

Title	消化管におけるChAT陽性免疫細胞を介した神経免疫連関の解明と新規IBD治療法の開発
Sub Title	Elucidation of ChAT-positive immune cell-mediated neuroimmune interactions in the gastrointestinal tract and development of novel IBD therapies.
Author	三上, 洋平(Mikami, Yohei)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>炎症性腸疾患(IBD)は、原因不明の慢性、難治性の消化管炎症性疾患である。分子標的療法の開発による治療成績の向上にも関わらず、未だ根治療法は存在せず、腸管粘膜免疫制御機構の解明と根治的治療法の開発は急務である。近年、我々を含む研究グループで、神経伝達物質を介した免疫細胞の調節機構の重要性が示された。さらに、異所性神経伝達物質産生細胞の存在も明らかとなりつつある。本研究では、腸炎モデルマウスを用いて、腸管ChAT細胞を1細胞遺伝子発現解析法(scRNA-seq)を用いて解析し、腸炎に伴って出現するアセチルコリン(ACh)産生性免疫細胞の同定と、制御機構の解明、新たな炎症性腸疾患治療ターゲットの探求を目指す。</p> <p>まず、マウス腸管粘膜固有層より白血球を抽出し、FlowcytometryによりCD45+ChAT(tdTomato)陽性および陰性分画(ChAT pos/ChAT neg細胞)を同定した。次に、DSS誘引大腸炎モデルを用いて検討したところ、ChAT pos細胞の著明な増加を認めた。腸炎状態において増加するChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT neg細胞単離し、得られたChAT pos/neg細胞を用いて、Chromium system (10x Genomics)を用いて、細胞ごとにRNA抽出、cDNA合成を行い、scRNA-seqのライプラリ作成を行った。Sequence後に、Seuratパッケージを用いてデータ解析を行ったところ、腸管内におけるChAT pos細胞の多くは、2型自然リンパ球(ILC2)およびB細胞系であることが明らかとなった。次に、腸炎状態のILC2の機能解析を行うために、ILC2を腸炎群、コントロール群より単離し、網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、腸炎群のILC2では1型インターフェロン(T1IFN)によって誘導される遺伝子群 (ISGs) の集積を認め、ILC2はin vitroにおいてT1IFN 刺激により腸炎抑制的に働く成長因子であるAmphiregulinを産生を誘導し、腸炎抑制効果を有する考えられた。</p> <p>Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic, refractory gastrointestinal inflammatory disease of unknown cause. Despite improved outcomes with the development of molecularly targeted therapies, there is still no curative therapy, and there is an urgent need to elucidate the mechanisms of intestinal mucosal immune regulation and develop curative therapies. In recent years, research groups including ours have demonstrated the importance of neurotransmitter-mediated immune cell regulatory mechanisms. Furthermore, the existence of ectopic neurotransmitter-producing cells is becoming clear. In this study, intestinal ChAT+ cells will be analysed using a mouse model of intestinal inflammation using a single-cell gene expression assay (scRNA-seq) to identify acetylcholine (ACh)-producing immune cells that emerge with intestinal inflammation, to elucidate their regulatory mechanisms and to explore new therapeutic targets for inflammatory bowel disease.</p> <p>First, CD45+ChAT (tdTomato) positive and negative fractions (ChAT pos/ChAT neg cells) were isolated and the ChAT pos/neg cells were used for scRNA-seq analysis by using the Chromium system (10x Genomics). Sequence followed by data analysis using the Seurat package revealed that ChAT pos cells in the intestinal tract were comprised by lymphocytes, not myeloid cells, such as type 2 innate lymphocyte (ILC2). Next, in order to analyse the function of ILC2 in the intestinal inflammatory state, ILC2 was isolated from the intestinal inflammatory group and the control group, and comprehensive gene expression analysis showed that ILC2 in the intestinal inflammatory group accumulated a group of genes (ISGs) induced by type 1 interferon (T1IFN). Neutralization of T1IFN signaling during DSS-induced colitis deteriorated colitis, suggesting that ILC2 has a protective role on keeping gut homeostasis through T1IFN signaling.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220244

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	准教授	補助額	1,000 (特A)千円
	氏名	三上 洋平	氏名（英語）	YOHEI MIKAMI		

研究課題（日本語）

消化管における ChAT 陽性免疫細胞を介した神経免疫連関の解明と新規 IBD 治療法の開発

研究課題（英訳）

Elucidation of ChAT-positive immune cell-mediated neuroimmune interactions in the gastrointestinal tract and development of novel IBD therapies.

