

成人 T 細胞白血病/リンパ腫の新規治療開発に成功

～パルボシクリブとエベロリムスの併用投与による新たな治療戦略に期待～

ポイント

- ・長期予後不良の悪性リンパ腫「成人T細胞白血病/リンパ腫 (ATLL)」に対する新規治療開発に成功。
- ・CRISPR-Cas9スクリーニングによってATLLの必須遺伝子を同定。
- ・他の悪性腫瘍に対する応用にも期待。

概要

北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室の石尾 崇研究員、中川雅夫助教らの研究グループは、予後不良の悪性リンパ腫「成人T細胞白血病/リンパ腫 (ATLL)」の新規治療開発に成功しました。

ATLLはhuman T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) 感染者の一部に生じる悪性リンパ腫で、HTLV-1がCD4陽性T細胞へ感染しキャリア^{*1}として50年程度の長い潜伏期間を経過した後に発症します。既存の化学療法に対する反応性が乏しい予後不良の疾患で、ATLLの増殖及び生存に重要な役割を担っている遺伝子を標的とした新規治療方法の開発が求められています。

今回の研究では、新規ゲノム^{*2}編集技術であるCRISPR-Cas9を用いてATLL細胞株内の約20,000種類の遺伝子を網羅的にノックアウトさせ、どの遺伝子が最もATLLの増殖及び生存に重要な役割を担っているのかを機能的にスクリーニングしました。これにより、細胞周期機構に関わるCyclin dependent kinase 6 (CDK6) と細胞増殖に関わるmTORC1経路がATLLの増殖と生存に必須の遺伝子であることを見出しました。

この結果を踏まえて、研究グループはCDK4/6阻害薬 (パルボシクリブ) がATLLの細胞周期進行を抑制し、アポトーシスを伴う細胞毒性をもたらすことを細胞株及びマウスモデルを用いて示しました。さらに、比較的CDK4/6阻害薬への反応性が弱いTP53異常を有するATLLに対してもmTORC1阻害薬 (エベロリムス) を併用することで相乗効果による細胞毒性をもたらすことも突き止めました。

本研究では、ATLLに対してCRISPR-Cas9スクリーニングを用いた結果、ATLLの新規治療標的となるCDK6とmTORC1経路を同定することに成功しました。パルボシクリブとエベロリムスの併用投与は他の悪性腫瘍にも奏功をもたらす可能性があり、今後の臨床応用が期待されます。

なお、本研究成果は、2021年11月24日 (水) 公開のBlood誌にオンライン掲載されました。

【背景】

成人T細胞性白血病/リンパ腫（Adult T-cell leukemia/lymphoma; ATLL）はhuman T-cell leukemia virus type 1（HTLV-1）感染者の一部に発症する悪性リンパ腫で、既存の化学療法に対する奏功が乏しい予後不良の疾患です。次世代シーケンシングを用いたゲノム異常の網羅的解析によって、ATLLの病態に寄与する様々な遺伝子変異やシグナル伝達経路が同定されています。しかし、変異を伴う遺伝子が治療標的になりうるかは別の問題であり、腫瘍の増殖や生存に関わる機能的なタンパク質を遺伝子の変異の有無により取捨選択することなく網羅的に解析することで、これまで見出されてこなかった新規治療標的分子を見出せる可能性があると考えられてきました。

【研究手法】

研究グループでは、効果の高い新規治療標的遺伝子を同定するために、ゲノム編集技術CRISPR-Cas9をATLL細胞株に用いることで一度に約20,000種類の遺伝子を網羅的にノックアウトさせ、ゲノムワイドな機能的スクリーニングを施行しました。具体的な方法として、ATLLの細胞株と対照群のマントル細胞リンパ腫の細胞株に対して19,114種類の遺伝子に対する単鎖ガイドRNA（sgRNA）を導入しました。導入された細胞を4週間継代培養した後にゲノムDNAを抽出し、ゲノムDNA上のsgRNA配列をPCRで増幅、世代シーケンサーで検出しました。計測されたsgRNA数から、培養前と培養後の比を計算することで、どの遺伝子がATLLの治療標的として適しているかを検討しました。

【研究成果】

上記スクリーニングにより細胞周期機構に関わるCyclin dependent kinase 6（CDK6）がATLLの増殖と生存に必須の働きをする重要遺伝子であることを見出しました。さらに CDK4/6阻害薬（パルボシクリブ）がATLL細胞株のRbタンパクのリン酸化を抑制して細胞周期進行の抑制とアポトーシスを引き起こし、生存と増殖を抑制することを証明しました。一方、TP53異常を有する場合はパルボシクリブ単独投与の効果は限定的であることもわかりました。

