

ヒト生殖細胞系ゲノム編集 報告、考察、提言

2015年 12月15日

内閣府 生命倫理専門調査会

北海道大学 安全衛生本部

石井 哲也



北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY

1

内容

1 . 報告

The Health Council of the Netherlands (GR) and The Netherlands Commission on Genetic Modification (COGEM)

Genome on demand? Exploring the implications of human genome editing

2 . 報告

The US NAS, the CAS, the UK RC

International summit on human gene editing, a global discussion

3 . 考察・提言

ヒト生殖細胞系ゲノム編集の基礎研究と臨床応用

アムステルダムにおける国際シンポジウム

- ヒトゲノム編集の政府への現状報告のため
- 基礎研究、臨床応用について産、官、学、NPOから発表、議論
- 発表内容は演者におまかせ
- 発表者はオランダ、次いで英、米が主体。アジアからは中国と日本が一名ずつ
- オランダNPOと英の生命倫理専門家は生殖細胞系ゲノム編集の臨床応用を標榜
- 英国ミトコンドリア移植の出生子フォローアップについて論争となった
- 我が国の生殖補助医療（ART）の在り方に疑念を示された（懸念が示されているROSIに関するPNAS論文、後述）



<http://www.cogemsymposium.nl/>

3

International Summit on Human Gene Editing by the NAS, the CAS and the RS

Dec 1-3, 2015. Washington D.C.

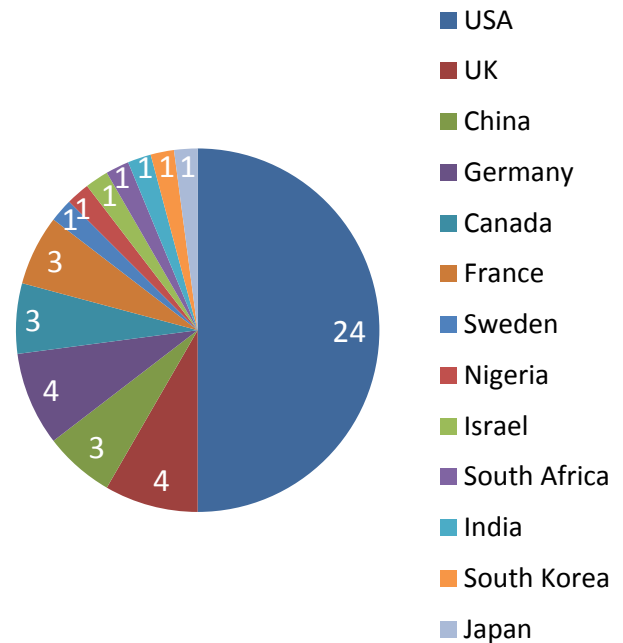


Day 3 Session Interrogating Equity

4

ワシントンにおける国際サミット

- ヒトゲノム編集の基礎研究、臨床応用について学、NPOから発表、議論
- ホワイトハウス声明を背景に、一定の国際コンセンサス形成をめざしたもの
- Day1、2は5セッション、Day3は2セッション、事前の作りこみ感が強し
- オフターゲット変異評価法のコンセンサスを目指す動きは弱かった
- 生殖細胞系ゲノム編集の基礎研究は既定路線のように議論され、違和感あり
- 医療応用については、推進派、慎重派、反対派と分かれた印象がある
- 生殖医学の専門家は2人のみか



