

I. 立体構造に基づく CRISPR:Cas ゲノム編集ツールの開発と医療への応用

東京大学 理学部生物化学科・大学院理学系研究科生物化学専攻 教授
濡木 理

最近、細菌の獲得免疫機構に働くCRISPRが、ガイドRNA (crRNA, tracrRNA) を用いて真核細胞や個体のゲノムを自由に編集できることで注目されている。我々は、CRISPRの1つである*Streptococcus pyogenes*由来Cas9とガイドRNA、ターゲットDNAの複合体の結晶構造を2.5Å分解能で決定することで、Cas9がいかにガイドRNAを特異的に認識し、ターゲットDNAを受け入れ、これを切断するかといった分子機構を、世界に先駆けて解明した (*Cell*, 2014)。さらに、より分子量が小さく真核細胞への導入効率が高い*Staphyrococcus aureus*由来Cas9について、ガイドRNAと2本鎖ターゲットDNAの4者複合体の結晶構造を2.6Å分解能で決定することに成功し、新規のPAM配列認識機構を明らかにするとともに、Cas9が直交性をもってガイドRNAを認識する機構を解明することに成功した (*Cell*, 2015)。さらに、*F. novicida*由来Cas9についても4者複合体の結晶構造を1.8Å分解能で決定することに成功し、立体構造に基づき、単純化したPAM配列を認識する変異体の創出にも成功した (*Cell*, 2016)。また、最小の大きさを持つ*C. jejuni*由来Cas9の4者複合体の結晶構造を2.3Å分解能で決定し、特徴的なPAM認識機構を明らかにするとともに、医療応用に最も近いゲノム編集ツールの作成が可能になった (*Mol. Cell*, 2017)。また最近、crRNAのみを用いてターゲットDNAを認識し、突出末端を作りつつDNAを切断するなどの点でCas9とは作用機序が大きく異なる、新規CRISPR、Cpf1が発見された。Cas9が共通して、グアニン (G) から始まるPAMを認識するのに対し、Cpf1はトリチミン (TTT) からなるPAMを認識している。我々は、Cpf1とcrRNA、DNAの複合体の2.8Å分解能での構造解析に成功し、その新規の作用機序の基盤となる分子機構およびPAM認識機構を明らかにした (*Cell*, 2016; *Mol. Cell*, 2017)。医療への応用として、我々は最近、小さなCas9を用いることで、静脈注射1本で血友病モデルマウスを根治することに成功した (*Sci. Rep.*)。今後改良型CRISPR-Casを用いて、さらなる遺伝子治療への応用を試みて行く。

〈参考文献省略〉

II. AMED におけるトランスレーショナルリサーチの推進

(公財) 先端医療振興財団 臨床研究情報センター センター長
福島 雅典

2007年より始まった文部科学省によるトランスレーショナル・リサーチ拠点形成事業、「橋渡し研究支援推進プログラム」の後継事業「橋渡し研究加速ネットワークプログラム」と2011年に始まった厚生労働省「早期・探索臨床試験拠点整備事業・臨床研究中核病院整備事業」は2015年AMED発足に伴って現在は、両者が統合されて「革新的医療技術創出拠点プロジェクト」として進行している。これらのプロジェクトによって、わが国で初めて科学研究に経営学のイロハであるPDCA（Plan-Do-Check-Act）が適用されたのであった。それによってわが国アカデミアにはイノベーション創出拠点（Academic Research Organization：ARO）がほぼ完成し、アカデミア発シーズを臨床開発して企業に導出し着実に薬事承認を取得して、新規の医薬品・医療機器を世に出す仕組みをもつに至り、膨大なR&Dパイプラインが確立した。新規医薬品、医療機器、医療技術開発が順調に進み今日までに承認・認証案件は21件を数える。更に厚生労働省により2016年に「先駆け審査指定」された案件5件は全てアカデミア発の医療機器、再生医療等製品である。また厚生労働省によって2012年に開始されたグローバル臨床研究体制整備事業によってわが国のアカデミア発シーズを海外に展開する仕組みもでき、AROグローバルネットワークと疾患別グローバルネットワーク構築を開始した。

