

令和4年7月8日

第25期・第4回ヒトゲノム編集技術のガバナンスと基礎研究・臨床応用に関する委員会

ヒト受精胚におけるゲノム編集技術の医学応用 その可能性と問題点

大阪大学大学院医学系研究科 小児科学講座
大阪大学医学部附属病院 総合周産期母子医療センター

北畠 康司

ヒト受精胚の研究

14 days ルール



ヒト受精胚の研究の意義

Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis

Norah M. E. Fogarty, Afshan McCarthy, Kirsten E. Snijders, Benjamin E. Powell, Nada Kubikova, Paul Blakeley, Rebecca Lea, Kay Elder, Sissy E. Wamaita, Daesik Kim, Valdone Maciulyte, Jens Kleijung, Jin-Soo Kim, Dagan Wells, Ludovic Vallier, Alessandro Bertero, James M. A. Turner & Kathy K. Niakan 

Nature **550**, 67–73(2017) | [Cite this article](#)

1細胞期受精胚においてOCT4をノックアウト

マウス： 胚盤胞が一旦は形成される

ヒト： 胚盤胞が形成が始まって内部細胞塊が十分に形成されず、胚は崩壊

→ ヒトではマウスよりも早い時期にOCT4が必要とされる

ヒト受精卵を用いた初期発生研究が重要であることが認識された

ゲノム編集を施した受精胚からの姉妹誕生



2018年 ゲノム編集を施した受精胚からの姉妹誕生により懸念が深まる



日本医学会・日本医師会

「今後、同様な非倫理的行為が行われることのないよう、
こうした研究や医療に携わるすべての者に対して強く要請」

ゲノム編集技術の医学応用に関する検討作業部会

内閣府総合技術・イノベーション会議生命倫理専門調査会より日本医学会／日本医学会連合へ、ヒト受精卵胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての照会（平成30年2月28日）

次に掲げる(1)～(4)の疾患群を対象として、ヒト受精卵胚にゲノム編集技術を用いることによって、疾患の病因、発生機序等の解明に資する研究が可能と考えられる「疾患」について、共通する遺伝的特性、性質（分子生物学的なものを含む。）等を有する場合はそれに従い分類したうえで、その根拠、利用が想定されるゲノム編集技術等を含め御回答ください。

なお、治療法（予防法含む。）の開発を直接の目的としたヒト受精卵胚にゲノム編集技術を用いる研究は除きます。

- (1) 難病の患者に対する医療等に関する法律に指定されている難病
- (2) 小児慢性特定疾病の対象疾患
- (3) (1) 及び (2) 以外の遺伝性（先天性）疾患（希少疾患を優先する。）
- (4) (1) 、 (2) 及び (3) 以外のがん等遺伝性の病因により発生する疾患

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての検討

ゲノム編集の医学応用研究に特に関連がある14学会を抽出し、各学会からの代表者から成る「**日本医学会連合・ゲノム編集技術の医学応用に関する検討作業部会**」を設置

“ヒト受精胚にゲノム編集技術を用いることによって、疾患の病因、発生機序等の解明に資する可能性” について検討を行った

検討におけるポイント：

- ✓ 指定難病、小児慢性特定疾病、がんなどの遺伝性疾患を中心に
- ✓ 研究実施期間は原始線条形成までの約14日間に限定
- ✓ 治療法開発を直接の目的とした研究は除外

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての検討

① 初期胚における発生過程の異常

- 女性発症X連鎖性遺伝疾患（デュシャンヌ型筋ジストロフィー、レット症候群）
- インプリンティング異常症（アンジェルマン症候群、ベックウィズ・ヴィーデマン症候群）
- 染色体異数性疾患（21, 18, 13トリソミー）
- 染色体異常疾患（環状20番染色体症候群）
- ミトコンドリア病（MELAS、MERRF）

