

7. ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎医学研究 論点まとめ (案)

2015 年に世界初となるヒト受精卵ゲノム編集の基礎研究論文が報じられた。異常受精卵を使い、遺伝子疾患を起こしうる変異の修復を目的としたが、世界に深刻な倫理的懸念を招いた。同様の研究が 2016 年にも発表された。2017 年 3 月には、実験のために受精卵を作製し、ゲノム編集で変異修復を試みた基礎研究が論文発表された。これらの結果は、モザイクの問題などが未解決であるものの、ゲノム編集を伴う生殖医療の一定の実行性を示したといえる。3 つの論文は全て中国から発表されたが、今後我が国の研究者が同様な研究を実施することも想定される。その目的として、子での遺伝子疾患の発症予防や不妊治療応用に向けた基礎研究、および配偶子形成や初期発生機構を解明する科学研究などが考えうる。しかし、中国の一連の論文が起こした倫理的懸念を考えると、遺伝子改変胚（遺伝子改変生殖細胞を用いて作製された胚も含む）をヒト胎内に移植しない基礎研究なら問題ない、とはいえないだろう。ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究は、平成 16 年「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」（総合科学技術会議）に則り、社会との調和に留意しながら、慎重な倫理審査の後に実施すべきである。そのためには、一般の人々の研究理解を得るための機会を設けていくこと、適正な研究規制を制定すること、研究妥当性に関する慎重な審査と透明性の確保が重要である。

研究の現状

- ・ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究は、ゲノム編集の直接対象で大別すると、受精卵、卵子、精子幹細胞などが想定しうる[1]。また、ヒト ES 細胞や iPS 細胞（元の体細胞含む）から生殖細胞を分化誘導する過程でゲノム編集を行うこともありうる[2]。
- ・受精卵や生殖細胞への標的指向性ヌクレアーゼの導入形態はプラスミド DNA、mRNA、タンパク質がとりうる。
- ・受精卵へのヌクレアーゼの精密注入は、前核、細胞質、あるいは両部位への注入がある[1]。
- ・ヒト受精卵ゲノム編集の基礎研究はこれまで 3 報告あり、いずれも CRISPR/Cas9 システムを用いている[3, 4, 5]。
- ・2015 年と 2016 年に発表にされた論文では、倫理審査委員会の承認後、生殖補助医療を受けた患者から異常受精卵（3PN 胚、3 日程度で発生が停止する異常胚）の提供を受けて、CRISPR/Cas9 を mRNA の形態で精密注入して遺伝子改変した結果を報告している[3, 4]。
- ・2015 年に報告された論文[3]では、86 個の 3PN 胚を使い、 β サラセミアの遺伝予防を想定した HBB 変異修復の可能性が調べられた。その結果、HDR での低い遺伝子改変効率、モザイク、オフターゲット変異の問題が確認された。一方この研究は、ヒト受精卵ゲノム編集の拙速な応用やエンハンスメントへの誤用の恐れなどの懸念を世界的に呼んだ。

・2016年の論文[4]は、213個の3PN胚を用いて、CRISPR/Cas9でCCR5Δ32変異導入の可能性を調べた。ここではHDRのほか、NHEJも使い、一部のガイドRNAの組み合わせで良好な遺伝子改変結果を得た。ポテンシャルオフターゲットサイトを調べた限りではオフターゲット変異は見られなかったが、調査については限定的なものであった。また、やはりモザイクの問題も確認された。一方、この論文の研究妥当性を疑問視する声が世界的に上がった。

・2017年に報告された論文[5]では、前2論文で異常受精卵を用いたことが遺伝子改変に影響を与えた可能性などをふまえ、実験条件を見直した。HBBとG6PD遺伝子に変異がある2人の男性から精子の提供受け、それぞれ10個、正常に受精した胚(2PN)を作製した。HBB変異を持つ胚は4つ、G6PD変異を持つ胚は2つ生じ、それぞれにCRISPR/Cas9タンパク質を注入した。培養2日後に調べたところ、遺伝子改変が起きたのがHBB変異胚で2つあり、目的の修復がみられたのはそのうち1つで、しかもモザイクであった。G6PD変異がある2個の胚ではいずれもゲノム編集が起き、目的の修復が認められたが、そのうち1つはモザイクであった。一方、全ゲノムシーケンシングを含む解析ではオフターゲット変異は認められなかった。結局、オフターゲット変異がおきず、モザイクでない目的のみの変異修復ができた胚は20個中1個であった。

