

先天性・遺伝性疾患の 研究・診療の立場から

国立成育医療研究センター
松原 洋一

遺伝性疾患の種類 (OMIMカタログへの収載数)

2020年7月1日現在

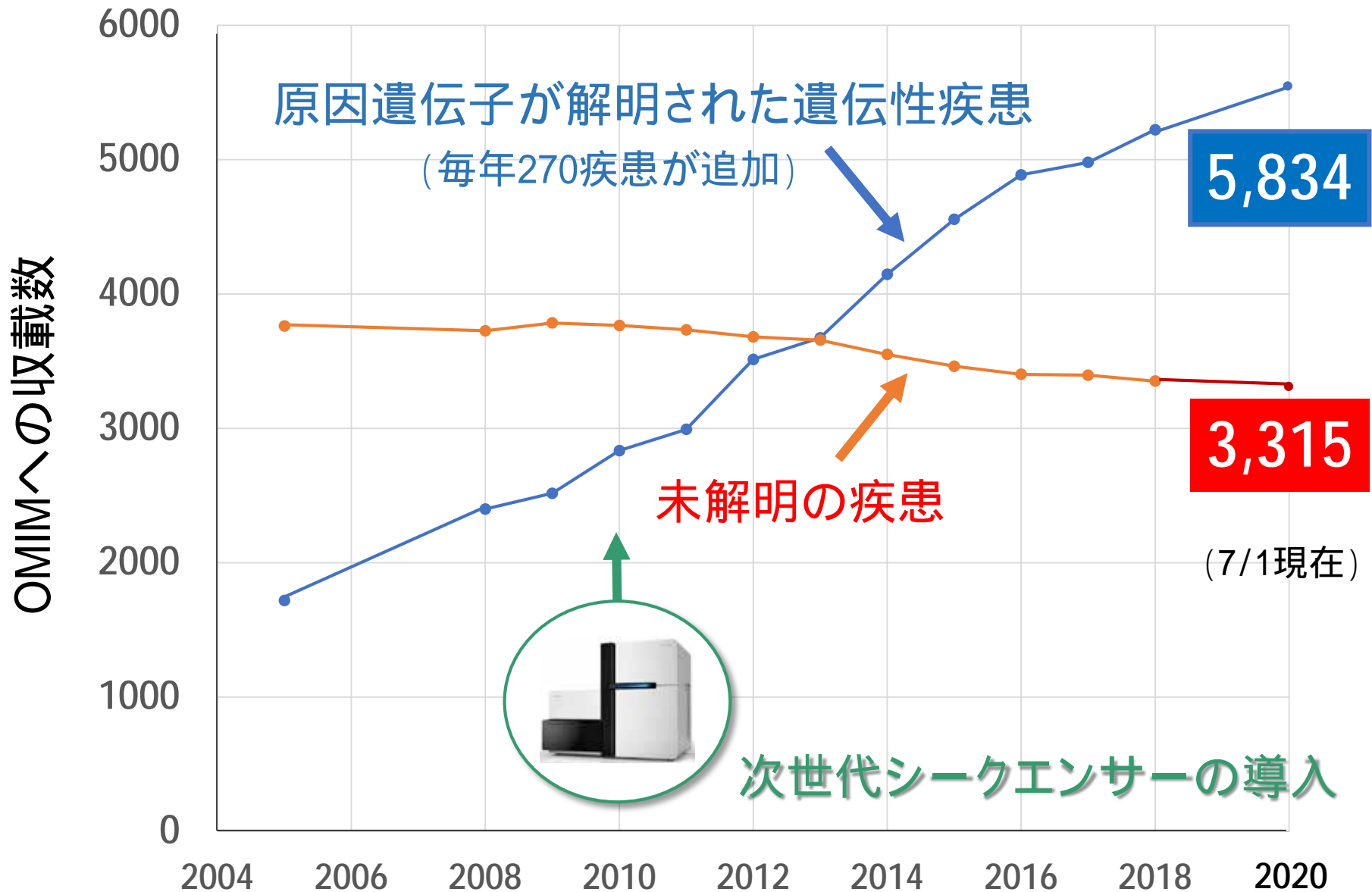
| | 常染色体 | X染色体 | Y染色体 | ミトコンドリア | 計 |
|--|---------------|--------------|-----------|-----------|---------------|
| Gene description | 15,474 | 743 | 51 | 37 | 16,305 |
| Gene and phenotype, combined | 35 | 0 | 0 | 0 | 35 |
| Phenotype description, molecular basis known | 5,451 | 345 | 5 | 33 | 5,834 |
| Phenotype description or locus, molecular basis unknown | 1,420 | 118 | 4 | 0 | 1,542 |
| Other, mainly phenotypes with suspected mendelian basis | 1,647 | 103 | 3 | 0 | 1,773 |
| Totals | 24,047 | 1,309 | 63 | 70 | 25,489 |