② ヒト初期胚で機能している遺伝子の異常

- DNA / ヒストンのメチル化修飾酵素関連遺伝子異常症（歌舞伎症候群、Sotos症候群）

③ ガンに関連する疾患遺伝性腫瘍疾患

- 遺伝性腫瘍疾患

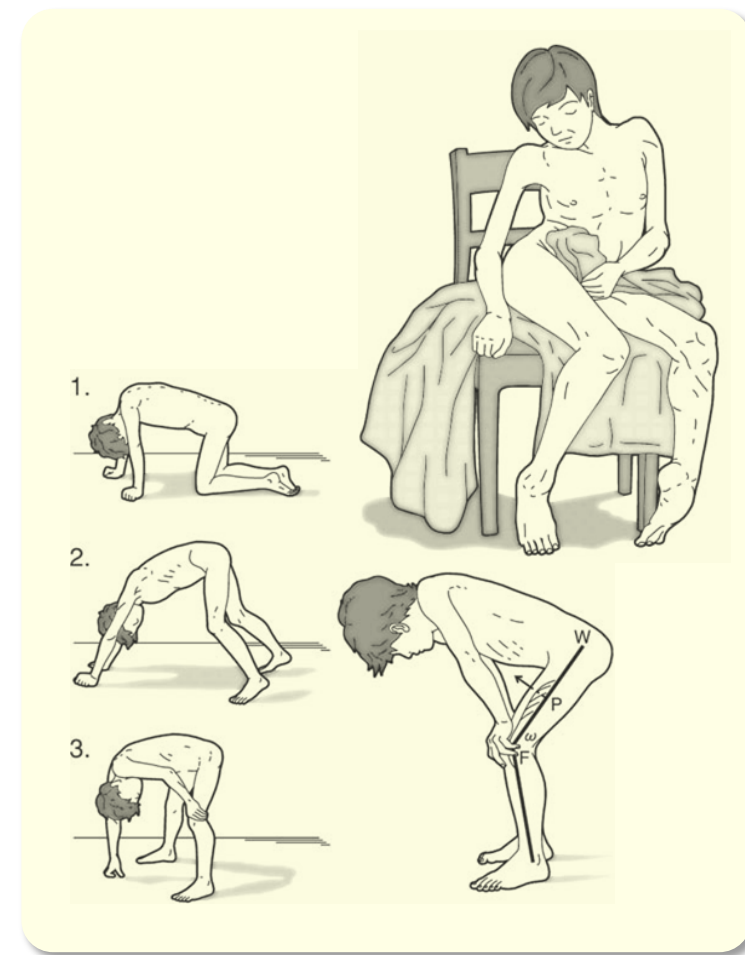
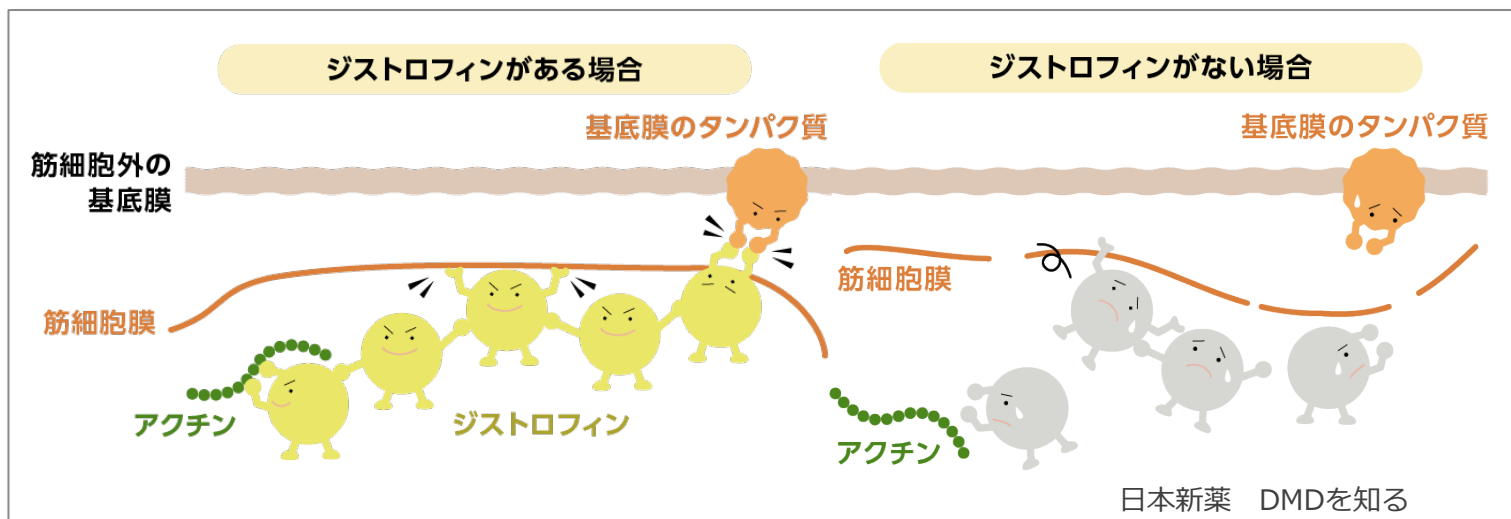
デュシャンヌ型筋ジストロフィー

■ 小児期発症の筋ジストロフィーの代表的疾患（ジストロフィー；変性・萎縮）

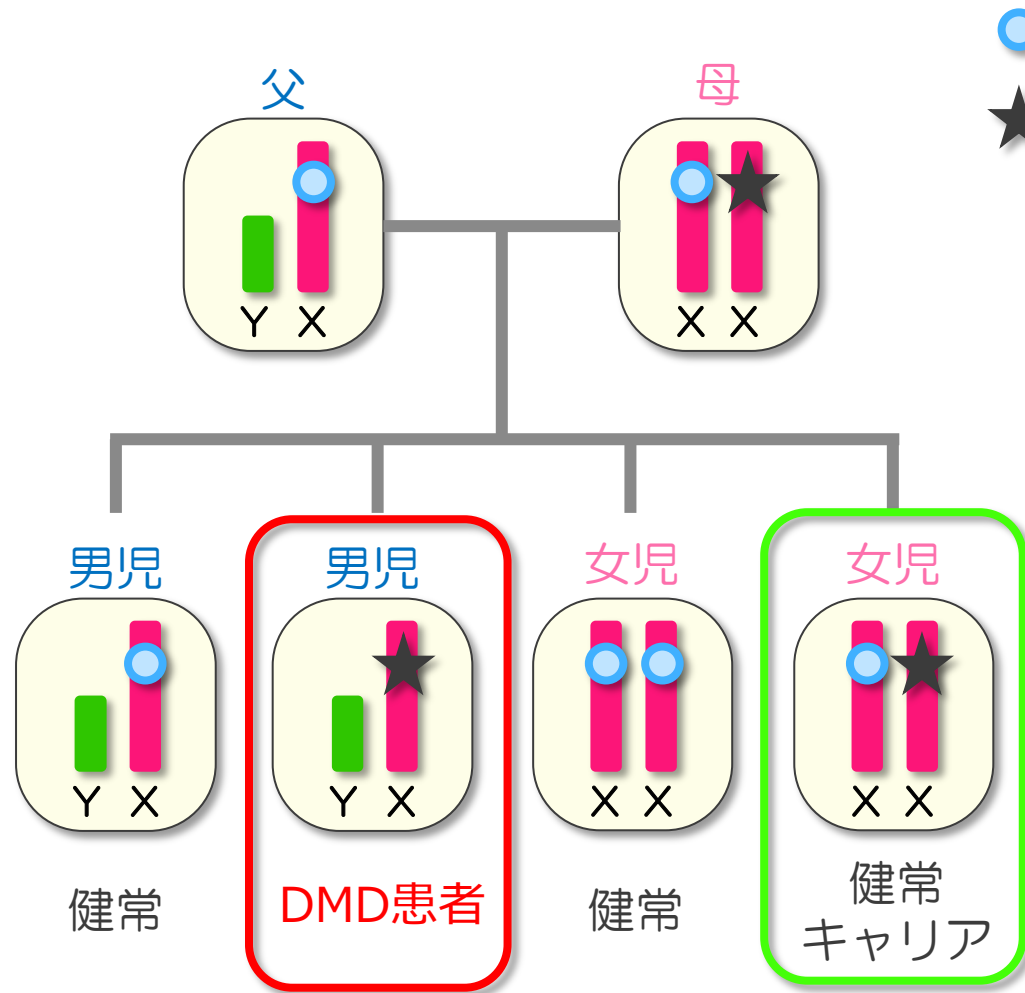
- 3～5歳ごろより転びやすい、走れないことで発症
- ゆっくりと症状が進行し10代以降歩行困難
- 20歳以降は人工呼吸器を要する

