

# ヒト受精胚及びヒト胚核移植胚を用いたミトコ ンドリア病研究の可能性

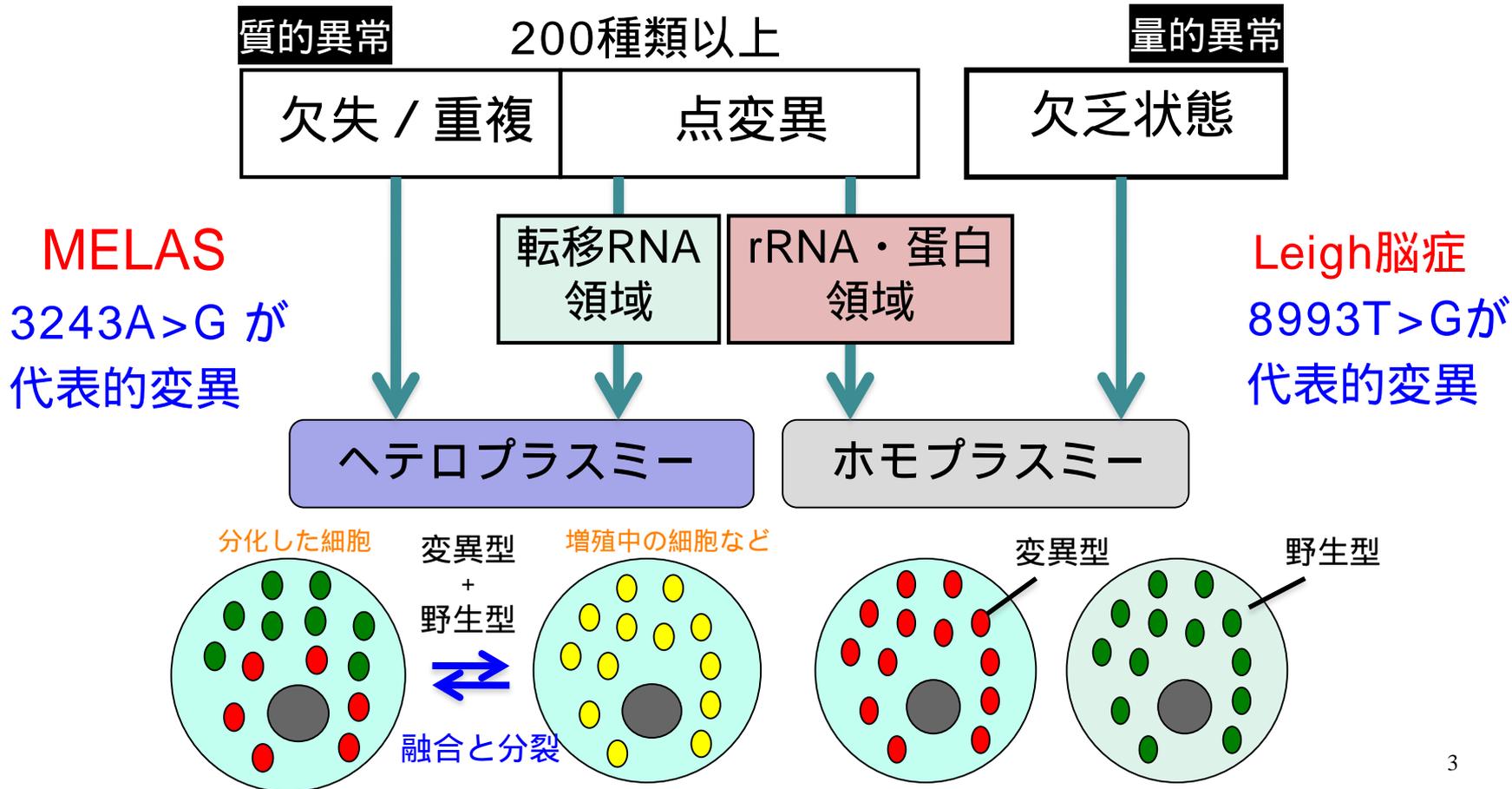
国立研究開発法人  
国立精神・神経医療研究センター

後藤 雄一

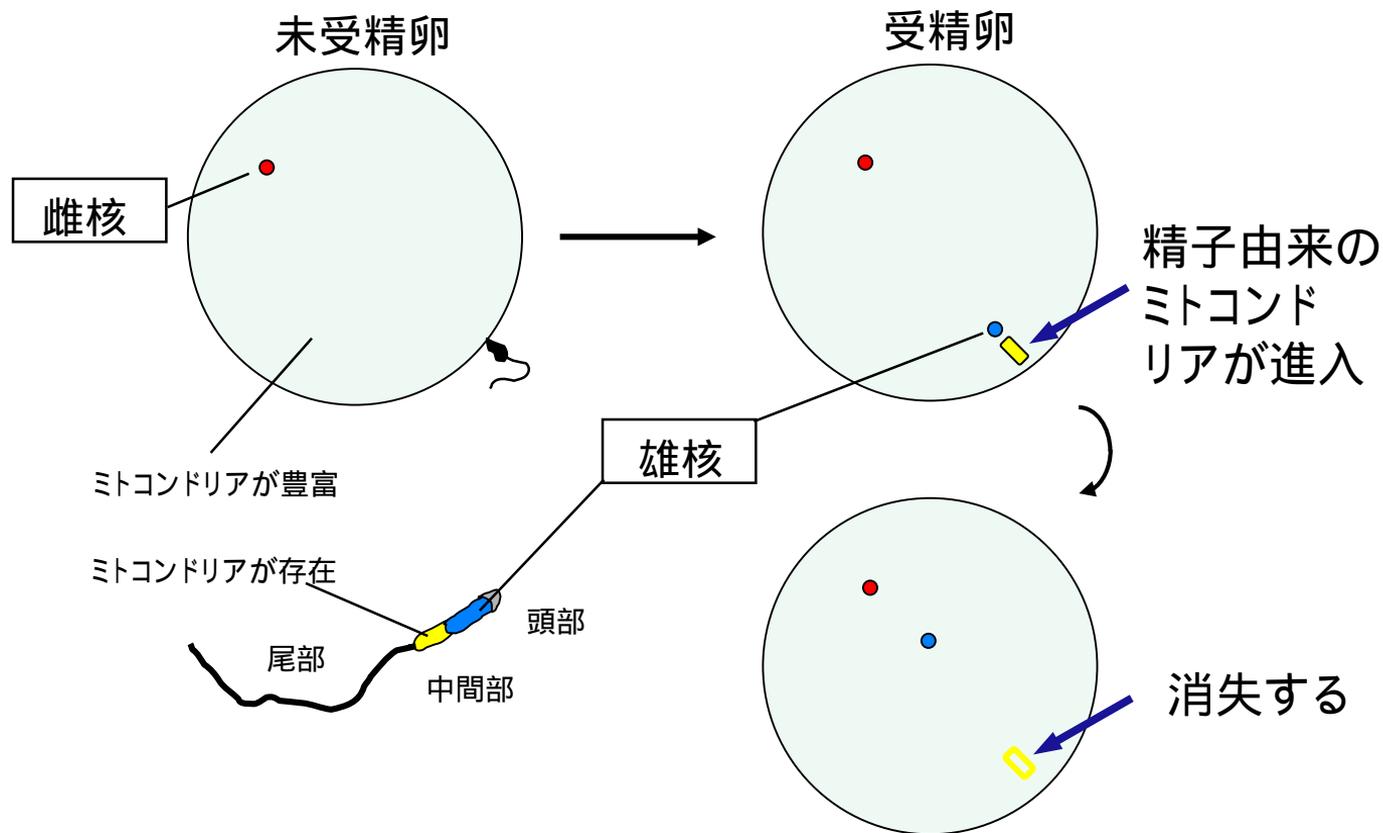
# ミトコンドリア病とは

- 1 . ミトコンドリアの機能障害でおきる。
- 2 . 核DNAにある遺伝子でもミトコンドリアDNAの変化でも起き、多様な遺伝形式をとる。
- 3 . 多様な臨床症状、多様な臨床経過をとる
- 4 . ミトコンドリアDNAの変化で起きる病気では、脳卒中様症状を特徴とするMELAS、小児で発症する重篤なLeigh脳症の頻度が高い
- 5 . 生殖補助医療として、着床前診断や「核移植」が話題である。

# ミトコンドリアDNA異常の種類



# 受精に伴うミトコンドリアの挙動 母系遺伝



# 臍帯血における主要なmtDNA点変異

対象の検体： 3168人 新生児臍帯血

種類	陽性例	母の血液で陰性
1555 A G	2	0
3243 A G	4	2
3460 G A	3	0
7445 A G	0	0
8344 A G	0	0
8993 T G	0	0
11778 G A	3	1
13513 G A	0	0
14459 G A	0	0
14484 T C	3	0
	15 (0.47%)	3

Fluorescent  
Last cycle PCR  
測定感度1.8%

少なくとも出生200人に  
1人には点変異が存在

3243変異は、その内の  
33%を占める

新生変異は10万人に  
107人の割合  
(1000人弱に1人)

Hannah, R. et al.  
Pathogenic mitochondrial DNA  
mutations are common  
in the general population  
AJHG 83: 254-260, 2008

# Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans

Shiyu Luo<sup>a,b</sup>, C. Alexander Valencia<sup>a,1</sup>, Jinglan Zhang<sup>c</sup>, Ni-Chung Lee<sup>d</sup>, Jesse Slone<sup>a</sup>, Baoheng Gui<sup>a,b</sup>, Xinjian Wang<sup>a</sup>, Zhuo Li<sup>a,2</sup>, Sarah Dell<sup>a</sup>, Jenice Brown<sup>a</sup>, Stella Maris