



令和 8 年 7 月 8 日



体内遺伝子治療の精度向上につながる 新たなゲノム編集技術を開発

～ 1 本のウイルスベクターで高効率・高精度な遺伝子修復を実現 ～

論文掲載

【本研究成果のポイント】

- ・ 遺伝子治療で広く用いられるアデノ随伴ウイルス (AAV) 1 本で送達可能な、小型 SauCas9 を利用した新たな細胞周期依存的ゲノム編集システムを開発しました。
- ・ 10 種類の抗 CRISPR (Acr) タンパク質を解析し、SauCas9 を強力に制御できる候補を特定するとともに、細胞周期に応じて機能する融合タンパク質の構築に成功しました。
- ・ 開発したシステムにより、AAV 送達条件下でも不要な変異 (インデル) の増加を抑えながら、正確な遺伝子修復 (HDR) 効率を最大 4.7 倍向上させることに成功しました。
- ・ 本成果は、より安全で高精度な体内遺伝子治療の実現につながることを期待されます。

【概要】

広島大学大学院医系科学研究科博士課程の松木依里奈大学院生、野村渉教授らの研究グループは、インビボ (*in vivo*: 体内) 遺伝子治療への応用を見据え、単一の AAV (アデノ随伴ウイルス) ベクターに搭載可能な小型の SauCas9 を用いた細胞周期依存的ゲノム編集システムを開発しました。

本研究では、ゲノム編集における正確な修復 (HDR) は S/G2 期に活発化することに着目し、10 種類の抗 CRISPR (Acr) タンパク質から選別した有力候補を Cdt1 の特定のデグロン領域と融合。これにより、エラーを起こしやすい G1 期では SauCas9 の活性を抑制し、HDR が活発な S/G2 期に限定して活性化させることが可能となりました。

本システムを AAV2 を用いてヒト細胞 (293A 細胞および HeLa 細胞) に導入した結果、標的遺伝子 (*EMX1*) において、不要な変異の増加を抑えつつ、正確な遺伝子修復 (HDR) 効率を最大 4.7 倍に向上させることに成功しました。

本研究成果は、搬送容量の制限を克服し、体内での高精度かつ安全な遺伝子治療の実現に大きく貢献するものです。本研究成果は、令和 8 年 5 月 6 日付で学術誌「Molecular Therapy Advances」にオンライン掲載されました。

< 発表論文 >

論文タイトル

SauCas9-based cell cycle-dependent genome editing via AAV delivery

著者

松木 依理奈¹、岸 果苗¹、岸 彩音¹、長瀬 興平²、濁川 清美^{1,2,*}、野村 渉^{1,2,*}

1. 広島大学薬学部
2. 広島大学大学院医系科学研究科 ※責任著者

掲載雑誌

Molecular Therapy Advances (IF=4.7)

DOI 番号

DOI: 10.1016/j.omta.2026.201751

※この研究成果は、科研費（JP22H02201, JP20K21253）、JST SPRING（JPMJSP2132）、JSPS J-PEAKS（JPJS00420230011）、武田科学振興財団、内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、持田記念医学薬学振興財団、鈴木謙三記念医科学応用研究財団の支援を受けて行われたものです。

【背景】

CRISPR-Cas9 システムを用いたゲノム編集は遺伝子治療の切り札として期待されていますが、疾患の原因遺伝子をピンポイントで修正する「HDR（相同組換え修復）」は、エラーを伴いやすい「NHEJ（非相同末端結合）」に比べて効率が著しく低いことが最大の課題でした。これに対し本研究グループはこれまで、HDR が細胞周期のS/G2 期にのみ活発になる性質を利用し、G1 期では Cas9 を休止させる細胞周期制御技術を開発してきました。

しかし、医療応用（*in vivo* デリバリー）に広く用いられる AAV（アデノ随伴ウイルス）は、搭載できる遺伝子の容量が約 4.7 kb と極めて小さいという障壁があります。これまで主流だった *S. pyogenes* 由来 Cas9（SpyCas9）は遺伝子サイズが大きく、制御カセットやドナー配列を同時に 1 本の AAV に詰め込むことが困難で、効率の悪い複数ベクターの併用に頼らざるを得ませんでした。

