

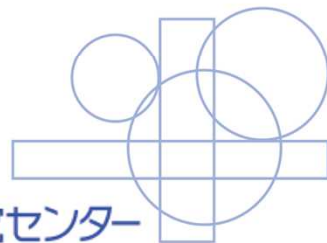
ヒト受精胚等へのゲノム編集技術等を用いる研究に関する合同会議

2019.09.18

ヒト受精胚ゲノム編集研究の現状



国立研究開発法人
国立成育医療研究センター
National Center for Child Health and Development

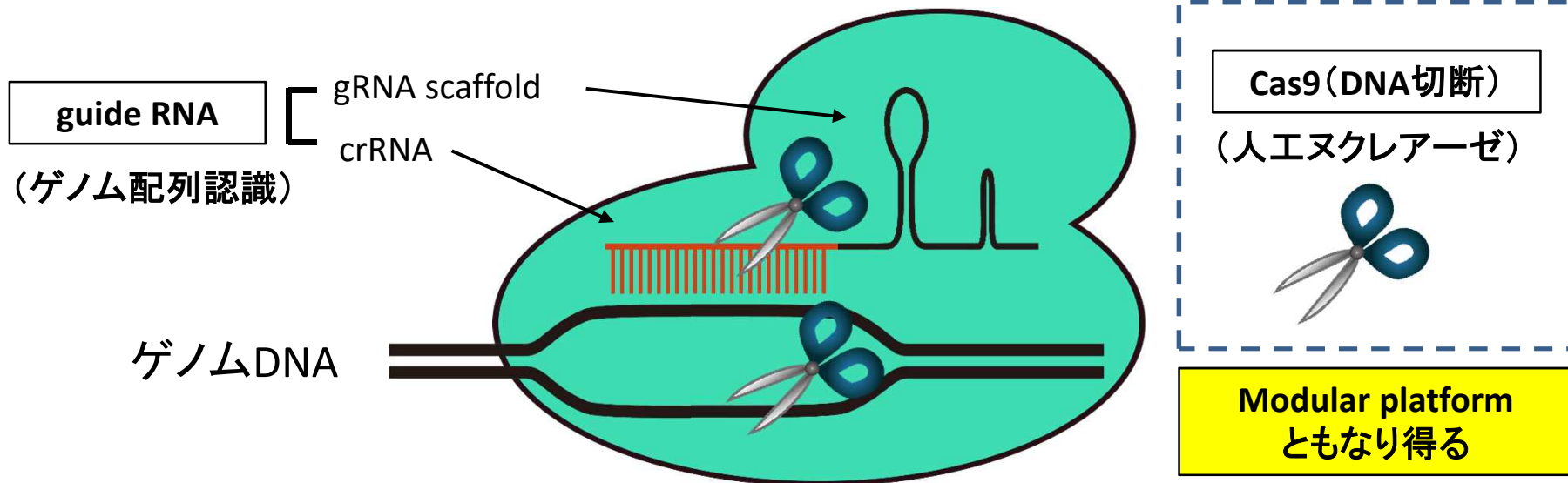


国立成育医療研究センター研究所
阿久津英憲

ゲノム編集

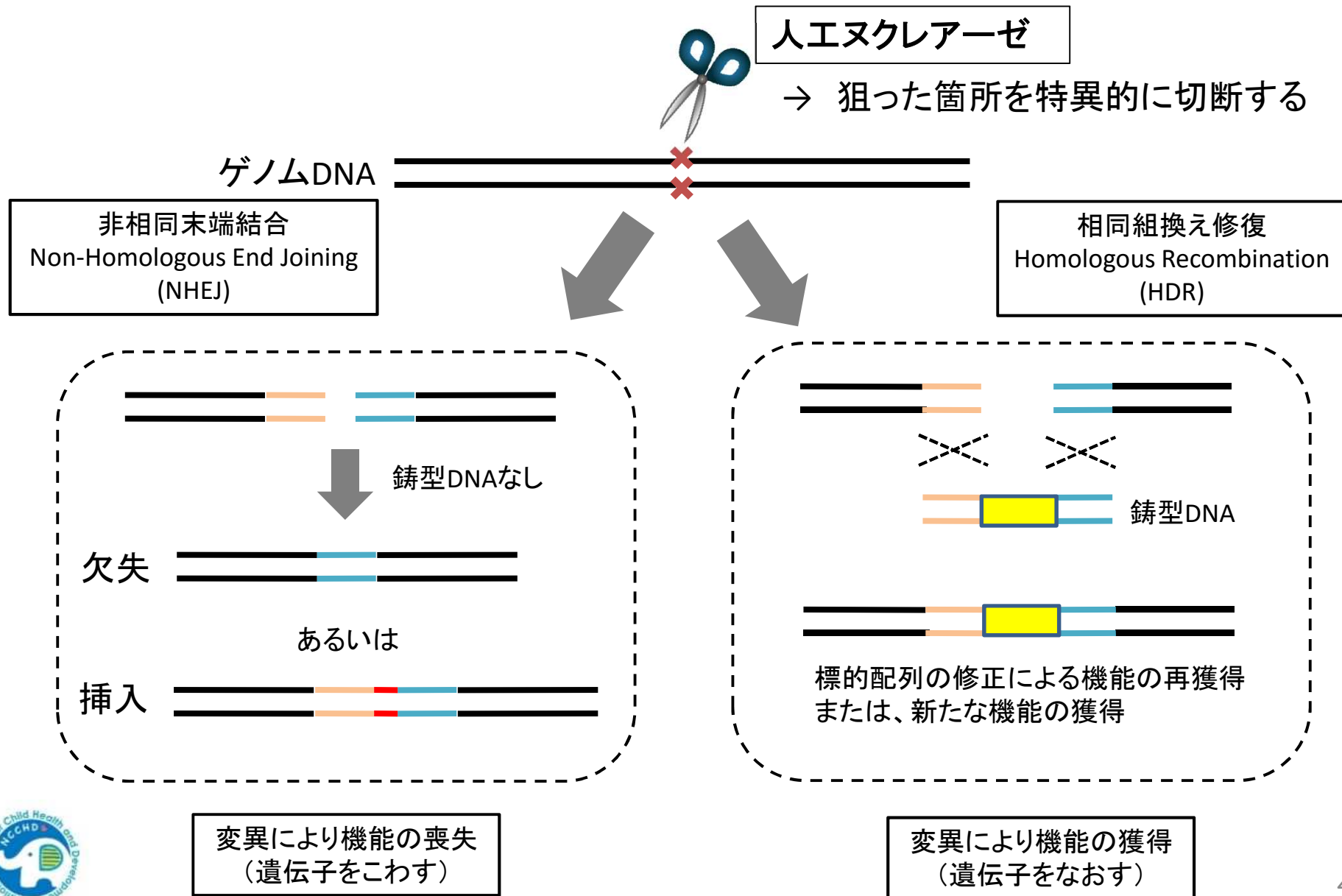


ゲノム編集技術 ; CRISPR/Cas9

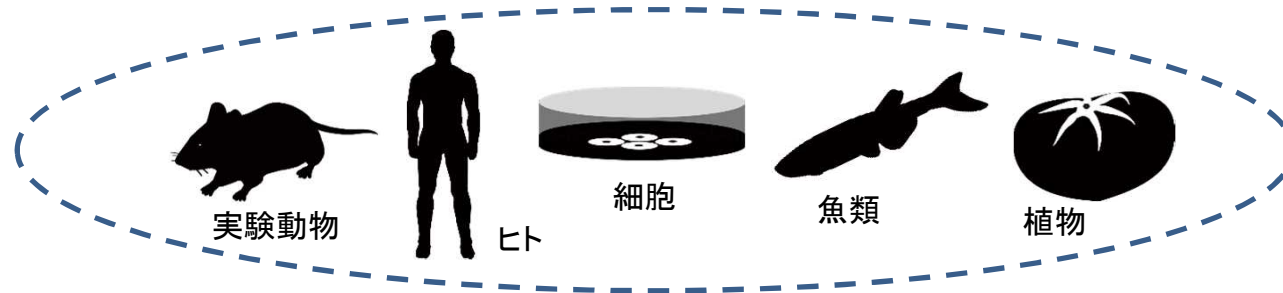


- ①ゲノムDNAを切断する人工ヌクレアーゼ (Cas9) と狙ったDNA配列にたどり着かせるガイドRNA (gRNA).
- ② 狙った箇所を切断: ほぼあらゆる遺伝子・配列が標的.
- ③ゲノムDNAが対象: 変化が不可逆的.