Chen<sup>c</sup>, Yin-Hsiu Chien<sup>d</sup>, Wuh-Liang Hwu<sup>d</sup>, Pi-Chuan Fan<sup>e</sup>, Lee-Jun Wong<sup>f</sup>, Paldeep S. Atwal<sup>g,3</sup>, and Taosheng Huang<sup>a,3,4</sup>

<sup>a</sup>Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH 45229; <sup>b</sup>Maternal and Child Health Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, 530003 Guangxi, China; <sup>c</sup>Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030; <sup>d</sup>Department of Pediatrics and Medical Genetics, National Taiwan University Hospital, 100 Taipei, Taiwan; <sup>e</sup>Department of Pediatrics, National Taiwan University Hospital, 100 Taipei, Taiwan; and <sup>f</sup>Department of Clinical Genomics, Center for Individualized Medicine, Mayo Clinic Hospital, Jacksonville, FL 32224

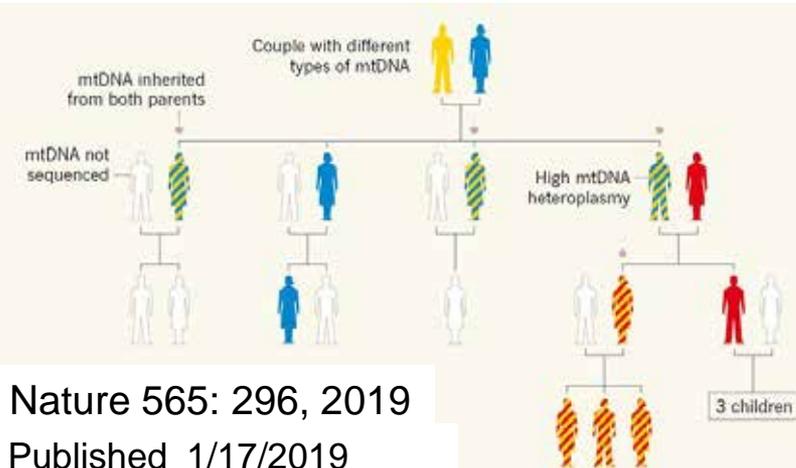
PNAS 115: 13039, 2018 Online 11/28/2018

## NEWS & VIEWS

GENETICS

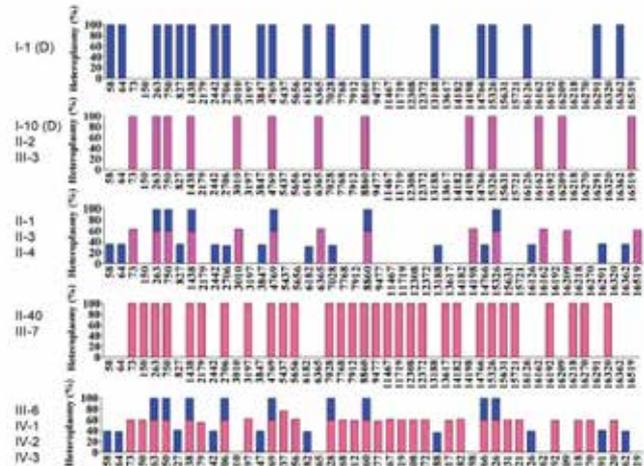
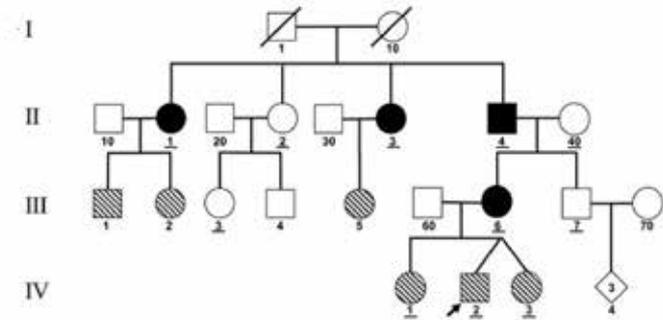
### Fate of a father's mitochondria

A tenet of elementary biology is that mitochondria — the cell's powerhouses — and their DNA are inherited exclusively from mothers. A provocative study suggests that fathers also occasionally contribute.



