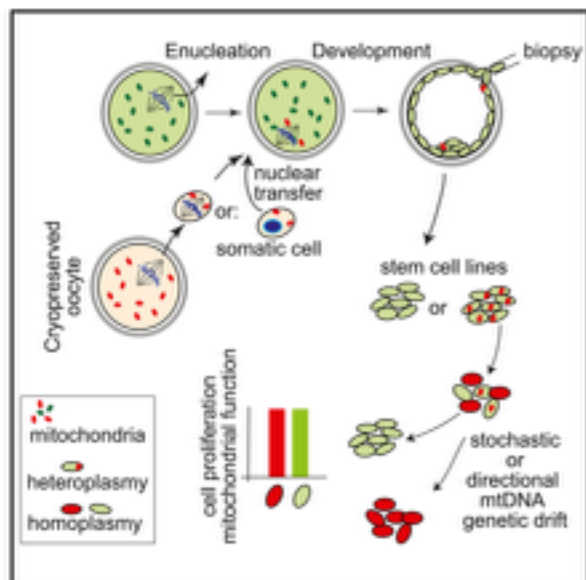


ヒトST法により得られた初期胚およびES細胞におけるさらなる詳細な検討

Cell Stem Cell

Genetic Drift Can Compromise Mitochondrial Replacement by Nuclear Transfer in Human Oocytes

Graphical Abstract



Brief Report

Authors

Mitsutoshi Yamada,
Valentina Emmanuele,
Maria J. Sanchez-Quintero, ...,
Mark V. Sauer, Michio Hirano,
Dieter Egli

Correspondence

mh29@cumc.columbia.edu (M.H.),
d.egli@nyscf.org (D.E.)

In Brief

Yamada et al. show, using human cells, that even small amounts of mtDNA carried over during nuclear transfer for mitochondrial replacement can lead to mtDNA genotype reversion. This situation would need to be avoided for clinical application and stable prevention of mtDNA diseases.

あらたに樹立されたヒト胚性幹細胞株 8株
75個の着床前期胚

検討項目

mtDNA heteroplasmy
初期胚発生
ミトコンドリア機能

Yamada, Egli et al., Cell Stem Cell, 2016

ヒトST法は

多くの場合, 長期間にわたりミトコンドリア置換に有効

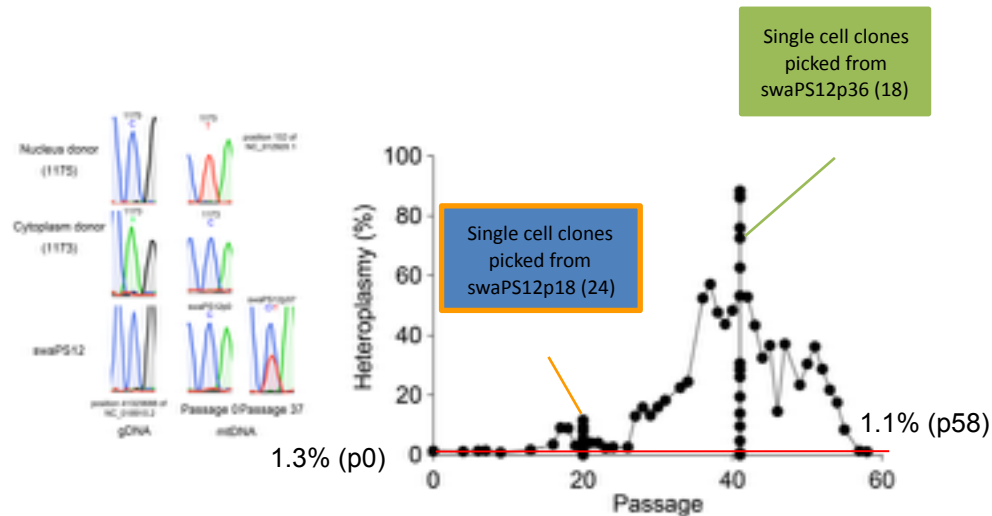
75個の着床前期胚の平均mtDNA heteroplasmy 0.33% (3%未満)
7株のES細胞を8ヶ月間培養 (32回継代) mtDNA heteroplasmy 検出感度以下
(2%未満)