招待講演者 & 討議者48人の内訳

<http://www.nationalacademies.org/gene-editing/Gene-Edit-Summit/index.htm>

5

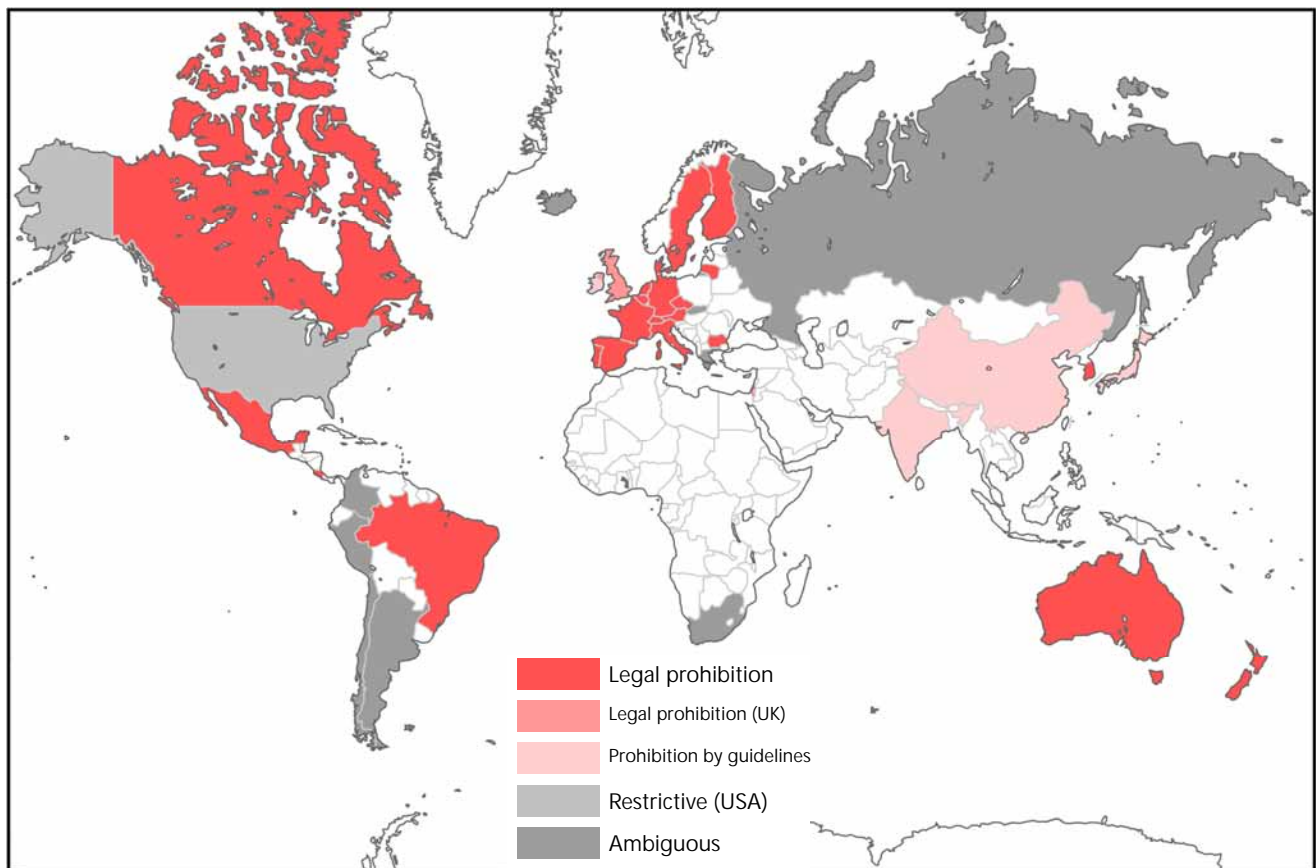
ヒト生殖細胞系の遺伝的改変

- 出生子の全身に絶大な影響をもたらさうる。
- だが、従来技術では多数の受精卵を使っても達成困難であった。
- 倫理的、社会的観点からの批判も：
 - 将来世代に取り返しのつかないリスク
 - “自然法” や “神聖法” に違反
 - エンハンスメント（人間改造）等の社会的害悪

かくして、

ヒト生殖細胞系は遺伝的に改変すべきではないとする事実上のコンセンサスが出来上がっていった。

International regulatory landscape: 実際はモザイク



Ishii, T. Briefings in Functional Genomics 2015; 10.1093/bfgp/elv053

7

国際規制環境: 39か国

- **Red**: 法的禁止 (24か国)
- **Pink**: 核ゲノムDNAについて法的禁止 (英国)
* 英国は今年2月、Mitochondrial donationを合法化 (10月29日施行)
- **Faint pink**: 指針による禁止(中国, インド, アイルランド, 日本)
- **Light-grey**: 禁止はせず、制限のみ (USA)
- **Grey**: 法的取り扱いがあいまい (9か国)

Opinion **CellPress**

Germline genome-editing research and its socioethical implications

Tetsuya Ishii
Office of Health and Safety, Hokkaido University, Sapporo 060-0808, Hokkaido, Japan

