HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	CRISPR/Cas9 screeningによって同定されたATLLの新規治療分子標的［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	石尾, 崇
Description	配架番号：2643
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14706号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83100
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takashi_Ishio_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　　石尾　崇

	主査	教授	真　部　　淳
審査担当者	副査	教授	佐　藤　典　宏
	副査	教授	近　藤　　亨

学 位 論 文 題 名

CRISPR/Cas9 screening によって同定された ATLL の新規治療分子標的
(Genome-wide CRISPR/Cas9 screen identifies novel therapeutic targets in ATLL)

申請者は、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(Cyclin-dependent kinase 6)が ATLL(Adult T-cell leukemia/lymphoma)に特異的な必須遺伝子であることを同定し、かつ、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明らかにした。また、パルボシクリブと mTORC1 阻害薬のエベロリムスを併用投与することにより相乗的治療効果を見出し、TP53 異常を有する ATLL 細胞に対しても極めて効率的にその増殖生存を阻害することを明らかにした。

審査にあたり、まず副査の近藤亨教授より、CDK6 を発現する細胞は ATLL 細胞以外にどのような細胞があるか、という質問が出された。申請者は、CDK6 をノックアウトしたマウスでは造血機能不全となることから血液細胞の多くに発現を認めることが推察される、と回答した。また、CDK6 は血液細胞の中でも特に T 細胞の分化に関わっており、制御性 T 細胞では CDK6 が高発現していることが知られている、と回答した。続いて、ATLL 細胞株に対してパルボシクリブを投与することでアポトーシス割合が有意に上昇した結果に関して、アネキシン V では細胞膜による評価のため不十分であり Caspase-3 による評価も行った方が良いのではないか、という質問が出された。申請者は、ウエスタンブロットによる Caspase-3 の評価は施行しておらず今後の検討課題とする、と回答した。

次に副査の佐藤典宏教授より、パルボシクリブは実際に日本における臨床現場でどのように使用されているか、という質問が出された。申請者は、ファイザー株式会社からパルボシクリブ(商品名イブランス)が再発難治性乳癌に対して内分泌療法剤との併用において認可されている、と回答した。続いて、中間審査では CDK6 ではなく CCND2(Cyclin D2)に着目して研究を進めていたが、なぜ CDK6 に変更したのか、という質問がなされた。申請者は、現時点では CCND2 に対する阻害薬

は臨床応用されておらず、加えて今回のゲノムワイドの CRISPR/Cas9 ライブラリースクリーニングで判明した ATLL に特異的な必須遺伝子(JUNB、BATF3、STAT3 など)の中でそれらの分子を直接阻害する薬剤が臨床応用されているものが CDK4/6 阻害薬のみであったため CDK6 に着目して研究を進めた、と回答した。

最後に主査の真部淳教授より、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は ATLL 以外の悪性腫瘍にも認められるのか、という質問が出された。申請者は、造血器腫瘍以外でも CDK4/6 阻害薬と mTOR 阻害薬の併用投与により Rb リン酸化が著明に抑制されて相乗効果を認めうることを、既報に基づいて回答した。さらに、mTOR と細胞周期がどのように関連しているのか、という質問が出された。申請者は、本実験においてパルボシクリブとエベロリムスの併用投与によって細胞周期に関わるタンパク発現が変化するか検討したが有意な所見は得られず、また、パルボシクリブは ATP 競合型阻害薬であるためミトコンドリア活性に関しても検討したが有意な所見を得ることは出来なかった、と回答した。

他、ATLL におけるパルボシクリブの投与量は臨床応用できるか、という質問が出された。申請者は、エベロリムスとの併用投与によりパルボシクリブの投与量を臨床応用が望める範囲で抑えることが可能と考えている、と回答した。この件に関して、パルボシクリブとエベロリムスは本邦で認可されている薬剤であり今後の臨床応用が期待される、というコメントが出された。

この論文は、既存の化学療法に対する奏功が乏しい ATLL に対してゲノムワイドの CRISPR/Cas9 ライブラリースクリーニングにより CDK6 がその増殖および生存に関与する必須遺伝子であり、かつ、新規治療標的として極めて有望であることを示した点が高く評価される。また、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、今後の動物実験やヒトに対する臨床研究への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。