iNKT 細胞と同種造血幹細胞移植

中村 真, 松岡賢市

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学

移植片対宿主病は、移植患者の予後を規定する主要な合併症の1つである。前処置や感染症などによる組織障害が炎症性サイトカインの放出を惹起する自然免疫相とドナー由来リンパ球の免疫応答がホストの組織障害を引き起こす獲得免疫相の連関を病態基盤として発症する。この急性期の免疫シーケンスの諸相を抑制する様々な免疫調節細胞群の役割についても制御性T細胞を中心に知見の集積が進んできた。本稿では、自然免疫と獲得免疫を繋ぐユニークな免疫調節細胞であるNKT細胞の働きについて述べ、この細胞の特徴を活かした移植後早期からの新しい免疫寛容導入法の開発について紹介する。(日本造血細胞移植学会誌 8(1): 28-35, 2019.)

緒言

移植片対宿主病 (graft versus host disease, GVHD) は、同種造血幹細胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) の予後を規定しうる重要な合併症の1つである。

全身放射線や抗癌剤などによる組織障害が炎症性サイトカインの放出を惹起する自然免疫相とドナー細胞障害性T細胞などによるアロ反応性の免疫応答がホストの組織障害を引き起こす獲得免疫相の連関が本態と考えられるが、このシーケンスの諸相を抑制する様々な免疫調節細胞群の役割についても、 $CD4^+Foxp3^+$ 制御性T細胞 (regulatory T cells, Tregs) を中心に、基礎・臨床両面から知見の集積が進んでいる^{1,2}。

本稿では、自然免疫と獲得免疫を繋ぐユニークな免疫調節細胞であるインバリアントナチュラルキラーT細胞 (invariant natural killer T cells, iNKT cells) について概説し、造血細胞移植領域での臨床応用をめぐる今後の展望について述べる。

iNKT 細胞

NKT細胞は、当初、NK細胞マーカーを発現する稀なT細胞の亜集団として定義されたが、その後、T細胞受容体 (T cell receptor, TCR) の多様性や脂質抗原への反応性の違いにより、大きくI型NKT細胞とII型NKT細胞に分類さ

れた。本稿で述べるiNKT細胞はこの前者にあたる。iNKT細胞は、発現するTCRのレパトアが極めて限定的であるという特徴をもつ。マウスでは $V\alpha14J\alpha18$ 鎖と、ヒトでは $V\alpha24J\alpha18$ 鎖とごく限られた種類の β 鎖との組み合わせからなる。iNKT細胞は、この限られたTCRで抗原提示細胞上のMHC class I様分子であるCD1d拘束性に脂質抗原を認識する³ (Table 1)。

iNKT細胞は生体内での状況に応じて、 $IFN\gamma$ 、IL-4、IL-10、IL-17、TNFなどの多彩なサイトカインを、速やかに、かつ、強力に産生することで自然免疫と獲得免疫をスムーズに連動させ、個体の恒常性に寄与する^{4,5}。

iNKT 細胞の機能的多様性

iNKT細胞は、生体内環境に応じて多彩な機能を発揮しており、その分化の方向性による亜分画 (サブセット) の存在が想定されている。iNKT細胞は胸腺から供出されるが、現在の理解では、iNKT細胞の主な分化の場は胸腺内であり、一部を除いて、 $CD4 \cdot CD8$ 共陽性胸腺細胞を起源として、胸腺内でいくつかのサブセットに分化したのち、末梢へ移行すると考えられている。

iNKT細胞の分化には、 $\gamma\delta$ T細胞、mucosal associated invariant T (MAIT) 細胞などの自然免疫細胞と同様に、転写因子 promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) が必須である⁶⁻⁹。胸腺で分化し、末梢へ供出されたiNKT細胞は、

Submitted September 14, 2018; Accepted October 22, 2018; Published online, January 15, 2019. (Handling Editor: Makoto Onizuka, Department of Hematology and Oncology, Tokai university school of Medicine)

Key words: invariant natural killer T cells, graft-versus-host disease, hematopoietic cell transplantation, post-transplant cyclophosphamide

Correspondence: Ken-ichi Matsuoka, Department of Hematology and Oncology, Okayama University, 2-5-1 Shikata-cho, Kita-ku, Okayama, 700-8558, Japan. E-mail: k-matsu@md.okayama-u.ac.jp

dx.doi.org/10.7889/hct-18-014 © The Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.

