

ゲノム創薬・創発フォーラム 第 14 回シンポジウム

The 14th Symposium of Genome Drug Discovery and Emergence Forum

「ゲノム編集、塩基編集技術の今 – アカデミア成果を社会実装へ –」

2023 年 11 月 20 日 (月) 13:00 – 17:30

株式会社新日本科学 PPD 聖路加タワー7 階会議室

開催趣旨

ゲノム創薬・創発フォーラムはヒトゲノム解明が進みつつあった 1998 年に発足したゲノム創薬フォーラムに源流をもちます。2013 年には創薬だけでなく様々な医療分野への展開を目指したゲノム創薬・医療フォーラムとなり、2019 年より、異なる分野の専門家の議論によるイノベーションを誘発したいという思いが「創発」という言葉に込められ、新たにゲノム創薬・創発フォーラムとして発足しました。

今回のシンポジウムでは、ゲノム編集をメインテーマとして取り扱います。最先端の遺伝子工学であるゲノム編集技術の発展により、特定遺伝子の無力化、欠損の補充、新たな機能の付与など、これまで難しかった遺伝子の編集や修復を高い精度と効率で行うことが可能となりました。その結果、例えば、ゲノムの異常を正すことにより、遺伝性疾患やがんなどの重篤な疾患への治療応用が進んでいます。他にも様々な研究分野および医療分野で大きな注目を集めており、疾患の原因解明や新たな治療法の開発、先天性疾患の予防や治療、農業や環境保護など、革新的な応用が期待されています。まさに「ゲノム創薬・創発フォーラム」の名にふさわしいメインテーマとなっております。

本シンポジウムでは、ゲノム編集の最新動向や応用例に焦点を当て、アカデミアおよび企業の第一線で研究開発に取り組まれている専門家の方々をお招きし、その知見を共有していただきます。新たな治療応用への期待が高まる中で、ゲノム編集がもたらす可能性と課題について、幅広い視点で議論を展開し、新たな薬剤創出に向けたアイデアを共有する場となることを期待しています。

今回も会場とオンラインの併設開催となりますが、多くの皆様にご参加いただき、専門家との意見交換を通じて、新たな気付き「創発」が得られる会になりますと幸いです。

オーガナイザー：

国立研究開発法人 理化学研究所 創薬・医療技術基盤プログラム 小泉 智信
協和キリン株式会社 研究開発本部 研究ユニット長 森 聖寿
Neusignal Therapeutics Inc. 山内 理夏子

ゲノム創薬・創発フォーラム 第14回シンポジウム

The 14th Symposium of Genome Drug Discovery & Emergence Forum

日時：2023年11月20日 13:00-17:30 / Time & Date: 13:00-18:00, July 20th, 2023

場所：会場およびオンライン会議 / Venue: On-site and Web Meeting

株式会社新日本科学 PPD 聖路加タワー7階会議室 東京都中央区明石町 8-1 / Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., 7th Floor of Luke's Tower, 8-1 Akashicho St., Chuo-ku, Tokyo

主要テーマ：「ゲノム編集、塩基編集技術の今 – アカデミア成果を社会実装へ –」

Main Theme: "The Present Landscape of Genome/Base Editing Technologies – Social Implementation of Academia's Achievements –"

座長：国立研究開発法人 理化学研究所 創薬・医療技術基盤プログラム 小泉 智信

協和キリン株式会社 研究開発本部 研究ユニット長 森 聖寿

Neusignal Therapeutics Inc. 山内 理夏子

Chairs: Tomonobu Koizumi, PhD, Portfolio Manager, Program for Drug Discovery and Medical Technology Platforms, RIKEN

Kiyotoshi Mori, PhD, Head of Research Unit, R&D Division, Kyowa Kirin Co. Ltd.

Rikako Yamauchi, PhD, Neusignal Therapeutics Inc.