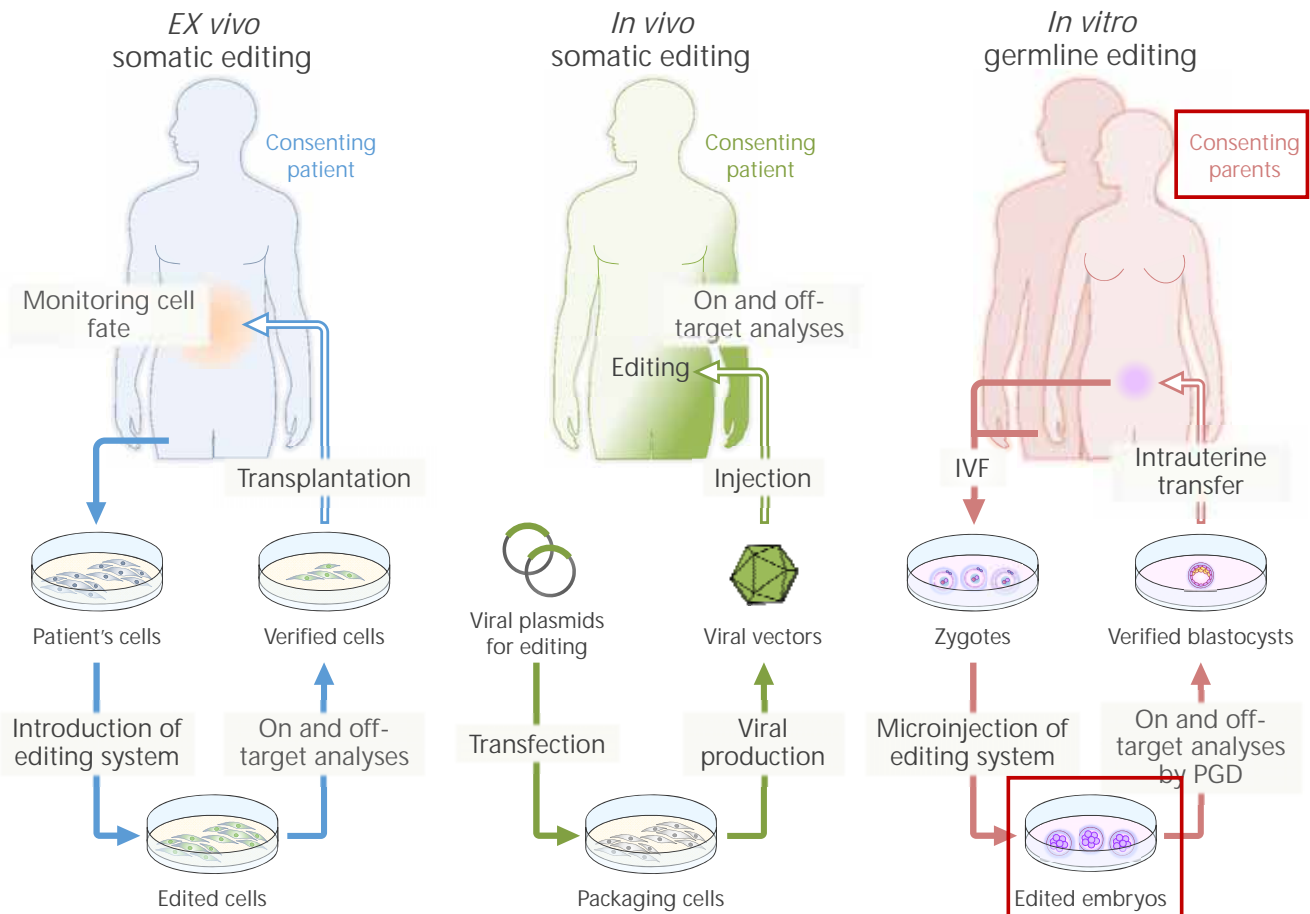
Genetically modifying eggs, sperm, and zygotes ('germline' modification) can impact on the entire body of the resulting individual and on subsequent generations. With the advent of genome-editing technology, human germline gene modification is no longer theoretical. Owing to increasing concerns about human germline gene modification, a voluntary moratorium on human genome-editing research and/or the clinical application of human germline genome editing has recently been called for. However, whether such research should be suspended or encouraged warrants careful consideration. The present article reviews recent research on mammalian germline genome editing, discusses the importance of public dialogue on the socioethical implications of human germline genome-editing research, and considers the relevant guidelines and legislation in different countries.

modification, and thus are now being used instead of conventional genetic engineering in many laboratories worldwide. The robustness of this genome engineering technology has made it conceivable that gene modification of the human germline (oocytes, sperm, zygotes, and embryos) (Box 1) is becoming feasible in the clinical setting [4]. However, this type of gene modification has raised tremendous debate in the context of medical beneficence, safety concerns, challenges to human dignity, and risk of abuse for eugenics or enhancement (the parental pursuit of specific traits for non-medical reasons) [5]. Consequently, many countries forbid human germline gene modification for reproductive purposes [4,6].

Recently, representatives of the Alliance for Regenerative Medicine, a group of interested stakeholders including Cas9 developers and the International Society for Stem

9

Ishii, T. Trends in Molecular Medicine 2015; 21:473-81.

