

平成23年3月

松永慎司 学位論文審査要旨

主査	清水英治
副主査	福本宗嗣
同	大坪健司

主論文

緑膿菌産生クオラムセンシング分子ホモセリンラク トンの肺腺癌細胞NKG2DL発現に及ぼす影響についての検討

(著者：松永慎司、千酌浩樹)

平成23年 米子医学雑誌 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

緑膿菌産生クオラムセンシング分子ホモセリンラクトンの肺腺癌細胞NKG2DL発現に及ぼす影響についての検討

クオラムセンシング機構は生体内で細菌が自らの数が優位な状況になったことを細菌相互間の情報伝達物質で感知し病原因子の発現を一斉に開始する機構である。この機構における情報伝達物質としての役割を担っているのが自己誘導物質と呼ばれる小分子である。肺癌患者などの免疫抑制宿主では緑膿菌感染が患者予後に大きな影響を与えることが知られているが、その分子機構の詳細は不明である。本研究では、緑膿菌が産生する自己誘導物質の1つであるN-3-oxo-dodecanoyl homoserine lactone (3-O-C₁₂HSL) が肺癌細胞表面に発現するNK細胞やNKT細胞の活性化因子であるUL-16 binding protein 2 (ULBP2)にどのような影響を与えるかを検討した。

方 法

ヒト肺腺癌細胞株として、10%牛胎児血清とペニシリン・ストレプトマイシンを添加したDulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) で 37 °C, 5% CO₂下で培養したA549細胞およびLCSC#1細胞を用いた。緑膿菌産生クオラムセンシング分子として京都薬科大学微生物学教室後藤直正教授より分与頂いた3-O-C₁₂HSLを用いた。ULBP2およびADAM17遺伝子の肺腺癌細胞への遺伝子導入はリポフェクション法により行った。ADAM17蛋白質の発現量の変化はウェスタンブロッティング法により、細胞表面ULBP2蛋白質の発現量の変化はフローサイトメトリー法により評価した。

結 果

フローサイトメトリーにより3-O-C₁₂HSLが肺癌細胞表面ULBP2蛋白発現に与える影響を検討したところ、処理後6時間後に減少し、24時間後増加に転じた。ULBP2 mRNAの発現量を検討すると、3-O-C₁₂HSLはULBP2 mRNAを逆に増加させており、この一過性の発現減少は3-O-C₁₂HSL によるULBP2 mRNAの発現低下に起因するものではなかった。メタロプロテアーゼによる細胞表面からの切断の可能性を考え、各種の酵素の発現を検討したところ、3-O-C₁₂HSL処理後早期にADAM17のmRNA発現が誘導され、この誘導は蛋白レベルでも確認された。ADAM17が実際に細胞表面のULBP2を切断しているか否かを明らかにするために、

ADAM17を遺伝子導入により強制発現させた肺癌細胞の細胞表面ULBP2発現量を検討したところ、コントロールベクター導入細胞に比較してULBP2発現量は低下した。また、ADAM17阻害薬のTAPI-2を作用させると細胞表面のULBP2は増加した。3-O-C₁₂HSLはADAM17の発現を誘導することによりULBP2を切断し、ULBP2が肺癌細胞からsheddingすることにより細胞表面のULBP2蛋白量が低下することが明らかとなった。

考 察

3-O-C₁₂HSLがULBP2を発現誘導するとともに、きわめて早期にメタロプロテアーゼの一種であるADAM17を発現誘導することを明らかにした。さらに、ADAM17が細胞表面ULBP2をsheddingさせ、その結果、細胞表面のULBP2発現量が減少することが明らかになった。腫瘍細胞表面上のULBP2などのNKG2Dリガンドは宿主のNK細胞機能を増強するが、sheddingされ可溶化されたNKG2Dリガンドは逆にNKG2Dのdown-regulation等によりNK細胞の機能を低下させるため、NKG2Dリガンド高発現状態では可溶化ULBP2が腫瘍細胞表面ULBP2を上回り相対的に抗腫瘍免疫能が低下すると考えられる。3-O-C₁₂HSLによりULBP2だけでなくADAM17発現増加も伴い、可溶化ULBP2の増加によりNK細胞活性など宿主免疫機能が低下する方向に、即ち緑膿菌増殖に都合のよい方向へ働いている可能性がある。このことは肺癌に緑膿菌感染が併発したときに、感染症治療とともに癌治療にも難渋する臨床的経験と一致しており、その一因として緑膿菌の産生する3-O-C₁₂HSLが関与していると考えられる。この宿主免疫能低下の改善に3-O-C₁₂HSL阻害剤や、ADAM17阻害剤が有効な可能性があり、今後のさらなる検討が望まれる。

結 論

緑膿菌が産生するクオラムセンシング分子3-O-C₁₂HSLが肺癌細胞の細胞表面NKG2DリガンドであるULBP2だけでなくADAM17の発現誘導を起こし、可溶化ULBP2を増加させることを明らかとなった。可溶化ULBP2は感染免疫や腫瘍免疫を低下させる可能性があり、可溶化ULBP2の制御により、緑膿菌感染時の肺癌患者の予後を改善する可能性があり、ULBP2制御分子を標的とした治療薬の開発が望まれる。