

課題番号 : 27指1303

研究課題名 : 慢性B型肝炎の病態変動を検出するためのT細胞染色試薬の開発

主任研究者名 : 宮寺 浩子

キーワード : B型肝炎ウイルス (HBV)、慢性 B型肝炎、ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigens; (HLA)), MHC テトラマー

研究成果 :

B型肝炎慢性化、ウイルス排除、ワクチン応答には顕著な個人差があることが知られているが、そのメカニズムは不明である。近年、ゲノムワイド関連解析により、慢性 B型肝炎に関連する最も強い遺伝的要因がヒト白血球抗原(human leukocyte antigens; HLA) クラス II、なかでも HLA-DP と強く関連することが報告された(Kamatani et al. 2009 Nat Genet; Nishida et al. 2013 PLoS One; Nishida, Sawai et al. 2014 PLoS One)。HLA-DP はインターフェロン(IFN)治療効果とも関与するとの報告がある。これらの知見は HLA-DP 拘束性 T 細胞が抗 HBs 抗体産生において主要な役割を担うことを示唆するが、その詳細は明らかではない。一連の免疫応答に関わる HLA クラス II 拘束性エピトープおよびこれを認識する T 細胞を同定することが出来れば、HBV に対する免疫応答の詳細を明らかにする糸口となるだけでなく、B型肝炎慢性化や再活性化等のリスクを予測する上でも有用である。そこで本研究では、HLA クラス II の一つであり、B型肝炎慢性化との関連が報告されている HLA-DP に着目し、HLA-DP 拘束性 HBV エピトープを同定し、慢性 B型肝炎の病態に伴う T 細胞免疫系の変動を明らかにすることを目的として研究を行った。そのため、まず HLA-DP が提示する HBV 抗原ペプチドを同定し、中でも T 細胞エピトープとして重要な HBV 抗原ペプチド領域を明らかにすることとした。そして、HLA-DP-HBV 抗原ペプチド複合体を認識する T 細胞を染色するための試薬(MHC テトラマー)を開発することを目標として、以下の項目について研究を実施した。

1. HLA と合成ペプチドとの結合測定系の構築 :

HLA-DP拘束性HBVペプチドを同定するため、HLA-DPが結合しうるペプチド領域を探索することとし、組換えHLAタンパク質と合成ペプチドとの相互作用を解析するためのアッセイ系を確立した(投稿準備中)。日本人集団に高頻度に維持される、以下に示すHLA-DPハプロタイプ6種類のDPアレル産物を組換えタンパク質として発現した。

- ・慢性肝炎抵抗性ハプロタイプ : HLA-DP0401 (*DPA1*01:03-DPB1*04:01*), HLA-DP0402 (*DPA1*01:03-DPB1*04:02*), HLA-DP0201 (*DPA1*01:03-DPB1*02:01*),
- ・感受性ハプロタイプ : HLA-DP0501 (*DPA1*02-DPB1*05:01*), HLA-DP0901 (*DPA1*02:01-DPB1*09:01*),
- ・中立性ハプロタイプ : HLA-DP0301 (*DPA1*02:02-DPB1*03:01*)

これらの*DPA1-DPB1*ハプロタイプを哺乳類細胞株で組換えタンパク質として大量発現し、各 HLA-DPアレル産物に結合するHBV抗原ペプチド領域を表面抗原(HBs) (59ペプチド)、コア抗原(HBc) (40ペプチド) をカバーする合成ペプチドライブラリーから探索した。その結果、特定のHLA-DPアレル産物に結合するHBs, HBc領域を複数箇所同定した(投稿準備中)。さらに、短鎖ペプチドを用いた結合解析を行い、これらのウイルス抗原ペプチド配列とHLA-DPとの間の相互作用に大きく寄与するアミノ酸残基を推定した。しかし、疎水性ペプチドの場合は非特異的シグナルを生じるため本方法での測定が困難であった。また、数種類のペプチドについては合成が困難であったため測定を実施することが出来なかった。HBs, HBc ペプチドライブラリーの大半は疎水性が高いことから、これらの領域についてもHLAとの結合アッセイを行うためには、異なるアッセイ系を構築する必要があることが明らかとなった。

2. HLA-ペプチド発現アッセイの構築 :

HLA-ペプチド相互作用を疎水性ペプチドについても解析するために、次に、「HLA-ペプチド発現アッセイ」を構築した。この方法では、HLAをペプチドとの融合タンパク質として培養細胞に発現し、内部コントロール(GFP)を用いることにより細胞表面HLA発現量を定量化する (Miyadera, et al. 2015 *J. Clin. Invest.*; 宮寺・他 2016 日本臨床免疫学会会誌)。HLAはペプチドと強く結合するとタンパク質複

