

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）

(別紙様式2)

氏名	佐々木 謙介
論文名	Genome-wide CRISPR-Cas9 screen identifies rationally designed combination therapies for <i>CRLF2</i> -rearranged Ph-like ALL
論文調査委員	主査 九州大学 教授 大賀 正一 副査 九州大学 教授 新井 文用 副査 九州大学 教授 馬場 義裕

論文審査の結果の要旨

主論文内容の要旨：

フィラデルフィア染色体様急性リンパ性白血病(Ph-like ALLまたは*BCR-ABL1*-like ALL)は、*BCR-ABL1*融合遺伝子を有さないにも関わらずPh陽性ALLと同様の遺伝子発現パターンを示す予後不良な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遺伝子異常で、多くが*JAK2*や*RAS*の遺伝子変異を付随している。*CRLF2*再構成を有するPh-like ALLは、*JAK/STAT*シグナルの活性化を認め、*JAK1/2*阻害薬であるルキソリチニブの効果が前臨床研究で示されている。しかし、現在臨床試験で検討中のルキソリチニブの有効性は十分な効果が得られていない。申請者らは、*CRLF2*再構成ALLの増殖・生存に関与する分子・シグナル経路を明らかにするため、*CRLF2*再構成ALL細胞株を用いてルキソリチニブ存在下と非存在下に網羅的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からPh-like ALLに対する網羅的CRISPRスクリーニングは困難だったが、Baboonエンベロープレチウイルスシステムを使うことで遺伝子導入効率が上昇し、今回始めて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、下流の*STAT5A*、*STAT5B*、*STAT3*の欠損は細胞増殖に影響しなかった。このことから、*STAT*シグナルは*CRLF2*再構成ALLの生存にとって重要でなく、*JAK/STAT*シグナルを阻害するルキソリチニブ単剤療法は最適な治療選択肢ではないことが示唆された。また、*RAS*シグナル関連遺伝子が細胞増殖やルキソリチニブの感受性に対して重要な役割を果たしており、*CRKL*や*FLT3*の欠損が*RAS*シグナル活性を低下させ、ルキソリチニブの感受性を高めることが示された。*CRKL*を阻害する薬剤はないため、*FLT3*阻害薬であるギルテリチニブの効果を評価したところ、*CRLF2*再構成ALLではギルテリチニブ治療により、*CRKL*のリン酸化も阻害され、ギルテリチニブ単剤療法およびルキソリチニブとの併用は効果的に*CRLF2*再構成ALLの増殖を抑制した。しかし、*RAS*変異陽性の*CRLF2*再構成ALLにおいては変異*RAS*によるシグナルへの依存度が増し、ルキソリチニブとギルテリチニブ併用の効果は乏しかった。*RAS*変異の有無に関わらずより効率的に*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。申請者らはこの網羅的CRISPRスクリーニングで*CRLF2*再構成Ph-like ALLの生存に重要なシグナル経路、分子が明らかにし、合理的新規併用療法を提案した。

以上の成績はこの方面の研究の発展に重要な知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験はまず論文の研究目的、方法、実験成績などについて説明を求め、各調査委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々質問を行ったが適切な回答を得た。なお本論文は共著者12名だが、予備調査の結果、申請者が主導的役割を果たしていることを確認した。

よって調査委員合議の結果、試験は合格と決定し、博士(医学)の学位に値すると認める。