発生に悪影響を及ぼさない

ST法を行った卵子 (n=28) の着床前期胚発生およびES細胞樹立率は, ST法を行わなかったヒト卵子 (n=47) と比較して変わらない

Yamada, Egli et al., Cell Stem Cell, 2016

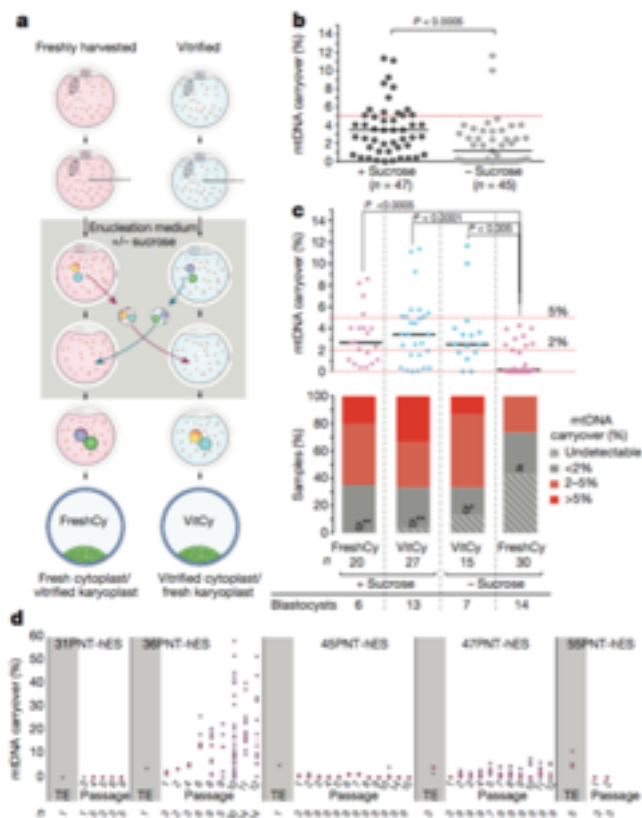
ES細胞樹立に用いた細胞のmtDNA heteroplasmyは1.3%と少量（p0）でも，培養を繰り返すことで50%程度まで増加したヒトES細胞株が1株だけ観察された



細胞の継代におけるmtDNA heteroplasmyの推移
ヒトST法から樹立されたES細胞12株のうちの1株)

このような挙動を示すヒトES細胞株は一株だけではあるものの、ST法の安全性に疑問符

ヒトにおけるPNT法の改善



PNT後の胚の生存率が90%
に改善

mtDNA heteroplasmy

79%の胚盤胞 <2%

ヒトES細胞 4%

Hyslop, Herbert et al., Nature 2016

著者らは、年間に150人の女性にこの治療（による希望）を提供することができると話している

'Three parent baby' technique could still pass on mutated DNA, study shows. Taken from the homepage of The Telegraph 2016. (<http://www.telegraph.co.uk/science/2016/06/08/three-parent-baby-technique-could-still-pass-on-mutated-dna-stud/>)

Outline

1. 核置換技術の概要
2. 核置換技術の研究を巡る状況
3. ミトコンドリア病と核置換技術
4. 核置換技術の倫理的課題

4. 核置換技術の倫理的課題

- a) 卵子ドナーへのリスク
- b) 児へのリスク
- c) 有償ドナーの制度論
- d) 倫理

4. 核置換技術の倫理的課題

a) 卵子ドナーへのリスク

- 採卵にまつわる身体的な侵襲（出血、感染、周辺臓器の損傷、卵巣過剰刺激症候群など）
- 排卵誘発の注射, 通院の負担, 時間的拘束
（無償では卵子ドナーは集まらない）
（有償とした場合, undue inducementとなる恐れ）

4. 核置換技術の倫理的課題

b) 児へのリスク

- Three parent baby (二人の母親と一人の父親)

家族関係が複雑になり, 子の福祉の観点から予期せぬ事態が発生するか?

- mtDNA genetic drift (ミトコンドリア遺伝的浮動性)

長期間にわたり児やそれ以降の世代においてもミトコンドリアgenotypeが安定しているかどうかはわからない

4. 核置換技術の倫理的課題

c) 有償ドナーの制度論

- 質の良い卵子に依存した生殖補助医療と幹細胞研究をいかに進めるか, ベストの方法が模索され続けている
- それぞれの施設においても, いまだ解決されていない倫理的課題に向き合いながら研究をいかに進めるかについて, 議論され続けている
- 本邦では？

4. 核置換技術の倫理的課題

c) Columbia大学, The New York Stem Cell Foundationの手続き (有償ドナーの制度論)

Oocyte donation. Oocyte donors of **age 22–33** were recruited from the women participating in the reproductive oocyte donation program at the Center for Women's Reproductive Care (CWRC) at Columbia University P&S. These women had made a decision to enter the reproductive egg donation program, they met all criteria required for donation for reproductive purposes, and only then were presented with the option to donate oocytes for research. Both licensed medical social workers and CWRC physicians screened all women with respect to their reproductive, medical and psychosocial health. **All of the women had a college degree or additional higher education, and none were financially disadvantaged.** All women in the study were fully employed. During a period of 19 months, 16 women out of the 252 women enrolled in the reproductive oocyte donation program were asked if they wanted to donate oocytes to research. These women discussed the stem cell study in detail with a physician and those who chose to donate oocytes to research gave signed informed consent and initiated a standard hormone control regimen. All 16 women decided to participate in the study and gave informed consent (100% compliance). Two women did not complete the hormone treatment because of a lack of response. Two additional women donated for the study at a later time. In total, **16 women donated 270 mature MII oocytes (range of 2–26, or a mean of 16.9 oocytes per donor cycle).** **Payment for participation was equal to payment for women donating oocytes for reproduction at CWRC, or \$8,000 (pre-tax).**

Paull, Egli. et al. Nature 2012.