Table 1. NKT 様細胞

	1 型 NKT 細胞	2 型 NKT 細胞	MAIT 細胞
TCR α	V α 14J α 18 (マウス) V α 24J α 18 (ヒト)	多様	V α 19J α 33 (マウス) V α 17.2J α 33 (ヒト)
TCR β	V β 8.2, 7, 2 (マウス) V β 11 (ヒト)	多様	V β 8, 6 (マウス) V β 13, 2 (ヒト)
抗原提示	CD1d 拘束性	CD1d 拘束性	MR1 拘束性
α GalCer 反応性	有り	無し	無し

MAIT 細胞, mucosal associated invariant T 細胞.
(文献 3 より引用改変)

Table 2. NKT 細胞サブセット

サブセット	転写因子	サイトカイン	生体内局在 (マウス)	文献
NKT1	PLZF low T-bet GATA3 (–) or (+)	IFN γ (IL-4)	肝臓 脾臓	5), 6), 7), 8), 9) 10), 14)
NKT2	PLZF high GATA3	IL-4	肺 腸	5), 6), 7), 8), 9) 10), 14)
NKT17	PLZF intermediate ROR γ t GATA3	IL-17	肺 皮膚	5), 6), 7), 8), 9) 10), 14)
NKT10	PLZF (–) NFIL3/E4BP4	IL-10	脂肪組織	11), 12), 13)

PLZF, promyelocytic leukemia zinc finger.
(文献 5 より引用改変)

末梢での刺激に応じて活性化し、機能的に異なる表現型を呈する。iNKT 細胞サブセットは、NKT1 (Th1-like NKT) 細胞, NKT2 細胞, NKT17 細胞などからなり、それぞれ Th1 (1 型ヘルパー T) 細胞, Th2 細胞, Th17 細胞に対応した転写因子 (T-bet, Gata-3, ROR γ t) とサイトカイン (IFN- γ , IL-4, IL-17) のプロファイルを示す^{6,10}。さらに稀なサブセットとして、脂肪組織に分布し、転写因子 NFIL3/E4BP4 と IL-10 産生を特徴とする NKT10 細胞などが報告された¹¹⁻¹³。

これらの iNKT 細胞サブセットのバランスは、マウスの系統や解剖学的局在により異なることが示されている。例えば、B6 マウスにおいては NKT1 細胞 > NKT2 細胞, BALB/c マウスにおいては NKT1 細胞 < NKT2 細胞の傾向がある¹⁰。また、同一個体内で、胸腺・脾臓・リンパ節にそれぞれ局在する NKT サブセットのバランスは異なる¹⁴ (Table 2)。

上記のように、iNKT 細胞は、胸腺内でサイトカイン産生能を有する段階まで成熟してから末梢へ供出され、それぞれのサブセットは“ready”の状態では組織に特異的に常在する。これは、ナイーブな状態で末梢に移行してから抗原刺激に応じて活性化しサブセットに分化、組織へ移動するヘルパー T 細胞の挙動と大きく性質を異にするものであり、興味深い⁶。すなわち、組織に常在し抗原刺激に対して速やかに必要なサイトカインを産生する iNKT 細胞の特徴

的な分化・局在形式は、時間を要する T 細胞応答までのつなぎ役として機能するために非常に合理的といえよう。

末梢へ供出された iNKT 細胞は基本的に組織常在性で、常在局所以外への再循環は否定的とされる^{15,16}。例えば肝臓において iNKT 細胞は PLZF を介して LFA-1 の発現を誘導し長期に類洞にとどまる。しかし、最近 Cameron らは iNKT 細胞の表面マーカーである ICOS と CD43HG を用いて NKT1 細胞, NKT2 細胞, NKT17 細胞の機能解析を行い、NKT1 細胞, NKT17 細胞でも IL-4 の産生を認めること、全てのサブセットで刺激によっては IL-10 の産生を認めること、さらに、LPS 刺激に対しては NKT17 細胞優位に反応し IL-17 産生が認められることを示し、末梢での iNKT 細胞の機能的な可塑性を示唆しており、今後の検討が注目される¹⁷。

iNKT 細胞の臨床応用

iNKT 細胞のもつ多様な生理活性を臨床応用する試みが以前から行われている。iNKT 細胞輸注療法のほか、iNKT 細胞に対する様々な人工合成リガンドが開発され、*in vivo* で iNKT 細胞を刺激する免疫調整剤として利用される^{3,18}。前述のように、iNKT 細胞は、免疫を正の方向に駆動する NKT1/NKT17、負の方向へと抑制する NKT2/NKT10 と、逆方向の働きを示すサブセットに分化しうる。このため、

