

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17025

研究課題名(和文)ゲノム編集マウスを用いたケモカインCCL20の炎症性腸疾患における役割の解明

研究課題名(英文)Elucidating the Function of Chemokine CCL20 in Inflammatory Bowel Disease using Genome-Edited Mouse Models

研究代表者

有木 晋平(Ariki, Shimpei)

大分大学・医学部・医員

研究者番号：40849634

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):炎症性腸疾患におけるケモカインやケモカイン受容体の生理的役割を解明するため、ゲノム編集によりCCL20、CCR2およびCCR6欠損マウスを作製し、DSS誘導腸炎を解析したところ、全ての変異マウスの腸炎は野生型マウスと比べ悪化した。腸炎誘導後のパイエル板で、CCL20欠損マウスのCD4+T細胞の割合は野生型マウスと比べ減少していた。一方、CCR2/CCR6二重欠損マウスを作製したところ腸炎は逆に軽減した。大腸粘膜固有層のCCR2+CCR6+Th17細胞がGM-CSFを高産生することを見出し、この炎症性Th17細胞の遊走が腸炎の病態形成に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ダイナミックな免疫システムを理解するためには、白血球遊走を司るケモカインの役割を解明する必要がある。これまで、多発性硬化症や潰瘍性大腸炎の治療に、4インテグリン阻害薬が開発されており、今後もリンパ球のホーミングや遊走に関連した分子標的薬の開発が益々盛んになると考えられる。従って、ケモカインによる免疫制御機構の理解が自己免疫疾患の治療薬開発には欠かせないが、本研究により炎症性腸疾患におけるCCL20/CCR6およびCCR2の役割を分子生物学的手法を用いて個体レベルで明らかになったことは、学術的および社会的に意義が大きいと言える。

研究成果の概要(英文):To elucidate the physiological role of chemokines and chemokine receptors in inflammatory bowel disease, CCL20-, CCR2- and CCR6-deficient mice were generated by genome editing and analyzed for DSS-induced colitis; all mutant mice showed more severe colitis than wild-type mice. The frequencies of CD4+ T cells in the Peyer's patches were reduced in CCL20-deficient mice compared to those in wild-type mice after DSS treatment. In contrast, when CCR2/CCR6 double-deficient mice were generated, DSS-induced colitis was conversely milder than wild-type mice. We found that CCR2+CCR6+Th17 cells in the colonic lamina propria produced high levels of GM-CSF, suggesting that the migration of these inflammatory Th17 cells is important in the pathogenesis of colitis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：ケモカイン 炎症性腸疾患 ゲノム編集マウス 疾患モデルマウス CCL20 CCR6 CCR2

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (UC)、クローン病 (CD) に代表される炎症性腸疾患 (IBD) は、再燃寛解を繰り返し慢性的に経過する難治性疾患である。患者は年々増加傾向であり、主に成長期や働き盛りの若年者に好発するため医療費増大や生産性低下などが大きな問題となっている。未だ根本的原因は不明であるが、遺伝的素因と環境因子が複雑に関与しているとされる。これまで UC は IL-4 を主とする Th2 型反応、CD は IFN- γ を主とする Th1 型反応と考えられてきたが、近年、インターロイキン 17 (IL-17) 産生性ヘルパー T 細胞である Th17 細胞や免疫抑制性ヘルパー T 細胞である制御性 T 細胞 (Treg 細胞) が IBD の病態形成に関与していることが明らかになってきた。活性化した Th17 細胞や Treg 細胞はケモカイン受容体 CCR6 を高発現し、標的組織のケモカイン CCL20 に誘引されることが示されているが、腸管組織への T 細胞の遊走には不明な点が残されている。例えば、CCR6 欠損マウスの腸炎は誘導する薬剤によって全く反対の結果が観察されることから¹⁾、Th17 細胞と Treg 細胞の遊走の制御機構が異なることが示唆されるが詳細は不明である。

我々は、マウスの生体内での CCL20 mRNA の発現を解析したところ、腸管組織で発現が高いことを確認した。このことから、CCL20 が CCR6 陽性細胞を誘引して腸管組織の恒常性や腸炎の病態形成に関与することが示唆されるが、これまで遺伝子欠損マウスを用いた報告はない。

そこで、マウス近交系である C57BL/6 系統の遺伝的背景をもつ CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスをゲノム編集技術を用いて作製し、実験的腸炎誘導後の病態を解析することで IBD の病態形成におけるケモカイン CCL20 とその受容体 CCR6 の役割を解明できると考えた。