合体が安定化し、細胞表面に高発現する性質を持つ。そのため、細胞表面のHLA発現量を測定することによりHLAとペプチドとの相互作用の相対的な強さを推測、評価することが出来る。この方法を用いることにより、疎水性領域を含むHBs, HBc全領域についてHLAとの結合性を測定することが可能であった。HLA-ペプチド発現アッセイを用いて、6種類のHLA-DPアリルについてHBs, HBc抗原を対象としたHLA結合領域探索を行い、特定のHLA-DPにアリル特異的、かつ強い相互作用を介して提示されるHBs, HBc抗原領域を複数箇所、見出した。また、他の疾患を対象として、この結合アッセイ系でT細胞エピトープを検出しうることを検証した。これらの成果について現在、論文投稿を準備中である。HLAが提示するHBs抗原領域についての知見は新規ワクチン開発において重要であるため、特許出願を検討中である。

3. MHC テトラマー発現系の構築：

HLA-DP が結合する HBV 抗原ペプチドの中から T 細胞エピトープを絞り込み、また、HLA-HBV ペプチド複合体を認識する T 細胞をヒト末梢血中に検出するため MHC テトラマーを作成することとした。MHC テトラマーは MHC-ペプチド複合体を 4 量体化および蛍光標識し、T 細胞受容体を特異的に検出するためのタンパク質試薬である。HLA クラス I の場合、MHC テトラマーは試薬会社等から入手可能な場合があるが、HLA クラス II については市販品が入手困難もしくは高額であるため、外部研究機関への委託、もしくは各研究者が作成する必要がある。本研究では、複数の HLA-DP アリルと HBV 抗原ペプチドの組合せから成る多種類の MHC テトラマーを使用予定であるため、MHC テトラマーを組換えタンパク質として大量発現、調整することとした。

HLA テトラマーを大量調整するため、まず、既に立体構造が既知である HLA-DQ0602 を材料として発現系の確立を行った。HLA クラス II テトラマー発現用のコンストラクトを設計し、HLA-DQ0602 について安定発現株を樹立した。また、培地中への HLA タンパク質分泌量を定量するための ELISA を構築した。具体的には、HLA-DQA1 と Acidic zipper (AZ)配列(酸性側鎖を配置したロイシンジッパー配列)、ビオチン化配列(BirA)を融合した HLA α サブユニット、HLA-DQB1 と Basic zipper (BZ)配列(塩基性側鎖を配置したロイシンジッパー配列)、His タグ配列を融合した HLA β サブユニットを発現するベクターを各二種類 (LTR プロモーター(pMXs ベクター(東京大学医科学研究所 北村俊雄先生より供与))、CMV プロモーター(pIRES ベクター(BD Biosciences))を持つ各ベクター) に挿入し発現ベクターを作成した。HLA テトラマーの大量発現は、一般的には昆虫細胞発現系を用いて行われる。しかし、多種類のアリルとペプチド複合体について高発現安定株を樹立するのは煩雑であるため、電気穿孔法を用いた哺乳類細胞での一過性発現を試みることにし、遺伝子導入装置を用いたタンパク質発現を試みた。発現プラスミドを mg 単位で大量調整し、遺伝子導入装置を用いて発現宿主細胞(細胞数 2×10^8) に電気穿孔法で導入し、導入後 9 日間、培地中に分泌される MHC テトラマー量を ELISA により経時的に測定した。同様の方法で、抗体タンパク質を大量発現出来ることが先行研究で報告されている。二種類のプロモーター配列を用いて HLA を発現し、プロモーター間で発現量の違いが認められた。しかし、いずれの場合も期待したレベルでの MHC タンパク質発現が認められなかった。