ゲノム編集技術 ; CRISPR/Cas9



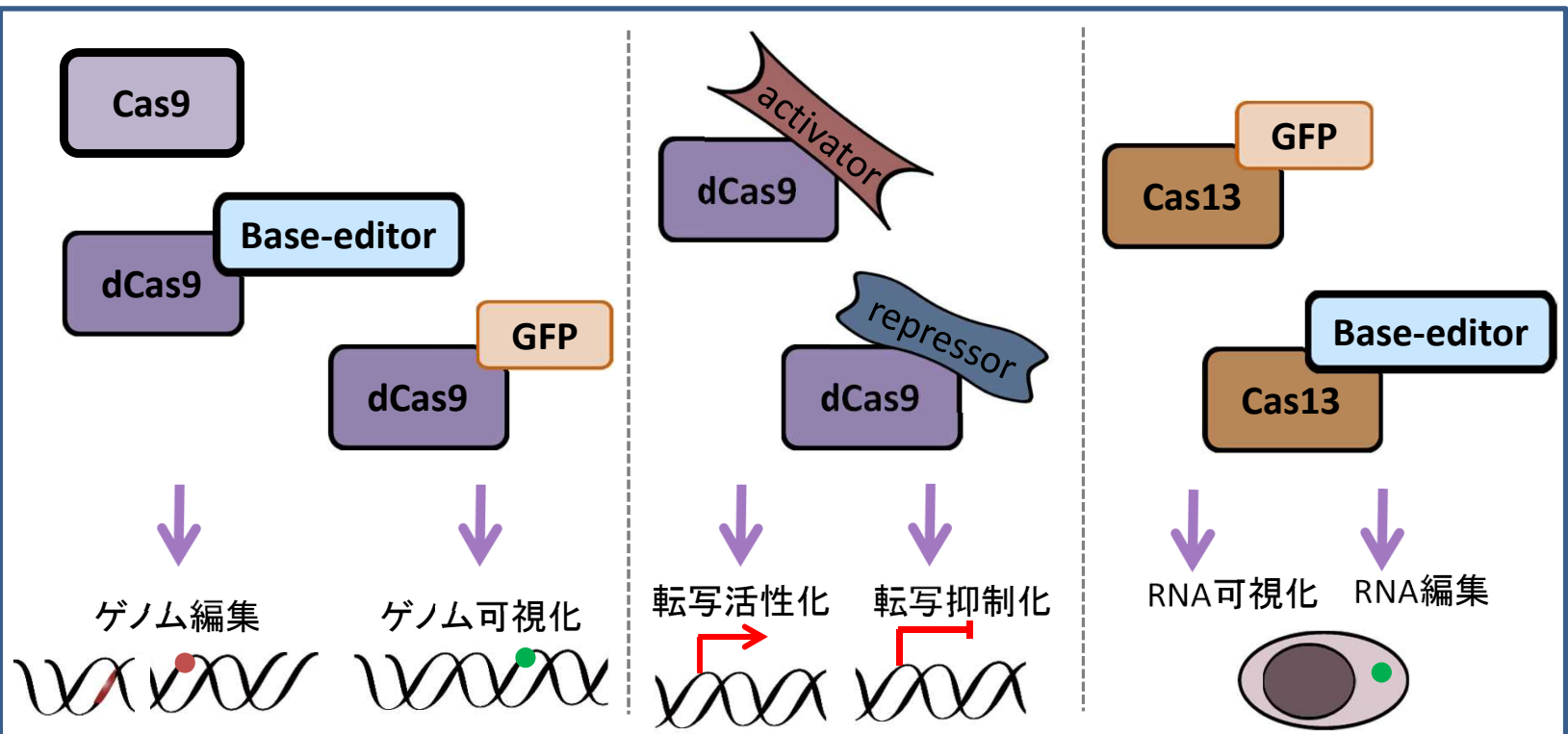
対象



セントラルド
グマ



CRISPR/Cas
システム
Modular
platform

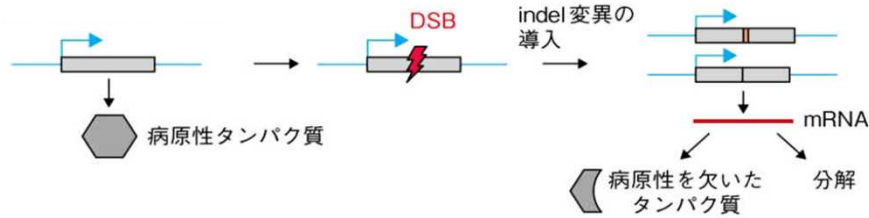


用途

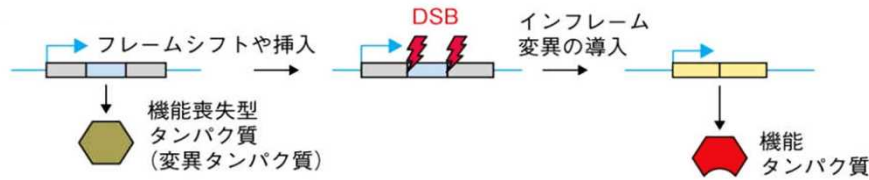


Cas9

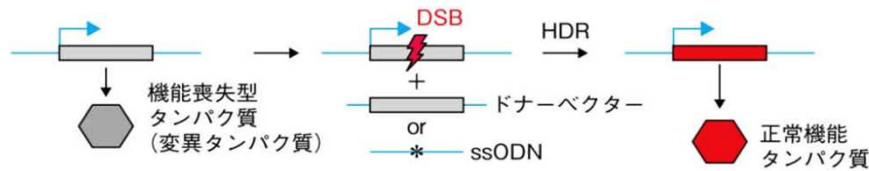
・病原性遺伝子の破壊



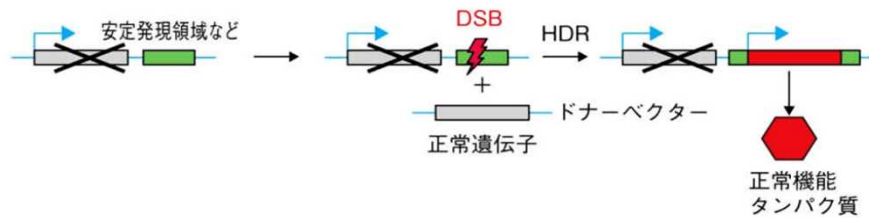
・NHEJによる修正



・HDRによる修正



・HDRによる遺伝子付加



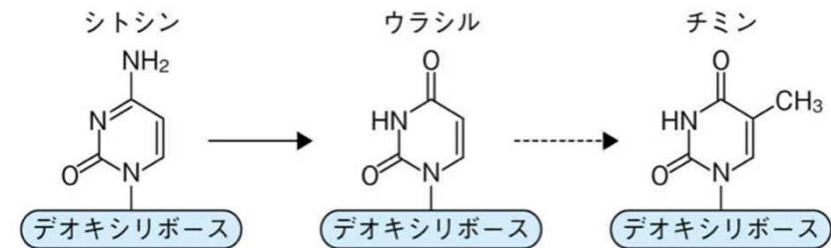
dCas9

- VP16, VP64, VP160, VPR → 転写活性化
- KRAB → 転写抑制
- DNMT/TET1 → DNAメチル化/脱メチル化
- デアミナーゼ → DNA塩基の脱アミノ化
- リコンビナーゼ → DNAの組換え
- HAT/HDAC → ヒストンアセチル化/脱アセチル化
- HMTase/LSD1 → ヒストンメチル化/脱メチル化
- GFPなどの蛍光タンパク質 → DNA標識

