

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11661

研究課題名（和文）口腔細菌が規定する腸内環境を介した生体恒常性維持機能の解明

研究課題名（英文）Elucidation of homeostatic mechanism via intestinal environment regulated by oral bacteria

研究代表者

中村 公則（Nakamura, Kiminori）

北海道大学・先端生命科学研究院・准教授

研究者番号：80381276

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）：本研究は、口腔細菌を含む共生菌および病原菌が、腸管上皮細胞Paneth細胞との相互作用を介して生体の恒常性維持に関与するとの仮説をたて、その機序を解明することを目的とした。本研究において、生体腸管の上皮構造を模しているエンテロイド内腔へ任意のリガンド投与とPaneth細胞の顆粒分泌を可視化・定量できる新たな腸内環境評価法を樹立した。樹立した評価系を用いて、病原菌である*S. Typhimurium*がPaneth細胞の顆粒分泌を誘導すること、さらに、共生細菌である*L. casei*はPaneth細胞の顆粒分泌を誘導しなかったが、一方、*B. bifidum*は顆粒分泌を誘導することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により樹立した共生細菌および病原菌に応答したPaneth細胞顆粒分泌評価システムは、Paneth細胞ディフェンシンを中心とする新たな腸内細菌叢制御を介した生体恒常性維持のメカニズム解明を可能とする。この評価系により、口腔内を含む、様々な生体に共生する菌と腸管上皮細胞との相互作用を細胞・分子レベルで解析することにより、共生細菌と腸管のクロストークを介した恒常性の維持機構が明らかとなり、共生細菌と宿主のバランスの破綻が原因の一つと考えられている、生活習慣病などに対する新たな予防・治療戦略の提案が期待できる。

研究成果の概要（英文）： The purpose of this study was to elucidate the mechanism that commensal bacteria including oral bacteria and pathogenic bacteria are involved in the maintenance of intestinal homeostasis via interaction with Paneth cells. In this study, a novel ex vivo evaluation system to visualize and quantify Paneth cell granule secretion was established by microinjection method of bacteria into the lumen of enteroids, three-dimensional cultures of small intestinal epithelial cells. Paneth cells secreted granules immediately when live non-commensal bacterium *S. Typhimurium* or commensal bacterium *B. bifidum* was introduced into the enteroid lumen by microinjection, whereas Paneth cells did not secrete granules when live commensal bacterium *L. casei* was introduced.

