

ヒト受精胚を用いたゲノム編集利用研究について

阿久津 英憲

(国立成育医療研究センター 研究所 生殖医療研究部)

2017年8月28日

**ヒト受精胚に対するゲノム編集技術の応用
想定されうるケースの理解のために**

● ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる基礎的研究

ゲノム編集技術によりヒト受精胚を基礎的研究*に利用することについて、研究目的としては、例えば、以下のことが想定される。

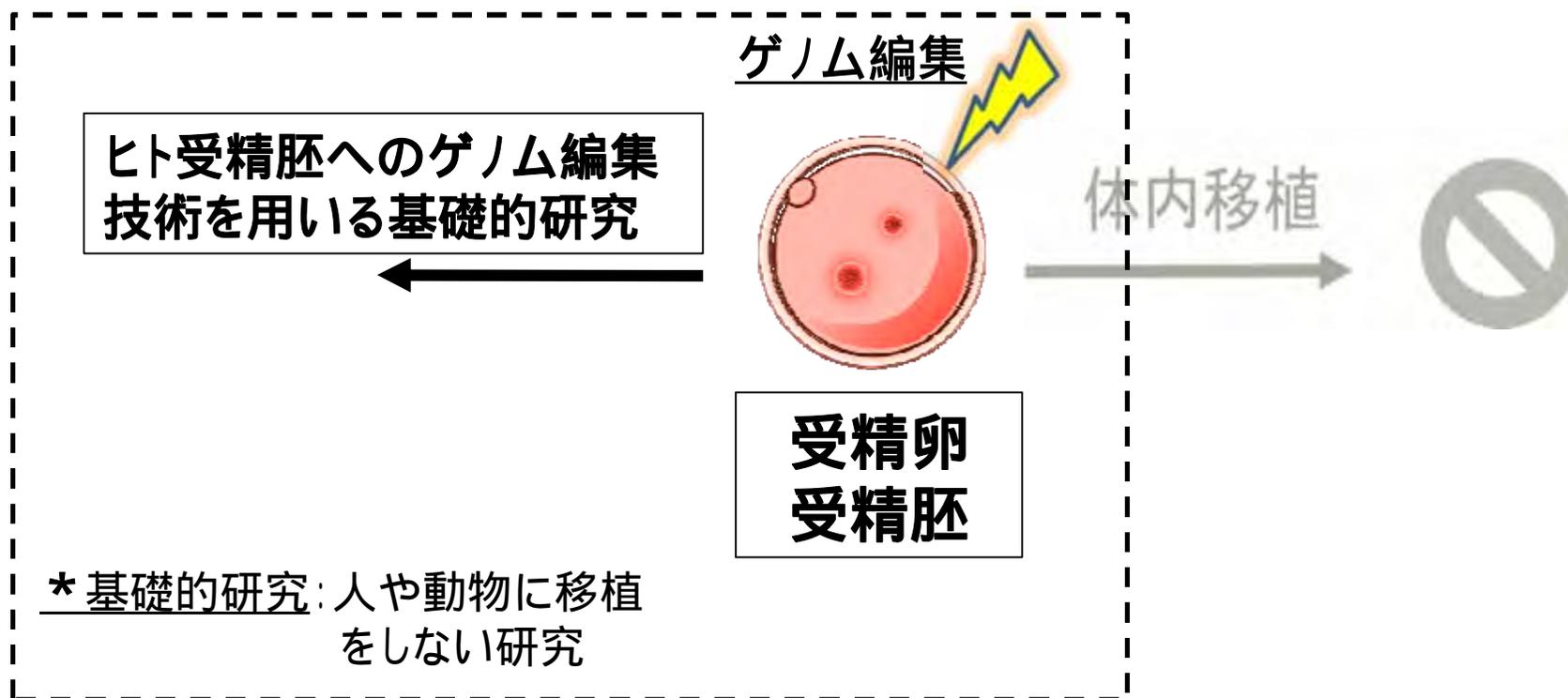
ア) 胚の初期発生や発育(分化)における遺伝子の機能解明

