

2021年8月24日放送

国産ゲノム編集ツール CRISPR-Cas3 の遺伝子治療への応用

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
教授 真下 知士

皆さん、ゲノム編集 CRISPR という技術をお聞きになったことがあるかと思いますが、この技術のお話とそれを使った遺伝子治療への応用についてお話しさせていただきたいと思います。

ゲノム編集 CRISPR-Cas

ゲノム編集 CRISPR-Cas9 は、2020 年のノーベル化学賞を受賞されたことで大変有名になりました。ジェニファー・ダウドナ（Jennifer Anne Doudna）先生とエマニュエル・シャルパンティエ（Emmanuelle Marie Charpentier）先生が、この CRISPR-Cas9 をヒト細胞あるいは真核細胞でゲノム編集できることを初めて 2012 年に発表されて、この技術が 2020 年のノーベル賞を受賞しました。CRISPR-Cas は遺伝子治療だけでなく、産業利用や農業、植物、動物の品種改良など、広く使われる技術ということで、今回のノーベル賞につながりました。

このゲノム編集技術、よく言われるのは「DNA を切るハサミ」ということで、色々なことに応用でき、遺伝子治療にこのゲノム編集を使うという研究開発が多く進んでいるところです。

ゲノム編集技術は、この CRISPR-Cas 以外にも、ZFN（Zinc Finger Nuclease）や TALEN（Transcription Activator-Like Effector Nuclease）などがあります。ZFN や TALEN それから CRISPR-Cas9、全て「DNA を切る」という技術になります。

よく遺伝子改変と言われますが、この DNA を切るハサミは、DNA を切ることでより効率的に遺伝子改変・遺伝子編集ができるようになったということになります。

遺伝子は大体ヒトの中で 2 万遺伝子があると言われていますが、その 2 万のうちのたった 1 個

の遺伝子だけを狙って、例えば悪い遺伝子を破壊する（Knock-out する）とか、その悪い遺伝子を書き換えるあるいは正しい遺伝子を挿入する（Knock-in する）ことができます。いわゆる遺伝子情報を自由自在に書き換えることができる、編集することができるようになった技術ということになります。

CRISPR-Cas 3 の特徴

ノーベル賞を受賞した CRISPR-Cas9 という技術、実はもともとは細菌や古細菌（いわゆるバクテリアやアーキア）が持っている獲得性免疫と言われるものになります。ヒトや哺乳動物などは持っていません。

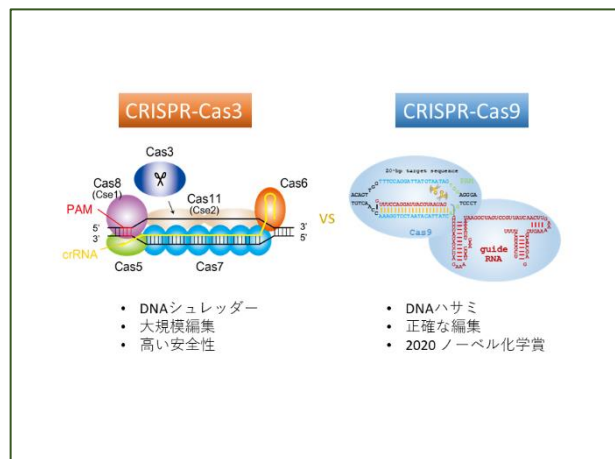
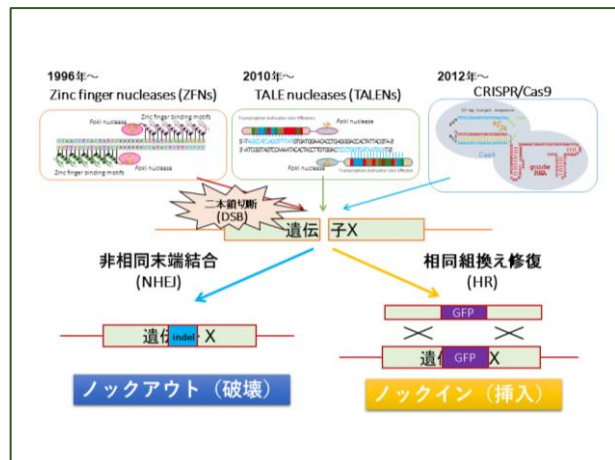
CRISPR-Cas は 1~14 まで報告されています。この Cas9 というのは、連鎖球菌が持っている CRISPR-Cas システムを初めてヒト細胞に利用したわけですが、我々はこの CRISPR-Cas9 とは異なる CRISPR-Cas 3 という 3 番のキャスを使ってゲノム編集、遺伝子治療ができるということを初めて発見しました。