Nature 565: 296, 2019

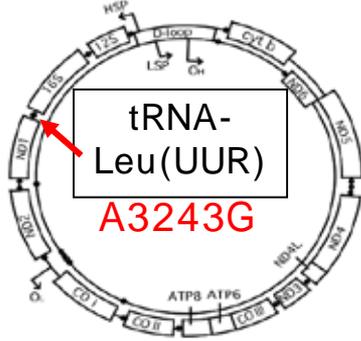
Published 1/17/2019



3家系17人に父由来と母由来の  
mtDNAが検出された

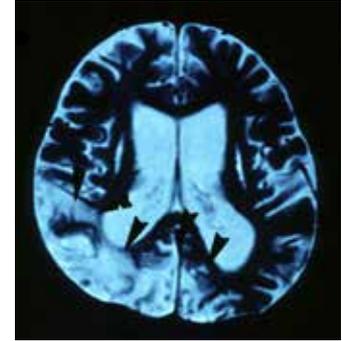
真偽の議論が継続中

# 3243変異をもつ症例の症状



## MELAS (若年性脳卒中)

- ・患者の80%に3243変異が存在
- ・知的発達障害を伴う
- ・低身長・心筋症等の多臓器症状



ミオパチー

精神症状

低身長

糖尿病

心筋症

難聴

- ・患者の約1%が3243変異
- ・緩徐進行性、難聴を伴う
- ・インシュリンが必要になる

肝機能障害

多毛・皮膚炎

ニューロパチー

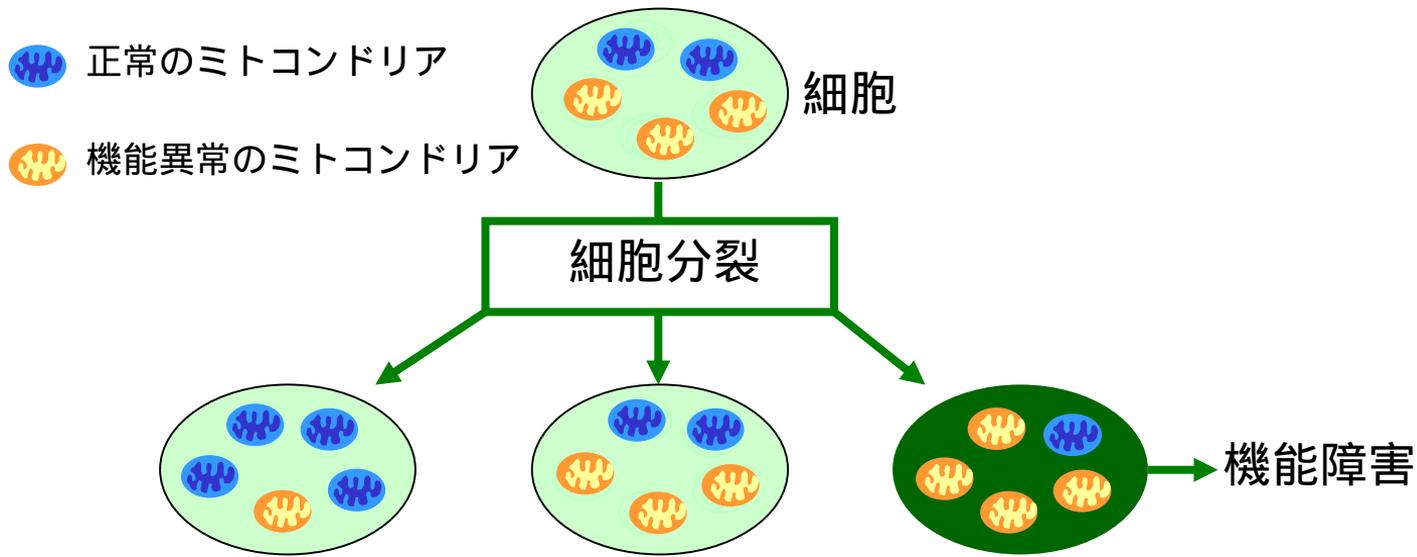
消化器症状

糸球体硬化  
腎尿細管機能障害

不妊  
習慣性流産



# 閾値効果



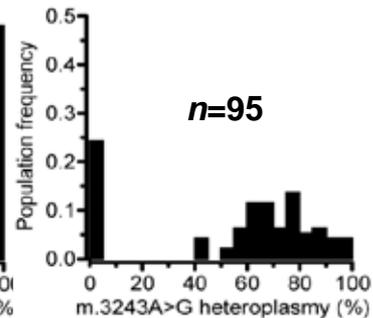
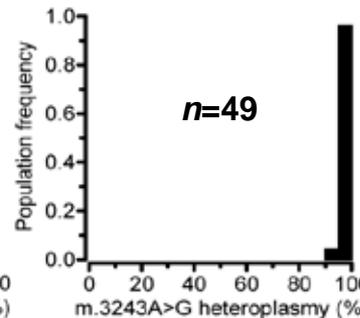
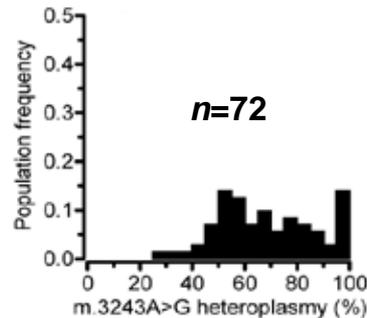
# 患者線維芽細胞におけるm.3243A>G変異率