このメカニズムを克服する治療法を開発するために、スクリーニングのデータをATLLのみに絞らず、細胞全般に必須の遺伝子である core fitness geneを含めたATLLに必須の遺伝子シグナルを再解析しました。その結果、ATLL細胞の増殖・生存はmTORC1経路（RPS6, EIF4E, mTOR, RPTOR, mLST8）に高度に依存していることを見出しました。そして、ATLL細胞株に対してパルボシクリブとmTORC1阻害薬（エベロリムス）を併用投与した結果、Rbタンパクのリン酸化を著明に抑制することがわかり、TP53異常の有無に関わらず極めて高い相乗効果を認めることを証明しました（図1）。

研究グループは、ATLL患者さんからの腫瘍細胞でも同併用投与の有用性を示し、さらにATLL異種移植^{*3}マウスモデルでも同併用投与により合併症の増加なく腫瘍量を有意に縮小させることに成功しました。

【今後への期待】

本研究では、ゲノムワイドの CRISPR-Cas9 ライブラリースクリーニングを用いて遺伝子に変異の見られない CDK6 が ATLL に特異的な必須遺伝子であることを同定し、CDK4/6 阻害薬のパルボシクリブを用いることで治療標的となりうることを見出しました。また、ATLL 細胞の増殖生存は mTORC1 経路に高度に依存性であることを同定し、パルボシクリブと mTORC1 阻害薬のエベロリムスの併用投与は TP53 異常の有無に関わらず ATLL 細胞に対して高い治療効果を示す可能性があると考えられました。本研究の結果は ATLL のみならず他の悪性腫瘍にも波及効果が期待でき、臨床応用への展開が期待され

ます。

論文情報

論文名 Genome-wide CRISPR screen identifies CDK6 as a therapeutic target in Adult T-cell leukemia/lymphoma(CRISPR スクリーニングで ATLL の新規治療分子標的となる CDK6 を同定)

著者名 石尾 崇¹, Sarvesh Kumar², 下埜城嗣¹, Anusara Daenthanasanmak², Sigrid Dubois², Yuquan Lin², Bonita R Bryant², Michael N Petrus², Emmanuel Bachy², Da Wei Huang², Yandan Yang², Patrick L Green², 長谷川寛雄³, 前田道之⁴, 後藤秀樹¹, 遠藤知之¹, 横田卓⁵, 畑中佳奈子⁵, 畑中 豊⁶, 田中伸哉⁸, 松野吉宏⁷, Yibin Yang², 橋野 聡⁹, 豊嶋崇徳¹, Thomas A Waldmann², Louis M Staudt², 中川雅夫¹ (¹北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室, ²アメリカ国立衛生研究所, ³長崎大学病院検査部, ⁴京都大学ウイルス・再生医科学研究所, ⁵北海道大学病院医療・ヘルスサイエンス研究開発機構, ⁶北海道大学病院ゲノム・コンパニオン診断研究部門, ⁷北海道大学病院病理部/病理診断科, ⁸北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室, ⁹北海道大学保健センター)

雑誌名 Blood (血液内科学の専門誌)

DOI 10.1182/blood.2021012734

公表日 2021年11月24日 (水) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室 助教 中川雅夫 (なかがわまさお)

T E L 011-706-7214 F A X 011-706-7823 メール nakagawam@med.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jip-press@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】

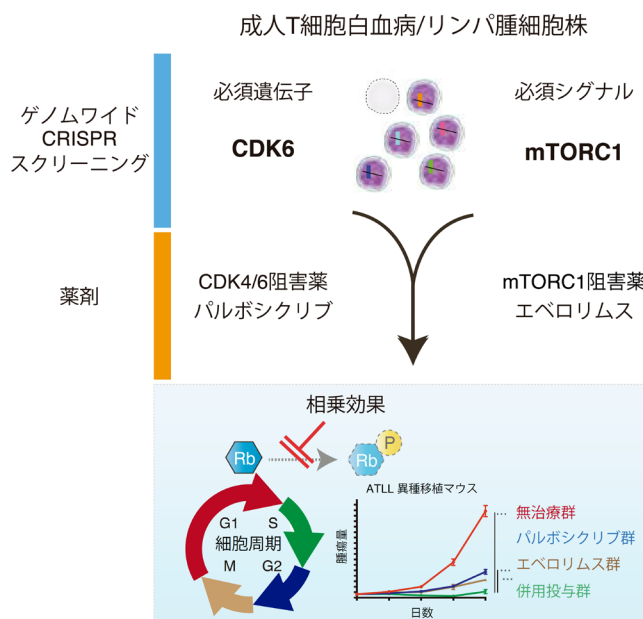


図 1. パルボシクリブとエベロリムスの併用投与による相乗効果の概要 (作成: 中川雅夫)

【用語解説】

- *1 キャリア … 病原性のあるウイルスを体内に保持していながら、症状を呈さない状態。
- *2 ゲノム … DNA の文字列に表された遺伝情報の全体。
- *3 異種移植 … 異なる種由来の組織を移植すること。