影響と同等か、それよりもむしろ弱かった。従って、心筋炎等の発症は、免疫細胞の非特異的な活性化では無く、特定の自己抗原に対する自己免疫寛容の破綻によると考えられた。

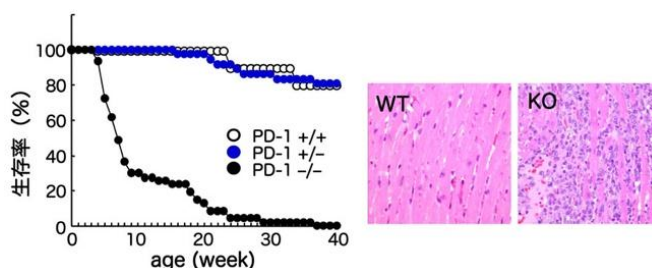


図5：MRL-PD-1 欠損マウスは、激しい心筋炎を発症して、早期に死亡した（黒丸）。

	<i>Pdcd1</i> ^{-/-} (4-8 weeks)	Wild type (8 weeks)	Wild type (20 weeks)
Myocarditis	96% (24/25)	0% (0/9)	0% (0/10)
Sialadenitis	60% (15/25)	33% (3/9)	100% (10/10)
Gastritis	48% (12/25)	0% (0/9)	50% (5/10)
Pneumonitis	96% (24/25)	22% (2/9)	60% (6/10)
Hepatitis	88% (22/25)	0% (0/9)	30% (3/10)

表 I：MRL-PD-1 欠損マウスでは、心臓以外にも、唾液腺、胃、肺、肝臓等に、炎症が確認された。

そこで、心臓浸潤細胞を単離して解析したところ、心臓浸潤細胞の約 35%を CD8 T 細胞が、約 20%を CD4 T 細胞が占めていた。また、T 細胞に加え、ミエロイド系細胞の浸潤が顕著に認められた（図6）。心臓浸潤 T 細胞には、Th1 マーカーの発現が認められるとともに、定量性 PCR にて、Th1 関連遺伝子の発現増強を認めた。従って、MRL-PD-1 欠損マウスが発症する心筋炎は、Th1 優位の反応であることが示唆された。

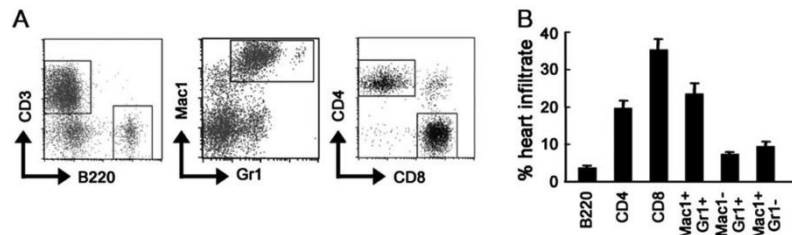


図6：心筋炎を発症した MRL-PD-1 欠損マウスの心臓には、多くの T 細胞およびミエロイド系細胞の浸潤が確認された。

心臓浸潤ミエロイド系細胞が PD-L1 を強く発現していたことから、ミエロイド系制御性細胞（Myeloid suppressor cell、MSC）として働く可能性を検討した。MRL マウスの脾臓から Thy1 陽性細胞を単離して CFSE で標識し、C57BL/6 マウスから単離した Thy1 陰性細胞と共培養することにより、アロ反応を誘導した。心筋炎を発症した MRL-PD-1 欠損マウスから心臓浸潤ミエロイド系細胞を単離して、T 細胞の 1~4%の割合で加えたところ、アロ反応の抑制が顕著に認められた。MRL-PD-1 欠損マウス由来 T 細胞も、心臓浸潤ミエロイド系細胞により抑制を受けたが、抑制の程度は、野生型マウス由来 T 細胞と比較して、若干軽度であった（図7）。

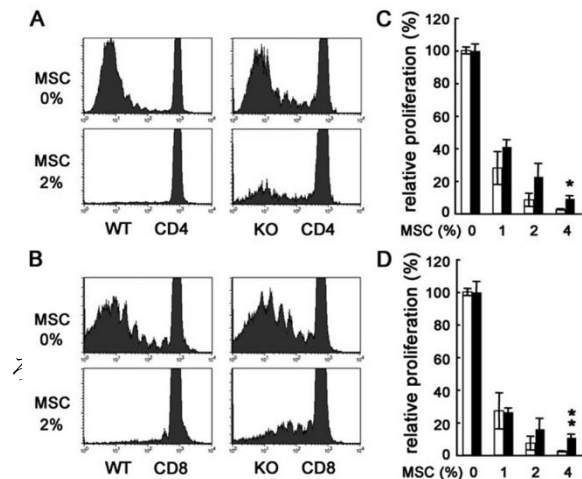


図7：心臓浸潤ミエロイド系細胞は、CD4 T 細胞（A、C）および CD8 T 細胞（B、D）のアロ反応による増殖を抑制した。細胞の分裂を CFSE の希釈（A、B）により評価し、抑制率を算出した（C、D）。自己抗体産生の有無を検討したところ発生が確認された。野生型マウスの血

清でも、心筋型ミオシン重鎖に対する弱い反応性が疑われたため、半定量的に検討してみたところ、野生型マウスでも、加齢に伴い、心筋型ミオシン重鎖に対する自己抗体をわずかに産生することを見出した(図8)。従って、MRL系統は遺伝的に心筋炎の素因を有しており、その素因がPD-1欠損により促進されると考えられる。また、野生型マウスでは、心筋炎の初期に、ミエロイド系制御性細胞が心臓に浸潤して心筋炎の重篤化を回避するが、PD-1欠損下ではミエロイド系制御性細胞による抑制効果が弱いために、重篤化する可能性が示唆された。