本講演では「革新的医療技術創出拠点プロジェクト」により、全国14拠点で最先端の臨床試験、更に革新的新規医療機器・医薬品の開発がどのような形で進んでいるかを紹介するとともにグローバルAROネットワーク構築の現状と展望について紹介するものである。

今やAMEDによる一元的一貫管理によってアカデミアのR&Dパイプラインを俯瞰し、アカデミア発シーズを効率的にイノベーション創出につなげて最も国民利益の大きな開発を戦略的に進めることが可能となったのである。

III. 免疫性神経疾患の病態とトランスレーショナルリサーチ

(国研) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所
特任研究部長・多発性硬化症センター長
山村 隆

免疫性神経疾患の代表疾病である多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は、近年患者数が急速に増加している中枢神経系の自己免疫疾患である。現時点では既存薬剤の治療効果は限定的で、完治することのない難病である。MSの病態解明において動物モデル自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) が大きな貢献を果たしてきたことは周知の事実であるが、EAEで得られた実験結果が常にヒトで再現されるわけではない。我々は永年の研究から、希少難病MSを克服するには、動物モデル研究とヒト病態研究を並行して進め、患者を対象とした介入研究は可能な限り早期に実施することが重要であることを痛感している。本講演では我々の研究グループによるMSの治療法開発に向けたトランスレーショナルリサーチ (TR) の中から、現在進行中の二つのプロジェクト (NKT細胞標的医薬OCHの開発、二次進行型MSの病態解明と治療薬開発) を取り上げる。

1. OCHは制御性リンパ球NKT細胞の活性化を介してTh2偏倚を誘導する糖脂質で (Miyamoto et al. Nature 2001) , EAE, コラーゲン関節炎, NOD自己免疫性糖尿病, DSS誘導腸炎に対して治療・予防効果を発揮する。我々は2014年より国立精神・神経医療研究センター病院で健常者およびMS患者を対象とした医師主導治験を実施し、つい最近予定の最終症例に対する投与を完了したところである。本シンポジウムでは治験によって明らかになったOCHの想定される薬効や、希少難病におけるTRおよび早期介入試験の意義について論じる。

2. 二次進行型MS (secondary progressive MS; SPMS)は、明確な再発を示さずに緩徐に症状が進行する難治性の病態であるが、我々が開発した独自のSPMSモデルにおいて転写因子Eomesを発現するユニークなヘルパーT細胞 (Eomes+ Th細胞) が関与することを発見した (Raveney et al. Nature Comm 2015) 。Eomes+ Th細胞を標的とする治療はSPMSモデルの進行を抑制し、同細胞の神経系慢性炎症における関与が示唆された。それにとどまらず、Eomes+ Th細胞はSPMS患者の末梢血や髄液で有意に増加していることが確認された。一連のTRに基づき、我々はEomes+ Th細胞がunmet medical needsであるSPMSの新たな治療標的であることを確信して研究を継続している。