Figure 1. リボソーム α -GalCer と抗原提示細胞

iNKT 細胞の効率的な臨床応用には、その目的に応じた表現型を引き出す方法論の確立が必要となる。

アルファガラクトシルセラミド (α -GalactosylCeramide, α -GalCer) は沖縄に生息する海綿の抽出成分から人工的に合成された糖脂質であり、iNKT 細胞の代表的なリガンドとして、基礎研究から臨床試験まで幅広く使用される³。これまでの検討で、 α -GalCer は、その投与方法により刺激される NKT 細胞サブセットが異なることが示唆されてきた¹⁴。例えば、 α -GalCer 単独投与を繰り返すと iNKT 細胞が不応状態となったり^{19,20}、Th1 サイトカインから Th2 サイトカインへプロファイルが移行することが示唆されている²⁰⁻²²。どの抗原提示細胞が α -GalCer を iNKT 細胞に提示するかも重要であり、 α -GalCer を樹状細胞が提示すると Th2 型のみならず Th1 型のサイトカイン産生がみられるが、B 細胞が提示すると Th2 型への傾向がより強まる^{23,24} (Figure 1)。 α -GalCer をリボソーム化し、B 細胞への親和性を高めることで、より免疫抑制の方向へのベクトルを強める手法が期待されている。

①悪性腫瘍

iNKT 細胞を活用しての悪性腫瘍に対する免疫療法は長く検討がなされてきた。

免疫賦活の方向に活性化した iNKT 細胞は、IFN γ の産生を通じて、NK 細胞や細胞傷害性 T 細胞を活性化して、抗腫瘍活性を高めることができる。

iNKT 細胞の抗腫瘍効果には、主に 3 つの機序が考えられており²⁵、1 つ目はパーフォリン^{26,27}、FasL^{28,29}などを介した直接的な細胞障害によるもの、2 つ目は、例えば、IL12 存在下で成熟樹状細胞から抗原提示を受けた iNKT 細胞からの IFN- γ 産生を介したエフェクター細胞による細胞障害など³⁰⁻³⁵、他の免疫細胞との相互作用によるもの、3 つ目は、iNKT 細胞による腫瘍関連マクロファージ (tumor associated macrophage, TAM) の抑制など³⁶、腫瘍微小環境

における免疫抑制の阻害によるものである。

α -GalCer 単独投与では長期的には不応等が導かれることから³⁷、治療に当たっては予め *ex vivo* で CD1d と α -GalCer が複合体を形成した状態での投与が検討されてきた。*ex vivo* で α -GalCer を付加した DC の投与や³⁸、活性化した iNKT 細胞の投与が試みられ³⁹⁻⁴²、悪性黒色腫や頭頸部癌に対して一定の抗腫瘍効果が報告されている。現在では厚生労働省指定の先進医療技術として、肺癌や頭頸部癌に対する α -GalCer 付加樹状細胞療法が進行中である。さらに、 α -GalCer よりも強力なリガンドを利用する NKT 細胞療法や、iPS 細胞から樹立した NKT 細胞による免疫療法が開発中であり、今後の新しい展開が期待される。

②自己免疫疾患

マウス 1 型糖尿病モデルにおいては、iNKT 欠損の病態への関与が指摘されていたが^{43,44}、 α -GalCer の投与が Th2 サイトカインの産生を惹起し、病態を制御可能であることが示されている^{45,46}。また、NKT に対し、より、Th2 サイトカイン産生を惹起するリガンド OCH により、多発性硬化症のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎が改善することが示されている⁴⁷。

喘息については、むしろ、iNKT 細胞による Th2 サイトカインを介して、気道過敏性が誘導してしまう可能性も指摘されているが⁴⁸、 α -GalCer 投与による iNKT 細胞からの IL-27 および IFN- γ 産生や⁴⁹、ovalbumin (OVA) + α -GalCer 共刺激骨髄由来樹状細胞投与による iNKT 細胞からの IFN- γ 産生を介した気道過敏性改善効果が報告されている⁵⁰。

