ゲノム編集治療と CRISPR 診断薬の開発研究

真下 知士 教授
Tomoji Mashimo

東京大学医科学研究所
実験動物研究施設 先進動物ゲノム研究分野／システム疾患モデル研究センター ゲノム編集研究分野
Division of Animal Genetics, Laboratory Animal Research Center / Division of Genome Engineering, Center for Experimental Medicine and Systems Biology, Institute of Medical Science, the University of Tokyo

ゲノム編集基盤技術の新展開

ゲノム編集治療に利用するための新しいゲノム編集ツール開発が世界中で進められている。2012 年 CRISPR-Cas9 の登場から，CRISPR-Cas12a（Cpf1），RNA 編集ツール CRISPR-Cas13[1]，半分ほどのタンパク質サイズの小型 CRISPR-Cas14[2] などが次々と開発された。我々はタイプ I に属する CRISPR-Cas3[3] を開発し，オフターゲット変異が少ない国産のゲノム編集ツールとして研究開発を進めている。

「CRISPR」「iPS 細胞」「ES 細胞」のキーワードで過去 20 年程の論文数を調べるとその特徴が見えてくる。ES 細胞は 1981 年に初めて開発されて以来，細胞分化，多能性などの基礎研究から遺伝子改変マウス作製，再生医療研究まで様々な分野で利用されてきた。2006 年に山中教授らによって開発された iPS 細胞は，今まさに創薬や再生医療への応用が始まっている。
その iPS 細胞の論文数を上回る勢いで利用されているのが，CRISPR ゲノム編集である（図 1）。様々なヒト疾患の遺伝子治療に利用され，安全性の高いゲノム編集基盤ツールが求められている。

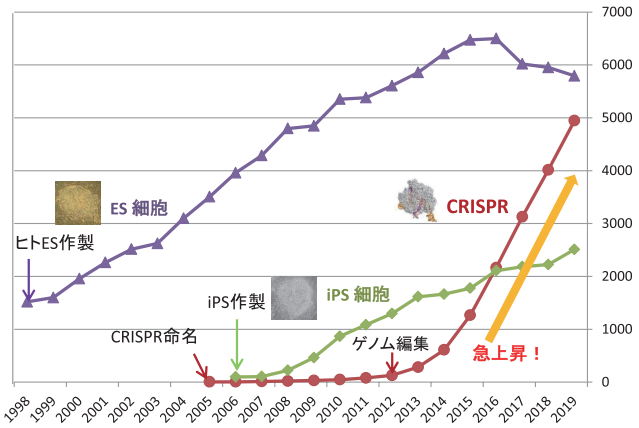

図 1 CRISPR，iPS 細胞，ES 細胞の PubMed 論文数の比較。ゲノム編集 CRISPR の論文が急激に増えている。

ますます進むゲノム編集治療

現在の遺伝子治療は，染色体 DNA を改変するのではなく，AAV ベクターなどで正常遺伝子を補充する方法が一般的である。ゲノム編集は染色体の遺伝子自体を改変する。生殖細胞でのゲノム編集は倫理的にハードルが高く，現時点でのゲノム編集治療は，ゲノム編集した細胞を体内に戻す‘*ex vivo* 治療’と，体内でゲノム編集を行う‘*in vivo* 治療’に分けられる（図 2）。
ex vivo 治療としては，HIV 感染症の治療，キメラ抗原レセプター T 細胞（CAR-T）療法，鎌状赤血球症や β サラセミア疾患などその利用がどんどん拡がっている。
in vivo 治療としては，血友病やムコ多糖症などの先天性遺伝性疾患に対する臨床試験が始まっている。モデル動物研究では Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD），レーバー先天性黒内障（LCA）など，多数の疾患でその治療効果が認められている。一方で，*in vivo* 治療の最も懸念される点として，オフターゲットの課題が挙げられる。ゲノムに欠失変異を入れず，より安全性の高い Target-AID や Base Editor などの一塩基置換ツールも，一塩基置換配列の改良，安全性の向上が進んでいる。さらに，逆転写酵素と長い guide RNA を利用することで，一塩基置換だけでなく数十塩基編集も可能にした‘Prime Editor’ゲノム編集ツールの利用が期待されている[4]。