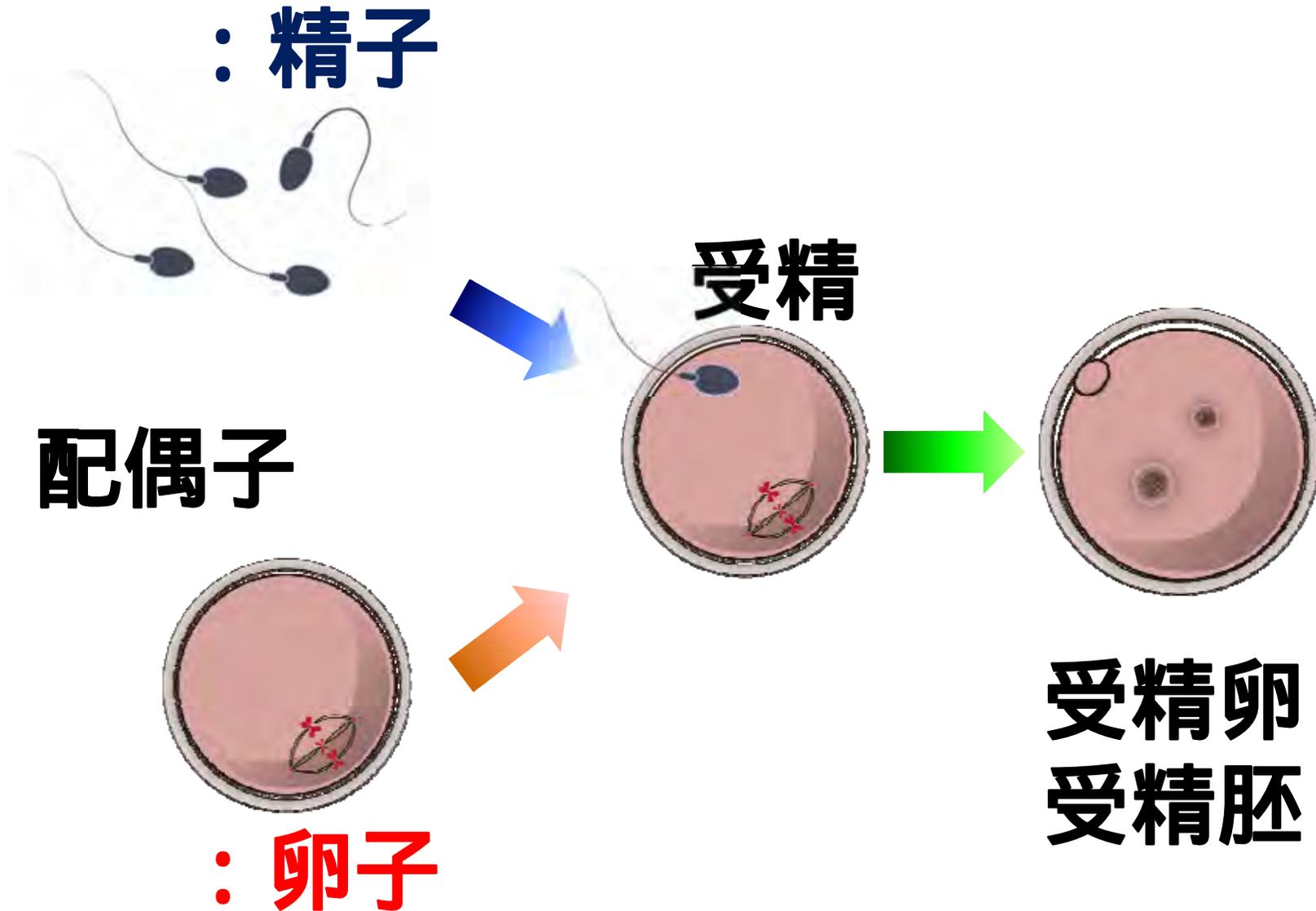
イ) 遺伝性疾患(先天性)の新しい治療法(予防法)の開発に資する研究

ウ) 疾患(がん等)に関連する新しい治療法(予防法)の開発に資する研究

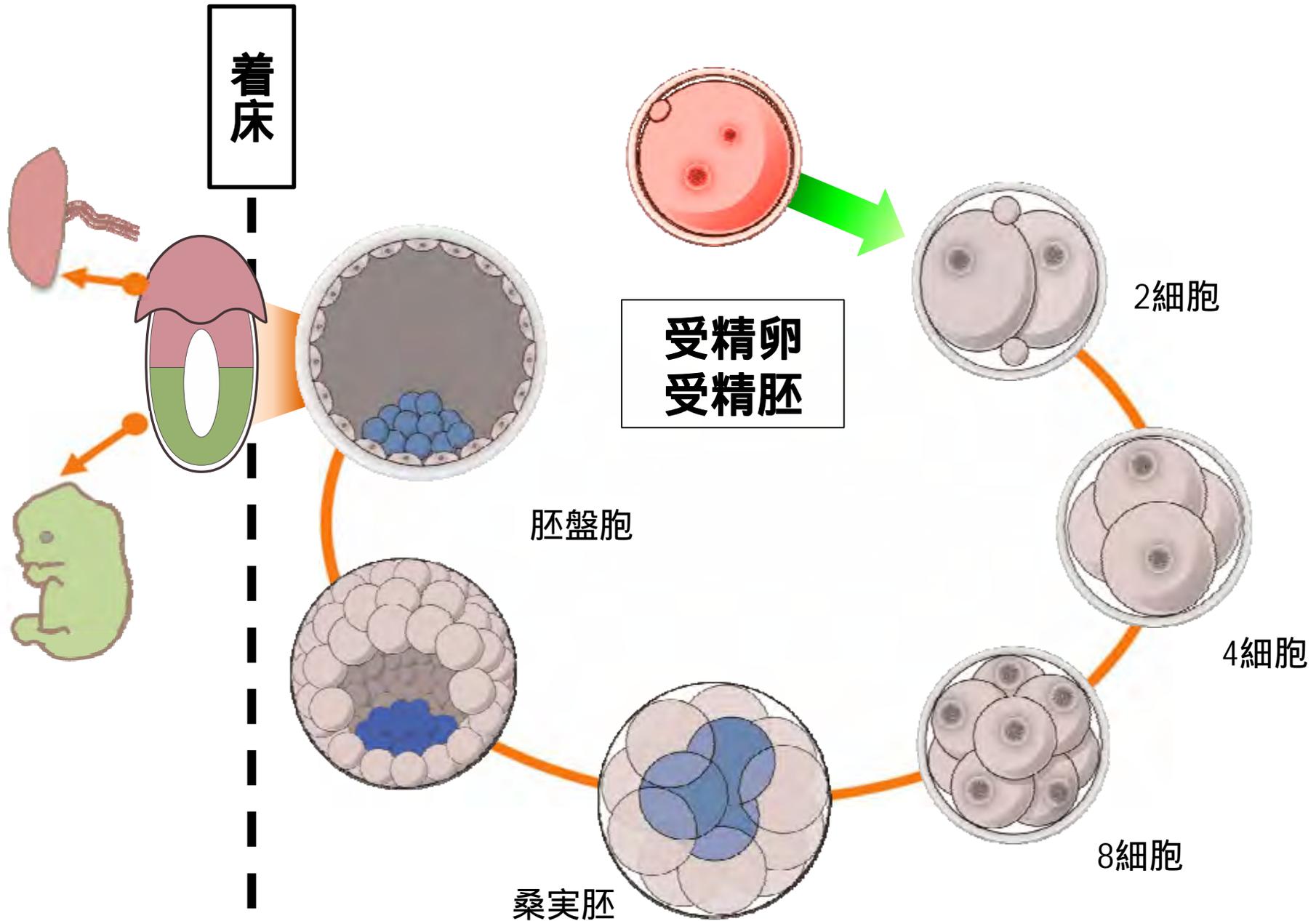
エ) 疾患とは必ずしも関連しない目的

ヒト受精胚へのゲノム編集技術を用いる研究について(中間まとめ) 第97回生命倫理専門調査会

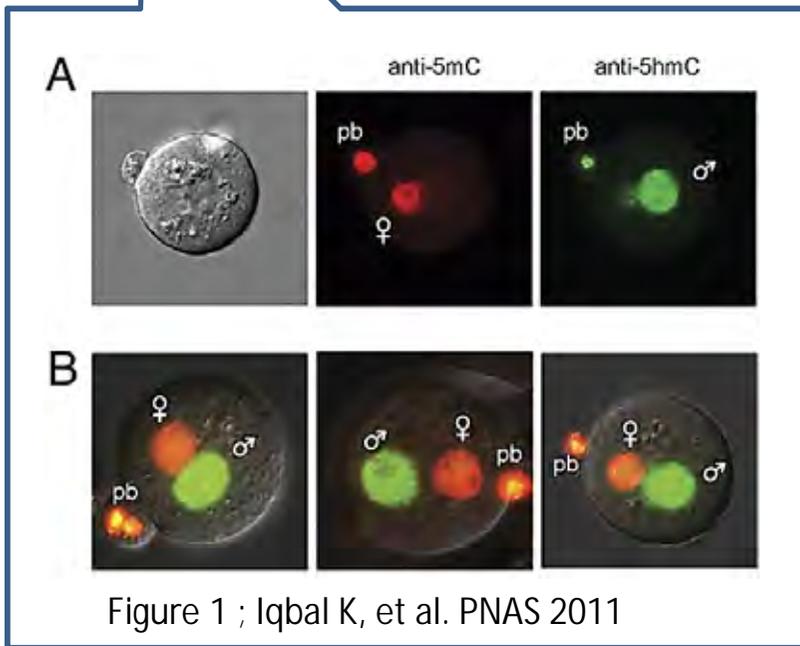
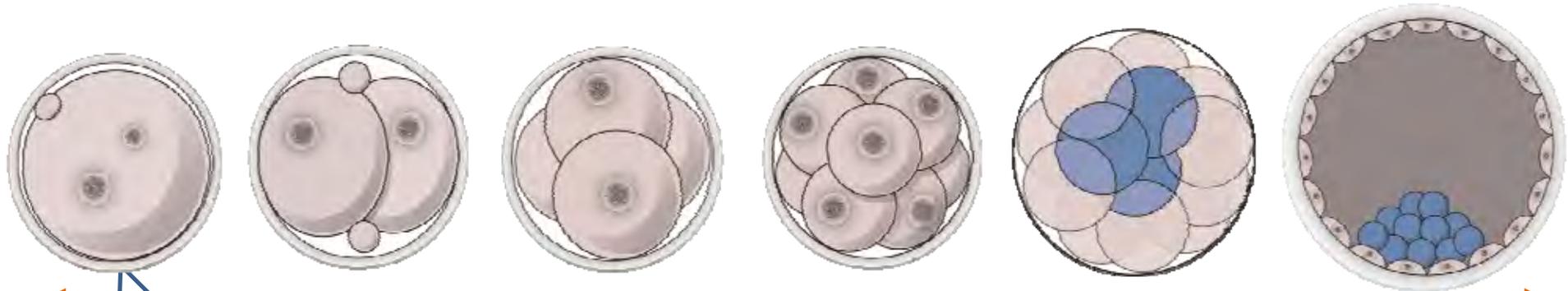




