

超多重ガイド RNA/Cas9 nickase 搭載一体型アデノウイルスベクターを用いたパピローマウイルス感染病変のゲノム編集治療法の開発

C POT # 21-A-27

国立がん研究センター
先端医療開発センター/HPV関連がん予防・治療プロジェクト
プロジェクトリーダー：清野 透



研究概要

Key Words: # CRISPR/Cas9, #がん予防, #HPV, #がん治療, #アデノウイルスベクター

[目的]

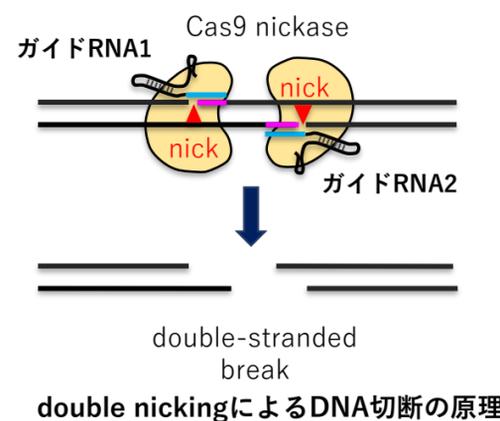
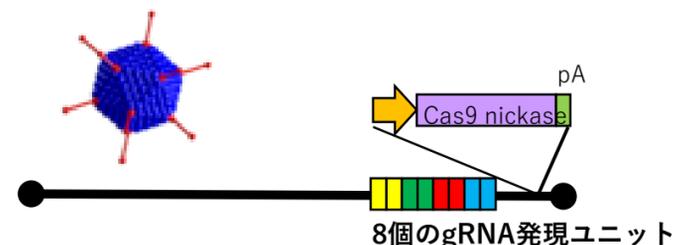
ヒトパピローマウイルス感染によるがんの内科的予防・治療薬を開発する。

[背景]

- 世界の全がんの新規罹患患者数の約 4.5 % は High risk HPV (HR-HPV) 感染が原因
- **子宮頸がん** は年間約 50 万人が罹患し 27 万人が死亡
(日本では年間 1 万人以上が罹患し、約 2700 人が死亡)。
- **中咽頭がん** は年間約 10 万人(約 40% は HPV 陽性) が罹患し、5 万人が死亡
(日本では年間約 2900 人が発症し、約 1300 人が死亡)。
- 中咽頭がんは、嚥下・摂食・構音障害などにより手術後の **QOL の維持が極めて困難** であるため、非侵襲的な治療法の開発が求められている。
- 子宮頸がんやその前駆病変である子宮頸部異形成の **発症年齢は若年化** しており、**妊孕性が温存できる治療法** が求められている。
- HPV 関連がんにおけるがん細胞の増殖は、HPV がん遺伝子発現に依存しているため、CRISPR/Cas9 ゲノム編集により腫瘍内の HPV ゲノムを切断破壊すれば治癒が見込める。
- WHO は HPV ワクチンと検診の普及により **2050 年** までに罹患率の 40% 減を目指しているが、達成できたとしても **世界の罹患数は 20% 減に留まる** (Lancet Oncol 2019; 20: 394-407)。

【超多重ガイド RNA/Cas9 nickase 搭載一体型アデノウイルスベクターを開発】

治療薬候補のアデノウイルスベクター



新規性・優位性

- HPV 関連がんの多くは 16 型または 18 型 HPV が原因であり、同一ベクター (治療薬) が全世界のほとんどの患者に適用できる。
- Cas9 nickase と 2 個のガイド RNA を用いるダブルニッキング法により、オフターゲット現象を回避できる。
- これまで成功例のなかった 4 個以上の多重ガイド RNA と Cas9 nickase 一体型アデノウイルスベクターの開発に成功した。
- 同一細胞内で 8 個のガイド RNA と Cas9 nickase を確実に発現でき、HPV ゲノムの複数箇所切断により E6E7 がん遺伝子を完全に破壊できる。

実用化提案

ゲノム編集医療への期待は高いものの、オフターゲット効果が臨床導入の妨げになってきた。このシーズは **オフターゲットを事実上無視できるレベルに抑えながら高率に遺伝子編集ができる技術** である。まずは、がんにおいてゲノム編集により治癒できる HPV 関連がんを標的にした治療法を提案する。

現在手術でしか治癒を見込めないがんが、注射で治癒できるようになったら素晴らしいのではないでしょうか？

知財情報

PCT/JP2019/037255、特願2019-121668、特願2018-179274微生物化学研究会、2019年9月24日、新規ウイルスベクターおよびその製造方法と使用方法 (発明者 中西友子、斎藤泉) ; 米国、欧州、韓国に出願済

連携への関心

- 製薬企業
- 医療/検査 (機関)
- バイオテック/創薬支援
- ベンチャーキャピタル

関連文献

- Kato Y, et al. (2021) Int J Mol Sci. 22(19)10570.
- Nakanishi T, et al. (2021) Sci Rep.11(1)3961.
- Nakanishi T, et al. (2019) J. Gene Med. 21(11): e3115.