患者線維芽細胞は  
様々な変異率をもつ  
細胞の集団

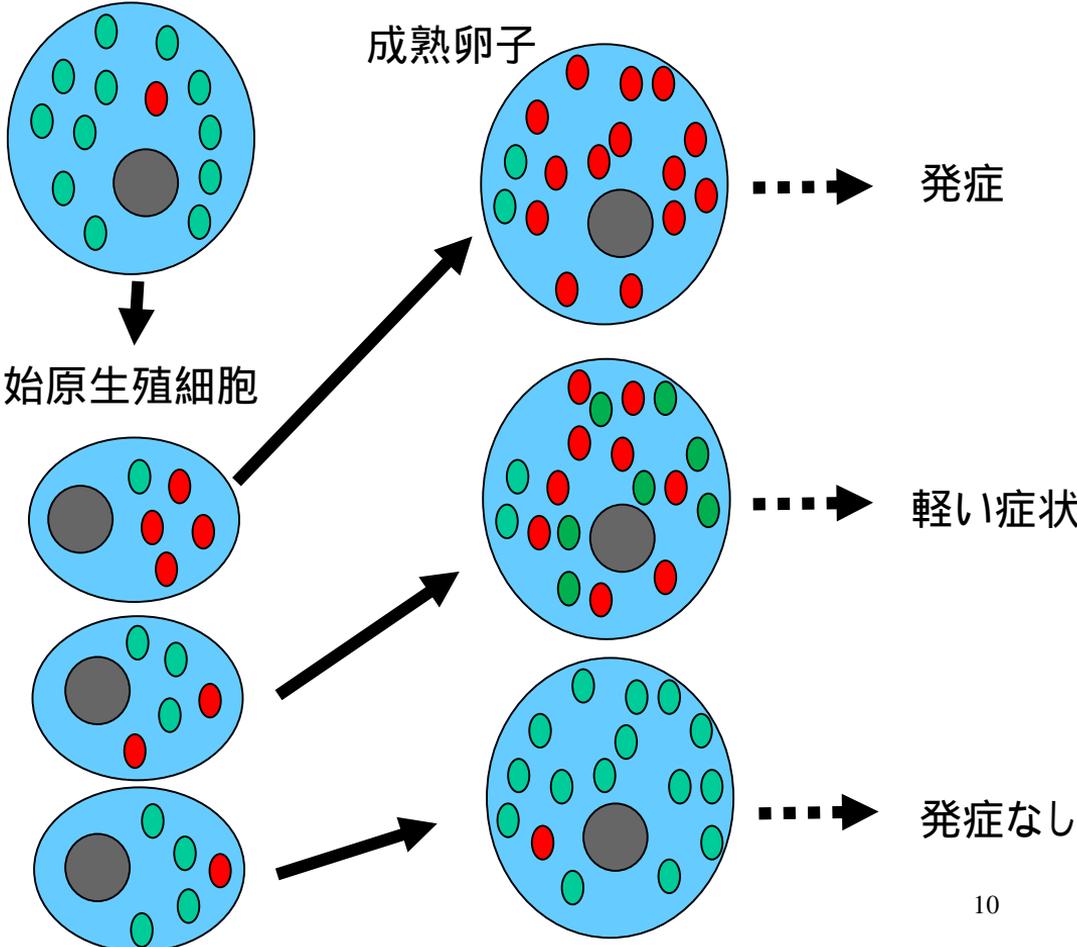
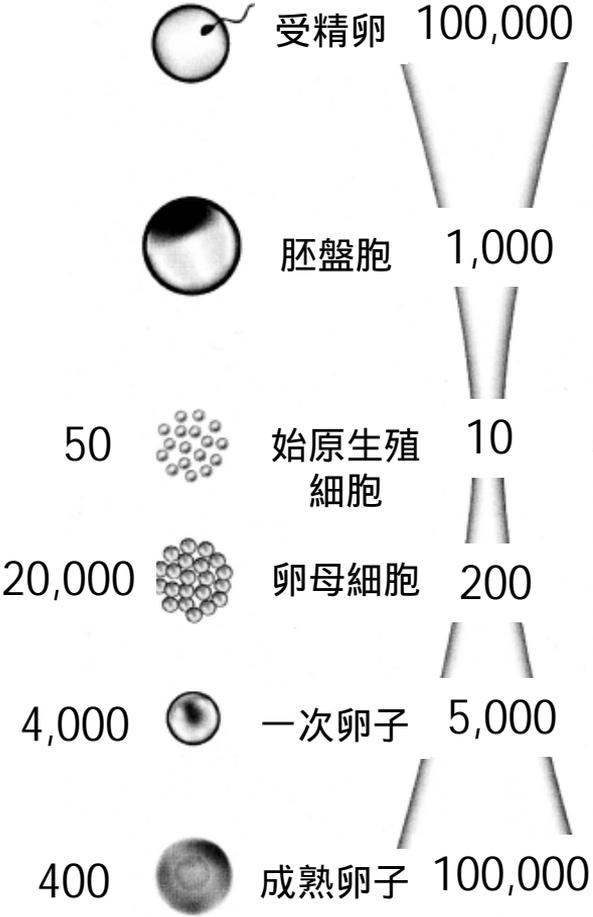


核DNAの背景の違い?  
(修飾因子があるか)