原因遺伝子が解明された遺伝性疾患数

Total: 9,149

原因遺伝子不明の遺伝性疾患数

遺伝性疾患の種類



遺伝性疾患の特徴

1. きわめて種類が多い
2. > 99%の疾患は治療法がない
3. 超希少疾患が多く、ごく一部を除き、製薬企業による治療薬開発は期待しにくい

遺伝性疾患に対しては、2種類の研究が想定される

1. 将来的な臨床応用を念頭に置いた研究

(例) 病におけるゲノム編集を用いた遺伝子変異の修復

2. ゲノム編集技術を用いることによって、初期発生における様々な遺伝子の役割を明らかにし、疾患発症機構を解明する基礎研究

ゲノム編集技術そのものの臨床応用ではない！

(例) 異数性レスキュー機構の解明

X染色体不活化機構の解明

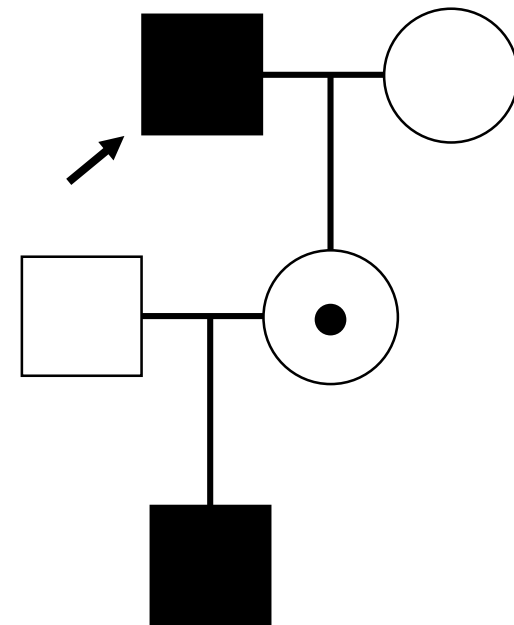
インプリンティング疾患発症機構の解明

これら2種類の研究を明確に区別して議論すべき

1. 将来的な臨床応用を念頭に置いた研究

ある指定難病をもつ患者さんの声

これまで70年間生きてきた中で、
孫に病気を遺伝させてしまった
という事実が一番つらいです。



遺伝性疾患「予防」のための医学的介入

現行

着床前診断



遺伝子診断
による選別

(罹患受精卵の排除)

