



## Therapeutic inhibition of Bmi-1 ablates chemoresistant cancer stem cells in adenoid cystic carcinoma

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2025-01-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐原, 聡甫 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/0002000307">http://hdl.handle.net/10271/0002000307</a>

博士 (医学) 佐原 聡甫

論文題目

Therapeutic inhibition of Bmi-1 ablates chemoresistant cancer stem cells in adenoid cystic carcinoma

(Bmi-1 の治療的な阻害により、腺様嚢胞がんの化学療法抵抗性を持つがん幹細胞が排除される)

論文の内容の要旨

[はじめに]

唾液腺由来の腺様嚢胞がん (ACC) は稀な腫瘍で予後不良疾患であるが、抗がん剤の治療効果は限定的である。遠隔転移再発が死因となるため、新たな抗がん剤治療の開発が望まれている。

がん幹細胞 (CSC) が化学療法抵抗性や腫瘍再発に関与していることが知られているが、ACC におけるその役割はまだ明らかではない。CSC における自己再生能の主要制御因子として B-cell specific Moloney murine leukemia virus integration site-1 (Bmi-1) が知られており、ACC に関しても予後不良因子として報告されていることに着目した。この研究の目的は、ACC の CSC を標的として、Bmi-1 阻害剤の治療により、化学療法抵抗性や腫瘍再発にどのような影響を与えるかを評価することである。

[材料ならびに方法]

Bmi-1 の小分子阻害剤 (PTC596; Unesbulin) とシスプラチンの幹細胞性に対する治療有効性を、患者腫瘍移植 (Patient-derived Xenograft; PDX) モデルによるヒト ACC 腫瘍 (UM-PDX-HACC-5) と、ヒト ACC 細胞株 (UM-HACC-2A, 14)、ヒト ACC 初期継代培養細胞 (UM-HACC-6) を使用して評価した。

幹細胞性への治療効果は、スフィアアッセイ、ALDH 活性と CD44 発現によるフローサイトメトリー、Bmi-1 (自己再生マーカー) と Oct4 (胚性幹細胞マーカー) 発現確認のためのウエスタンブロットにより解析した。また蛍光免疫染色にて Bmi-1 発現の確認や、アポトーシスについても TUNEL 法及びマイクロアレイキットにて実施した。ACC の CSC としては ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>high</sup> 分画細胞を想定とした。生存促進タンパクである Claspin をノックダウンして、Bmi-1 との関係及び ACC での幹細胞性の評価を行った。本研究は Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) of University of Michigan の承認を得て行われた (承認番号: PRO00009324)。

[結果]

PDX モデルのヒト ACC 腫瘍及びヒト ACC 細胞株に対して、それぞれシスプラチン投与し CSC 集団の測定を行うと、対照群と比較しシスプラチンが CSC を増加させていた。シスプラチンを ACC 細胞株に投与することで、濃度依存性に Bmi-1 と Oct4 がウエスタンブロットにて発現が増加した。さらに幹細胞性の指標であるスフィアアッセイでも、スフィア形成がシスプラチン濃度依存性に増加した。

CSC 集団では Bmi-1 発現が強く、ACC 細胞株に Bmi-1 阻害薬である PTC596 を投与すると、濃度依存性に CSC 集団が低下した。CSC 集団とその他の細胞集団において、それぞれ PTC596 とシスプラチンを投与すると、CSC 集団では PTC596 投与でアポトーシスが増加し、その他の細胞集団ではシスプラチン投与によりアポトーシスが増加した。また ACC 細胞株に PTC596 を投与することで、濃度依存性に Bmi-1 と Oct4 がウエスタンブロットにて発現が低下し、スフィア形成も低下した。

マイクロアレイキットにてシスプラチン、PTC596 及び両薬剤投与を比較したところ、PTC596 では生存促進タンパクの発現が低下しており、ウエスタンブロットでも同様に発現が低下した。生存促進タンパクの一つである Claspin をノックダウンすることで、CSC 集団が低下し、スフィア形成も低下した。しかし、Claspin をノックダウンしても、Bmi-1 は変化しなかった。

ACC 細胞株にシスプラチンを投与することで CSC 集団が増加したが、PTC596 をシスプラチンと併用することで、CSC 集団が増加せずに低下した。スフィア形成もシスプラチン投与にて増加したが、PTC596 併用にて増加せず低下した。PDX の ACC 腫瘍においても、シスプラチンで CSC 集団は増加したが、PTC596 併用では CSC 集団が低下した。Bmi-1 及び Claspin は、PTC596 併用群でウエスタンブロット、蛍光免疫染色で確認したところ発現が低下していた。

PDX を用いた長期薬剤投与のマウス実験では、PTC596 又はシスプラチン単剤投与群でもある程度の腫瘍増殖抑制がみられたが、PTC596 とシスプラチンの併用療法群では腫瘍増殖のさらなる抑制を認めた。さらに、もう一つのマウスへの薬剤投与実験では、2 週間短期治療を行い、その後無治療で経過観察を行った。対照群、シスプラチン単剤群は 30 日以内に腫瘍再増大をみとめたが、PTC596 とシスプラチンの併用療法群の 3 割は 150 日間腫瘍再増大を認めなかった。

#### [考察]

ACC において CSC を標的とした治療により腫瘍再発を抑制できる可能性があるという仮説を検証するために一連の実験を行った。シスプラチンは Bmi-1 発現を誘導し、ACC の CSC 集団の割合を増加させることを示した。一方、PTC596 はシスプラチンによる Bmi-1 発現を阻害し、ACC の CSC 集団の割合を減少させることを確認した。これらの結果は PTC596 による Bmi-1 阻害はシスプラチンにより増強された幹細胞性を打ち消す可能性を示唆している。

CSC は腫瘍内細胞のごく一部(おおむね 5%以下)を占めており、CSC を標的とするアプローチのみでは腫瘍の縮小が困難である。そのため、CSC とその他の腫瘍細胞の両方を標的とする併用療法を考慮し PTC596 とシスプラチンの併用療法を行った。実際に両者の併用治療により長期間、腫瘍の再増大が抑制できることが確認でき、幹細胞性の抑制により腫瘍再発を予防できる可能性を提示している。

#### [結論]

今回の実験は ACC に対する Bmi-1 阻害による治療効果の可能性を示し、CSC の

化学療法抵抗性の改善、腫瘍再発抑制効果が期待された。既存療法に Bmi-1 阻害剤を追加することが ACC に対して有効な治療法となる可能性を示した。