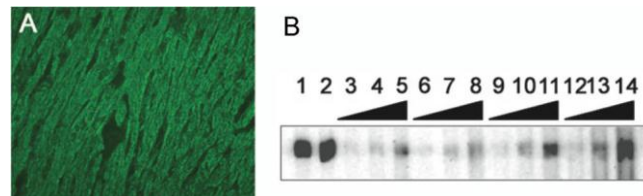


図8：心筋炎を発症したMRL-PD-1欠損マウスの血清を用いて野生型マウスの心臓切片を染色したところ、強い染色性が認められた(A)。MRL-PD-1欠損マウス(1、2、各3,000倍希釈)の血清中には、心筋型ミオシン重鎖に対する自己抗体が検出された。8週齢のMRL野生型マウス(3~8、1,000倍(3、6)、300倍(4、7)、100倍(5、8)希釈)、および20週齢のMRL野生型マウス(9~14、同様の希釈系列)の血清中にも、MRL-PD-1欠損マウスの血清と比較すると低濃度ではあるが、心筋型ミオシン重鎖に対する自己抗体が検出された。

MRL系統が有する心筋炎の遺伝素因を解明するために、BALB/c-PD-1欠損マウスとの交雑マウスを作製して連鎖解析を行ったところ、MRL染色体上に5個、BALB/c染色体上に1個、感受性遺伝子座が同定された(*Mcp* (Myocarditis under PD-1 deficiency) 1~6)。そこで、これら5遺伝子座をBALB/c系統に導入したコンジュニックマウスを作製することにより、心筋炎を遺伝学的に再構築することを試みた。

I型糖尿病の連鎖解析において、MHC遺伝子群を含む染色体領域が最も強い連鎖を示したため、当該領域をC57BL/10系統由来の染色体領域に置換したコンジュニックマウス(NOD.H2b-PD-1欠損マウス)を作製したところ、I型糖尿病の発症は完全に抑制されるが、末梢神経炎を発症することを見出している。さらに、NOD.H2b-PD-1欠損マウスを用いて連鎖解析を行い、神経炎、血管炎、唾液腺炎等に関与する遺伝子座を同定している(*Annp1*~14と命名)。そこで、血管炎感受性遺伝子座をC57BL/6-PD-1欠損マウスに導入することによる血管炎の遺伝的再構築をはじめ、各疾患の再構築あるいは治療が期待されるコンジュニックマウスの作製を計画した。上述の通り、I型糖尿病の遺伝解析が大きく発展したことから、研究資源をI型糖尿病の解析に集約するために、中止することとした。

3. 2 AIDA (LAG-3) の機能解析 (徳島大学 岡崎グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

BALB/c-PD-1欠損マウスに発症する自己免疫性拡張型心筋症と胃炎において、臓器特異的なIgGクラスの自己抗体が産生されることから、両自己免疫疾患の発症における、自己抗体のクラススイッチと親和性成熟の関与を解明する目的で、両者に必須の遺伝子であるAIDとの二重欠損マウスを作製した。当初、自己免疫疾患が回避あるいは緩和されると予想していたが、予想に反してPD-1・AID二重欠損マウスは重篤な心筋炎を発症して、生後10週齢までに死亡した。また、AID欠損マウスをNODマウスに戻し交配してNOD-AID欠損マウスを作製したところ、I型糖尿病の発症がAID欠損により大幅に促進されることを見出した。しかし、その後の解析

から、これらの自己免疫疾患は、AID 欠損そのものが原因では無く、AID 遺伝子座の近傍に存在する別の遺伝素因が原因である可能性が考えられたため、その遺伝素因を *aida* (AID-deficiency-linked autoimmunity)、変異を有するマウスを *aida* マウスと命名して、その原因遺伝子の同定を試みた。その結果、*aida* マウスにおいて、LAG-3 という膜タンパク質をコードする遺伝子に 2bp の欠失変異を同定することに成功した。この 2bp の欠失変異により、終止コドンが生じるため、機能的な LAG-3 タンパク質が細胞膜上に発現しないことが、フローサイトメトリーにて確認された。本研究計画では、まず、*aida* マウスの原因が LAG-3 の変異であることを証明することを目的とした。

LAG-3 欠損マウスは、1996 年に宮崎徹、Christophe Benoist、Diane Mathis 博士らによって作製されたが、自己免疫疾患の発症は報告されていなかった。そこで、C57BL/6-LAG-3 欠損マウスを入手し、BALB/c 系統および NOD 系統に戻し交配した。BALB/c-PD-1 欠損マウスと交配して BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスを作製したところ、全てのマウスが激しい心筋炎を発症して 7 週齢までに死亡した (図 9 A)。また、NOD-LAG-3 欠損マウスでは、ランゲルハンス島炎が大幅に増悪しており、I 型糖尿病の発症が大幅に促進された (図 9 B)。これらの結果から、*aida* マウスにおける心筋炎の発症および I 型糖尿病の促進は、LAG-3 の機能欠失変異であると結論付けられた。

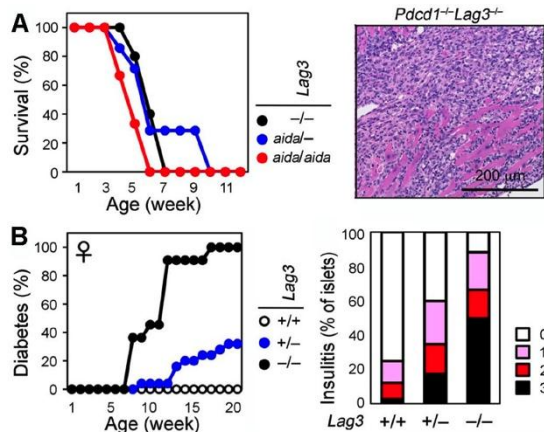


図 9 : (A) BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウス (黒) は、BALB/c-PD-1 欠損 *aida* マウス (赤) と同様に激しい心筋炎を発症して早期に死亡した。(B) NOD-LAG-3 欠損マウス (黒) は、NOD-*aida* マウスと同様に、ランゲルハンス島炎の悪化により、早期に I 型糖尿病を発症した。

