

Peran Quiescent Lung Cancer Stem Cell (CSC) dalam Proses resistans terhadap Agen Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKI) pada Adenokarsinoma Paru dengan Mutasi EGFR Positif = Role of Quiescent Lung Cancer Stem Cells in Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKI) Resistance in EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma

Moulid Hidayat, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20515002&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar Belakang: Beberapa bukti menunjukkan bahwa quiescent cancer stem cell (CSC) terlibat dalam resistans terhadap gefitinib pada adenokarsinoma paru sebagai mekanisme nonmutasi. Kami sebelumnya telah mempublikasikan bahwa gefitinib-resistant persister (GRP) mengekspresikan stemness factor dengan level yang tinggi dan memiliki ciri khas fenotip CSC. Studi terbaru menunjukkan bahwa FBXW7, merupakan jenis protein F-box, memainkan peran penting dalam pemeliharaan quiescent CSC dengan memediasi degradasi protein c-MYC melalui proses ubiquitination. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peran FBXW7 dalam resistans terhadap gefitinib pada adenokarsinoma paru dengan mutasi EGFR.

Metode: Cell line dari sel adenokarsinoma paru, PC9, yang mengandung mutasi sensitif EGFR dipajankan pada gefitinib dengan konsentrasi tinggi untuk mengembangkan GRP. Kami mencoba melakukan abrogasi ekspresi gen FBXW7, dan mengevaluasi sensitivitasnya terhadap gefitinib dan populasi CD133-positive stem cell di GRP. Kami juga memasukkan plasmid FUCCI melalui proses infeksi lentiviral ke dalam sel dan kemudian menyelidiki siklus sel dan sel pada fase G0 dalam GRP. Selanjutnya, kami telah mengembangkan model gefitinib-resistant tumor (GRT) dengan menyuntikkan sel PC9 ke dalam mencit NOG diikuti dengan pemberian gefitinib setelah pertumbuhan tumor, dan mengevaluasi ekspresi mRNA dan ekspresi protein dari penanda terkait quiescence, FBXW7 in vivo.

Hasil: GRP menunjukkan ekspresi yang tinggi dari penanda cancer stem cell, CD133 dan penanda terkait quiescence, FBXW7 dan ekspresi c-MYC yang rendah pada tingkat protein secara in vitro. Analisis siklus sel menunjukkan bahwa mayoritas GRP berada pada fase G0/G1. Tindakan abrogasi gen FBXW7 menurunkan populasi sel CD133-positive di GRPs. Abrogasi FBXW7 juga meningkatkan kerentanan sel terhadap gefitinib, membalikkan populasi sel fase G0/G1 menjadi sel S/G2/M, dan menurunkan jumlah sel GRP. Secara in vivo, pada GRT setelah pengobatan gefitinib menunjukkan ekspresi FBXW7 yang tinggi dan ekspresi c-MYC yang rendah. Kami juga menemukan bahwa ekspresi FBXW7 dalam sel CD133-positive meningkat dan ekspresi c-MYC menurun pada mencit dan pada 9 dari 14 spesimen tumor dari pasien adenokarsinoma paru dengan mutasi EGFR resistans terhadap gefitinib.

Kesimpulan: Temuan ini menunjukkan bahwa FBXW7 dapat memainkan peran penting dalam pemeliharaan quiescence pada gefitinib-resistant lung CSC pada adenokarsinoma paru dengan mutasi positif EGFR

.....Background: Accumulating evidence indicates that quiescent cancer stem cells (CSCs) are involved in the resistance to gefitinib in non-small cell lung cancer (NSCLC) as non-mutational mechanism. We have previously reported that gefitinib-resistant persisters (GRPs) highly expressed stemness factors and had characteristic features of the CSCs phenotype. Recent studies demonstrate that FBXW7, a type of F-box

protein, plays an important role in the maintenance of quiescent CSC by mediating the degradation of c-MYC protein by ubiquitination. The aim of this study is to figure out the role of FBXW7 in the resistance to gefitinib in lung adenocarcinoma with EGFR mutation.

Methods: lung adenocarcinoma cell lines, PC9, harboring sensitive-EGFR mutation were exposed to high concentration of gefitinib in order to develop GRPs. We tried to knockdown FBXW7 gene expression, and evaluated their sensitivity to gefitinib and CD133-positive stem cell population in GRPs. We also introduced FUCCI plasmid via lentiviral infection in the cells and then investigated the cell cycle and G0-phase cells in GRPs. Furthermore, we established gefitinib-resistant tumor (GRT) model by injecting PC9 cells into NOG-mice followed by gefitinib administration after tumor growth, and evaluated mRNA and protein expression of quiescence-related markers including FBXW7 in vivo.

Results: In vitro, GRPs showed high expression of stem cell marker CD133 and quiescence-related markers including FBXW7 and low expression of c-MYC at protein level. Cell cycle analysis revealed that majority of GRPs existed in G0/G1 phase. Silencing of FBXW7 gene reduced CD133-positive cell population in GRPs. Knockdown of FBXW7 also increased susceptibility of cells to gefitinib, reversed population of G0/G1 cells to G2/S/M cells, and decreased cell number of GRPs. In vivo, GRTs after gefitinib treatment revealed high expression of FBXW7 and low expression of c-MYC. We also found that FBXW7 expression in CD133-positive cells was increased and c-MYC expression was decreased in mice and in 9 out of 14 tumor specimens from EGFR-mutant lung adenocarcinoma patients with acquired resistance to gefitinib. Conclusion: These findings suggest that FBXW7 plays a pivotal role in the maintenance of quiescence in gefitinib-resistant lung CSCs in EGFR mutation- positive lung adenocarcinoma.