■ X染色体上にあるジストロフィン*遺伝子の異常により発症

*ジストロフィン：筋細胞膜を裏打ちする細胞骨格タンパク



デュシャンヌ型筋ジストロフィー



- X連鎖性潜性（劣性）遺伝
- 原則的に男児に発症（3000名に1人）
 - ・ 女性は無症状が多い（キャリア）
 - ・ 稀に女性でも発症する …？
(DMD保因者の3-8%)

女性ではX染色体の一本がランダムに不活化される

X染色体； **男性には1本**
女性には2本



発生の初期にX染色体の
1本を不活性化

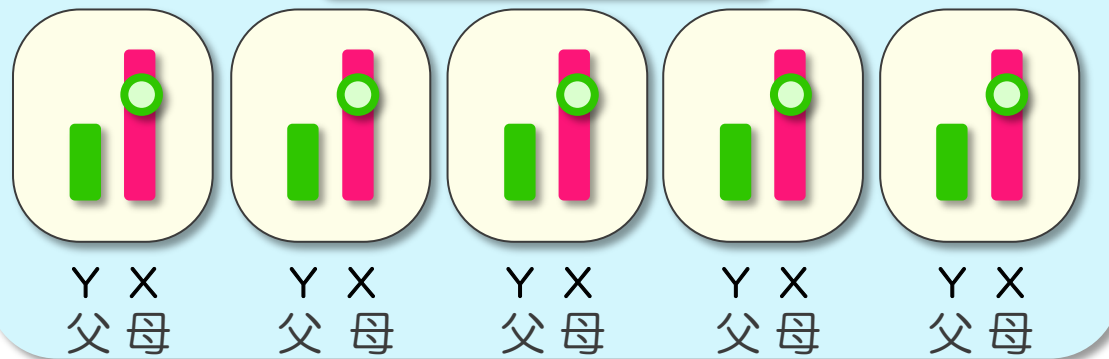
X chromosome inactivation
(XCI)