受精から着床前期胚発生を理解 2



ヒト初期胚発生に関する知見



ヒト初期胚発生に関する知見

Cell

Single-Cell RNA-Seq Reveals Lineage and X Chromosome Dynamics in Human Preimplantation Embryos

Sophie Petropoulos,^{1,2,3} Daniel Edsgård,^{1,2,3} Björn Reinisus,^{1,2,3} Qiaolin Deng,^{1,2} Sofia Paulina Panula,¹ Simone Codegiani,^{1,2} Álvaro Plaza Reyes,¹ Sten Linnarsson,¹ Rickard Sandberg,^{1,2,3} and Fredrik Lannier^{1,2}

着床直前の胚までの極めて重厚な
遺伝子発現データ

マウスとは異なるゲノムの制御
-X染色体不活化-

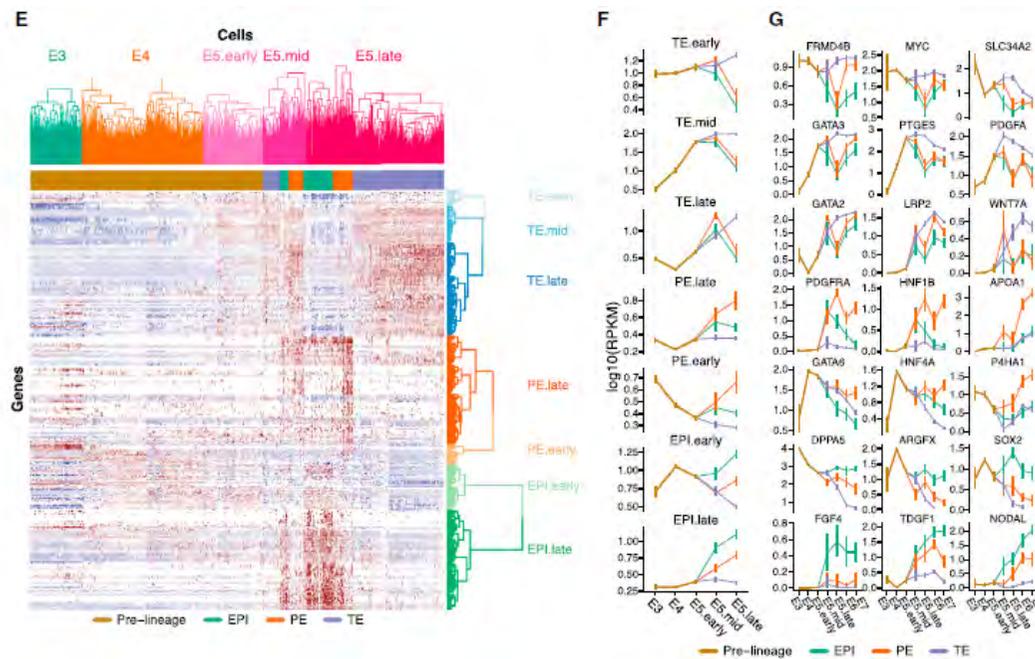


Figure 4 ; Petropoulos S, et al. Cell 2016

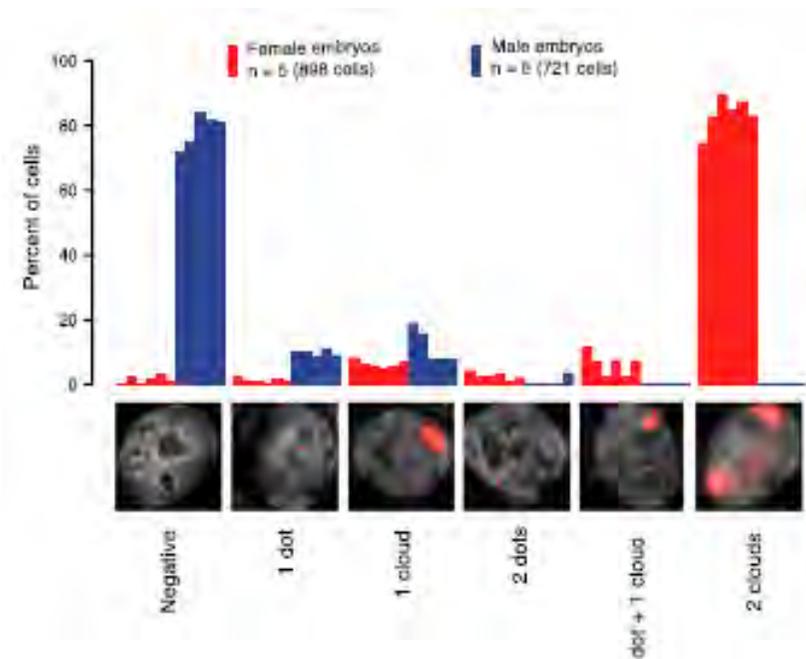
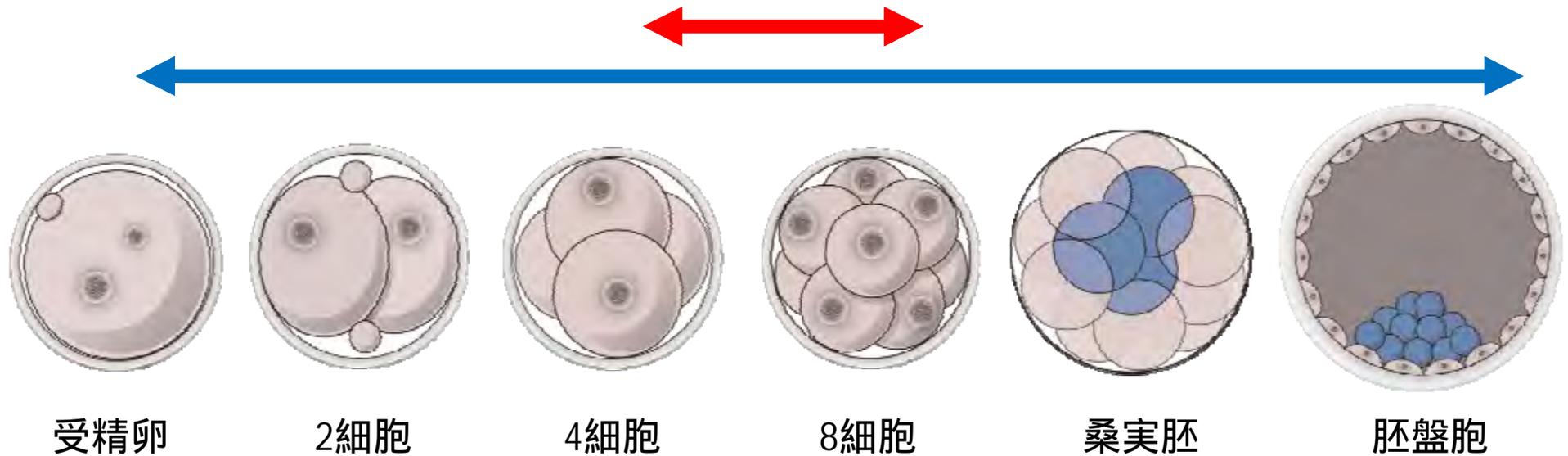


