

## Brother of the regulator of the imprinted site (BORIS) variant subfamily 6 is involved in cervical cancer stemness and can be a target of immunotherapy

Oncotarget 2016; 8(7): 11223-11237 doi: 10.18632/oncotarget.7165

Asano T, Hirohashi Y, Torigoe T, Mariya T, Horibe R, Kuroda T, Tabuchi Y, Saijo H, Yasuda K, Mizuuchi M, Takahashi A, Asanuma H, Hasegawa T, Saito T, Sato N.

**要旨** 子宮頸がん幹細胞にはがん精巢抗原の一つである BORIS サブファミリー 6 (sf6) が優位に発現する。BORIS sf6 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) はがん幹細胞を傷害した。BORIS sf6 を標的とする免疫療法は、治療抵抗性子宮頸がん幹細胞に対する有望な治療選択となる可能性が示唆された。

### 1. 子宮頸がん幹細胞における BORIS の発現

がんはゲノムレベル、エピゲノムレベル、がん微小環境などの多様性により Heterogenous な細胞集団であるが、造腫瘍能が高く、自己複製能および多分化能を有する亜集団は「がん幹細胞」と定義され、既存のがん治療法に抵抗性を示す事が知られる。我々は子宮頸がん幹細胞に対する免疫療法について研究した。

子宮頸がん細胞株 CaSKi 細胞および TC-S 細胞由来の sphere 培養細胞 (図A) は、一般的な血清存在培養細胞 (serum 細胞) と比較して、放射線およびカルボプラチンに抵抗性を示した。また、SOX2, NANOG, OCT3/4, KLF4 といった幹細胞関連遺伝子の発現が高く (図B), Sphere 培養された子宮頸がん細胞にはがん幹細胞が濃縮されることが示された。

Sphere 細胞で発現上昇する遺伝子群の中で、我々は Brother of the regulator of the imprinted site (BORIS) に着目した。BORIS はがん精巢抗原に属し、その分子構造から 6 種類のサブファミリー (sf) に分類されている。各 sf 特異的プライマーを用いた RT-PCR 法では sphere 細胞には sf4 および sf6 が優位に発現していた (図C)。

### 2. BORIS sf6 は子宮頸がん幹細胞維持に重要な働きを有する

特異的 siRNA を用いて BORIS をノックダウンした細胞では sphere 形成能が抑制された。BORIS sf 毎の機能を調べるため、CaSKi 細胞に発現する BORIS sf1, sf4, sf6 をそれぞれ過剰発現し、免疫不全マウスに移植した。その結果、いずれの sf 過剰発現株においてもコントロール群と比較して、造腫瘍能の増強がみられた。さらに sf6 過剰発現株は、他の sf1, sf4 過剰発現株に

