

論文内容要旨

論文題目

NOD-like receptor family pyrin domain-containing 6 (NLRP6) は同種抗原刺激を受けた T 細胞の活性化および分化を調節することで移植片対宿主病を制御する

責任講座：内科学第一講座

氏 名： 松木 絵理

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景・目的】移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) は同種造血細胞移植後に生じる重篤な合併症であり、その発症にはドナー T 細胞が中心的な役割を果たしている。NOD-like receptor family pyrin domain-containing 6 (NLRP6) は、主に腸上皮に発現し恒常性の維持に不可欠であることが報告されているが、骨髄移植モデルマウスを用いた検討では腸管 GVHD を悪化させることから、宿主環境に応じた多彩な機能を持つことが示唆される。ドナー T 細胞における NLRP6 の機能について、主要組織適合性複合体 (MHC) 不一致の骨髄移植モデルマウスを用いた検討で、NLRP6 欠損 (NLRP6^{-/-}) T 細胞が急性 GVHD を悪化させることが報告されているが、ドナー T 細胞における NLRP6 の詳細な機能は不明である。したがって、本研究では NLRP6 がドナー T 細胞に与える影響と、それに伴う急性 GVHD 発症との関連について、更なる解明を目的とし検討を行った。

【方法・結果】最初に MHC 半合致の骨髄移植モデルマウスを用いた検討を行った。野生型 C57BL/6 (WT-B6) または NLRP6^{-/-}マウスの T 細胞と WT-B6 マウスの骨髄細胞をドナー細胞に使用し、B6D2F1 マウスをレシピエントに使用した。レシピエントマウスへ放射線照射後にドナー細胞を輸注し、生存確認と GVHD 重症度の評価を行った。その結果、NLRP6^{-/-} T 細胞を輸注した群で有意な生存率の低下を認めたことから、ドナー T 細胞における NLRP6 の発現は活性化 T 細胞に影響を与えることが示唆された。この反応が T 細胞に固有のものかを検討するために、移植前処置未実施の上で MHC 半合致移植を施行した。その結果、同種骨髄移植モデルと同様に NLRP6^{-/-}細胞を輸注した群で生存率が低下し、NLRP6 が直接 T 細胞の活性化に影響を与えることが示唆された。次に、非特異的 T 細胞受容体 (TCR) 刺激により活性化させた WT-B6 T 細胞における NLRP6 の発現を経時的に検討した結果、刺激後 1~6 時間の活性化早期に発現の上昇を認めた。T 細胞における NLRP6 発現が T 細胞の活性化に与える影響をより詳細に解析するために、混合リンパ球培養と非特異的 TCR 刺激を行い、T 細胞の増殖能を比較した。その結果、双方の刺激で NLRP6^{-/-} T 細胞の有意な増加を認めた。さらに、エフェクター T 細胞の分化能を検討した結果、NLRP6^{-/-} T 細胞でヘルパー T1 (Th1) 細胞への分化亢進を認めた。

【結論】ドナー T 細胞における NLRP6 の発現は、活性化 T 細胞の増殖と Th 1 への分化誘導を制御し、急性 GVHD を減弱させる可能性がある。

令和 4年 12月 21日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：松木 絵理

論文題目：NOD-like receptor family pyrin domain-containing 6 (NLRP6) は同種抗原刺激を受けた T 細胞の活性化および分化を調節することで移植片対宿主病を制御する

審査委員：主審査委員 三井 哲夫



副審査委員 永瀬 智



副審査委員 小原 祐太郎



審査終了日： 令和4年 12月 12日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

腸上皮や免疫細胞に多く発現しているNLRP6 (NOD-like receptor family pyrin domain-containing 6) は、自然免疫で重要な役割を果たすインフラマソームの一種である。マウス腸上皮におけるNLRP6の機能については、炎症の制御、微生物からの防御作用等、恒常性の維持に重要な役割を果たすことが明らかにされている。申請者らは、マウス同種造血幹細胞移植の系で、このNLRP6が移植片対宿主病に果たす役割を解析する為に、NLRP6欠損 (-/-) T細胞混入による *in vivo* 並びに *in vitro* 解析を行った。これまでの検討でNLRP6-/-マウス由来T細胞と野生型T細胞除去骨髓細胞をドナーとし、腫瘍組織適合抗原(MHC) 不一致のマウス間で同種移植を行なうと、NLRP6-/-T細胞群で急性GVHD (aGVHD) の重症度が増し、生存率が下がることを報告していたが、これにMHC半合致の系を含め検証し、NLRP6-/-群でのaGVHDの悪化と生存率低下を再確認した。この時、NLRP6-/-群におけるCD4⁺、CD8⁺細胞総数はWT T細胞群に比し増加しており、IFN γ 陽性細胞数の増加も観察された。移植前処置としての放射線照射を行わないMHC半合致移植の系でもNLRP6-/-群で生存率の低下が観られた。*In vitro* 解析としては、野生型マウスT細胞で、CD3とCD28刺激により、CD4は1時間、CD8は6時間をピークにNLRP6の発現が認められた。また、B6とBALB/c T細胞との共培養でNLRP6-/-は増殖活性上昇に、同じB6系でT細胞をCD3、28で刺激しても、NLRP6-/-ではKi-67細胞、BrdU取り込み増加が認められ、CFSEを用いた増殖刺激細胞検出でも野生型に比しNLRP6-/-細胞での増殖活性増加が観られた。CD4⁺T細胞のPMA/ionomycin刺激によるTh1系誘導実験においては、IFN- γ 遺伝子発現調節に働くTボックス転写因子はNLRP6-/-で増加、IFN- γ の発現も増加傾向であった。

こうした結果は、NLRP6が同種免疫反応において、重要な役割を果たしていることを、*in vivo* 並びに *in vitro* において初めて実証したこととなる。こうした点で本研究は意義深い、一方でリンパ球に広く発現しているNLRP6の有無という実際の生体とはかけ離れた系の実験であり、その限界も指摘された。論文本体には、既に共同研究で公表済みの結果について研究経緯の正確な記述や、用語の使い方、議論の仕方 etc 不十分な箇所が見受けられた。従って適切な論文改訂を条件に本審査委員は本研究が学位(医学)の授与に値するものと全員一致で判定した。(1, 136字)