さらに、Th17 細胞は CCR6 に加え CCR2 も発現していることが知られているので²⁾、ゲノム編集技術を用いて CCR2 欠損マウスを作製し実験的腸炎誘導後の病態を解析することとした。

2. 研究の目的

本研究は、CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスを用いて、

- (1) 定常状態における腸管組織のリンパ球の局在を解析し、CCL20/CCR6 シグナルが腸管組織の恒常性に働く生理的役割を解明すること
- (2) 実験的腸炎モデルを作製してその表現型を解析し、CCL20/CCR6 シグナルが IBD の病態形成に果たす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

C57BL/6 マウスは、日本 SLC から購入した。CCL20, CCR6, CCR2 の gRNA の標的配列を表 1 に示す。gRNA および Cas9 は、Integrated DNA Technologies, Inc. から購入した。卵管内受精卵のゲノム編集 (i-GONAD) は、既報に従った³⁾。gRNA と Cas9 を、交配の翌日に C57BL/6 雌マウスの卵管膨大部に注入し、卵管間に電極を設置し、NEPA21 エレクトロポレーターを用いて電気パルスをかけた。マウスは、大分大学実験動物施設内の SPF 環境内で飼育した。すべての実験プロトコルは、大分大学動物実験委員会 (承認番号 170902) の承認を得ている。

Gene name	Target Sequence	PAM
CCL20	5'-CTTCCTCCAGAGCTATTGT	GGG
CCL20	5'-TGTGGGTTTCAACAAGACAGA	TGG
CCR6	5'-ATAATCATCCGTTCCAAAGT	AGG
CCR2	5'-ATCATCGTAGTCATACGGTG	TGG

表 1 : gRNA の標的塩基配列

(2) 実験的大腸炎

マウスに 2.0% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) (DSS-Colitis Grade:36,000-50,000 MW) (MP Biomedicals) を飲料水として 6 日間投与し、その後通常の水を 4 日間投与した。体重と disease activity index (DAI) スコアは毎日モニターした。既報⁴⁾ に従い DAI スコアを以下のように決定した：体重減少 (0 : 減少なし、1 : 1%~5%、2 : 5%~10%、3 : 10%~20%、4 : 20% 超)、便の粘性 (0 : 正常、2 : 緩便、3 : 泥便、4 : 下痢)、出血 (0 : 血液なし、2 : 視覚的ペレット出血、3 : 肛門周囲の血液 ; 4 : 総出血)。別の実験では、麻酔下で胃ゾンデを用いてマウスにプロパゲルマニウム (PG) (5mg/kg、10 日間) (三和化学研究所) を経口投与した。

(3) 組織学的解析

実験的大腸炎を誘導したマウスを頸椎脱臼し、結腸を採取して長さを測定した。大腸の遠位部からパラフィン切片を作製しヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色した。顕微鏡下 (BX51、オリンパス) で遠位結腸切片を用いて、DSS 誘導大腸炎の重症度を評価した。既報の組織学的スコアリングシステム⁵⁾を参照した。上皮細胞の損傷 (0: 正常、1: 杯細胞の局所的消失、2: 杯細胞の拡散的消失、3: 陰窩の局所的消失、4: 陰窩の拡散的消失)、細胞浸潤 (0: 増加なし、1: 陰窩基部の周囲、2: 粘膜層に沿って拡散的に浸潤、3. 粘膜層の完全浸潤、4: 粘膜層と粘膜下層の両方への浸潤)、潰瘍 (0: 潰瘍なし、1: 局所浸潤、2: 上皮表面のびまん性の浅い潰瘍または粘膜層の局所潰瘍、3: 粘膜層全体を含むびまん性の潰瘍)。

(4) フローサイトメトリー解析

T 細胞は、プレフェルディン A およびモネンシン存在下で、ホルボール 12-ミリスチン酸 13-アセテート (PMA) (50 μ g/ml) およびイオノマイシン (500 μ g/ml) で 5 時間刺激した。Fc ブロッキング抗体 (Abs) (2. 4G2) 存在下で表面染色を行った後、固定・透過化キット (サーモフィッシュャー社) を用いて細胞を固定し、透過化した後、細胞内染色を行った。フローサイトメトリー解析は、FACS LSR Fortessa X-20 フローサイトメーター (BD Biosciences) を用いて実施し、データは FlowJo ソフトウェア (Tree Star) を用いて解析した。解析には、以下のモノクローナル Abs を使用した。フルオロクロム標識抗 CD3 ϵ Ab (145-2C11; BD Biosciences)、抗 CD4 Ab (RM4-5; eBioscience Inc.)、抗 CCR2 Ab (SA203G11; BioLegend)、抗 CCR6 Ab (29-2L17; BioLegend)、抗 GM-CSF Ab (MP1-22E9; BioLegend) および抗 IL-17A Ab (TC11-18H10.1; BioLegend)。