研究分野：自然免疫

キーワード：自然免疫 Paneth細胞 ディフェンシン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化率の増加に伴い、国民一人ひとりの健康寿命の延伸が社会的に求められている。健康寿命の低下をもたらす原因の上位である心臓病、脳卒中、肥満などの生活習慣病の発症と、腸内細菌叢や腸管免疫などの関連が注目されてきているが詳細な機序は解明されていない。一方、口腔細菌叢を構成する *P. gingivalis* による感染症である歯周病は成人の約8割以上が罹患し、歯を喪失する第一の原因菌として知られているが、これまで、残存歯数減少による認知症、細菌性心内膜炎、糖尿病、肥満などの、口腔と全身との関係が注目されているにもかかわらず、確固たる根拠はいまだ不明である。そこで、解剖学的に連続している口腔細菌叢と腸内細菌叢のクロストークに注目し、そのメカニズムを解明することは高齢化社会の健康維持・増進への大きく寄与すると考えられる。申請者は、これまで栄養(食事)、寄生体(腸内細菌叢)、宿主(腸管上皮、抗菌ペプチド)で規定される腸内環境が免疫・代謝機能などの生体恒常性維持の及ぼす機序を解明してきた。とくに腸上皮パネト細胞が腸管内腔に分泌する自然免疫のエフェクター・抗菌ペプチド α ディフェンシンの選択的殺菌活性による腸内細菌叢制御 (*J Innate Immun* 2011)、 α ディフェンシンの測定法の開発、炎症性腸疾患マウスにおける α ディフェンシン分泌異常の関与 (*Anal Biochem* 2013)、脂肪成分摂取による α ディフェンシン分泌低下を介した肥満の促進機能など、自然免疫と腸内細菌叢の相互作用の破綻が慢性炎症や生活習慣病の発症に重要であることを示してきた。自然免疫と腸内細菌叢の相互作用の破綻に影響を及ぼす要因として、解剖学的観点から、また口腔細菌叢と全身疾患との関与についての多くの報告からも、口腔細菌叢に着目するのは必然だと考えられる。しかし、未だその細胞・分子レベルでの機序解明は皆無である。解明に至らない大きな理由は、腸管上皮細胞の生理的状態や病理を適切に反映するモデル系が確立されていないためだと考えられる。そこで申請者は、腸管上皮培養法としてパネト細胞、内分泌細胞、杯細胞、吸収上皮細胞そして幹細胞で構成されており、生体腸管の構造を模しているエンテロイド培養法に注目した (Sato T et al., *Nature* 2011)。エンテロイドは基質に包埋されており、また内腔側が閉鎖した構造をもつことから、腸管内腔にアプローチした機能解析を定量的に行うことが難しい。そこで、本申請研究では初めに、エンテロイドとマイクロインジェクション法を応用して、内腔へ任意のリガンド投与を可能とする腸内環境評価法を確立する。これによって、口腔細菌の刺激によるパネト細胞の α ディフェンシン分泌応答を高解像度で可視化し、さらに、シングルセルでの遺伝子発現解析を遂行することで、本研究の仮説を証明できるのではないかとこの着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、口腔と腸管における自然免疫機構を介したクロストークが存在し、口腔と腸管のリンクが正常な口腔内環境および腸内環境の維持やその破綻に関与しているとの仮説を立て、口腔細菌による α ディフェンシン分泌さらには内分泌細胞・消化管ホルモン分泌への影響及び、腸内細菌叢組成への関与を検討することで、歯周病や肥満、糖尿病などの生活習慣病をはじめとする全身疾患の発症や進行メカニズムの解明を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

使用したマウス C57BL/6 Jc1 は日本クレア株式会社より購入した。本研究におけるすべての動物実験は、国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定に基づいて行った。

(2) マウス小腸陰窩単離とエンテロイド培養

C57BL/6 をジエチルエーテルで吸入麻酔後、頸椎脱臼によりサクリファイスした。C57BL/6 の腹部表面を消毒用エタノールで消毒した後、オートクレーブ滅菌済みの解剖器具を用いて腹部を切開した。空腸近位端から約 5 cm を摘出し、腸管内腔を 20 mL シリンジとゾンデを用いて ice-cold Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -free phosphate-buffered saline (PBS) で 1 回洗浄した。摘出した腸管を縦切開した後、メスで内腔側をスクレイプした。PBS で洗浄した後、30 mM EDTA / Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -free Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) 中で振盪した (室温、5 rpm、10 min)。小腸組織を ice-cold HBSS で勢いよく振盪して陰窩を単離した。得られた単離陰窩を Matrigel で包埋し、EGF、Noggin、R-spondin 1 を含む培地にて培養した。培地交換は 1 日置きに行った。

