

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08889

研究課題名(和文)炎症シグナルTRAF6とその標的分子CCL20, SLPIが制御する腸炎の解明

研究課題名(英文)Physiological role of TRAF6, CCL20 and SLPI in the regulation of intestinal homeostasis

研究代表者

小林 隆志 (Kobayashi, Takashi)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：30380520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの研究で、T細胞および腸上皮細胞においてアダプター分子TRAF6を介するシグナルが腸管組織の恒常性維持に機能していることが示唆された。そこで、腸上皮細胞でTRAF6シグナルにより発現制御を受けるケモカインCCL20及びプロテアーゼ阻害活性タンパク質SLPIに着目し、それらの欠損マウスの腸管組織を解析した。SLPI欠損マウスにDSSで腸炎を誘導すると、その病態は野生型マウスより悪化した。CCL20欠損マウスは、小腸パイエル板が矮小化しており、Lin(-), ROR- γ t(+), CCR6(+)のLTi様ILC3の割合が半分に減少していたことから、この細胞の遊走制御が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TRAF6シグナルによって腸上皮細胞から誘導されるSLPIが、腸管組織における恒常性の維持に重要であることが遺伝子改変マウスの解析から明らかになった。すなわち、SLPIはプロテアーゼ阻害活性により過剰な炎症反応で生じる組織損傷に対して腸管組織を保護していることが示唆された。また、ケモカインCCL20の遺伝子欠損マウスはパイエル板の形成不全と中へのILC3の遊走障害、さらには腸内細菌叢の偏重が認められたことから、CCL20も腸管組織における恒常性の維持に重要であることが示された。腸管組織の恒常性維持に働く分子の機能解明により、今後のヒト腸疾患の予防法・治療法の開発に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Previous studies have suggested that signals mediated by the adapter molecule TRAF6 in T cells and intestinal epithelial cells function to maintain homeostasis of intestinal tissues. Therefore, we focused on chemokine CCL20 and secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), whose expression is regulated by TRAF6 signal in intestinal epithelial cells, and analyzed the intestinal tissues in mice deficient for these molecules. SLPI-deficient mice showed a severe phenotype of DSS-induced colitis compared to that in wild-type mice. Peyer's patches from CCL20-deficient mice were smaller, showing a lower number of Lin(-), ROR- γ t(+) and CCR6(+) LTi-like ILC3 than those from WT animals suggesting that CCL20 regulates the migration of ILC3 into the Peyer's patches.

研究分野：免疫学

キーワード：TRAF6 CCL20 SLPI 腸炎 パイエル板

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患 (IBD) は、難治性の慢性腸炎であり、我が国でも年々その患者数は増加している。IBD 患者の腸管組織では、炎症性サイトカイン IL-17 の発現が亢進していることが明らかになっており、近年、IL-17 産生性ヘルパー T 細胞である Th17 細胞がその増悪因子として注目されている¹⁻²⁾。一方で、Th17 細胞の中には制御性 Th17 細胞が存在し、腸管組織での恒常性の維持に機能しているという報告もあり³⁾、炎症性腸疾患と Th17 細胞の関係については現在も議論されている。これまで、Th17 細胞の腸管での分化・誘導に関する報告は数多くあり、腸内細菌やその代謝物が重要であることが明らかにされてきたが、Th17 細胞の腸管への遊走・定着に関する報告は少ない。さらに、免疫応答を抑制する制御性 T 細胞も腸管組織の恒常性維持に重要であるが、腸管への遊走のメカニズムは不明な点が残されている。

我々はこれまでに、シグナル伝達分子 TNF receptor associated factor 6 (TRAF6) の T 細胞における機能解析を行い、T 細胞特異的に TRAF6 を欠損したマウス (CD4-Cre:TRAF6flox/flox マウス) が腸炎を自然発症することを明らかにしてきた (Nat Med 2006)。また、Vlantis らは腸上皮細胞特異的に TRAF6 を欠損した Villin-Cre:TRAF6flox/flox マウスでは、デキストラン硫酸塩 (DSS) によって誘導される腸炎が増悪することを報告している⁴⁾。これらの結果は T 細胞および腸上皮細胞における TRAF6 を介するシグナルが腸炎を抑えていることを示唆しているが、このメカニズムの詳細は明らかになっていない。我々のこれまでの CD4-Cre:TRAF6flox/flox マウスの解析から、TRAF6 欠損 Th17 細胞のケモカイン受容体 CCR6 の発現が低下していることが明らかになり、細胞遊走の障害が予想された。過去の報告では、CCR6 欠損マウスはトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) によって誘導される腸炎が増悪するとされている⁵⁾。

