

Cancer-Associated Oxidase ERO1- α Regulates the Expression of MHC Class I Molecule via Oxidative Folding.

J Immunol. 2015; 194(10): 4988-4996. doi: 10.4049/jimmunol.1303228.
Epub 2015 Apr 13.

Kukita K, Tamura Y, Tanaka T, Kajiwara T, Kutomi G, Saito K, Okuya K, Takaya A, Kanaseki T, Tsukahara T, Hirohashi Y, Torigoe T, Furuhata T, Hirata K, Sato N.

要旨 癌細胞は低酸素環境などストレス環境下に存在すると考えられる。低酸素誘導性分子である ERO1- α は、癌細胞における MHC class I 分子の立体構造形成およびその細胞表面への発現に強く関与し、癌細胞に対する宿主免疫反応に影響することが示唆された。

1. 研究目的

癌免疫療法は新たな癌治療として注目されてきている。癌免疫療法では、標的となる癌細胞における MHC class I 分子の発現は重要な因子の 1 つであり、癌細胞における MHC class I 分子の発現低下は癌免疫療法に対する抵抗性の要因である。また、癌細胞は低酸素環境などのストレス環境下に存在すると考えられるが、低酸素環境下における抗原提示を含めた免疫応答に関しては不明な点が多い。

近年、小胞体に存在する protein disulfide isomerase (PDI) が MHC class I 分子の酸化的 folding (ジスルフィド結合形成による立体構造形成) およびその細胞表面への発現に重要であると報告されたが、PDI が基質を酸化するためには、低酸素誘導性分子である Endoplasmic reticulum oxidoreductin1- α (ERO1- α) やその他の酸化酵素 (PDI 関連酸化酵素) により、自身が酸化型 PDI となる事が重要であると報告されている。我々は、ERO1- α が種々の癌細胞で高発現していることを見出した。そこで癌細胞 (大腸癌細胞株 SW480) における ERO1-PDI による MHC class I 分子の発現制御について検討し、さらに低酸素環境下における ERO1- α 発現誘導がこの MHC class I 分子の発現にどのように影響するかを解析した。

2. 癌細胞における ERO1- α の発現

各種 cell line および大腸癌手術検体を用いて、正常細胞、癌細胞における ERO1- α の発現を RT-PCR, Western blot, 免疫染色を用いて検討した所、癌細胞では、正常細胞に比較して ERO1- α が高発現していた。

3. ERO1- α 過剰発現株および knockdown 細胞株における PDI と MHC class I

SW480 細胞の ERO1- α 過剰発現株, knockdown 細胞株を樹立し、これらの細胞内における PDI および MHC class I 分子の酸化還元状態 (non-reducing condition における Western blot) に加え、細胞表面上の MHC class I 分子の発現 (Flow cytometric analysis) につき比較検討した。ERO1- α 過剰発現株では、酸化型 PDI, 酸化型 MHC class I 分子が増加し、細胞表面への MHC class I 分子の発現が上昇した。一方、ERO1- α knockdown 細胞株では酸化型 PDI が減少し、MHC class I 分子は酸化型、還元型両者が減少し、細胞表面への MHC class I 分子の発現が低下した。

4. ERO1- α の発現と T 細胞応答

SW480WT (control 細胞株), ERO1- α knockdown 細胞株, ERO1- α 過剰発現株における T 細胞応答を、ELISA を用いた IFN- γ assay にて検討した。ERO1- α 過剰発現株にて T 細胞応答は増強し、ERO1- α knockdown 細胞株では T 細胞応答が減弱した。

5. ERO1- α の会合分子

免疫沈降法および Blue Native PAGE を用いた Western blot にて ERO1- α の会合分子を解析し、ERO1- α がどの段階で MHC class I 分子の立体構造形成に関与するかを検討した。ERO1- α は PDI, MHC class I heavy chain (HC), カルネキシンと分子会合を認めしたが、 β 2-microglobulin (β 2m) および TAP との会合は認めなかった。即ち、以前より報告されている MHC class I 分子の立体構造形成に重要な、TAP を中心とした peptide-loading complex (PLC) の前段階で ERO1-PDI

