

Title	免疫老化制御因子Nr4aによるNASH病態形成機構の解明
Sub Title	The mechanisms of NASH by immunosenescence regulator, Nr4a family
Author	安藝, 大輔(Aki, Daisuke)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	研究代表者はこれまでに、核内因子Nr4aが老化関連T細胞の発生に重要な役割を担うこと、加齢に伴い増加する非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) のマウスモデルにおいて、T細胞特異的Nr4a1/2二重欠損マウス (以下DKOマウス) がNASHに抵抗性を示すことを見出した。DKOマウスでは制御性T細胞 (Tregs) が増加し、炎症性単球などを介した炎症応答や引き続き起こる肝細胞死が抑制されること、あるいは組織修復が促されることが示唆された。 本年度はNASH肝臓Tregsの詳細な形質を解明するためにシングルセルレベルでの遺伝子発現解析を進めた。その結果、DKOマウスでは免疫抑制活性をもつIL-10+TIGIT+Tregsの比率が増加していた。一方で、組織修復活性を有するAmphiregulin+Tregsの割合はむしろ減少していた。TCRシーケンス解析を実施したところ、DKOマウスでは複数のT細胞クローンの増殖が認められ、これらはいずれもIL-10+TIGIT+Tregsであった。また、Nr4aの強制発現はin vitroにおけるTregsの増殖を顕著に抑制した。そこで、NASHに伴いNr4aによるIL-10+TIGIT+Tregsの増殖が制御される分子メカニズムを明らかにするため、疑似時間によるtrajectory解析を実施した。その結果、Batfが当該Tregsの発生に関与している可能性が考えられた。実際、Batfを導入したTregsはin vitroにて細胞増殖の促進を示した。重要なことにDKO TregsにおけるBatfのノックダウンはTregsの増殖を抑制した。 以上の結果より、NASHにおいて誘導されるNr4aはBatfの発現を抑制することによりTregsの増殖を負に制御し、NASHの病態形成を促進することが明らかになった。本研究課題より得られた知見はNASH病態形成におけるTregsの重要性和、Nr4aがNASH治療の有効な標的となりうる可能性を示唆している。なお2021年度より学事振興資金によって支援を受けた本研究の成果は国際学術誌に投稿され、査読審査を経て現在、論文の追加・修正を実施中である。 Nonalcoholic steatohepatitis (NASH), the aggressive form of nonalcoholic fatty liver disease, substantially increases the risk of the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, the cellular and molecular mechanisms underlying regulation of NASH pathology by CD4 T cell mediated adaptive immune responses remain largely unexplored. We observed an increase of Nr4a family of orphan nuclear receptors expression in intrahepatic T cells from mice with diet-induced NASH. The loss of Nr4a1 and Nr4a2 (DKO) in T cell led to the amelioration of NASH in mice, coinciding with marked expansion of hepatic Tregs. Combined single cell RNA transcriptomic and TCR sequencing analysis uncovered that intrahepatic DKO Tregs exhibited enhanced TIGIT and IL10 expression and were clonally expanded during NASH progression. Mechanistically, we found that DKO Tregs expressed high levels of Batf which promotes Treg cell proliferation upon TCR stimulation. Altogether, our findings not only provide an insight into the impact of intrahepatic Treg cells on NASH pathogenesis, but also suggest a therapeutic potential of targeting of Nr4a family to treat the disease.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230284

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.

2023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	医学部基礎教室	職名	助教（有期・医学部）	補助額	500千円 （特B）
	氏名	安藝 大輔	氏名（英語）	DAISUKE AKI		
研究課題（日本語）						
免疫老化制御因子Nr4aによるNASH病態形成機構の解明						
研究課題（英訳）						
The mechanisms of NASH by immunosenescence regulator, Nr4a family						
1. 研究成果実績の概要						
研究代表者はこれまでに、核内因子Nr4aが老化関連T細胞の発生に重要な役割を担うこと、加齢に伴い増加する非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）のマウスモデルにおいて、T細胞特異的Nr4a1/2二重欠損マウス（以下DKOマウス）がNASHに抵抗性を示すことを見出した。DKOマウスでは制御性T細胞（Tregs）が増加し、炎症性単球などを介した炎症応答や引き続き起こる肝細胞死が抑制されること、あるいは組織修復が促されることが示唆された。 本年度はNASH肝臓Tregsの詳細な形質を解明するためにシングルセルレベルでの遺伝子発現解析を進めた。その結果、DKOマウスでは免疫抑制活性をもつIL-10+TIGIT+Tregsの比率が増加していた。一方で、組織修復活性を有するAmphiregulin+Tregsの割合はむしろ減少していた。TCRシーケンス解析を実施したところ、DKOマウスでは複数のT細胞クローンの増殖が認められ、これらはいずれもIL-10+TIGIT+Tregsであった。また、Nr4aの強制発現はin vitroにおけるTregsの増殖を顕著に抑制した。そこで、NASHに伴いNr4aによるIL-10+TIGIT+Tregsの増殖が制御される分子メカニズムを明らかにするため、疑似時間によるtrajectory解析を実施した。その結果、Batfが当該Tregsの発生に関与している可能性が考えられた。実際、Batfを導入したTregsはin vitroにて細胞増殖の促進を示した。重要なことにDKO TregsにおけるBatfのノックダウンはTregsの増殖を抑制した。 以上の結果より、NASHにおいて誘導されるNr4aはBatfの発現を抑制することによりTregsの増殖を負に制御し、NASHの病態形成を促進することが明らかになった。本研究課題より得られた知見はNASH病態形成におけるTregsの重要性と、Nr4aがNASH治療の有効な標的となりうる可能性を示唆している。なお2021年度より学事振興資金によって支援を受けた本研究の成果は国際学術誌に投稿され、査読審査を経て現在、論文の追加・修正を実施中である。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
Nonalcoholic steatohepatitis (NASH), the aggressive form of nonalcoholic fatty liver disease, substantially increases the risk of the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, the cellular and molecular mechanisms underlying regulation of NASH pathology by CD4 T cell mediated adaptive immune responses remain largely unexplored. We observed an increase of Nr4a family of orphan nuclear receptors expression in intrahepatic T cells from mice with diet-induced NASH. The loss of Nr4a1 and Nr4a2 (DKO) in T cell led to the amelioration of NASH in mice, coinciding with marked expansion of hepatic Tregs. Combined single cell RNA transcriptomic and TCR sequencing analysis uncovered that intrahepatic DKO Tregs exhibited enhanced TIGIT and IL10 expression and were clonally expanded during NASH progression. Mechanistically, we found that DKO Tregs expressed high levels of Batf which promotes Treg cell proliferation upon TCR stimulation. Altogether, our findings not only provide an insight into the impact of intrahepatic Treg cells on NASH pathogenesis, but also suggest a therapeutic potential of targeting of Nr4a family to treat the disease.						
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）			