また、当初の疑問である、自己免疫疾患の発症における自己抗体のクラススイッチと親和性成熟の関与を解析する目的で、*aida* 変異を有さない、BALB/c-PD-1・AID 二重欠損マウスを作製したところ、拡張型心筋症と胃炎の発症は認められなかった (図 10)。従って、BALB/c-PD-1 欠損マウスにおける拡張型心筋症と胃炎の発症には、AID による自己抗体のクラススイッチと親和性成熟が必須であることが明らかとなった。一方、AID 欠損マウスでは、腸管常在菌の制御不全により、腸管免疫系が異常活性化することが報告されていたが、*aida* 変異非存在下でも、腸管免疫

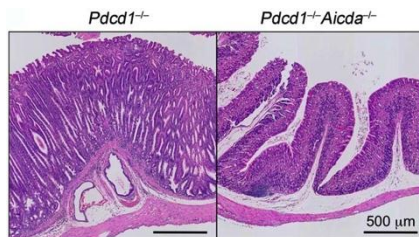


図 10 : BALB/c-PD-1 欠損マウス (左) に発症する胃炎は、AID 欠損下では、ほとんど観察されなかった (右)。

系の異常活性化が確認された。従って、AID 欠損マウスにおける腸管免疫系の異常活性化は AID 欠損が原因であり、LAG-3 変異はほとんど影響を与えていないことが明らかとなった。

LAG-3 の機能不全により自己免疫疾患が発症する原因を解明するために、LAG-3 欠損マウスおよび *aida* マウスの免疫学的解析を行った。まず、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスが極めて激しい心筋炎を発症することから、非特異的に免疫系が活性化されている可能性を検討したが、脾臓における活性化 T 細胞の増加は軽度であった。また、NOD-LAG-3 欠損マウスでは、脾臓における活性化 T 細胞の増加は認められなかった。従って、LAG-3 欠損は、非特異的に免疫系を活性化するのではなく、特定の免疫応答を特異的に活性化していると考えられた。次に、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスの心臓に浸潤している細胞を解析したところ、心臓浸潤細胞の 50% を T 細胞が占めており、Th1 タイプのサイトカイン産生能が亢進していた (図 1 1)。これらの結果から、LAG-3 は、Th1 タイプの免疫応答を特に抑制している可能性が示唆された。

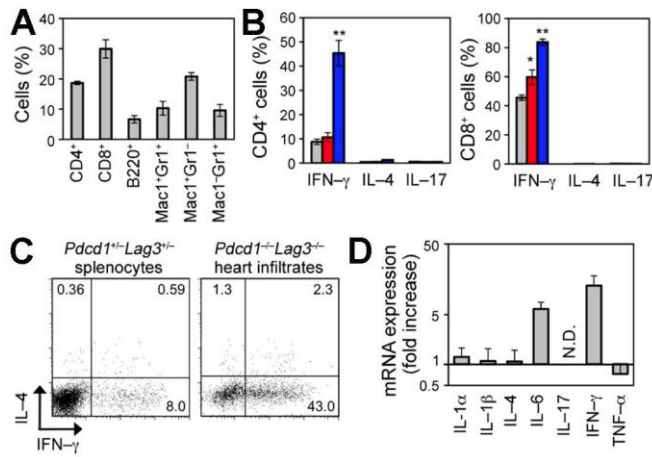


図 1 1 : (A) 心臓浸潤細胞の 50% が T 細胞であった。(B、C) コントロールマウスの脾細胞 (B 灰、C 左)、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスの脾細胞 (B 赤、C 右) と比較して、心臓浸潤細胞 (B 青、C 右) では Th1 サイトカインの産生が亢進していた。(D) 心臓浸潤細胞では、野生型マウスの脾臓と比較して、IL-6 および IFN γ の遺伝子発現が亢進していた。

LAG-3 が制御性 T 細胞の抑制能に必要であるという結果が別のグループから報告されているが (Huang et al., *Immunity*, 2004)、その影響は弱く、続報も無い。そこで、*aida* マウスにおける自己免疫疾患の発症に制御性 T 細胞の機能不全が関与している可能性を検討した。まず、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスでは、CD4 陽性 CD25 陽性 FoxP3 陽性細胞の頻度が野生型マウスと比較して約 1.5 倍に増加しており、制御性 T 細胞が減少している訳では無いことが確認された (図 1 2)。次に、制御性 T 細胞の機能を、*in vitro* 実験系にて検討したところ、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウス由来制御性 T 細胞の抑制能は、野生型マウス由来制御性 T 細胞と遜色

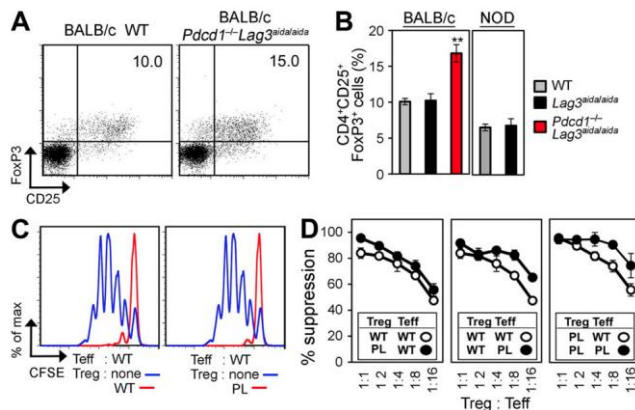


図 1 2 : (A、B) BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスでは、CD4 陽性 CD25 陽性 FoxP3 陽性細胞の数が増加していたが、NOD-LAG3 欠損マウスでは、増加していなかった。(C、D) BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスから単離した制御性 T 細胞は良好な抑制活性を示した。