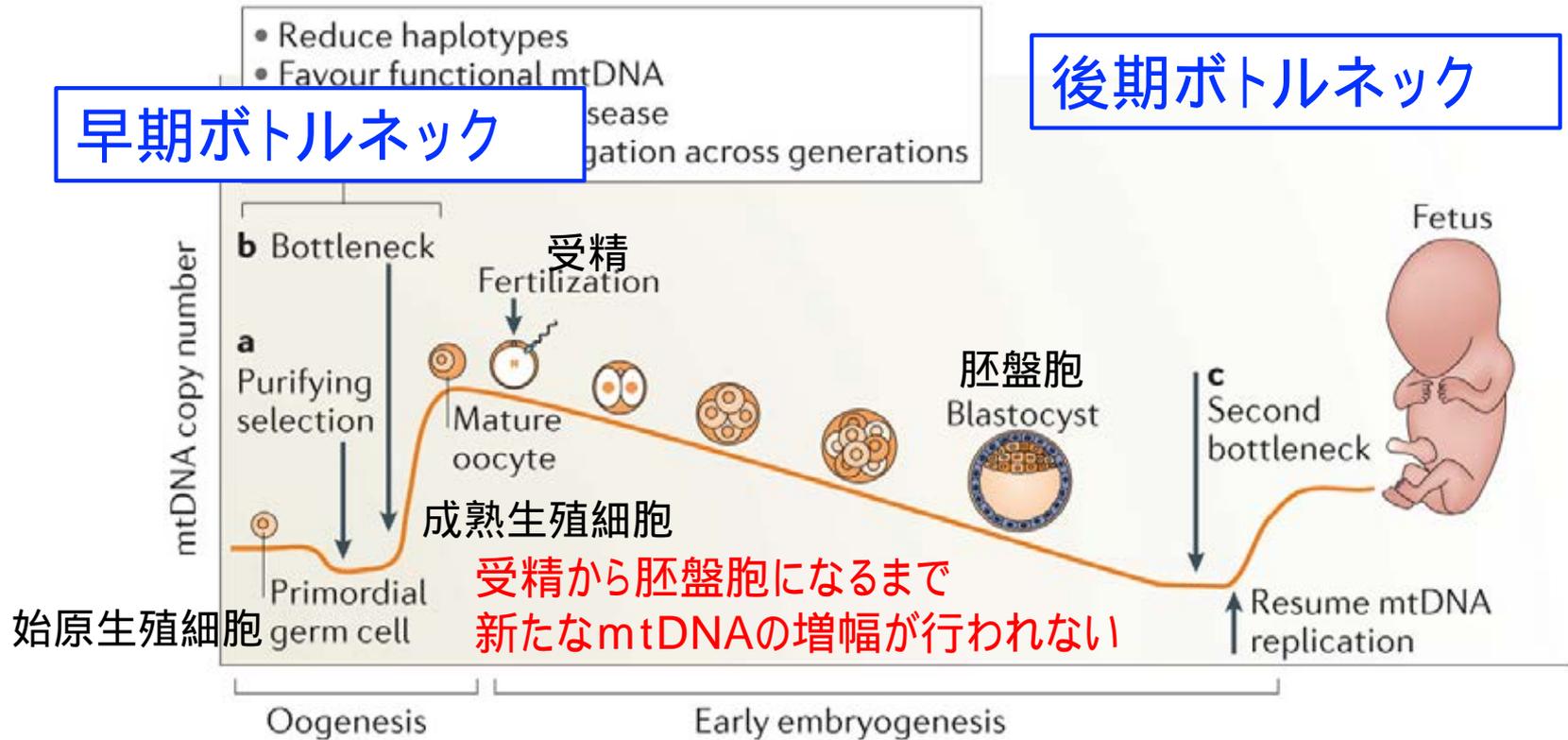


# 早期ボトルネック効果

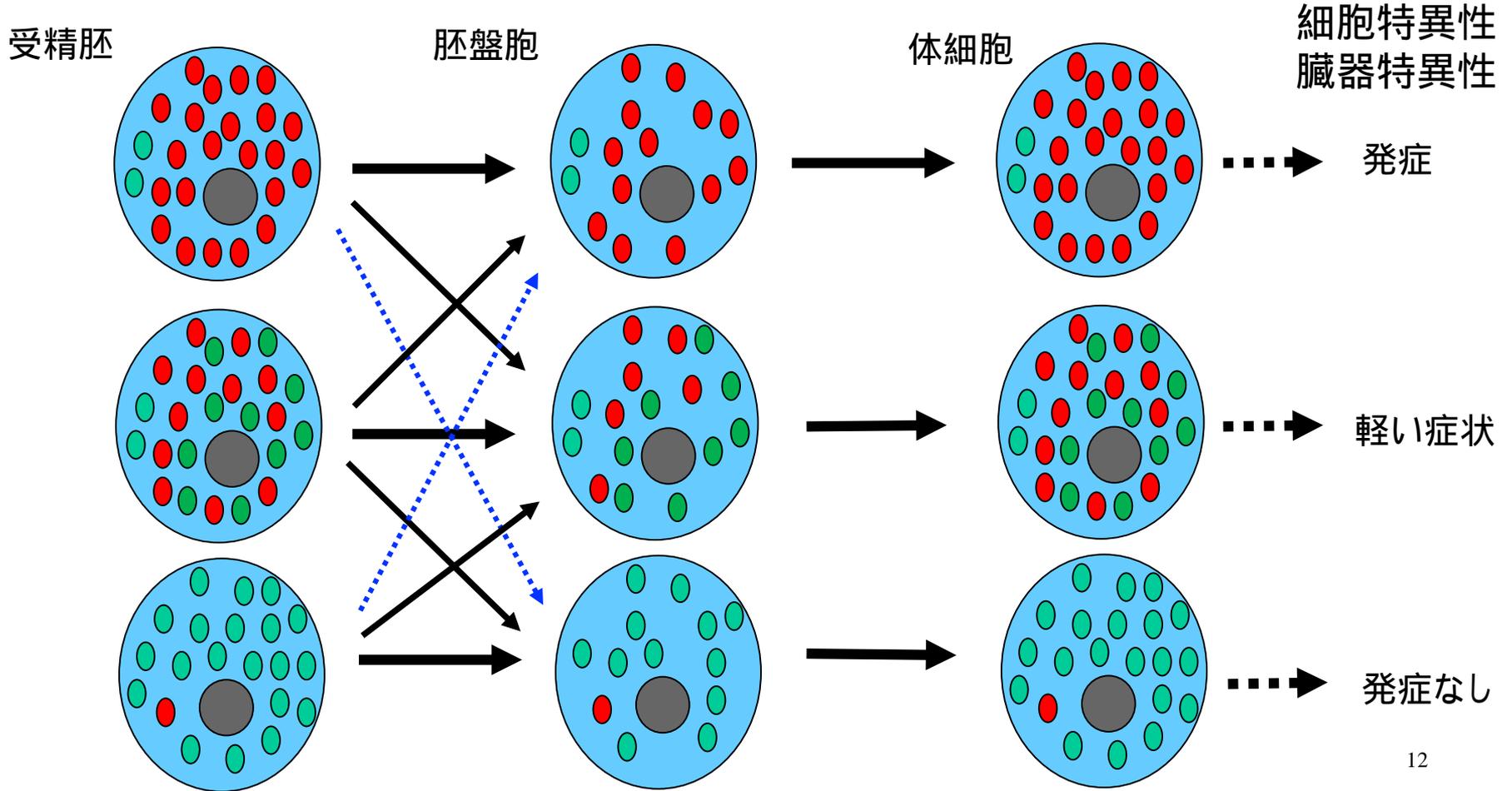
細胞あたりのミトコンドリア数



# ライフサイクルにおける ミトコンドリアDNAコピー数の変動



# 後期ボトルネック効果



# 変異率に影響を与える要因

- ・ **ボトルネック効果**
- ・ 分裂能と分裂回数
- ・ 再生が可能な細胞かどうか（血液細胞 vs 神経細胞）
- ・ 病的変異の複製が優勢になる？（欠失型は増えやすい？）
- ・ 細胞内の位置による複製能の違い  
（核周囲のミトコンドリアDNAが優先的に複製される？）
- ・ 細胞特異的にある種のmtDNAを優先的に増殖させる因子が存在（肝と脾臓で増えやすい多型が違う？）
- ・ 有害変異の除去機構