このように、遺伝子導入装置を用いた一過性発現系において十分量の組換え HLA タンパク質を得られなかった。この理由として 3 点が考えられる。一点目は、培地に分泌された HLA タンパク質を同定する ELISA の感度が低かった可能性である。HLA 検出用の ELISA は市販されていないため、今回は粗精製 HLA タンパク質を標準品とした ELISA を構築したが、精製 HLA タンパク質の量に限りがあり、ELISA の改良を短期間で行うことが出来なかった。また、培地中の成分(ウシ血清など)により、ELISA の感度が低下する傾向が観察された。そのため、今後、ELISA を改良する必要がある。2 点目の理由として、HLA を哺乳類細胞で発現し培地中に分泌させるためのシグナル配列が最適でなかった可能性が挙げられる。今回、HLA 遺伝子由来のシグナル配列を用いたが、既に宿主細胞での分泌発現が確認されている他のシグナル配列を用いることにより、HLA の細胞外分泌量を増加できる可能性がある。また、発現ベクターのプロモーターを最適化する余地もある。今回、LTR プロモーター、CMV プロモーターの二種類を用いて予備検討を行い、陽性コントロール (GFP) については、CMV プロモーターを用いた場合により高い発現が観察された。

今後、発現ベクターの改変などにより、当初の目標であった組換え HLA タンパク質の大量発現に近づける可能性があるが、研究期間および予算に限りがあるため、上記の方法での HLA テトラマー作製は一旦中断することとし、HBV 抗原を認識する T 細胞同定を当初の計画とは異なる方法によって進めることとした。

4. T 細胞エピトープ同定：

当初の研究計画では HLA テトラマーを作成することにより、HLA-DP 拘束性 HBs, HBc 抗原ペプチドを認識する T 細胞を同定する予定であったが、HLA テトラマー作製が困難であったため、他の方法によって抗原特異的 T 細胞同定を進めることとした。具体的には、HLA-DP との結合が示唆された HBs, HBc 抗原領域について HLA-DP との融合タンパク質を作成し、HLA-抗原複合体として培養細胞表面に安定発現させる。これを抗原提示細胞として用いて反応性 T 細胞をスクリーニングする予定である。

本研究は途中で計画の変更を伴ったが、最終的な目標である HBV 抗原を認識する CD4 陽性 T 細胞の同定に向けた知見を積み重ねつつあり着実に進展している。今後、ヒト検体での免疫学的研究を進めることにより、HBV に対する獲得免疫応答の機序解明に向けた糸口が得られると考える。

Subject No. : 2 7 指 1 3 0 3

Title : Development of T-cell staining reagent for the study of immune responses in chronic hepatitis B

Researchers : Hiroko Miyadera

Key word : hepatitis B virus (HBV), chronic hepatitis B infection (CHB), human leukocyte antigens (HLA), HLA tetramer

Abstract :

Susceptibility to chronic hepatitis B (CHB) and HBV vaccine responses varies greatly among individuals. One of the strongest genetic factors that might contribute to differences in HBV infections/vaccinations among individuals is the genes encoding human leukocyte antigen (HLA) class II. The strong association of HLA-DP with CHB was identified by genome wide association studies (Kamatani et al. 2009 Nat Genet; Nishida et al. 2013 PLoS One) and further association studies (Nishida, Sawai et al. 2014 PLoS One). The association of other class II loci, HLA-DQ and -DR with CHB have also been reported (Mbarek et al. 2011 Hum Mol Genet; Miki et al. 2013 PLoS One; Nishida et al. 2016 Sci Report). These findings indicate that HLA class II is one of the major factors that mediate adapted immune responses against HBV, however, the mechanism that might underlie the association of HLA class II with CHB has not been fully elucidated. Therefore, we attempted to characterize immunological process of T-cell-mediated immunity against HBV infection in the development of CHB. HLA-DP alleles that are associated with susceptibility or protection against CHB differs greatly in amino acid sequences and the polymorphic amino acid residues are found in regions that participate in presentation of peptides. Therefore, it is expected that CHB-susceptible and -protective HLA-DP alleles might differ in presentation of HBs antigens. Based on these findings, we planned to identify HBs and HBc antigens that are presented by HLA-DP and function as T-cell epitopes and then develop HLA tetramer to analyze antigen-specific T-cells.

1. HLA-peptide binding assay

As the first step, we established *in vitro* HLA-peptide binding assay to identify HLA class II-restricted HBV peptides. First, we prepared recombinant proteins encoded by the six *HLA-DP* haplotypes that are maintained at high frequencies in the Japanese population, including HLA-DP0401 (*DPA1*01:03-DPBI*04:01*), HLA-DP0402 (*DPA1*01:03-DPBI*04:02*), HLA-DP0201 (*DPA1*01:03-DPBI*02:01*), HLA-DP0501 (*DPA1*02-DPBI*05:01*), HLA-DP0901 (*DPA1*02:01-DPBI*09:01*), and HLA-DP0301 (*DPA1*02:02-DPBI*03:01*).