(5) 定量 PCR 解析

大腸組織から TRI Reagent (Sigma-Aldrich) と PureLink RNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.) を用いて RNA を抽出・精製し、Verso cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.) を用いて逆転写した。定量 RT-PCR は、KAPA SYBR FAST qPCR Kit (Kapa Biosystems) を用いて、リアルタイム PCR 装置 (LightCycler 96, Roche Diagnostics) を用いて行った。相対的 mRNA レベルは β -アクチンの発現レベルで補正し、すべてのデータは LightCycler Software ver1.1 を用いて分析した。プライマー配列を表 2 に示す。

Gene name	Forward primer	Reverse primer
IL-17A	5'-ttaaactcccttggcgcaaaa	5'-ctttccctccgcattgacac
Foxp3	5'-actcgcatgttcgctactctcag	5'-ggcggatggcattcttcaggt
IFN- γ	5'-atgaacgctacacactgcatc	5'-ccatccttttggcagttcctc
TGF β	5'-tggagcaacatgtggaactc	5'-cgtaaaagacagccactca
IL-10	5'-gcagctctaggagcatgtgg	5'-ggccctcagactactcaacc
IL-6	5'-ccggagaggagacttcacag	5'-cagaattgccattgcacaac
TNF α	5'-ccaccacgctctctgtcta	5'-tcctccacttggtggtttgt
β actin	5'-cttctccctggagaagactatgagc	5'-gcctagaagcacttgcgggtgcacg

表 2: プライマー塩基配列

(6) ELISA

CCL20 のタンパク質濃度は、マウス CCL20/MIP-3 α DuoSet (R&D Systems) を用いて測定した。450nm の吸光度は、Model 680 microplate reader (Bio-Rad) を用いて測定した。

(7) 統計解析

データは、平均値 \pm SEM で示した。GraphPad Prism7 ソフトウェアを用いて 2 群間の単変量解析を行い、有意差を Student's t-test で検定した。P < 0.05 を統計的に有意とみなした。

4. 研究成果

(1) 遺伝子欠損マウスの樹立

CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集技術により CCL20, CCR6 および CCR2 遺伝子が欠失した変異マウスを作製し、そのヘテロ接合体どうしを交配して遺伝子欠損ホモ接合体を得た。遺伝子の欠損は、遺伝子の塩基配列およびタンパク質発現の消失により確認した (図 1)。

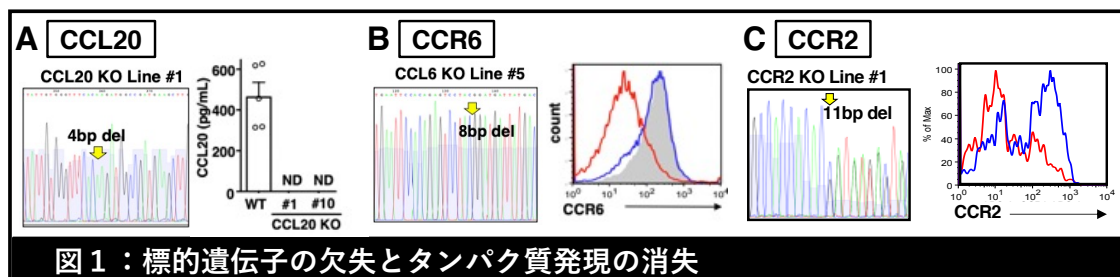


図 1: 標的遺伝子の欠失とタンパク質発現の消失

(2) CCL20 と血球系細胞の分化・局在

CCL20 欠損マウスの定常状態における免疫細胞の分布はこれまで解析されていなかったため、まずこれについて CCR6 欠損マウスと比較し解析した。胸腺 T 細胞の分化、並びに骨髄 B 細胞の分化は、どちらの遺伝子欠損マウスも正常であった (図 2A)。さらに、脾臓の微小構造とそれを構成する免疫細胞の割合も正常であった (図 2B)。従って、CCL20/CCR6 が一次リンパ組織および二次リンパ組織におけるリンパ球の発生や恒常的な分布に必ずしも必要ではないことが明らかになった。