# ミトコンドリア病における生殖補助医療

## 1 . 出生前診断（8993変異などのホモプラスミーの例に限られる）

羊水・絨毛診断

受精卵診断

余剰胚

検査医療体制

## 2 . 治療

ミトコンドリア移植

核置換

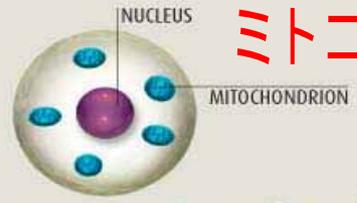
卵子提供、胚提供

遺伝カウンセリング体制

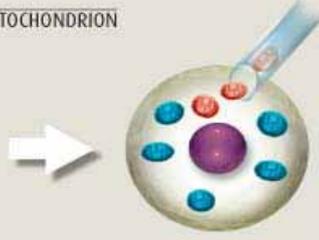
社会的  
コンセンサス

# ミトコンドリア移植

母の卵



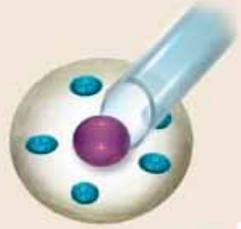
ドナーの卵



ドナーのミトコンドリアを  
母の細胞質に移植する

母とドナーの  
ミトコンドリアが混合

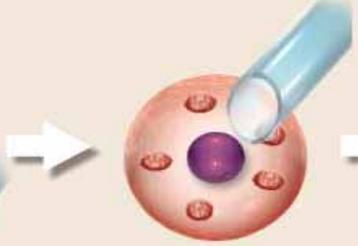
母の卵



ドナーの卵



# 核置換



ドナーの核を除き、  
母の核を移植する

“三人の親”問題

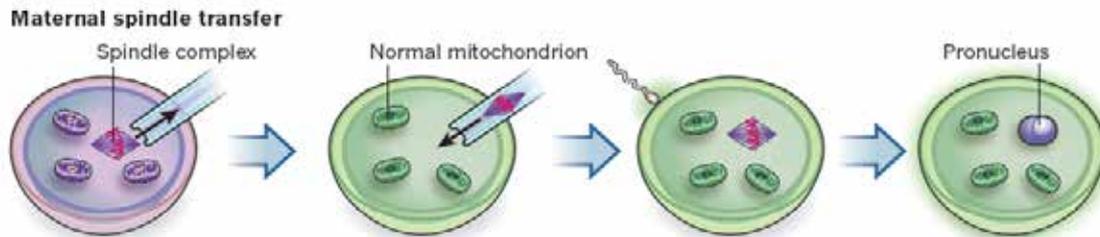
核周囲のミトコンドリアが  
キャリーオーバー

ドナーの  
ミトコンドリアのみ

変異mtDNAは伝わらないはず

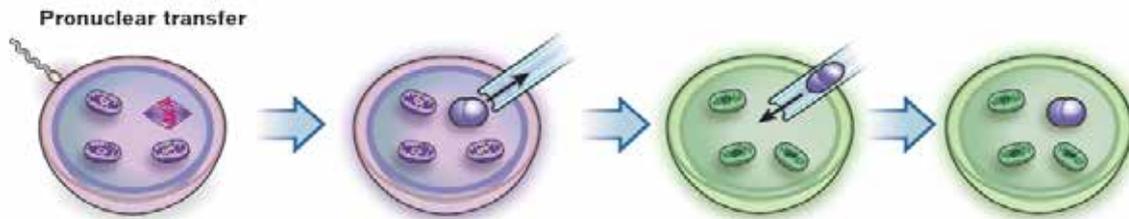
# 核置換 nuclear replacement

紡錘体移植 Spindle transfer 卵子間核置換



卵子に対する操作

前核移植 Pronucleus transfer 受精胚核置換



受精胚に対する操作



ヒト胚核移植胚

UK sets sights on gene therapy in egg nature 2012

## Latest Stories

最新記事

## | ワールド

生命科学

## 3人の親を持つ子供がイギリスで生まれる？

‘Three-Person’ Babies Born Through Mitochondrial Donation

遺伝病を持つ母親の卵子核を健康な女性のものとの交換する技術が承認された

2015年2月12日（木）15時11分

アバニシュ・バンディ



倫理的反対も ミトコンドリア遺伝子の欠陥からくる難病の予防に役立つとされるが Juan Gartner—Science Photo Library/Getty Images

## 他家核置換術が英国下院で承認

承認されたのはミトコンドリア病の女性の卵子から核を取り出し、健康な別の女性の卵子核と交換する技術。これでミトコンドリア病が子に伝わるのを防げるかもしれない。この手順で作られる受精卵は3人の「親」の遺伝子を受け継ぐ。両親の遺伝子と、卵子核を提供する女性のミトコンドリア遺伝子だ。

この技術を開発した英ウェルカム・トラスト・ミトコンドリア研究センターのダグ・ターンブル所長は、ミトコンドリアの遺伝子を交換する技術を承認するよう議会に求めている。「承認が遅れば、年輪的にそろそろ妊娠を諦めざるを得ない女性たちが苦しむだけだ。妊娠の機会を逃してしまおう」と、ターンブルは言う。「遺伝子に問題はあるが健康な子供が欲しい女性の中には、この技術の承認が唯一の希望という人もいる」

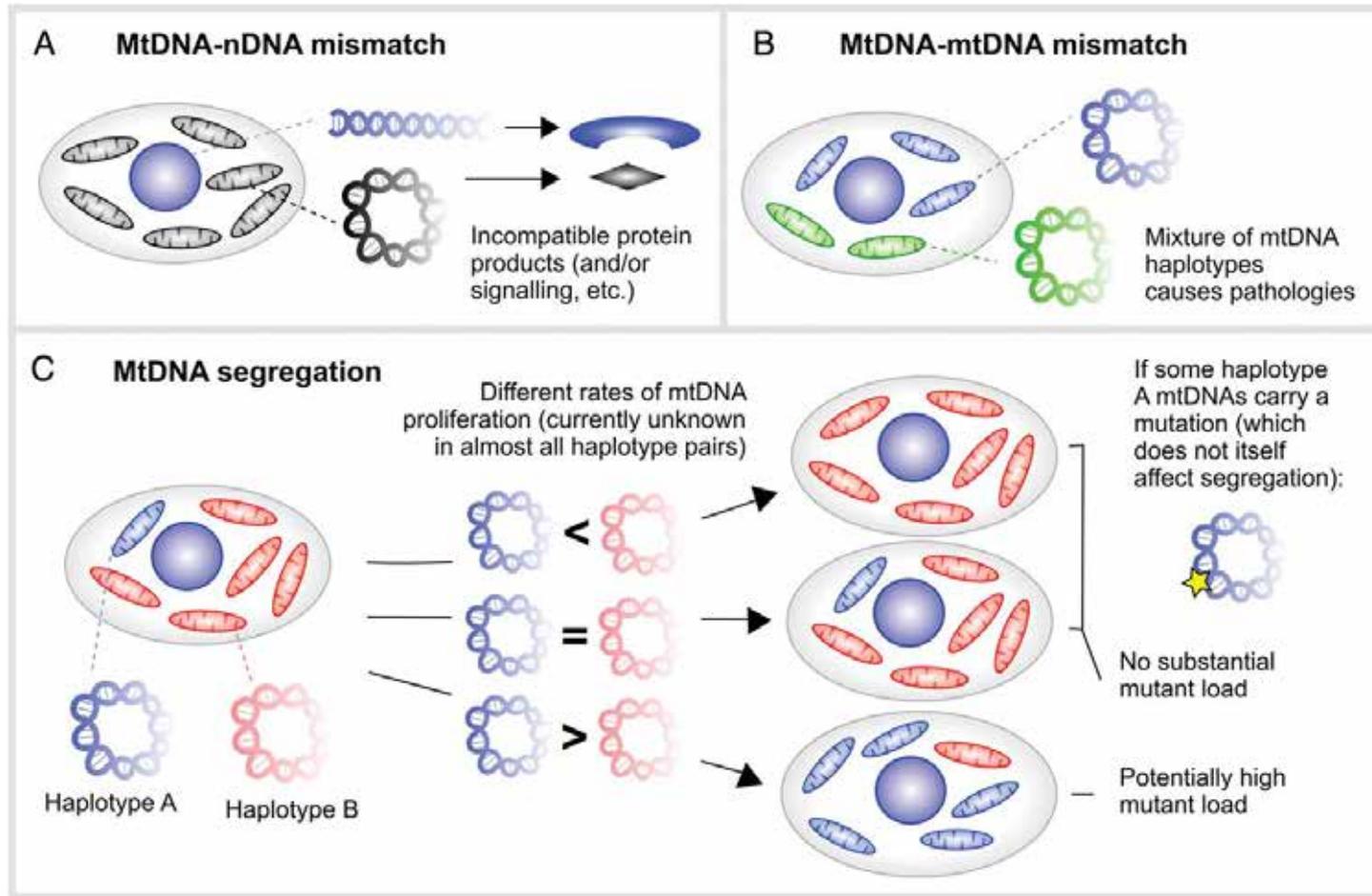
だが技術の承認には、倫理や宗教、医学の見地から反対の声があった。「技術の安全性と効果を証明する必要がある」と、英国国教会の医療倫理顧問を務めるブレンダン・マッカーシーは言う。カトリック教会のジョン・シェリントン司教は下院の投票前に「この方法には倫理的に反対すべき大きな理由がある。人の胚を破壊することだ」との声明を発表した。やがて遺伝子を選んでつくる「デザイナーベビー」の誕生につながるという懸念もある。