・2017年に報告された論文[5]では、前2論文に比べて技術的に進歩したという見方があるが、遺伝子改変効率は高くなく、依然としてモザイクが大きな問題とする指摘も上がった。さらに、受精卵ではなく生殖細胞でのゲノム編集の方が有効かもしれないとの示唆もあった[6]。一方、実験のために胚を作製した正当性などの懸念の声も上がった。

・その他、子でのミトコンドリア病発症を予防する目的で、マウス卵子にヒトミトコンドリア病患者の細胞を融合させ、Mito-TALENで変異ミトコンドリアDNAを駆逐する基礎研究も報告されている[7]。このアプローチはミトコンドリア置換と違い、ドナー卵子は不要である。

・総じてみると、中国で実施されてきた研究は、国内規制を順守しながら、倫理的配慮(異常受精卵の使用や培養期間をごく短期間に限局)を加えつつ、生殖医療応用を目指して実施した基礎研究である。しかし、遺伝子改変後に胎内移植可能な胚を得るのには未だ大きな技術的課題があることを示したとともに、国際的な倫理的懸念を呼んだのも確かである。

・一方、欧州においても、科学的な目的で生殖細胞系列ゲノム編集を使う研究が進行していることが報じられた[8]。英国フランシスクリック研究所 Kathy Niakan が初期発生を理解のため、余剰胚を使い、ゲノム編集でOCT4を改変する実験のライセンスをHFEA

(Human Fertilization and Embryology Authority) から得たとの報道があった。また、スウェーデンのカロリンスカ研究所 Fredrik Lanner はゲノム編集で遺伝子破壊を行い、初期発生に重要な遺伝子を探索する研究の許可をSwedish regional ethics board (EPN.SE) から得ている。

想定しうる研究目的

1. 将来の臨床応用に向けた基礎研究

- ・重篤な遺伝子疾患の遺伝予防（子での発症予防）のための基礎研究

OMIM データベースによれば対象となる変異は少なくとも 4980 はありそうである[9]。受精卵や生殖細胞において、HDR で常染色体や性染色体上の遺伝子変異を修復する可能性、ミトコンドリア DNA 変異については NHEJ で変異ロードを低減する可能性を調べる実験となろう。

この基礎研究は、平成 16 年「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」における“イ 先天性の難病に関する研究目的での作成・利用”に該当するが、同報告書中では“将来必要性が生じた時点で改めて検討する”と、この目的でのヒト胚の作成・利用の妥当性は判断保留されている。ゆえに、現時点でこの目的の研究は実施不可と理解しうる。

- ・変異修復による不妊治療に向けた基礎研究

加齢に伴う卵子の老化でみられる染色体異常は女性不妊の主な要因の一つである。しかし、染色体異常をゲノム編集で修復するのは現状極めて困難であり、研究目的として妥当ではない。一方、近年不妊に関与する遺伝子変異が見出されている。例えば、TUBB8 遺伝子の変異には微小管の挙動に異常をもたらし、卵子の減数分裂に支障をきたすことで不妊の原因となっていることが報じられている。未熟な GV 期卵子で HDR を行ない、*in vitro* maturation で成熟卵子を得る可能性はあるが、修復後、正常タンパク質が発現し、機能回復が見込めるかは疑問である[10]。以上のことから、不妊治療目的の基礎研究において、卵子や受精卵にゲノム編集技術を使用する妥当性は見出しにくい。

一方、男性不妊の 5～10%にみられる Y 染色体の AZF 領域の微小欠失は、CRISPR/Cas9 などで修復できる可能性があるため、検討に値する。また TEX11 遺伝子のいくつかの変異は、精子形成における減数分裂に問題を起こし、無精子症による男性不妊の原因であることが知られている[10]。これらのケースでの実験は精子幹細胞かそれ以前の始原生殖細胞を対象として実施することになる。欠失修復後は、成熟精子に分化誘導させ、発生能を確かめるために受精実験が必要である。

この研究は、生まれついてもつ遺伝子変異による不妊の治療開発であり、平成 16 年「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」における“ア 生殖補助医療研究目的での作成・利用”とも“イ 先天性の難病に関する研究目的での作成・利用”とも解釈しうるが、“イ”の目的でのヒト胚の作成・利用の妥当性の判断は保留されている。

- ・配偶子形成や初期発生機構を解明する科学研究

この研究から得られる成果は生殖医療の技術の維持、向上、安全性確保に資すると考えられ、平成 16 年「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」における“ア 生殖補助医療研究目的での作成・利用”に適合しうる。

具体的な内容としては、

- ・胚性ゲノム活性化（全能性・多能性の獲得）の分子機序

- ・胎盤と内部細胞塊（個体発生の元）の分化分子機序
- ・受精胚内性差非対称性エピジェネティック制御機構
- ・初期胚特異的 X 染色体不活化制御機序
- ・受精卵後の卵割期でおこる染色体分配にかかる分子機序
- ・ミトコンドリア複製に関わる分子機序（ミトコンドリア及び核ゲノム）