③固形臓器拒絶反応

固形臓器移植モデルでは、iNKT 細胞を介した免疫制御を利用する新しい拒絶予防法の検討がなされてきた。近年のマウス心臓移植モデルでの研究で、移植前のリボソーム α -GalCer および抗 CD40L 抗体の投与⁵¹、あるいは、移植

後の非致死的放射線照射により⁵², iNKT 細胞を介した免疫寛容に導き, 拒絶反応を抑制することが可能であることが報告されている。

iNKT 細胞と同種造血幹細胞移植

①マウス BMT モデル

前項で述べたように, iNKT 細胞は様々な臨床応用が検討されているが, 本項より, 同種造血幹細胞移植領域における iNKT 細胞の基礎開発および臨床応用について述べたい。

幹細胞輸注直後の α -GalCer 単回投与は, ホスト NKT 細胞を活性化し, STAT6 依存性にドナー T 細胞の Th2 反応を惹起することで, 急性 GVHD を効果的に抑制する⁵³。次いで, このホスト NKT 細胞の活性化は IL-4 依存性にドナー Treg の増幅を促すことも示された⁵⁴。その後, α -GalCer をリポソーム化し, B 細胞との親和性を高めたリポソーム α -GalCer (Lipo α -GalCer) が開発され, 同様の実験系で, GVHD を Treg を介した機序にて抑制することが示された⁵⁵。

これらの α -GalCer 単回投与実験では, α -GalCer は幹細胞移植直後に投与され, ホスト側の NKT 細胞の増加を促した。これは, ホスト側の NKT 細胞が移植前処置の全身放射線照射に対して抵抗性を示し, 移植後の一定期間を免疫安定装置として機能することを示唆する。

では, ドナー側の NKT 細胞の働きはどうだろうか。やはり, ホスト由来 iNKT 細胞と同様に, ドナー由来 iNKT 細胞も, IL-4 依存性の Treg 増殖を惹起し, GVHD を抑制した⁵⁶。さらに興味深いことに, ドナーとレシピエントとも MHC を異にする 3rd party の iNKT 細胞も, GVHD を改善した⁵⁷。

上記の実験の多くで, GVL 効果も検証されており, 増加した NKT 細胞および Treg は GVL には影響しないとされる^{58,59}。また最近では, マイナー抗原不適合モデルによる移植後 BO のモデルでも抑制効果が示された⁶⁰。

②臨床への応用

マウス実験の結果をうけて, リポソーム α -GalCer を移植後に単回投与する臨床第 II a 相試験が, 米国において実施された⁶¹。多施設より 29 名の患者が登録されたが, 移植後早期の CD4⁺T 細胞中の Treg (CD4⁺ CD25^{hi} CD127^{lo}) の割合 12% を閾値として, Treg が 12% 以上に増加した反応群と非反応群とに分けて解析したところ, 反応群では Grade II-IV が 12.5% と非反応群 (52.4%) と比べて, 少ない傾向であった。また, 反応群には, GVHD 予防としてリポソーム α -GalCer とカルシニューリン阻害薬に加えて, シロリムスとの併用が多い傾向であり, シロリムスとの相乗効果が示唆された。

③今後の展開

マウス実験および米国臨床試験の結果から, iNKT を用いた GVHD 制御療法開発について, 以下の 3 つの観点から, 今後の展開を考察したい。

1) CNI-free レジメン

マウスモデルからも, iNKT 細胞による GVHD 制御には Treg の関与が重要であることが示されてきたが, 今回の米国臨床試験の結果は, α -GalCer による iNKT 及び Treg 増幅効果を最大化するには, Treg ホメオスタシスに影響を及ぼすカルシニューリン阻害薬 (calcineurin inhibitor, CNI) のない環境が望ましいことを改めて示唆するものであった。今後は CNI-free レジメンに α -GalCer を投与するデザインでの臨床試験も検討の価値がある。