Y X
父 母
由来

男性の体細胞

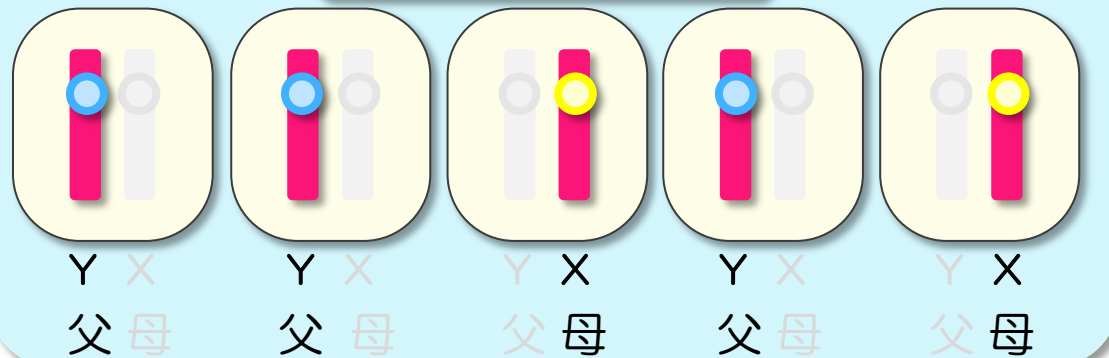
常にX染色体は活性化



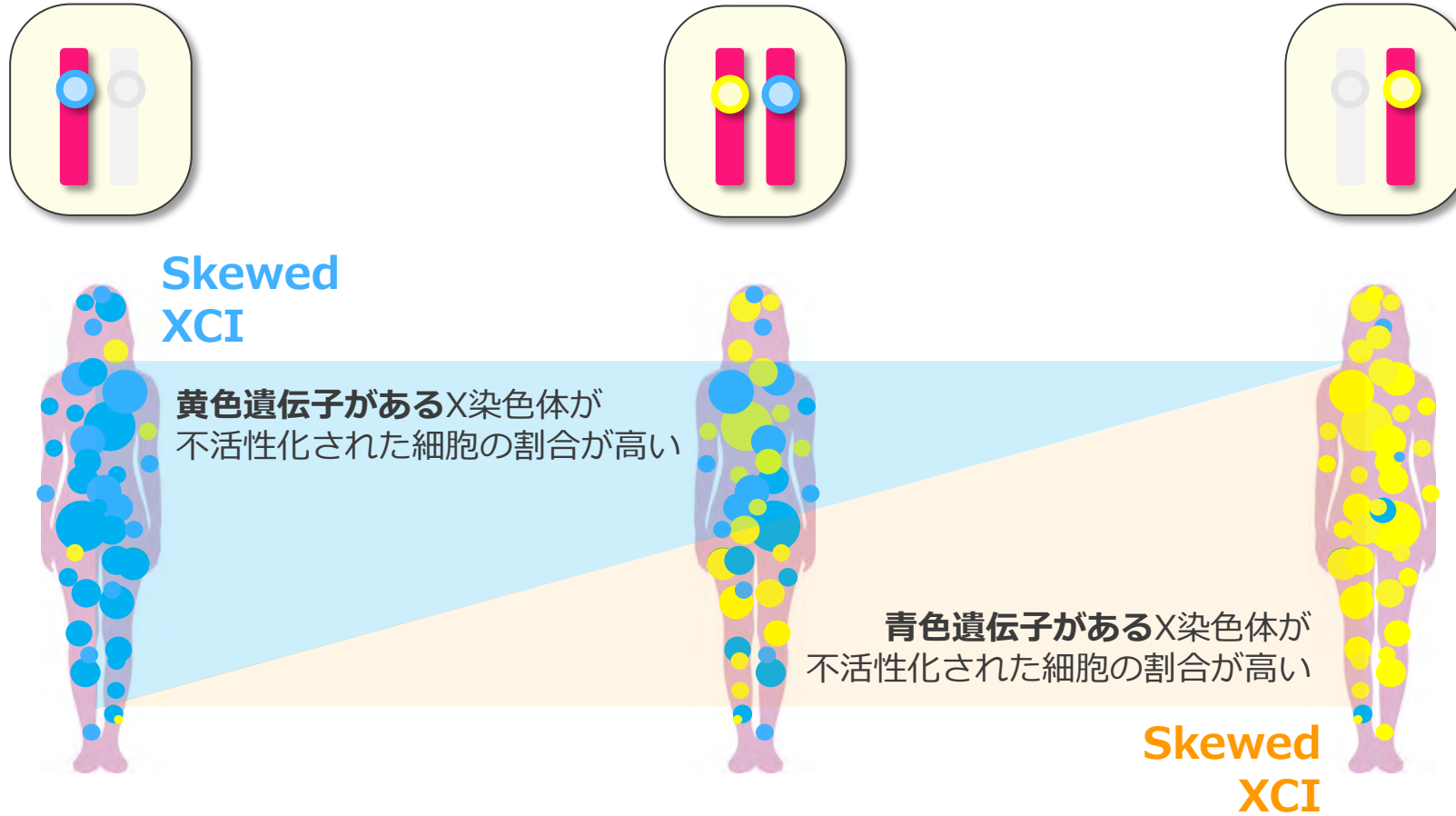
X X
父 母
由来

女性の体細胞

ひとつのX染色体が
ランダムに不活性化



X染色体不活性化に偏りが出る場合がある -skewed XCI-



デュシャンヌ型筋ジストロフィー

● 正常ジストロフィン遺伝子
★ 異常ジストロフィン遺伝子

女性・非発症保因者



女性・発症保因者



一般的に女性は
発症しないが...
(非発症保因者)



X染色体不活性化に偏り
(skewed XCI) がある場合

女性でも発症

XX
父 母
由来

XX
父 母
由来

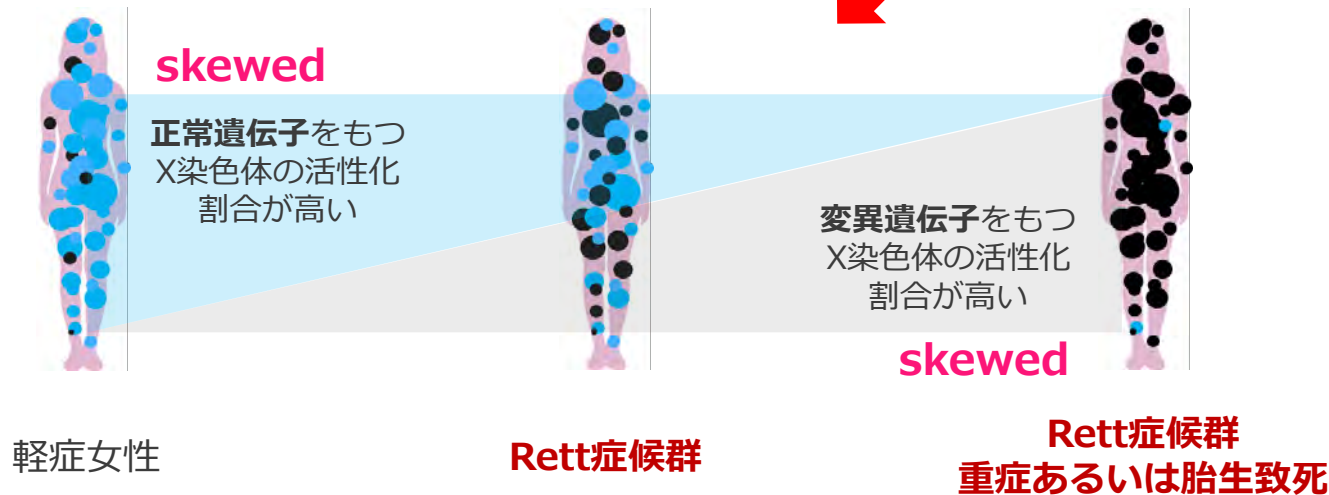
Rett症候群

- 乳児期からの発達遅滞、自閉症・てんかん・失調性歩行・特有の常同運動（てもみ動作）
- X染色体上にあるMECP2遺伝子変異により発症
 - ・ X連鎖性顕性（優性）遺伝
 - ・ ほとんどが孤発例
 - ・ 原則的に女兒に発症（男児は胎生致死）
 - ・ 稀に軽症保因女性が存在

…X染色体不活性化の偏り（skewed XCI）による重症度の変化



● 正常MECP2遺伝子
★ 異常MECP2遺伝子



ヒト受精胚の研究

14 days ルール



X染色体の不活性化は着床前初期胚の段階で決定
女性発症X連鎖性遺伝疾患のメカニズムを知るには

ヒト受精胚をもちいた研究が必須

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての検討

① 初期胚における発生過程の異常

- 女性発症X連鎖性遺伝疾患（デュシャンヌ型筋ジストロフィー、レット症候群）
- インプリンティング異常症（アンジェルマン症候群、ベックウィズ・ヴィーデマン症候群）
- 染色体異数性疾患（21, 18, 13トリソミー）
- 染色体異常疾患（環状20番染色体症候群）
- ミトコンドリア病（MELAS、MERRF）