また、我々はすでにパイエル板での CCL20 の発現が高いことと、CCL20 欠損マウスのパイエル板が低形成となることを見出している。そこで、パイエル板よりリンパ球を単離し、フローサイトメトリー法によりリンパ球のサブセットの割合や局在を解析したところ、CCL20 欠損マウスと野生型マウスのパイエル板中の B 細胞、T 細胞の割合に大きな差は認められなかった。しかし、Th17 細胞の割合は、野生型マウスに比べて CCL20 欠損マウスで低い傾向が見られた。また、腸管組織の恒常性に重要な Foxp3+ROR γ t+T 細胞の割合が両欠損マウスの腸管膜リンパ節、およびパイエル板で減少している傾向が見られた。一方、定常状態における腸管上皮細胞間リンパ球 (IELs) 中の γ δ T 細胞に対する α β T 細胞の割合が両欠損マウスで優位に増加していることを見出した。

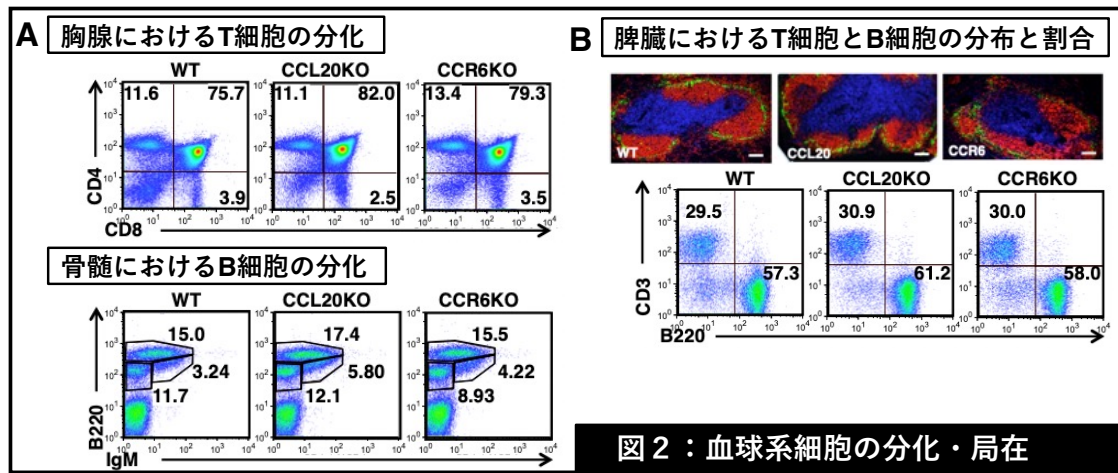


図 2 : 血球系細胞の分化・局在

(3) DSS 誘導大腸炎における CCL20 の役割

DSS を用いてマウスに実験的腸炎を誘導し、CCL20 欠損マウスの病態を野生型および CCR6 欠損マウスと比較解析した (図 3)。腸炎誘導後、野生型マウスに比べ CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスの体重は著しく減少し、その減少幅は CCL20 欠損マウスでより顕著であった (図 3A)。一方、腸炎スコアは野生型マウスに比べいずれの欠損マウスでも著しく重症化し、その重症度は両欠損マウスの間で同程度であった (図 3A)。腸炎の重症度を反映する大腸の長さを計測したところ、DSS 投与後の大腸の短縮は野生型マウスに比べ CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスでより短縮した (図 3B)。これと一致して、HE 染色による病理所見においても、野生型に比べ CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスの大腸粘膜には潰瘍部分が広範に認められ重症化が示唆された (図 3C)。

