



Title	ドナーT細胞のMyD88シグナルは同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病を増悪させる [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	松岡, 里湖
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13818号
Issue Date	2019-12-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/76559
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2498
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Satomi_Matsuoka_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 松岡 里湖

学位論文題名

ドナーT細胞のMyD88シグナルは同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病を増悪させる
(The MyD88 signaling in donor T cells accelerates graft-versus-host disease after
allogeneic hematopoietic stem cell transplantation)

【背景と目的】 Myeloid differentiation factor 88 (MyD88)はToll-like receptor (TLR) および Interleukin-1 receptor (IL-1R) スーパーファミリーに属する各受容体からのシグナルを受け、IL-1R-associated kinase 4 (IRAK4) と分子複合体を形成して、その下流の Nuclear factor kappa B (NF- κ B) 経路やインフラマソームへとシグナル伝達を行うアダプター分子である。MyD88/IRAK4 シグナル経路は自然免疫のみならず、T細胞を介した獲得免疫機構においても重要な役割を担い、種々の病態に関与していると考えられている。Liらは同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病 (graft-versus-host disease: GvHD) の発症にレシピエントの MyD88/IRAK4 シグナル経路が関与していないことを示したが (Li et al., 2011)、ドナーT細胞の MyD88/IRAK4 シグナル経路が同種造血幹細胞移植後の GvHD の発症や病態形成にどのように寄与しているかについてはいまだ明らかになっていない。我々はマウスの同種造血幹細胞移植モデルにおいて、MyD88 欠損 (*MyD88*^{-/-}) ドナーマウスの T細胞と野生型ドナーマウスの骨髄細胞をレシピエントマウスへ移植して、ドナーT細胞の MyD88/IRAK4 シグナル経路が GvHD にどのような影響を与えるか検証した。

【対象と方法】 マウスの同種造血幹細胞移植モデルでは、致死量の全身放射線照射を受けたレシピエントマウスに、主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex: MHC) 半合致の *MyD88*^{-/-} および TLR2 欠損 (*TLR2*^{-/-})・TLR7 欠損 (*TLR7*^{-/-}) ドナーマウスから純化した 1×10^6 個の T細胞と、野生型ドナーマウスから採取した 5×10^6 個の T細胞除去骨髄 (T cell-depleted bone marrow: TCD-BM) 細胞を混合して静脈内投与した。コントロール群には野生型ドナーマウスの T細胞と骨髄細胞を移植した。移植片対白血病 (graft-versus-leukemia: GvL) 効果を検証する実験ではこれら移植片と同時にレシピエント由来の白血病細胞である P815 細胞 (H-2^d) 1×10^3 個を静脈内投与した。MyD88/IRAK4 阻害薬の投与実験では MyD88 阻害薬 (NBP2-29328) 1mg/kg の腹腔内投与を、もしくは IRAK4 阻害薬 (PF-06650833) 12.0mg/kg の静脈内投与を連日施行した。*in vitro* の細胞培養実験では、野生型マウスおよび *MyD88*^{-/-} マウスから純化した T細胞を用いた。

【結果】 刺激を受けていない定常状態の *MyD88*^{-/-} マウスの脾臓において、T細胞の絶対数やメモリーT細胞の分画構成、制御性T細胞 (regulatory T cell: Treg) への分化等は野生型マウスと同等であり、MyD88 シグナル経路が定常状態の T細胞の発達に必要なものではないことが示された。全身放射線照射を用いて移植前処置を行ったマウスに野生型もしくは *MyD88*^{-/-} ドナーマウスの脾細胞と骨髄細胞を移植したところ、*MyD88*^{-/-} ドナーマウスから

移植を受けたレシピエントマウスでは、野生型ドナーマウスから移植を受けたレシピエントマウスに比較して有意に GvHD が軽減した。*MyD88*^{-/-}ドナーT 細胞を純化して野生型ドナーマウスの TCD-BM 細胞とともに移植を受けたレシピエントマウスでも、野生型ドナーマウスのT細胞を移植したコントロール群と比較してGvHDの重症度や死亡率が有意に改善しており、ドナーT細胞のMyD88シグナル経路がGvHDの重症化に大きく寄与していることが示された。一方、*MyD88*^{-/-}ドナーマウスのTCD-BM細胞と野生型ドナーマウスの純化したT細胞を移植したレシピエントマウスでは上記のGvHD軽減効果を確認できなかった。野生型ドナーT細胞と*MyD88*^{-/-}ドナーT細胞は移植後に同等の細胞分裂能を示したが、野生型ドナーCD8陽性T細胞に比べて*MyD88*^{-/-}ドナーCD8陽性T細胞のアポトーシスは有意に亢進していた。また、野生型ドナーT細胞に比べて*MyD88*^{-/-}ドナーT細胞はTh1・Tc1・Th17細胞への分化能が障害されており、これらの結果として*MyD88*^{-/-}ドナーT細胞を移植したレシピエントマウスではGvHDの重症度と死亡率が低下したと考えられた。このようなTh1およびTc1細胞への分化障害は、*in vitro*でT細胞を活性化させた際にも同様に観察された。刺激を受けていない定常状態のCD4およびCD8陽性T細胞にはTLR2、TLR7、IL-1R、IL-18R、IL-33Rが発現しており、*in vitro*で抗CD3/CD28抗体ビーズを用いてT細胞を刺激する際にTLR2リガンドおよびTLR7リガンドを添加して培養したところ、T細胞数が増加したためTLR2やTLR7がT細胞の生存を促進すると考えられた。しかし*TLR2*^{-/-}および*TLR7*^{-/-}ドナーT細胞を移植したレシピエントマウスのGvHD重症度と死亡率はコントロール群と同等であり、TLR/IL-1Rスーパーファミリーに属する受容体が単独で欠落してもGvHDの重症度には影響しないことが示唆された。薬剤を用いてMyD88/IRAK4シグナル経路を広範に遮断するため、野生型ドナーマウスからの同種骨髄移植後にIRAK4阻害薬(PF-06650833)を3週間連日投与したところ、GvHDの重症度と死亡率が有意に抑制された。移植片対白血病(graft-versus-leukemia: GvL)効果を検討するため、野生型もしくは*MyD88*^{-/-}ドナーT細胞を移植したレシピエントマウスに、レシピエント由来の白血病細胞を移植片と同時に投与した。*MyD88*^{-/-}ドナーT細胞を移植したレシピエントマウスではGvHDが有意に抑制されたにもかかわらず白血病による死亡率も低く、同種骨髄移植後のGvL効果はドナーT細胞のMyD88シグナルが欠損してもなお良好に保持されることが明らかとなった。

【考察と結論】 ドナーT細胞のMyD88/IRAK4シグナル経路は、同種造血幹細胞移植後のドナーT細胞の生存能やTh1・Tc1・Th17細胞への分化に重要な役割を果たし、GvHDの重症化に寄与していることが明らかとなった。TLR/IL-1Rスーパーファミリーの各々は相補的に機能を重複させていると考えられ、MyD88/IRAK4シグナル経路を阻害して複数のTLR/IL-1Rシグナルをまとめて抑制すると、単独のTLR/IL-1Rシグナル経路を個別に阻害するよりも効果的に炎症性シグナルを抑制して、同種造血幹細胞移植後のGvL効果を減弱させることなくGvHDの重症化を抑制する治療標的となり得ることが示された。