(3) Paneth 細胞顆粒分泌の定量化

培養 3 日目にエンテロイドが包埋されている Matrigel をマイクロピペットにより緩やかに破砕し回収した。卓上小型遠心機で約 5 sec 遠心した後、上清を除去して Matrigel でエンテロイドを懸濁し、事前に 37°C で温めておいた 8 well chamber cover (collagen coat, Matsunami) に再包埋した。37°C、5% CO_2 、20 min で重合させ、事前に 37°C で温めていたエンテロイド culture medium を 180 $\mu\text{L}/\text{well}$ で加えた。次に Stage Top Incubator (37°C、5% CO_2 、Tokai Hit) にエンテロイドを播種した 8 well chamber cover を固定し、共焦点レーザー顕微鏡 (A1, Nikon)、対物レンズ CFI Apo LWD 20X WI λS (NA = 0.95, Nikon) で Paneth 細胞の DIC 画像を取得した。最終濃度が CCh (0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μM) となるように培地中に添加し、37°C、5% CO_2 、30 min 培養した後、刺激前に撮影した同一 Paneth 細胞の DIC 画像を取得した。刺激前後の Paneth 細胞 DIC 画像からコントラストによって明確に区別できる Paneth 細胞の顆粒部分の外周を囲み、その面積を画像解析ソフト NIS-Elements AR (Nikon) で測定することで、下記の式から面積顆粒分泌率を算出した。

$$\text{Granule secretion (\%, area)} = \left(1 - \frac{\text{Granule area after stimulation}}{\text{Granule area before stimulation}}\right) \times 100$$

(4) Microinjection に用いた試料と調整

① 液体試料

LPS from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium purified by gel-filtration chromatography (L2262, Sigma) は PBS で 10 mg/mL に溶解した後、ソニケーション (30 min) したものを microinjection に用いた。

② 細菌の培養と調整

S. Typhimurium の α ディフェンシン感受性株である *S. Typhimurium* $\Delta phoP$ を tryptic soy broth (TSB, Becton Dickinson) 3 mL 中で 37°C、16 h、180 rpm で振盪培養し前培養した後、TSB 30 mL 中で OD₆₀₀ の値が 0.6-0.8 になるまで 37°C、180 rpm で振盪培養した。また、*Lactobacillus casei* ATCC 393 (*L. casei*) と *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863 (*B. bifidum*) を de Man, Rogosa, and Sharpe broth (MRS broth, Becton Dickinson) 3 mL 中でアネロパック・ケンキ (三菱ガス化学) を用いて 37°C、16 h 嫌気培養し前培養した後、MRS broth 30 mL 中で OD₆₀₀ の値が 0.6-0.8 になるまで 37°C で嫌気培養した。対数増殖期の細菌を遠心分離 (3000 G、4°C、10 min) によって沈殿させた。Ice-cold PBS によって 1 回 wash した後、濃度が 1×10¹⁰ CFU/mL となるように PBS で再懸濁したものを microinjection に用いた。

(5) エンテロイド内腔への microinjection

培養 3-4 日目のエンテロイドを Cell Imaging Dish (ependorf) に 20 μ L/well で包埋し、氷上で 5 min 静置してエンテロイドを dish の底に沈めた。Matrigel を重合した後、事前に 37°C で温めていたエンテロイド culture media を 1 mL/dish で加えた。次に Stage Top Incubator (37°C、5% CO₂、Tokai Hit) にエンテロイドを播種した dish を設置し、共焦点レーザー顕微鏡 (A1, Nikon) 下、対物レンズ CFI Apo LWD 20X WI λ S (NA = 0.95, Nikon) を用いて 15 frame/sec で time-lapse 撮影しながらエンテロイド内腔への microinjection を行なった。針 (Femtotips II, ependorf) は先端を折り、内径を 3-4 μ m に調整したものを用いた。粗動用マニピュレーター、三次元ジョイスティック油圧マイクロマニピュレーター、一次元油圧マイクロマニピュレーター (MN-4, MMO-202ND, MMO-220A, NARISHIGE) を用いてエンテロイドに needle を刺入し、空圧マイクロインジェクター (IM-11-2, NARISHIGE) により加圧することで 1% fluorescein, PBS、1-10 mg/mL LPS from *S. enterica* serovar Typhimurium、1×10¹⁰ CFU/mL *S. Typhimurium* $\Delta phoP$ 、1×10¹⁰ CFU/mL *L. casei*、1×10¹⁰ CFU/mL *B. bifidum*、1×10¹⁰ CFU/mL それぞれ注入した。