比較して有意に高い造腫瘍能を示した (図D)。BORIS sf6 はがん幹細胞維持に重要な役割を担う分子であることが示唆された。

### 3. BORIS sf6 は、子宮頸がん幹細胞標的免疫療法の有望な標的分子となる

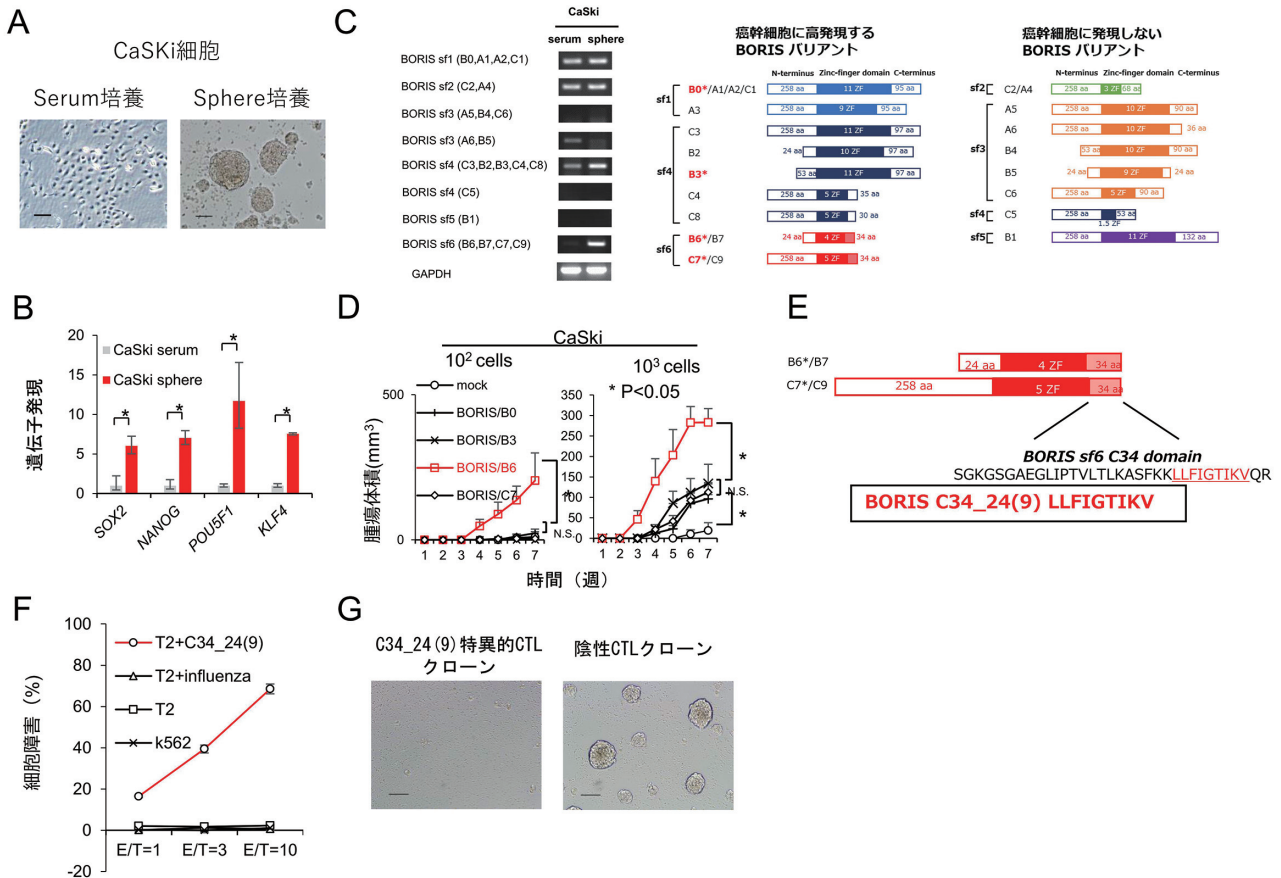
我々は BORIS sf6 に特異的な C 末端のアミノ酸 34 個からなる C34 ドメインより human leukocyte antigen (HLA)-A2 拘束性ペプチド候補を 2 種類合成し CTL 誘導を試みた (図E)。その結果、C34\_24(9) という 9-mer ペプチド特異的 CTL 誘導に成功した (図F)。同 CTL は、sphere 培養環境下において sphere 形成を抑制し子宮頸がん細胞を有効に傷害することが示された (図G)。

### 4. 子宮頸がん幹細胞標的免疫療法に向けて

今回我々が発見した BORIS C34\_24(9) ペプチドは、化学療法および放射線療法に抵抗性を示す子宮頸がん幹細胞を標的とした免疫療法の有望な候補となる事が示された。がん幹細胞には多くの機能的ながん精巢抗原が発現し、がん幹細胞標的療法の理想的な標的分子群となる。<sup>1,2)</sup> 当該研究結果より、BORIS sf6 標的免疫療法は、既存の治療法では対処できないがん幹細胞に対する有効なアプローチとなる事が期待される。今後、BORIS C34\_24(9) 標的免疫療法の臨床試験を予定している。

### 5. 参考文献

- Hirohashi Y, Torigoe T, Tsukahara T, Kanaseki T, Kochin V, Sato N. Immune responses to human cancer stem-like cells/cancer-initiating cells. *Cancer Sci.* 2016 Jan;107:12-7.
- Nishizawa S, Hirohashi Y, Torigoe T, Takahashi A, Tamura Y, Mori T, Kanaseki T, Kamiguchi K, Asanuma H, Morita R,



- A. CaSKi細胞の sphere 培養および serum 培養. 倍率, X400
- B. CaSKi serum 細胞および sphere 細胞の遺伝子発現
- C. CaSKi serum 細胞および sphere 細胞における BORIS バリエント発現
- D. BORIS バリエント過剰発現による造腫瘍能. CaSKi 細胞に BORIS/B0(sf1), B3(sf4), B6(sf6), C7(sf6) 過剰発現株を作成し, 10<sup>2</sup> 個および 10<sup>3</sup> 個を NOD/SCID に移植した.
- E. C34\_24(9) ペプチドの同定
- F. C34\_24(9) ペプチド特異的 CTL 誘導. HLA-A2 陽性ドナーから, 分離した CD8<sup>+</sup>T 細胞を C34\_24(9) ペプチドを用いて複数回刺激し, CTL クローンを作成した.
- G. C34\_24(9) ペプチド特異的 CTL クローンによる sphere 形成阻害. C34\_24(9) ペプチド特異的 CTL クローンおよび, 陰性 CTL クローン存在下にて, CaSKi 細胞の sphere 形成試験を行った. 倍率 X100

Sokolovskaya A, Matsuzaki J, Yamada R, Fujii R, Kampinga HH, Kondo T, Hasegawa T, Hara I, Sato N. HSP DNAJB8 controls tumor-initiating ability in renal cancer stem-like cells. *Cancer Res.* 2012 Jun 1; 72: 2844-54.

## 浅野 拓也

### 略歴

- 2007年 札幌医科大学・医学部 卒業
- 2009年 同大学・産婦人科学講座 入局
- 2011年 同・大学院博士課程 医科学研究コース 入学
- 2015年 同修了
- 2015年 市立函館病院・産婦人科