一方、CCR6 のリガンドである CCL20 は小腸や大腸で発現が高く、IBD 患者の腸管上皮細胞で発現が亢進していることが報告されている⁶⁾。また、我々は、野生型マウスの小腸や大腸で CCL20 が高発現していることを確認している。さらに、大腸上皮細胞株 CMT93 細胞をリポポリサッカライド (LPS) で刺激して誘導される遺伝子群を探索したところ、TRAF6 シグナル依存的に CCL20 が上昇することを見出した。同時に、プロテアーゼ阻害活性を有するペプチドの一種 SLPI (Secretory Leukocyte Protease Inhibitor) の上昇も見出した。そこで、TRAF6 シグナルが誘導する CCL20 及び SLPI の腸管組織における役割を解明するため、CCL20 欠損マウスと SLPI 欠損マウスに腸炎を誘導し、その病態を解析することとした。

2. 研究の目的

本研究は、腸上皮細胞でアダプター分子 TRAF6 を介するシグナルにより発現制御を受けるケモカイン CCL20 及びプロテアーゼ阻害活性タンパク質 SLPI に着目し、それらの欠損マウスに腸炎を誘導して病態を解析することで、CCL20 及び SLPI の腸管組織における生理的及び病態学的役割を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウス

CCL20 欠損マウスは CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集により作製した。CCL20 遺伝子の第 2 エクソンに存在する PAM 配列を標的とした gRNA を作製し Cas9 酵素とともに①マウス受精卵に *in vitro* でマイクロインジェクションする方法 (Injection 法)、②マウス受精卵に *in vitro* で電気パルスをかける方法 (TAKE 法)、及び、③予め交配させた雌マウスの卵管に注入し、卵管に直接電気パルスをかける方法 (iGONAD 法) で導入した。得られた産仔の DNA 配列を解析し、遺伝子変異を確認した。

SLPI 欠損マウスは大阪大学竹田潔博士より分与していただいた。SPF 飼育環境下で C57BL/6 マウスと 6 世代以上戻し交配し、遺伝的背景を均一化した。遺伝子型は PCR 法にて検定した。

これらの動物実験は、大分大学動物実験委員会及び遺伝子組換え実験安全委員会の承認を得て実施した。

(2) 遺伝子発現解析、免疫細胞解析

マウスの各臓器におけるケモカイン、サイトカイン等の遺伝子発現は real time PCR 法にて評価した。また、各臓器における免疫細胞の割合は、マーカー分子に対する蛍光標識抗体で細胞を染色し、フローサイトメトリー法にて解析した。

(3) DSS 誘導腸炎

8~12 週齢のマウスに 2.5%DSS を 7 日間自由飲水させ、腸炎を誘導し、その後通常の飲料水に戻して 3 日間自由飲水させ回復させた。その間の体重変化を測定し、便の性状を観察した。最終日にマウスを安楽死させ、大腸および盲腸を摘出し、その性状を観察した。腸管組織は、固定後、HE 染色、Ki65 免疫染色及び TUNEL 染色を行い観察した。

(4) CCR6 発現解析

TRAF6 欠損が、CCR6 の発現レベルに及ぼす影響は TRAF6 欠損 T 細胞株及び T 細胞特異的 TRAF6 欠損マウスを用いて解析した。TRAF6 欠損 T 細胞株は、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集により樹立し、野生型株と TRAF6 欠損株の CCR6 の発現レベルを real time PCR 法で評価した。次に、CD4-Cre:TRAF6^{flx/flx} マウスの脾臓よりナイーブ T 細胞を分離し、TGF- β , IL-6 存在下で CD3 刺激をして in vitro で 5 日間培養し Th17 細胞を得た。CCR6 の発現は real time PCR 法及びフローサイトメトリー法にて評価した。