These recombinant proteins were obtained by large scale expression in mammalian cell line. Briefly, HLA-DPBI was fused to His-tag at the C-terminus and used to establish HLA-DP stable cells. The HLA-DP stable cells were cultured at large scale and the cell lysates prepared in the presence of detergents were applied to the plate that captures His-tag. The binding of HLA with biotin-labeled synthetic peptide were detected by avidin-HRP. The peptide libraries that cover the entire regions of HBs and HBc antigens were designed and used for screening. Using this method, we analyzed HBs and HBc antigen peptide interaction with HLA-DP and identified several regions that can be presented to HLA-DP. The *in vitro* assay worked well for limited numbers of peptides but not suitable for large numbers of hydrophobic peptides in the HBs and HBc peptide libraries due to insolubility and high level of background signals. Moreover, it was not possible to synthesize certain sequences in HBs and HBc peptides.

2. HLA-peptide expression assay

As the alternative to in vitro HLA-peptide binding assay, we next established an assay “HLA-peptide expression assay” to measure the interaction of HLA with hydrophobic peptides. The assay was developed with modification of HLA expression assay (Miyadera, H., et al. 2015. J Clin Invest). In the HLA-peptide expression assay, the expression construct was designed as described in Kozono et al. (Nature 1994), with modification. Briefly, the HLA-DPB1 was expressed in fusion with peptide by inserting nucleotide sequences that encode HBs or HBC-peptides or negative control peptides between the signal sequence of *HLA-DQB1*06:02* and the mature protein region of *HLA-DPB1* via linkers (SGG and GGGGSIEGRGGGSGSA) at the N and C termini of the peptide, respectively). The *HLA-DPA1*-his-tag and *HLA-DPB1* (+peptide)-Strep-tag II were inserted into the pMXs-puro and pMXs-IG vectors, respectively. The retroviruses particles containing pMXs-puro/*DPA1* and pMXs-IG/*DPB1* were generated using PLAT-E cells as packaging cells (pMXs vectors and Plat-E cells were the gifts from T. Kitamura (The University of Tokyo, Institute of Medical Sciences)). *HLA-DPA1*-stable cells were established through the transduction of NIH3T3 cells with a retrovirus containing pMXs-puro/*DPA1* and selection with puromycin (6 µg/ml). The *DPA1*-stable cells were transduced with a retrovirus containing pMXs-IG/*DPB1*. Forty-eight hours after transduction, GFP and cell-surface MHC (in GFP-positive cells) levels were measured by flow cytometry using anti-HLA II β mAb or isotype control with phycoerythrin-conjugated anti-mouse IgG. The MFI for GFP and MFI for MHC were used to calculate the increase in HLA expression relative to GFP. The ratio of HLA expression relative to GFP was used as an indicator of HLA-peptide interaction. Using this assay, we have screened the entire HBs and HBC antigens for the binding to HLA-DP.

3. Expression of MHC tetramer:

To identify T-cells that recognize certain MHC-peptide complexes, we next attempted to prepare MHC tetramers. MHC tetramer is usually generated through tetramerization of soluble MHC protein with peptide and used for the detection of antigen-specific T-cells through flow cytometry. The MHC tetramers for MHC/HLA class I can be generated through large scale production in bacteria followed by refolding. However, generation of recombinant proteins for MHC/HLA class II are not efficiently achievable in bacterial expression system and are usually generated in insect cells and mammalian cells. We previously attempted to prepare MHC tetramers using insect and murine cell lines but the level of expression was limited (data not shown). Therefore, we used alternative methods, which is a large-scale transfection (electroporation) of tetramer expression vectors into mammalian cells and transient expression. In this expression system, it has been shown that protein of interest can be expressed at the orders of mg or gram. To verify whether this expression system is applicable for HLA tetramer expression, we first generated tetramer expression construct for HLA-DQ0602 in fusion with hypocretin peptide, for which the crystallographic structure has already been reported. The soluble region of HLA-DQA1 was fused with Acidic zipper (AZ) and BirA at the C-terminus. The soluble region of HLA-DQB1 were fused with Basic zipper (BZ) and His-tag at the C-terminus. These constructs were inserted into pMXs plasmid and pIRES plasmids (BD Biosciences), which express the gene of interest under LTR or CMV promoters, respectively. We then established ELISA assay to monitor HLA protein levels in cell culture medium. The plasmids were prepared at mg scale and used for electroporation of host cells (2×10^8 cells). The level of the soluble recombinant HLA protein secreted in the medium was monitored up to 9 days post transfection by ELISA. Among the two different promoters that were

tested in this study, one of the promoter showed higher expression levels than the other, however, none of the expression constructs secreted sufficient amounts of soluble HLA proteins in the medium.