② ヒト初期胚で機能している遺伝子の異常

- DNA / ヒストンのメチル化修飾酵素関連遺伝子異常症（歌舞伎症候群、Sotos症候群）

③ ガンに関連する疾患遺伝性腫瘍疾患

- 遺伝性腫瘍疾患

ダウン症候群（21トリソミー）

21
トリソミー

- ・ 700人に1人、知的障害をもたらす遺伝性疾患では最多
- ・ 先天奇形、知能発達障害など多彩な合併症

胎児期

高齢出産
出生前診断

新生児期

先天性心疾患
消化管閉鎖

小児期

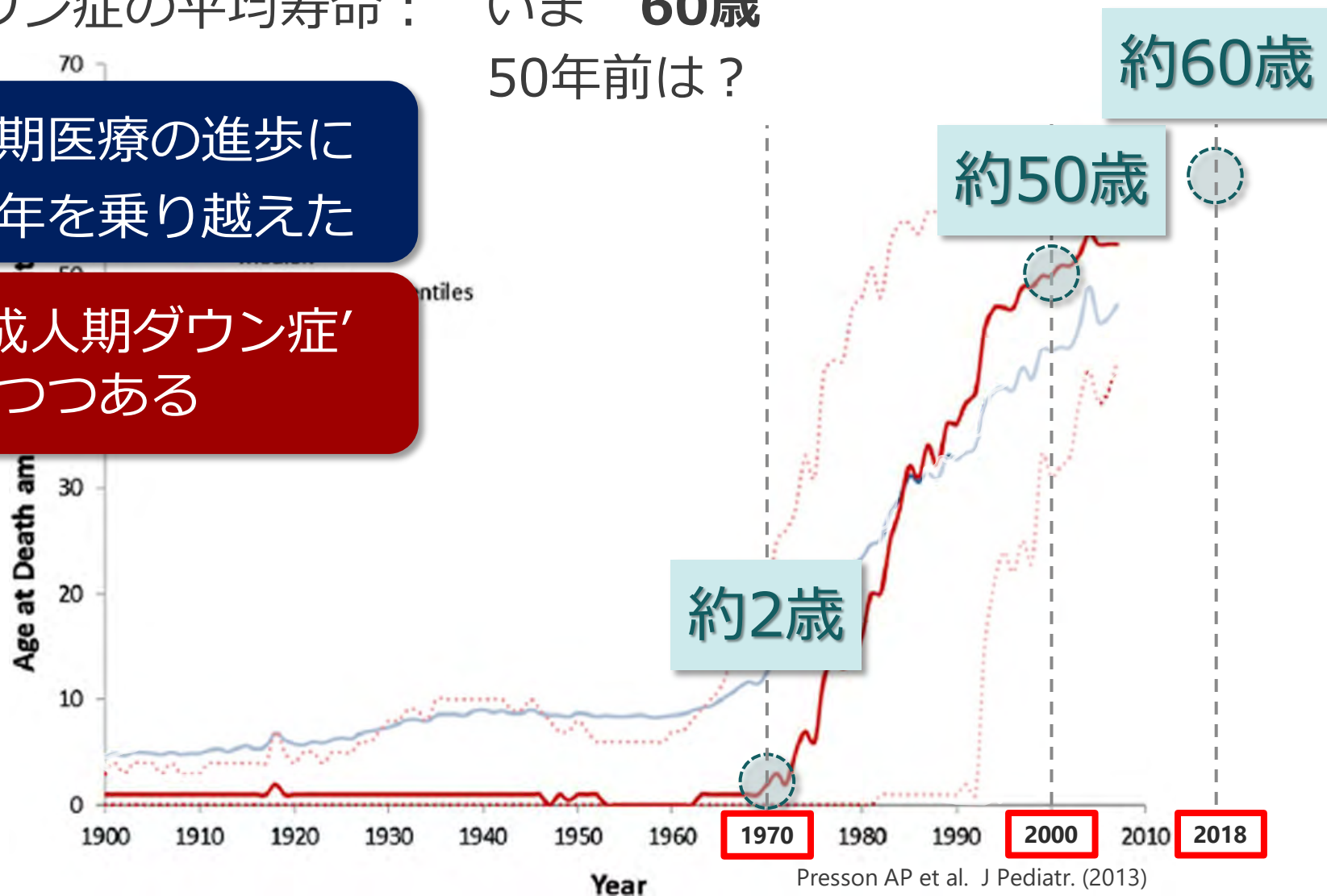
知能発達障害
白血病

ダウン症は“小児科疾患”？

ダウン症の平均寿命： いま **60歳**
50年前は？

外科技術・周産期医療の進歩によりはじめの数年を乗り越えた

社会は初めて‘成人期ダウン症’に気づきつつある



ダウン症候群（21トリソミー）

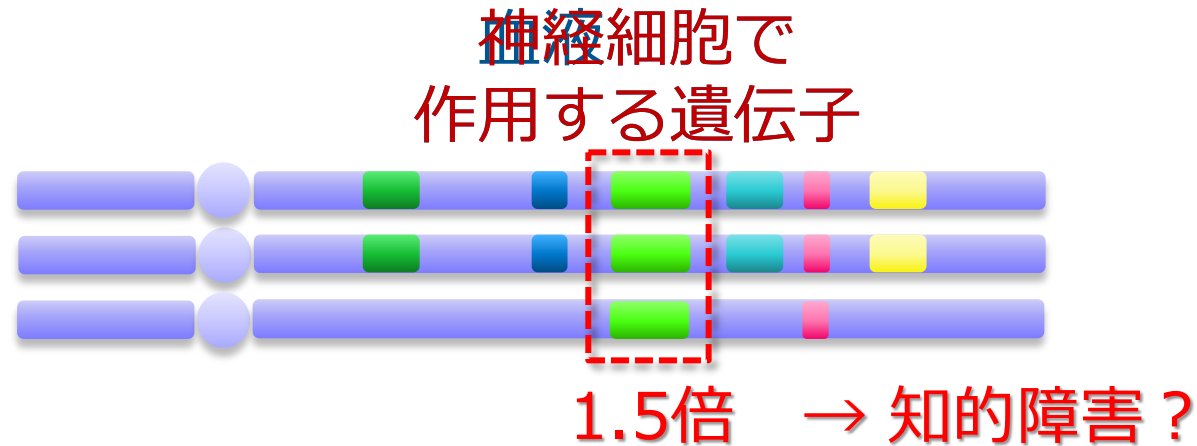
21
トリソミー

- 700人に1人、知的障害をもたらす遺伝性疾患では最多
- 先天奇形、知能発達障害など多彩な合併症
- 胎児期から成人期まで問題が大きく広がっている



ダウン症候群の病態メカニズム

21番染色体
トリソミー



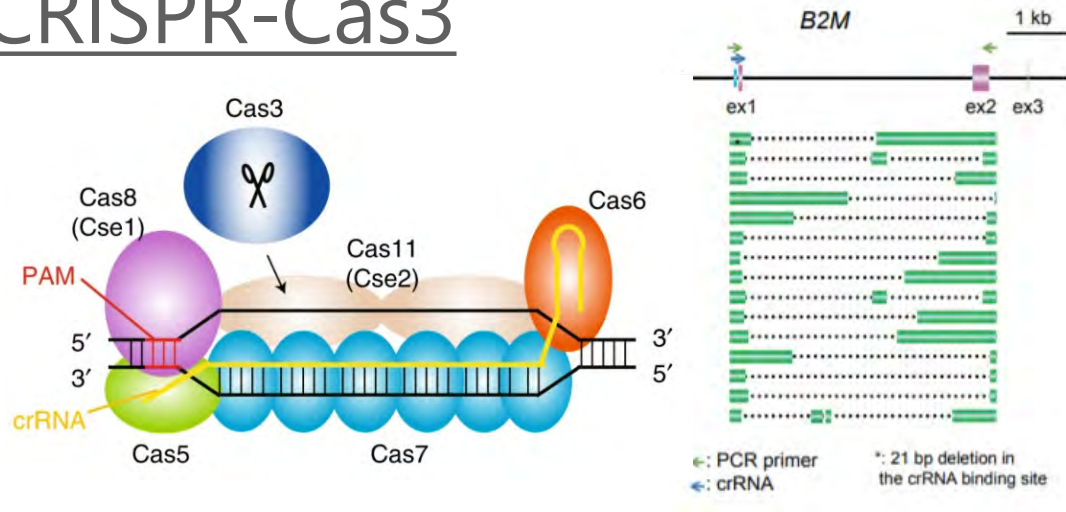
遺伝子量効果

21番染色体上にある責任遺伝子が分かれば、
治療法開発につながる

ただし、完全欠失すればよいわけではない
“正確なコピー数補正（3コピー→2コピー）”が必要

アレル特異的SNPとCRISPR-Cas3による遺伝子量補正

CRISPR-Cas3



- 真下らによって開発された国産ゲノム編集技術
(Morisaka et al. *Nat Comm* 2019)
- 数百bp～数十kbpの**大規模な領域欠失**をもたらす
... “切る”のではなく“削る”
- 認識特異性が高く、オフターゲットが少ない

21トリソミー 標的遺伝子 アレル特異的SNP



- 標的遺伝子の1アレル近傍だけに存在するSNPを探し出す
- CRISPR-Cas3を作用させ正確にその1コピーだけを削る

もしヒト受精卵にアレル特異的欠失を応用すれば…