一方、TRAF6 過剰発現が CCR6 の発現レベルに及ぼす影響を解析するために、マウス CCR6 遺伝子の上流 4.6kb の DNA 断片をプロモーター領域としてルシフェラーゼ発現ベクターにクローニングし、CCR6 レポーター遺伝子を構築した。サイトメガロウイルスプロモーター制御下にマウス TRAF6 cDNA を組み込んだ TRAF6 発現ベクターと CCR6 レポーター遺伝子をマウス T 細胞株 68-41 細胞に遺伝子導入し、24 時間後に細胞溶解物とルシフェリンを反応させ発光強度をルミノメーターで測定した。

4. 研究成果

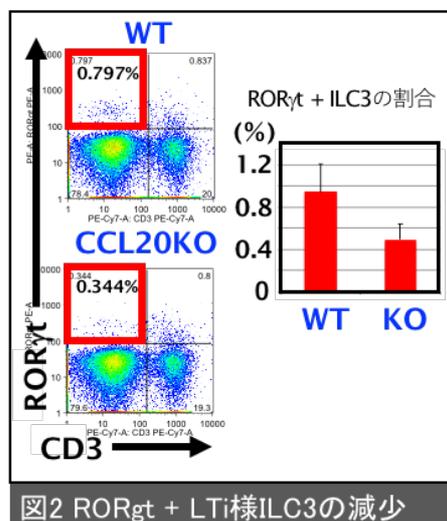
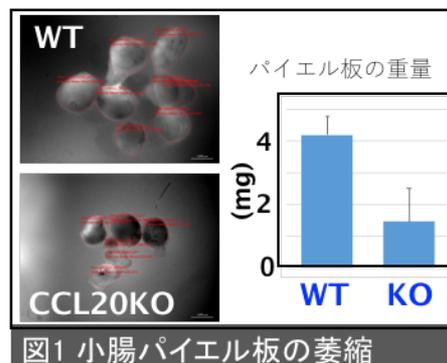
(1) SLPI の腸管組織における機能解明

SLPI の腸管組織における機能を DSS 誘導腸炎で評価したところ、SLPI 欠損マウスは著しい体重減少と腸炎の増悪を示した。DSS 誘導腸炎の腸管組織の免疫組織化学的解析では、腸管組織内の細胞浸潤、特に好中球の増加が顕著であった。また、腸管の線維化と上皮細胞のアポトーシスが亢進し、腸管に蛍光物質を投与した実験から腸管バリアが低下していることが明らかになった。更に、腸内細菌叢を調べると、腸炎を誘導した SLPI 欠損マウスは悪玉菌として知られる Bacteroides が野生型マウスよりも増加し、善玉菌として知られる Lactobacillales が減少していた。したがって、SLPI は腸管バリア機能と腸内細菌叢の維持に働き、腸管組織を保護していると考えられる。本研究は、論文作成に向け、さらなる解析を継続している。

(2) CCL20 の腸管組織における機能解明

ケモカイン CCL20 の腸管組織における役割を明らかにするため、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集により CCL20 欠損マウスを作製した。CCL20 遺伝子の第 2 エクソンに存在する PAM 配列を標的とした gRNA を Cas9 酵素とともに① Injection 法、②TAKE 法、及び、③iGONAD 法で導入した。いずれの導入法でも遺伝子変異マウスを得ることができた。CCL20 は、タンパク質の 2 次構造に重要なジスルフィド結合を形成するための 4 つのシステイン残基を有するが、ゲノム編集により 2 番目と 3 番目のシステイン残基の間の 4 塩基が欠失し、フレームシフトが起きていた。ヘテロ接合体を掛け合わせ、ホモ接合体 (CCL20 欠損マウス) を得た。欠損マウスは正常に成長し、雌雄とも生殖能力は正常であった。解剖学的な変化は、小腸パイエル板が矮小化していることであった (図 1)。以前の解析で、CCL20 は正常マウス的小腸で発現が高いことが明らかになっていたが、再解析の結果、とりわけ小腸パイエル板で CCL20 の RNA 発現が高く、ELISA 法による解析でも CCL20 タンパク質量が多かったが、欠損マウスのパイエル板では CCL20 は検出されなかった。欠損マウスの 1 つのパイエル板の重量は、野生型マウスに比べ約半分以下に低下していた。パイエル板中の細胞数は減少していたが、T 細胞や B 細胞の割合には大きな変化は認められなかった。しかし、詳細に解析すると Lin(-), ROR γ t(+), CCR6(+) の LTi 様 ILC3 の割合が半分以下に減少していた (図 2)。従って、CCL20 は CCR6(+) の LTi 様 ILC3 のパイエル板への遊走に重要であることが示唆された。また、欠損マウスのパイエル板では常在細菌の *Alcaligenes* が増加していたことから、腸内細菌叢の制御にも関連していることが示唆された。DSS を投与して腸炎を誘導しその病態を解析したところ、CCL20 欠損マウスは腸炎はやや増悪の傾向が認められた。しかし、これについては研究期間内に十分再現性を確認しておらず、今後の課題である。

