



| | |
|--------------|---|
| Title | Upregulation of GRAIL is associated with remission of ulcerative colitis |
| Author(s) | 柄川, 悟志 |
| Citation | 大阪大学, 2008, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/49817 |
| 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

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 | 柄 川 悟 志 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 22546 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成20年10月14日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当 医学系研究科未来医療開発専攻 |
| 学 位 論 文 名 | Upregulation of GRAIL is associated with remission of ulcerative colitis (GRAILの増加は潰瘍性大腸炎における緩解に関連する) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教授 林 紀夫 (副査) 教授 川瀬 一郎 教授 森 正樹 |

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

腸内細菌や食事抗原に対する免疫寛容の破綻が潰瘍性大腸炎(UC)の発症・進展のメカニズムとして重要であると考えられている。免疫寛容の成立において、T細胞のアナジー(不応答)が重要であり、T細胞のアナジー誘導にT細胞レセプターのシグナルを抑制するGRAIL(Gene related to anergy in lymphocytes)、c-Cbl、Itchなどのアナジー関連ユビキチナーゼの関与が報告されている。動物細胞や細胞株を用いた検討において、アナジー化CD4陽性T細胞でGRAILなどの発現が増加することが報告されているが、ヒトの疾患における検討はなされていない。そこで、ヒトのCD4陽性T細胞においてもアナジー化の際にGRAILなどのユビキチナーゼが誘導されるか否かを明らかにし、GRAILなどが発現するT細胞分画について検討した。さらに、免疫寛容が関与すると考えられているUCの病態に、GRAILなどのユビキチナーゼが関与しているか否かを明らかにすることを目的として本研究を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

健常者の末梢血単核球よりCD4陽性T細胞を磁気細胞分離により分離し、Ionomycinを加えアナジー化した後、リアルタイム定量RT-PCR法およびwestern immunoblottingによりGRAIL、c-Cbl、Itchの蛋白およびmRNA発現量を測定した。さらにCD4陽性細胞からCD4⁺CD45RO⁺メモリーT細胞、CD4⁺CD45RA⁺ナイーブT細胞、CD4⁺CD25⁺制御性T細胞を分離し、GRAIL、c-Cbl、ItchのmRNA発現量を比較した。次に、活動期UC患者12名、緩解期

UC患者8名、健常者10名の末梢血単核球よりCD4陽性T細胞を分離し、GRAIL、c-Cbl、ItchのmRNA発現量を測定した。また、活動期UC患者のうち遠心法による白血球除去療法およびステロイドにより緩解導入治療を行った8例について治療前後の末梢血単核球におけるGRAIL、c-Cbl、Itchの発現量をリアルタイム定量RT-PCR法により測定し、治療経過との相関を調べた。

ヒトのアナジー化CD4陽性T細胞において、GRAIL、c-Cbl、Itchの発現の増強が認められた。ヒトの末梢血CD4陽性T細胞におけるGRAILの発現は、CD4陰性細胞に比べて有意に高値であるのに対して、c-Cbl、Itchの発現には有意な差を認めなかった。CD4陽性T細胞におけるGRAILの発現は、メモリーT細胞とナイーブT細胞、あるいは制御性T細胞と非制御性T細胞に有意な差を認めなかった。

UC患者の末梢血CD4陽性T細胞のGRAILのmRNA発現は、緩解期UC患者において、活動期UC患者および健常者に比べて有意に高値であった〔緩解期UC 1.25 arbitrary unit (AU) 対 活動期UC 0.16AU, P<0.01、緩解期UC 1.25AU 対 健常者 0.23AU, P<0.01〕。一方、c-CblとItchの発現量は、緩解期UC患者、活動期UC患者、健常者の3群間に有意な差を認めなかった。

緩解導入治療を行った8例の活動期UC患者のうち、1例を除き緩解導入されたが、それら7例において、GRAIL発現は治療前に比して治療後に有意に増加した。さらに、治療後のGRAILが高値である症例は、長期に緩解を維持する傾向が認められた。

〔 総 括 〕

アナジー化されたヒトのT細胞ではユビキチナーゼであるGRAIL、c-Cbl、Itchが強く発現していたが、これらのうちCD4陽性T細胞におけるGRAILの発現増強がUCの緩解に関わっていることが明らかとなった。このことから、GRAILは免疫寛容を介した炎症性腸疾患治療の新たなターゲットになると考えられた。

論文審査の結果の要旨

潰瘍性大腸炎は炎症性腸疾患の代表的な疾患の一つであり、腸内の抗原に対する過剰な免疫反応により発症すると考えられている。過剰な免疫反応を抑制するメカニズムの一つにT細胞のアナジー(不応答)があり、近年ユビキチナーゼであるGRAILが、T細胞のアナジーに必要であることが報告されている。本研究では、緩解期UC患者でGRAILの発現が活動期UC患者に比べて有意に高い発現を示すことが明らかとなった。このことからGRAILがUCの緩解に関与していることが示された。潰瘍性大腸炎は若干年で発症することが多いため病程期間が長く、難治性の場合、患者のQOLが大きく低下するため、有用な治療法の開発が望まれている。ヒトの疾患においてGRAILの発現を検討した報告はこれまでになく、GRAILはT細胞のアナジーを介した潰瘍性大腸炎の新たな治療のターゲットとして期待される。

以上の内容の論文を、学位に値するものと認める。