

2023年11月22日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

T細胞の遺伝子改変を効率的に行うための支援ツールを開発

ーがん免疫療法の機能強化へ応用ー

慶應義塾大学医学部先端医科学研究所がん免疫研究部門の籠谷勇紀教授、伊藤雄介専任講師、同石井・石橋記念講座（拡張知能医学）の石川哲朗准教授らの共同研究グループは、CRISPR/Cas9（クリスパー・キャスナイン）（注1）というシステムを使って遺伝子を欠失させる際の、効率的な設計アルゴリズムの開発に成功しました。

がんに対する免疫療法の一つであるCAR-T（カー・ティー）細胞療法は、患者自身の免疫細胞（T細胞）を、がん細胞を攻撃できるように体の外で加工して注射する新しい治療法で、効果をさらに高めるための研究開発が盛んです。T細胞の特定の遺伝子を欠失させることで機能を高められることがわかっており、CRISPR/Cas9技術の応用が期待されています。

しかし、遺伝子によっては効率が良くとされる改変であっても必ずしもうまく行えないことがあります。本研究ではT細胞内の遺伝子領域への“アクセスのしやすさ”を定量的にスコア化して、さらに他の設計ツールと組み合わせることで、遺伝子のどの領域を狙えば効率的な改変が可能かを予測する手法を開発しました。任意の遺伝子について自動で狙う部位を設計できるようにプログラムを構築し、多くの研究者が活用できるようにウェブ上で一般公開しました。

本研究成果は、2023年11月21日（日本時間）に、英国オックスフォード大学出版局によって発刊される *Nucleic Acids Research* に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

免疫の力を使ってがん細胞を攻撃させる「がん免疫療法」が、治療が難しいがんに対する新しい治療法として注目されています。中でもキメラ抗原受容体導入T細胞療法、すなわち「CAR-T（カー・ティー）細胞療法」は、免疫細胞の1つであるT細胞を患者本人の血液から取り出し、CARという人工遺伝子を外から導入することで、がん細胞を攻撃できるように加工した薬を使う治療です。一部の血液がんに対して高い効果を示したことから保険診療においても用いられるようになってきました。しかし、他のさまざまながんに対してはまだ十分な効果が確認されておらず、さらに効果を高めるためにT細胞を改造する必要があります。

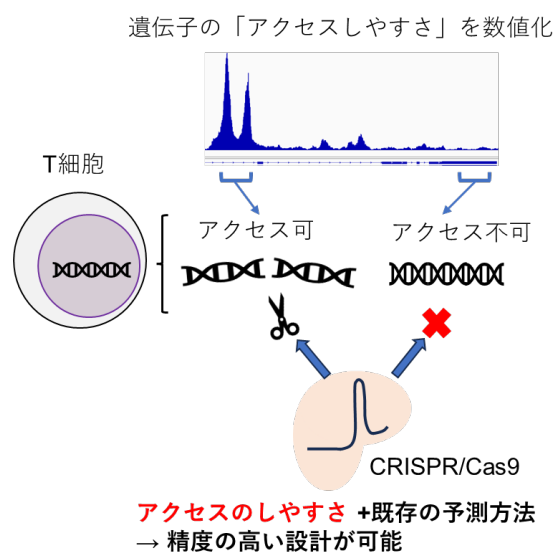
細胞の性質は約20,000種類存在する遺伝子の働きによって決まります。CAR-T細胞が、がんに対する攻撃を続ける中で徐々に機能が落ちる場合がありますが、その際に特定の遺伝

子が働いていることがわかっています。これらの遺伝子を欠失させることで、細胞の機能を長く保ち、治療効果を高められる可能性があります。その際に有用な道具として、遺伝子の特定の領域を狙って切断し、その遺伝子の機能を欠失させられる **CRISPR/Cas9** という技術が注目されています。しかし、遺伝子によっては標的部位の設計が難しいことがあり、研究開発を進める上で妨げとなります。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究では、研究グループがこれまでに **T** 細胞で遺伝子を改変するために設計した、**200** 種類以上の **CRISPR/Cas9** の設計情報と、遺伝子を欠失させられたかどうかについてのデータを照らし合わせ、効率的な設計方法に関する条件を探しました。その結果、狙う遺伝子領域のアクセスのしやすさに関するデータ：エピゲノム情報（注2）を参照することで、どの領域を狙うのが効率的であるかを予測できることを見出しました。