プログラム： / Program:

13:00-13:05 「開会挨拶」東京理科大学 生命医科学研究所 教授 松島 綱治

"Opening Remarks" Kouji Matsushima, MD, PhD, Professor, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science

13:05-13:15 「開催趣旨」理化学研究所 創薬・医療技術基盤プログラム 小泉 智信

"Organizing Purposes" Tomonobu Koizumi, PhD, Portfolio Manager, Program for Drug Discovery and Medical Technology Platforms, RIKEN

13:15-14:00 1. 「ゲノム編集 iPS 細胞を用いた悪性脳腫瘍に対する遺伝子治療の開発」

慶應義塾大学医学部 脳神経外科 教授 戸田 正博

"Gene therapy using genome-edited iPS cells for targeting malignant glioma" Masahiro Toda, MD, PhD, Professor, Department of Neurosurgery, School of Medicine, Keio University

Break

14:10-14:55 2. 「合成生物学と構造生物学を用いた、革新的ゲノム編集ツールの開発」

東京大学 大学院理学系研究科 教授 濡木 理

"The development of innovative genome-editing tools by using synthetic and structural biology" Osamu Nureki, PhD, Professor, Department of Biophysics and Biochemistry (UG), Department of Biological Sciences (GR), Graduate School of Science, The University of Tokyo

14:55-15:40 3. 「PPR タンパク質を用いたガイド RNA フリー編集技術の開発」

エディットフォース株式会社チーフテクノロジーオフィサー 八木 祐介

"Development of gRNA-free editing technology using PPR proteins" Yusuke Yagi, PhD, Chief Technology Officer, EditForce, Inc.

Break

15:50-16:35 4. 「遺伝性血栓・出血性疾患に対する遺伝子治療」

自治医科大学医学部 生化学講座 病態生化学部門 教授 大森 司

“Gene Therapy for genetic disorders of thrombosis and hemostasis” Tsukasa Ohmori, MD, PhD, Professor, Department of Biochemistry, Jichi Medical University School of Medicine

16:35-17:20 5. 「CRISPR-Cas3 モダリティによる安全なゲノム編集治療基盤の構築」

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

“Establishment of a secure genome editing therapy platform using the CRISPR-Cas3 modality” Tomoji Mashimo, PhD, Professor, Division of Animal Genetics, Institute of Medical Science, the University of Tokyo

17:20-17:30 「閉会挨拶」協和キリン株式会社 研究開発本部 研究ユニット長 森 聖寿

“Closing Remarks” Kiyotoshi Mori, PhD, Head of Research Unit, R&D Division, Kyowa Kirin Co. Ltd.

ゲノム編集 iPS 細胞を用いた悪性脳腫瘍に対する 遺伝子治療の開発

慶應義塾大学医学部

脳神経外科 教授

戸田 正博

悪性神経膠腫は正常脳組織へ浸潤し、摘出困難なため、がんの中で最も予後不良な疾患の一つである。近年の治療モダリティの進歩にもかかわらず、予後の改善はほとんどなく、新たな治療法が開発が求められている。我々は、iPS 細胞由来の神経幹細胞(neural stem cell: NSC)が、浸潤性の悪性神経膠腫に高い遊走性、指向性を有することを見出し、NSC を cellular delivery vehicle として ex vivo で遺伝子操作する遺伝子細胞療法の開発を行っている。治療遺伝子は、米国で臨床開発が進んでいる CD (cytosine deaminase) 自殺遺伝子に着目した。自殺遺伝子治療は、薬剤代謝酵素遺伝子 (自殺遺伝子) の反応特異性を利用して、プロドラッグを抗腫瘍物質に変換する原理に基づく。自殺遺伝子が導入された細胞は自ら死滅するとともに、殺腫瘍物質がギャップ結合や細胞膜を介して拡散し、周囲の腫瘍細胞を殺傷する「bystander 効果」が誘導される。CD は、血液脳関門通過性の抗真菌剤である 5-FC (プロドラッグ) を抗腫瘍剤 5-FU に変換するため、脳内の腫瘍局所において有効な抗がん剤治療が実現できる。我々は 5FU による DNA/RNA 合成抑制効果を高めるため、UPRT(uracil phosphoribosyl transferase)を組み合わせた CD-UPRT 融合自殺遺伝子を構築した。