(6) 統計学的解析

測定値は平均±標準誤差で示した。統計学的解析は Student's t-test または One way ANOVA を行い、危険率 5% 未満 (p < 0.05) を有意とした。One-way ANOVA で差が認められた場合、事後検定として Tukey's multiple comparison test を行なった。相関の解析には Pearson correlation coefficient を用いた。

4. 研究成果

(1) Paneth 細胞顆粒分泌定量法の確立

次に、エンテロイドの Paneth 細胞が生体と同じく α ディフェンシンを含む顆粒を分泌することを確かめるために、顆粒分泌を誘導することが知られているコリン作動薬である CCh をエンテロイドの培地に最終濃度 10 μ M で添加し、Paneth 細胞の顆粒を経時的に観察した。Paneth 細胞の顆粒は CCh 添加直後からエンテロイド内腔側に向かって分泌され始め、10 min 後には大部分の顆粒が分泌された (図 1)。Paneth 細胞の顆粒分泌を定量的に評価するために、まず、刺激前および 0 μ M から 100 μ M の CCh 刺激から 30 min 後における高解像度 DIC 画像より Paneth 細胞顆粒面積を測定し、面積顆粒分泌率を算出した。面積顆粒分泌率は非刺激対照において 1.73±0.59% であったのに対し、0.01 μ M: 4.90±1.02%、0.1 μ M: 18.49±4.61%、1 μ M: 55.83±5.69%、10 μ M: 74.47±5.84%、100 μ M: 79.13±5.18% であった (図 2)。

(2) Microinjection によるエンテロイド内腔への物質導入法の条件検討

① Microinjection に適したエンテロイドの形態の検討

Microinjection による物質導入法開発のために必要な条件検討を行なった。まず、エンテロイドを培養 5 日目に観察すると、その形態は一様ではなく、陰窩様構造数により、a) 0-1、b) 2-3、c) 4 以上、の 3 種類に分類した (図 3)。Microinjection による内腔への物質導入に適するエンテロイドを選別すると、a) は陰窩様構造の伸長がなく、エンテロイド内腔に針を刺入できる十分な空間がないため microinjection には適さな

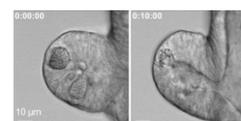


図1. エンテロイドのPaneth細胞の顆粒分泌能

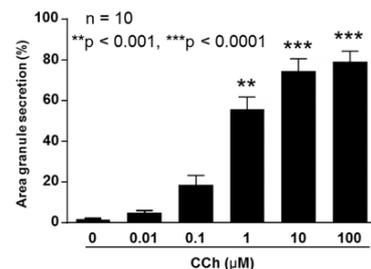


図2. Paneth細胞顆粒分泌の定量的評価

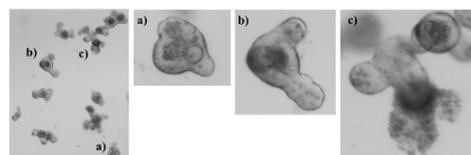


図3. Paneth細胞顆粒分泌の定量的評価に適したエンテロイドの検討

った。c)は内腔にアポトーシスを起こした細胞が蓄積し噴出しているため、内腔の閉鎖構造が保たれておらず、生体と同じ極性が失われているので microinjection による物質導入には適さなかった。一方、b)は陰窩様構造を有し内腔が閉鎖されているため microinjection に適していた。さらに、培養2日目から4日目までエンテロイドを観察すると、b)の割合は2日目: 3.6±1.2%、3日目: 15.3±1.5%、4日目: 10.1±2.7%であり、3日目で最も多かった。したがって、培養3日目および4日目のb)のエンテロイドを用いて microinjection の検討を行なうこととした。

