



Title	Regulation of anergy-related ubiquitin E3 ligase, GRAIL, in murine models of colitis and patients with Crohn' s disease
Author(s)	向井, 章
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34161
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名：Thesis Title〕

Regulation of anergy-related ubiquitin E3 ligase, GRAIL, in murine models of colitis and patients with Crohn's disease

(クローン病及び慢性腸炎モデルマウスにおけるアナジー関連ユビキチンE3リガーゼ (GRAIL) の制御)

専攻名 : 内科系臨床医学専攻
Division

学位申請者 : 向井 章
Name

〔目的 (Purpose)〕

腸管免疫系の恒常性の維持には免疫寛容が重要な役割を果たしており、免疫寛容の破綻はクローン病の病態形成に関与している。GRAIL (Gene Related to Anergy In Lymphocyte) は、CD4陽性T細胞の不応答化に必須の因子として同定されたユビキチンE3リガーゼである。これまで種々の自己免疫性疾患との関与が報告されているが、炎症性腸疾患との関与は未だ明らかでない。本研究では、クローン病とGRAILの発現、及びその制御を明らかにする事を目的とした。

〔方法 (Methods)〕

クローン病患者の末梢血CD4⁺T細胞および腸管切除標本におけるGRAILの発現を健常者と比較した。慢性腸炎を発症するIL-10^{-/-}マウス、DSS腸炎マウスの腸管およびリンパ組織におけるGRAILのmRNAおよび蛋白発現を解析した。GRAILの発現に関与するmiRNAをmicroarrayにて網羅的に解析し、レポーターアッセイを用いてその抑制効果を確認した。GRAIL強制発現株を用いて、慢性腸炎に対する*in vivo*での効果を解析した。

〔結果 (Results)〕

クローン病患者の末梢血CD4⁺T細胞におけるGRAILのmRNAおよび蛋白発現は、健常者よりも有意に低値であった。一方、クローン病の腸管粘膜固有層ではGRAIL発現CD4⁺T細胞が健常者よりも増加していた。慢性腸炎モデルマウスにおいても同様の発現パターンを認めた。野生型マウスの腸管粘膜固有層リンパ球においてGRAILのmRNAと蛋白発現に乖離が認められたため、microRNA microarrayによる網羅的解析を行った。腸管において高発現し、GRAILを標的とし得るmiRNAとしてmiR-290-5pを同定した。miR-290-5pの標的部位を組み込んだルシフェラーゼ発現ベクターを作成し、miR-290の前駆体とco-transfectionする事により、ルシフェラーゼ活性は低下した。また、GRAIL強制発現T細胞株では、Foxp3やGITR、CTLA4の発現が亢進していた。このような細胞群をDSS腸炎モデルマウスに経静脈的投与する事により、腸炎は抑制される傾向にあった。In vivo imaging、免疫染色を用いて移入したT細胞株を腸管粘膜固有層に確認した。

〔総括 (Conclusion)〕

炎症性腸疾患の粘膜固有層では、特定のmicroRNAによりGRAILの発現は亢進していた。GRAIL高発現T細胞は抑制性の表現型を持ち、腸炎に対して保護的に働く可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 向井 章

	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授 竹原 徹郎
	副 査 大阪大学教授 金 倉 護
	副 査 大阪大学教授 熊 御 淳

論文審査の結果の要旨

クローン病の発症機序として、免疫寛容の破綻が想定されているが慢性炎症に至る機序については未だ不明な点が多い。今回申請者は、免疫寛容を構成する要素の1つであるCD4陽性T細胞の無応答化を制御する因子であるGRAIL (gene related to anergy in lymphocyte)に着目し、その腸管免疫系における発現制御にmicro-RNAが関与している事、GRAIL高発現細胞株は抑制性の表現型を示しており、腸炎に対して抑制的に働く事を新規に示した。腸管粘膜固有層におけるCD4陽性T細胞の無応答化は減弱し、過応答の状態にあると考えられたが、逆にその構成因子が増加しており抑制に関与している可能性を示した点において、本研究は新規かつ臨床的に意義の高い研究と考えられる。

以上より、申請者は学位の授与に値すると考えられる。