

末梢性 T 細胞リンパ腫の新規治療標的の解明

～BV と APC/C 阻害薬の併用投与による新たな治療法開発に期待～

ポイント

- ・ 難治性の悪性リンパ腫「末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL)」の新規治療標的を解明。
- ・ CRISPR-Cas9 スクリーニングにより、PTCL の BV 感受性に関与する遺伝子を同定。
- ・ BV への治療抵抗性克服に向けた臨床応用に期待。

概要

北海道大学大学院医学院博士課程 4 年の須藤啓斗氏と同大学大学院医学研究院の中川雅夫助教らの研究グループは、難治性の悪性リンパ腫「末梢性 T 細胞リンパ腫 (peripheral T-cell lymphoma; PTCL)」の新規治療標的を解明しました。

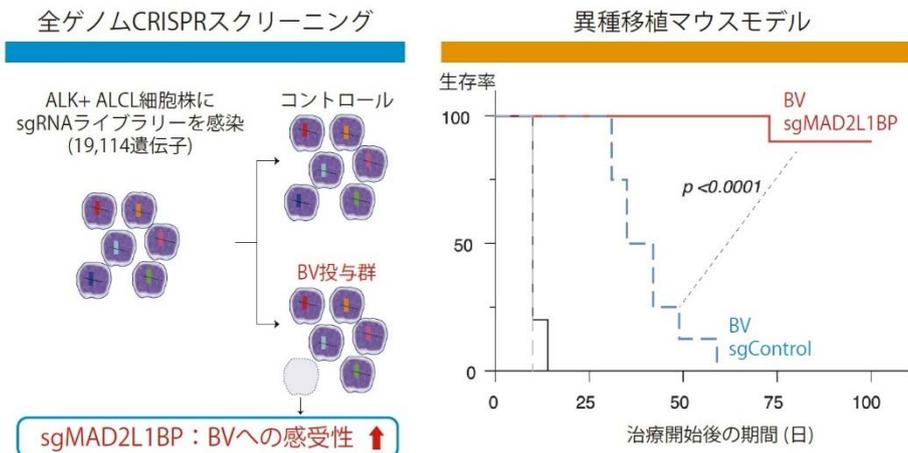
PTCLは成熟T細胞に由来する悪性リンパ腫で、悪性リンパ腫全体の約7%を占める希少疾患です。PTCLは一部の病型を除き既存の治療に対する反応性が乏しく、新しい治療法の開発が求められています。PTCLではCD30*1が高率に陽性であり、同分子を標的とした抗体薬物複合体のブレンツキシマブベドチン (BV) が広く使われていますが、奏効率は十分ではなく、BVへの抵抗性の克服が今後の改善につながります。

今回の研究では、新規ゲノム編集技術である CRISPR-Cas9*2 を用いて CD30 陽性 PTCL 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 BV への感受性に関与するかをスクリーニングしました。これにより、有糸分裂チェックポイント複合体 (MCC) *3 の阻害因子として知られる、MAD2L1 binding protein (MAD2L1BP) と anaphase promoting complex subunit 15 (ANAPC15) が BV への感受性亢進に関わることを見出しました。

これを踏まえ、研究グループは MAD2L1BP をノックアウトすることで BV の抗腫瘍効果が増強することを細胞株及びマウスモデルを用いて解明しました。さらに、BV と APC/C*4 阻害薬の proTAME を併用することで細胞周期の停止を誘導し、相乗的な細胞傷害作用を示すことも見出しました。

今回の結果から、MCC-APC/C を軸とした新規治療標的が BV の抵抗性克服に重要である可能性が示され、今後の臨床応用が期待されます。

なお、本研究成果は、2024 年 10 月 21 日 (月) 公開の Leukemia 誌にオンライン掲載されました。



【背景】

末梢性 T 細胞性リンパ腫 (PTCL) は成熟 T 細胞に由来する悪性リンパ腫で、PTCL 非特定型、ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫 (ALK-positive anaplastic large cell lymphoma; ALK+ ALCL)、成人 T 細胞性白血病/リンパ腫 (adult T-cell leukemia/lymphoma; ATLL) などの多様な病型を含む疾患です。PTCL は CD30 を高率に発現することが知られており、CD30 を標的とした抗体薬物複合体のブレンツキシマブベドチン (BV) は、初発並びに再発・難治性の CD30 陽性 PTCL に対して広く用いられています。しかし、BV の奏功期間中央値 (腫瘍奏効が最初に確認されてから、腫瘍進行が最初に確認されるまでの期間、または何らかの原因による死亡までの期間の中央値) は 7~12 ヶ月とされており、治療抵抗性の克服が大きな課題となっています。これまで、どのような遺伝子が BV への感受性に深く関与しているのかという点については、十分な検討がなされていませんでした。