Figure 7 ; Petropoulos S, et al. Cell 2016

ヒト初期胚発生に関する知見



ヒトの初期発生でわからないことは多い

- ・ **個体が育つための重要な遺伝子の発現が始まる** .
- ・ **この時期特異的に起こるゲノム、エピゲノム現象があり、その後の発育に重要** .
- ・ ヒトと実験動物の相違 .
- ・ ヒト初期胚も含むゲノム情報知見の蓄積

不妊治療との関連

卵割期胚の形態評価法 (Veeck分類)



(図 E-4-4)-2) 初期分割胚(採卵後2日目の4細胞期胚あるいは4日目の8細胞期胚)のVeeck分類

日産婦誌60(12)2008

卵割期胚の形態評価 より良好な胚を移植へ選択

(ヒトでは割球が不均一, フラグメンテーションが比較的多い)

ヒト胚の発育

30-50%が胚盤胞へ発生 (IVF後)

Alper, et al. Hum Reprod 2001

マウスでは約80%が胚盤胞へ発生

ヒト卵割期胚の50-80%で割球に異数性の染色体異常を認める Vanneste, et al. Nat Med 2009

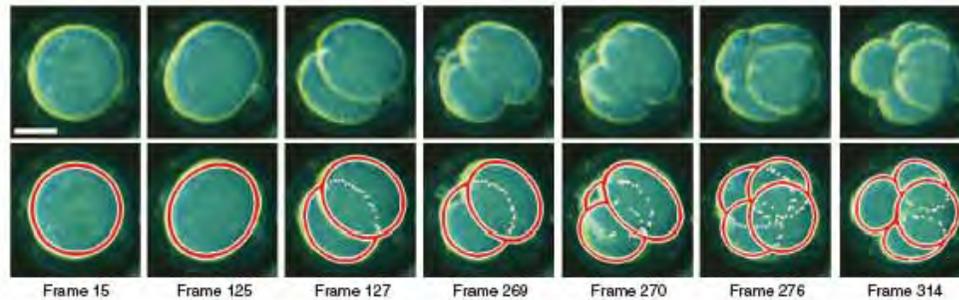
マウスは約1% Lightfoot, et al. Dev Biol 2006

不妊治療との関連

**nature
biotechnology**

Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage

Connie C Wong^{1,2,7}, Kevin E Loewke^{1-3,6,7}, Nancy L Bossert⁴, Barry Behr², Christopher J De Jonge⁴, Thomas M Baer⁵ & Renee A Reijo Pera^{1,2}



ヒト初期胚発生の不具合と関連分子の研究も進んでいる

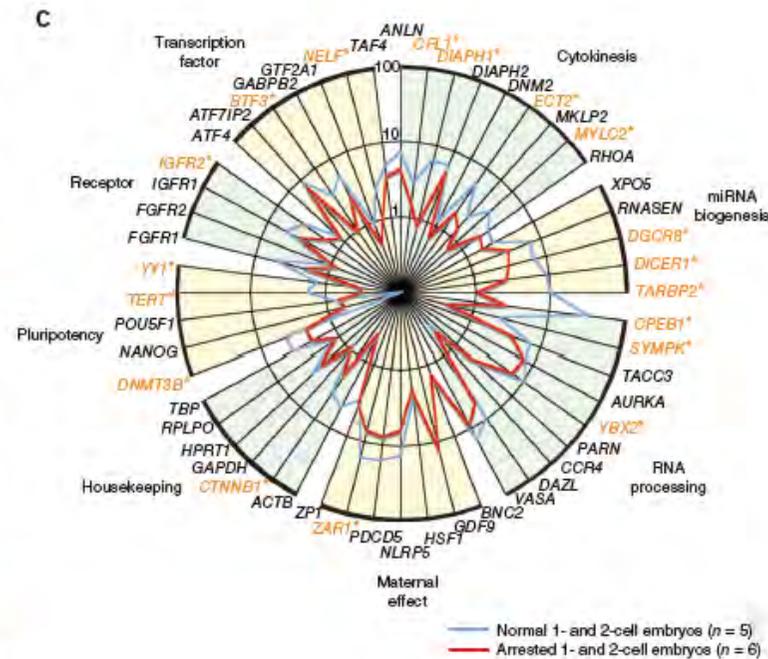
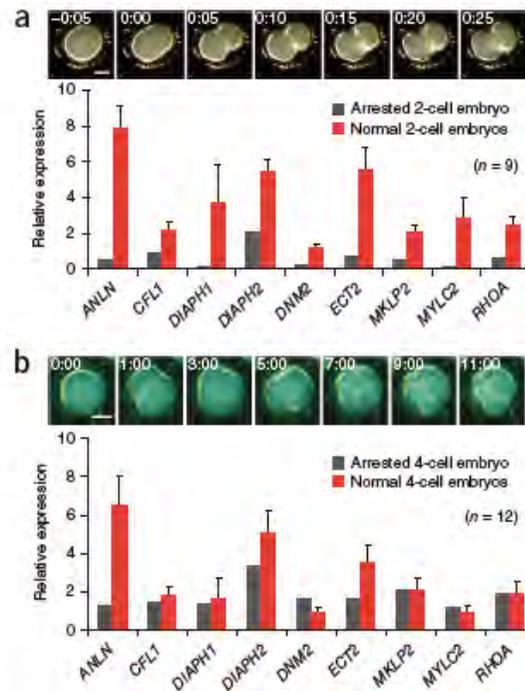