出生前診断

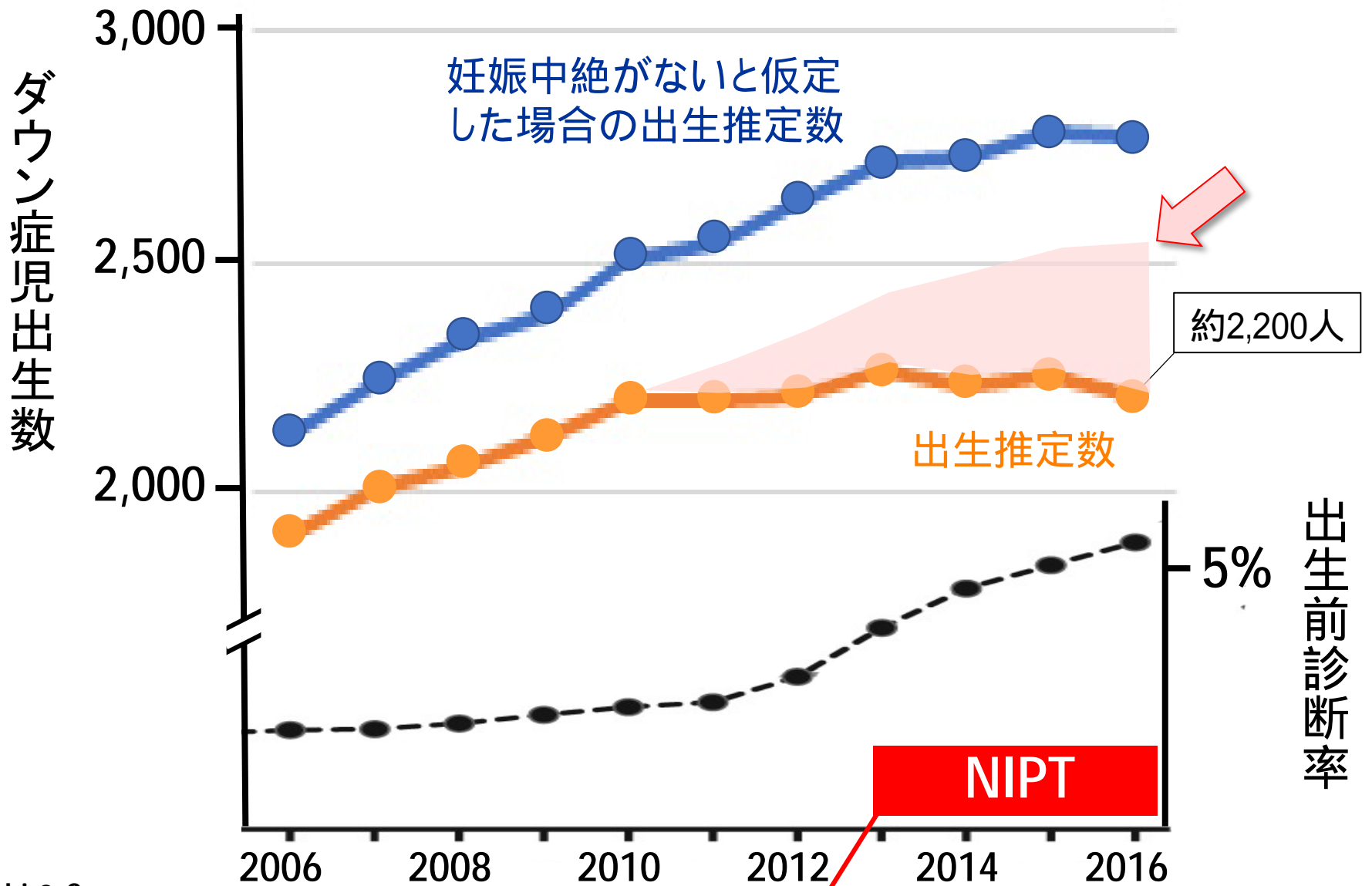


在胎20週の胎児
(Photo: Lennart Nilsson)

人工妊娠中絶

(罹患胎児の排除)

本邦におけるダウン症(21トリソミー)児の出生数



遺伝性疾患「予防」のための医学的介入

ゲノム編集

Bioethics Council Rules Heritable Genome Editing "Ethically Acceptable" In Certain Circumstances

NEWS | Jul 18, 2018 | by Ruairi Mackenzie, Science Editor, Technology Networks



The Nuffield Council on Bioethics (UK)

遺伝子変異の
修正

(罹患受精卵の救済)

現行

着床前診断



遺伝子診断
による選別

(罹患受精卵の排除)