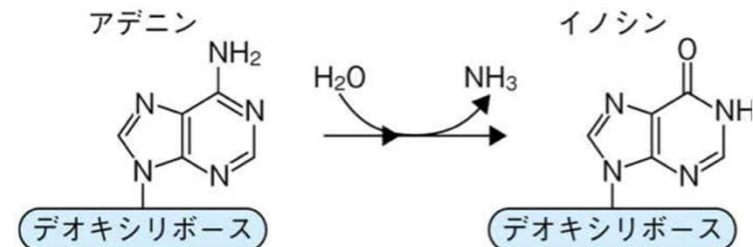
dCas9

Base-editor

・CをTに編集

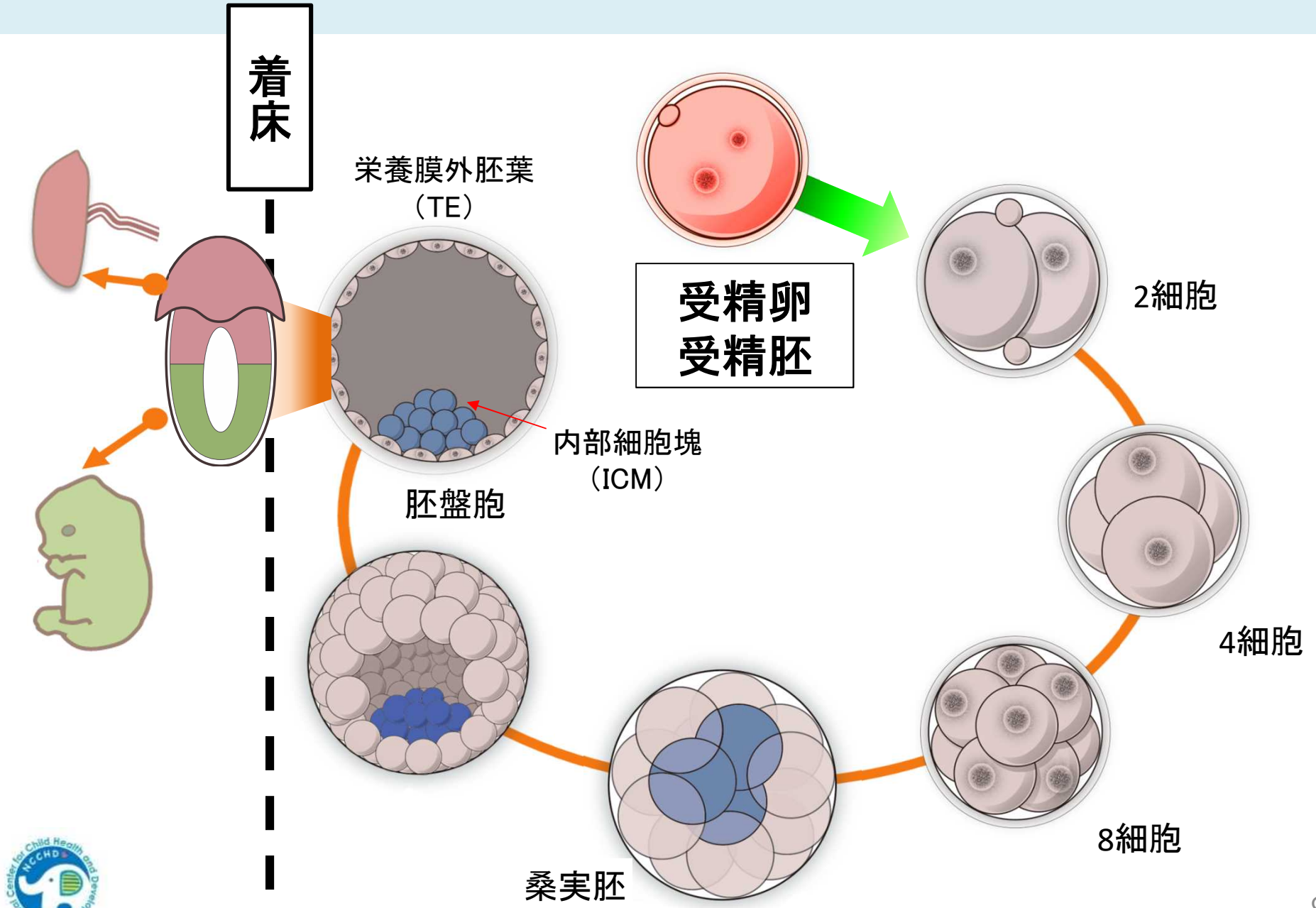


・AをGに編集

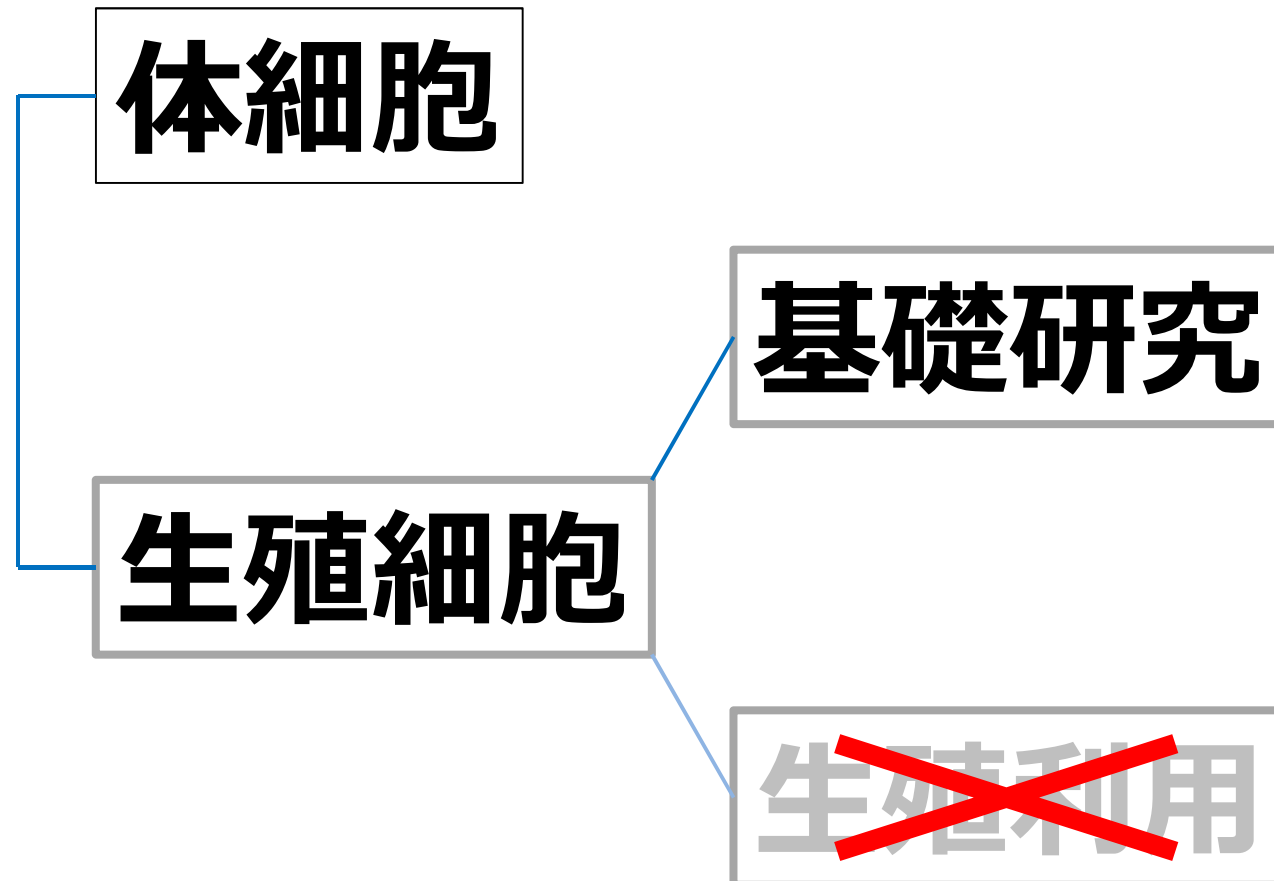


研究の対象

受精から着床前期胚



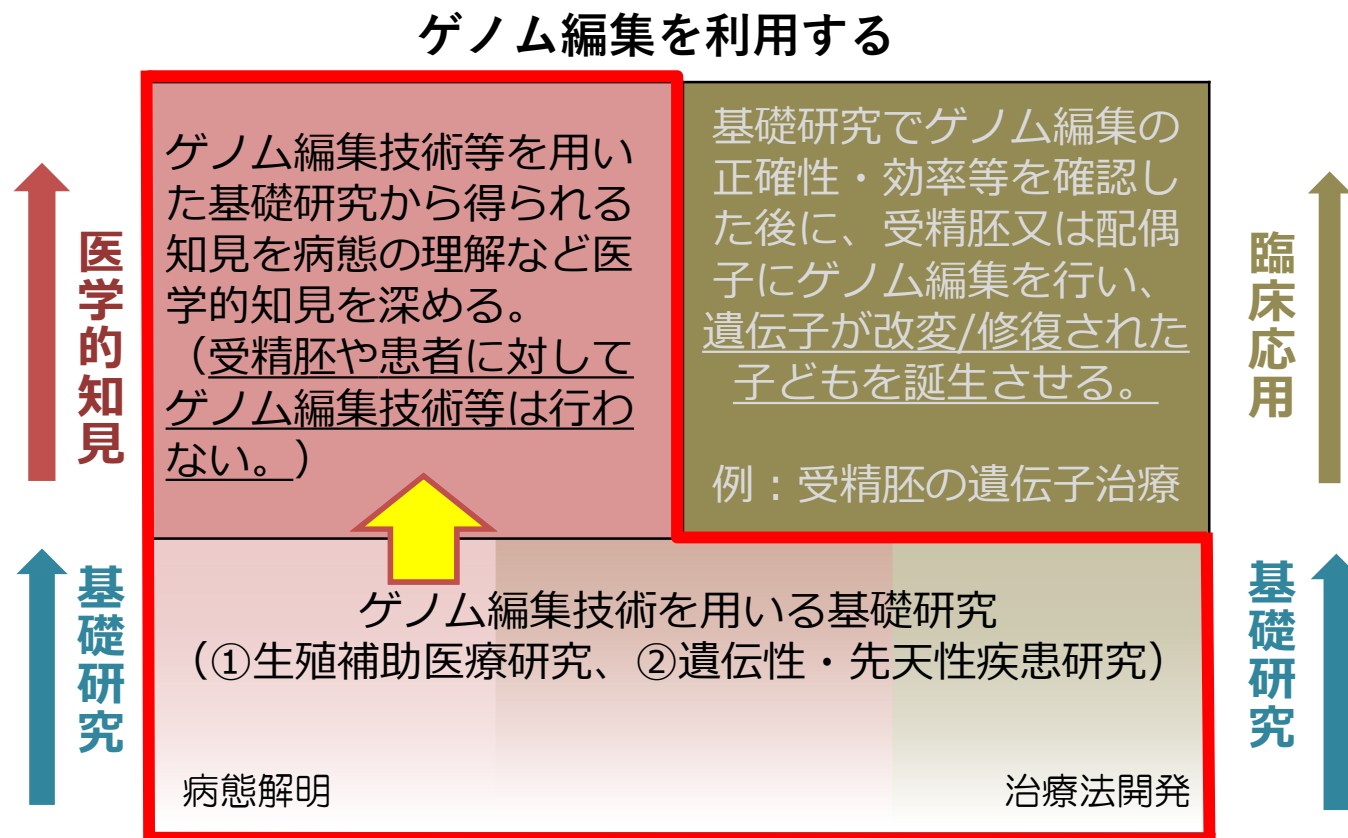
受精胚ゲノム編集のオーバービュー



ヒト生殖細胞系列にゲノム編集技術を用いる「基礎研究」と「臨床応用」の違い

	基礎研究	生殖医療(臨床応用)
研究目的	科学的知見を得る。	遺伝性・先天性疾患を治療(予防)をする又は治療(予防)効果の安全性・有効性を確認する。
研究方法例	遺伝子を改変する(修復／欠損※) <u>※病態解明研究では、生存に必須の遺伝子を欠損させる場合もある。この場合、子どもを誕生させる臨床応用はありえない。</u>	遺伝子欠損を修復する。
用いるもの	医療に用いられないこととなった試料(余剰卵子、余剰精子、余剰胚)。 <u>→医療に適さなかったものも含まれる。</u>	医療に用いる卵子、精子、受精胚。 <u>→最良コンディションのもの。</u>
胚の取扱い	胎内移植を伴わない。	胎内移植、出産を伴う。