本研究は、論文作成に向け、さらなる解析を継続している。



(3) TRAF6 シグナルによる CCR6 発現調節機構の解析
 これまでの CD4-Cre:TRAF6flox/flox マウスの解析で、TRAF6 欠損 Th17 細胞上のケモカイン受容体 CCR6 の発現が低下していることを見出し、TRAF6 を介するシグナルが CCR6 の発現レベルを調節していることが予想された。そこで、TRAF6 欠損が、CCR6 の発現レベルに及ぼす影響を詳細に解析した (図 3)。ゲノム編集により樹立した TRAF6 欠損 T 細胞株と野生型株の CCR6 の発現レベルを real time PCR 法で解析したところ、欠損株で発現レベルが半分に低下していた (図 3A)。次に、CD4-Cre:TRAF6flox/flox マウスの脾臓よりナイーブ T 細胞を分離し、Th17 分化条件下で 5 日間培養したところ、野生型 T 細胞で著しく上昇する CCR6 の発現が TRAF6 欠損 T 細胞では減弱していた (図 3B)。

一方、TRAF6 発現ベクターと CCR6 レポーター遺伝子をマウス T 細胞株 68-41 細胞に遺伝子導入し、ルシフェラーゼレポーターアッセイで評価したところ、TRAF6 の過剰発現により CCR6 プロモーター活性が 8 倍上昇することが明らかになった (図 3C)。これらの結果から T 細胞上の CCR6 の発現レベルは TRAF6 シグナルによって制御されていると考えられた。

