



Title	CRISPR/Cas9 screeningによって同定されたMAD2L1BPとANAPC15はPTCLにおけるブレンツキシマブベッドチンへの感受性に関与する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	須藤, 啓斗
Description	配架番号 : 2910
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16418号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95550
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SUT0_Keito_review.pdf, 審査の要旨



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 須藤 啓斗

主査 教授 真部 淳
審査担当者 副査 教授 佐藤 典宏
副査 教授 園下 将大

学 位 論 文 題 名

CRISPR/Cas9 screening によって同定された MAD2L1BP と ANAPC15 は
PTCL におけるブレンツキシマブベドチンへの感受性に関与する
(Genome-wide CRISPR screen identifies MAD2L1BP and ANAPC15 as targets for brentuximab
vedotin sensitivity in CD30+ PTCL)

最初に申請者より、今回の研究では CRISPR/Cas9 ノックアウトスクリーニングを行い、CD30 陽性 PTCL においてブレンツキシマブベドチン (BV) への耐性化に関わる遺伝子として SLC39A7 を、感受性化に関わる重要な遺伝子として MAD2L1BP と ANAPC15 を同定し、SLC39A7 が CD30 の発現調節に重要な役割を担っている可能性や、MCC-APC/C 軸が新規治療標的となる可能性についてプレゼンテーションがなされた。

審査にあたり、まず副査の佐藤教授から、実臨床における CD30 の発現量と BV への感受性に関する質問と、治療抵抗性に関わる分子としてなぜ SLC39A7 に着目したのかという質問と、proTAME は現時点で in vivo やヒトに対して使用できるのかという質問があった。申請者は 1 つ目の質問に対し、BV 抵抗性の患者検体を用いた報告では CD30 の発現が消失しているという報告が目立つ一方で、CD30 の発現が保たれているにも関わらず無効となる報告も多くその点についてはまだ明確な知見は得られていないと回答し、2 つ目の質問には既報で SLC39A7 のノックアウトにより TNFR1 の発現が低下することから同じく TNFRSF に属する CD30 (TNFRSF8) の発現も低下するという仮説に基づいたこと、さらにスクリーニングの再現性確認のために SLC39A7 ノックアウト細胞株を作成し BV 抵抗性を示したためだと回答し、3 つ目の質問に対しては現時点で in vivo に使用した報告はなくヒトに使用可能な製品もまだ開発されていないと回答した。最後の回答を受けて、副査の佐藤教授は既存の薬剤の中に同様の効果を示すものがあるかもしれないのでそれらの検討や、創薬も含めた企業との共同研究なども視野に入れるべきだと発言した。

続けて園下教授から、今回のようなスクリーニングではノックアウトにより BV の細胞障害活性が強力に発現する遺伝子や致命的となる遺伝子については抽出できるのかという質問と、抽出された遺伝子について gene ontology (GO) 解析は実施したかどうかという質問と、蛍光免疫染色のコントロール群で細胞質内に CD30 のピークが見られないのはなぜかという質問と、CD30 と細胞内亜鉛の関係に関する考察や既報についての質問があった。申

請者は1つ目の質問に対し、細胞障害活性が極めて強力な場合には sgRNA の増幅が難しく抽出が困難となることがあり、その点は今回のような CRISPR スクリーニングの限界の一つであると回答し、2つ目の質問には DAVID で GO 解析を実施したが一定の傾向を認めず、抽出した遺伝子のいくつかについてはノックアウト細胞株を実際に作成してスクリーニング結果の再現性確認も行った上で着目する分子を決定したと回答し、3つ目の質問に対しては細胞質内に CD30 の発現を有する細胞もみられたが無作為に 20 細胞を選択した上で統計解析を実施したと回答し、4つ目の質問に対してはこれまでに CD30 と細胞内亜鉛の関連について論じた既報はなく、機序的には SLC39A7 ノックアウトが CD30 の翻訳後修飾に影響を与える可能性を推察しているがその点についてはまだ検討できていないと回答した。2つ目の質問への回答を受けて、園下教授は再現性が確認できなかったネガティブデータについても記載するよう発言し、申請者は対応すると回答した。また、3つ目の質問への回答を受けて、園下教授は細胞の培養条件を揃えるために細胞周期の同期といった手法も検討すべきだと発言した。

主査の真部教授からは、今回用いたライブラリーに含まれない遺伝子に重要な分子が存在する可能性はないのかという質問と、ホジキンリンパ腫では今回の研究で同定した分子に関する知見はあるのかという質問があった。申請者は1つ目の質問に対し、今回用いたライブラリーは約 20000 遺伝子を標的としているが必ずしもヒトの全ての遺伝子を網羅しているわけではないため、ライブラリーに含まれない遺伝子の中にも BV の感受性に影響を与える分子が存在する可能性はあると回答し、2つ目の質問に対しては、ホジキンリンパ腫では今回同定した分子と BV 感受性に関する既報はないと回答した。2つ目の質問への回答を受けて、真部教授はホジキンリンパ腫でも今回の研究のようなゲノムワイド CRISPR スクリーニングについて検討すべきだと発言した。その他に、各教授から学位論文の体裁や記載方法についていくつか指摘があり、申請者はそれらに対応する旨回答した。

この論文は CD30 陽性 PTCL の BV 感受性に関わる分子を CRISPR スクリーニングにより機能的かつ網羅的に検討を行ったことが評価され、今後の臨床応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を評価し、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。