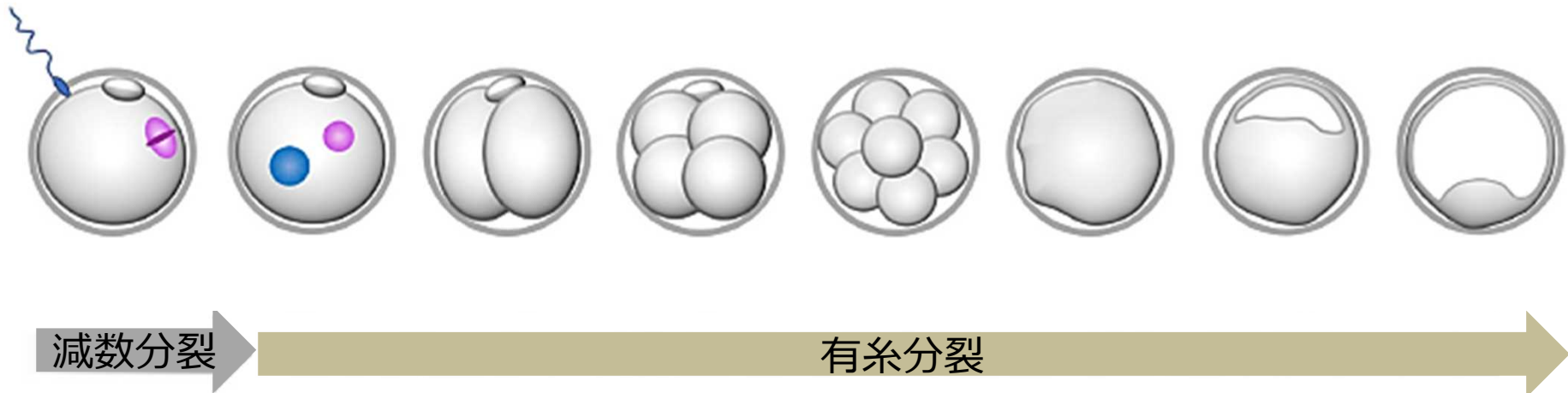
基礎研究と想定される臨床応用との関連



病態解明 : ゲノム編集を、機能未知の遺伝子の病態における役割を解明する研究を進めるための手段の1つとして使う。

治療法開発 : 機能既知の遺伝子を対象に、ゲノム編集の効率・安全性を確認する等、ゲノム編集自体が目的。

受精から着床前期胚発生



受精と卵子活性化

エピジェネティック-ダイナミズム

胚性ゲノムの活性化

コンパクション

発生・分化の運命づけ

改変 Figure 1 ; Vázquez-Diez and FitzHarris. review in Reproduction 2018



ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究について(回答)

-日本医学会 日本医学会連合(第18回「ヒト胚基本的考え方」TF 資料2)(2019年4月15日)-

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がある疾患リスト

34疾患を例示

1)「DNAあるいはヒストンメチル化修飾酵素関連遺伝子異常症」

2)「女性発症X連鎖性遺伝疾患」、「インプリンティング異常症」、「染色体異数性疾患」、「染色体異常疾患」、「ミトコンドリア病」は、初期胚における発生過程の異常によって生じると考えられる

3)がんに関連する候補、「遺伝性腫瘍疾患」

別添1 各発症疾患分類の概要
DNAあるいはヒストンメチル化修飾酵素関連遺伝子異常症
DNAあるいはヒストンのメチル化は、個々の遺伝子の発現量を調節するエピジェネティック制御を行っている。このメチル化を触媒する酵素が欠損することにより、遺伝子の発現異常が生じて複数の臓器・組織に異常をもたらす。
ヒト初期胚においてこれらのメチル化酵素遺伝子のゲノム編集を行い、DNAあるいはヒストンメチル化状態を解析することによって得られる研究成果が、各疾患の病因、発生機序等の解明につながる可能性がある。

女性発症X連鎖性遺伝疾患

X連鎖劣性遺伝性疾患は、X染色体を1本しか持たない男性には重い症状が発生するが、女性は健全なX染色体も持つため通常症状が現れない。ただし、女性のX染色体は2本のうちの1本が通常ランダムに不活性化されるが、X染色体の不活性化が健全なX染色体に偏って不活性化(skewed inactivation)されると、X連鎖劣性遺伝性疾患は女性においても発症することがある。
マウス着床前期胚では父親由来のX染色体は絶対不活性化され、胎盤系列の細胞ではこのパターンが維持される。一方で、ヒトではそのような明確な差はなく、父親あるいは母親由来のどちらのX染色体が不活性化されるかは、受精から着床前辺期に決定されるがその機構は分かっていない。従って、ヒトのX染色体不活性化機構を、受精胚にゲノム編集技術などを用いる研究によって明らかにすることにより、女性発症X連鎖性遺伝疾患の発症機構を探ることができると考えられる。