【研究手法】

研究グループは、CD30陽性PTCLにおけるBVへの感受性を規定する遺伝子を同定するために、ゲノム編集技術であるCRISPR-Cas9をALK+ ALCL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、ゲノムワイドなスクリーニングを施行しました。

具体的な方法として、19,114種類の遺伝子に対する単鎖ガイドRNA (sgRNA) をALK+ ALCLの細胞株に導入し、遺伝子ノックアウトを行った後、BV投与群とコントロール群に分けて培養を行いました。次に、生存したALK+ ALCL細胞株のゲノムDNAを抽出し、ゲノムDNA上のsgRNA配列をPCRで増幅、次世代シーケンサーで検出しました。そして、計測されたsgRNA数から、どの遺伝子がBVへの感受性亢進並びに抵抗性に重要な役割を担っているのかを検討しました。

【研究成果】

上記スクリーニングから、有糸分裂チェックポイント複合体 (MCC) の阻害因子である MAD2L1 binding protein (MAD2L1BP) と anaphase promoting complex subunit 15 (ANAPC15) が BV への感受性亢進に関与していることを見出しました。実際に、ALK+ ALCL 細胞株並びに ATLL 細胞株でこれらの分子をノックアウトさせることで、BV による細胞毒性が増強することを確認しました。さらに、ALK+ ALCL 細胞株を用いた異種移植マウスモデルでも、MAD2L1BP をノックアウトすることで BV の抗腫瘍効果が増強することを明らかにしました。また、BV と APC/C 阻害薬の proTAME を併用することで細胞周期の停止を誘導し、相乗的な細胞傷害作用を示すことも見出しました (図 1、2)。

一方、研究グループは今回のスクリーニングから、solute carrier family 39 member 7 (SLC39A7)^{*5} が BV への抵抗性に関与していることも突き止めました。ALK+ ALCL 細胞株並びに ATLL 細胞株で SLC39A7 をノックアウトさせると、CD30 の成熟が障害され、CD30 の細胞表面発現量が低下することで、BV への抵抗性となることを示しました (図 3)。

【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、CD30 陽性 PTCL における BV への感受性規定因子に関して、感受性亢進・抵抗性の両面について重要な遺伝子を同定しました。特に、APC/C 阻害薬の proTAME と BV を併用することで相乗的な細胞毒性を示すことを明らかにし、MCC-APC/C を軸とした新規治療標的が BV の感受性増強や抵抗性克服に重要である可能性を突き止めました。PTCL の予後改善に向けた今後の臨床応用が期待されます。

【謝辞】

本研究は、JSPS 科学研究費（基盤研究 C（JP18K08313）・基盤研究 B（JP21H02775））及び高松宮妃癌研究基金、先進医薬研究振興財団、武田科学振興財団の支援を受けて遂行されたものです。

論文情報

論文名 Genome-wide CRISPR screen identifies MAD2L1BP and ANAPC15 as targets for brentuximab vedotin sensitivity in CD30+ peripheral T-cell lymphoma（全ゲノム CRISPR スクリーニングにより CD30 陽性 PTCL に対し MAD2L1BP と ANAPC15 が BV 感受性を増強する新規治療標的であることを同定）

著者名 須藤啓斗¹、武井則雄²、横山慶人¹、千葉雅尋¹、石尾 崇¹、前田道之³、後藤秀樹⁴、遠藤知之⁴、豊嶋崇徳⁵、Yibin Yang⁶、中川雅夫⁵（¹北海道大学大学院医学院、²北海道大学大学院医学研究院附属動物実験施設、³京都大学ウイルス・再生医科学研究所、⁴北海道大学病院、⁵北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室、⁶フォックスチェイス癌センター）

雑誌名 Leukemia（血液内科学の専門誌）

DOI 10.1038/s41375-024-02441-1

公表日 2024 年 10 月 21 日（月）（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 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