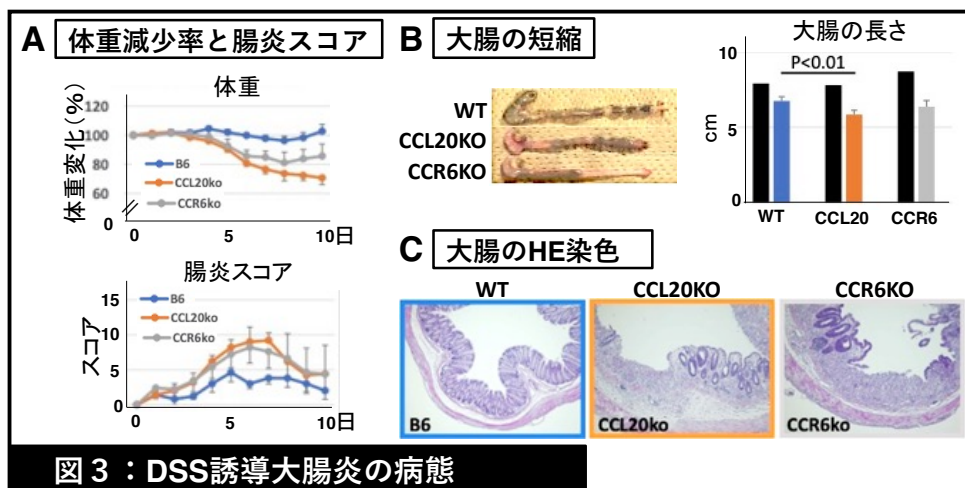


図 3 : DSS 誘導大腸炎の病態

(4) DSS 誘導大腸炎における細胞局在

CCL20 欠損マウスおよび CCR6 欠損マウスで実験的腸炎がより重症化する原因を明らかにするため免疫細胞の局在を解析した。腸炎誘導後の CCL20 欠損マウスのパイエル板中の T 細胞のフローサイトメトリー解析を行ったところ、CD4 陽性 T 細胞の割合が野生型に比べ有意に低下していた。腸炎誘導後の腸管膜リンパ節は、野生型マウスで著しく肥大したが、両欠損マウスにおける肥大化の程度は有意に抑制されており、腸管膜リンパ節の重量は 1/2 以下であった(図 4)。しかし、リンパ球の割合には大きな変化は認められず、病態との関連は見出せなかった。また、炎症性サイトカイン IL-17A、TNF α 、IL-6、および抗炎症性サイトカイン IL-10、TGF β の発現レベルにも有意差は認められず、Treg 細胞マーカーの Foxp3 の発現レベルも同等であった。

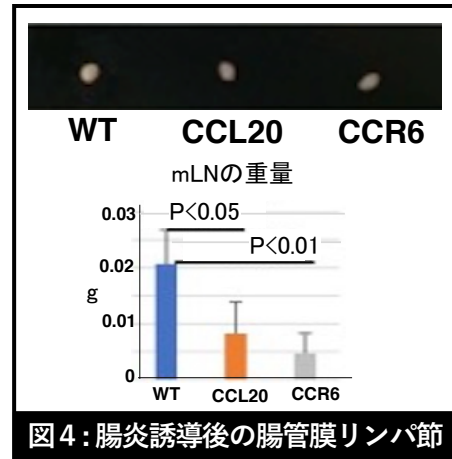


図 4 : 腸炎誘導後の腸管膜リンパ節

(5) DSS 誘導大腸炎における CCR6 および CCR2 の役割

Th17 細胞は均一な細胞集団ではなく、機能の異なる複数のサブセットからなり、一部のサブセットは CCR6 以外にも CCR2 を発現していることが報告されている²⁾。そこで、ゲノム編集技術を用いて独自に開発した CCR2 欠損マウスの腸炎を解析したところ、わずかに病態の悪化を認めた。ところが、興味深いことに、CCR2/CCR6 二重欠損マウスを製作したところ腸炎は逆に軽減することを見出した(図 5)。CCR6 欠損マウスに CCR2 阻害剤のプロパゲルマニウムを投与しても腸炎は軽減した。さらに、大腸粘膜固有層の CCR2+CCR6+Th17 細胞は GM-CSF を産生し、CCR2/6 二重欠損マウスの腸内ではその濃度が有意に低下していたことから、CCR2+CCR6+Th17 細胞が炎症性 Th17 細胞であり、それらの大腸組織への遊走が腸炎の病態形成に重要であることが示唆された。