インプリンティング異常症




ヒトは父親と母親から同じ遺伝子を二つ受け継ぐが、いくつかの遺伝子については片方の親から受け継いだ遺伝子のみが発現することが知られており、これをゲノムインプリンティングという。発現する側の遺伝子に異常があると様々な症状が現れる。
ゲノムインプリンティングは、DNAのメチル化によるエピジェネティック制御により、生後胎盤から初期胚のステージで起こる。とくに生殖補助医療の普及とともに、これまで非常にまれであったインプリンティング異常症の発生頻度が増加していることから、受精胚にゲノム編集技術などを用いる研究によってゲノムインプリンティング機構を明らかにすることにより、インプリンティング異常症の発生機構の理解につながると考えられる。



疾患・病態研究のための意義 は想定されうる



研究の実施に必要な試料（余剰胚、配偶子）について

研究目的	対象疾患例 ※疾患と遺伝子の関係はあくまで可能性	ゲノム編集の対象となる試料（取扱期間）		
		生殖細胞（受精後14日まで）  精子 卵子	胚（最大14日まで） 	体細胞・多能性幹細胞 
生殖補助医療研究	受精の障害	◎	×	×
	発生初期の胚の発育	○	◎	×
	不育症等、着床後の胎児・胎盤の成長/機能不全	×	○	○
遺伝性・先天性疾患研究	インプリンティング異常症等、発生初期の遺伝子発現異常に起因する疾患	◎	○	×
	生後に発症する遺伝性疾患等、発生初期の遺伝子発現異常に起因しない疾患	×	×	◎
	原因不明な疾患で、発生初期の遺伝子発現異常に起因する疾患	○	○	○