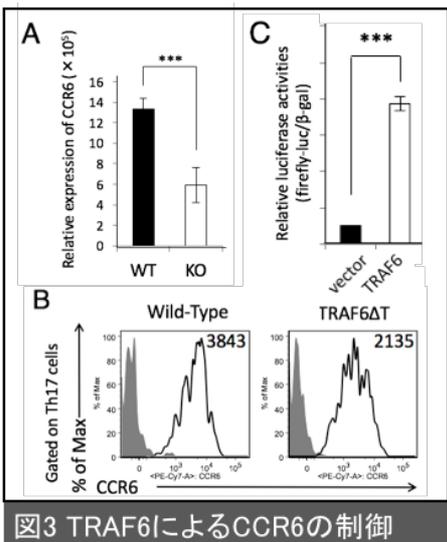


図3 TRAF6によるCCR6の制御

<引用文献>

- 1). Neurath MF. Nat Med. 2007;13(1):26-28.
- 2). Yen D, et al. J Clin Invest. 2006;116(5):1310-1316.
- 3). Esplugues E, et al. Nature. 2011;475(7357):514-518.
- 4). Vlantis K, et al. Gut. 2016;65(6):935-943.
- 5). Katchar K, et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2007;292(5):G1263-1271.
- 6). Kaser A, et al. J Clin Immunol. 2004;24(1):74-85.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Kanaya Takashi, Sakakibara Sayuri, Jinnohara Toshi, Hachisuka Masami, Tachibana Naoko, Hidano Shinya, Kobayashi Takashi, Kimura Shunsuke, Iwanaga Toshihiko, Nakagawa Tomoo, Katsuno Tatsuro, Kato Naoya, Akiyama Taishin, Sato Toshiro, Williams Ifor R., Ohno Hiroshi | 4. 巻 215 |
| 2. 論文標題 Development of intestinal M cells and follicle-associated epithelium is regulated by TRAF6-mediated NF- κ B signaling | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Experimental Medicine | 6. 最初と最後の頁 501 ~ 519 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20160659 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Takada Ichiro, Tsuchiya Megumi, Yanaka Kaori, Hidano Shinya, Takahashi Sayuri, Kobayashi Takashi, Ogawa Hidesato, Nakagawa Sinichi, Makishima Makoto | 4. 巻 497 |
| 2. 論文標題 Ess2 bridges transcriptional regulators and spliceosomal complexes via distinct interacting domains | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 597 ~ 604 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.02.110 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Saga Kunihiro, Iwashita Yukio, Hidano Shinya, Aso Yuiko, Isaka Kenji, Kido Yasutoshi, Tada Kazuhiro, Takayama Hiroomi, Masuda Takashi, Hirashita Teijiro, Endo Yuichi, Ohta Masayuki, Kobayashi Takashi, Inomata Masafumi | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Secondary Unconjugated Bile Acids Induce Hepatic Stellate Cell Activation | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 3043 ~ 3043 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19103043 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Noguchi Kaori, Kamiyama Naganori, Hidano Shinya, Gendo Yoshiko, Sonoda Akira, Ozaki Takashi, Hirose Haruna, Sachi Nozomi, Saechue Benjawan, Ozaka Sotaro, Eshita Yuki, Mizukami Kazuhiro, Kawano Kenji, Kobayashi Takashi | 4. 巻 504 |
| 2. 論文標題 Autoimmune sialadenitis is associated with the upregulation of chemokine/chemokine receptor pairs in T cell-specific TRAF6-deficient mice | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 245 ~ 250 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.08.162 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Ji Rui-Cheng, Eshita Yuki, Kobayashi Takashi, Hidano Shinya, Kamiyama Naganori, Onishi Yasuhiko | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Role of simvastatin in tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Clinical & Experimental Metastasis | 6. 最初と最後の頁 785 ~ 796 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10585-018-9940-8 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Sonoda Akira, Kamiyama Naganori, Ozaka Sotaro, Gendo Yoshiko, Ozaki Takashi, Hirose Haruna, Noguchi Kaori, Saechue Benjawan, Sachi Nozomi, Sakai Kumiko, Mizukami Kazuhiro, Hidano Shinya, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Oral administration of antibiotics results in fecal occult bleeding due to metabolic disorders and defective proliferation of the gut epithelial cell in mice | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Genes to Cells | 6. 最初と最後の頁 1043 ~ 1055 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12649 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Gendo Y, Matsumoto T, Kamiyama N, Saechue B, Fukuda C, Dewayani A, Hidano S, Noguchi K, Sonoda A, Ozaki T, Sachi N, Hirose H, Ozaka S, Eshita Y, Mizukami K, Okimoto T, Kodama M, Yoshimatsu T, Nishida H, Daa T, Yamaoka Y, Murakami K, Kobayashi T | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Dysbiosis of the Gut Microbiota on the Inflammatory Background due to Lack of Suppressor of Cytokine Signalling-1 in Mice | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Inflammatory Intestinal Diseases | 6. 最初と最後の頁 145 ~ 154 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000495462 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Kamiyama N, Soma R, Hidano S, Watanabe K, Umekita H, Fukuda C, Noguchi K, Gendo Y, Ozaki T, Sonoda A, Sachi N, Runtuwene LR, Miura Y, Matsubara E, Tajima S, Takasaki T, Eshita Y, Kobayashi T. | 4. 巻 146 |