その一方でノーベル賞受賞者を含む14カ国40人の科学者は、英下院に技術の承認を求めた。「ミトコンドリアの移植は、健康な子供を持つ機会を人々に与えるものだ」

イギリスを二分した新たな医療技術は、早ければ年内にも実施される可能性がある。

[2015年2月17日号掲載]

# 核置換に特異的な安全性の問題



# 核置換（細胞質移植）に関して研究すべきこと

- 1．置換 / 移植技術自体の安全性
- 2．ドナー細胞 / 卵の選択の妥当性
- 3．ミトコンドリア病病態関連
  - ・ ヘテロプラスミーは変動するか  
（ mtDNAのコピー数 ）
  - ・ mtDNAの発現とミトコンドリア機能  
（ 特に、核-ミトコンドリア相互作用）

基盤となる知見がまだ不十分である

# 1. ヒト受精胚へのゲノム編集技術等の利用について 「第二次報告」における検討の全体的整理

		基礎研究		臨床応用
胚の種類		余剰胚	新規胚	
検討対象				
ゲノム編集技術等 (生殖補助医療研究目的)		<ul style="list-style-type: none"> <li>第一次報告において容認。平成31年4月にゲノム編集指針を策定。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>個別計画の審査を前提として、容認</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ヒト又は動物への胎内移植は現時点において容認できない</li> <li>法的規制も含めた制度的枠組みを今後検討</li> </ul>
ゲノム編集技術等 (遺伝性・先天性疾患研究目的)		<ul style="list-style-type: none"> <li>個別計画の審査を前提として、容認</li> <li>→ゲノム編集指針の見直し</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>容認の可否を引き続き検討</li> </ul>	
核置換技術		<ul style="list-style-type: none"> <li>ヒト胚核移植胚については個別計画の審査を前提として容認</li> <li>針の見直し</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>卵子間核置換については容認の可否を引き続き検討</li> </ul>	



**患者由来余剰胚を用いた  
基礎研究が容認された。  
(発生14日まで)**

容認済 (H31.4)
容認
引き続き検討

※1 基礎的研究：ヒトや動物に、ゲノム編集技術等を用いたヒト受精胚を移植しない（固体産生につながらない）研究をいう。

※2 臨床利用：ヒトや動物に、ゲノム編集技術等を用いたヒト受精胚を移植する（固体産生につながる可能性が有る）利用をいう。

（「基本的考え方」見直し等に係る報告書（第一次）～生殖補助医療研究を目的とするゲノム編集技術等の利用について～）より

### (3)核置換技術を用いた研究について

#### 【検討の経緯】

生殖細胞系列における細胞質に局在するミトコンドリアを置換するための核置換技術には、受精胚核置換と卵子間核置換がある。

ヒト受精胚に「核置換技術」を用いて作成される胚は、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」（平成12年法律第146号。以下「クローン技術規制法」という。）で規定する特定胚の一つである「ヒト胚核移植胚」であり、同法に基づき制定された「特定胚の取扱いに関する指針」（平成13年12月文部科学省告示。以下、「特定胚指針」という。）において、胚の作成及び胎内移植が禁止されている。

一方、卵子間核置換については、受精を伴わない場合は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（平成26年12月文部科学省・厚生労働省告示）の対象となるが、生殖補助医療研究目的のため核置換された未受精卵を用いてヒト受精胚を作成する場合は、ART指針の対象となる。

ヒト胚核移植胚については、「基本的考え方」6においてミトコンドリア病等に対する医学的有用性等が指摘されたが、その取扱いのあり方については今後検討すべき課題とされた。

生命倫理専門調査会では、平成27年10月に英国がミトコンドリア病の予防のため、受精胚核置換及び卵子間核置換の臨床利用を認めたことなどを受け、ゲノム編集技術等に係る検討と平行して、第98回会合（平成28年6月）よりヒアリング等を実施し、検討を行った。

## 【タスク・フォースの見解】

ミトコンドリア病研究を目的とし、ヒト受精胚への核置換技術を用いた基礎的研究を行うことについては、科学的合理性・社会的妥当性があると考えられ、ゲノム編集技術等を用いる場合と同様、一定の要件が確保されることを個別の研究計画において適切に確認することを前提に、容認することが適当である。

また、ミトコンドリア病研究を目的とする研究用新規作成胚（配偶子に核置換技術を用い、受精させる場合を含む。）及びその際の卵子提供に係る倫理的課題については、遺伝性・先天性疾患研究目的において研究用新規作成胚にゲノム編集技術等を用いる場合と同様に考えられるため、専門調査会において引き続き検討していくこととする。

なお、核置換のうち受精胚核置換については、クローン技術規制法に定める特定胚の一種の「ヒト胚核移植胚」であり、現在は特定胚指針において作成が禁止されている。他方、同法の目的は人クローン個体等の産生を禁止することであるため、ミトコンドリア病の病態解明等のため、ヒト胚核移植胚の作成を行う基礎的研究は、この目的に直接的に抵触するものではないと考えられることから、特定胚指針の改正によりヒト胚核移植胚の作成を可能としつつ、同時に、作成したヒト胚核移植胚の人又は動物胎内への移植を禁止する等の適切な措置を定めることが必要である。

# 余剰胚を用いた核置換胚の作成も容認

検討項目	方向性
1. 作成できる胚の種類	○今回の検討対象とするヒト胚核移植胚は、『 <u>「一の細胞である【ヒト受精胚】若しくは【ヒト胚分割胚】」又は「【ヒト受精胚】若しくは【ヒト胚分割胚】の胚性細胞」</u> であって核を有するものが【ヒト除核卵】と融合することにより生ずる胚』とし、個別審査において、作成する胚の科学的合理性を判断することとする。
2. 作成者の要件	○ <u>「ヒト胚核移植胚を取り扱う研究を行うに足る技術的能力を有する研究者（ミトコンドリア病の研究を行っている専門家等）が研究に参画していること」、「ヒト胚核移植胚を取り扱う研究を行うに足る管理的能力を有すること」</u> を追加する。
3. 禁止事項	他のヒト胚を用いる研究の取扱いと同様に、 <u>作成したヒト胚核移植胚の人又は動物への胎内移植を禁止事項</u> とする。
4. 研究目的	1. ヒト胚核置換胚の研究目的については、 <u>「ミトコンドリアの機能の障害に起因する疾病に関する基礎的研究」</u> とし、今後作成するガイダンスにおいて、具体的には、核DNA又はミトコンドリアDNAの変異若しくはミトコンドリアの質的・量的変化により発症するミトコンドリア病を指すこととする。 2. また、 <u>上記研究目的の範囲内で、ヒト胚核移植胚からヒトES細胞を作成することを可能とする。</u>
5. 研究機関と提供機関の体制	○ゲノム編集指針やART指針と同様に、ヒト胚核置換胚の作成に当たっては、 <u>「ヒト受精胚を人又は動物の胎内に移植することのできる設備を有する室内において行わないこと」、「提供者の個人情報について適切な措置がとられること」</u> を要件として、 <u>研究機関と提供機関が同意すること</u> を容認。