② エンテロイド内腔への microinjection 法の標準化

内腔に導入した物質に対する Paneth 細胞顆粒分泌を評価するにあたって、その手順は体系化される必要がある。そこで次に、microinjection による物質導入の一連の操作を標準化するために、針の刺入位置、角度、注入圧などの検討を行った。対象のエンテロイドの形状と針の内径は上記の検討に従った。目視、次いで共焦点レーザー顕微鏡下でエンテロイドに針を接近させ、内腔と針先端に同時にピントが合うように調節した。この際、培地が針内部に逆流し、蛍光物質を注入するために加圧してもエンテロイド内腔の蛍光強度上昇がみられないことがあったため、あらかじめ針内部に注入圧よりも弱い圧を加えて培地の逆流を防ぎながら選択したエンテロイドに接近させた。その後、針を上方に移動して針先の位置を確認し、内腔内容物が無い、陰窩様構造部と絨毛様構造との移行部に刺入した。このとき、刺入角度が30度より小さいと、dishの壁と針がぶつかりエンテロイドに刺入できない場合があった。また、刺入角度が40度より大きいと、刺入点とエンテロイド内腔との高さの差が大きくなり内腔に針先を位置させられないことがあった。よって、針の刺入角度は30-40度で microinjection を行なうこととした。針先がエンテロイド内腔に位置していることを確認してから、マイクロインジェクターによって加圧し fluorescein を microinjection すると、エンテロイド内腔での蛍光強度の増強がみられた。このとき、注入圧の過剰、あるいは針先が内腔内容物に塞がれた状態から加圧により解放された場合、急激にエンテロイド内腔の圧力が上昇して閉鎖構造が破壊されたため、針先が内腔の内容物がない箇所位置していることを視認して段階的に加圧することとした。決定した条件に従い microinjection すると、注入中および後でエンテロイド外での蛍光強度の増強はみられなかった。さらに、エンテロイド内腔 (図4A 白丸) とエンテロイド外 (図4A 黒丸) の培地の蛍光強度を測定し、それぞれの microinjection 前後の蛍光強度比を算出した結果、内腔では、microinjection 前と比較した microinjection 後の蛍光強度比が 4.30 ± 0.57 と顕著な上昇を示した一方、エンテロイド外では 1.05 ± 0.01 であり、上昇は認められなかったことから (図4B)、microinjection によってエンテロイドの閉鎖構造を保ち基底膜側への漏れを防いで fluorescein を内腔にのみ導入できた。Microinjection 後の蛍光強度の増強は陰窩様構造の内腔でも観察され、陰窩様構造の基底部に位置する Paneth 細胞に fluorescein が到達していた。以上により、microinjection を用いることで、エンテロイドの極性を保ったまま物質を内腔に導入する方法を開発した。

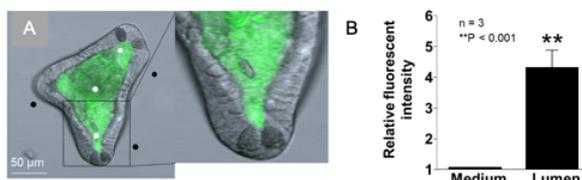


図4. エンテロイド内腔への microinjection 法の標準化

(3) エンテロイド内腔からの刺激に対する Paneth 細胞顆粒分泌応答の評価

まず、microinjection によってエンテロイド内腔へ PBS と細菌抗原である LPS を導入し、Paneth 細胞の顆粒分泌を定量的に評価した。PBS を導入し、導入後から 30 min まで Paneth 細胞顆粒を観察したところ、顆粒分泌は全くみられなかった (図8-A)。このことから、この評価系は注入圧などの機械的刺激ではなく内腔に導入した物質に反応した Paneth 細胞の顆粒分泌を評価できることがわかった。そこで、1 mg/mL および 10 mg/mL LPS を導入し、Paneth 細胞の顆粒分泌を評価した。Paneth 細胞の顆粒は LPS 導入後 2-14 sec から分泌され始めた。内腔の LPS に対する Paneth 細胞の顆粒分泌率はそれぞれ、1 mg/mL: $12.85 \pm 0.90\%$ 、10 mg/mL: $18.27 \pm 2.19\%$ であり、どちらも分泌がみられなかった PBS に対して有意に大きな顆粒分泌率を示した (図5)。以上より、内腔に存在する物質の刺激に反応した Paneth 細胞顆粒分泌の評価系を確立し、この系により *S. Typhimurium* 由来の LPS に反応した Paneth 細胞の顆粒分泌をはじめて可視化し、定量化した。