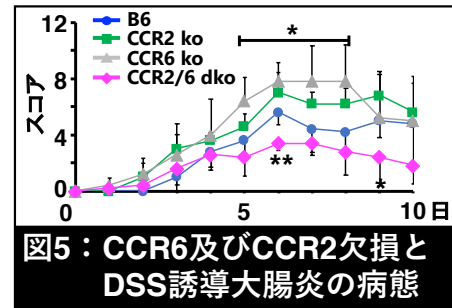


図 5 : CCR6 及び CCR2 欠損と DSS 誘導大腸炎の病態

(6) 結語

本研究により、CCL20/CCR6 シグナルの欠損は一次リンパ組織における T 細胞や B 細胞の分化や脾臓の微小構造並びにそれを構成する免疫細胞の恒常的分布に影響しないことが示された。しかし、腸管組織において Foxp3+ROR γ t+T 細胞の割合や IELs 中の γ δ T 細胞に対する α β T 細胞の割合に影響することが明らかとなった。また、CCL20/CCR6 シグナルや CCR2 シグナルの欠損は DSS 誘導腸炎の病態を増悪化させるものの、両シグナルが同時に欠損すると病態は軽減することが見出され、腸炎の病態形成において複数のケモカインシグナルが異なる機能の免疫細胞を複雑に制御している実態が明らかとなった。このことは、炎症性腸疾患 (IBD) の治療薬としてケモカインを標的とする際の重要な知見となると考えられる。

<引用文献>

- ① Varona R, et al., Eur. J. Immunol. 33 (2003) 2937-2946.
- ② Sato W, et al., J. Immunol. 178 (2007) 7525-7529.
- ③ Ohtsuka M, et al., Genome Biol. 19 (2018) 25.
- ④ Kim JJ, et al., J Vis Exp 60 (2012) 3678.
- ⑤ Dohi, T, et al., Gastroenterology 128(2005) 411-423.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Ariki Shimpei, Ozaka Sotaro, Sachi Nozomi, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Fukuda Chiaki, Kagoshima Yomei, Ekronarongchai Supanuch, Mizukami Kazuhiro, Kamiyama Naganori, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi	4. 巻 28
2. 論文標題 GM-CSF-producing CCR2+ CCR6+ Th17 cells are pathogenic in dextran sodium sulfate-induced colitis model in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 267 ~ 276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.13008	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 Sachi Nozomi, Kamiyama Naganori, Saechue Benjawan, Ozaka Sotaro, Dewayani Astri, Ariki Shimpei, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Fukuda Chiaki, Kagoshima Yomei, Ekronarongchai Supanuch, Kobayashi Takashi	4. 巻 641
2. 論文標題 CCL20/CCR6 chemokine signaling is not essential for pathogenesis in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 123 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.11.088	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 Dewayani Astri, Kamiyama Naganori, Sachi Nozomi, Ozaka Sotaro, Saechue Benjawan, Ariki Shimpei, Goto Mizuki, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Fukuda Chiaki, Kagoshima Yomei, Maekawa Yoichi, Kobayashi Takashi	4. 巻 613
2. 論文標題 TRAF6 signaling pathway in T cells regulates anti-tumor immunity through the activation of tumor specific Th9 cells and CTLs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 26 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.04.125	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 Ozaka S, Sonoda A, Ariki S, Minata M, Kamiyama N, Hidano S, Sachi N, Ito K, Kudo Y, Dewayani A, Chalalai T, Ozaki T, Soga Y, Fukuda C, Mizukami K, Ishizawa S, Nishiyama M, Fujitsuka N, Mogami S, Kubota K, Murakami K, Kobayashi T	4. 巻 17
2. 論文標題 Saireito, a Japanese herbal medicine, alleviates leaky gut associated with antibiotic-induced dysbiosis in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0269698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0269698	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 Ozaki T, Kamiyama N, Saechue B, Soga Y, Gotoh R, Nakayama T, Fukuda C, Dewayani A, Chalalai T, Ariki S, Ozaka S, Sonoda A, Hirose H, Gendo Y, Noguchi K, Sachi N, Hidano S, Maeshima K, Gotoh K, Masaki T, Ishii K, Osada Y, Shibata H, Kobayashi T	4. 巻 27