ヒト受精胚研究の 世界の現状は？

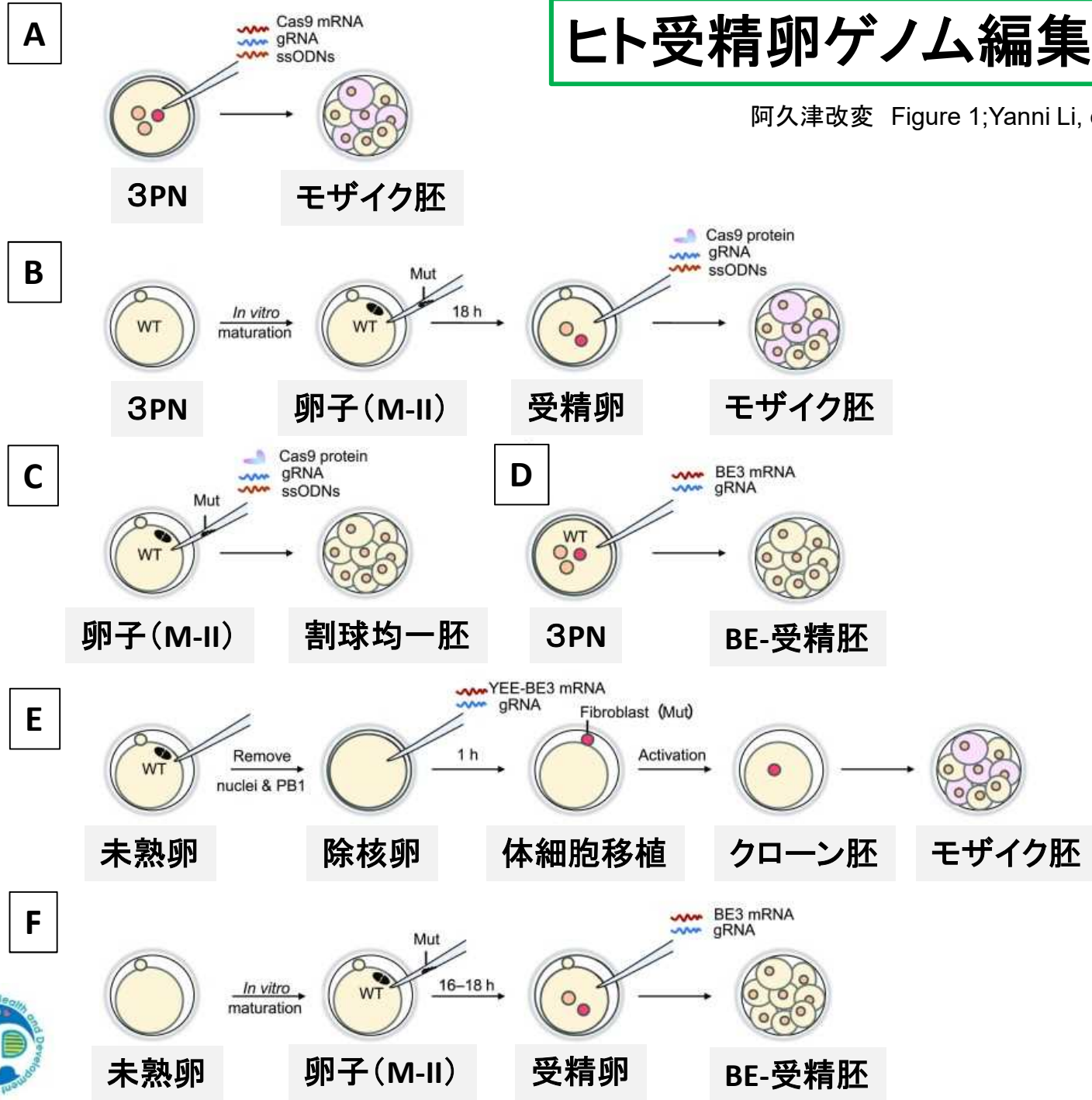


ヒト受精卵ゲノム編集の基礎研究の動向（2019年9月時点）

所属	研究目的	遺伝子	胚の種類,数	研究概要	報告
中国① 中山大学	・ヒト受精卵へのゲノム編集効率の確認 ・遺伝性難病予防目的	【HBB】 βサラセミア原因遺伝子	3PN胚 86個	3前核胚に対しCRISPR/Cas9を用いてβサラセミア原因遺伝子（HBB）を欠損（ランダム変異導入）	2015.4 Protein cell
中国② 広州医科大学	・ヒト受精卵へのゲノム編集効率の確認 ・疾患予防(HIV感染予防)	【CCR5】 HIVの感染受容体遺伝子	3PN胚 213個	3前核胚に対し、CRISPR/Cas9を用いてHIVの感染受容体遺伝子（CCR5）を欠損（ランダム変異導入）	2016.4 J Assist Reprod Genet
中国③ 広州医科大学	・ヒト受精卵へのゲノム編集効率の確認 ・遺伝性難病予防	【HBB】 【G6PD】 グル-6リン酸欠損症（溶血性貧血）原因遺伝子	新規作成胚 HBB:10個 G6PD:10個	βサラセミア症又はグルコース6リン酸欠損症患者の配偶子を用いて、受精卵を新たに作成し、CRISPR/Cas9のゲノム編集の修復効率を検証	2017.6 Mol Genet Genomics
中国④ 広州医科大学	・ヒト受精卵への1塩基編集技術（BE3）の検証	【RNF2】 E3 E ³ RING2	3PN胚 25個	3前核胚に1塩基編集技術（BE3）を用いて編集効率を検証	2017.10 Protein cell
中国⑤ 上海交通大学	・ヒト受精卵への1塩基編集技術（BE3等）の確認	【HBB】 , 【FANCF】 , 【DNMT3B】	3PN胚 49個	3前核胚に1塩基編集技術（BE3等）を用いて編集効率を検証	2017.10 Protein Cell
中国⑥ 中山大学	・ヒト受精卵への1塩基編集技術（BE3）の検証 ・遺伝性難病予防	【HBB】	人加へ胚 35個	βサラセミア患者の人クローン胚を作成し、1塩基を置き換えるゲノム編集（塩基編集）技術（BE3）を用いて原因遺伝子（HBB）の変異の修復を検証	2017.11 Protein cell
中国⑦ 上海科技大学	・ヒト受精卵への1塩基編集技術（BE3等）の検証 ・遺伝性難病予防	【FBN1】 マルファン症候群原因遺伝子	新規作成胚 46個	マルファン症候群患者由来精子とICを受けて入手した未成熟卵をin vitroで成熟させたものを顕微授精させ、1塩基編集技術（BE3等）により原因遺伝子（FBN1）の修復を検証	2018.11 Mor Ther
中国⑧ 中国科学院神经科学研究所	・ヒト受精卵へのTild-CRISPR法の確認	【OCT4】 , 【GATA6】	3PN胚	ヒト胚への効率、精密な遺伝子編集法Tild-CRISPR（targeted integration with linearized dsDNA-CRISPR）を開発し改変効率を検証	2018.5 Dev Cell
中国⑨ 合肥医科大学	・ヒト受精卵へのゲノム編集効率の確認 ・遺伝性難病予防	【MYBPC3】 肥大型心筋症原因遺伝子	3PN胚	3PN胚を用いて、CRISPR/Cas9による二本鎖DNA切断のメカニズムを検証。	2018.6 Mol Reprod Dev
中国⑩ 中国科学院神经科学研究所	・ヒト受精卵、新規作成胚、2細胞期および4細胞期胚割球への1塩基編集技術（BE3等）の確認	【HBB】 , 【OCT4】 , 【EMX1】 , 【MUT】	3PN胚、新規作成胚、2および4細胞期胚	受精卵、新規作成胚、受精卵の割球に1塩基編集技術（BE3）を用いて編集効率を検証	2019.5 Genome Biol
中国⑪ 広州医科大学	・ヒト受精卵への1塩基編集技術（BE3）の検証	【TTR】 , 【ALDOB】 , 【COL9A2】 , 【PRE65】 , 【KCNJ11】	3PN胚 93個	3前核胚に1塩基編集技術（BE3等）を用いて編集効率を検証	2019.9 Mol Ther Nucleic Acids