このため、AAV1 本に収まる小型の Cas9 ortholog を用いた、自律的な細胞周期制御ゲノム編集基盤の開発が強く望まれていました。

【研究成果の内容】

本研究では、遺伝子サイズが約 3.2 kb と小さく AAV への単一パッケージングに適した *S. aureus* 由来の SauCas9 に着目しました。

まず、SauCas9 の活性を必要時に抑え込むための「ブレーキ」として、10 種類の抗 CRISPR (Acr) タンパク質の阻害活性をスクリーニングし、AcrIIA5、A13、A14、A15、C1 が極めて強力な阻害能を持つことを突き止めました。

次に、これら Acr 群を、細胞周期の S/G2 期に選択的にユビキチン・プロテアソーム系で分解される Cdt1 の最小デグロン領域（30-120 残基）と融合させ、gRNA および HDR ドナーテンプレートとともに AAV ベクターに集約しました。

この AAV システムをヒト細胞に導入したところ、興味深いことに、強すぎる阻害剤よりも、適度な阻害・解離バランスを持つ AcrIIA11+Cdt1 や AcrIIA16+Cdt1 の融合体において劇的な効果が見られました。G1 期での適切な阻害と S/G2 期での的確なリリースが達成された結果、標的遺伝子（EMX1）において、不要な変異（インデル）の過度な上昇を招くことなく、正確な遺伝子ノックイン（HDR 効率）を 293A 細胞で約 2 倍、HeLa 細胞で最大 4.7 倍へと大幅に向上させることに成功しました。

また、ベクターの最適導入比率（MOI）が 1:2 から 1:5 の間にあることも実証しました。

【今後の展開】

今回確立された「小型 SauCas9 × 細胞周期制御 Acr-Cdt1 × 単一 AAV デリバリー」の統合システムは、体内の特定の組織や細胞に対して、最小限のパッケージ数で、極めて高精度な遺伝子修復を届ける強力なツールとなります。今後は、静止期の細胞が多くを占める成体組織での効果や個々の細胞の周期が非同期的な環境における効果の検証や、効率のさらなる最適化、ならびに大型の治療用トランスジーン（治療遺伝