Safe genome editing therapy for HPV-associated lesions by all-in-one adenovirus vectors expressing multicopy guide RNAs and Cas9 nickase

CPOT #21-A-27

Tohru KIYONO, M.D.,D.M.Sc.

Project Lead, Prevention of HPV-related cancer/EPOC/NCC



Summary

Key Words: #CRISPR/Cas9, #Cancer prevention, #HPV, #Cancer therapy, #Adenovirus vector

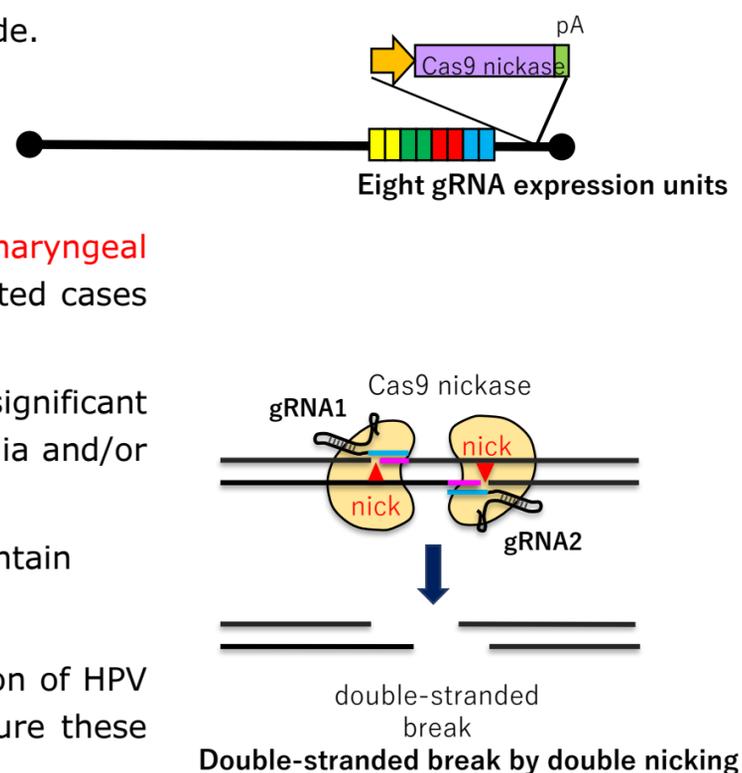
Aim:

To develop non-invasive therapies to cure HPV-associated cancers

Background:

- Oncogenic HPV infection is responsible for almost 5% of all cancer worldwide.
- About 500,000 women were diagnosed with cervical cancer and about 300,000 women died from the disease (In Japan, over 10,000 women are diagnosed and about 2,700 women die from the disease).
- About 100,000 adults (40% are HPV positive) are diagnosed with oropharyngeal cancer every year with 50,000 estimated deaths (In Japan, 2,900 estimated cases and 1,300 estimated deaths).
- The current standard treatments of these cancers can often cause significant reduction of QOL such as loss of or reduced fertility and long lasting dyslalia and/or dysphagia.
- Therefore, it is necessary to develop non-invasive therapies which can maintain QOL after the treatment.
- Since proliferation of HPV-associated cancer cells depend on the expression of HPV oncogenes, disruption of the HPV oncogenes by genome editing could cure these cancers.
- Although WHO aims 40% reduction of cervical cancer incidence by 2050, reduction of cervical cancer cases are estimated to be only 20% even in the best scenario (Lancet Oncol 2019; 20: 394–407).

Adenovirus vector for the therapy



Innovation

- As most HPV-associated cancers are caused by either HPV16 or HPV18, the same therapeutic vectors can be applied to almost all the patients worldwide.
- Double nicking with Cas9 nickase and multiple gRNAs can enhance specificity with negligible off-target effects.
- We have succeeded to develop an all-in-one adenovirus vector expressing Cas9 nickase and 8 gRNAs.
- As the all-in-one vector can express Cas9 nickase and 8 gRNAs in the same cells, it can completely disrupt the HPV oncogenes E6 and E7.

Expected Utility

A major obstacle for clinical application of CRISPR/Cas9 gene editing technology has been its off-target effects. A double-nicking technology can reduce off-target effects to a negligible level. This technology-based adenovirus vector with 8 gRNAs can completely disrupt the HPV oncogenes. Imagine that the injection of candidate drug can cure the cancers which can be treated only by surgery now.

IP Information

PCT/JP2019/037255 、 priority to JP2019-121668, JP2018-17927 application filed by Institute of Microbial Chemistry、 Sept 24, 2019, Novel virus vector and methods for producing and using same (Invector Tomoko Nakanishi, Izumu Saito) ; Worldwide application WO EP US JP

Partnering

- Pharmaceuticals
- Medical institute
- Biotech/Drug Discovery Service

Reference

- Kato Y, et al. (2021) Int J Mol Sci. 22(19)10570.
- Nakanishi T, et al. (2021) Sci Rep.11(1)3961.
- Nakanishi T, et al. (2019) J. Gene Med. 21(11): e3115.