OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Universal Skew of T Cell Receptor (TCR) Vβ Usage for Crohn's Disease (CrD)
Author(s)	小川, 弘之
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41150
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【 16 】

氏名	小川弘之
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 14013 号
学位授与年月日	平成10年4月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Universal Skew of T Cell Receptor (TCR) Vβ Usage for Crohn's Disease (CrD) (Crohn病におけるT細胞受容体Vβレパトアの偏り)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三　教授 松澤 佑次 (副査) 教授 吉崎 和幸　教授 清野 宏

論文内容の要旨

[目的]

Crohn病（以下CrD）は消化管に肉芽腫性炎症を引き起こす原因不明の慢性疾患であるが，腸粘膜においてT細胞の活性化や，$\alpha\beta^+$T細胞の増加がみられ，シクロスポリンや抗CD4抗体による治療が有効なこと，AIDS発症に伴う寛解例の報告などから，その発症にはT細胞が重要な役割を果たしていると考えられる。そこで我々はこれらのT細胞が何らかの抗原に反応して腸粘膜に集積しているのではないかという仮説をたて，CrD腸粘膜に浸潤しているT細胞のT細胞受容体（以下TCR）Vβ領域を解析した。

[方法ならびに成績]

(1) 対象：インフォームド・コンセントのもとに活動期CrD患者16例の手術時あるいは内視鏡下生検時に得た病変部，肉眼的非病変部腸粘膜，および末梢血リンパ球（以下PBL）を用いた。ステロイドや免疫抑制剤による影響を除外するため，全例少なくとも検体採取の3カ月前からはこれらの薬剤を使用されていない症例のみを対象とした。正常対照として大腸癌，大腸ポリープ8例の健常部腸粘膜，また疾患対照として潰瘍性大腸炎8例の病変部腸粘膜を用いた。

(2) 腸粘膜組織より直接acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction（AGPC）法でtotal RNAを抽出し，reverse transcriptase-polymerase chain reaction（RT-PCR）により20種類のTCRVβファミリーの発現量を求め，internal controlとしてのCβの発現量に対する比を%で表わした。各VβおよびCβの相対発現量は各々の標準曲線（健常人PBLより作成）を用いてその放射活性からcDNA量をRNA相当で算出した。またPBLはFicoll Paqueで分離後，同様の検討をした。CrD腸粘膜では，コントロール群と比べ，Vβ12，Vβ13の発現量の有意な増加を認めた。この傾向は病変部のみならず，肉眼的非病変部にも認められた。またCrDのPBLでは，このような偏りは見られなかった。

(3) 腸粘膜組織より直接mRNAを抽出し，Cβ primerでRT後二本鎖cDNAを合成した。pBluescriptに組み込

み，クローニング後 Vβ12，Vβ13 の比率を求めたが，PCR 法で得たものと同様の結果が得られた。

(4) CrD 患者 2 例の腸粘膜組織より上皮間リンパ球（以下 IEL）と粘膜固有層リンパ球（以下 LPL）を分離し，各々を immunomagnetic beads を用いて $CD4^+$ T 細胞と $CD8^+$ T 細胞に分け各 Vβ ファミリーの発現量を測定した。その結果，(2)の腸粘膜組織の解析で認められた Vβ12，Vβ13 の偏りは，$CD4^+$LPL を反映しているものと考えられた。

(5) HLA-DR4 を有する CrD 患者 2 例において，増加した Vβ12，Vβ13 の CDR3 領域を決めるため，PCR product を pBluescript に組み込み，クローニング後に塩基配列を決定した。Vβ12は両症例で一部のクローンの集積を認めるものの，Vβ12，Vβ13 とも，同一クローンの集積はなく heterogeneous であった。

［総括］

CrD 腸粘膜では Vβ12，Vβ13 T 細胞の有意な増加が認められた。CrD は全消化管におこりうることが知られているが，最近肉眼的非病変部でも病理学的にはすでに肉芽腫が認められ，また T 細胞が活性化されていることが報告されている。Vβ12，Vβ13 T 細胞の増加が，病変部だけでなく，肉眼的非病変部にも認められたことより，これらの変化が病変形成の初期段階に深く関わっていることが示唆された。また，これら T 細胞の増加は，$CD4^+$LPL に由来するものと考えられたが，HLA class II の異なる症例でも同様の偏りが認められたことと，同じ HLA class II をもつ症例でも Vβ12，Vβ13 ともに，同一クローンの集積はなく heterogeneous であったことより，CrD では superantigen によるこれら T 細胞の活性化が病因に深く関わっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

Crohn 病（CrD）は消化管に肉芽腫性炎症を引き起こす原因不明の慢性疾患であり，その発症には T 細胞が重要な役割を担っていると考えられている。本研究は，CrD の病因解明のために，腸粘膜に浸潤している T 細胞の T 細胞受容体 Vβ 領域を詳細に解析したものである。その結果，活動期 CrD 患者の腸粘膜ではほぼ全例に Vβ12，Vβ13 T 細胞の増加を認め，その偏りは粘膜固有層リンパ球の $CD4^+$ T 細胞に由来することを見い出した。また増加した Vβ12，Vβ13 T 細胞のクロナリティーの解析では，HLA が同じでも症例を越えて特定のクローンは認められず，この偏りの形成に superantigen が関与している可能性が示唆された。さらに病変部への準備段階とされる肉眼的非病変部でも同じ偏りが認められたことから，Vβ12，Vβ13 T 細胞の増加は炎症による二次的な結果ではなく，CrD の発症または増悪にこれらの T 細胞が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。以上より，本研究は CrD の発症機序の解明，ひいては治療への応用に寄与することが期待され，学位の授与に値するものと評価する。