などが例として挙げられる。

ゲノム編集のアプローチとしては、NHEJ や HDR の他、CRISPR/Cas9 を活用したゲノム特定領域の標識、一過性遺伝子発現制御が考えられる。

ヒト胚研究と倫理的問題

・上記検討から、受精卵、配偶子（特に卵子）を用いた研究で有意義なデータを得る可能性と、「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」との適合性の観点で、男性生殖細胞に局限した「変異修復による不妊治療に向けた基礎研究」と、「配偶子形成や初期発生機構を解明する科学研究」が、さらなる検討に値する。

・一方、基礎研究といえども、ヒト胚研究に対しては一部の市民は懸念されているようである。逆に推進すべきとの意見もある。以下、近年のパブリックコメントから概要を示す。

【案件番号 185000474】

生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用に関する倫理指針の整備に関する意見募集の結果について

公募期間：平成 22 年 7 月 9 日～平成 22 年 8 月 7 日

提出いただいた方の人数：15 名

提出された意見の数：延べ 17 件

提出された意見

① 指針案に肯定の意志を明示している意見 1 名、1 件

- ・指針案を支持する。

② 指針案の各論に関する意見 1 名、1 件

- ・提供を受けることのできる非凍結卵子の条件に関して、条件を無くすべき。

③ ヒト受精胚の作成に反対の意見 13 名、15 件

・受精後 14 日以内／以後にかかわらず、ヒト胚は受精した瞬間からヒトであるため、研究目的で作成することは認められない。

- ・カトリックでは、ヒト胚は受精の瞬間から人間の尊厳をもつ。
- ・ヒト胚作成という自然界にはありえないことを人為的にやることに抵抗を感じる。

【案件番号 185000446】

ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞及びヒト組織幹細胞からの生殖細胞の作成に関する指針の整備

に関するパブリックコメント（意見公募手続）の結果について（一部割愛）

公募期間：平成 21 年 12 月 16 日～平成 22 年 1 月 14 日

提出いただいた方の人数：45 名

提出された意見の数：延べ 53 件

提出された意見

① 生殖細胞の作成に肯定的な意見 41 名、43 件

そのうち、作成された生殖細胞からのヒト胚の作成の禁止を含め、研究に条件等を設けるべきでないとの意見 23 名、25 件

② 生殖細胞の作成に関連した意見（一部）

・ 生殖細胞の作成に対する審議が不十分であり、その状況下での意見公募に反対。これまでの作業を白紙に戻し、最初から検討・審議し直すべきとの意見

③ 生殖細胞の作成に直接関連しないと考えられる意見（一部）

・ 人クローン研究等に関する意見（人クローン研究を制限すべきでない、積極的に推進すべき等）

・ ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究の場合、ヒト胚の利用・作成の他、遺伝子改変という要素が加わることで、上記とは異なる印象や懸念を人々に与えていることが想定される。ゆえに、遺伝子改変の目的、ヒト胚の使用数と管理、培養期間などについての実験審査および研究過程および結果の透明性の確保が重要と思料される。

規制に関する考察

（臨床応用の規制）

・ 上で言及した中国では厚生省指針「人类辅助生殖技术与人类精子库相关技术规范、基本标准和伦理原则 2003」では、生殖を目的としたヒト配偶子、受精卵、胚の遺伝子改変を禁止している。指針違反は研究費の喪失、研究実施資格の停止のほか、場合によっては罰金や失職もありえる。

・ 英国法「Human Embryology and Fertilisation Act1990」では、核 DNA あるいはミトコンドリア DNA を改変したヒト卵子、精子、胚の生殖利用は禁止されている（一部例外あり）。

・ スウェーデン法「Genetic Integrity Act 2006」において、遺伝子改変が人に遺伝しうる研究や治療を目的とした実験の実施は禁止、また、人に遺伝しうる遺伝子改変を企図した治療法は使用してはならないとしている。

・ 米国では歳出予算付加条項 Dickey-Wicker Amendment, 1996 Sec 509 は、連邦予算からのヒト胚を扱う研究に対する助成を不可とされている。2015 年 12 月に成立した Consolidated Appropriations Act 2016 Sec. 749 は、FDA が遺伝子改変された生殖細胞系列を生殖に使う研究申請を審査することに連邦資金を使うことは禁じられた（申請はでき