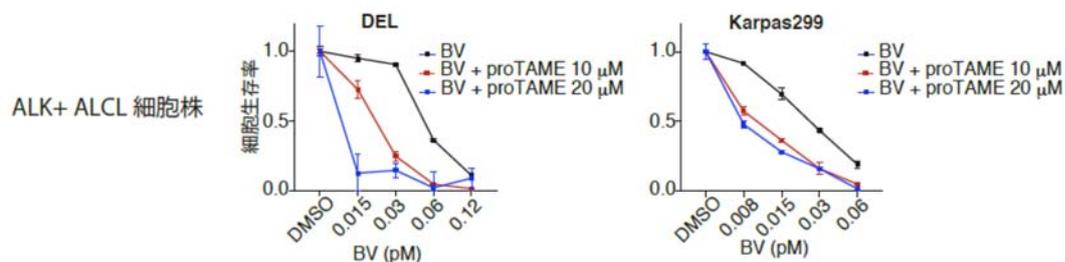
配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒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 jp-press@jimu.hokudai.ac.jp

【参考図】

A



B

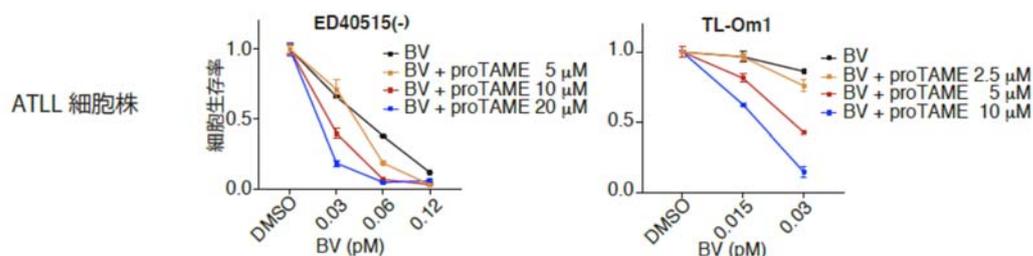


図 1. 細胞障害アッセイ。CD30 陽性 PTCL 細胞株に対し、ブレントキシマブベドチン（BV）と APC/C 阻害薬 proTAME の併用投与を行い、細胞生存率（コントロールの DMSO 投与群で標準化）を評価した。(A) ALK+ ALCL 細胞株、(B) ATLL 細胞株ともに、複数の細胞株で BV と proTAME の併用により相乗的な細胞傷害活性を認めた。