無かった。また、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウス由来のエフェクター細胞は、野生型マウス由来のエフェクター細胞とほぼ同程度に、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスあるいは野生型マウス由来の制御性 T 細胞に抑制を受けた (図 1 2)。従って、少なくとも *in vitro* 実験系においては、LAG-3 欠損は制御性 T 細胞の機能に影響を与えない可能性が示唆された。

免疫抑制受容体 CTLA-4 を欠損させたマウスは、制御性 T 細胞の産生不全により、全身性の炎症性疾患を発症して離乳期に死亡する。CTLA-4 欠損マウスの骨髄細胞を免疫不全マウスに移植すると、炎症性疾患を再現することができるが、その際、野生型マウスの骨髄細胞を混ぜて移植すると、正常な制御性 T 細胞が産生されるため、炎症性疾患が回避される。BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスの骨髄細胞を免疫不全マウスに移植すると、心筋炎が再現されたが、野生型マウスの骨髄細胞を混ぜても心筋炎は回避されなかった。従って、CTLA-4 欠損マウスとは異なり、BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスが発症する心筋炎の原因は、制御性 T 細胞の産生不全とは異なることが示唆された (図 1 3)。

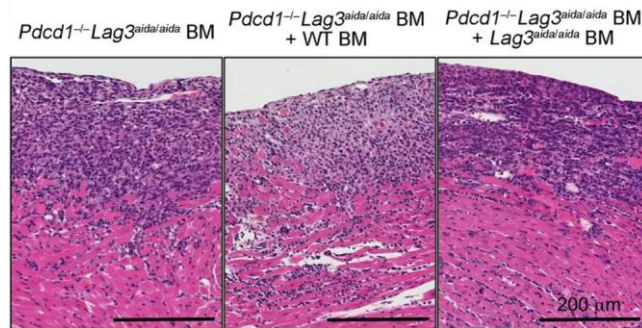


図 1 3 : BALB/c-PD-1・LAG-3 二重欠損マウスの骨髄細胞を免疫不全マウスに移植すると、心筋炎が再現されたが (左)、野生型マウス (中)、BALB/c-*aida* マウス (右) の骨髄細胞を混ぜても心筋炎は回避されなかった。

LAG-3 が CD4 の近縁分子であることから、胸腺における負の選択に LAG-3 欠損が影響を与える可能性が考えられたため、スーパー抗原による特定の Vβ 遺伝子陽性細胞の除去に与える LAG-3 欠損の影響を検討したが、有意な差は認められなかった。

LAG-3 と PD-1 による協調作用を解析するために、まず、T 細胞上における発現を解析した。LAG-3、PD-1 共に、未刺激の T 細胞には発現しておらず、活性化により発現が誘導されたが、LAG-3 の方がより弱い刺激でも発現が誘導された (図 1 4 A)。

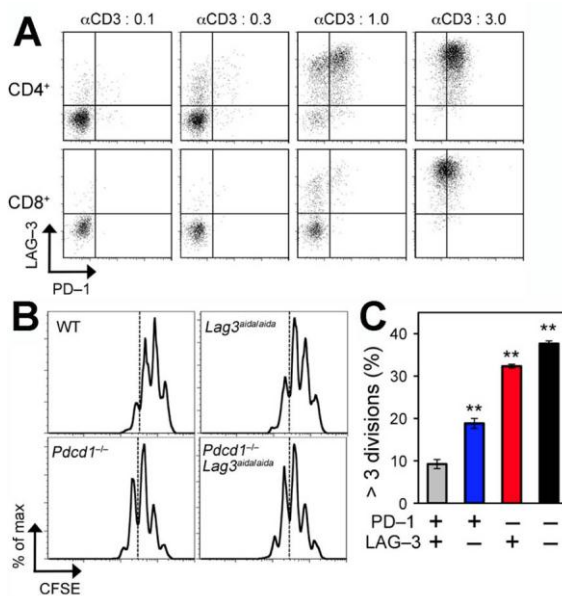


図 1 4 : (A) 抗 CD3 抗体刺激による PD-1 と LAG-3 の発現誘導。

(B,C) DO11.10 トランスジェニックマウスから CD4 T 細胞を単離して抗原刺激し、増殖応答を観察した。PD-1 (青) と LAG-3 (赤) により増殖応答が抑制された。また、両者が介在する条件 (灰) では、相乗的な抑制効果が観察された。

次に、CD4 T 細胞に対する抑制能を検討した。PD-1 欠損、LAG-3 欠損および PD-1・LAG-3 二重欠損マウスと交配した DO11.10 トランスジェニックマウスから CD4 T 細胞を調製して CFSE で標識し、抗原ペプチドをパルスした PD-L1 陽性細胞を用いて刺激した。PD-1 と LAG-3 は抗原刺激による活性化により発現が誘導されることから、両者による抑制は、数回分裂した後の細胞に顕われると予測された。そこで、刺激開始後 2 日目に 3 回以上分裂した細胞の割合を比較したところ、野生型の DO11.10T 細胞と比較して、LAG-3 欠損により約 2 倍、PD-1 欠損により約 3.5 倍、PD-1・LAG-3 二重欠損により約 4 倍の増加が確認された (図 1 4 B)。