| 2. 論文標題 Ribavirin inhibits Zika virus (ZIKV) replication in vitro and suppresses viremia in ZIKV-infected STAT1-deficient mice. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Antiviral Res. | 6. 最初と最後の頁 1-11 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.antiviral.2017.08.007 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------------|
| 1. 著者名 飛弾野真也、水上一弘、佐知望美、神山長慶、小林隆志 | 4. 巻 74巻 |
| 2. 論文標題 アニサキス症の最近の知見と動向 | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 医学と薬学 | 6. 最初と最後の頁 1387 -1392 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 神山長慶、佐知望美、飛弾野真也、小林隆志 | 4. 巻 68 (1) |
| 2. 論文標題 蚊媒介性ウイルス疾患 | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科 | 6. 最初と最後の頁 79-85 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Fujinami Hiroyuki, Shiraishi Hiroshi, Hada Kazumasa, Inoue Masanori, Morisaki Ikuko, Higa Ryoko, Shin Toshitaka, Kobayashi Takashi, Hanada Reiko, Penninger Josef M., Mimata Hiromitsu, Hanada Toshikatsu | 4. 巻 525 |
| 2. 論文標題 CLP1 acts as the main RNA kinase in mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications | 6. 最初と最後の頁 129 ~ 134 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.066 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計44件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 飛弾野真也、水上一弘、財津純可、草野耀永、伊藤秀幸、佐知望美、神山長慶、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 劇症型アニサキス症における発症要因・メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 第26回分子寄生虫ワークショップ |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Takashi Kobayashi, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Nozomi Sachi |
| 2. 発表標題 SUPPRESSION OF EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS BY SELECTIVE DELETION OF TRAF6 IN T-CELLS IN MICE |
| 3. 学会等名 FMSA 2018 (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 飛彈野真也、水上一弘、財津純可、草野耀永、伊藤秀幸、佐知望美、神山長慶、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 胃アニサキス症の劇症化メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 胃アニサキス症の劇症化メカニズムの解明 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Benjawan Saechue, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Kaori Noguchi, Yoshiko Gendo, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Haruna Hirise, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Takashi Kobayashi, |
| 2. 発表標題 Development of a rapid and simple reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for Chikungunya virus |
| 3. 学会等名 41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 神山長慶, 渡辺 景, Benjawan Saechue, 飛彈野真也, 野口香緒里, 玄同淑子, 尾崎貴士, 園田光, 広瀬 晴奈, 小坂 聡太郎, 佐知望美, 鈴木 亮介, 小林隆志 |
| 2. 発表標題 アフリカ株とアジア株SRIPsを用いた、ジカウイルスの宿主細胞侵入効率の解析 |
| 3. 学会等名 41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka and Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 TRAF6 in dendritic cells regulates innate immune control of Toxoplasma gondii. |
| 3. 学会等名 第47回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 TRAF6 in Th17 cells exacerbates the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis by regulating CCR6 expression |
| 3. 学会等名 第47回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sotaro Ozaka, Akira Sonoda, Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Combinatorial treatment of ampicillin and vancomycin induces colitis due to metabolic disorders and impaired epithelial barrier function in the gut |
| 3. 学会等名 第47回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Sotaro Ozaka, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Analysis of the localization of immune cells in mice deficient in CC chemokine ligand CCL20 |
| 3. 学会等名 第47回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka and Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 TRAF6 in dendritic cells is required for resistance to Toxoplasma gondii infection. |
| 3. 学会等名 第12回寄生虫感染免疫研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Regulation of innate and adaptive immunity by TRAF6 |
| 3. 学会等名 Bangkok, Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 シグナル伝達分子TRAF6による自然免疫と獲得免疫の制御 |
| 3. 学会等名 第38回岡山免疫懇話会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小林隆志, 飛弾野真也, 水上 一弘, 財津 純可, 草野 耀永, 伊藤 秀幸, Astri Dewayani, 小坂 聡太郎, Benjawan Saechue, 佐知望美, 神山長慶, 村上 和成 |