2) DAMPs/PAMPs

移植急性期には, 多くの向炎症性サイトカインや TLR アゴニストを含むタンパクが, 細胞障害性の薬剤, 感染, aGVHD などに反応して, 放出される。これらの damage-associated molecular patterns (DAMPs) や pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) と呼ばれる炎症駆動物質は, 自然免疫系および獲得免疫系の反応を活性化し, GVHD や TMA への初動となる。iNKT 細胞は, LPS 存在下では Th17 反応を促すことが示すように, 炎症環境下では, 効率的な寛容を導入しにくい¹⁷。前処置強度の調整や感染症の管理によって, DAMPs/PAMPs の発生を最小限に抑制することも, iNKT 細胞による寛容導入に重要な要素であろう。

3) α -GalCer の投与量と投与回数

これまでの検討でも, α -GalCer の投与量や投与回数は, iNKT 細胞の分化方向に影響が深いことが示されている。移植後環境において, Treg を適切に増加させる α -GalCer の投与量は詳細に検討する必要がある。またこれまでの造血幹細胞移植の基礎実験・臨床試験においては, α -GalCer は単回投与で実施されているものがほとんどであるが, 他分野での試験では α -GalCer の繰り返し投与により, Th2 分化の促進や, T 細胞不応答の導入がみられることが示されている。移植領域でも繰り返し投与が検討される価値はある。

われわれは, 上記を踏まえて, 移植後シクロフォスファミド (posttransplant cyclophosphamide, PTCy) 療法に組み合わせてリポソーム α -GalCer を 3 回繰り返し投与するデザイン (Figure 2) での, 新しい aGVHD 予防法の開発を目指し, マウスモデルでの検討を行っている (中村ら, 投稿準備中)。PTCy 療法では, HLA 適合移植での CNI-free 移植が可能であり⁶²⁻⁶⁴, かつ aggressive な T 細胞クローンを除去して炎症環境をリセットできることから, α -GalCer による iNKT および Treg 増幅には有利な条件と考えられる。これまでの検討により, PTCy と α -GalCer の併用療法は, 効率

Figure 2. 新規 aGVHD 予防法の開発

的に Treg を増加させ、GVHD を効率的に抑制することが示された。さらに興味深いことに、減量 PTCy に α -GalCel を併用したところ、GVT 効果が増強される一方、GVHD の増悪は抑制し得ており、再発高リスク症例に対する PTCy 療法のアジュバンドとしての可能性も模索している。

終わりに

血液悪性疾患において唯一の根治的療法とされる造血幹細胞移植であるが、GVHD は依然克服すべき課題として残る。そのメカニズムとして、様々な免疫担当細胞による相互作用がわかってきた。NKT 細胞は自然免疫と獲得免疫の橋渡し役とも形容される多彩かつユニークな機能を有している。移植後の免疫寛容獲得において、最適な効果が得られる治療法の開発が期待される。

著者役割

中村 真 論文執筆, 図表作成
松岡賢市 論文追記修正

利益相反の開示

本論文に関して開示すべき利益相反はない。

文献

1. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009; **373**: 1550–1561.
2. Blazar BR, MacDonald KPA, Hill GR. Immune regulatory cell infusion for graft-versus-host disease prevention and therapy. *Blood*. 2018; **131**: 2651–2660.
3. Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family. *Nat Immunol*. 2010; **11**: 197–206.
4. Coquet JM, Chakravarti S, Kyparissoudis K, et al. Diverse cytokine production by NKT cell subsets and identification of an IL-17-producing CD4-NK1.1- NKT cell population. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; **105**: 11287–11292.
5. Brennan PJ, Brigl M, Brenner MB. Invariant natural killer T cells: an innate activation scheme linked to diverse effector functions. *Nat Rev Immunol*. 2013; **13**: 101–117.
6. Constantinides MG, Bendelac A. Transcriptional regulation of the NKT cell lineage. *Curr Opin Immunol*. 2013; **25**: 161–167.
7. Kovalovsky D, Uche OU, Eladad S, et al. The BTB-zinc finger transcriptional regulator PLZF controls the development of invariant natural killer T cell effector functions. *Nat Immunol*. 2008; **9**: 1055–1064.
8. Savage AK, Constantinides MG, Han J, et al. The transcription factor PLZF directs the effector program of the NKT cell lineage. *Immunity*. 2008; **29**: 391–403.
9. Engel I, Seumois G, Chavez L, et al. Innate-like functions of natural killer T cell subsets result from highly divergent gene programs. *Nat Immunol*. 2016; **17**: 728–739.
10. Lee YJ, Holzapfel KL, Zhu J, Jameson SC, Hogquist KA.

