

要 旨

細菌の獲得免疫機構である CRISPR-Cas システムのゲノム編集技術への応用は遺伝学的研究手法に大きな変革をもたらした。その高い DNA 切断効率と汎用性の広さにより非モデル動物を含む多くの生物においてゲノム改変に用いられている。我々の研究室では、哺乳類細胞における順遺伝学的手法を用いた網羅的遺伝子探索法の開発に特に注力してきた。そして、2014 年に CRISPR-Cas9 システムを応用した遺伝子探索法 CRISPR-KO スクリーニング法を開発した (1)。さらに改良版ライブラリーを作製することで、正の選択、負の選択の両方において効率的な遺伝子探索を可能とした (2, 3)。

我々は、この CRISPR-KO スクリーニング法を用いてがん細胞の増殖に必須な遺伝子の探索、新規創薬標的の同定を進めている。まず、急性骨髄性白血病 (AML) 5 細胞株をにおいて必須遺伝子プロファイルをとり、約 200 の創薬標的候補となりうる増殖必須遺伝子を見出した。この中には、近年同定されてきた遺伝子が複数含まれており、スクリーニング結果の有用性が示された。これまでに AML の増殖に関与が示されてなかった 3 因子 (KAT2A, SPRK1, KAT7) に関して分子機能解析を行い、これらの遺伝子産物に対する活性阻害剤で細胞増殖を抑制できることを見出した (2, 4, 5)。

続いて、多様ながん細胞の増殖必須遺伝子を明らかとするため、324 細胞株を用いた大規模 CRISPR-KO スクリーニングを実施した。結果、細胞株あたり平均約 1500 遺伝子、計 7500 遺伝子の増殖必須遺伝子を同定した。がん遺伝子変異との相関関係や増殖抑制の強さから各遺伝子を評価し、約 600 遺伝子の優先的創薬標的を見出した。この中から、マイクロサテライト不安定性の高い (MSI-H) がん細胞 (大腸ガン、卵巣癌、胃がん、子宮体がん) が、RecQ DNA ヘリケースの一つ Werner 症候群遺伝子に強く依存していることを見出した。ヘリケース活性が細胞増殖に必要であることを明らかとし、ヘリケース阻害剤が MSI-H のがんに対する新規治療薬となることが示唆された (6)。これらのデータ及び解析結果は web site を通じて配布しており、がん研究の進展に大きく貢献するものと期待される。

CRISPR-KO スクリーニングは様々な表現型に適用することが可能であり、関連遺伝子の探索、そして分子機構の解明がさらに進むと期待される。

参考文献

1. Nature Biotechnology (2014) 32:267-273
2. Cell Reports (2016) 17:1993-1205
3. Scientific Reports (2017) 7:7384
4. Nature Communications (2018) 9:5378
5. Leumekia (2020) in press
6. Nature (2019) 568:511-516