Fig 4. Wong, et al. Nat Biotechnol 2010 **10**

動画



不妊治療との関連

**nature
biotechnology**

Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage

Connie C Wong^{1,2,7}, Kevin E Loewke^{1-3,6,7}, Nancy L Bossert⁴, Barry Behr², Christopher J De Jonge⁴, Thomas M Baer⁵ & Renee A Reijo Pera^{1,2}

全ての受精胚は不妊治療過程でのもの

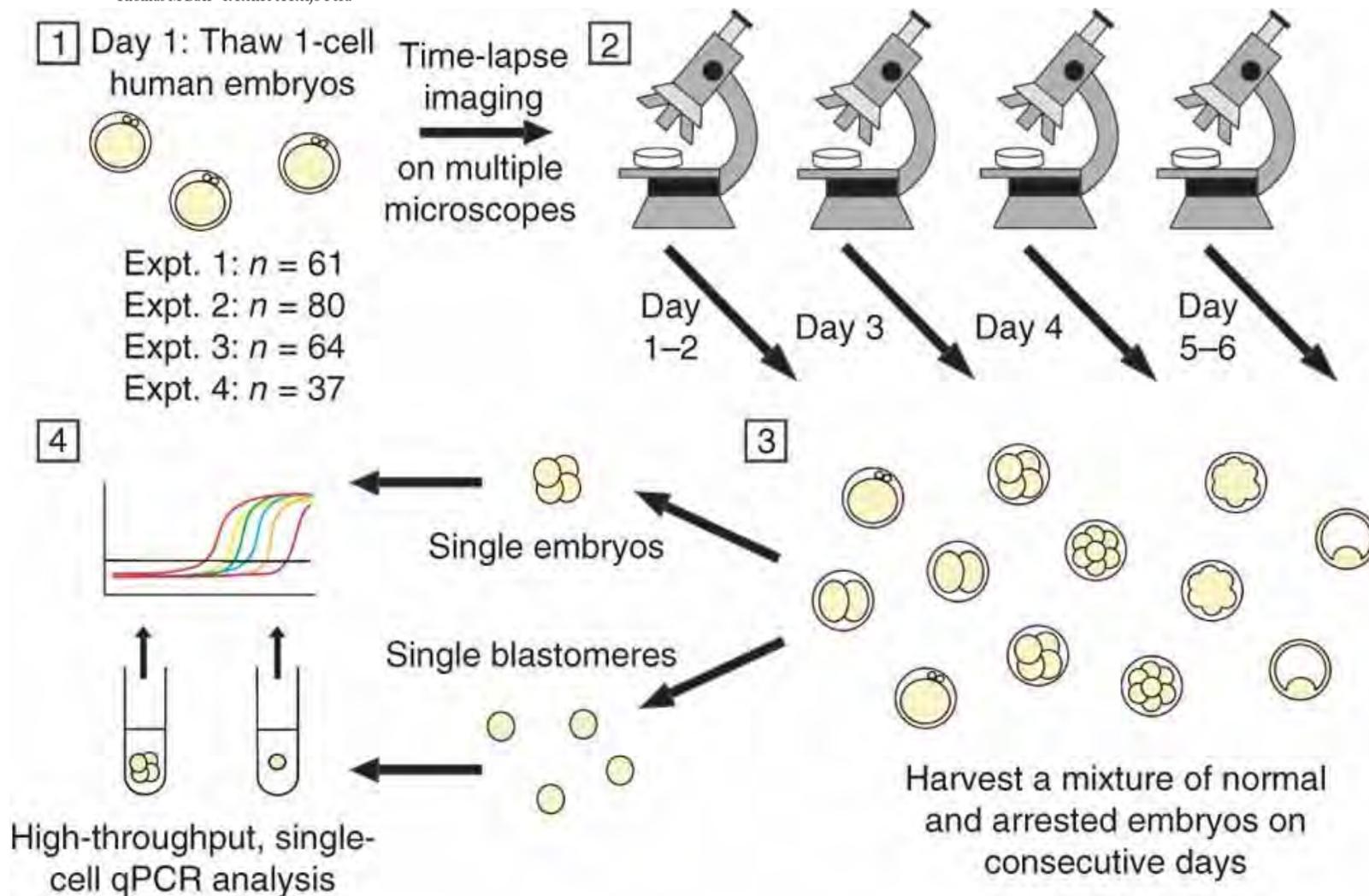


Fig 1. Wong, et al. Nat Biotechnol 2010 **12**

不妊治療との関連



ARTICLE

Received 21 Feb 2012 | Accepted 1 Nov 2012 | Published 4 Dec 2012

DOI: 10.1038/ncom12348

Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage

Shawn L. Chavez^{1,2}, Kevin E. Lovick¹, Jinsuo Han^{1,2}, Farshid Moussavi¹, Peter Collis¹, Santiago Munoz¹, Barry Behr² & Renee A. Reijo Pera^{1,2}

ヒト卵割期胚の染色体異数性の研究が進んでいる

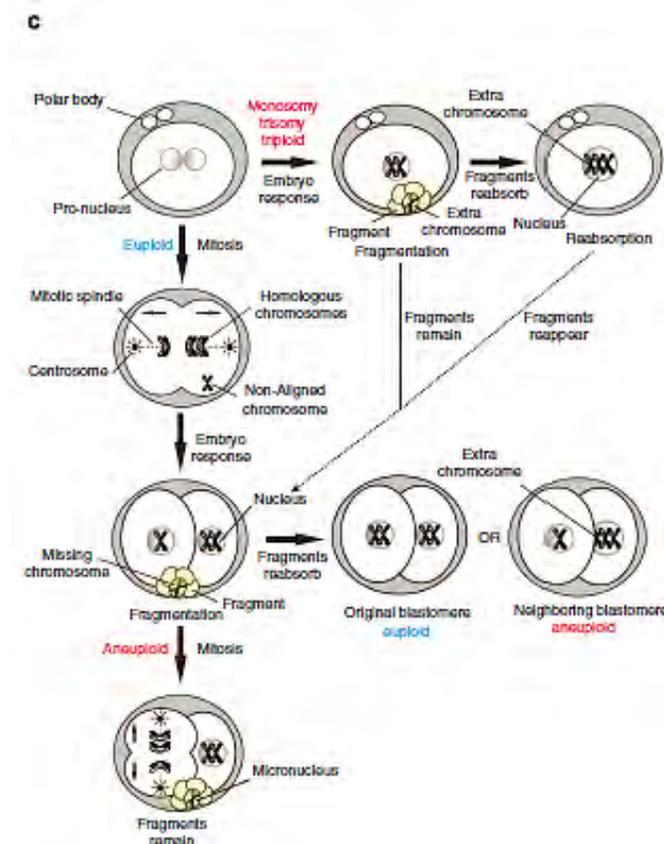
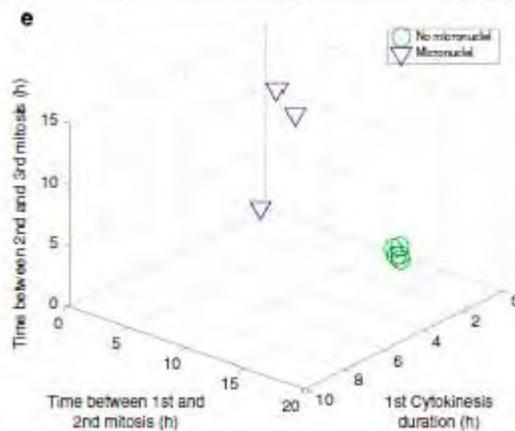
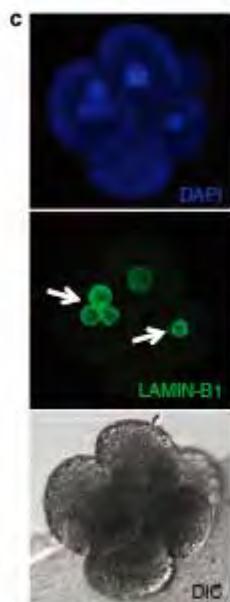
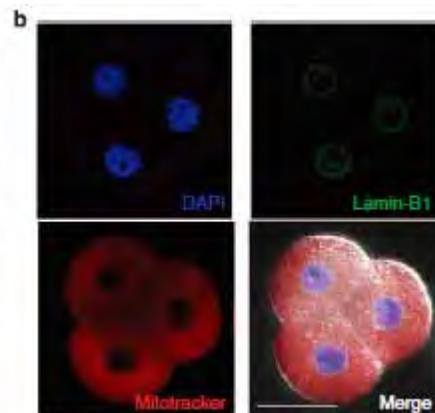