- Steady-state production of IL-4 modulates immunity in mouse strains and is determined by lineage diversity of iNKT cells. *Nat Immunol.* 2013; **14**: 1146–1154.
11. Motomura Y, Kitamura H, Hijikata A, et al. The transcription factor E4BP4 regulates the production of IL-10 and IL-13 in CD4⁺ T cells. *Nat Immunol.* 2011; **12**: 450–459.
 12. Lynch L, Nowak M, Varghese B, et al. Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorder through regulatory cytokine production. *Immunity.* 2012; **37**: 574–587.
 13. Sag D, Krause P, Hedrick CC, Kronenberg M, Wingender G. IL-10-producing NKT10 cells are a distinct regulatory invariant NKT cell subset. *J Clin Invest.* 2014; **124**: 3725–3740.
 14. Lee YJ, Wang H, Starrett GJ, et al. Tissue-Specific Distribution of iNKT Cells Impacts Their Cytokine Response. *Immunity.* 2015; **43**: 566–578.
 15. Germanov E, Veinotte L, Cullen R, et al. Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in homeostasis and activation of CD1d-restricted NKT cells. *J Immunol.* 2008; **181**: 81–91.
 16. Thomas SY, Scanlon ST, Griewank KG, et al. PLZF induces an intravascular surveillance program mediated by long-lived LFA-1-ICAM-1 interactions. *J Exp Med.* 2011; **208**: 1179–1188.
 17. Cameron G, Godfrey DI. Differential surface phenotype and context-dependent reactivity of functionally diverse NKT cells. *Immunol Cell Biol.* 2018.
 18. Oki S, Chiba A, Yamamura T, Miyake S. The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. *J Clin Invest.* 2004; **113**: 1631–1640.
 19. Uldrich AP, Crowe NY, Kyriassoudis K, et al. NKT cell stimulation with glycolipid antigen in vivo: costimulation-dependent expansion, Bim-dependent contraction, and hyporesponsiveness to further antigenic challenge. *J Immunol.* 2005; **175**: 3092–3101.
 20. Uchida T, Nakashima H, Yamagata A, et al. Repeated administration of alpha-galactosylceramide ameliorates experimental lupus nephritis in mice. *Sci Rep.* 2018; **8**: 8225.
 21. Haraguchi K, Takahashi T, Matsumoto A, et al. Host-residual invariant NK T cells attenuate graft-versus-host immunity. *J Immunol.* 2005; **175**: 1320–1328.
 22. Kojo S, Seino K, Harada M, et al. Induction of regulatory properties in dendritic cells by Valpha14 NKT cells. *J Immunol.* 2005; **175**: 3648–3655.
 23. Tamura Y, Teng A, Nozawa R, Takamoto-Matsui Y, Ishii Y. Characterization of the immature dendritic cells and cytotoxic cells both expanded after activation of invariant NKT cells with alpha-galactosylceramide in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; **369**: 485–492.
 24. Ishii Y, Nozawa R, Takamoto-Matsui Y, et al. Alpha-galactosylceramide-driven immunotherapy for allergy. *Front Biosci.* 2008; **13**: 6214–6228.
 25. Nair S, Dhodapkar MV. Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2017; **8**: 1178.
 26. Dao T, Mehal WZ, Crispe IN. IL-18 augments perforin-dependent cytotoxicity of liver NK-T cells. *J Immunol.* 1998; **161**: 2217–2222.
 27. Bassiri H, Das R, Guan P, et al. iNKT cell cytotoxic responses control T-lymphoma growth in vitro and in vivo. *Cancer Immunol Res.* 2014; **2**: 59–69.
 28. Wingender G, Krebs P, Beutler B, Kronenberg M. Antigen-specific cytotoxicity by invariant NKT cells in vivo is CD95/CD178-dependent and is correlated with antigenic potency. *J Immunol.* 2010; **185**: 2721–2729.
 29. Leite-De-Moraes MC, Hameg A, Arnould A, et al. A distinct IL-18-induced pathway to fully activate NK T lymphocytes independently from TCR engagement. *J Immunol.* 1999; **163**: 5871–5876.
 30. Brigl M, Tatituri RV, Watts GF, et al. Innate and cytokine-driven signals, rather than microbial antigens, dominate in natural killer T cell activation during microbial infection. *J Exp Med.* 2011; **208**: 1163–1177.
 31. Fujii S, Shimizu K, Hemmi H, Steinman RM. Innate Valpha14 (+) natural killer T cells mature dendritic cells, leading to strong adaptive immunity. *Immunol Rev.* 2007; **220**: 183–198.
 32. Fujii S, Shimizu K, Hemmi H, et al. Glycolipid alpha-C-galactosylceramide is a distinct inducer of dendritic cell function during innate and adaptive immune responses of mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; **103**: 11252–11257.
 33. Shimizu K, Hidaka M, Kadowaki N, et al. Evaluation of the function of human invariant NKT cells from cancer patients using alpha-galactosylceramide-loaded murine dendritic cells. *J Immunol.* 2006; **177**: 3484–3492.
 34. Munz C, Steinman RM, Fujii S. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *J Exp Med.* 2005; **202**: 203–207.
 35. Hermans IF, Silk JD, Gileadi U, et al. NKT cells enhance CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses to soluble antigen in vivo through direct interaction with dendritic cells. *J Immunol.* 2003; **171**: 5140–5147.
 36. Song L, Asgharzadeh S, Salo J, et al. Valpha24-invariant NKT cells mediate antitumor activity via killing of tumor-associated macrophages. *J Clin Invest.* 2009; **119**: 1524–1536.
 37. Giaccone G, Punt CJ, Ando Y, et al. A phase I study of the natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide (KRN7000) in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2002; **8**: 3702–3709.
 38. Motohashi S, Nagato K, Kunii N, et al. A phase I - II study of alpha-galactosylceramide-pulsed IL-2/GM-CSF-cultured peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer. *J Immunol.* 2009; **182**: 2492–2501.
 39. Motohashi S, Ishikawa A, Ishikawa E, et al. A phase I study of in vitro expanded natural killer T cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; **12** (20 Pt 1) : 6079–6086.