子) のインテグレーション検証を進めることで、難治性遺伝疾患に対する画期的な低侵襲・高精度の *in vivo* 遺伝子治療製剤の開発へと繋げていきます。

【参考資料】

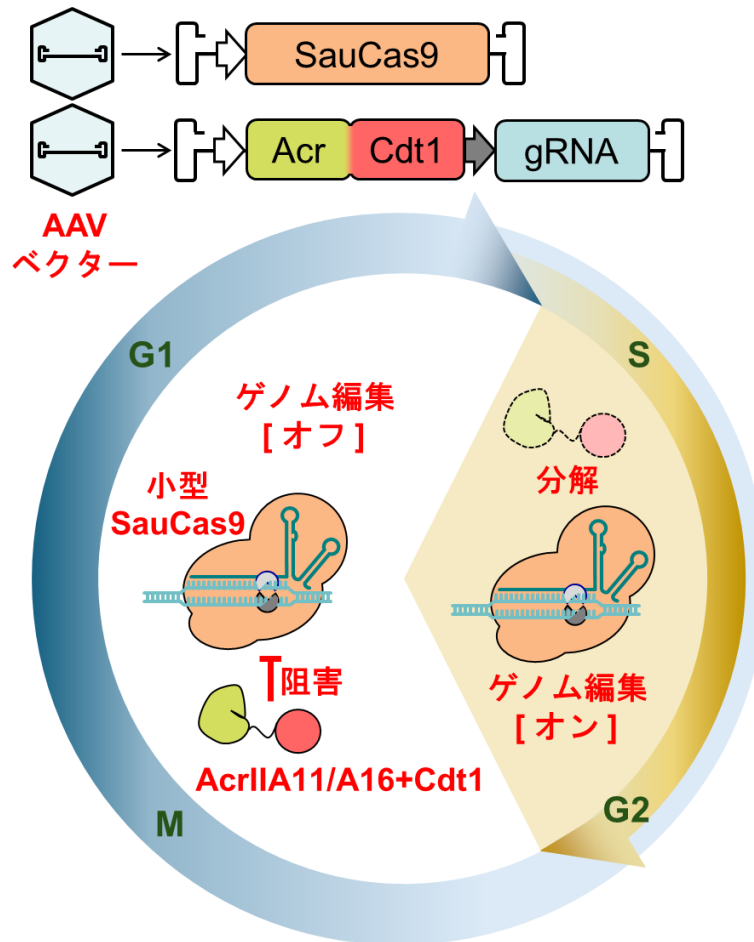


図1. AAVベクターを利用した自律制御型ゲノム編集機構の概要

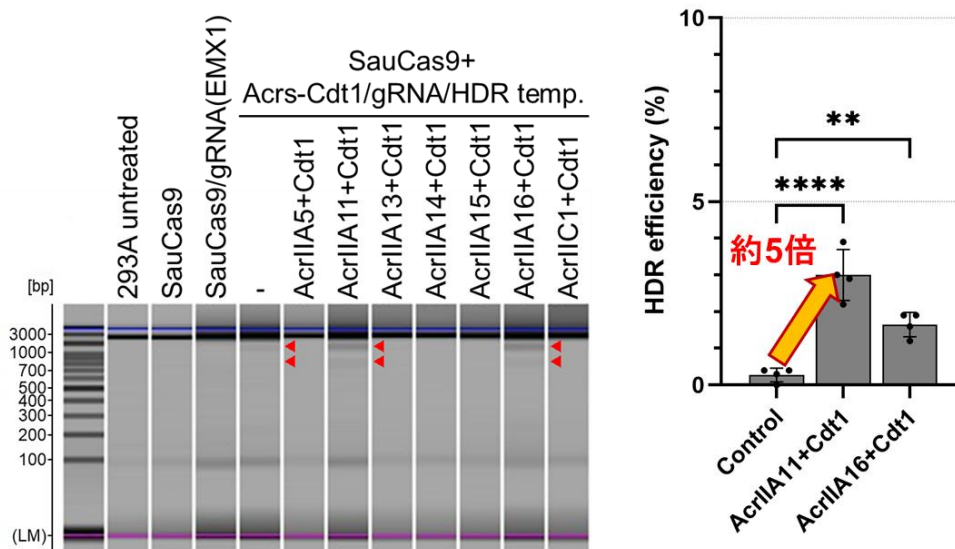


図2. 細胞周期を利用したゲノム編集で相同組み換え型ゲノム編集効率が向上

【お問い合わせ先】

広島大学大学院医系科学研究科 野村 渉
 Tel : 082-257-5308
 E-mail : wnomura@hiroshima-u.ac.jp

発信枚数：A4版 7枚

(参考)【解説書】体の中の遺伝子を安全に直す新技術

～小型の「SauCas9」を活用し、効率を落とさずに安全・正確な遺伝子修復を実現～

■本研究の3つのブレイクスルー(ポイント)

- ・ **ウイルス送達の「効率低下」の障壁をクリア** 大型の従来型 Cas9(SpyCas9)で必要だった「ハサミの遺伝子自体を真っ二つに分割して2本のウイルスに分ける」という非効率な方法を回避。小型の「SauCas9」をフルサイズで1本のウイルスにすっきり収めることで、本来の編集効率を損なわないシステムを構築しました。
- ・ **「時間限定」のゲノム編集スイッチを搭載** 細胞が自ら遺伝子を正しく直せる「特定の時間(タイミング)」だけゲノム編集のハサミを動かす自動スイッチ(Acr-Cdt1 遺伝子カセット)をもう1本のウイルスに搭載し、2本一組のパッケージとして細胞へ届けます。
- ・ **不要なミスを抑えて「成功率を大幅向上」** 体に不要な変異(ミス)を増やすことなく、目的の遺伝子を正しく修正するノックイン効率(HDR 効率)を、コントロール群(制御なし)と比較して約5倍へと大幅に引き上げました。

■なぜこの技術が必要なのか？(背景とこれまでの課題)

DNAのわずかな書き間違い(遺伝子の異常)が原因で起こる難病に対して、ピンポイントで設計図を修正する「ゲノム編集」が期待されています。これを体の中の細胞へ届ける「搬送車」として、安全性の高い小さなウイルス(AAV)が広く使われています。