はじめにウイルスベクターを用いて iPS 細胞へ遺伝子導入したが、プロモーター活性の問題などにより安定的な遺伝子発現が得られず、細胞活性にも影響した。そこで、ゲノム編集による遺伝子導入を検討した結果、iPS 細胞における最適な遺伝子挿入位置を見出し、恒常的遺伝子発現と幹細胞性を保持した自殺遺伝子発現ヒト iPS 細胞株の樹立に成功した。さらに分化誘導した治療用 NSC を用いて、様々なマウス脳腫瘍モデルにおける治療有効性を明らかにした。現在、知財やオフターゲットなどの問題を克服するため、国産ゲノム編集技術の CRISPR-Cas3 を用いて、臨床用のゲノム編集ヒト iPS 細胞を作成している。自殺遺伝子発現 iPS 細胞はプロドラッグ投与により自ら死滅するため、幹細胞治療における腫瘍化リスクを回避できる利点を有し、再生医療にも応用可能なプラットフォームとなる。本発表では、我々が開発したヒト iPS 細胞由来 NSC を用いた悪性脳腫瘍に対する ex vivo 遺伝子細胞治療を紹介し、実用化に向けた様々なハードルについて考察する。

合成生物学と構造生物学を用いた、革新的ゲノム編集ツールの開発

東京大学 大学院理学系研究科 教授

濡木 理

クラス 2 CRISPR エフェクターである Cas9¹ および Cas12a (Cpf1)² は、ゲノム編集ツールとして広く利用されている。これらは、それぞれ、トランスポゾンにコードされたヌクレアーゼスーパーファミリーである IscB および TnpB から独立して進化したことが報告された。我々は、TnpB³、および進化中間体である Cas12m⁴ および Cas12f⁵ の Cryo-EM 構造を決定した。これらの構造から、Cas12f は非対称二量体を形成することで、Cas12m は単純な REC2 挿入によって、ガイド RNA・ターゲット DNA の PAM 遠位端を認識することで DNA 配列特異性が向上し、免疫機能を獲得したという Cas12 ファミリーの自然進化が明らかになった³。Cas12 ファミリーの中でも、AsCas12f は非常にコンパクト (アミノ酸 422 個) であり、我々は、Deep Mutational Scanning (人工進化) と構造情報に基づいた設計を組み合わせ、2 つの AsCas12f 活性向上変異体 (enAsCas12f) の創出に成功した⁶。驚くべきことに、enAsCas12f は、ヒト細胞において SpCas9 および AsCas12a と同等のゲノム編集活性を示した⁶。さらに、単一の AAV ベクターにパートナー遺伝子をパッケージ化した enAsCas12f は、マウスにおいて効率的なノックイン/ノックアウト活性と転写活性化を示した⁶。最近、我々は、Cas9 と逆転写酵素からなる Prime editor の初期、伸長、終末状態の Cryo-EM 構造を解明することに成功した。構造に基づいた変異導入により、あらゆるゲノム突然変異を完全に修正できる、究極のゲノム編集ツールの開発への道が開かれた。

<Reference>

1. "Crystal Structure of Cas9 in Complex with Guide RNA and Target DNA" Nishimasu *et al.* **Cell** **156**, 935-949 (2014).
2. "Crystal Structure of Cpf1 in Complex with Guide RNA and Target DNA" Yamano *et al.* **Cell** **165**, 949-962 (2016).
3. "Cryo-EM structure of the transposon-associated TnpB enzyme" Nakagawa *et al.* **Nature** **616**, 390-397 (2023).
4. "Mechanistic and evolutionary insights into a type V-M CRISPR-Cas effector enzyme" Omura *et al.* **Nat. Struct. Mol. Biol.** **30**, 1172-1182 (2023).
5. "Structure of the miniature type V-F CRISPR-Cas effector enzyme" Takeda *et al.* **Mol. Cell** **81**, 558-570 (2021).
6. "An AsCas12f-based compact genome editing tool derived by deep mutational scanning and structural analysis" Hino *et al.* **Cell in press** (2023).