出生前診断



在胎20週の胎児
(Photo: Lennart Nilsson)

人工妊娠中絶

(罹患胎児の排除)

Heritable genome editing:
action needed to secure responsible way forward
Nuffield Council of Bioethics (UK)

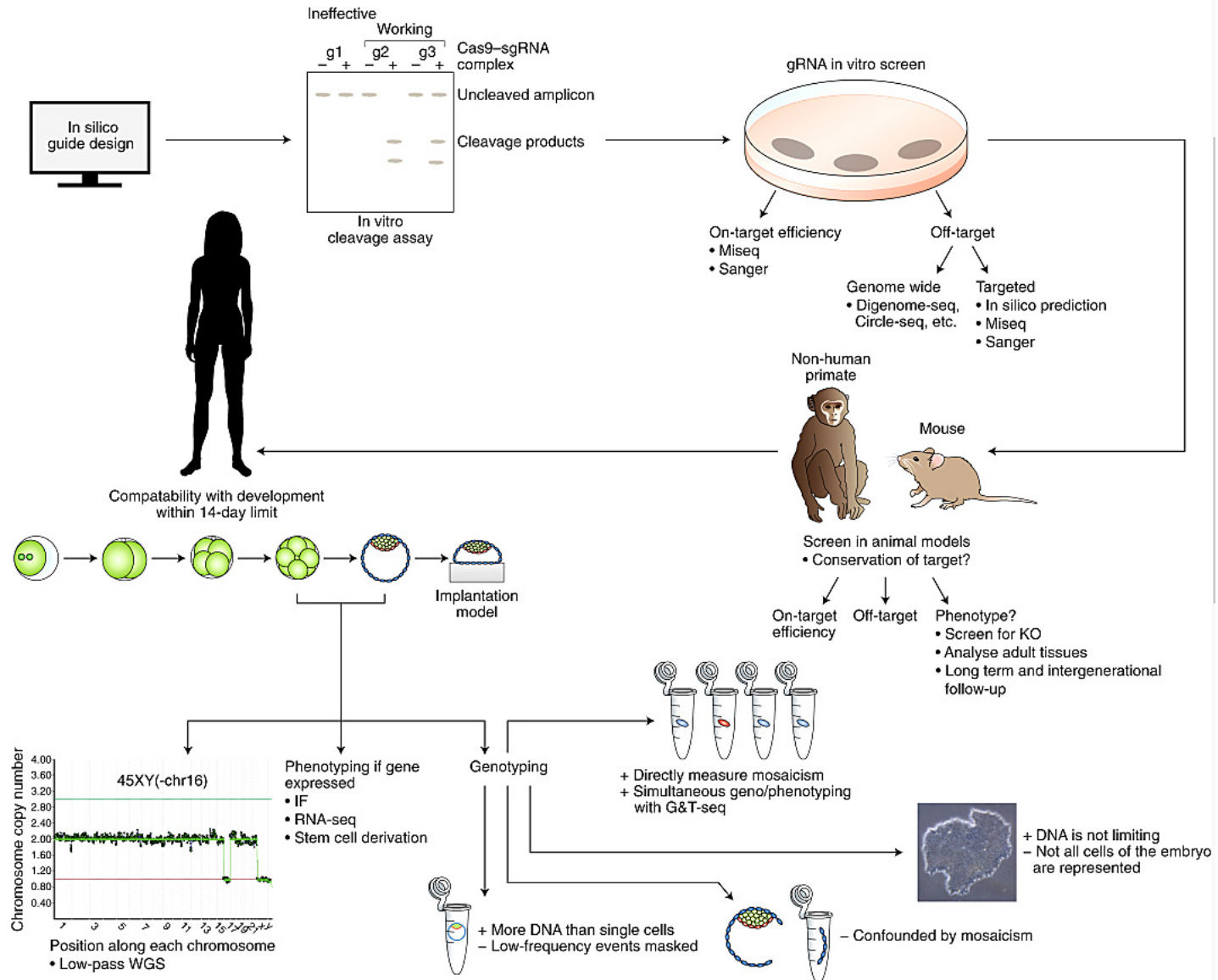
17 July 2018

Genome editing

An inquiry by the Nuffield Council on Bioethics has concluded that editing the DNA of a human embryo, sperm, or egg to influence the characteristics of a future person could be morally permissible.