しかし、従来の標準的なハサミ(SpyCas9)をAAVで運ぶには、「ウイルスの積載制限」による深刻な課題がありました。

【従来の深刻な課題:ハサミの「真っ二つ」分割送達】

課題①:標準的なハサミ(SpyCas9)はサイズが大きすぎて、AAV1本に到底収まらない。

課題②:そのため、ハサミの遺伝子を「真っ二つに分割」して2本のAAVに分けて運び、細胞の中で合体させる手法がとられていたが、この合体プロセスは非常に確率が低く、ゲノム編集の効率が著しく低下するという致命的な弱点があった。

課題③:さらに、正確に直す力(HDR)の効率自体も元々低く、意図しないエラー変異が起りやすい。

■今回開発した「スマートな AAV2 本ペア送達」

研究チームは、ハサミそのものをサイズが約30%小さい「SauCas9」へと変更することで、この分割問題をスマートに解決しました。

[AAV1号車:フルサイズのハサミを送達]

小型な「SauCas9」を採用したことで、ハサミの遺伝子を「分割せずそのままフルサイズ」で1本のAAVに綺麗に収めることに成功。細胞内での非効率な合体プロセスが不要になり、ハサミ本来のパワーをそのまま維持できます。

[AAV 2 号車:時間限定の自動スイッチ & 正しい設計図を送達]

もう 1 本の AAV に、細胞の 24 時間のリズム(細胞周期)に連動する「制御用スイッチ(Acr-Cdt1)」と、修正用の「正しい設計図(テンプレート DNA)」をまとめて搭載します。

↓

【細胞の中での動き】

2 本の AAV が細胞に届くと、ハサミ本来の効率を保ったままゲノム編集がスタート。

- ・ミスが起きやすい時間(G1 期) = 「抗 CRISPR タンパク質(ブレーキ)」が働き、ハサミを眠らせる。
- ・成功しやすい時間(S/G2 期) = ブレーキが自然に分解され、ハサミが自動で「ON」になる。

■実証された成果(結果)

ヒトの細胞(293A 細胞や HeLa 細胞)を用いた実験により、以下の効果が確認されました。

- **安全性の維持:** がん化などの原因となり得る「不要な修復ミス(インデル変異)」の過度な増加を徹底的に抑制。
- **修復効率の劇的向上:** 2 本の AAV を同時に受け取った細胞において、ハサミ本来の性能と時間制御スイッチが見事に噛み合い、正しく遺伝子を書き換える成功率が **293A 細胞で約 2 倍、HeLa 細胞で最大 4.7 倍**へと大幅に向上しました。

■今後の展望(医療へのインパクト)

外部から光や化学物質などの強い刺激(副作用の懸念があるもの)を与えずとも、「細胞が自律的にベストなタイミングを判断して遺伝子を直す」という今回のシステムは、体内遺伝子治療において極めて高い安全性を発揮します。

従来のハサミ分割法による「効率の低さ」と「エラーの多さ」という二大障壁を、「小型ハサミによる効率維持」×「細胞周期制御による安全化」という独自の AAV2 本ペア戦略で同時に克服したことで、これまで治療が難しかった生まれつきの遺伝疾患に対する、実用的な体内遺伝子治療薬の開発へ大きく前進する成果です。

【ひとことと言うと】

「大きなゲノム編集のハサミを真っ二つに分けて運んでいた従来の方法(非効率)をやめ、小型のハサミをそのまま丸ごと運ぶことで効率を落とさず、さらに『正しい遺伝子修復が成功しやすい瞬間』にだけハサミが働くようにウイルス 2 本でスマートに制御した安全・高確率な遺伝子治療技術です。」

【子ども・一般向け解説】細胞の「時間割」に合わせて、病気の原因を安全に直す新技術

～ハサミを小さく、タイミングはスマートに。ウイルス 2 本で届ける次世代遺伝子治療～

■ この研究の3つのすごさ(ポイント)

- ハサミを「切らずに」そのまま運べる

これまでは大きすぎて運べなかった「遺伝子を直すハサミ」を、小さくて使いやすい種類に変えました。バラバラに解体せず、丸ごとウイルスに乗せて届けられます。

- 「失敗しやすい時間」は自動でブレーキ

細胞のスケジュール(時間割)をハサミが自分で判断します。失敗してミスが起きやすい時間(G_1 期)は眠り、成功しやすい時間(S/G_2 期)にだけ自動で起きて働きます。

