Sub Title Elucidation of ChAT-positive immune cell-mediated neuroimmune interactions in the gastrointestinal tract and development of novel IBD therapies.  Author フェルギア(Mikami, Yohe)  Dublisher 医療養数大学  Publication year  Jitile 李斯興資金研究成果実練報告書 (2022.)  Jal C DOI  Abstract		tory of Academic resouces				
Sastrointestinal tract and development of novel IBD therapies.   2月	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				
Publisher 型の203  Jatic DOI  Abstract グ症性陽疾患(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り接近側が関連機構の解明となりつかる。本研究では、肺炎モデルマウスを用いて、肺管CNAT細胞を1細胞遺伝子発理解析法(scRNA-seq)を用いて解析し、肺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足と、制御機構の解明、新たな炎症性陽疾患治療ターゲットの探求を目指す。まず、マウス陽管粘膜固有層より白血球を抽出し、FlowcytometryによりCD45+ChAT(IdTomato)陽性および陰性分薬(ICAT) pos/ICNAT neg細胞を目を見たした。次に、DSS誘引大腸炎モデルを用いて検討したところ、ChAT pos/IBMの等限な対象と配かたいる。大の58111111111111111111111111111111111111	Sub Title	·				
### Justice 2023  ### Decided The Company of The	Author	三上, 洋平(Mikami, Yohei)				
Jittle 学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)  Abstract 炎症性陽疾患(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、未だ視治療法は存在せず、腸管粘膜免疫制御機構の解明と根治的治療法の開発に急機である。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順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を介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組胞遺伝子発現解析法(scRNA-seo)を用いて解析し、腸炎に伴って出現するアセナルコリン(ACD)を規格的質定と、射御機構の解明、新たな炎症性陽疾患治療ターゲットの探求を目指す。まず、マウス陽管粘膜固有層より自血球を抽出し、FlowcytometryによりCD45+ChAT(tdTomato)陽性および陰性分流の(ChAT pos/ChAT neg細胞半層し、得られたChAT pos細胞の複形は所がため、ChAT pos/ChAT neg細胞を開し、そられたChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT neg細胞を開し、そられたChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT neg細胞を割し、そのたい、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、陽管内におけるChAT pos細胞の多くは、2型自然リンパ状にした。2を腸炎群、コントロール群より単単し、細菌がは関係が多で行ったところ、腸炎群の川に2では12型インターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群の川に2では12型インターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群の川に2では12型インターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群の川に2では12型インターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群のいに2位は12世イシターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群の川に2では12型イシターフェロノ(THFN)によって誘導される遺伝子発は解析を行ったところ、腸炎群の川に2では12型イターフェロノ(THFN)により腸炎抑制が生物でありを接近を変化がある場が表的が表が表が表が表が表が表があるが表が表が表が表が表が表が表が表が表が表が表が表が	Publisher					
Juitle 学事振興資金研究成果実練報告書 (2022.)  Abstract 炎症性陽疾患(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何上にも関わらず、未だ視治療法は存在せず、腸管粘膜免疫制御機構の解明と担治的治療法の開発に急感である。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関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るある。本研究では、腸炎モデルマウンを用いて、腸管ChAT細胞を指胞遺伝デル発卵析法(scR7KA)を実の含用して解析し、腸炎モデルマウンを用いて、腸管ChAT細胞を指胞遺伝デル表明解析法(scR7KA)を実の含用して解析し、腸炎モデルマウンを用いて、腸管ChAT細胞を指胞遺伝デル表明制度によるが発生性陽疾患治療ターゲットの探求を目指す。まず、マウス陽電洗師園有層より自血球を抽出し、FlowcytometryによりCD45+ChAT(IdTomato)陽性および陰性分画(ChAT pos/ChAT nep細胞単期し、得られたChAT pos細胞の関語な形成である。ChAT pos/EhAT nep細胞の機能所がのため、ChAT pos/ChAT nep細胞を開して、次に、DSS誘引大陽炎モデルを用いて検討したところ、ChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT nep細胞単期し、得られたChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT nep細胞単型し、得られたChAT pos細胞の機能解析のため、ChAT pos/ChAT nep細胞単型し、場られたのAT pos細胞の機能系でいた。ころ、陽変性の上でで、最後が性の10と20機能解析を行うたところ、腸炎群の11と20は12年でインターフェロノで11FINによって誘導される遺伝子発り区分の変性解析を行うため、ILC2 には1型インターフェロノで11FINによって誘導される遺伝子発り区分の実験を影響し、IC2はin vitroにおいてTIFIN 刺激により腸炎抑制の医へ成長因子であるAmphiregulinを産生を誘導し、腸炎抑制効果を有する考えられた。 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 our have demonstrated the importance of neutransmitter-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 to the reveled that ChAT pos cells in the 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 solated and the ChAT pos regis in the intestinal inflammatory group accumulated a group of genes (ISCS) induced by type 1 interfe	Publication year					
Abstract						
### Abstract	JaLC DOI	,				
Genre Research Paper	Abstract	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を介した免疫細胞の調節機構の雇用いて解析し、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自血球を抽出し、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/細胞の碧明な増加を認めた。腸炎状態において増加するChAT pos/mea細胞を開いて、ChaT pos/mea細胞を開いて、ChAT pos/mea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バッケージを用いて、ア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型自然リンバ球(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。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 ansay (scRNA-seq) to identify acety/choline (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				
URI https://koara.lih.kejo.ac.ip/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara.id=2022000010-20220244						
Tittps://todia.iib.itcio.do.gp/xconips/moducs/xconips/detail.prip:/todia_id=202200010-20220244	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.

# 2022 年度 学事振興資金 (個人研究) 研究成果実績報告書

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		1,000 (1 <del>1</del> 1A) T F1

#### 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)				
I, Hatai S, Hagihara Y, Takada		Front Immunol.	2022 Oct 4;13:982827. doi: 10.3389/fimmu.2022.982827.				