| 2. 発表標題 アニサキス感染におけるIgE誘導機序の解析 |
| 3. 学会等名 第88回日本寄生虫学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 飛弾野真也, 神山長慶, 佐知望美, Astri Dewayani, 小坂 聡太郎, Benjawan Saechue, 小林隆志, |
| 2. 発表標題 樹状細胞のTRAF6シグナルは、トキソプラズマ感染早期コントロールに重要である |
| 3. 学会等名 第88回日本寄生虫学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 水上一弘、飛弾野真也、伊藤秀幸、神山長慶、相馬 渉、阿部寿徳、勝田真琴、安部高志、永井敬之、後藤康彦、井上邦光、大場一生、卜部繁俊、吉田 亮、大仁田賢、安部高志、永井敬之、後藤康彦、井上邦光、大場一生、卜部繁俊、吉田 亮、大仁田賢、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 ヒト感染アニサキス症における種の同定と臨床症状との関連の検討 |
| 3. 学会等名 第86回 日本寄生虫学会大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Christoph Konradt, Daniel P. Beiting, Lothar Hennighausen, Serge Fuchs, Anita A. Koshy, Naganori Kamiyama, Takashi Kobayashi and Christopher A Hunter. |
| 2. 発表標題 アストロサイトのSTAT1シグナルは、トキソプラズマ脳炎のコントロールに重要である。 |
| 3. 学会等名 第86回 日本寄生虫学会大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 近藤雅, 中谷誠, 飛弾野真也, 小林隆志 |
| 2. 発表標題 蛍光特性を示すアニサキス種の同定ならびに食品検査への応用 |
| 3. 学会等名 第86回 日本寄生虫学会大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 飛弾野真也, Christoph Konradt, Daniel P. Beiting, 神山長慶, 小林隆志, Christopher A Hunter. |
| 2. 発表標題 トキソプラズマ脳炎におけるアストロサイトの感染防御機構の解明 |
| 3. 学会等名 第25回分子寄生虫学ワークショップ |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 A.Sonoda, N.Sachi, Y.Gendo, T.Ozaki, N.Kamiyama, S.Hidano, K.Mizukami, T.Okimoto, K.Murakami, T.Kobayashi |
| 2. 発表標題 Combined administration of ampicillin and villosin induces mild colitis with decreased diversity of gut microbiota and perturbation of glutamine and short chain fatty acid metabolisms. |
| 3. 学会等名 25th United European Gastroenterology Week |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 園田光、玄同淑子、尾崎貴士、野口香緒里、広瀬晴奈、佐知望美、神山長慶、飛弾野真也、水上一弘、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 アンピシリンとバンコマイシン投与による腸内細菌叢とグルタミン酸、酪酸代謝経路の異常が腸炎を誘導する |
| 3. 学会等名 第8回 癌・炎症と抗酸化研究会(CIA研究会) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 尾崎貴士、後藤 亮、園田光、広瀬 晴奈、玄同淑子、野口香緒里、神山長慶、飛弾野真也、石井宏治、柴田洋孝、小林 隆志 |
| 2. 発表標題 新規脂質メディエーターのOEA及びPEAIは、Toll様受容体9(TLR9)刺激による樹状細胞とB細胞の活性化を抑制する |
| 3. 学会等名 第8回 癌・炎症と抗酸化研究会(CIA研究会) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Ryusuke Soma, Shinya Hidano, Benjawan Saechue, Nozomi Sachi, Kaori Noguchi, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Yoshiko Gendo, Yuki Eshita, and Takashi Kobayashi, |
| 2. 発表標題 Ribavirin inhibits Zika virus (ZIKV) replication in vitro and suppresses viremia in ZIKV-infected STAT1-deficient mice |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 尾崎貴士, 園田光, 玄同淑子, 野口香緒里, 佐知望美, 神山長慶, 飛彈野真也, 石井宏治, 柴田洋孝, 小林隆志 |
| 2. 発表標題 Inhibition of TLR9-induced dendritic cell activation and pro-inflammatory cytokine production by Oleoylethanolamide, whose level is reduced in MRL/lpr mice |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Kaori Noguchi, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Yoshiko Gendo, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Analysis for the induction and pathophysiological role of CCL20 in the intestinal tissue |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Christoph Konradt, Daniel P. Beiting, Lothar Hennighausen, Serge Fuchs, Anita A. Koshy, Naganori Kamiyama, Takashi Kobayashi and Christopher A Hunter. |
| 2. 発表標題 アストロサイトのSTAT1シグナルは、トキソプラズマ脳炎のコントロールに重要である |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 園田光、玄同淑子、尾崎貴士、佐知望美、飛弾野真也、神山長慶、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 アンピシリンとバンコマイシンの投与によってグルタミン酸代謝と短鎖脂肪酸の発酵が障害され、マウス腸炎が誘発される。 |
| 3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Tadashi Kondo, Kazuhiro Mizukami, Makoto Nakatani, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Kazunari Murakami, Osamu Hirose and Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Analysis of a fluorescent material in Anisakis larvae. |
| 3. 学会等名 第11回寄生虫感染免疫研究会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Benjawan Sae-chue, Yinan Wang, Akinaga Kusano, Nozomi Sachi, Shinya Hidano and Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Development of reliable LAMP systems for Chikungunya virus and Leishmania. |
| 3. 学会等名 第11回寄生虫感染免疫研究会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Benjawan Saechu, Shinya Hidano, Kei Watanabe, Hidekazu Matsuoka, Kaori Noguchi, Yoshiko Gendo, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Nozomi Sachi, Yuki Eshita, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 T細胞特異的TRAF6欠損マウスは実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症が抑制される |