Fig 4, 5. Wong, et al. Nat Commun 2012

不妊治療との関連



Received 26 Sep 2014 | Accepted 22 May 2015 | Published 7 Jul 2015

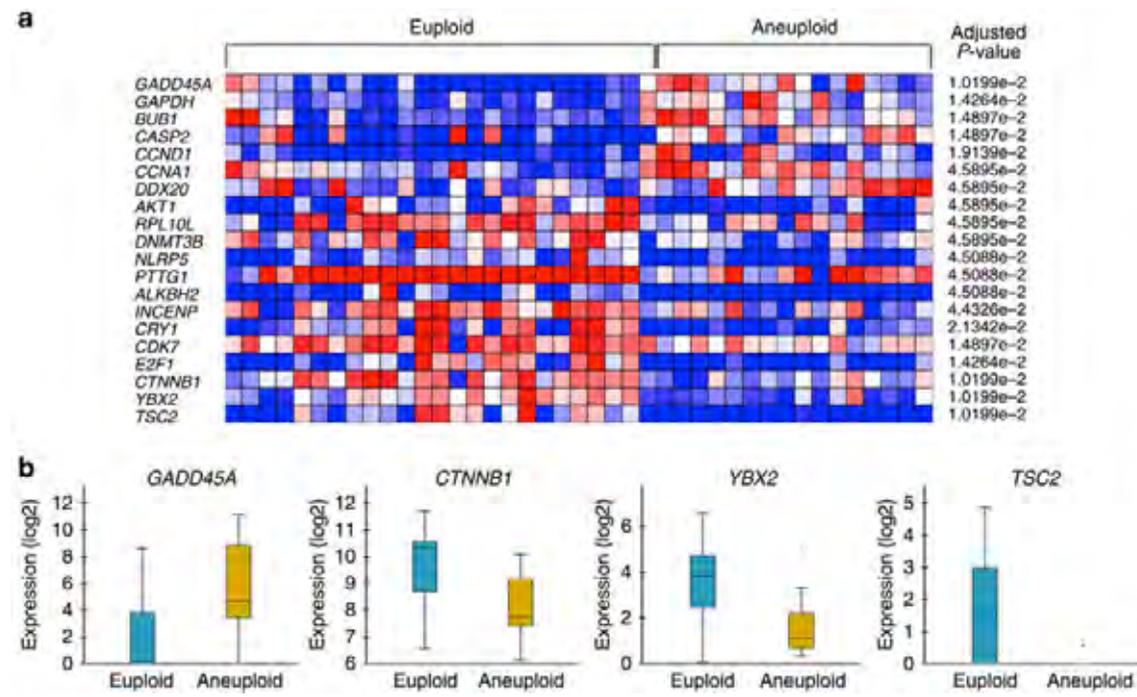
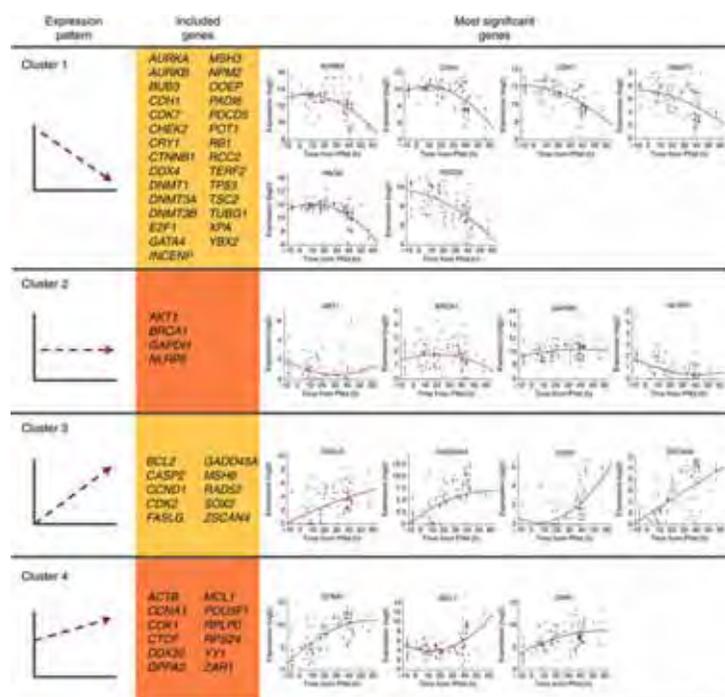
DOI: 10.1038/ncom0601

OPEN

Prediction model for aneuploidy in early human embryo development revealed by single-cell analysis

María Vera-Rodríguez^{1,2,3}, Shawn L. Chavez^{1,2,1}, Carmen Rubio^{3,4}, Renee A. Reijo Pera^{1,2,1} & Carlos Simón^{2,3,4}