将来の子孫に影響をおよぼすヒト胚・精子・卵子の
ゲノム編集は、倫理的に許容され得る

前臨床試験としてのヒト受精胚ゲノム編集

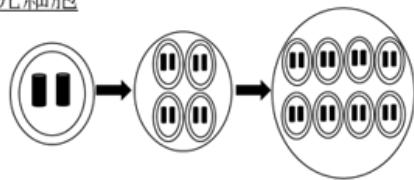


2. 初期発生における様々な遺伝子の役割を明らかにし、疾患発症機構を解明する基礎研究
(ゲノム編集技術そのものの臨床応用ではない)

ヒト受精胚におけるヒトゲノム編集技術を用いた基礎研究

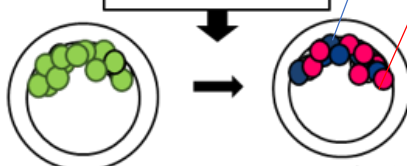
染色体異数性レスキュー機構の解明

異数性のない胎児細胞



胎児性前駆細胞が12個程度

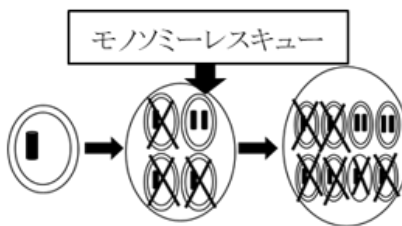
X染色体不活化



ランダムなX染色体不活化

父由来X染色体が活性
母由来X染色体が活性

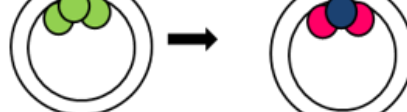
染色体が1本不足した胎児細胞



モノミーレスキュー

レスキューされない細胞は消失

X染色体不活化



偏ったX染色体不活化

受精後日数 0日

1日

3日

5日

(国立成育医療研究センター 深見真紀)

染色体異常受精後数日で修復

国立成育医療研究センター 研究所の深見真紀部長らの研究チームは、ダウン症などに つながる細胞の染色体異常を 修復する仕組みが、受精直後 の数日以内に働いていること を突き止めた。この仕組みを うまく活用すれば、不妊治療 技術の改善に役立つ。

染色体異常は、受精卵が細 胞分裂を始めた頃に一定頻度 で起こり、染色体の数が増減 する。余計な染色体が排除さ れるなどの修復が起こり、ほ とんどが正常な受精卵と同様 のプロセスで着床に進む。た だ、修復作業の詳しい仕組み は分かっていない。

チームは、修復作業を経て 生まれたと考えられる病気を もつ女性と、そうでない女性 計約250人の血液の染色体を 解析。着床前に染色体が選 別される受精後5日目ごろ に、胎盤などではなく胎児に や胎児の発育が進んで起こ る修復作業が十分でないまま 着床した胚の対照であるダウン症など の染色体異常は、こうした修 復作業が十分でないまま着床 した胚に比べて3分の1しか なかった。