米オレゴン健康科学大	・ヒト受精卵へのゲノム編集効率の確認 ・遺伝性難病予防	【MYBPC3】	新規作成胚 145個	肥大型心筋症患者の精子と正常な卵子から新たに受精卵を作成。受精卵を作成する際、同時にゲノム編集することによる修復効率化の検証	2017.8 Nature
イギリス フランス・クリック研究所	不妊、初期発生の理解に資する発生学研究	【OCT4】	前核期胚 37個	受精卵や胚性幹細胞で特異的に発現している遺伝子（OCT4）を欠損させて、受精卵の発生における役割を解析	2017.10 Nature

ヒト受精卵ゲノム編集の方法一覧

阿久津改変 Figure 1; Yanni Li, et al. Protein Cell 10, 2019



グローバルな議論



WHO expert advisory committee on Developing global standards for governance and oversight of Human Genome editing



Home / Newsroom / Detail / WHO launches global registry on human genome editing



WHO launches global registry on human genome editing

العربية 中文 Français

“The Committee will examine the scientific, ethical, social and legal challenges associated with Human Genome editing. The aim will be to advise and make recommendations on appropriate governance mechanisms for Human Genome editing.”



Statement of Task

Clinical applications of germline genome editing are now possible and there is an urgent need to examine the potential of this new technology. Many scientific and medical questions about the procedures remain to be answered, and determining the safety and efficacy of germline genome editing will be necessary but not sufficient conditions for future clinical usage. There is a need for a framework to inform the development of a potential pathway from research to clinical use, recognizing that components of this framework may need to be periodically revised in response to our rapidly evolving knowledge. In addition, other important discussions are ongoing internationally about the implications for society of human germline genome editing and include issues such as access, equity, and consistency with religious views.