- 安全に、正しく直す確率が「最大約 5 倍」にアップ

余計なキズや間違い(ミス)を増やすことなく、狙った通りに正しく設計図を書き換える成功率が、これまでの方法と比べて最大 4.7 倍に高まりました。

■ なぜこの技術が必要なの？(これまでの問題点)

生まれつきの病気や難治性の病気の中には、体の「設計図(DNA)」がほんの少しだけ書き間違えられているものがたくさんあります。この間違いをピンポイントで切り取って正しい形に直すのが「ゲノム編集(遺伝子治療)」です。

この治療道具を体の中の細胞に届けるために、安全な「ウイルスのトラック(AAV)」が使われます。しかし、このトラックには「重さ・大きさの制限(積載制限)」という大きなカベがありました。

【これまでの方法:ハサミを真っ二つに分ける大苦戦】

・問題①:標準的なハサミ(SpyCas9)はデカすぎて、トラック(AAV)1 台に載らない。

・問題②:仕方なくハサミを「真っ二つにバラバラにして」2 台のトラックで別々に運び、

細胞の中で組み立て直していた。しかし、この組み立てが上手くいかないことが多く、

パワー(編集効率)がガクンと落ちてしまう。

・問題③:さらに、細胞はもともと「間違い(ミス)」を起こしやすく、安全性の心配があった。

■ 今回開発した「スマートな 2 台のトラック作戦」

研究チームは、ハサミそのものを、パワーはそのままサイズが 3 割ほど小さい「SauCas9」に変えることで、このバラバラ問題をすっきり解決しました。

【トラック 1 号車】:フルサイズのハサミを丸ごと運ぶ

小さめのハサミに変えたことで、ハサミを「真っ二つに分けることなく、丸ごと 1 台」で

運べるようになりました。細胞の中で組み立て直す手間がないため、本来のパワーを 100%発揮できます。

【トラック 2 号車】:「自動ブレーキの指示書」と「正しい設計図」を運ぶ

もう 1 台のトラックには、ハサミが働くタイミングをコントロールする「ブレーキ(Acr-Cdt1)」と、

入れ替えるための「正しい設計図」を載せておきます。

細胞に届いたあとの「ハサミ」の動き

2 台のトラックが同時に細胞へ届くと、ハサミは細胞の中の様子(時間割)をうかがいます。

- 「ミスが起きやすい時間(G_1 期)」:ブレーキ役のタンパク質がハサミにぴったりくっついて、ハサミを眠らせます。
- 「成功しやすい時間(S/G_2 期)」:ブレーキ役が自然に消えて(分解されて)、ハサミが自動的に目覚めて仕事をします。

■ 実験でわかったこと(結果)

人間の細胞を使って確かめたところ、驚くべき結果が出ました。

- あぶないミスを防ぐ: がんなどの原因になりかねない「余計な修復ミス(インデル)」を徹底的に防ぎ、安全性を保ちました。
- きれいに直す確率がアップ: 2 台のトラックを同時に受け取った細胞では、ハサミが最も良いタイミングだけで働いたため、正しく遺伝子を直せる確率が最大 4.7 倍(約 5 倍)に跳ね上がりました。

■ これからどうなるの?(未来への期待)

これまでは、ハサミを動かすために「外から光を当てる」「特別な薬を入れる」といった工夫が必要で、体への負担や副作用が心配されていました。しかし今回のシステムは、「細胞自身のリズムに合わせて、ハサミが自律的に仕事をする」ため、体の中で非常に安全に働きます。

「バラバラで運ぶからパワーが出ない」「ミスが多い」という 2 つの大問題を、「小さなハサミ(効率キープ)」×「細胞の時間割(安全キープ)」という独自の 2 台ペア作戦で同時にクリアしたことで、これまで治療法がなかった難病に対する、新しい遺伝子治療の薬づくりが大きく前進します。

ひとことで言うと!

「大きすぎてバラバラに運んでいたゲノム編集のハサミを、丸ごと運べる小さなハサミに変えて効率を落とさず、さらに『細胞が一番上手に遺伝子を直せるタイミング』にだけ働くようにウイルス 2 台で賢く操る、安全で超ハイテクな遺伝子治療技術です。」