The possible reasons for the low expression of HLA tetramers in this experiment would be the following. First, the ELISA used for detection of HLA expression was not sensitive enough. Because the ELISA for the detection of HLA-DP was not commercially available, we established in-house ELISA. Further modification of the ELISA would be necessary to improve the sensitivity. Second, the signal sequence that was used in the current experiment may not be appropriate for the cell lines used. The use of other signal sequences that have been proven to be useful in this expression system may increase the expression and secretion of HLA in the medium. Third, it would be possible to increase the expression levels using other promoters. To improve HLA protein expression, it would be also necessary to reconsider the expression host and expression constructs.

4. Search for T-cell epitopes:

Because MHC tetramer preparation was not successful, we reconsidered the method by which to detect T-cell epitopes. To this end, we are currently preparing cell lines that stably express HLA-DP-peptide complex for the HBs and HBc peptides that showed strong binding to HLA-DP. These cell lines will be used as antigen presenting cells in the T-cell assay or ELISPOT assay to identify potential T-cell epitope regions in HBs. By identifying the HBs antigen regions that are important for activation of T-cells and production of neutralizing antibodies against HBV, it would become possible to elucidate molecular basis of the key immunological responses against HBV.

課題番号 27指1303 (主任研究者:宮寺 浩子)

研究課題名 慢性B型肝炎の病態変動を検出するためのT細胞染色試薬の開発

目的 :

- ・ HLA-DP拘束性HBV抗原ペプチド (T細胞エピトープ) を認識する抗原特異的T細胞を同定することにより、B型肝炎に対する免疫応答機序を解明する。
- ・ 抗原特異的T細胞を染色するための試薬(HLAテトラマー)を開発し、B型肝炎の様々な病態でのT細胞の動態を明らかにする。

研究計画概要 / 進捗状況 :

1. HLA-DP提示HBV抗原の同定

達成目標 : HLA-DPアリル拘束性T細胞エピトープをHBs, HBc抗原から同定する。 → 1. 順調に進展した。

2. T細胞染色試薬作成

達成目標 : T細胞染色試薬(HLAテトラマー)の大量調製系を確立する。

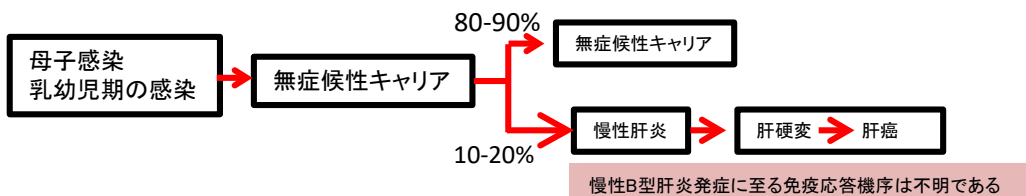
→ 技術的な課題があり計画を一部変更した。HLAテトラマーに代わる方法としてHLA-抗原複合体の安定発現株 (抗原提示細胞) のパネルを作成し、これを用いたT細胞染色を行うこととした。

3. B型肝炎検体におけるT細胞染色

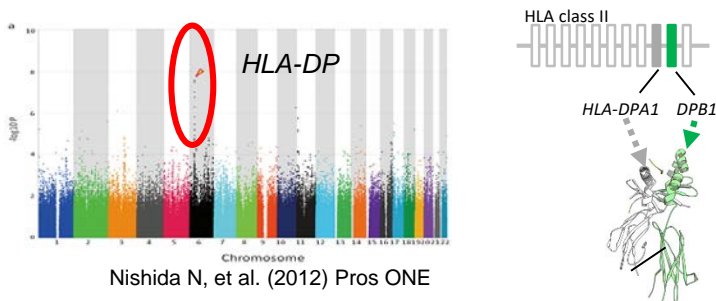
達成目標 : HLA-DP拘束性HBV反応性CD4陽性T細胞を同定する。

→ 当初の計画を一部変更して進めることとした。T細胞エピトープ探索を行うための、HLA-抗原複合体の安定発現株 (抗原提示細胞) の作成を開始した。

背景 1 : B型肝炎慢性化の感受性には個人差があるが要因・機序は不明である



背景 2 : B型肝炎慢性化抵抗性・感受性とHLAクラスIIとの関連が見出された



DPA1-DPB1 haplotypes	Abbreviations	phenotype	OR	P
DPA1*01:03-DPB1*04:02	DP0402	Protective	0.37	1.95×10^{-7}
DPA1*01:03-DPB1*04:01	DP0401	Protective	0.32	1.17×10^{-6}
DPA1*01:03-DPB1*02:01	DP0201	Protective	0.71	0.004
DPA1*02:02-DPB1*03:01	DP0301	neutral	1.15	-
DPA1*02:02-DPB1*05:01	DP0501	Susceptible	1.51	-
DPA1*02:01-DPB1*09:01	DP0901	Susceptible	1.95	3.38×10^{-6}

