知りたい！

加速するゲノム編集遺伝子治療

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
真下 知士 教授

● 新型コロナウイルス

新型コロナウイルス感染拡大が止まらない。2022 年 8 月時点で日本の感染者数は延べ 1,400 万人を超え，計算上は 10 人に 1 人が感染したことになる。一方で感染対策は，2 年前の頃よりこれだけ感染者数が多いにもかかわらず，非常事態宣言や外出禁止措置は取られておらず，対面学会なども行われている。要因は，有効性の高い新型コロナワクチンの接種，効果的な新型コロナ感染症治療薬の整備，PCR 検査，抗原検査など迅速な診断体制があげられる。感染症対策の“3 本柱”が整ったことで，特に欧米では日常生活を取り戻しつつある。

ファイザー社，モデルナ社の新型コロナワクチンは，新型コロナウイルスのスパイクタンパク質をコードする mRNA を，LNP（Lipid nanoparticles）と呼ばれる脂質膜のナノ粒子に包んで，筋肉に注射する[1]。mRNA がヒトの細胞に取り込まれ，細胞内でスパイクタンパク質が作られ，体内で中和抗体が産生されることで，新型コロナウイルスに対する予防が可能となる。実は，この画期的なワクチン開発に貢献したカタリン・カリコ博士は，20 年以上前にワクチンではなくがん治療に mRNA を利用しようと考えた。重要なポイントは，mRNA が体内で炎症反応を起こすのを抑えるため，化学修飾した mRNA を利用した点にある。短期間で迅速に大量製造できるこの新しいワクチンによって，カリコ博士のノーベル賞受賞の日は近いだろう。

東京大学医科学研究所 先進動物ゲノム研究分野の皆様
（後列中央が真下先生）

● ゲノム編集を用いた遺伝子治療

2021 年，この修飾 mRNA と脂質ナノ粒子 LNP を CRISPR-Cas9 に利用することで，トランスサイレチンアミロイドーシス（ATTR）に対する *in vivo* 遺伝子治療の結果が報告された[2]。米国の治験として，多発性神経障害を伴う ATTR アミロイドーシス患者に対して，Cas9 mRNA と gRNA（ガイド RNA）を LNP に内包して静脈注射することで，TTR 血中濃度を長期間低減することに成功した。1 年後の追跡調査でも安全性とその治療効果が確認されている。

ゲノム編集に関わる因子を細胞内に導入するには，Cas9 と gRNA を発現するプラスミド DNA を利用する方法，上記 mRNA を利用する方法，Cas9 RNP（Ribonucleoprotein）としてタンパク質を導入する方法がある（図 1）。
プラスミド DNA の場合，選択マーカーを用いてゲノム編集細胞を集めることが可能だが，作用期間が長いためにオフターゲット変異が懸念される。RNP タンパク質は，高効率かつ作用期間が短いため広く利用されている。ATTR 遺伝子治療は，その両方の特徴を活かした mRNA を LNP でデリバリーすることで，効果の高い安全な遺伝子治療に成功した。また，LNP とは異なるデリバリー技術の開発も競争が激化している。CRISPR-Cas9 RNP を非ウイルス性のポリマーベクターによって送達する方法[3]，ヒト内在性タンパク質由来のウイルス様タンパク質 PEG10 を介したデリバリー SEND 法[4] などが報告されている。これらの技術は，ウイルスベクターや脂質ナノ粒子によるデリバリー法を補完し，遺伝子治療やゲノム編集治療をさらに加速させるだろう（図 1）。