CRISPR-Cas 3 は CRISPR-Cas9 と異なる特徴があります。CRISPR-Cas9 はハサミのように狙った遺伝子を切って、遺伝子を Knock-out や Knock-in することができる技術ですが、CRISPR-Cas3 は遺伝子を大きく欠失させるという特徴があります。少し想像しづらいかもしれませんが、Cas3 はシュレッターのように大きく削るので、遺伝子を丸ごと潰すとか、ある遺伝子領域を取り除くといったことが得意な技術とされています。

もう 1 つの大きな違いは、安全性について

です。狙った遺伝子以外の遺伝子を傷つけてしまうような Off-target 効果（あるいは Off-target 変異）について、CRISPR-Cas9 と CRISPR-Cas3 を比較したところ、CRISPR-Cas3 の方がこの Off-target 変異が入りにくく、狙った遺伝子を特異的に認識することで、より安全性が高いのではないかという結果が得られてきています。

我々は、この国産の CRISPR-Cas3 技術を使って知財的にも CRISPR-Cas9 とは独立した遺伝子治療として、ヒトの小児疾患や遺伝子病といったものを治していこうという研究を進めています。この CRISPR-Cas システムを用いた遺伝子治療ですが、特徴としましては、小児疾患あるは難治性疾患などで非常に重要になってくる根治的な治療ができるということになります。遺伝子そのものを編集して治すわけですから、完全にその遺伝子病を治してしまう治療ということになります。



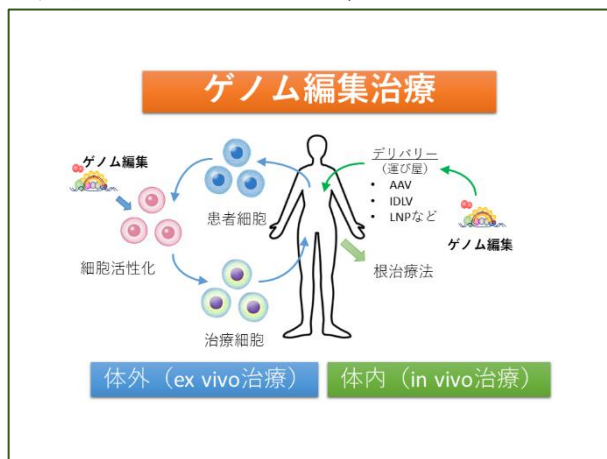
遺伝子治療

遺伝子治療について簡単に説明させていただきます。2000年頃に病気の遺伝子を治そうということで、遺伝子治療が行われましたが、副作用の問題で使われなくなった時代がありました。ところが最近になって、色々なウイルスベクターと呼ばれるデリバリー技術が開発されたことで、より安全によりピンポイントに遺伝子を治せるということになってきて、遺伝子治療が注目されるようになってきています。

遺伝子治療は大きく3つに分けられます。ex vivo 治療、in vivo 治療、そして受精卵で治そうという in embryo があると思います。

ex vivo 治療というのは、患者さんの細胞、例えば血液細胞などを取り出して、その細胞の中で遺伝子を治してあげて、細胞を活性化するなり元通り健康な状態にしてから患者さんの体に戻す治療、例えば iPS 細胞を患者さんから取ってきて、その iPS 細胞で編集して細胞分化させるなどして患者さんに戻すことも ex vivo 治療の一つになります。他に有名な治療では、例えば CAR-T 細胞療法といった免疫細胞療法です。遺伝子編集した T 細胞が癌を特異的にやっつけてくれるということで、非常に注目されている技術になります。

ex vivo 治療で治せる疾患と、どうしても遺伝性疾患のような小児の頃から重篤な病気に対しては、細胞を取り出して治せないことが多々あります。この場合には in vivo 治療で、CRISPR-Cas システムあるいは遺伝子ウイルスベクターを直接患者さんに入れることで治そうという治療になります。よく使われるデリバリー技術としてウイルスベクターの AAV (アデノ随伴ウイルス: adeno-associated virus) は、ヒトの染色体に組み込まれないことから、この AAV ベクターやレンチウイルス/Lentiviral ベクターといったデリバリー技術を使った in vivo 治療というのが最近使われるようになってきています。直接患者さんの体の中に入れることから、先ほどの Off-target や安全性がしっかり確保される必要がありますので、まだ研究開発段階にあります。しかしながらこの ex vivo 治療や in vivo 治療、どちらも米国では治験まで研究が進んでいます。



最後に受精卵の治療ですが、これは皆さんも聞かれたかもしれませんが、中国でヒトの受精卵でゲノム編集を行って、しかもまだ安全性が確立されていない段階で赤ん坊まで誕生し、世界中から非難されたことがありました。もちろん中国を含めて、各国ではこのゲノム編集した受精卵で人を出産させるということは禁止されています。当時も中国では禁止されていたということで非常に問題になりました。しかしながら、この受精卵でゲノム編集により遺伝子を治して患者さんを救おうということは、ex vivo 治療や in vivo 治療では治せない病気を治すことができますので、

