

多機能因子 DIF をリード化合物とした創薬のための基礎研究
～DIF の有する抗腫瘍活性の研究～

順天堂大学大学院
スポーツ健康科学研究科
学籍番号：4119038
氏名：平山 愛梨

【目的】

トリプルネガティブ乳がん (TNBC) は治療法が限られた難治性のがんである。難治性のがん細胞はしばしば免疫チェックポイント分子 PD-L1 (Programmed cell death 1-ligand 1) や PD-L2 を発現しており、この分子の働きによって T 細胞からの攻撃を免れている。近年、PD-L1/PD-L2 を標的とした「がん免疫療法」が注目されており、PD-L1/PD-L2 発現を抑制する化合物探索も進められている。一方、細胞性粘菌由来の化合物 DIF-1 (differentiation-inducing factor 1) とその誘導体は強力な抗腫瘍活性を有することが示されている。本研究では、TNBC のモデル細胞であるヒト MDA-MB-231 細胞を用いて、PD-L1/PD-L2 発現に対する6種類の DIF 誘導体 (単に「DIF」と総称) の効果を検討した。同時に、細胞周期を調節する Cyclin D や様々な細胞機能に重要な役割を果たしている MAPK ファミリー酵素 (Erk, JNK, p38MAPK) の発現と活性化に対する DIF の効果も検討した。

【方法】

MDA-MB-231 細胞を±DIF 条件下で 5 時間あるいは 15 時間 *in vitro* 培養後、細胞を回収し、RNA を抽出後、Real-time-PCR 法により PD-L1, PD-L2, Cyclin D mRNA 量を定量化した。同様に、MDA-MB-231 細胞を±DIF 条件下で 12 時間あるいは 24 時間 *in vitro* 培養後、細胞を回収し、Western blot 法により PD-L1, PD-L2, Cyclin D1, Cyclin D3 タンパク量と、Erk, JNK, p38MAPK タンパク質量とリン酸化タンパク質を定量化した。

【結果】

当初我々は DIFs が PD-L1/PD-L2 発現を減少させることを期待していたが、DIF は PD-L1/PD-L2 mRNA 発現量にはあまり影響しないか、あるいは一過性に増加させた。一方、DIF は PD-L1/PD-L2 タンパク質発現にはあまり大きく影響しなかった。興味深いことに、一部の DIF は PD-L1 の糖鎖修飾を僅かではあるが阻害し、未修飾の PD-L1 を有意に増加させた。一方、一部の DIF は Cyclin D タンパク質発現を抑制した。また、p38MAPK においてリン酸化が有意に増加していることが示された。

【結論】

DIFs 存在下で PD-L1/PD-L2 タンパク質量は大きな変化をしなかったが、一部の DIF が PD-L1 の糖鎖修飾を阻害している可能性が示された。糖鎖修飾された PD-L1 は T 細胞の活動にブレーキをかける重要な役割を担っていることから、DIF は PD-L1 の糖鎖修飾を阻害することによって、T 細胞によるがん細胞への攻撃を促進することができるかもしれない。一方、DIF は Cyclin D 発現を抑制することによって細胞増殖を阻害することが示唆された。しかし、DIF による p38MAPK リン酸化 (活性化) 促進の下流シグナルについては不明である。