〈参考文献省略〉

IV. 腫瘍免疫学の進歩とがん免疫療法トランスレーショナルリサーチ —個別化・複合がん免疫療法の開発に向けて—

慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 細胞情報研究部門 教授
河上 裕

すでに免疫防御機構から逃避して病院でみつかるがんに対して、免疫療法は可能であるのか？長年、疑問視されてきたが、近年、免疫チェックポイント阻害薬と培養T細胞利用養子免疫療法として、化学療法抵抗性の進行がんに対しても臨床試験で明確な治療効果が示され、臨床の場でのがん免疫療法の位置付けは一変し、がん治療開発の方向性も変わりつつある。一方、まだ効果が認められないがん種や患者は多く、治療効果予測による症例の選択や適切な免疫療法の選択などの個別化治療を可能にするバイオマーカーの同定、また、免疫チェックポイント阻害薬単独投与では効果が期待できない症例を効くように変える方法も含めて、抗腫瘍T細胞応答に重要な複数のポイントを制御する複合がん免疫療法の開発による治療効果の改善が期待されている。がん免疫療法の開発においては、がんや免疫の基礎研究で得られたシーズを元にした臨床試験の実施というトランスレーショナルリサーチ(TR)、さらに臨床試験症例のサンプルを用いたリバースTRによるがん免疫病態の解明、その結果に基づいた新規バイオマーカーや治療標的の同定というサイクル的なTRが重要である。

がん免疫病態には個人差が大きく、その原因として、がん細胞の遺伝子異常（passenger変異由来抗原に対する抗腫瘍T細胞応答やdriver変異等がん遺伝子活性化による免疫抑制系の作動など）、遺伝子多型に規定される患者の免疫応答能、さらに喫煙、腸内細菌、食事・肥満、神経ストレスなどの環境因子などが関与する。免疫病態の個人差や機序の多様性のために、効果的な治療のためには個別化した免疫療法が必要となる。我々は、各種ヒトがん免疫病態の解析を通じて、がん種ごと、同じがんでもサブセットごと、また個々の患者ごとに適切な免疫制御による治療法の開発を検討している。すなわちヒトがん免疫病態解明による新規バイオマーカーや治療標的の同定、マウス腫瘍モデルを用いた各種免疫制御薬の探索、進行がんに対して強力な治療効果が期待できる培養T細胞を用いた養子免疫療法、これらを併用する個別化・複合がん免疫療法(personalized combined cancer immunotherapy)の開発を進めている。

V. がんの治療抵抗性打破を目指したトランスレーショナルリサーチ

慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門 教授
佐谷 秀行

がん幹細胞（CSC）は、がん組織の起源となり、その維持を行う細胞である。臨床的に見てCSCの最も重要な特徴は、種々の治療に抵抗性を示し再発や転移の原因になることである。しかし、その治療耐性のメカニズムは明確ではない。

CD44は、上皮腫瘍におけるCSCの細胞表面マーカーとして知られている。私たちは、CD44のスプライスバリエント（CD44v）が細胞内抗酸化物質である還元型グルタチオン（GSH）の合成を促進する役割をもち、活性酸素（ROS）に対する防御に寄与していることを見出した。CD44vは、シスチントランスポーターのサブユニットであるxCTを細胞膜上で安定化し、それによってGSH合成のためのシスチンの取り込みを促進することが分かった。したがって、遺伝学および薬剤を用いたCD44vあるいはxCTの抑制はCSC内のROSレベルを増加させ、マウスモデルにおいて腫瘍形成および転移の抑制をもたらした。これらの基礎研究の結果に基づき、xCTの機能を阻害する既存薬を用いた臨床試験を、進行胃癌および肺癌に対して実施したので、その結果について報告を行う。

本講演では上記のようなドラッグリポジショニングによるトランスレーショナル研究（TR）の実例を示し、その利点と問題点について述べたい。また平成26年に慶應病院に開設された臨床研究推進センターのTR支援体制についても言及したい。

VI. アカデミアから新しい炎症性腸疾患治療の提案

慶應義塾大学医学部 内科学（消化器）教授
金井 隆典

冷蔵庫が発見される以前では、ヒトは発酵によって食物を長期保存していた。当然、ヒトは発酵食品をよく食べていた。長期保存だけではなく、野菜を発酵した漬物には短鎖脂肪酸、魚を発酵させた干物にはアミノ酸類似分子を多く含有していた。しかし、先進国が共通して推進してきた近代的な生活様式は発酵保存というおそらく20万年前からヒトが行なってきた生活様式を放棄し、ファーストな食事を冷蔵庫に保存する生活をここ50年前から始め、ついに、炎症性腸疾患、肥満、ぜんそく、アレルギー、自閉症といった新たな疾患群と戦う時代となった。さらに、ヒトが選んだ治療戦略は、高額な抗体医薬や低分子標的薬を次々と開発している。