培養細胞株を用いて、LAG-3 の抑制能をより簡便に評価する実験系の構築を試みた。DO11.10 ハイブリドーマは、PD-1 を恒常的に発現するが、LAG-3 は恒常的に発現しない。そこで、レトロウイルスベクターを用いてマウス LAG-3 (mLAG-3) の cDNA を導入した DO11.10-mLAG-3 細胞を得た。B 細胞株 A20 の FcγRIIB 陰性亜株 IIA1.6 は、PD-L1 を発現しないため、レトロウイルスベクターを用いて mPD-L1 を導入して IIA1.6-mPD-L1 細胞を得た。DO11.10 および DO11.10-mLAG-3 細胞を、抗原ペプチドをパルスした IIA1.6 あるいは IIA1.6-mPD-L1 細胞を用いて刺激することにより、mPD-1 と mLAG-3 による抑制が単独あるいは同時に発動される条件を実現した。刺激開始後 24 時間の時点で培養上清を回収し、DO11.10 細胞が抗原刺激により産生した IL-2 の濃度を ELISA にて測定した。その結果、mLAG-3 あるいは PD-1 により、IL-2 の産生量が 90~95% 抑制された。また、両者を介在させることにより、IL-2 の産生が相乗的に抑制されることを見出した (図 1 5)。

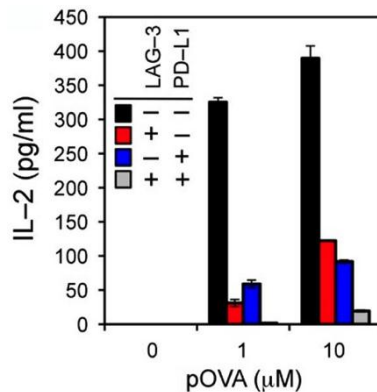


図 1 5 : DO11.10 ハイブリドーマの抗原刺激に対する IL-2 の産生は、LAG-3 (赤)、PD-1 (青) および LAG-3 と PD-1 の両者 (灰) により、顕著に抑制された。

DO11.10 ハイブリドーマは I-A (d) 拘束性にニワトリ卵白アルブミンの部分ペプチドを認識するが、CD4 は発現していない。別のグループから、LAG-3 が CD4 と競合的に MHC クラス II に結合し、CD4 と MHC クラス II の結合を阻害することにより、T 細胞の活性化を抑制すると報告されているが、DO11.10 ハイブリドーマの活性化を LAG-3 が抑制したと矛盾する。そこで、CD4 陽性の 2B4.11 ハイブリドーマを用いて、同様の解析を行った。2B4.11 ハイブリドーマは、I-E (k) 拘束性に蛾シトクローム C の部分ペプチドを認識することから、I-E(k) を発現する CH27 細胞あるいは C3H/HeN マウスの骨髄細胞から誘導した樹状細胞を抗原提示細胞として用いた。その結果、LAG-3 は 2B4.11 ハイブリドーマの活性化も効率的に抑制し、DO11.10 ハイブリドーマに対する抑制効果と明確な差は認められなかった。以上の結果から、LAG-3 の抑制メカニズムは、CD4 の競合阻害とは異なる可能性が示唆された。

3. 3 腫瘍免疫賦活法の開発 (徳島大学 岡崎グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

自己免疫応答は、アレルギー、腫瘍免疫、および感染免疫と密接な関係を有する。実際、PD-1 はこれらすべてにおいて重要な役割を果たすことが明らかとなっている。特に、抗 PD-1 阻害抗体が、がん免疫賦活化剤として開発され、臨床試験にお

いて極めて良好な治療効果を示したことから、2014年7月に、世界に先駆けて日本において、メラノーマに対する治療薬として承認された。そこで、LAG-3の機能を制御することにより、新たな腫瘍免疫賦活法を開発することを目的とした。

マウス LAG-3 キメラタンパク質を LAG-3 欠損マウスに免疫して、抗マウス LAG-3 モノクローナル抗体を 18 クローン得た。上記、*in vitro* 実験系を用いて阻害能を検討したところ、少なくとも 5 クローンにおいて、良好な阻害活性が確認された。最も有用と判断したクローン (B58) は、他のグループによって作製され、既に市販されているクローンと比較して、LAG-3 への親和性、阻害活性ともに高いことが確認された。

LAG-3 の腫瘍免疫における機能解析については、既に大手製薬メーカーを含む複数のグループが開始しているという情報を得たため、単純な検討については実施しないこととした。また、LAG-3 阻害剤と PD-1 阻害剤の併用についても、他のグループの動向から、実施を見合わせた。

§4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 12件)

1. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S, Shimatani S, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice. *J.Immunol.* 184(5):2337-2347 (2010) doi:10.4049/jimmunol.0901652
2. Wang J, Okazaki IM, Yoshida T, Chikuma S, Kato Y, Nakaki F, Hiai H, Honjo T, Okazaki T. PD-1 deficiency results in the development of fatal myocarditis in MRL mice. *Int.Immunol.* 22(6):443-452 (2010) doi:10.1093/intimm/dxq026
3. Sakai S, Kawamura I, Okazaki T, Tsuchiya K, Uchiyama R, Mitsuyama M. PD-1-PD-L1 pathway impairs T(h)1 immune response in the late stage of infection with Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin. *Int.Immunol.* 22(9):915-925 (2010) doi:10.1093/intimm/dxq446
4. Terawaki S, Chikuma S, Shibayama S, Hayashi T, Yoshida T, Okazaki T, Honjo T. Interferon α directly promotes programmed-cell-death-1 transcription and limits the duration of T cell-mediated immunity. *J.Immunol.* 186(5):2772-2779 (2011) doi:10.4049/jimmunol.1003208
5. Okazaki T, Okazaki IM, Wang J, Sugiura D, Nakaki F, Yoshida T, Kato Y, Fagarasan S, Muramatsu M, Eto T, Hioki K, Honjo T. PD-1 and LAG-3 inhibitory co-receptors act synergistically to prevent autoimmunity in mice. *J.Exp.Med.* 208(2):395-407 (2011) doi:10.1084/jem.20100466
6. Jin HT, Ahmed R, and Okazaki T., Role of PD-1 in Regulating T-Cell Immunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 350:17-37 (2011) doi:10.1007/82_2010_116
7. Aoki N, Kido M, Iwamuro S, Nishiura H, Maruoka R, Tanaka J, Watanabe T, Tanaka Y, Okazaki T, Chiba T, Watanabe N. Dysregulated generation of follicular helper T cells in the spleen triggers fatal autoimmune hepatitis in mice. *Gastroenterology.* 140(4):1322-1333 (2011) (DOI:10.1053/j.gastro.2011.01.002)
8. Sugino S, Nishikawa N, Yoshimura K, Kuno S, Hayashi Y, Yoshimura N, Okazaki T, Kanematsu A, Ogawa O. BALB/c-*Fcgr2b*^{-/-}*Pdcd1*^{-/-} mouse expressing anti-urothelial antibody is a novel model of autoimmune cystitis. *Sci.Rep.* 2:317 (2012) doi:10.1038/srep00317
9. Iwamoto S, Kido M, Aoki N, Nishiura H, Maruoka R, Ikeda A, Okazaki T, Chiba T, Watanabe N. IFN- γ is reciprocally involved in the concurrent development of organ-specific autoimmunity in the liver and stomach. *Autoimmunity.* 45(2):186-198 (2012) doi:10.3109/08916934.2011.616559
10. Kayama H, Ueda Y, Sawa Y, Jeon SG, Ma JS, Okumura R, Kubo A, Ishii M, Okazaki T, Murakami M, Yamamoto M, Yagita H, Takeda K. Intestinal CX3C chemokine receptor 1^{high} (CX3CR1^{high}) myeloid cells prevent T-cell-dependent colitis. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 109(13):5010-5015 (2012) doi: 10.1073/pnas.1114931109
11. Iwamoto S, Kido M, Aoki N, Nishiura H, Maruoka R, Ikeda A, Okazaki T, Chiba T, Watanabe N. “TNF- α is essential in the induction of fatal autoimmune hepatitis in mice through upregulation of hepatic CCL20 expression”, *Clin Immunol*, vol. 146, No. 1, pp.15-25 (2013) DOI:10.1016/j.clim.2012.10.008
12. Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, Fagarasan S, Honjo T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application., *Nat. Immunol.* 14(12):1212-1218 (2013) doi: 10.1038/ni.2762

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 岡崎 拓、岡崎一美、“PD-1 分子による免疫応答の制御” *Medical Science Digest*、1 1 月号、2010 年
2. 岡崎 拓、岡崎一美、“末梢性免疫寛容における PD-1 と LAG-3 の相乗性” *感染・炎症・免疫*、第 41 巻、第 4 号、329-331、2011 年
3. 岡崎 拓、“PD-1 欠損マウス” モデル動物利用マニュアル、疾患モデルの作製と利用—免疫疾患、80-86、株式会社 エル・アイ・シー、2011 年 6 月 30 日発行
4. 岡崎一美、岡崎 拓、“癌、自己免疫病と PD-1”、*医学のあゆみ*、第 245 巻、第 3 号、12353-12357、2013 年
5. 岡崎 拓、岡崎一美、“免疫抑制受容体分指標的（PD-1 とその関連分子）”、*炎症と免疫*、第 21 巻、第 3 号、189-194、2013 年
6. 岡崎 拓、“PD-1 による免疫抑制機構とその異常による自己免疫疾患”、*細胞工学*、第 33 巻、第 55 号、2014 年

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演（国内会議 1 3 件、国際会議 4 件）

1. 岡崎 拓、「PD-1 の腫瘍免疫における役割と免疫療法への展開」、中国・四国広域がんプロ養成コンソーシアムセミナー「がん免疫療法」、徳島市、2009 年 10 月 16 日
2. *Okazaki T, “PD-1 signal and immunological tolerance”, Annual Symposium of the Korean Association of Immunologists, Seoul, Korea, November 10th, 2009.
3. Okazaki T, “Negative regulation of T cells by inhibitory co-receptors”, Symposium on recent advances in transplantation immunology, Seoul, Korea, November 10th, 2009.
4. 岡崎 拓、「免疫抑制受容体 PD-1 による自己免疫疾患の制御」、第 2 1 回 The Meeting of Liver and Immunology、東京、2010 年 9 月 4 日
5. 岡崎 拓、「免疫補助分子の機能解析による新規免疫制御剤の開発」、第 3 回革新的特色研究シンポジウム、徳島市、2010 年 11 月 17 日
6. *Okazaki T, “Aida, a newly established animal model of autoimmunity”, The Japanese Society for Immunology 2010 Symposium for Cutting edge of immunology; innate immunity and immune regulation, Tokyo, Japan, December 3rd, 2010.
7. 岡崎 拓、「自己免疫病ゲノミクス」、愛媛大学プロテオ医学研究センター 学術シンポジウム「難病のプロテオゲノミクス」、松山市、2011 年 2 月 6 日
8. 岡崎 拓、「自己免疫疾患制御分子の同定による新規治療法の開発」、CREST「免疫機構」領域第二回シンポジウム、東京、2011 年 9 月 30 日
9. 岡崎 拓、「自己免疫疾患のゲノム解析」、第 8 回宮崎サイエンスキャンプ、宮崎市、2012 年 2 月 17 日
10. 岡崎 拓、「*aida* マウスを用いた自己免疫疾患発症制御機構の解析」、第 7 回自己免疫疾患研究会、東京、2012 年 7 月 7 日
11. 岡崎 拓、「免疫抑制受容体による免疫応答の制御」、第 4 回 東京編・徳島大学研究者との集い、東京、2012 年 7 月 27 日
12. Taku Okazaki, “Immuno-inhibitory receptors in the regulation of autoimmunity”, 2013 SKKU International Symposium on Molecular Medicine, Suwon, Korea, February 28th, 2013
13. 岡崎 拓、「免疫抑制シグナルの調節による自己免疫疾患の制御とがんの治療」、神戸薬科大学エクステンション事業 徳島生涯研修企画委員会 第 92 回学術研修会、徳島市、2014 年 2 月 23 日