(4) 細菌に反応した Paneth 細胞顆粒分泌の評価

① 病原菌に反応した Paneth 細胞顆粒分泌の評価

次に、病原菌である *S. Typhimurium* $\Delta phoP$ をエンテロイド内腔に導入し Paneth 細胞の顆粒分泌を評価した。Paneth 細胞の顆粒は 1×10^{10} CFU/mL *S. Typhimurium* $\Delta phoP$ の導入から 4-19 min 後から分泌され始めた。*S. Typhimurium* $\Delta phoP$ に対する Paneth 細胞の顆粒分泌率は $15.67 \pm 1.74\%$ であり、PBS と比較して有意に大きな顆粒分泌率を示した (図6A)。以上より、腸管内腔に存在する細菌に対する Paneth 細胞の顆粒分泌も可視化および定量化が可能であった。

② 共生菌に対する Paneth 細胞顆粒分泌の評価

最後に、 α ディフェンシンによって殺菌されないことが知られている共生菌である *L. casei*

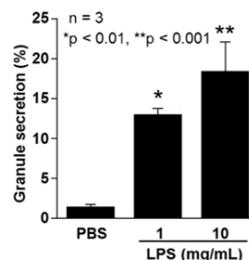


図5. 細菌成分に反応した Paneth 細胞顆粒分泌応答の評価

と *B. bifidum* をそれぞれエンテロイド内腔に導入し Paneth 細胞の顆粒分泌を評価した。*L. casei* の導入から 20 min 間 Paneth 細胞の観察を行なったが、顆粒分泌はみられなかった。一方、*B. bifidum* は導入直後から Paneth 細胞の顆粒分泌が見られ、顆粒分泌率は $11.41 \pm 5.10\%$ だった (図 6B)。以上の結果より、病原細菌および共生細菌に応答した Paneth 細胞顆粒分泌評価システムを樹立することができた。

本研究により樹立した、共生細菌および病原菌に応答した Paneth 細胞顆粒分泌評価システムは、Paneth 細胞 α ディフェンシンを中心とする新たな細菌叢制御を介した生体恒常性維持のメカニズム解明を可能とし、口腔共生細菌と腸管上皮細胞との相互作用の解析に応用することで、口腔環境の腸内環境制御を介した全身疾患発症のメカニズム解明に貢献する。

