

Genome-wide CRISPR-Cas9 screen identifies rationally designed combination therapies for CRLF2-rearranged Ph-like ALL

佐々木, 謙介

<https://hdl.handle.net/2324/4795534>

出版情報：九州大学, 2022, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏名： 佐々木 謙介

論文名： Genome-wide CRISPR-Cas9 screen identifies rationally designed combination therapies for *CRLF2*-rearranged Ph-like ALL

(網羅的CRISPR-Cas9スクリーニングに基づいた*CRLF2*再構成Ph-like ALLに対する新規薬剤併用療法)

区分： 甲

論文内容の要旨

フィラデルフィア染色体様急性リンパ性白血病(Ph-like ALL)は、フィラデルフィア染色体陽性ALLと同様の遺伝子発現パターンを示すB細胞性ALLの一群である。*CRLF2*再構成(*IgH-CRLF2*など)はPh-like ALLの約半数に見られる予後不良な遺伝子異常であり、その多くに*JAK2*や*RAS*の遺伝子変異が付随することが知られている。また、*CRLF2*再構成ALLは、JAK/STATシグナルの恒常的な活性化を認め、JAK1/2阻害薬であるルキソリチニブの有効性が臨床試験で検討されているものの、十分な効果は得られていない。

我々は、*CRLF2*再構成ALLの増殖・生存やルキソリチニブ抵抗性に関与する分子・シグナル経路を明らかにするために、*CRLF2*再構成ALL細胞株を用いてルキソリチニブ存在下および非存在下の条件で網羅的CRISPRスクリーニングを行った。これまで、遺伝子導入効率の問題によりPh-like ALLに対する網羅的CRISPRスクリーニングは困難であったが、Baboonエンベロープレンチウイルスシステムを用いることで遺伝子導入効率が上昇し、今回初めてCRISPRスクリーニングが可能となった。スクリーニングの結果、*CRLF2*やそれと複合体を形成する*IL7R*、*JAK1/2*の欠損は細胞増殖を抑制したが、それらの下流の*STAT*遺伝子の欠損は細胞増殖に影響せず、STATシグナルは*CRLF2*再構成ALLの生存にとって重要でないと考えられた。一方、RAS経路やmTORC1経路の関連遺伝子が、生存に必要な遺伝子として抽出された。また、ルキソリチニブ存在下の網羅的CRISPRスクリーニング結果からは、*CRKL*や*FLT3*などの受容体型チロシンキナーゼ(RTK)関連遺伝子の欠損により、RASシグナルやmTORC1シグナルの活性が抑制され、ルキソリチニブの感受性が上昇することが明らかとなった。これらの結果から、ルキソリチニブ単剤療法は最適な治療選択肢でなく、RTKシグナルの阻害を併用することが有効であることが示唆された。FLT3阻害薬であるギルテリチニブは、これらのRTKシグナルを効率的に阻害し、ルキソリチニブと併用することで*CRLF2*再構成ALLの増殖を著明に抑制した。しかしながら、*RAS*変異型を有する*CRLF2*再構成ALLにおいては、*RAS*野生型と比較し、ルキソリチニブ/ギルテリチニブ併用療法ではRASシグナルが十分に阻害されず、併用効果は乏しかった。そこで、より効率的にRASシグナルを阻害するために、RASの下流のMEKを阻害するトラメチニブの効果を評価したところ、ギルテリチニブとトラメチニブの併用療法は*RAS*変異の有無に関わらず、著明な抗白血病効果を示した。

本研究では、網羅的CRISPRスクリーニングにより*CRLF2*再構成Ph-like ALLの生存に重要なシグナル経路、分子が明らかとなり、合理的な新規併用療法を提案した。