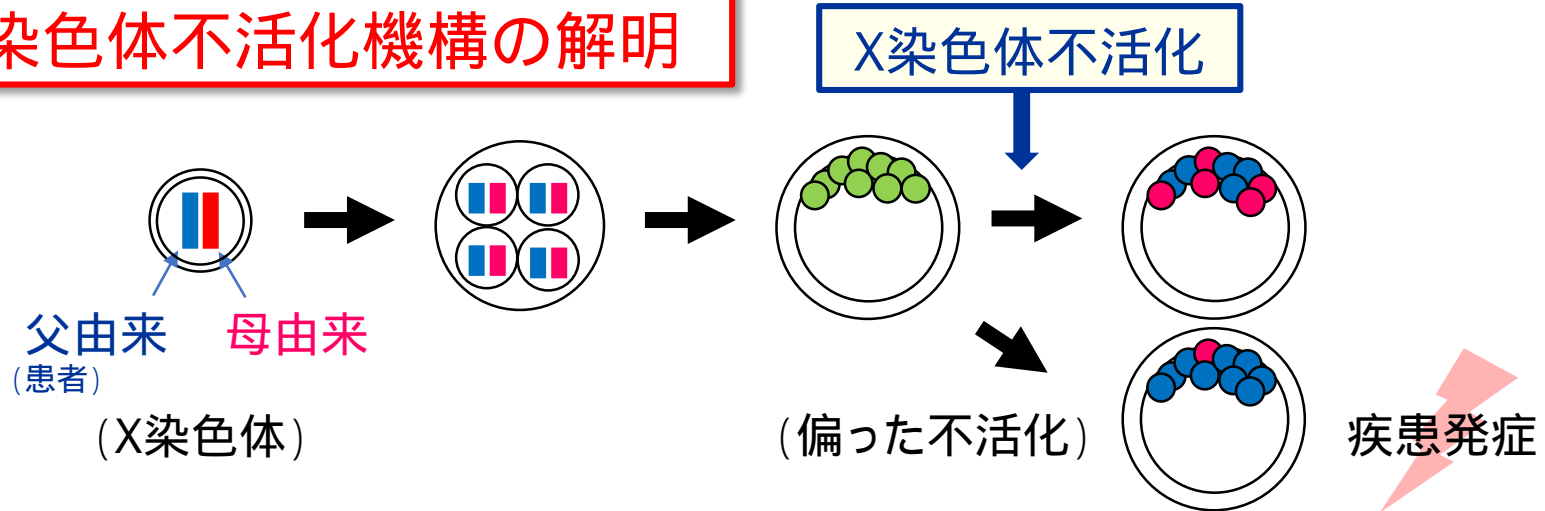
チームは、受精後数日で修 復され、5日目より前までに 修復されなかった細胞が排除さ れたと分析した。新生児前診 断の対象であるダウン症など

日経産業新聞 2019年10月9日

Human Reproduction 34(9):1762-9, 2019

- 染色体の数的異常(トリソミー、モノソミー)は、マウスに比べてヒトで圧倒的に多い
- 染色体数異常の自然修復という現象(異数性レスキュー)が存在
受精後数日以内に起こることが判明(Hum Reprod 34:1762-9, 2019)
しかし、そのメカニズムは不明
- 異数性レスキュー機構の解明は、ゲノム編集技術を用いることなく、染色体異常の発生を予防できる可能性

X染色体不活化機構の解明



- ・男性(オス)はX染色体を1本、女性(メス)は2本有している
女性(メス)ではX染色体2本のうち、1本は不活化される
- ・X染色体の不活化は受精胚の初期発生段階で起こる ~ マウスとヒトでは異なる
マウス:すべての細胞で父親由来のX染色体が不活化される
ヒト:細胞毎にどちらかがランダムに不活化される ~ そのメカニズムは不明
- ・X染色体上に病気の原因となる遺伝子異常(X連鎖性疾患)が存在する場合
男性は、発症
女性は、発症しない ~ しかし、X染色体の偏った不活化がおきると発症
- ・ヒト受精胚におけるX染色体不活化機構の解明は、ゲノム編集技術を用いることなく、X連鎖性疾患の女性発症を予防できる可能性

なぜヒトの受精胚を用いて研究する必要があるのか

ヒト受精胚を用いて行われたゲノム編集研究

Lea RA et al., Human germline genome editing
Nature Cell Biology VOL 21, DECEMBER 2019, 1479-1489