この手法と、これまでの他の研究で開発されてきた、**CRISPR/Cas9** の設計方法に関するさまざまな方法を組み合わせることで、効率の良い遺伝子欠失には遺伝子のどの部分を狙えば良いか、精度よく予測できることがわかりました（図1）。また、欠失させたい遺伝子によっては全領域にわたってアクセスしにくい場合や、**T** 細胞の状態によって遺伝子欠失が難しい場合がありますが、それらの状況でも効率的な編集を可能にする設計方法および **T** 細胞培養方法を開発しました。この研究で得られた手法をもとに、効率的に遺伝子を欠失させる部位を自動的に見つけるプログラムを開発し、全ての研究者が利用できるように一般公開しました。本ツールが、**T** 細胞の機能を高めるための研究開発のさらなる加速に役立つことが期待されます。



【図1】 エピゲノム情報をもとにした **CRISPR/Cas9** の効率的な設計

3. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム（幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム）「エピジェネティクス修飾によるキメラ抗原受容体導入幹細胞様メモリー**T** 細胞の自己複製増殖方法の開発」、次世代がん医療加速化研究事業「**CAR-T** 細胞を薬剤送達システムとして活用したがん標的治療法の開発」、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業、JSPS 科研費（JP20H03543、JP21K19422、JP22K15575、JP22H02910、JP20K21837、

JP21K02356)、愛知県がんセンター重点プロジェクト研究(がん免疫ゲノムプロジェクト)、公益財団法人高松宮妃癌研究基金、公益財団法人武田科学振興財団、公益財団法人細胞科学研究財団、公益財団法人上原記念生命科学財団、公益財団法人アステラス病態代謝研究会、公益財団法人SGH財団、公益財団法人小林がん学術振興会、公益財団法人日本対がん協会の研究支援によって行われました。

4. 論文

英文タイトル : Epigenetic profiles guide improved CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in human T cells.

タイトル和訳 : エピゲノムプロファイル情報の参照により、ヒト T 細胞において CRISPR/Cas9 による効率的な遺伝子ノックアウトを行える

著者名 : 伊藤 雄介、井上 聡、中島 貴裕、張 皓淞、李 煬、粕谷 仁美、松川 哲也、呉 智聞、吉川 聡明、片岡 美怜、石川 哲朗、籠谷 勇紀

掲載誌 : *Nucleic Acids Research*

DOI : 10.1093/nar/gkad1076

【用語解説】

(注 1) CRISPR/Cas9 (クリスパー・キャスナイン) : 細菌で発見されたシステムで、特定の DNA 配列を認識して、その部分を切断できます。切断された DNA 領域は修復の過程でエラーが入り、その部位にある遺伝子が欠失することになります。特定の遺伝子を細胞内で欠失させることができる技術としてさまざまな研究に活用されています。

(注 2) エピゲノム : 細胞の性質は 20,000 種類以上ある遺伝子の発現レベル (どれぐらいの量が存在するか) によって決定されます。この遺伝子配列は細胞内の核に存在する DNA に組み込まれていますが、その発現開始には遺伝子周辺の DNA 構造が開いている必要があります、このアクセスのしやすさを制御する DNA やその周辺のさまざまな修飾情報を総称してエピゲノムプロファイルと呼びます。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所がん免疫研究部門

教授 籠谷 勇紀 (かごや ゆうき)

TEL : 03-5843-6176 FAX : 03-5843-6177 E-mail : ykagoya@keio.jp

<https://tumorimmunol.med.keio.ac.jp/>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課 : 飯塚・奈良・岸

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<https://www.med.keio.ac.jp>