40. Exley MA, Friedlander P, Alatrakchi N, et al. Adoptive Transfer of Invariant NKT Cells as Immunotherapy for Advanced Melanoma: A Phase I Clinical Trial. *Clin Cancer Res*. 2017; **23**: 3510–3519.
41. Yamasaki K, Horiguchi S, Kurosaki M, et al. Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy. *Clin Immunol*. 2011; **138**: 255–265.
42. Kunii N, Horiguchi S, Motohashi S, et al. Combination therapy of in vitro-expanded natural killer T cells and alpha-galactosylceramide-pulsed antigen-presenting cells in patients with recurrent head and neck carcinoma. *Cancer Sci*. 2009; **100**: 1092–1098.
43. Hammond KJ, Poulton LD, Palmisano LJ, et al. alpha/beta-T cell receptor (TCR) + CD4-CD8- (NKT) thymocytes prevent insulin-dependent diabetes mellitus in nonobese diabetic (NOD)/Lt mice by the influence of interleukin (IL)-4 and/or IL-10. *J Exp Med*. 1998; **187**: 1047–1056.
44. Baxter AG, Kinder SJ, Hammond KJ, Scollay R, Godfrey DI. Association between alphabetaTCR + CD4-CD8- T-cell deficiency and IDDM in NOD/Lt mice. *Diabetes*. 1997; **46**: 572–582.
45. Sharif S, Arreaza GA, Zucker P, et al. Activation of natural killer T cells by alpha-galactosylceramide treatment prevents the onset and recurrence of autoimmune Type 1 diabetes. *Nat Med*. 2001; **7**: 1057–1062.
46. Hong S, Wilson MT, Serizawa I, et al. The natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide prevents autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Nat Med*. 2001; **7**: 1052–1056.
47. Miyamoto K, Miyake S, Yamamura T. A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature*. 2001; **413**: 531–534.
48. Akbari O, Faul JL, Hoyte EG, et al. CD4 + invariant T-cell-receptor + natural killer T cells in bronchial asthma. *N Engl J Med*. 2006; **354**: 1117–1129.
49. Fujita H, Teng A, Nozawa R, et al. Production of both IL-27 and IFN-gamma after the treatment with a ligand for invariant NK T cells is responsible for the suppression of Th2 response and allergic inflammation in a mouse experimental asthma model. *J Immunol*. 2009; **183**: 254–260.
50. Matsuda H, Takeda K, Koya T, et al. Plasticity of invariant NKT cell regulation of allergic airway disease is dependent on IFN-gamma production. *J Immunol*. 2010; **185**: 253–262.
51. Hirai T, Ishii Y, Ikemiyagi M, et al. A novel approach inducing transplant tolerance by activated invariant natural killer T cells with costimulatory blockade. *Am J Transplant*. 2014; **14**: 554–567.
52. Hongo D, Tang X, Zhang X, Engleman EG, Strober S. Tolerogenic interactions between CD8 (+) dendritic cells and NKT cells prevent rejection of bone marrow and organ grafts. *Blood*. 2017; **129**: 1718–1728.
53. Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, et al. Stimulation of host NKT cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells. *J Immunol*. 2005; **174**: 551–556.
54. Pillai AB, George TI, Dutt S, Strober S. Host natural killer T cells induce an interleukin-4-dependent expansion of donor CD4 + CD25 + Foxp3 + T regulatory cells that protects against graft-versus-host disease. *Blood*. 2009; **113**: 4458–4467.