セントロメア欠失による染色体除去

21トリソミー



セントロメア近傍にSNPを見つけ、CRISPR-Cas3を作用させてセントロメア欠失を誘導することができれば、染色体そのものを除去することが可能かもしれない

…でも本当にいいの？

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての検討

ゲノム編集の医学応用研究に特に関連がある14学会を抽出し、各学会からの代表者から成る「日本医学会連合・ゲノム編集技術の医学応用に関する検討作業部会」を設置

“ヒト受精胚にゲノム編集技術を用いることによって、疾患の病因、発生機序等の解明に資する可能性” について検討を行った

検討におけるポイント：

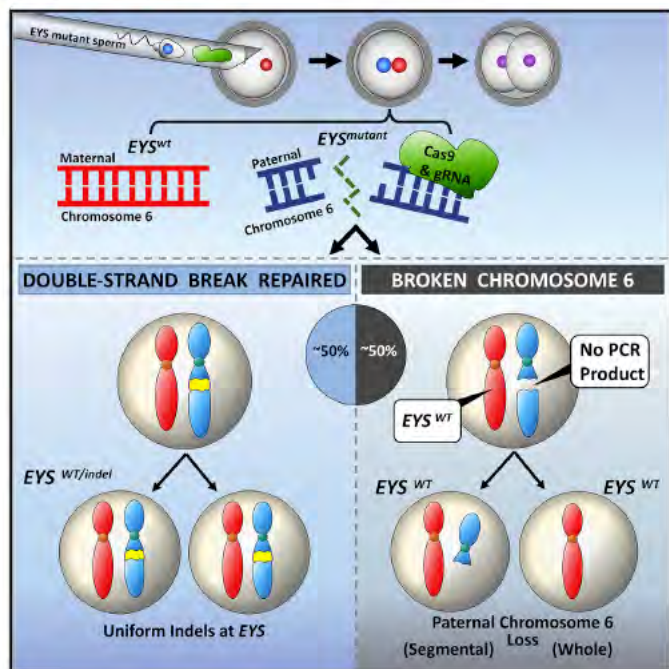
- ✓ 指定難病、小児慢性特定疾病、がんなどの遺伝性疾患を中心に
- ✓ 研究実施期間は原始線条形成までの約14日間に限定
- ✓ **治療法開発を直接の目的とした研究は除外**

ヒト胚ゲノム編集は 大規模なオフターゲット作用を引き起こす

Cell

Allele-Specific Chromosome Removal after Cas9 Cleavage in Human Embryos

Graphical Abstract



Authors

Michael V. Zuccaro, Jia Xu, Carl Mitchell, ..., Rogerio Lobo, Nathan Treff, Dieter Egli

Correspondence

de2220@cumc.columbia.edu

In Brief

CRISPR-Cas9 gene editing in early human embryos leads to frequent loss of the targeted chromosome, indicating that human germline gene editing would pose a substantial risk for aneuploidy and other adverse genetic consequences

