

# 論文内容要旨

論文題目 NLRP6 欠損 T 細胞は GVHD を悪化させる

所属コース： 創薬・システム医科学コース

所属講座： 創薬科学講座

氏名： 須藤 将裕

## 【内容要旨】 (1,200 字以内)

【諸言】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。これまで、腸上皮における NLRP6 の機能については明らかにされているが、T 細胞における影響は不明である。

【目的】NLRP6 欠損(NLRP6 KO)マウス由来 T 細胞をドナーとし、GVHD 重症度と生存率を検証し、活性化 T 細胞における NLRP6 の機能解明を目的とした。

【方法】マウス骨髄移植モデルを利用した。ドナー骨髄細胞として野生型 (WT) C57BL/6(B6)マウスを、ドナー T 細胞として WT 及び NLRP6 KO マウスを用いた。レシピエントには、BALB/c マウス(主要組織適合抗原(MHC)不一致)、C3H.sw マウス(MHC 一致マイナー抗原不一致)を用い、それぞれ放射線照射後にドナー細胞を輸注し、経時的に GVHD 重症度と生存率を観察した。WT 及び NLRP6KO マウス由来 T 細胞の活性化とアポトーシスの測定は、非特異的 T 細胞受容体刺激にて行った。移植片対腫瘍(GVT)効果は、マウス骨髄移植時に少量の腫瘍細胞を同時に移植し、IVIS を用いて腫瘍の変化を経時的に撮影し評価した。

【結果】MHC 不一致移植 (B6→BALB/c)では、NLRP6 KO T 細胞をドナーとした場合に GVHD 重症化と死亡率の増加を認めた。一方、MHC 一致マイナー抗原不一致移植 (B6→C3H.sw)では、重症化と死亡率は同等であった。GVHD には CD4+T 細胞及び CD8+T 細胞依存性の発症機序があることから、CD4+T 細胞と CD8+T 細胞に分けて移植を行うと、MHC 不一致移植では CD4+T 細胞を移植した際に顕著な GVHD の増悪を認めた。NLRP6 KO T 細胞が GVHD 悪化を誘導する原因を調べるために、非特異的 T 細胞受容体刺激を *in vitro* で行い、NLRP6 KO CD4+T 細胞は WT に比べて増殖が顕著でアポトーシスの減少が認められたことから、長期間生存する活性化 CD4+T 細胞の影響と推察された。尚、GVT 効果については、NLRP6 KO T 細胞で WT よりも強い傾向があった。

【考察】マウス骨髄移植モデルにおいて、T 細胞における NLRP6 の発現は活性化やアポトーシスの制御に深く関与しており、とりわけ CD8+T 細胞より CD4+T 細胞に与える影響が大きいことから、CD4+T 細胞依存性 GVHD の制御に関係していると考えられた。つまり、T 細胞に発現する NLRP6 を制御することで、MHC クラス II 不一致移植における GVHD の重症化を抑制できる可能性がある。これまで、T 細胞における NLRP6 機能に関する報告は少なく、本研究の意義は大きい。

令和3年1月12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：須藤 将裕

論文題目：NLRP6 欠損 T 細胞は GVHD を悪化させる

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信

副審査委員 三井 哲夫

副審査委員 北中 千史

審査終了日：令和3年1月7日

### 【 論文審査結果要旨 】

GVHD は臓器移植後の重大な合併症であり、その発症にインフラマソームが関わっていることが報告されている。NLRP6 と呼ばれるインフラマソーム関連分子は、レシピエントの腸上皮において GVHD を悪化させる方向に働くことが報告されたが、GVHD の主な発症要因であるドナー T 細胞での NLRP6 の機能は不明である。本研究では、T 細胞における NLRP6 の機能を NLRP6 欠損 T 細胞と野生型 T 細胞を比較することにより検討した。マウスを用いた実験系として、骨髓移植 (BMT) 時に混入させた T 細胞による GVHD、*in vitro* での T 細胞の増殖と細胞死、移植片対腫瘍効果 (GVT 効果) への影響を解析し、以下の結果を得た。

- 1) MHC 不一致 BMT では NLRP6 欠損 T 細胞の混入が野生型 T 細胞より GVHD を悪化させた。
- 2) MHC 一致マイナー抗原不一致 BMT では NLRP6 欠損あるいは野生型 T 細胞の混入による GVHD に差はみられなかった。
- 3) MHC 不一致 BMT 時に CD4 陽性 T 細胞のみを混入させた場合、NLRP6 欠損 CD4 陽性 T 細胞は野生型 CD4 陽性 T 細胞より GVHD が悪化したが、CD8 陽性 T 細胞では差がなかった。
- 4) NLRP6 欠損あるいは野生型 T 細胞を *in vitro* で T 細胞受容体刺激により活性化したところ、NLRP6 欠損 CD4 陽性 T 細胞で細胞増殖能の亢進と死細胞比率の低下が認められた。
- 5) BMT 時にレシピエント由来腫瘍細胞を同時に移植し、その腫瘍に対する GVT 効果をみたところ、NLRP6 欠損 T 細胞と野生型 T 細胞で大きな差はなかった。

これらの結果から、NLRP6 欠損 CD4 陽性 T 細胞は、活性化の亢進と細胞死の阻害により GVHD を悪化させる可能性が示され、NLRP6 を標的とした治療は GVT に影響を与えずに GVHD を制御することが出来るかもしれないと考察した。

審査会では、NLRP6 欠損マウスの一般的な表現型、T 細胞などの機能について、これまでの知見をまとめておくこと、また研究をどのようにヒトの治療に結びつけて行くのかなど指摘があった。さらに研究方法や図について、改善すべき点や不足している点について追加、修正、などが指摘された。細胞死の様態の検討や GVT 効果の *in vitro* での検証、GVT 効果と GVH 効果が本当に NLRP6 の作用により分離出来るのかなど、今後明らかにしなければならない点は残されているが、GVHD 治療の新たな標的分子の検出は大変重要な発見であると考えられる。審査会での質疑応答も概ね的確であり、本学位論文審査委員会は本研究論文を博士 (医科学) の授与に値すると判定した。

(1, 200字以内)