

## NLRC5/MHC class I transactivator の GVHD 発症における役割とメカニズム

小林弘一

北海道大学大学院医学研究院

### 【研究の背景】

同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) は血液悪性腫瘍に対する重要な治療法である。しかしながら同種造血幹細胞移植時に同時に移植されるドナー T 細胞がレシピエント組織のアロ抗原を認識する事により、30-60%のレシピエントにおいて移植片対宿主病 (GVHD) を発症しうる。GVHD は重篤な合併症であり 50%近い高い死亡率を伴う。もっとも重要なアロ抗原は主要組織適合抗原 MHC でありその発現メカニズムの理解および制御方法の開発は重要と考えられる。しかしながら現在まで GVHD 時の MHC 発現メカニズムはよく理解されていない。我々は近年 CITA (MHC class I transactivator) である NLRC5 を同定した<sup>1,2,3)</sup>。NLRC5 は炎症性のサイトカイン IFN- $\gamma$  によって発現誘導され、MHC class I 遺伝子 (HLA-A,B,C,E,F) のみならず、プロテアソーム、トランスポーター、ベータサブユニット等の MHC class I 抗原提示経路の主要遺伝子を発現させる<sup>1,2,4,5)</sup>。

### 【目 的】

本研究では、我々が近年発見した MHC class I 制御因子である NLRC5 の GVHD での役割とその分子学的メカニズムを解明する。これにより GVHD の発症メカニズムが明らかになり新規標的を用いた治療戦略が可能となる。

### 【方 法】

NLRC5 の GVHD に対する関与を我々が作成した NLRC5 ノックアウトマウス (C57BL/6 マウス (H-2<sup>b</sup>) 純系) を用いて明らかにする。Balb/c マウス (H-2<sup>d</sup>) からの骨髄細胞、脾細胞を致死量の放射線照射した野生型および NLRC5 ノックアウトマウスに静注し、GVHD を誘導する。アロ抗原反応を *in vitro* で観察できる混合リンパ球反応 (MLR) を用いて、NLRC5 のアロ T 細胞活性化における機能を明らかにする。Balb/c マウスからの骨髄細胞をリスポンダー細胞、放射線照射した NLRC5 ノックアウトあるいは野生型脾細胞を刺激細胞とする。

### 【結 果】

マウス GVHD モデルにおいて、NLRC5 ノックアウトマウスにおいては、ドナー CD8T 細胞のサイトカイン分泌が低下していることが認められた。病理組織上、NLRC5 ノックアウトレシピエントマウスでは、炎症性細胞による組織障害が減弱していることが認められた。これらの結果は NLRC5 により MHC class I の発現は GVHD 発症時には誘導され、CD8T 細胞を主とした免疫細胞の攻撃により組織障害が増悪していると考えられる。

### 【考 察】

さらなる分子学的、免疫学的解析が必要ではあるが、今までの結果は MHC-I 発現転写因子である NLRC5 が GVHD 発症時の MHC-I 発現誘導にも関与しており、NLRC5 の活性を抑制する事が将来の GVHD 治療戦略になる可能性が考えられた。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々は NLRC5 の NBD (nucleotide-binding domain) ドメイン中の ATP 結合領域 p-loop が NLRC5 の機能に必要であることを発見した。このことは、p-loop を標的にして NLRC5 を抑制することが可能であることを示唆する<sup>1,2,6</sup>。我々は小分子ライブラリーを用いて NLRC5 の inhibitor をスクリーニングすべく予備実験を行なっている。GVHD においては、ドナー T 細胞のアロ MHC の認識と活性化、引き継ぐ IFN- $\gamma$  等のサイトカインの産生、それによるさらなる MHC の発現上昇といった、正のフィードバックループが炎症を増悪させている。今までの治療法は主に T 細胞の抑制に偏っていたが、MHC を標的として付け加えることは、ループを多段階で断ち切ることになり、有効な治療戦略であると考えられる。

## 【参考・引用文献】

- 1) Meissner TB, Li A, Biswas A, Lee KH, Liu YJ, Bayir E, Iliopoulos D, van den Elsen PJ, Kobayashi KS.. NLR family member NLRC5 is a transcriptional regulator of MHC class I genes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107(31): 13794-9 (2010).
- 2) Kobayashi, K.S. and van den Elsen, P. NLRC5/MHC class I transactivator: a key regulator of class I mediated immune responses. *Nat Rev Immunol*, 12(12):813-20 (2012)
- 3) Downs, I., Vijayan, S., Sidiq, T., Kobayashi, K.S. Regulation of intestinal microbiota by the NLR protein family CITA/NLRC5: a critical transcriptional regulator of MHC class I gene expression *BioFactors*, 42(4):349-57 (2016).
- 4) Biswas, A., Meissner, T.B., Kawai, T., Kobayashi, K.S. Impaired MHC Class I Expression in Mice Deficient for Nlrc5/CITA. *J Immunol*, 189(2):516-20 (2012)
- 5) Meissner, T.B., Liu, Y-J., Lee, K-H., Li A., Biswas, A., van Eggermond, M.C.J.A., van den Elsen, P., Kobayashi, K.S. NLRC5 cooperates with the RFX transcription factor complex to induce MHC class I gene expression. *J Immunol*, 188(10):4951-8 (2012).
- 6) Meissner, T.B., Li A., Liu, Y-J., Gagnon, E., Kobayashi, K.S. The nucleotide-binding domain of NLRC5 is critical for nuclear import and transactivation activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 418(4):786-91 (2012).