2. 論文標題 Comprehensive lipidomics of lupus-prone mice using LC-MS/MS identifies the reduction of palmitoylethanolamide that suppresses TLR9-mediated inflammation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 493 ~ 504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12944	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 Ozaka S., Sonoda A., Ariki S., Kamiyama N., Hidano S., Sachi N., Ito K., Kudo Y., Minata M., Saechue B., Dewayani A., Chalalai T., Soga Y., Takahashi Y., Fukuda C., Mizukami K., Okumura R., Kayama H., Murakami K., Takeda K., Kobayashi T.	4. 巻 26
2. 論文標題 Protease inhibitory activity of secretory leukocyte protease inhibitor ameliorates murine experimental colitis by protecting the intestinal epithelial barrier	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 807 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12888	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 Ozaka Sotaro, Inoue Kunimitsu, Okajima Tomoya, Tasaki Takako, Ariki Shimpei, Ono Hideki, Ando Takeaki, Daa Tsutomu, Murakami Kazunari	4. 巻 27
2. 論文標題 Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma presenting as melena with long-term survival: A case report and review of literature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 6501 ~ 6510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v27.i38.6501	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 Ozaka Sotaro, Kodera Takamoto, Ariki Shimpei, Kobayashi Takashi, Murakami Kazunari	4. 巻 101
2. 論文標題 Acute pancreatitis soon after COVID-19 vaccination	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e28471 ~ e28471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000028471	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 Hidano Shinya, Mizukami Kazuhiro, Yahiro Takaaki, Shirakami Kohei, Ito Hideyuki, Ozaka Sotaro, Ariki Shimpei, Saechue Benjawan, Dewayani Astri, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Goto Mizuki, Sonoda Akira, Ozaki Takashi, Sachi Nozomi, Kamiyama Naganori, Nishizono Akira, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi	4. 巻 74
2. 論文標題 Analysis of the prevalence and species of anisakis nematode in sekisaba, scomber japonicus caught in coastal waters off saganoseki, oita in japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 387 ~ 391
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2020.859	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 Hidano Shinya, Mizukami Kazuhiro, Yahiro Takaaki, Shirakami Kohei, Ito Hideyuki, Ozaka Sotaro, Ariki Shimpei, Saechue Benjawan, Dewayani Astri, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Goto Mizuki, Sonoda Akira, Ozaki Takashi, Sachi Nozomi, Kamiyama Naganori, Nishizono Akira, Murakami Kazunari, Kobayashi Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of the prevalence and species of Anisakis nematode in Sekisaba, Scomber japonicus caught in coastal waters off Saganoseki, Oita in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	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) 10.7883/yoken.JJID.2020.859	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 Saechue B, Kamiyama N, Wang Y, Fukuda C, Watanabe K, Soga Y, Goto M, Dewayani A, Ariki S, Hirose H, Ozaka S, Sachi N, Hidano S, Faisal K, Chowdhury R, Anik Ashfaq Khan M, Hossain F, Ghosh P, Shirin T, Mondal D, Murakami K, Kobayashi T.	4. 巻 25(9)
2. 論文標題 Development of a portable reverse transcription loop mediated isothermal amplification system to detect the E1 region of Chikungunya virus in a cost effective manner	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 615-625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12797	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 -