Modified from Nishida, Sawai et al. 2014 PLoS One

慢性B型肝炎とHLA-DPとの関連

Kamatani et al. 2009 Nat Genet; Nishida et al. 2013 PLoS One;
Nishida, Sawai et al. 2014 PLoS One

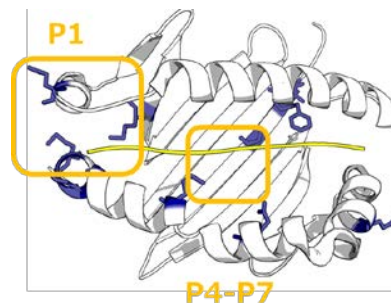
慢性B型肝炎とHLA-DR, -DQとの関連

Mbarek et al. 2011 Hum Mol Genet; Miki et al. 2013 PLoS
One; Nishida et al. 2016 Sci Report

背景 3 : HLAクラスIIがB型肝炎慢性化の抑制、促進に関わる機序は不明である



背景4 : B型肝炎慢性化抵抗性・感受性と関連するHLA-DPB1アレルは抗原結合部位に多型性を持つため提示抗原が異なると推測される



DPB1

	8	9	11	35	36	55	56	57	65	69	76	84	85	86	87
DPB1*0402	L	F	G	F	V	D	E	E	I	K	M	G	G	P	M
DPB1*0401	A	A	A
DPB1*0201	E
DPB1*0301	V	Y	L	D	L	.	V	D	E	A	V
DPB1*0501	.	.	.	L	.	E	A	.	.	.	D	E	A	V	.
DPB1*0901	V	H	L	D	.	E	V	D	E	A	V

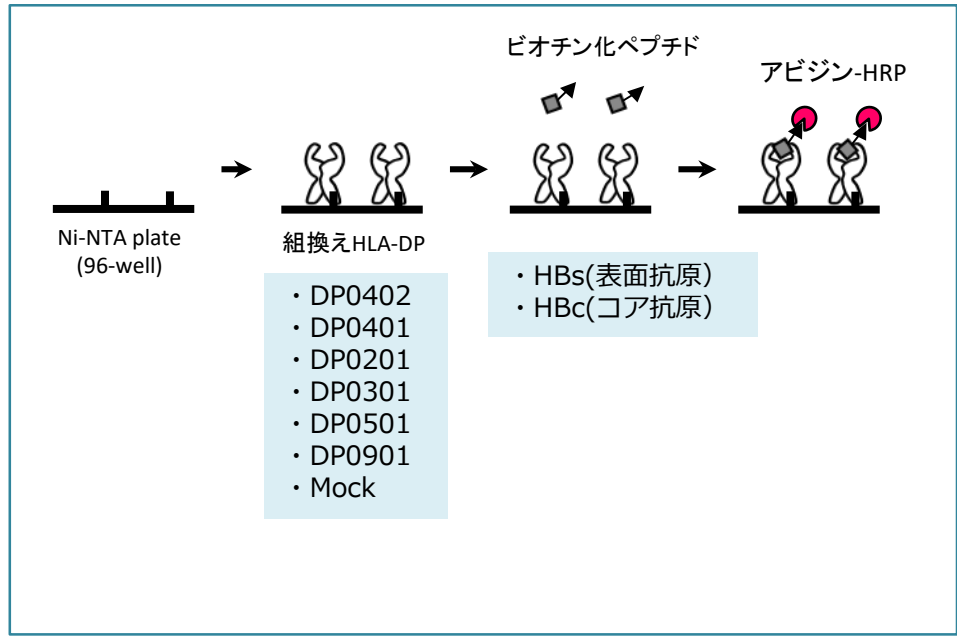
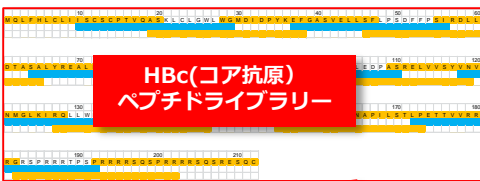
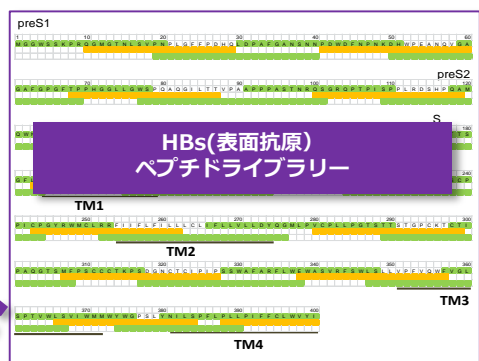
抵抗性