遺伝性血栓・出血性疾患に対する遺伝子治療

自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門・教授

自治医科大学遺伝子治療研究センター・センター長

大森 司

近年、先天性の難治性疾患に対する新たなドラッグモダリティとして、遺伝子治療やゲノム編集が注目されている。既に国内においても、脊髄性筋萎縮症（SMA）に対するアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターをもちいた遺伝子治療薬が承認され、実臨床で利用されるようになった。また、先天性の血液凝固因子欠乏症である血友病に関しても EMA や FDA の承認を得た AAV ベクター製剤も登場した。さらに、ゲノム編集治療も実際にヒトを対象とした臨床試験が欧米でおこなわれ、有望な成績が報告されつつある。

凝固因子が先天的に欠乏する出血性疾患である血友病は、古くから遺伝子治療のよい対象疾患として考えられてきた。現在、主に行われている遺伝子治療は、染色体 DNA を修復するのではなく、外来性に機能的な遺伝子を細胞の中に送達させる手法である。遺伝子を細胞に送達させるにはベクターと呼ばれる遺伝子の運び屋を用いる。血友病の遺伝子治療では、凝固因子産生部位である肝臓細胞に静脈投与で効率よく遺伝子を送達できる AAV ベクターを用いることが主流である。既存の血友病治療は、血中に足りない凝固因子を静脈注射によって補充する、「タンパク質補充療法」である。これと対比すると、遺伝子治療は、いわば「遺伝子補充療法」とも言える。一方、ゲノム編集は染色体 DNA に直接的にアプローチする。2020 年のノーベル化学賞にも選ばれた CRISPR-Cas9 の開発が基礎研究だけでなく、ゲノム編集治療をも現実的なものにした。欧米の臨床試験では、Cas9 mRNA と sgRNA を包埋した脂質ナノ粒子（LNP）を静脈投与することで肝臓のゲノム編集が可能になり、トランスサイレチンアミロイドーシスの患者において血中のトランスサイレチンレベルを 80% 以上も低下させた。また、 β ヘモグロビン異常症では、造血幹細胞において *BCL11A* をゲノム編集で破壊する治療法が報告されている。その他にも塩基編集やプライム編集など、新しい技術の応用が日進月歩で進み、実際にヒト臨床試験に利用されてきている。

本講演では、近年著しい進歩を遂げている遺伝子治療やゲノム編集治療について一般論を概説するとともに、自身の研究室の成果である血友病やプロテイン C 欠損症に対する遺伝子治療やゲノム編集について最近のデータを紹介したい。現在、製薬会社の標的は、低分子化合物からバイオ医薬品への開発に大きくシフトしている。現在、国内のバイオ医薬品の貿易収支は 3 兆円/年を超える赤字となり、今後も、この傾向は続くことが予測される。国内産業の活性化、日本がグローバル化の波に追いつくためにも、国内においてアカデミアの立場から、希少難治性疾患を標的とした治療法の開発を積極的に行い、産官学連携を介した新たな創薬を行う必要性があると痛感している。

CRISPR-Cas3 モダリティによる安全なゲノム編集治療基盤の構築

東京大学医科学研究所先進動物ゲノム研究分野・教授

真下 知士

ゲノム編集はバイオサイエンスや医薬開発研究の‘革命’的技術である。ゲノム編集ツールの開発、エピゲノム編集、遺伝子転写調節、細胞スクリーニングなどに、次々と研究開発利用がなされている。大学、研究機関や製薬企業、ベンチャーによる、ゲノム編集を使った遺伝子治療、細胞治療、創薬の開発競争が激しくなっている。一方で、ゲノム編集に関する規制やガバナンス、リスクマネジメントなども重要な検討課題である。本シンポジウムでは、我々が最近開発した日本発の新規ゲノム編集ツール CRISPR-Cas3 について紹介する。また、CRISPR-Cas3 を使った新型コロナウイルスの迅速診断法 CONAN についても紹介したい。CRISPR-Cas3 は、生命科学分野の基盤技術になり得る成果として、農水産業における品種改良、遺伝子治療、再生医療での新規治療法開発など、幅広い産業分野においての活用が期待されている。