14. 岡崎 拓、「次世代免疫療法によるがんの治療」、徳島県皮膚悪性腫瘍学術講演会、徳島市、2014年6月19日
15. 岡崎 拓、「革新的治療法:抗PD-1抗体によるガン治療」、免疫ふしぎ未来2014、東京都、2014年8月10日
16. 岡崎 拓、「免疫抑制受容体による自己免疫とがん免疫の制御」、第28回千葉基礎・臨床免疫セミナー、千葉市、2014年11月6日
17. 岡崎 拓、「免疫抑制受容体による自己免疫と癌免疫の制御」、第21回大阪大学微生物病研究所ブリッジセミナー、吹田市、2015年3月5日

② 口頭発表 (国内会議 7件、国際会議 12件)

1. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S, Shimatani K, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", ACR/ARHP Annual Scientific Meeting, vol. 60, p2015, Philadelphia, USA, October 21st, 2009.
2. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S, Shimatani K, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", 第39回日本免疫学会総会・学術集会, vol. 39, p.160, 大阪市、2009年12月
3. Sakai S, Kawamura I, Tsuchiya K, Okazaki T, Mitsuyama M. "The PD-1:PD-L co-inhibitory pathway is a critical determinant of host resistance to pulmonary tuberculosis", 第39回日本免疫学会総会・学術集会, vol. 39, p.243, 大阪市、2009年12月
4. 岡崎 拓、岡崎一美、"PD-1 deficiency results in the development of fatal myocarditis in MRL mice", 第9回四国免疫フォーラム、愛媛県東温市、2010年6月19日
5. Okazaki IM, Jiang F, Honjo T, Okazaki T. "Identification of QTLs that modify peripheral neuropathy in NOD.H2b-PD-1KO mice", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 23rd, 2010.
6. Kasagi S, Kawano S, Morinobu A, Okazaki T, Honjo T, Hatachi S, Shimatani S, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 23rd, 2010.
7. Watanabe N, Kido M, Aoki N, Iwamoto S, Nishimura H, Okazaki T, Honjo T, Chiba T. "Mechanisms involved in the development of fatal autoimmune hepatitis", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 26th, 2010.
8. Okazaki T, Sugiura D, Okazaki IM, Honjo T. "Identification of the causal gene of *aida* mouse, a newly established animal model of autoimmunity", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 27th, 2010.
9. 岡崎一美、杉浦大祐、高橋涼香、岡崎 拓、"PD-1 and LAG-3 inhibitory co-receptors act synergistically to prevent autoimmunity in mice", 第10回四国免疫フォーラム、徳島市、2011年6月4日
10. Taku Okazaki, "Regulation of autoimmunity by immuno-inhibitory receptors", The First Immunology Symposium at the University of Tokushima, Tokushima, Japan, February 9th, 2012
11. 岡崎一美、杉浦大祐、高橋涼香、梶原武雄、岡崎 拓、「PD-1欠損マウスを用いた自己免疫疾患のゲノム解析」、第11回四国免疫フォーラム、高知県南国市、2012年6月9日
12. Il-mi Okazaki and Taku Okazaki, "Genetic reconstitution of autoimmunity in mice", The Second Immunology Symposium at the University of Tokushima, Tokushima,

Japan, January 25th, 2013

13. Taku Okazaki, "Immuno-inhibitory receptors in the regulation of autoimmunity", The Second Immunology Symposium at the University of Tokushima, Tokushima, Japan, January 25th, 2013
14. 杉浦大祐、岡崎一美、高橋涼香、梶原武雄、岡崎 拓、「免疫抑制受容体 LAG-3 による T 細胞活性化制御機構の解析」、第 12 回四国免疫フォーラム、香川県さぬき市、2013 年 6 月 22 日
15. Taku Okazaki, "Regulation of autoimmunity by immuno-inhibitory receptors", The 3rd Bizan immunology symposium, Tokushima, Japan, February 14th, 2014.
16. Daisuke Sugiura and Taku Okazaki, "Molecular analyses of an inhibitory co-receptor, LAG-3", The 3rd Bizan immunology symposium, Tokushima, Japan, February 14th, 2014.
17. 梶原武雄、杉浦大祐、丸橋拓海、岡崎一美、岡崎 拓、「ヒト LAG-3 の機能解析」、第 13 回四国免疫フォーラム、徳島市、2014 年 6 月 21 日
18. Il-mi Okazaki and Taku Okazaki, "Genetic reconstitution of autoimmune diseases in mice", The 4th Bizan immunology symposium, Tokushima, Japan, January 29th, 2015.
19. Taku Okazaki, "Regulation of autoimmunity by immuno-inhibitory receptors", The 4th Bizan immunology symposium, Tokushima, Japan, January 30th, 2014.