感受性

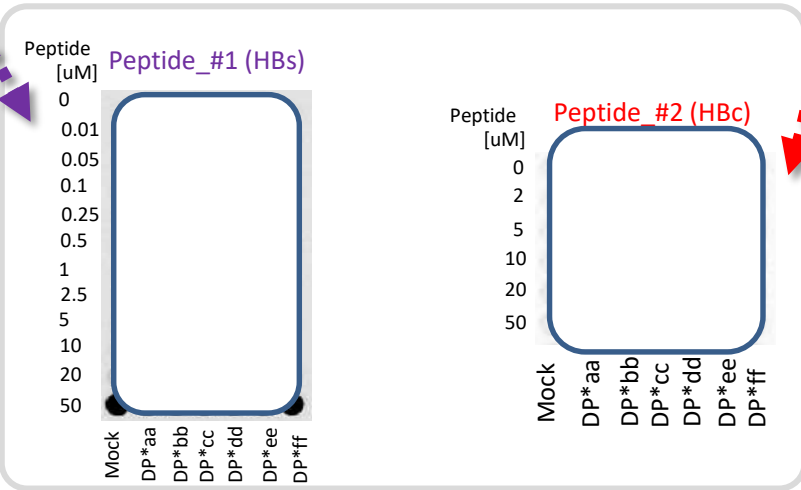
結果 1 - 1 HLA-DP提示HBV抗原の同定

HLA-ペプチド結合解析法を確立し、HBs, HBcライブラリーからHLA-DPアリル特異的に結合する領域を見出した。

① 組換えHLAタンパク質を用いたHLA-ペプチド結合測定法を確立し、HLA-DP結合HBV抗原ペプチドを同定した (データ非開示)



組換えHLAを用いたペプチド結合アッセイ (C. Chen, manuscript in preparation)



manuscript in preparation

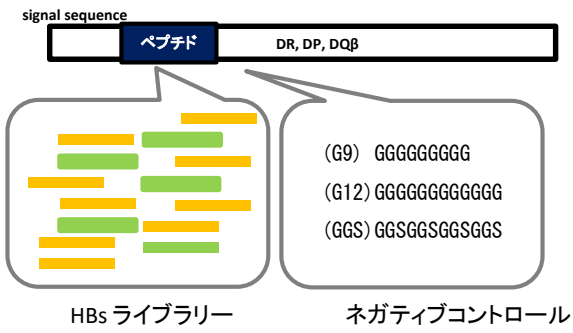
結果 1 - 2 HLA-DP提示HBV抗原の同定

「HLA-ペプチド発現アッセイ」を構築し、HBs, HBc全領域からHLA提示領域を見出した

HLA発現アッセイの概要

(Miyadera, et al. 2015 J. Clin. Invest. を改変)

① HLA-DPをHBsと融合

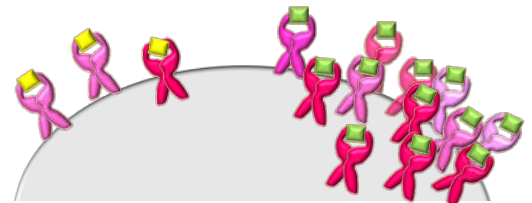


② 線維芽細胞株で表面発現

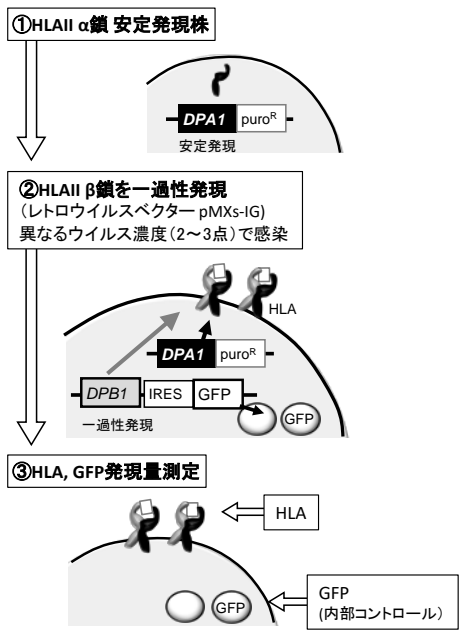
x1 表面発現量の定量 (ネガティブコントロール配列に対して何倍発現上昇しているか) **x4**