4. 核置換技術の倫理的課題

c) Newcastle大学の手続き（有償ドナーの制度論）

Human oocytes ($n = 523$) included in this study were donated either by women undergoing infertility treatment ($n = 44$ oocytes from 6 donors, age range 25–36 years) as part of an ‘egg sharing’ programme, or by non-patient donors ($n = 479$ oocytes from 57 donors, age range 21–36 years). Donors were compensated in accordance with current HFEA guidance on payments for donors. Non-patient donors received financial compensation of £500 per donation cycle. Compensation under the ‘egg share’ programme consisted of a subsidy (£1,500) from research funds towards the cost of treatment for self-funded patients, or an additional fully funded treatment cycle for those who did not become pregnant after NHS-funded treatment.

Craven, Herbert. et al. Nature 2010

The study was approved by the Newcastle and North Tyneside Research Ethics Committee and was licensed by the UK Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA). Informed consent was obtained from all donors by research nurses who were not directly involved in the research, or in the clinical treatments of women participating in the study. Human oocytes ($n = 523$) included in this study were donated either by women undergoing infertility treatment ($n = 44$ oocytes from 6 donors, age range 25–36 years) as part of an ‘egg sharing’ programme, or by non-patient donors ($n = 479$ oocytes from 57 donors, age range 21–36 years). Donors were compensated in accordance with current HFEA guidance on payments for donors. Non-patient donors received financial compensation of £500 per donation cycle. Compensation under the ‘egg share’ programme consisted of a subsidy (£1,500) from research funds towards the cost of treatment for self-funded patients, or an additional fully funded treatment cycle for those who did not become pregnant after NHS-funded treatment.

4. 核置換技術の倫理的課題

c) 有償ドナーの制度論：無償ドナーに応募した239名のうち、実際に卵子を提供したヒトはひとりだけ



新聞, 雑誌, 公共交通機関における広告, ネットなどを通じて卵子ドナーを募った
年齢 (25-35歳), 正常な月経周期, 健康であるかといった基準を満たしたヒトは168名

52人の卵子ドナー候補者への意識調査
(なぜ卵子ドナーを断ったか?)

無償だから (25 times)

排卵誘発の注射, 採卵手術, 副作用への懸念 (18 times)

時間的拘束が負担 (17 times)

幹細胞研究への反対が理由とするヒトは皆無

4. 核置換技術の倫理的課題

c) 有償ドナーの制度論

- アメリカ不妊学会, 国際幹細胞学会ともに研究目的での有償での卵子ドナーを認めている
- 卵子ドナーがundue inducement とならないよう求めている
- 卵子ドナーの安全（健康）を守る必要
- 適切にガイドラインを運用することにより, 無償では得られなかったドナーからの卵子提供を受けることができるようになり, これにより研究が加速され, 生殖補助医療の革新的な治療技術の開発につながる

4. 核置換技術の倫理的課題

d) 倫理

- 卵子提供という行為に対する正当な補償は？
(ドナーへのリスクを考慮すると、無償で卵子を提供するとは考え難い)
- Three parentsになることで家族関係が複雑になり、
子の福祉の観点から予期せぬ事態が発生するか？
(卵細胞質提供により生まれた子はthree parentsを有し、発達過程においてアイデンティティの確立に困難をきたすか？核DNAは生みの母由来)
- 親子関係の不明確性？
(遺伝的なつながりのみならず、分娩者・母ルールにより母を確定できるか？)

卵子間核置換（ST法）による ミトコンドリア置換に関するまとめ

- 多くの場合, ST法はミトコンドリア置換に有効である
- ST法は, 発生, ミトコンドリア機能に対してnegativeな影響は及ぼさない
- ES細胞では1/12株においてMitochondrial drift現象（ミトコンドリア遺伝的浮動）が観察された
- 技術的な改善やミトコンドリア合成に関わるより深い理解がMitochondrial driftを防ぐことにつながるかもしれない

核置換に関わる国内の課題の提言

幅広い議論を継続して行うとともに、疾患の重篤性と治療の意義、問題点について国民に周知をし、意識調査を行う

Key Points

- － ミトコンドリア病には根治療法が存在しない
- － ミトコンドリア病の治療法の開発（たとえば卵子間核置換）には意義がある
- － 卵子間核置換に関わる技術的、倫理的問題は存在する
- － 技術の改善とミトコンドリア動態へのより深い理解につながる研究が継続して求められる
- － 卵子ドナーへの身体的侵襲、時間的拘束、経済的負担について理解し、有償制度の適切な形を検討し、それにまつわる倫理的問題について議論検討する
- － ミトコンドリア病治療のための卵子提供と研究、臨床応用の実現性について現実的な視点で捉える