我々は最近の近代的医薬品開発とは一線を画し、「医食同源」、特に「蓼喰ふ虫も好き好き」にある蓼（タデ）科の生薬・青黛（せいたい）に注目し、難治性の潰瘍性大腸炎の治療法開発にアカデミアとして行なっているのを紹介したい。

青黛は中国では紀元9世紀には開宝本草という生薬辞典に、消熱、消炎という効果を持つ生薬として記載されている。青黛には高濃度のindigo, indirubinというArylhydrocarbon Receptor (AhR)リガンドを含有し、生体のAhR発現細胞に作用することが想定される。近年発見されたinnate lymphoid cell 3 (ILC3)もAhRを発現しAhRリガンドに反応し、上皮粘膜再生に極めて重要なIL-22を産生する。したがって、粘膜治癒という観点が治療ゴールに設定されている現在、活性化した免疫は抑制したが、上皮再生が障害されている、いわゆる難治性の潰瘍性大腸炎によい適応ではないかと仮説をたてた。

青黛の中で高品質とされる福建省産の青黛の成分分析、残留農薬、細菌を検定し、オートクレーブ処理した青黛原末を用いてカプセル (250mgカプセル)を製造し、GCP準拠の20例の前向きパイロット研究を行なった。結果は有効性80%、寛解導入。

近年、本邦でも炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）や過敏性腸症候群の増加が著しい。なぜ、最近の50年間という短期間に先進国を中心に増えてきたのか？ その原因としていま、ヒトの共生微生物‘腸内細菌（gut microbiota）’が注目されている。これまで人類にとって家来のような存在という認識であった‘腸内細菌’が、実は人類の健康を保持するための司令塔であることがわかってきた。細菌はヒト（50万年前）よりずっと早く30億年前に地球上に誕生した大先輩である。腸内細菌は勝手にヒトの腸管に生息しているのではなく、しっかりヒトと共生して協力していることが重要である（Ecosystem）。一方、人類の生存にとっては20世紀まではまさに細菌感染症との戦いであった。20世紀後半にほぼ克服できるようになったのは、衛生環境の整備や栄養改善などさまざまな要因が考えられるが、何と云っても20世紀初頭、フレミングによるペニシリンをはじめ、さまざまな抗生物質の発見がブレイクスルーであっただろう。以後、人類は平均寿命を伸ばし続けて来た。人類は抗生物質の発明で地球上に存在する人類の生存を脅かす敵をすべて克服したと喜んだ。しかし、抗生物質の過剰使用だけでなく、

帝王切開の高い頻度，過衛生，食事の欧米化（高脂肪低繊維食），発酵食品の衰退化，ストレス，運動不足，家畜や土壌から隔絶など，様々な西洋化した生活様式によって 大事な腸内細菌を失ったことが炎症性腸疾患，過敏性腸症候群など腸疾患のみならず，アレルギー，肥満，自己免疫疾患，がん，精神神経疾患などを増加させているのであろう．事実，これらの疾患群では“腸内細菌”は単純化し，細菌の構成パターンが乱れていること（ディスバイオーシス）が次世代シーケンサーを用いたメタゲノミクス解析でわかってきた．すなわち，腸内細菌は生存する腸管を越え，全身に影響を及ぼしている．近年，このディスバイオーシスを是正する目的で，健康なヒトの糞便を移植して炎症性腸疾患だけでなくさまざまな腸管以外の疾患を治療しようと糞便微生物移植治療 (Fecal microbiota transplantation; FMT)も始まっている．院内感染で有名なクロストリジウム・ディフィシル腸炎では有効性が実証された，炎症性腸疾患，過敏性腸疾患でもさまざま議論されている，本教育講演では，炎症性腸疾患での腸内細菌を利用したさまざまな治療にまつわる最近の話題を紹介したい．