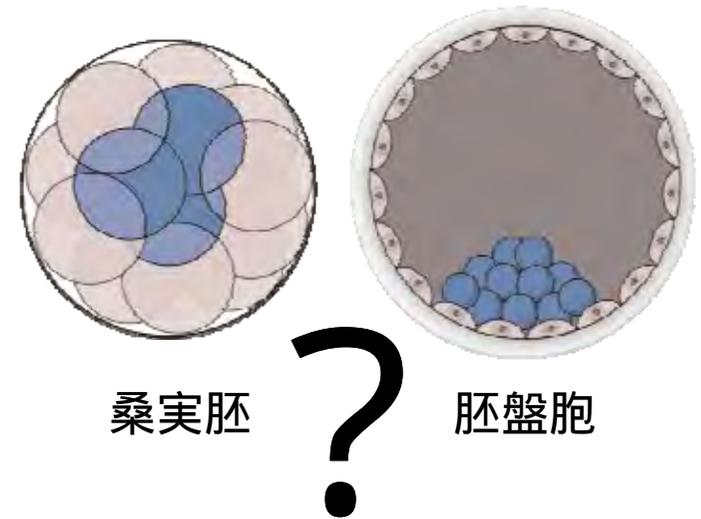
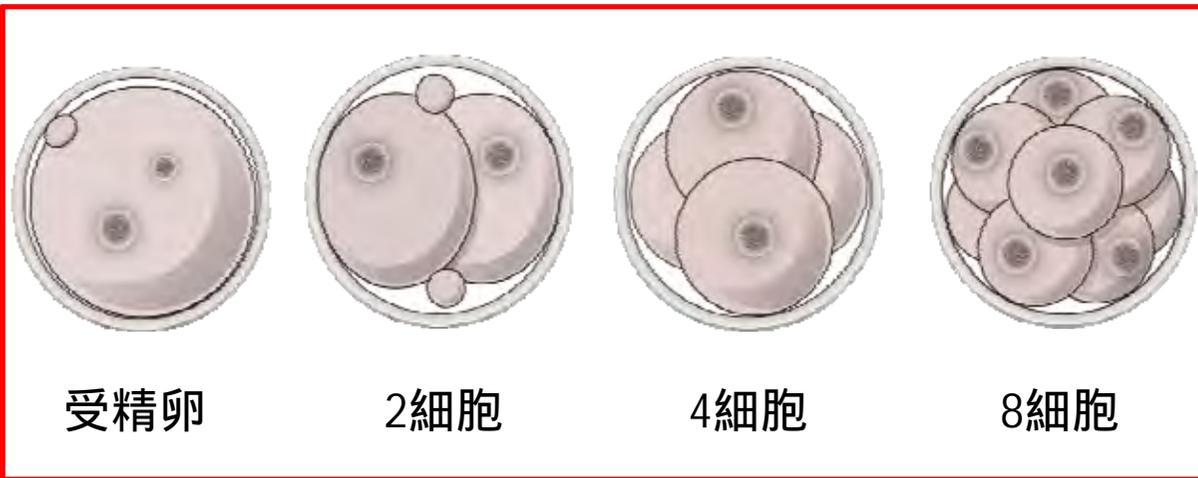
ヒト卵割期胚に関する発生動態と関連した様々な分子情報が蓄積してきている