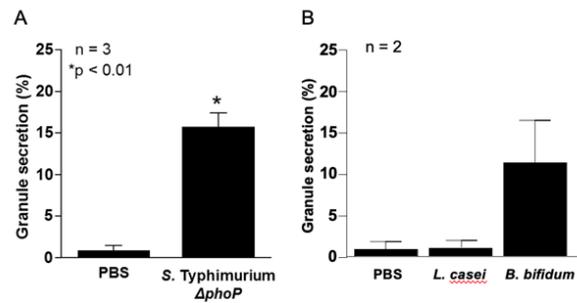


図6. 細菌に応答したPaneth細胞顆粒分泌の評価

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hirabayashi Yukiko, Nakamura Kiminori, Sonehara Tsuyoshi, Suzuki Daisuke, Hanzawa Satoru, Shimizu Yu, Aizawa Tomoyasu, Nakamura Koshi, Tamakoshi Akiko, Ayabe Tokiyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Analysis of Serotonin in Human Feces Using Solid Phase Extraction and Column-Switching LC-MS/MS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 A0081 ~ A0081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.5702/massspectrometry.A0081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 YAMAMURA Ryodai, NAKAMURA Koshi, KITADA Naoya, AIZAWA Tomoyasu, SHIMIZU Yu, NAKAMURA Kiminori, AYABE Tokiyoshi, KIMURA Takashi, TAMAKOSHI Akiko	4. 巻 39
2. 論文標題 Associations of gut microbiota, dietary intake, and serum short-chain fatty acids with fecal short-chain fatty acids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience of Microbiota, Food and Health	6. 最初と最後の頁 11 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12938/bmfh.19-010	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 Takakuwa Akiko, Nakamura Kiminori, Kikuchi Mani, Sugimoto Rina, Ohira Shuya, Yokoi Yuki, Ayabe Tokiyoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Butyric Acid and Leucine Induce -Defensin Secretion from Small Intestinal Paneth Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2817 ~ 2817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3390/nu11112817	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Yu, Sakuragi Naoya, Nakamura Kiminori, Taira Toshio, Ayabe Tokiyoshi, Fukui Akimasa	4. 巻 55
2. 論文標題 A simple culture method for liver and intestinal tissue-resident macrophages from neonatal mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal	6. 最初と最後の頁 436 ~ 444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s11626-019-00359-y	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 Meenu R. Pillai, Belgacem Mihi, Ishiwata Kenji, Nakamura Kiminori, Sakuragi Naoya, David B. Finkelstein, Maureen A. McGargill, Nakayama Toshinori, Ayabe Tokiyoshi, Mathew L. Coleman, Mark Bix	4. 巻 14
2. 論文標題 Myc-induced nuclear antigen constrains a latent intestinal epithelial cell-intrinsic anthelmintic pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0211244	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yokoi Yuki, Nakamura Kiminori, Yoneda Tsukasa, Kikuchi Mani, Sugimoto Rina, Shimizu Yu, Ayabe Tokiyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Paneth cell granule dynamics on secretory responses to bacterial stimuli in enteroids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39610-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yaguchi Kan, Yamamoto Takahiro, Shimada Masaya, Sugimoto Rina, Nakamura Kiminori, Ayabe Tokiyoshi, Uehara Ryota	4. 巻 504
2. 論文標題 Ploidy-dependent change in cyclin D2 expression and sensitization to cdk4/6 inhibition in human somatic haploid cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 231 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.08.160	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 Eriguchi Yoshihiro, Nakamura Kiminori, Yokoi Yuki, Sugimoto Rina, Takahashi Shuichiro, Hashimoto Daigo, Teshima Takanori, Ayabe Tokiyoshi, Michael E. Selsted, Andre J. Ouellette	4. 巻 3
2. 論文標題 Essential role of IFN- in T cell associated intestinal inflammation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.121886	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Eduardo R. Cobo, Ravi Holani, France Moreau, Nakamura Kiminori, Ayabe Tokiyoshi, Jennifer R. Mastroianni, Eriguchi Yoshihiro, Andre Ouellette, Kris Chadee	4. 巻 86
2. 論文標題 Entamoeba histolytica Alters ileal Paneth Cell Functions in Intact and Muc2 Mucin Deficiency	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infection and Immunity	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/IAI.00564-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayase Eiko, Hashimoto Daigo, Nakamura Kiminori, Yokoi Yuki, Sugimoto Rina, Matsuoka Satomi, Ara Takahide, Yokoyama Emi, Yamakawa Tomohiro, Ebata Ko, Kondo Takeshi, Hiramine Rina, Aizawa Tomoyasu, Tomizuka Kazuma, Ayabe Tokiyoshi, Teshima Takanori et al.,	4. 巻 214
2. 論文標題 R-Spondin1 expands Paneth cells and prevents dysbiosis induced by graft-versus-host disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 3507 ~ 3518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20170418	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 -