Article

FREQUENT GENE CONVERSION IN HUMAN EMBRYOS INDUCED BY DOUBLE STRAND BREAKS

Dan Liang, Nuria Marti Gutierrez, Tailai Chen, Yeonmi Lee, Sang-Wook Park, Hong Ma, Amy Koski, Riffat Ahmed, Hayley Darby, Ying Li, Crystal Van Dyken, Aleksei Mikhilchenko, Thanasup Gonmanee, Tomonari Hayama, Han Zhao, Keliang Wu, Jingye Zhang, Zhenzhen Hou, Jumi Park, Chong-Jai Kim, Jianhui Gong, Yilin Yuan, Ying Gu, Yue Shen, Susan B. Olson, Hui Yang, David Battaglia, Thomas O'Leary, Sacha A. Krieg, David M. Lee, Diana H. Wu, P. Barton Duell, Sanjiv Kaul, Jin-Soo Kim, Stephen B. Heitner, Eunju Kang, Zi-Jiang Chen, Paula Amato, Shoukhrat Mitalipov

doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.19.162214>

Frequent loss-of-heterozygosity in CRISPR-Cas9-edited early human embryos

Gregorio Alanis-Lobato, Jasmin Zohren, Afshan McCarthy, Norah M.E. Fogarty, Nada Kubikova, Emily Hardman, Maria Greco, Dagan Wells, James M.A. Turner, Kathy K. Niakan

doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.05.135913>

ゲノム編集によって遺伝子修復を行ったヒト受精胚では、
標的遺伝子座を超える範囲で
意図しない領域欠失・獲得が高頻度で発生

ヒト胚ゲノム編集は 大規模なオフターゲット作用を引き起こす

NEWS • 25 JUNE 2020

CRISPR gene editing in human embryos wrecks chromosomal mayhem

Three studies showing large DNA deletions and reshuffling heighten safety concerns about heritable genome editing.

“This is something that all of us in the scientific community will take more seriously.”

“If human embryo editing for reproductive purposes, or germline editing, were space flight, the new data are the equivalent of having the rocket explode at the launch pad before take-off,” says Fyodor Urnov.



Editing of human embryos is controversial. Credit: Pascal Goetgheluck/Science Photo Library

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究についての検討

ゲノム編集の医学応用研究に特に関連がある14学会を抽出し、各学会からの代表者から成る「日本医学会連合・ゲノム編集技術の医学応用に関する検討作業部会」を設置

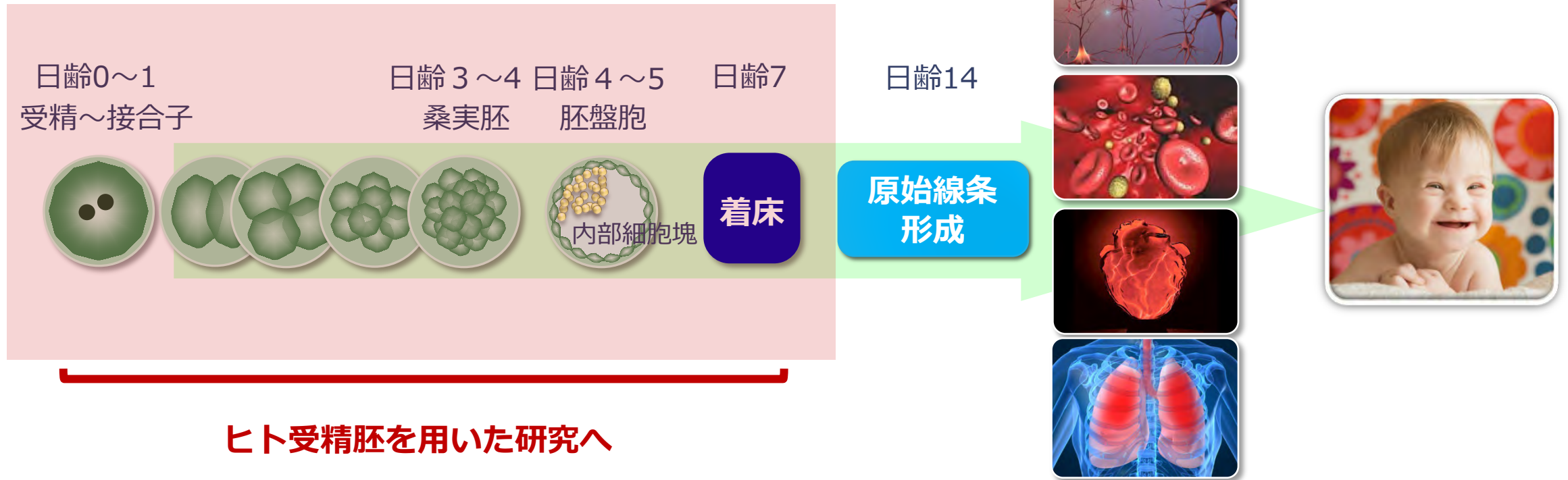
“ヒト受精胚にゲノム編集技術を用いることによって、疾患の病因、発生機序等の解明に資する可能性”について検討を行った

検討におけるポイント：

- ✓ 指定難病、小児慢性特定疾病、がんなどの遺伝性疾患を中心に
- ✓ **研究実施期間は原始線条形成までの約14日間に限定**
- ✓ 治療法開発を直接の目的とした研究は除外

ヒト受精胚の研究

14 days ルール



ヒト胚を受精後13日目まで培養する方法の開発

Published: 04 May 2016

Self-organization of the *in vitro* attached human embryo

Alessia Deglincerti, Gist F. Croft, Lauren N. Pietila, Magdalena Zernicka-Goetz, Eric D. Siggia & Ali H. Brivanlou 