55. Duramad O, Laysang A, Li J, Ishii Y, Namikawa R. Pharmacologic expansion of donor-derived, naturally occurring CD4 (+) Foxp3 (+) regulatory T cells reduces acute graft-versus-host disease lethality without abrogating the graft-versus-leukemia effect in murine models. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; **17**: 1154–1168.
56. Schneidawind D, Pierini A, Alvarez M, et al. CD4 + invariant natural killer T cells protect from murine GVHD lethality through expansion of donor CD4 + CD25 + FoxP3 + regulatory T cells. *Blood*. 2014; **124**: 3320–3328.
57. Schneidawind D, Baker J, Pierini A, et al. Third-party CD4 + invariant natural killer T cells protect from murine GVHD lethality. *Blood*. 2015; **125**: 3491–3500.
58. Pillai AB, George TI, Dutt S, Teo P, Strober S. Host NKT cells can prevent graft-versus-host disease and permit graft antitumor activity after bone marrow transplantation. *J Immunol*. 2007; **178**: 6242–6251.
59. Leveson-Gower DB, Olson JA, Sega EI, et al. Low doses of natural killer T cells provide protection from acute graft-versus-host disease via an IL-4-dependent mechanism. *Blood*. 2011; **117**: 3220–3229.
60. Du J, Paz K, Thangavelu G, et al. Invariant natural killer T cells ameliorate murine chronic GVHD by expanding donor regulatory T cells. *Blood*. 2017; **129**: 3121–3125.
61. Chen YB, Efebera YA, Johnston L, et al. Increased Foxp3 (+) Helios (+) Regulatory T Cells and Decreased Acute Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Bone Marrow Transplantation in Patients Receiving Sirolimus and RGI-2001, an Activator of Invariant Natural Killer T Cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017; **23**: 625–634.
62. Kanakry CG, O'Donnell PV, Furlong T, et al. Multi-institutional study of post-transplantation cyclophosphamide as single-agent graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation using myeloablative busulfan and fludarabine conditioning. *J Clin Oncol*. 2014; **32**: 3497–3505.
63. Kanakry CG, Tsai HL, Bolanos-Meade J, et al. Single-agent GVHD prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide after myeloablative, HLA-matched BMT for AML, ALL, and MDS. *Blood*. 2014; **124**: 3817–3827.
64. Luznik L, Bolanos-Meade J, Zahurak M, et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood*. 2010; **115**: 3224–3230.

iNKT cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Makoto Nakamura, Ken-ichi Matsuoka

Department of Hematology and Oncology, Okayama University Hospital

Abstract

Graft-versus-host disease (GVHD) is one of the major complications and the leading cause of morbidity, mortality, and impaired quality of life after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo HSCT). Sequential phases of natural immunity and acquired immunity appear to form the pathological basis of GVHD. Studies have also demonstrated the important role of immune-modulatory cells in tolerance induction after allo HSCT. In this review, we focus on invariant natural killer T cells (iNKT cells), which are a unique subset of immune-modulatory cells that link natural immunity and acquired immunity, in the context of allo HSCT. (Journal of Hematopoietic Cell Transplantation 8(1): 28–35, 2019.)