でも承認されることはない。

・遺伝子治療を伴う生殖医療は厚生労働省「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」の下、禁止となっている[11]。しかし、ゲノム編集が遺伝子導入でなく、mRNA やタンパク質の形態で人工ヌクレアーゼを導入する場合は、この規制の対象ではない。また、指針違反しても厚生労働科研費の停止、返還、申請制限という程度である。

（日本における基礎研究関連の主な規制）

- ・（ES 細胞を樹立する場合）ヒト ES 細胞の樹立に関する指針
- ・（生殖細胞を作製する場合）ヒト iPS 細胞又はヒト組織幹細胞からの生殖細胞の作成を行う研究に関する指針 *この場合、受精胚の作成は禁止
- ・（胚作成する場合）生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用に関する倫理指針
- ・上記に該当しない研究、例えば、精子幹細胞やいわゆる余剰胚（14 日以内の培養ないしは作成日から原始線条が現れるまで）を用いてゲノム編集を行う研究は現在、国の規制はない。
- ・我が国は、現状、拙速な臨床応用を防止する規制が不十分であり、また生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究についても様々な実験パターンがあるものの、研究者から見て適用すべき指針が分かりにくい状況にある。一方、生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用に関する倫理指針については承認実績がゼロという状況にある。もし、生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究が社会に受け入れられるならば、①適用すべき指針の明示、②関連指針の改正、③行政指針の抜本的な整理統合、④関連規制法の制定のいずれの対応が必要であろう。

展望

中国の論文が示した通り、胎内移植を行わないヒト受精卵ゲノム編集の基礎研究は社会に強いメッセージを放ちうる。翻るに、日本は生殖医療のあり方に関する議論を深めることができないまま、生殖医療大国となってしまっている我が国の現状を考えると、ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究を安易に実施すべきではない。

一方、ゲノム編集の登場で、ヒト発生の理解、不妊に係る遺伝学的基盤の解明、ある種の生殖医療開発へ向けた基礎研究が可能になったのも事実である。ヒト生殖細胞系列ゲノム編集の基礎研究は、一定の社会合意の下、適切な規制に従って、個別の研究計画について慎重な審査を受けた後に実施すべきである。また、社会から誤解を受けない研究の透明性確保と丁寧な説明が重要であろう。

この基礎研究の今後のあり方は、平成 16 年「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」に立ち返りつつ、一般の人々との対話を行い、正当な目的をまず見定めるべきである。本委員会は、2017 年 4 月 30 日開催の公開シンポジウムで一般の人々への説明と意見を拝聴する機会を設け、提言とりまとめの糧とする予定である。提言の中で、正当と考えられる研究目的、適切な規制の姿、研究審査と透明性確保のあり方について言及する予定である。

参考文献

1. Ishii T. Germline genome-editing research and its socioethical implications. *Trends Mol Med*. 2015 Aug;21(8):473-81.
2. Irie, N. et al. SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate. *Cell*, 160 (2015), pp. 253–268
3. Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, Lv J, Xie X, Chen Y, Li Y, Sun Y, Bai Y, Songyang Z, Ma W, Zhou C, Huang J. “CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes.” *Protein Cell*. 2015 May;6(5):363-72.
4. Kang X, He W, Huang Y, Yu Q, Chen Y, Gao X, Sun X, Fan Y. ‘Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing.’ *J Assist Reprod Genet*. 2016 May;33(5):581-8.
5. Tang L, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human zygotes using Cas9 protein. *Mol Genet Genomics*. 2017 Mar 1. doi: 10.1007/s00438-017-1299-z.
6. Le Page, M. First results of CRISPR gene editing of normal embryos released. *New Scientist*.
<https://www.newscientist.com/article/2123973-first-results-of-crispr-gene-editing-of-normal-embryos-released/>
7. Reddy, P. et al. (2015) Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell* 161, 459–469.
8. Callaway, E. Gene-editing research in human embryos gains momentum.
<http://www.nature.com/news/gene-editing-research-in-human-embryos-gains-momentum-1.19767>
9. OMIM URL : <https://www.omim.org/statistics/entry>
10. Ishii, T. Reproductive medicine involving genome editing: clinical uncertainties and embryological needs. *Reprod Biomed Online*. 2017 Jan;34(1):27-31.
11. 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第一章 第七「生殖細胞等の遺伝的改変の禁止」“人の生殖細胞又は胚（一の細胞又は細胞群であって、そのまま人又は動物の胎内において発生の過程を経ることにより一の個体に成長する可能性のあるもののうち、胎盤の形成を開始する前のものをいう。以下同じ。）の遺伝的改変を目的とした遺伝子治療等臨床研究及び人の生殖細胞又は胚の遺伝的改変をもたらすおそれのある遺伝子治療等臨床研究は、行ってはならない”