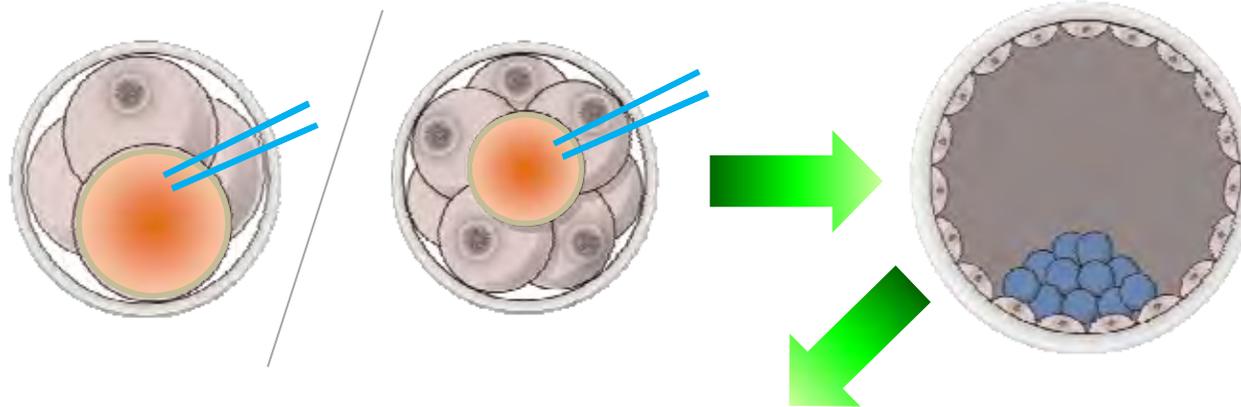
ヒト卵割期胚の染色体異数性の分子モデルを構築しつつある

Fig 3, 5. Vera-Rodríguez, et al. Nat Commun 2015

研究の対象となる受精胚は



研究の一例 体外培養系で可能なこと



ゲノム編集を行った割球の発生運命を追う
 (可視化も可能)
 発生停止?、細胞死?
 胎盤系? 個体発生系 (内部細胞塊)?
 分子発現動態解析等

14日ルールを守った上で解析すればより効果的な場合もある

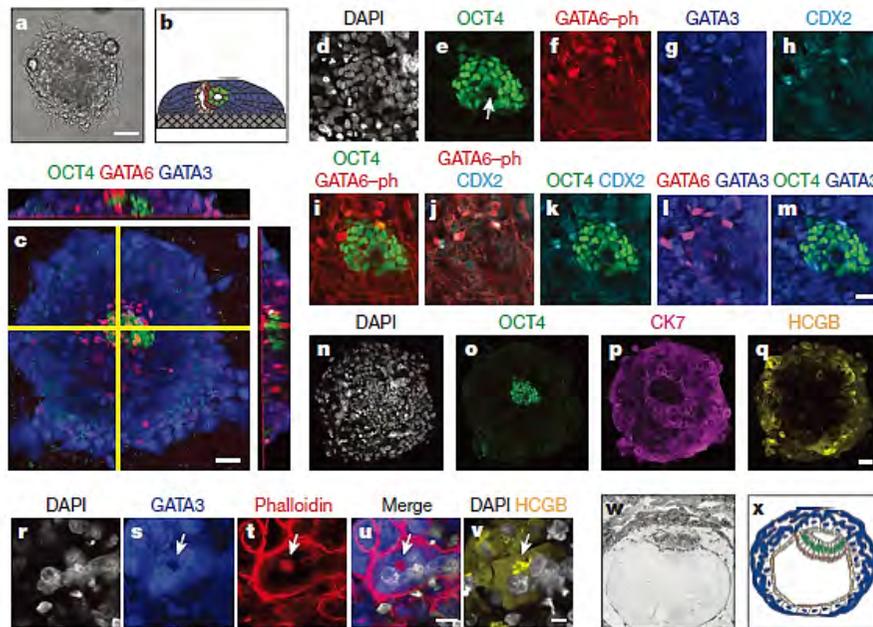


Fig 4. Deglincerti, et al. Nature 2016

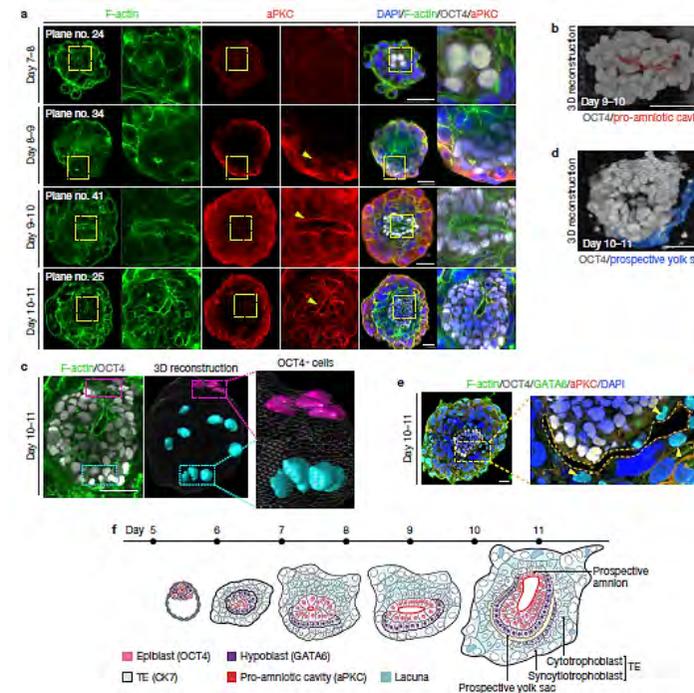


Fig 4. Shahbazi et al. Nat Cell Biol 2016

ヒト受精胚に対するゲノム編集技術の応用

ヒト初期胚に対するゲノム編集技術応用の適応例

初期胚発生特異的遺伝子(機能性RNA含む)の機能評価、発現動態解析

- ・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

移植を想定しない研究

ヒト初期胚に対するゲノム編集技術応用の適応例

初期胚発生特異的遺伝子(機能性RNA含む)の機能評価、発現動態解析

- ・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

実施例

・Kathy Niakan(The Francis Crick Institute, UK)

<http://www.nature.com/news/uk-scientists-gain-licence-to-edit-genes-in-human-embryos-1.19270>

・Fredrik Lanner(Karolinska University, Sweden)

<http://www.nature.com/news/gene-editing-research-in-human-embryos-gains-momentum-1.19767>

ヒト初期胚へゲノム編集を応用する背景

Blakeley P, et al. "Defining the three cell lineages of the human blastocyst by single-cell RNA-seq." Development 2015.

Blakeley P, et al. "Defining the three cell lineages of the human blastocyst by single-cell RNA-seq." Development 2015.

Petropoulos S, et al. "Single-Cell RNA-Seq Reveals Lineage and X Chromosome Dynamics in Human Preimplantation Embryos." Cell 2016.

その他の研究

ヒト初期胚に対するゲノム編集技術応用の適応例

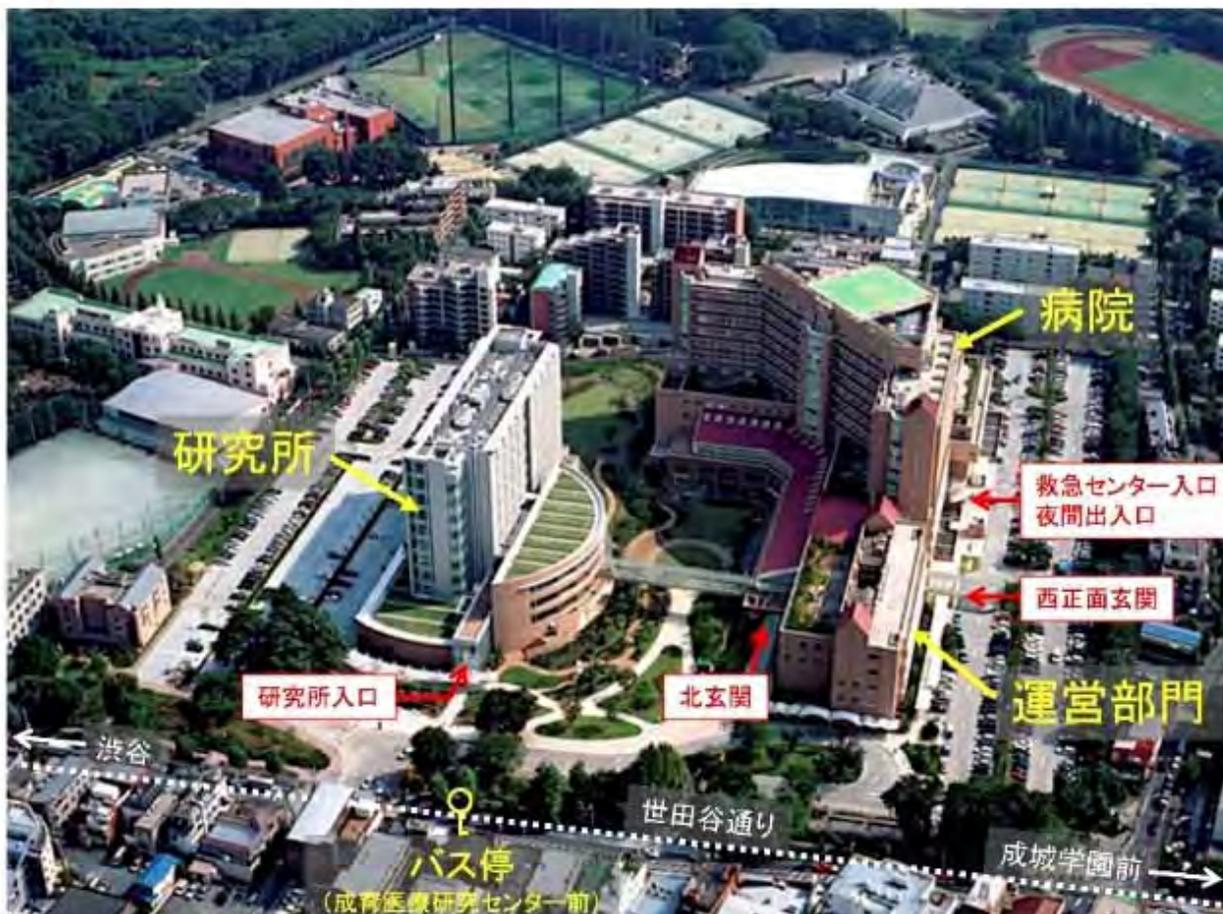
疾患責任ゲノム変異が明確なものに対するゲノム編集技術検証

ヒト受精胚に対するマイクロインジェクション法のゲノム編集技術開発

など

実施例

- ・Puping Liang, et al. "CRI SPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes." Protein & Cell 2015.
- ・ Lichun Tang , et al. "CRI SPR/Cas9-mediated gene editing in human zygotes using Cas9 protein" Mol Genet Genomics. 2017 Mar 1.
- ・Tang L, et al. "CRI SPR/Cas9-mediated gene editing in human zygotes using Cas9 protein." Mol Genet Genomics. 2017 Jun;292(3):525-533.
- ・Ma H, et al. "Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos" Nature 2017 548: 413-419.



「御清聴ありがとうございました。」