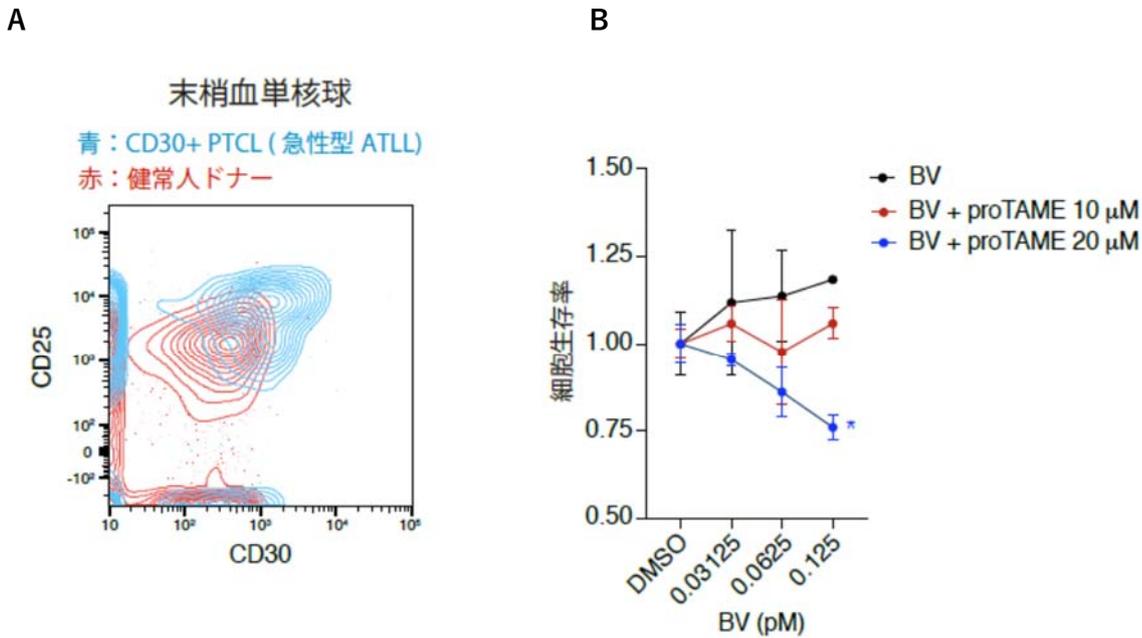


図 2. 患者由来検体に対して BV と proTAME の併用投与を行い、細胞毒性を評価した。

(A) 急性型 ATLL 患者由来の末梢血単核球を分離し、フローサイトメトリーで CD30 が陽性であることを確認した。(B) CD30 陽性急性型 ATLL 患者の末梢血単核球に対して BV と proTAME の併用投与を行い、4 日後に生細胞数を計測した。BV 単剤投与群と比較し、proTAME 併用群では有意に生細胞数が減少した。* $p < 0.05$ 。

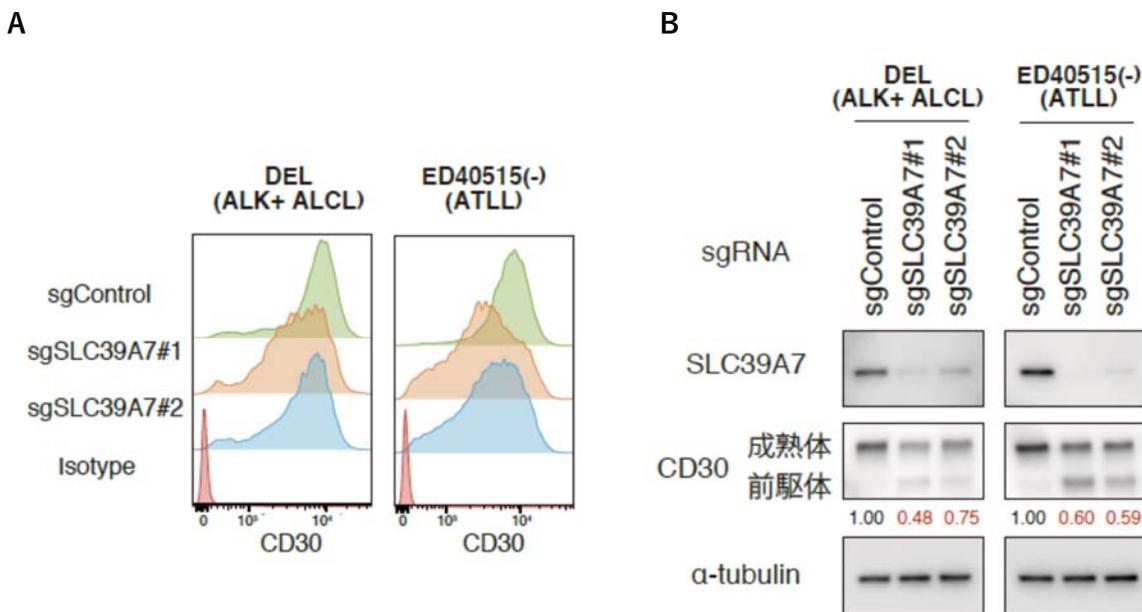


図 3. CD30 陽性 PTCL 細胞株に sgRNA を用いて SLC39A7 をノックアウトさせた。

(A) SLC39A7 ノックアウト細胞株について、フローサイトメトリーで CD30 の細胞表面発現量を評価したところ、コントロールと比較し発現量の低下を認めた。(B) SLC39A7 ノックアウト細胞株について、ウェスタンブロットで CD30 のタンパク質発現を評価した。コントロールと比較し、sgSLC39A7 では成熟体の CD30 発現量の低下に付随して、前駆体の CD30 発現量が増加した。SLC39A7 のノックアウトにより、CD30 の成熟障害が生じたためと考えられた。

【用語解説】

- * 1 CD30 … TNF レセプタースーパーファミリーに属する膜結合型糖タンパク質。
- * 2 CRISPR-Cas9 … DNA の二本鎖を切断することで、ゲノム配列の任意の遺伝子を欠損、挿入する遺伝子改変技術のこと。
- * 3 有糸分裂チェックポイント複合体（MCC） … MAD2、BubR1、Bub3、及び Cdc20 で形成される複合体のこと。有糸分裂の際、APC/C に対して抑制的に機能する。
- * 4 APC/C（Anaphase Promoting Complex/Cyclosome） … 細胞周期後期への移行を促進する E3 リガーゼのこと。
- * 5 SLC39A7（solute carrier family 39 member 7） … 小胞体に存在する亜鉛トランスポーターの一つ。