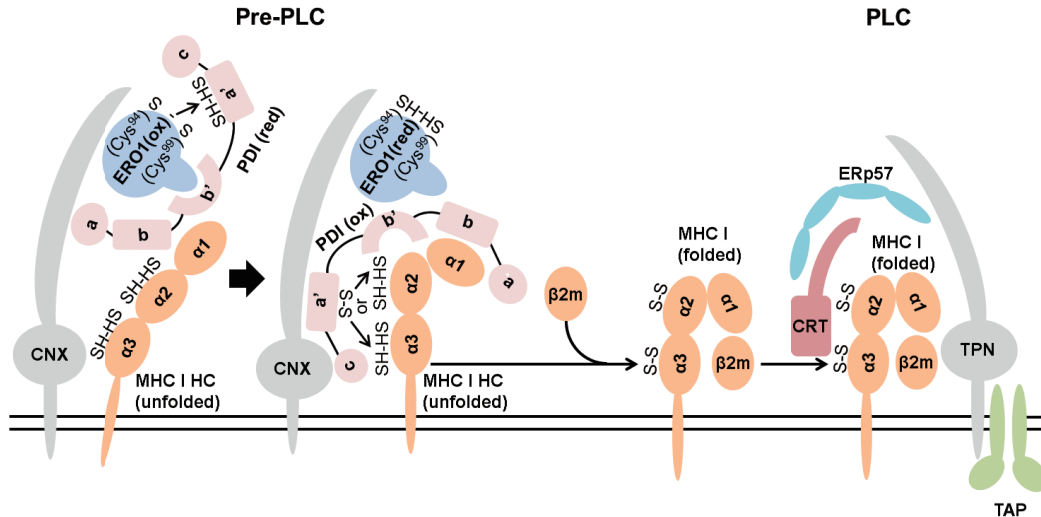


図 ERO1-PDIによるMHC class Iの立体構造形成の模式図

酸化型 (ox) ERO1が還元型 (red) PDIを酸化し、酸化型PDIがMHC class I heavy chain (HC)を酸化的 folding (ジスルフィド結合形成による立体構造形成)する。

会合分子の検討からこれらはPLCの前段階 (Pre-PLC)で行われていると考えられる。癌細胞を含め、低酸素環境下におかれた細胞では、ERO1-PDIがMHC-class I分子の立体構造形成に重要な役割を果たしていると考えられる。

はMHC class Iの立体構造形成に関与していると考えられた。

6. 低酸素環境下におけるPDI関連酸化酵素およびMHC class I分子の発現

SW480WTを低酸素環境下で培養し、ERO1- α を含めたPDI関連酸化酵素の発現を検討した。また、SW480WT (control細胞株)、ERO1- α knockdown細胞株を低酸素環境下にて培養し、MHC class I分子の細胞表面への発現を検討した。PDI関連酸化酵素のうち、ERO1- α のみが低酸素環境下で発現が誘導され、その他の分子は発現が低下した。また、SW480WT (shRNA control群)では、低酸素環境下でERO1- α の発現が誘導され、MHC class I分子の発現は維持から軽度上昇を示したが、ERO1- α knockdown細胞株ではMHC class I分子の発現が低下した。低酸素環境下においては、ERO1- α がPDI酸化の中心的役割を担い、MHC class Iの発現に強く関与していることが示唆された。

7. 大腸癌手術摘出標本におけるERO1- α およびMHC class I分子の発現

大腸癌手術摘出標本85例をanti-ERO1- α 抗体、anti-MHC class I抗体にて免疫染色し、ERO1- α の発現とMHC class I分子の発現の関連性につき検討した。ERO1- α の発現とMHC class I分子の発現は正の相関を認め、ERO1- α 低発現群では有意にMHC class I分子の発現が低下した。

8. 結論

ERO1- α は低酸素環境下におけるMHC class I分子の発現制御に強く関与し、腫瘍細胞に対する宿主免疫反応に影響することが示唆された。ERO1- α 高発現症例では、低酸素環境下においてもMHC class I分子の発現が保持されている可能性が考えられ、癌免疫療法の効果予測因子となる可能性が考えられる。

9. 参考文献

1. Wearsch, P. A., and P. Cresswell. The quality control of MHC class I peptide loading. *Curr Opin Cell Biol* 2008; 20: 624-631
2. Park, B., S. Lee, E. Kim, K. Cho, S. R. Riddell, S. Cho, and K. Ahn. Redox regulation facilitates optimal peptide selection by MHC class I during antigen processing. *Cell* 2006; 127: 369-382.

久木田 和晴

略歴

2005年 札幌医科大学医学部卒業

2007年 札幌医科大学消化器・総合、乳腺・内分泌外科 (第1外科) 入局

2013年 札幌医科大学大学院卒業

2013年 北海道社会事業協会 函館病院 (函館協会病院) 外科