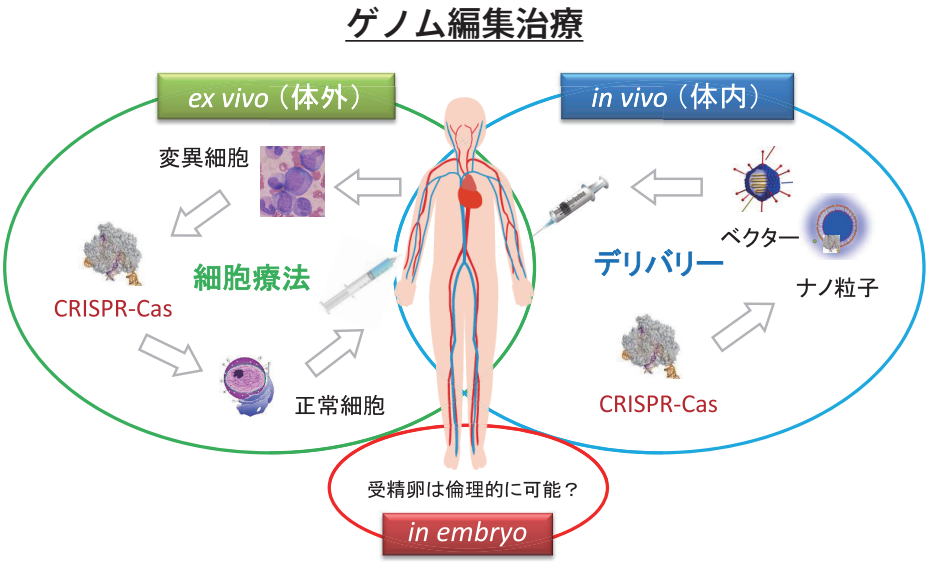

図 2 CRISPR-Cas システムを使ったゲノム編集治療。編集細胞を体内に戻す *ex vivo* 治療，CRISPR を体内に入れる *in vivo* 治療，受精卵（*in embryo*）でのゲノム編集研究も進められている。

CRISPR 診断薬の登場

ゲノム編集基盤ツールは，遺伝子治療だけでなく，遺伝子診断薬にも使われようとしている。CRISPR-Cas12a（Cpf1）は，標的とする二本鎖 DNA を切断する際に，近くにある一本鎖 DNA を非特異的に切断する。この特徴を利用して，ウイルス感染者の唾液由来 DNA に，CRISPR と一緒に蛍光レポーター DNA を入れると，PCR 装置を使わずに短期間で簡単にウイルス感染を検出することができる[5]（図 3）。この CRISPR 診断薬は，Cas13 や Cas14 などでも可能であり[6]，米国ではスタートアップ企業 Mammoth Biosciences 社や Sherlock Biosciences 社が立ち上がっている。今，新型コロナウイルスの新しい迅速診断方法として，CRISPR 診断薬が注目を集めている。

CRISPR-Cas9，Cas12，Cas13，Cas14，そして Cas3 などに加えて，さらなる新しいゲノム編集ツールや，それらのツールを使った新しいゲノム編集治療および CRISPR 診断薬の開発が期待されている。

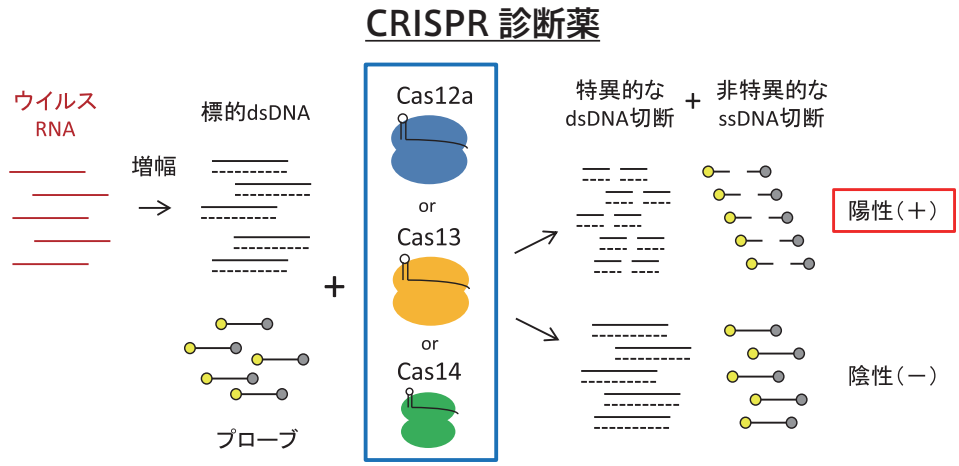

図 3 CRISPR は標的二本鎖 DNA を切断する際，非特異的に近くの一本鎖 DNA を切断する。この原理を利用した CRISPR 診断薬が開発されている。

参考文献

1. Abudayyeh, O. O., *et al. Nature,* **550** (7675), 280～284 (2017). [PMID: 28976959]
2. Harrington, L. B., *et al. Science,* **362** (6416), 839～842 (2018). [PMID: 30337455]
3. Morisaka, H., *et al. Nat. Commun.,* **10** (1), 5302 (2019). [PMID: 31811138]
4. Anzalone, A. V., *et al. Nature,* **576** (7785), 149～157 (2019). [PMID: 31634902]
5. Chen, J. S., *et al. Science,* **360** (6387), 436～439 (2018). [PMID: 29449511]
6. Gootenberg, J. S., *et al. Science,* **356** (6336), 438～442 (2017). [PMID: 28408723]

東京大学医科学研究所 ラボの皆様（後列 中央が真下先生）

大阪大学発バイオベンチャー企業 C4U 株式会社の皆様