Table 1 | A summary of human embryo CRISPR-Cas9-mediated genome editing experiments

| Technique | Basic biology | | | | Preclinical | | | | | | Base editing | | | | |
|---|---|----------------------------------|---------------------------------|--|-------------------------|---|--------------|-----------------------------|--|------------------------------|---|--------------------------------------|--|--|---|
| | NHEJ | NHEJ with two guides | | | HDR | | | | | | Base editing | | | | |
| Mode of editing | Indels | Large deletions | | | Precise genetic changes | | | | | | Single base-pair changes | | | | |
| Starting material | 2PN zygotes | | 3PN zygotes | | | 2PN zygotes (from ICSI with het sperm donor) ^a | | | MII-phase oocytes during ICSI | | 3PN zygotes | | | Nuclear transfer embryos | 2PN zygotes (from ICSI with het sperm) ^b |
| Gene target | <i>POU5F1</i> | <i>CCRS</i> | <i>HBB</i> | <i>HBB</i> | <i>G6PD</i> | <i>HBB</i> | <i>G6PD</i> | <i>MYBPC3</i> | <i>MYBPC3</i> | <i>RNF2</i> | <i>HBB</i> | <i>FANCF</i> | <i>HBB</i> | <i>FBN1</i> | |
| On-target efficiency (≥1 allele) ^a | 45% of cleavage-stage embryos with complete editing | 15.4% with Δ32 mutation analysed | 6.7% with Δ32 mutation analysed | 9.7% HDR with ssDNA of total amplified | 10% HDR | 20% HDR | 25% HDR | 100% HDR | 44.4% proposed HDR with maternal allele ^c | 5.9% HDR with ssODN | 87.5% C-T conversion around target site | 36.8% with desired nonsense mutation | 100% with targeted mutation (58.8% include additional mutations) | 40.9% G-A conversion at correct position | 100% G-A conversion |
| % non-mosaicism | 0% | 50% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0% | 50% | 0% | 0% | Not reported | 0% | 17.6% | 0% | 90.9% |
| Off-target effects | None | None | None | 100% analysed by whole exome-seq | Not reported | Not reported | Not reported | None in one embryo analysed | None in three embryos analysed | None in two embryos analysed | Not reported | Not reported | One off-target in 33.3% analysed by WGS | Not reported | None |
| Reference | Fogarty et al., 2017 | Kang et al., 2016 | | Liang et al., 2015 | Tang et al., 2017 | | | Ma et al., 2017 | | Li et al., 2017 | | | Zhou et al., 2017 | Liang et al., 2017 | Zeng et al., 2018 |

^aIf multiple experiments were performed, the maximum efficiency is reported. Efficiency is calculated as the number of embryos containing at least one allele with the desired edit out of the total number of embryos used in that experiment. ^bWhere a heterozygous sperm donor is used to create embryos carrying a mutation to be 'repaired', efficiency is calculated as the number of embryos containing at least one allele with the desired edit out of the total number of confirmed mutant embryos. ^cOf 11 embryos arrested or collected during the cleavage-stage of development (pre-compaction), 5 had no detectable wild-type *POU5F1* alleles across all cells. ^dIn this experiment, it has not been proven unequivocally that HDR with the maternal allele as a repair template has occurred (see main text). NHEJ, non-homologous end joining; HDR, homology-directed repair; 2PN, two pronuclear; 3PN, trippronuclear; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. *Nature* 550:67-73, 2017

胚初期発生におけるOCT4* (遺伝子: *POU5F1*) の機能は、マウスとヒトでは異なる

* OCT4は、iPS細胞の作成に必要な「山中因子 (Yamanaka factors)」のひとつ

結 語

ヒトゲノム編集は、難病をもつ患者・家族に、根本的な治療法を提供できる可能性がある。

ゲノム編集を用いた受精卵の基礎研究は、ゲノム編集ベビーを誕生させることなく、遺伝性疾患の発生そのものを予防する治療に結び付く可能性がある。

課題：卵割が進んだ余剰胚では、初期発生の研究は実施できない。新規胚の作成が不可欠。