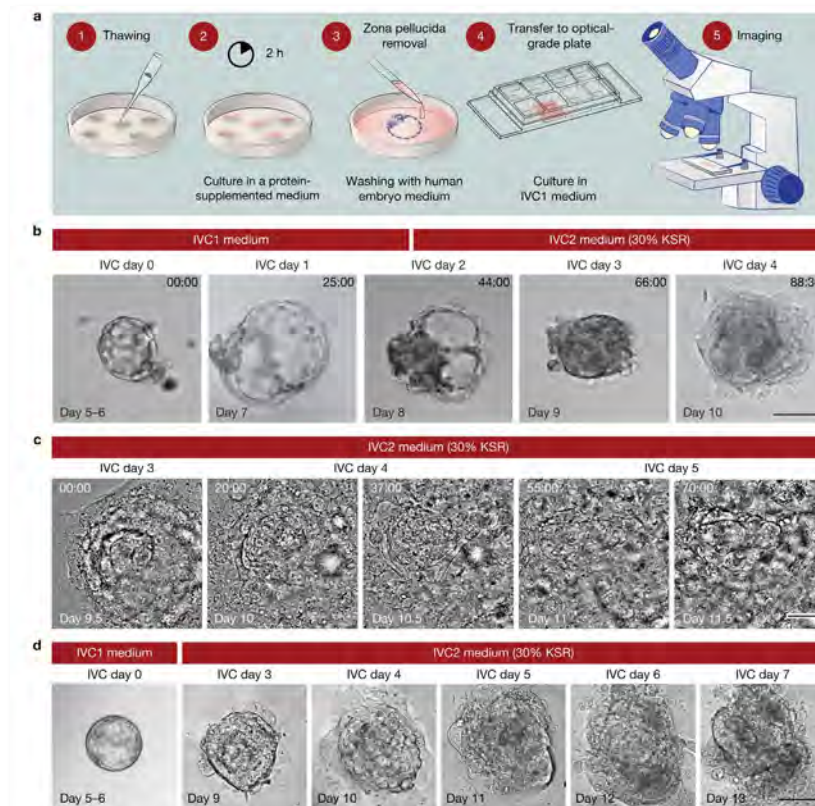
Nature **533**, 251–254 (2016) | [Cite this article](#)

Published: 04 May 2016

Self-organization of the human embryo in the absence of maternal tissues

Marta N. Shahbazi, Agnieszka Jedrusik, Sanna Vuoristo, Gaelle Recher, Anna Hupalowska, Virginia Bolton, Norah M. E. Fogarty, Alison Campbell, Liani G. Devito, Dusko Ilic, Yakoub Khalaf, Kathy K. Niakan, Simon Fishel & Magdalena Zernicka-Goetz 

Nature Cell Biology **18**, 700–708 (2016) | [Cite this article](#)



ヒト胚を母体組織なしにdish上に着床させ、受精後13日目に相当するステージに至るまで培養し続けることが技術的に可能となった

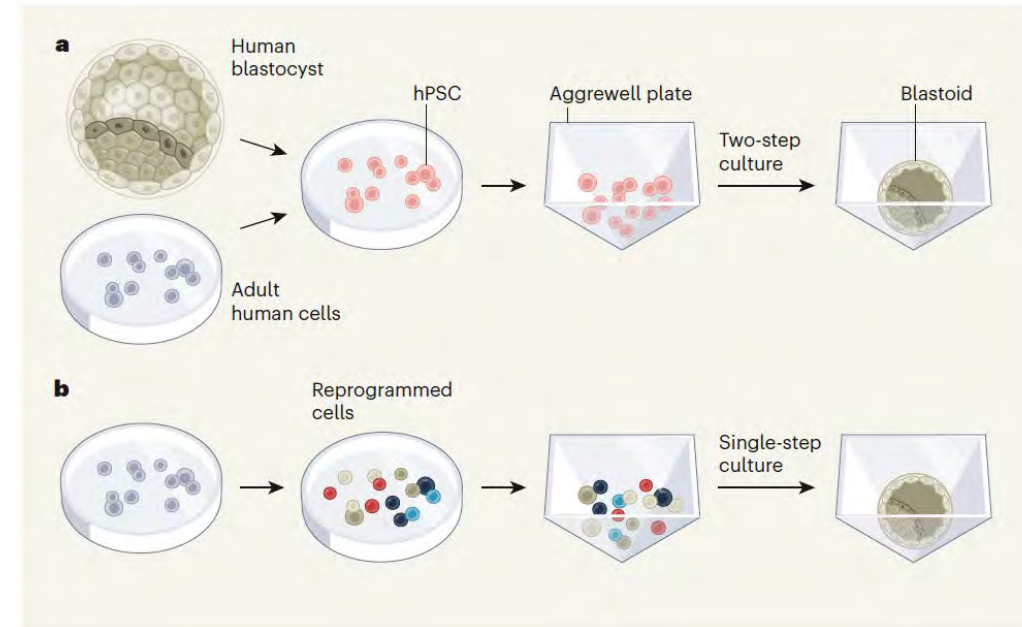
ヒトiPS細胞から胚盤胞様構造を作成

Article | Published: 17 March 2021

Modelling human blastocysts by reprogramming fibroblasts into iBlastoids

Xiaodong Liu, Jia Ping Tan, Jan Schröder, Asma Aberkane, John F. Ouyang, Monika Mohenska, Sue Mei Lim, Yu B. Y. Sun, Joseph Chen, Guizhi Sun, Yichen Zhou, Daniel Poppe, Ryan Lister, Amander T. Clark, Owen J. L. Rackham, Jennifer Zenker & Jose M. Polo 

Nature **591**, 627–632 (2021) | [Cite this article](#)



“First complete model of the human embryo”

Nature 591 (2021) News & views

皮膚組織から作られた胚盤胞は、
…生命の萌芽???

ISSCR Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation

Culture of Human Embryos Beyond formation of the primitive streak or 14 Days

Recommendation 2.2.2.1:

Given advancements in human embryo culture, and the potential for such research to yield beneficial knowledge that promotes human health and well-being, the ISSCR calls for national academies of science, academic societies, funders, and regulators to lead public conversations touching on the scientific significance as well as the societal and ethical issues raised by allowing such research. Should broad public support be achieved within a jurisdiction, and if local policies and regulations permit, a specialized scientific and ethical oversight process could weigh whether the scientific objectives justify the risks, ensuring that other societal and ethical objectives are met.

ヒト受精卵をつくり育てるという「箱」ができあがった
ゲノム編集という箱を開ける「鍵」も手に入った

あとは「パンドラの箱」を開けるだけ

ゲノム編集技術をもちいたヒト受精胚研究 これから進むべき道は

研究者として

- 新たな初期発生を理解、疾患の病態解明や治療法開発に非常に重要
- 社会に向けたメッセージの発信

臨床医として

- 医学・医療研究の社会的還元
- 技術進歩の先を読んだ体制構築へ向けた準備
塩基編集、エピゲノム編集などDNA二本鎖切断を起こさない技術が急激に進んだときどうするのか
・・・NIPT（非侵襲性出生前診断）の過ちを繰り返さないでほしい