

がん細胞への X 線照射による免疫チェックポイントタンパク質の発現変化 Influence on immune checkpoint factors by X-rays in cancer cells

大原麻希*, 宇佐美徳子

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 放射光実験施設

〒305-0801 つくば市大穂 1-1

Maki OHARA* and Noriko USAMI

Photon Factory, Institute of Materials Structure Science,

High Energy Accelerator Research Organization,

1-1 Oho, Tsukuba, 305-0801, Japan

1 はじめに

体内の免疫機構は外部から侵入した病原体だけでなく、内部に発生したがん細胞に対しても働く。通常であればがん細胞は自己でないものとみなされ、活性化した細胞傷害性 T 細胞やマクロファージなどの免疫細胞ががん細胞を攻撃・排除する。しかし、持続的に抗原刺激が起こると、免疫細胞の膜表面に PD-1 や SIRP α などの免疫チェックポイントタンパク質が発現する。これらが発現した免疫細胞は細胞傷害性が低下し、がん細胞を攻撃できなくなり、がん細胞局所的に免疫細胞が機能できない状況を引き起こす。一方、がん細胞では免疫チェックポイントタンパク質のリガンドである PD-L1 や CD47 を発現し、さらに免疫抑制性サイトカイン IL-10 や TGF- β などを分泌することで免疫細胞の活性を抑制し、免疫細胞によるがん細胞の排除機能を阻害する。近年、がん細胞において X 線照射により生じる DNA 損傷を修復するシグナル伝達経路が一部の免疫チェックポイントタンパク質の発現調節に関与することが報告されており、がん治療において放射線と免疫チェックポイントタンパク質阻害剤による併用療法が検討されている。[1]しかし、がんの種類によって免疫チェックポイントタンパク質の発現状態は異なり、放射線による免疫チェックポイント応答への作用も不明である。そこで、本研究ではがん細胞において放射線による免疫チェックポイント応答への影響を明らかにすることを目的とした。今回の実験では、放射線照射により免疫チェックポイントタンパク質の発現が変化するがん細胞を特定するため、複数のがん細胞を用いて X 線照射後の免疫チェックポイントタンパク質の局在と発現量の変化を調べた。

2 実験

がん細胞は悪性黒色腫 (A2058)、肺がん (HCC827)、大腸がん (SW480) の 3 種類の細胞系を使用した。X 線発生装置 (SOFTEX M60-W) を用いてがん細胞に X 線を照射し、CO₂ インキュベータにて CO₂ 濃度 5%、37°C で 24 時間培養した。その後、細胞からタンパク質を抽出して western blotting 法により PD-L1、CD47 の免疫チェックポイントタ

ンパク質および PD-L1 の安定化を行う CMTM6[2] の発現量の増減を確認した。また、同様に照射 24 時間後に 4% パラホルムアルデヒドで細胞を固定し、免疫蛍光染色法により上記のタンパク質の細胞内局在と存在量を確認した。

3 結果および考察

PD-L1 は HCC827 で高発現しており、SW480 では発現していなかった。X 線照射による PD-L1 発現の増減はなかった。PD-L1 タンパク質の安定化を行う CMTM6 は全てのがん細胞で X 線照射により発現が増加した。特に A2058 細胞では 1Gy の低線量 X 線でも発現の増加が見られた。CD47 は A2058 で高発現していたが、X 線照射による発現の増減はなかった。(図 1)

免疫蛍光染色による各タンパク質の細胞内局在は X 線照射後も変化しなかった。蛍光強度を測定すると western blotting 法の結果と同様の傾向を示した。(図 2)

以上の結果より、がん細胞の種類により免疫チェックポイントタンパク質の細胞内存在量が顕著に異なることが明らかになった。今回使用した細胞全てで X 線照射により CMTM6 の発現が増加したことにより、CMTM6 が細胞の放射線応答に関与すると考えられた。

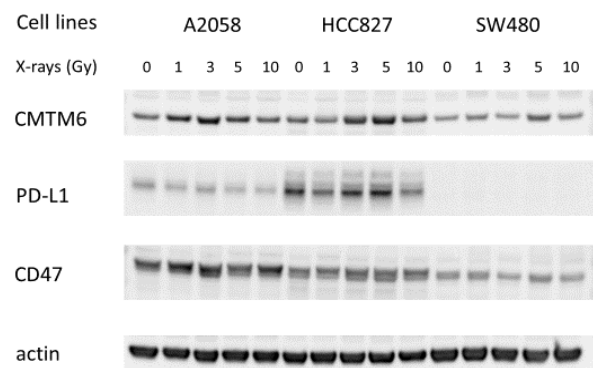


図 1: 各がん細胞系の免疫チェックポイントタンパク質の発現変化

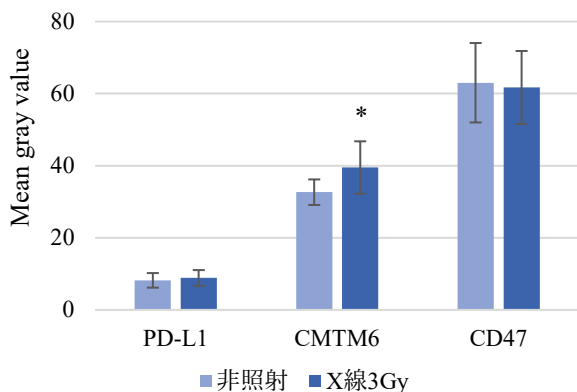


図 2 : A2058 細胞における免疫チェックポイントタンパク質の蛍光輝度変化 (* $p < 0.01$)

4 まとめ

がん細胞の種類により X 線による免疫チェックポイントタンパク質への影響が異なることが明らかとなった。特に A2058 は免疫チェックポイントタンパク質の増加が低線量で観察できたので、今後の実験で中心的に使用することとした。

現在、放射光 X 線マイクロビーム照射装置による核のみ照射、細胞質のみ照射による細胞内への部位選択的照射の影響を細胞増殖能を指標に測定している。この結果を基に放射光 X 線マイクロビーム照射の条件を決め、今回観察された X 線による免疫チェックポイントタンパク質発現への変化が DNA 損傷応答と関連するのかを検討するため、放射光 X 線マイクロビーム照射装置を用いて核のみ、細胞質のみに照射した場合の発現変化を解析する予定である。

謝辞

本研究は JST, CREST, JPMJCR17H3 の支援を受けて実施しました。

参考文献

- [1] H. Sato *et al.*, Nat Commun 2017 Nov 24;8(1):1751.
- [2] R. Mezzadra *et al.*, Nature 2017 Sep 7;549(7670):106-110.

* maki.ohara@kek.jp