[学会発表] 計22件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Shimpei Ariki, Sotaro Ozaka, Nozomi Sachi, Yomei Kagoshima, Thanyakorn Chalalai, Naganori Kamiyama, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Identification of pathogenic Th17 cells in gastrointestinal tract using chemokine receptor deficient mice
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nozomi Sachi, Naganori Kamiyama, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Thanyakorn Chalalai, Yomei Kagoshima, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Physiological function of chemokine CCL20 and its receptor CCR6 in multiple sclerosis in mice
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Yomei Kagoshima, Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Thanyakorn Chalalai, Astri Dewayani, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Secretory leukocyte protease inhibitor ameliorates murine experimental colitis by protecting the intestinal epithelial barrier
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Thanyakorn Chalalai, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Yomei Kagoshima, Nozomi Sachi, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Zika virus induces pathogenic T cell-attracting chemokines in the central nervous system and exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Thanyakorn Chalalai, Naganori Kamiyama, Shimpei Ariki, Sotaro Ozaka, Nozomi Sachi, Yomei Kagoshima, Ryu Okumura, Kiyoshi Takeda, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Physiological relevance of TRAF6 signaling in dendritic cells in controlling C. rodentium infection
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Thanyakorn Chalalai, Yasuhiro Soga, Chiaki Fukuda, Yomei Kagoshima, Supanuch Ekronarongchai, Masahiro Yamamoto, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Functional analysis of chemokine receptor CCR2 in a murine congenital toxoplasmosis model
3. 学会等名 第15回寄生虫感染免疫研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Naganori Kamiyama, Yomei Kagoshima, Nozomi Sachi, Thanyakorn Chalalai, Yasuhiro Soga, Kazuhiro Mizukami, Kazunari Murakami, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Secretory leukocyte protease inhibitor ameliorates experimental colitis by protecting the intestinal epithelial barrier
3. 学会等名 第12回 癌・炎症と抗酸化研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有木晋平, 小坂聡太郎, 神山長慶, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Thanyakorn Chalalai, 佐知望美, 曾我泰裕, 福田千瑛, 水上一弘, 村上和成, 小林隆志
2. 発表標題 T細胞特異的TRAF6欠損マウスを用いた腸管におけるnon-pathogenic Th17細胞に関する研究
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nozomi Sachi, Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Sotaro Ozaka, Astri Dewayani, Shimpei Arika, Thanyakorn Chalalai, Yasuhiro Soga, Chiaki Fukuda, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 CCL20欠損マウスを用いた多発性硬化症の発症におけるCCL20の機能解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皆田美月, 小坂聡太郎, 有木晋平, 神山長慶, 佐知望美, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Thanyakorn Chalalai, 曾我泰裕, 福田千瑛, 水上一弘, 村上和成, 小林隆志
2. 発表標題 大建中湯のSLPI発現増強を介した腸管保護作用の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小坂聡太郎, 有木晋平, 皆田美月, 神山長慶, 佐知望美, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Thanyakorn Chalalai, 曾我泰裕, 福田千瑛, 水上一弘, 村上和成, 小林隆志
2. 発表標題 柴苓湯はマウスにおいて抗菌薬によるdysbiosisに起因するLeaky gutを軽減する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Astri Dewayani, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shimpei Arika, Benjawan Saechue, Yasuhiro Soga, Thanyakorn Chalalai, Chiaki Fukuda, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 TRAF6 regulates Th9 cells and cytotoxic T lymphocytes in tumor immunity
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Chalalai Thanyakorn, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Chiaki Fukuda, Yasuhiro Soga, Mizuki Minata, Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Takashi Kobayashi.
2. 発表標題 Zika virus induces Th17 cell-attracting chemokines in the central nervous system and exacerbates neurological disorders.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuhiro Soga, Naganori Kamiyama, Takashi Ozaki, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Thanyakorn Chalalai, Chiaki Fukuda, Takashi Kobayash
2. 発表標題 Verification of T cell inhibitory effect of lipid mediator Oleylethanolamide
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Chiaki Fukuda, Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Chalalai Thanyakorn, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Yasuhiro Soga, Mizuki Minata, Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Ryosuke Suzuki, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 Identification of a responsible amino acid in prME protein for cell entry of Zika virus using single-round infectious particles (SRIPs)
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 望月晶子, Thanyakorn chalalai, 伊藤加奈子, 有木 晋平, 小坂聡太郎, 佐知望美, 神山長慶, 小林隆志.
2. 発表標題 樹状細胞におけるTRAF6シグナルがCitrobacter rodentium感染性腸炎に与える役割.
3. 学会等名 第11回 癌・炎症と抗酸化研究会(CIA研究会).
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小坂聡太郎, 皆田美月, 有木晋平, 水上一弘, 神山長慶, 小林隆志, 村上和成.
2. 発表標題 マウス腸炎モデルを用いた大建中湯のSLPI発現を介した腸管保護作用の解析
3. 学会等名 第29回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小坂聡太郎, 井上邦光, 岡嶋智也, 田崎貴子, 有木晋平, 小野英樹, 村上和成.
2. 発表標題 上部消化管出血を契機に診断され長期生存している単形性上皮向性腸管T細胞リンパ腫の1例
3. 学会等名 第111回日本消化器内視鏡学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naganori Kamiyama, Benjawan Saechue, Astri Dewayani, Chalalai Thanyakorn, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Yasuhiro Soga, Mizuki Goto, Nozomi Sachi, Shinya Hidano, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 TRAF6 promotes the migration of Th17 cells into the CNS by regulating CCR6 expression in experimental autoimmune encephalomyelitis mice
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Astri Dewayani, Naganori Kamiyama, Shinya Hidano, Nozomi Sachi, Sotaro Ozaka, Shimpei Ariki, Benjawan Saechue, Mizuki Goto, Yasuhiro Soga, Thanyakorn Chalalai, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 TRAF6 Signaling in Th9 cells Regulates Anti-Tumor Immune Response
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小坂 聡太郎, 園田 光, 有木 晋平, 水上 一弘, 村上 和成
2. 発表標題 抗生物質起因性大腸炎マウスモデルに対する柴苓湯の有効性の解明
3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小坂 聡太郎, 有木 晋平, 園田 光, 神山 長慶, 飛弾野 真也, 水上 一弘, 小林 隆志, 村上 和成
2. 発表標題 DSS腸炎モデルを用いたSLPIの結腸における生理的機能の解析
3. 学会等名 第28日本消化器関連学会週間(JDDW) 第62回日本消化器病学会大会
4. 発表年 2020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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関