③ ポスター発表 (国内会議 5 件、国際会議 8 件)

1. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S, Shimatani K, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", ACR/ARHP Annual Scientific Meeting. vol. 60, p2015, Philadelphia, USA, October 21st, 2009.
2. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, Honjo T, Morinobu A, Hatachi S, Shimatani K, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪市, vol. 39, p.160, 2009 年 12 月
3. Sakai S, Kawamura I, Tsuchiya K, Okazaki T, Mitsuyama M. "The PD-1:PD-L co-inhibitory pathway is a critical determinant of host resistance to pulmonary tuberculosis", 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪市, vol. 39, p.243, 2009 年 12 月
4. 岡崎 拓、「自己免疫疾患制御分子の同定による新規治療法の開発」、「CREST 「免疫機構」領域 第一回シンポジウム」、東京、2010 年 10 月 27 日
5. Okazaki T, Sugiura D, Okazaki IM, Honjo T. "Requirement of isotype-switched and somatically mutated autoantibodies for the development of autoimmune diseases in BALB/c-PD-1KO mice", The 4th International Conference on B cells and Autoimmunity. Nara, Japan, August 19th to 21st, 2010.
6. Okazaki IM, Jiang F, Honjo T, Okazaki T. "Identification of QTLs that modify peripheral neuropathy in NOD.H2b-PD-1KO mice", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 23rd, 2010.
7. Kasagi S, Kawano S, Morinobu A, Okazaki T, Honjo T, Hatachi S, Shimatani S, Tanaka Y, Minato N, Kumagai S. "Anti-PD-1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 23rd, 2010.
8. Sakai S, Kawamura I, Tsuchiya K, Okazaki T, Mitsuyama M. "PD-1 inhibitory receptor prevents immunopathological responses in murine tuberculosis", The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 25th, 2010.

9. Watanabe N, Kido M, Aoki N, Iwamoto S, Nishimura H, Okazaki T, Honjo T, Chiba T. “Mechanisms involved in the development of fatal autoimmune hepatitis”, The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 26th, 2010.
10. Okazaki T, Sugiura D, Okazaki IM, Honjo T. “Identification of the causal gene of *aida* mouse, a newly established animal model of autoimmunity”, The 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan, August 27th, 2010.
11. 岡崎 拓、「自己免疫疾患制御分子の同定による新規治療法の開発」、CREST 「免疫機構」領域第二回シンポジウム、東京、2011年9月30日
12. Il-mi Okazaki, Daisuke Sugiura, Suzuka Takahashi, Takeo Kajihara, Taku Okazaki, “Identification of new therapeutic targets by genetic dissection and reconstitution of autoimmune diseases in mice”, JST-CREST International Symposium, Tokyo, February 12th to 13th, 2013
13. 岡崎一美、杉浦大祐、丸橋拓海、梶原武雄、岡崎 拓、「自己免疫疾患制御分子の同定による新規治療法の開発」、CREST 「免疫機構」領域第三回シンポジウム、東京、2014年10月8日

(4)受賞・報道等

①受賞

1. 徳島大学若手研究者学長賞（岡崎一美、2011年11月）
2. 日本癌学会第4回JCA—CHAAO賞（岡崎 拓、2014年9月）
（代表者：本庶 佑、共同研究者：縣保年、石田靖雅、岩井佳子、西村泰行、湊長博）

②マスコミ（新聞・TV等）報道

2011年2月8日原著論文(3)の発表（顕著な成果1）に関する報道。共同通信、徳島新聞、四国新聞、西日本新聞、山形新聞、化学工業日報等。JSTと徳島大学の共同でプレス発表。

(5)成果展開事例

①実用化に向けての展開

PD-1やLAG-3をはじめとした免疫補助受容体を標的とした免疫制御法の開発について、文部科学省の「革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発」事業に採択され、平成26年10月より開始している。課題名「多機能複合分子標的物質の作製による細胞運命操作技術の開発」(H26～30)

②社会還元的な展開活動

- ・ 得られた成果について、徳島大学とJSTの共同で、プレスリリースした。また、徳島大学疾患プロテオゲノム研究センターのホームページにプレスリリースを掲載した。

§5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H22.8.12	第2回阿波おどり生命科学シンポジウム開催	徳島市	50名	幅広い分野で活躍する若手生命科学研究者によるシンポジウムを主催
H23.6.28	公開講座「ゲノムからみるヒトの健康と病気」	徳島市	20名	徳島大学大学開放実践センターによる公開講座にて講演
H23.8.16	第3回生命科学阿波おどりシンポジウム開催	徳島市	50名	幅広い分野で活躍する若手生命科学研究者によるシンポジウムを主催
H24.2.9-10	徳島大学革新的特色研究国際シンポジウム「New horizons in the immune system」	徳島市	70名	徳島大学における免疫研究を世界にアピールするために企画されたシンポジウムを共同主催
H24.7.27	第4回東京編・徳島大学研究者との集い	東京	40名	徳島大学における研究内容を一般人、企業人等に紹介する企画において講演
H24.8.16	第4回生命科学阿波おどりシンポジウム開催	徳島市	50名	幅広い分野で活躍する若手生命科学研究者によるシンポジウムを主催
H25.1.24-25	The second immunology symposium at the university of Tokushima 「Immune system Development, Deviation, and Regulation」	徳島市	70名	徳島大学における免疫研究を世界にアピールするために企画されたシンポジウムを共同主催
H25.8.16	第5回生命科学阿波おどりシンポジウム開催	徳島市	50名	幅広い分野で活躍する若手生命科学研究者によるシンポジウムを主催
H25.2.13-14	The third Bizan immunology symposium at the university of Tokushima 「Immune system Development, Deviation, and Regulation」	徳島市	70名	徳島大学における免疫研究を世界にアピールするために企画されたシンポジウムを共同主催
H26.2.23	神戸薬科大学エクステンション事業 徳島生涯研修企画委員会 学術研修会	徳島市	50名	薬剤師の生涯学習セミナーにおいて講演
H26.8.10	免疫ふしぎ未来	東京都	100名(イベント全体では2437人)	免疫学会主催の市民交流イベントにおいて講演

H26.1,29-30	The fourth Bizan immunology symposium at the university of Tokushima 「Immune system Development, Deviation, and Regulation」	徳島市	70名	徳島大学における免疫研究を世界にアピールするために企画されたシンポジウムを共同主催
-------------	---	-----	-----	---