[学会発表] 計17件(うち招待講演 1件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 篠崎 竜我、中村 公則、清水 由宇、綾部 時芳
2. 発表標題 多様な α -defensin isoformに対する in vitroにおける効率的なS-S結合導入法の確立
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 嶋 七海、中村 公則、杉本 理菜、横井 友樹、綾部 時芳
2. 発表標題 母親の高脂肪食摂取が子の腸管上皮幹細胞ニッチェに与える影響
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 Yuki Yokoi, Kiminori Nakamura, Rina Sugimoto, Shuya Ohira, Mani Kikuchi, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Acetylcholine-induced Paneth Cell Granule Secretion Via Muscarinic M3 Receptor In Mouse Small Intestine
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunta Nakamura, Kiminori Nakamura, Mani Kikuchi, Yuki Yokoi, Shuya Ohira, Yu Shimizu, Takuto Nishida, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Paneth cell dysfunction in pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis.
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠崎 竜我、中村 公則、清水 由宇、綾部 時芳
2. 発表標題 多様な α -defensin isoformに対するin vitroにおける効率的なS-S結合導入法の確立
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 嶋 七海、中村 公則、杉本 理菜、横井 友樹、綾部 時芳
2. 発表標題 母親の高脂肪食摂取が子の腸管上皮幹細胞ニッチェに与える影響
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 Yuki Yokoi, Kiminori Nakamura, Rina Sugimoto, Shuya Ohira, Mani Kikuchi, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Acetylcholine-induced Paneth Cell Granule Secretion Via Muscarinic M3 Receptor In Mouse Small Intestine
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunta Nakamura, Kiminori Nakamura, Mani Kikuchi, Yuki Yokoi, Shuya Ohira, Yu Shimizu, Takuto Nishida, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Paneth cell dysfunction in pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis.
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本 理菜、中村 公則、嶋 七海、清水 由宇、横井 友樹、綾部 時芳
2. 発表標題 母親の高脂肪食摂取が子のPaneth細胞 α-defensinによる腸内環境制御に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yu Shimizu, Kiminori Nakamura, Mani Kikuchi, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Involvement of Paneth cell alpha-defensin misfolding in disease progression of SAMP1/YitFc, a murine model of Crohn's disease.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 公則、杉本 理菜、横井 友樹、清水 由宇、菊池 摩仁、綾部 時芳
2. 発表標題 レスベラトロール摂取による α -defensin 分泌量と腸内細菌叢への影響
3. 学会等名 日本食品免疫学会 第14回 学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大平 修也、中村 公則、菊池 摩仁、横井 友樹、杉本 理菜、綾部 時芳
2. 発表標題 腸管organoidを用いたPaneth細胞分化制御機構の解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 公則、横井 友樹、米田 司、綾部 時芳
2. 発表標題 Enteroidを用いたPaneth細胞が制御する腸内環境の機能解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫻木 直也、中村 公則、横井 友樹、菊池 摩仁、綾部 時芳
2. 発表標題 高純度ソーティング由来cDNAライブラリーを用いたPaneth細胞の新規機能探索
3. 学会等名 日本食品免疫学会第13回学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米田 司、中村 公則、横井 友樹、大平 修也、菊池 摩仁、櫻木 直也、綾部 時芳
2. 発表標題 Enteroid内腔へのマイクロインジェクションによるPaneth細胞顆粒分泌評価システムの確立と応用
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清水 由宇、中村 公則、菊池 摩仁、櫻木 直也、綾部 時芳
2. 発表標題 クローン病モデルマウスSAMP1/YitFcにおけるPaneth細胞 -defensinのmisfolding
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Rina Sugimoto, Naoya Sakuragi, Yuki Yokoi, Kiminori Nakamura, Tokiyoshi Ayabe
2. 発表標題 Evaluation system for receptor expression and function in the intestinal stem cell niche
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----