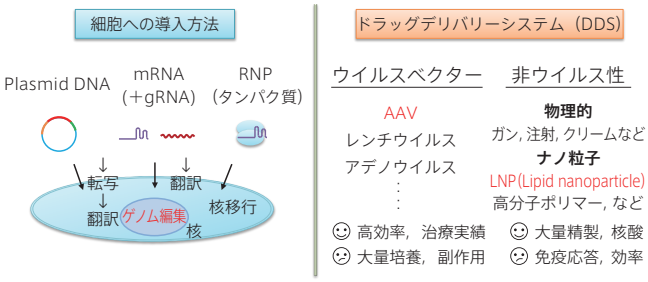

図 1　ゲノム編集ツールの導入方法とデリバリーシステム

● CRISPR-Cas3 によるゲノム編集メカニズム

感染症に対する治療薬や予防薬，診断薬の開発研究においては，ゲノム編集や RNA 編集の技術が利用されている。タイプⅢ CRISPR-Cas による新型コロナ RNA ウイルスと mRNA を分解する抗ウイルス薬の開発研究[5]，DETECTR，SHERLOCK，CONAN などの高感度，迅速核酸検出法を利用した CRISPR 診断薬（CRISPR-Dx）などが報告されている。CRISPR-Dx などは既に実用化が始まっているが，感染症を完全に克服するための“ゲームチェンジャー”までには至っていない。

国産ゲノム編集技術として我々が開発してきた CRISPR-Cas3 について，最後に紹介したい。
Cas3 は Cas9 とは異なり標的とする遺伝子に大きな欠失変異を導入するが，そのゲノム編集メカニズムは分かっていなかった。金沢大学 古寺教授らの高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）を用いることで，CRISPR-Cas3 の DNA 配列の認識から切断までの一連の様子を動画撮影することに成功した（図 2）。Cas9 のハサミとは異なり，Cas3 は二本鎖 DNA をほどいて手繰り寄せながら，一本鎖 DNA をそれぞれずつ別々に切ることで，大きなゲノム DNA 領域を切断していた[6]。今回の成果により，CRISPR-Cas3 の効率化や安全性の強化といった技術改良が可能となり，新たな創薬や遺伝子治療などへの利用，農水産物の品種改良などへの応用が期待される。

● 日本ゲノム編集学会

この度，山本卓前理事長の後任として，日本ゲノム編集学会の会長を拝命することになった。本学会は「ゲノム編集関連の研究に関する情報交換を行うとともに，ゲノム編集関連の基盤技術の研究・開発を行い，この技術の発展及び社会還元，人材養成などに貢献することを目的とする。」と定款に書かれている。今回，遺伝子治療応用が進むゲノム編集についての社会的還元を目的として，医学応用委員会が新しく発足した。年内には，日本遺伝子細胞治療学会と連携シンポジウムも企画している。その他，教育実習委員会・産学連携委員会においても，最新のゲノム編集技術開発動向や産学連携研究，知的財産情報の提供，交換の場等を検討しており，第 8 回大会（大会長：畑田出穂教授（群馬大学），2023 年 6 月 6 日～8 日，タワーホール船堀）に加えて，様々な企画を考えている。興味のある若い研究者は，ぜひ HP をご確認いただきたい。

一般社団法人 日本ゲノム編集学会 The Japanese Society for Genome Editing　jsgedit.jp

文献

1. Polack P.F., *et al., N.Engl. J. Med.*, **383**：2603～2615（2020）.
2. Gillmore J.D., *et al., N. Engl. J. Med.*, **385**：493～502（2021）.
3. Ahern J.O., *et al., Gene Ther.*, **29**：157～170（2022）.
4. Segel M., *et al., Science*, **373**：882～889（2021）.
5. Lin P., *et al., NAR.*, **50**：e47（2022）.
6. Yoshimi K., *et al., Nat. Commun.*, **13**：4917（2022）.