| 3. 学会等名 第4回病因研究会別府シンポジウム |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 神山長慶、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、Thanyakorn Chalalai、Thanyakorn Chalalai、佐知望美、小坂聡太郎、有木晋平、曾我泰裕、後藤美月、飛弾野真也、小林隆志 |
| 2. 発表標題 ジカウイルスの細胞侵入能を規定するアミノ酸の同定および神経変性疾患の増悪メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 第10回癌・炎症と抗酸化研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 小坂聡太郎、有木晋平、園田光、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、神山長慶、飛弾野真也、水上一弘、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 抗生物質や抗菌ペプチドによる腸内環境の変化が腸内細菌叢に及ぼす影響 |
| 3. 学会等名 第10回癌・炎症と抗酸化研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 有木晋平、玄同淑子、松本昂、小林隆志 |
| 2. 発表標題 SOCS 1 欠損によるマウス腸内細菌叢への影響 |
| 3. 学会等名 第10回癌・炎症と抗酸化研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小坂聡太郎、有木晋平、園田光、佐知望美、後藤美月、曾我泰裕、広瀬晴奈、尾崎貴士、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、神山長慶、飛弾野真也、水上一弘、村上和成、小林隆志 |
| 2. 発表標題 抗生物質起因性大腸炎モデルマウスに対する柴苓湯の保護効果の解明 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Astri Dewayani, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Benjawan Saechue, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 TRAF6 Regulation in TH9 Cell Responses to Tumor Growth |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Benjawan Saechue, Takashi Kobayashi et al. |
| 2. 発表標題 Development of a portable reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) system to detect the Chikungunya virus in a cost-effective manner |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shinpei Ariki, Yasuhiro Soga, Mizuki Goto, Ryosuke Suzuki, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 "Zika virus African strain has higher entry ability to host cell than Asian strain, and exacerbates EAE" |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nozomi Sachi, Chiaki Fukuda, Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Sotaro Ozaka, Astri Dewayani, Shimpei Ariki, Yasuhiro Soga, Mizuki Goto, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 ゲノム編集マウスを用いたケモカインCCL20の腸管組織における生理的機能の解析 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yasuhiro Soga, Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shinpei Ariki, Mizuki Goto, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 TRAF6を介した炎症シグナルを定量化するレポーターアッセイ系の樹立と炎症を抑制する新規分子の探索 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Mizuki Goto, Haruna Hirose, Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shinpei Ariki, Yasuhiro Soga, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 白癬菌増殖抑制効果を有するわさびの機能分子の探索 |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Takashi Kobayashi |
| 2. 発表標題 Zika virus African strain has higher cell entry ability than Asian strain, and exacerbates EAE |
| 3. 学会等名 第48回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka and Takashi Kobayashi. |
| 2. 発表標題 TRAF6 deficiency in dendritic cells exacerbates the disease severity of Toxoplasma gondii infection in mice. |
| 3. 学会等名 第48回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Takashi Kobayashi, Sotaro Ozaka, Nozomi Sachi, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Kiyoshi Takeda |
| 2. 発表標題 Role of Secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI) in the pathogenesis of Inflammatory bowel disease |
| 3. 学会等名 第48回 日本免疫学会総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 神山長慶、Benjawan Saechue、Astri Dewayani、Thanyakorn Chalalai、飛彈野真也、佐知望美、小坂聡太郎、有木晋平、曾我泰裕、後藤美月、小林隆志 |
| 2. 発表標題 TRAF6 in T cells exacerbates the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis by up-regulating CCR6 expression |
| 3. 学会等名 第97回日本生理学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinya Hidano, Kazuhiro Mizukami, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Kazunari Murakami and Takashi Kobayashi. |
| 2. 発表標題 Analysis of pathogenic mechanism in Anisakis infection |
| 3. 学会等名 第13回寄生虫感染免疫研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| 産業財産権の名称 ジカウイルス感染症治療用医薬組成物 | 発明者 小林隆志、神山長慶、相馬颯介、飛彈野真也 | 権利者 国立大学法人大分大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-108007 | 出願年 2017年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|------------------------------------|----|
| 研究 分 担 者 | 花田 礼子 (Hanada Reiko) (00343707) | 大分大学・医学部・教授 (17501) | |
| 研究 分 担 者 | 神山 長慶 (Kamiyama Naganori) (50756830) | 大分大学・医学部・助教 (17501) | |