

ゲノム編集技術の遺伝子治療への応用

埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター
遺伝子治療部門
三谷 幸之介
mitani@saitama-med.ac.jp

1

造血系遺伝病の遺伝子治療

遺伝子治療臨床試験の成功

Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease.

(Science. 2000 Apr 28)

- サイトカインレセプター 鎖の異常
- B細胞機能不全、T細胞、NK細胞欠損
- レトロウイルス由来のベクター
- 造血幹細胞へ遺伝子導入
- **最初の遺伝子治療成功例**

挿入変異による癌遺伝子の活性化

LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1

(Science. 2003 Oct 17)

| 疾患 | 患者数 | 効果 | 発がん |
|---------|-----|-------|-------|
| ADA | 40 | 29 | 0 |
| SCID-X1 | 21 | 19 | 5 (1) |
| CGD | 17 | 2 (7) | 3 |
| WAS | 15 | 15 | 4 |

レトロウイルスベクター



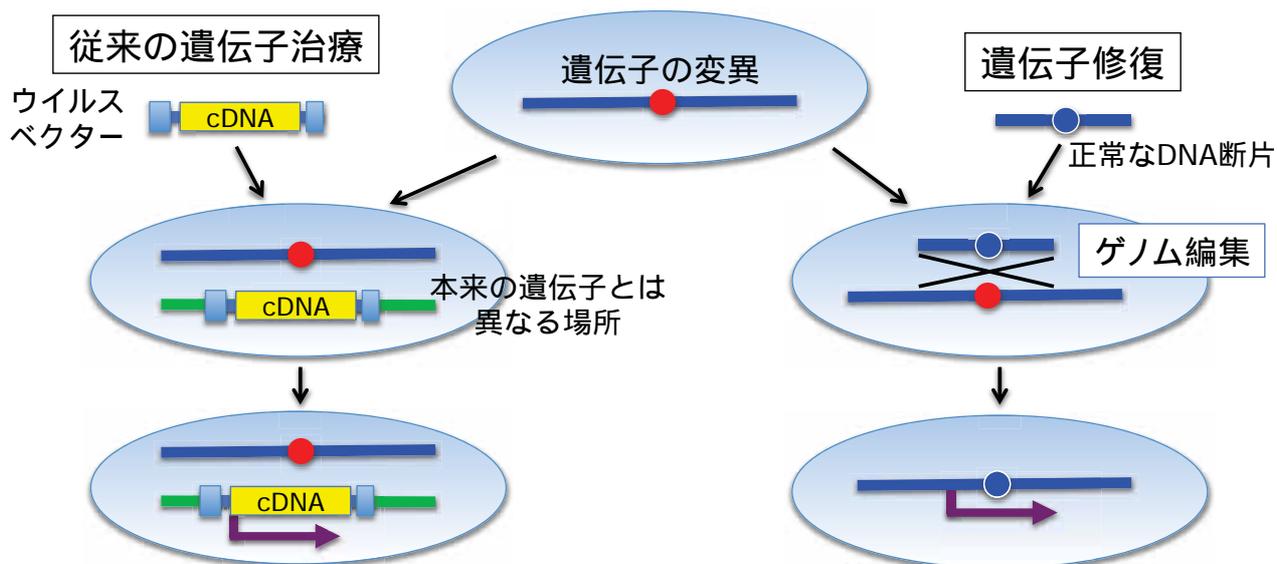
(Principles of Virology, ASM press, 2000)

LTR IL2RG LTR

より安全な方法へ

- ベクターのデザインの改良
- 遺伝子修復

遺伝病に対する遺伝子治療の方法



| | 従来の方法 | 遺伝子修復 |
|-----|----------------|---------------------------|
| 方法 | 遺伝子を加える（機能の補充） | 変異を直す（置き換える） |
| 長所 | 治療実績 | 正確な遺伝子発現、優性遺伝病 |
| 問題点 | がん遺伝子活性化の可能性 | 効率低く基礎研究のレベル ³ |