ネガティブコントロール配列 **DP5-g9** 弱い結合

HBs ペプチド **DP5-HBs (p50)** 強い結合



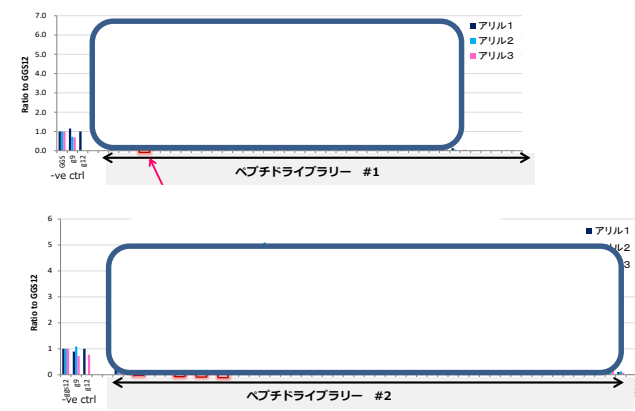
アッセイ系の詳細



Miyadera, 臨床免疫学会会報(2017)

HLA発現アッセイによる、HLA-DP結合スクリーニング結果

(HBs, HBcペプチドライブラリー) (データ非開示)



manuscript in preparation

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 27指1303

研究課題名： 慢性B型肝炎の病態変動を検出するためのT細胞染色試薬の開発

主任研究者名： 宮寺浩子

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
HLAクラスII結合ペプチドの探索・同定法の開発	宮寺浩子、野口恵美子、溝上雅史、徳永勝士	臨床免疫学会会誌	40(1)	2017年

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
HLA-DP提示B型肝炎ウイルス抗原ペプチドの探索	岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 宮寺浩子, 徳永勝士, 溝上雅史	第24回 日本組織適合性学会大会	水戸市	2015年 9月
Screening of the HLA-DP binding peptides from the HBV surface and core antigens	岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 宮寺浩子, 徳永勝士	第44回日本免疫学会学術集会	札幌市	2015年 11月
A large scale screening of HLA-binding peptides from HBs and HBc peptide libraries	宮寺浩子、岡部由紀、Cindy Chia-Jung Chen、徳永勝士、溝上雅史	第25回アジア太平洋肝臓病学会議年次総会	東京	2016年 2月
Stability profiling of HLA class II protein for disease association studies	Miyadera, J. Ohashi, and K. Tokunaga	The 13th International Congress of Human Genetics	京都	2016年 4月
A large scale screening of HLA-class II-binding peptides from HBs and HBc peptide libraries	Miyadera H, Okabe Y, Chen C, Tokunaga K, Mizokami M	The American Association of Immunologist (AAI) annual meeting	米国	2016年 5月
HLA-DP提示HBs、HBc抗原領域の探索	宮寺浩子、岡部由紀、Cindy Chia-Jung Chen、徳永勝士、考藤達哉、溝上雅史	第52回 日本肝臓学会総会	幕張	2016年 5月
HLA class II protein stability and disease susceptibility.	Miyadera, J. Ohashi, and K. Tokunaga	16th International Congress of Immunology	豪州	2016年 8月
HLA結合ペプチドの大規模探索法の開発	宮寺浩子、徳永勝士、野口恵美子	第44回 日本臨床免疫学会総会	東京	2016年 9月
HLAクラスII提示B型肝炎ウイルス抗原領域の探索	宮寺浩子、岡部由紀、Cindy Chia-Jung Chen、徳永勝士、溝上雅史	第25回 日本組織適合性学会大会	札幌	2016年 10月
Large scale analysis of HLA-peptide interactions	H. Miyadera, Y. Okabe, K. Tokunaga, E. Noguchi	66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics	カナダ	2016年 10月
HLAクラスII結合ペプチドの網羅的解析法の開発	宮寺浩子、野口恵美子、徳永勝士、溝上雅史	日本人類遺伝学会第62回大会	神戸	2017年11月1日

研究発表及び特許取得報告について

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。