**基礎研究でのみ作成を可とする**

**研究目的が、ミトコンドリアの機能の障害に起因する疾病に関する基礎的研究に限定する。ES細胞の作成も可とする**

# オランダにおける着床前診断

Sallevelt SCEH, et al . J Med Genet 54 : 114-124 , 2017

105患者（小児33、成人72）  
のうち、24.6%が **de novo**  
(血液を含む複数の母の組織で  
変異が検出されない)

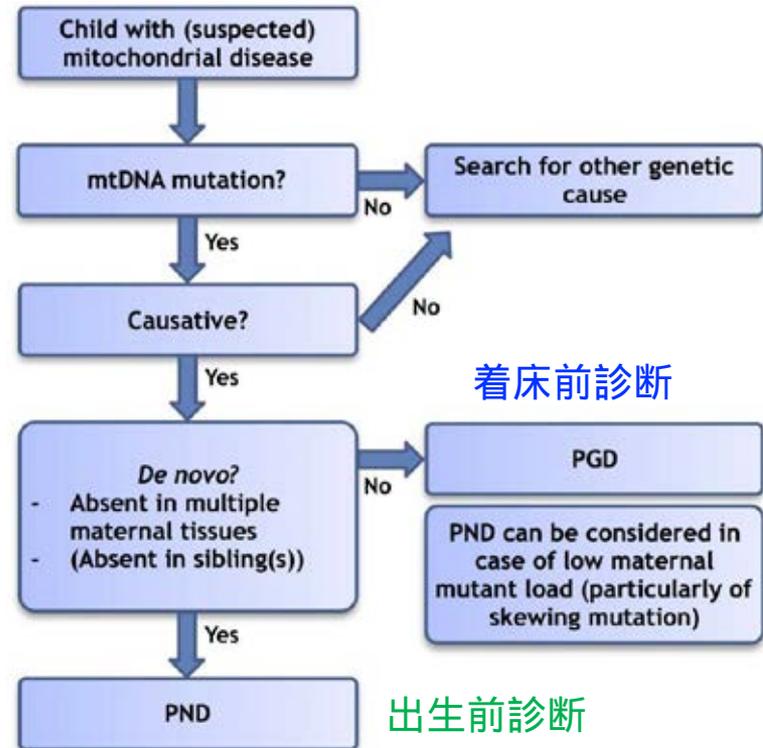


残る75%が着床前診断の適応

日本においては  
ホモプラスミーで起きる変異  
(リー脳症の8993変異など)  
で着床前診断が少数されて  
いるのみ



ヘテロプラスミー3243変異をもつ余剰胚はない  
新規作成胚の研究利用が必要



# 余剰胚を用いる ミトコンドリア病研究の限界

ミトコンドリア病関係の余剰胚は着床前診断時に得られる



着床前診断は、胚盤胞期に行われている



受精時から胚盤胞期までのミトコンドリアDNAの  
変異率の変化等の研究ができない。



ヒト新規胚作成が必要

# ヒト新規作成胚を用いた病態研究の妥当性

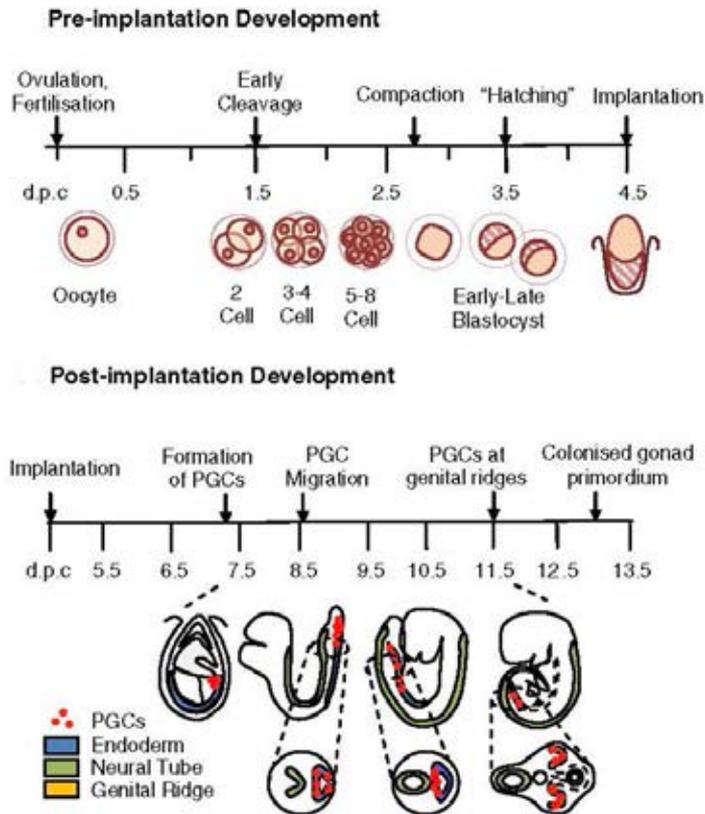
## ヒト受精胚を用いる妥当性

- ・ **モデル動物**を作製するために必要なミトコンドリアDNA病的変異をもつ細胞は**偶然**に見つかるのみである（ミトコンドリアDNA改変技術の向上で、モデル動物の作製は可能になる可能性がある）

## 新規作成胚は必要か

- ・ 病態研究において、**200余りの病的変異を再現するには**、患者由来の新規作成胚の活用が必要である
- ・ mtDNAと核DNAとの相互作用を研究するには、**同じ変異でも様々な核ゲノム背景をもつ新規作成胚の活用が必要**

# 原始線条出現（又は14日）までの間で想定される研究有用性



母系遺伝、父系遺伝の機序解明  
(父由来mtDNAの挙動研究)  
核ゲノム情報、父母のmtDNA  
情報が必要になる

変異mtDNAの  
卵割での挙動  
複製再開後の挙動  
始原生殖細胞 (PGCs) への分布  
神経管 (外胚葉)、内胚葉への分布  
核ゲノム情報が必要になる

核置換によるドナーmtDNAの挙動の研究

# まとめ

- 1 . 医療として行う「核移植」は、今後も継続して検討する。（現時点で不可）
- 2 . 余剰胚を用いた核移植を行う基礎研究が容認された。ただし、特に重要な病気と関連のある変異を有するミトコンドリアDNAの受精時から胚盤胞期までの挙動をみる研究は、実質的に不可能な状況。
- 3 . 上記を打破するには、変異を有する女性からの新規作成胚、もしくは、新規ゲノム編集胚を用いた基礎研究が必要と考える。