1. 研究成果実績の概要

炎症性腸疾患(IBD)は、原因不明の慢性、難治性の消化管炎症性疾患である。分子標的療法の開発による治療成績の向上にも関わらず、未だ根治療法は存在せず、腸管粘膜免疫制御機構の解明と根治的治療法の開発は急務である。近年、我々を含む研究グループで、神経伝達物質を介した免疫細胞の調節機構の重要性が示された。さらに、異所性神経伝達物質産生細胞の存在も明らかとなりつつある。本研究では、腸炎モデルマウスを用いて、腸管 ChAT 細胞を 1 細胞遺伝子発現解析法 (scRNA-seq) を用いて解析し、腸炎に伴って出現するアセチルコリン(ACh)産生性免疫細胞の同定と、制御機構の解明、新たな炎症性腸疾患治療ターゲットの探求を目指す。

まず、マウス腸管粘膜固有層より白血球を抽出し、Flowcytometry により CD45+ChAT(tdTomato)陽性および陰性分画(ChAT pos/ChAT neg 細胞)を同定した。次に、DSS 誘引大腸炎モデルを用いて検討したところ、ChAT pos 細胞の著明な増加を認めた。腸炎状態において増加する ChAT pos 細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT neg 細胞単離し、得られた ChAT pos/neg 細胞を用いて、Chromium system (10x Genomics) を用いて、細胞ごとに RNA 抽出、cDNA 合成を行い、scRNA-seq のライブラリ作成を行った。Sequence 後に、Seurat パッケージを用いてデータ解析を行ったところ、腸管内における ChAT pos 細胞の多くは、2型自然リンパ球 (ILC2) および B 細胞系であることが明らかとなった。次に、腸炎状態の ILC2 の機能解析を行うために、ILC2 を腸炎群、コントロール群より単離し、網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、腸炎群の ILC2 では 1型インターフェロン(T1IFN)によって誘導される遺伝子群 (ISGs) の集積を認め、ILC2 は *in vitro* において T1IFN 刺激により腸炎抑制的に働く成長因子である Amphiregulin を産生を誘導し、腸炎抑制効果を有する考えられた。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic, refractory gastrointestinal inflammatory disease of unknown cause. Despite improved outcomes with the development of molecularly targeted therapies, there is still no curative therapy, and there is an urgent need to elucidate the mechanisms of intestinal mucosal immune regulation and develop curative therapies. In recent years, research groups including ours have demonstrated the importance of neurotransmitter-mediated immune cell regulatory mechanisms. Furthermore, the existence of ectopic neurotransmitter-producing cells is becoming clear. In this study, intestinal ChAT+ cells will be analysed using a mouse model of intestinal inflammation using a single-cell gene expression assay (scRNA-seq) to identify acetylcholine (ACh)-producing immune cells that emerge with intestinal inflammation, to elucidate their regulatory mechanisms and to explore new therapeutic targets for inflammatory bowel disease.

First, CD45+ChAT (tdTomato) positive and negative fractions (ChAT pos/ChAT neg cells) were isolated and the ChAT pos/neg cells were used for scRNA-seq analysis by using the Chromium system (10x Genomics). Sequence followed by data analysis using the Seurat package revealed that ChAT pos cells in the intestinal tract were comprised by lymphocytes, not myeloid cells, such as type 2 innate lymphocyte (ILC2). Next, in order to analyse the function of ILC2 in the intestinal inflammatory state, ILC2 was isolated from the intestinal inflammatory group and the control group, and comprehensive gene expression analysis showed that ILC2 in the intestinal inflammatory group accumulated a group of genes (ISGs) induced by type 1 interferon (T1IFN). Neutralization of T1IFN signaling during DSS-induced colitis deteriorated colitis, suggesting that ILC2 has a protective role on keeping gut homeostasis through T1IFN signaling.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
Irie E, Ishihara R, Mizushima I, Hatai S, Hagiwara Y, Takada Y, Tsunoda J, Iwata K, Matsubara Y, Yoshimatsu Y, Kiyohara H, Taniki N, Sujino T, Takabayashi K, Hosoe N, Ogata H, Teratani T, Nakamoto N, Mikami Y, Kanai T.	Enrichment of type I interferon signaling in colonic group 2 innate lymphoid cells in experimental colitis.	Front Immunol.	2022 Oct 4:13:982827. doi: 10.3389/fimmu.2022.982827.