今研究が進められています。

こういった *ex vivo* 治療や *in vivo* 治療といったものが、他の人の遺伝子治療として進められているわけですが、やはり安全性が気になるかと思えます。

ゲノム編集の研究の中でも、この **Off-target** 変異をできるだけ入らないようにしようといった研究が進められています。Off-target 変異が少ない CRISPR-Cas9 あるいは Cas3 を改良開発する研究、あるいは、より正確に、より安全性の高い CRISPR-Cas システムの開発も進められています。さらに、CRISPR-Cas システム、先ほど DNA をハサミのように切ると言いましたが、切らないゲノム編集も進められています。DNA を切るのではなくて遺伝子の発現を調節する、遺伝子の発現を制御することで病気を治そうといった研究も進められていて、より安全で副作用のないゲノム編集治療が将来的に開発されていくだろうと考えられます。

CRISPR-based diagnostic

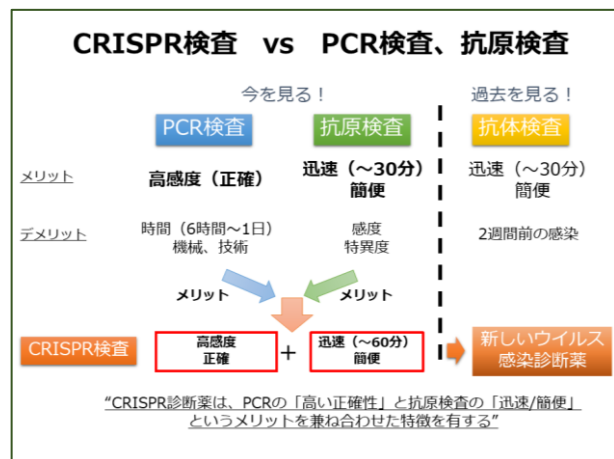
この CRISPR-Cas システムは、実は別の点でも注目されています。CRISPR-based diagnostic、CRISPR 診断あるいは CRISPR 検査とも言いますが、この CRISPR 診断を使って SARS-CoV-2

に感染しているかどうかを検査できる CRISPR 診断薬が世界で注目されています。SARS-CoV-2 の診断として PCR 検査あるいは抗原検査、抗体検査といったものを聞かれるかと思えます。抗体検査というのは患者さんの血液からサンプルを取って調べるということで迅速にその場で検査ができるのですが、実はこの検査は過去に感染したかどうかを見る検査になります。現在感染しているか

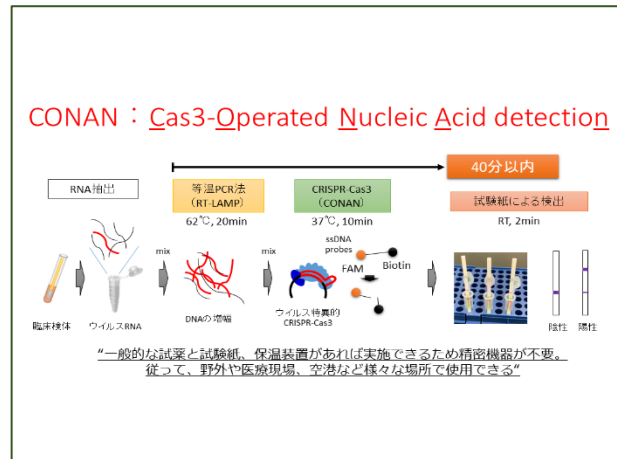
かどうかを見る検査というのは PCR 検査あるいは抗原検査になります。PCR 検査は感度が良い検査の一つですが、例えば唾液や咽頭拭いのサンプルを検査センターに送って、検査センターで数時間後あるいは翌日に検査結果が分かるものになります。特殊な機械を使ったり、特殊な技術を使うため、非常に感度は良いのですが検査センターでしかできない技術になります。

一方で抗原検査は、町のクリニックあるいは病院等でのインフルエンザ検査等で使われているわけですが、これはその場で迅速に検査ができるものになります。その場でできる検査のため、POCT (Point Of Care Testing 臨床現場即時検査) と言われたりしますが、迅速に簡便にできる一方、PCR 検査より感度が劣るということになります。症状が出てからしか陽性の検査結果が出ないといったデメリットもあります。

この新しい CRISPR 検査・CRISPR 診断といったものは、実はこの PCR 検査のメリットと抗原検査のメリット両方を併せ持った診断薬・検査薬ということになります。すなわち、PCR 検



査の様に感度良く感染しているかどうかを検出でき、且つ迅速にその場で簡単に検査できるというウイルス感染診断薬ということで注目されている技術になります。我々はこのCRISPR-Cas3 を使って CRISPR 診断薬を開発していて、CONAN 法 (Cas3 Operated Nucleic Acid detectioN)) コナンと名付けて開発を進めています。この診断薬が近いうちに開発できる事を皆さんお待ちいただければと思います。



「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>