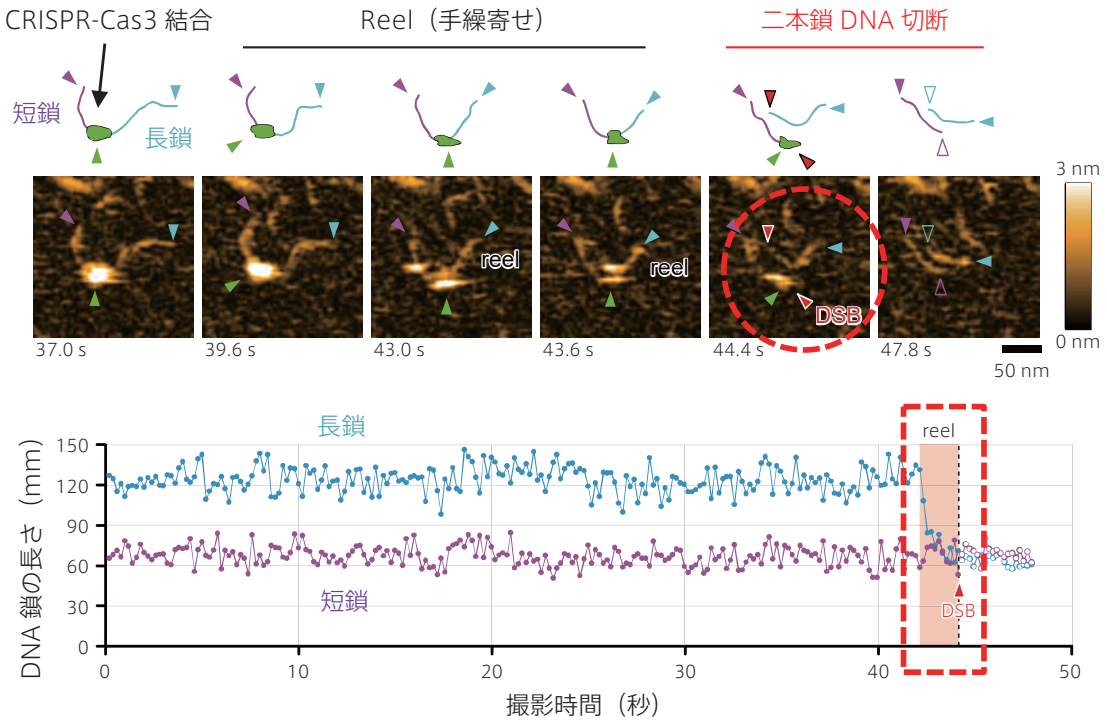

図 2　高速原子間力顕微鏡（HS-AFM）で捉えた CRISPR-Cas3 によるゲノム編集（二本鎖 DNA 切断）の瞬間

表紙ストーリー ➡ p.43

NOTE

※本紙に記載されている価格は，2022 年 9 月 15 日現在です。表示価格に，消費税等は含まれていません。一部価格が予告なく変更される場合がありますので，あらかじめご了承下さい。
※本紙に掲載されている製品は研究用です。医薬品，診断用医薬品，食品，食品検査等の用途には使用できません。
※カルタヘナ印の製品は，「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（通称：カルタヘナ法）」使用規制対象となりますので，ご使用に際しては規制に則し，適切にお取り扱い下さい。
※要確印の製品は，取り扱いに厳重な注意を要する製品であり，ご購入時に「使用目的確約書」が必要になります。ご注文の際は，「使用目的確約書」に直筆でご記入の上，販売店経由で当社までお送り下さい。確約書受領後に製品を発送させていただきます。また，これらの製品をご購入後は，鍵の掛かる場所での保管をお願いいたします。
※毒劇印の製品は，「毒物及び劇物取締法」に基づく医薬用外毒劇物です。法規制に従って，保管，廃棄等して下さい。
※✕印の製品は，毒性があるため，取り扱いに注意または厳重な注意が必要です。製品は，鍵の掛かる場所に保管して下さい。添付されているデータシートや商品ラベルをよくお読み下さい。
※⚠印の製品には安全にご利用いただくための警告ラベルが貼られています。表示に従って安全対策を実施して下さい。
※液窒印は，液体窒素中での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが，製品到着後，直ちに液体窒素中で保存して下さい。
※-80℃印は，－80℃ での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが，製品到着後，直ちに－80℃ のフリーザー等に保存して下さい。
※#以下の英数字は，商品コードを示します。
※外観・仕様は改善のため，予告なく変更することがあります。
※© 2022 American Type Culture Collection. The ATCC trademark and trade name, and any other trademarks listed in this publication are trademarks owned by the American Type Culture Collection unless indicated otherwise.
※記載されている会社および商品名は，各社の商標または登録商標です。
※本紙には各メーカーから提供された画像・図表が掲載されています。なお，画像・図表の著作権は各メーカーが保有しています。
※ご注文の際は，［品名，メーカー，商品コード，包装，数量］をお知らせ下さい。