ヒト染色体とゲノム編集

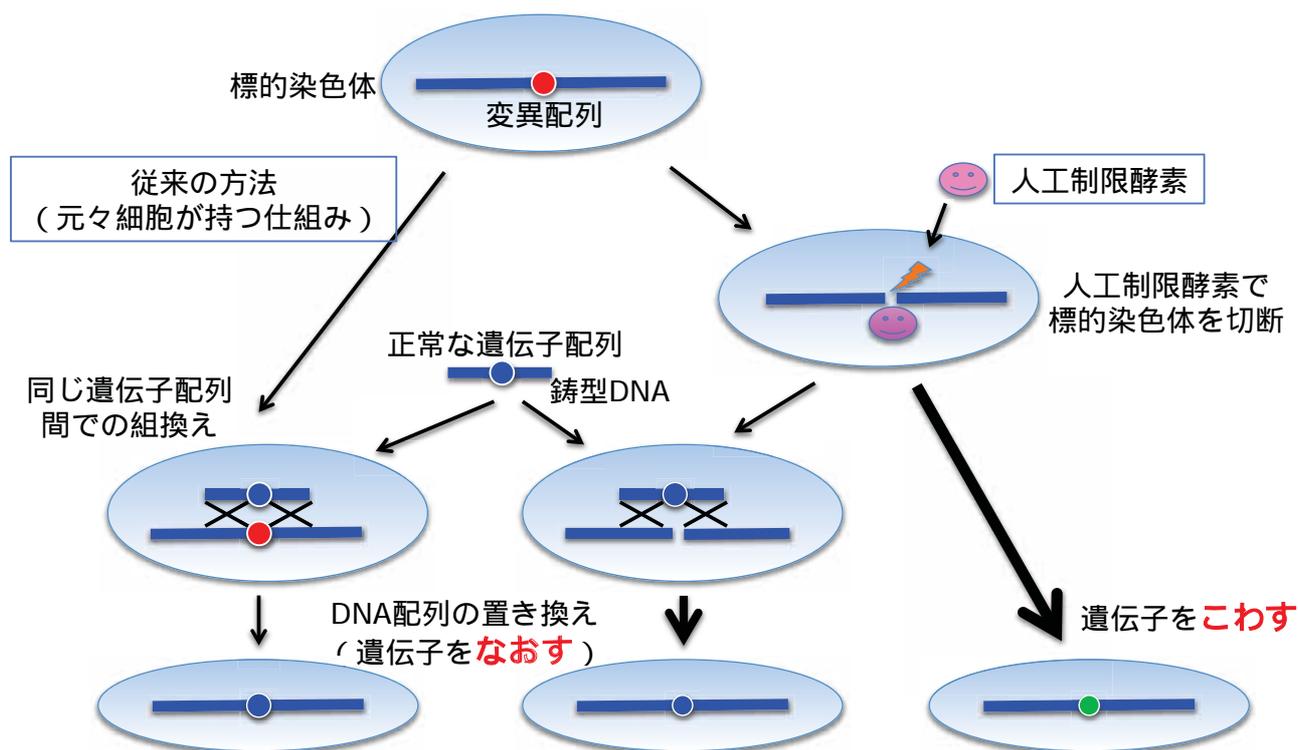
- 染色体はDNAで出来ている
- 染色体の上に遺伝子（ヒトでは約2万個）の情報がある
- ヒトの染色体（46本, 30億個のG/A/T/C）
- 一番小さな染色体（480万個のG/A/T/C）
- 1つの遺伝子（平均3万個のG/A/T/C）
- ゲノム編集：30億のDNA配列の中で狙った部分を変える
（こわす、なおす）

人工制限酵素

- ZFN、TALEN、CRISPR-Cas9 など
- 染色体上の狙った場所を探して結合する
 - ✓ 20個くらいつながった塩基 (G, A, T, C) を選ぶことができる
- DNAを切断する
- その結果、ゲノムを改変する
 - ✓ 遺伝子を壊す (鋳型のDNAがない場合)
 - ✓ 遺伝子を置き換える (鋳型のDNAがある場合)
- 自由なデザインが可能

5

ゲノム編集の方法



人工制限酵素の開発により効率が桁違いに上昇した

ゲノム編集法の進歩で可能になったこと

- 遺伝子を壊したり置き換えた動植物
ヒト、サル、ラット、マウス、ハエ、線虫、シロイヌナズナ、サンショウウオ、カエル、コメ、ムギ、モロコシ、タバコ、酵母、ミドリムシ.....
 - ✓ double-muscled (ミオスタチン KO) ブタ (*Nature* 523: 13, 2015)
 - ✓ hornless cattle
 - ✓ African swine fever virus に耐性の豚
 - ✓ 細菌感染耐性のイネ (*Nature Biotech* 30, 390–392 (2012))
 - ✓ ウドンコ病耐性
 - ◇ 自然変異か人工変異か区別不可能
- 遺伝子ドライブ
 - マラリア耐性の蚊、外来種駆逐、など
- 遺伝子治療
 - 遺伝子をなおす：マウスで成功例（肝臓遺伝病の治療）
 - 遺伝子をこわす：AIDSの治療（米国で臨床試験進行中）⁷

CRISPR/Cas9を用いた*in vivo*遺伝子修復治療：

- 高チロシン血症Ⅰ型 モデルマウス
- 1/250個の肝細胞で遺伝子修復
- 正常細胞が選択的増殖 治療効果

ゲノム編集（遺伝子破壊）のヒト臨床応用：

- AIDSの遺伝子治療
- HIVの受容体の遺伝子を壊す
- 不正確でも大丈夫？
- アデノウイルスベクターでZFNを発現
- 遺伝子破壊T細胞の方が生き延びた
- 関連臨床研究が複数進行中
- 他の感染症にも応用可能？