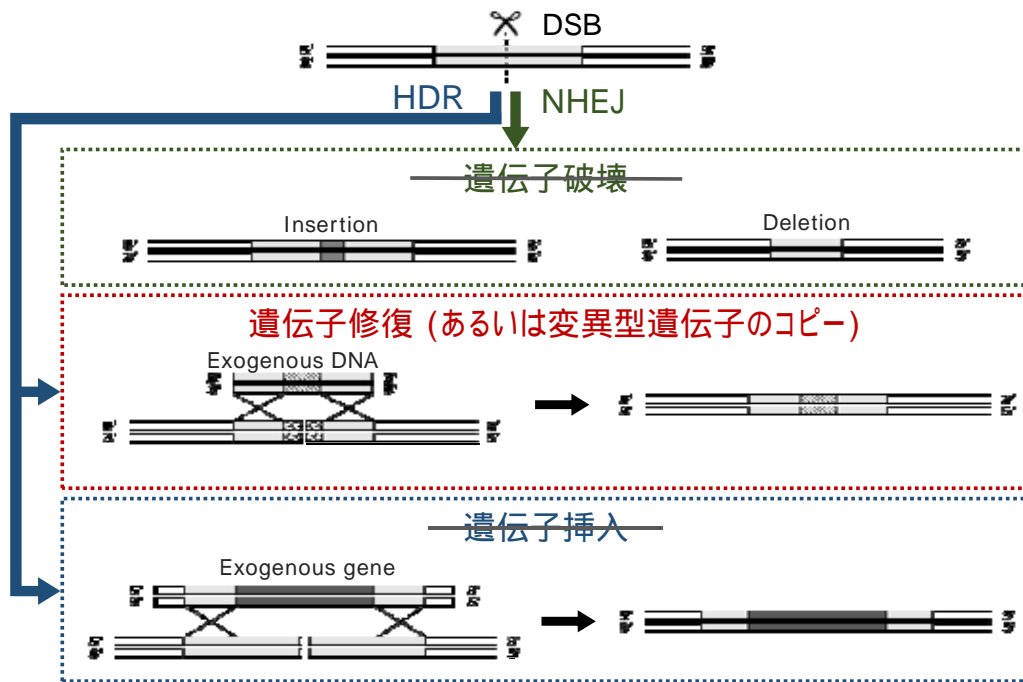


Araki, M. and Ishii, T. Trends in Biotech 2016 (In press)

10

生殖細胞系ゲノム編集の臨床利用：改変アプローチ

高効率, 多用途性, 多重改変



提案 HDR with one gRNA policy

Ishii, T. Briefings in Functional Genomics 2015; 10.1093/bfpg/elv053

11

HDR w one gRNAの倫理的含意

- 遺伝子変異を修復：Wild typeゲノム
- 自然に生じうる変異型遺伝子をコピーしたゲノム

いずれも“自然法”に合致しているみえる。

しかし、まだ検討の余地はある...

自然な物事の成り行きとは違うのではないか？

“神聖法”を犯している(Playing God)のではないか？

だが、このタイプのHDR は、

もしその目的が社会的に受容されるものであるならば、

更なる検討に値する。

親による同意の正当性

- ARTの介入対象は生殖細胞や胚である故、同意は親となる夫婦から得る。
- ARTと自然妊娠で生まれる子における先天異常比率：1.3-1.5はおおよそ許容しうるとされている。

*Williams C, et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2010 Mar;35(3):255-9.

- 一般的なARTより、侵襲がより大きいゲノム編集で、親の同意を正当化しうると考えられるケースは、親および（あるいは）子のベネフィットが子のリスクを上回る場合であろう。

13

Ishii, T. Briefings in Functional Genomics 2015; 10.1093/bfpg/elv053

受精卵ゲノム編集の想定される4目的

- 出生子における遺伝性疾患の発症予防
- より多くの不妊患者救済のための個別化 ART
- 家族の幸せのためのエンハンスメント
- 社会目標達成に向けた優生学的利用

14

出生子における遺伝性疾患の発症予防

単一遺伝子疾患の発症予防

親が遺伝的繋がりがある子を望む場合

* ドナー配偶子や胚は利用不可

受精卵診断 (PGD) が臨床的に適用不可の場合

* ホモプラスミー、変異High loadのミトコンドリア病

* 常染色体優性遺伝の疾患で、少なくとも一人の親がホモ接合体の場合
e.g. familial adenomatous polyposis

Cruz-Correa M, et al. Fam Cancer 2013 ;12(3):555-62.

* 常染色体劣性遺伝の疾患で、両親ともホモ接合体の場合
e.g. cystic fibrosis

Neocleous, V. et al. (2014) Case Rep. Genet. 2014,613863

前臨床試験で安全性を十分に確保した上であれば、
親と子のベネフィットは子のリスクを概ね上回ると考えられる。

15

Reports on monkey embryonic editing

Table 2. Examples of targeted gene disruption in non-human primate zygotes via NHEJ.

Subject	Gene disruption	Efficiency in neonates (embryos) ^{*1}	Off-target Mutation ^{*2}	Mosaicism	Genome Editing	Remarks	Ref.
Cynomolgus zygotes	<i>NROB1</i> , <i>PPARG</i> , <i>RAG1</i>	(Single gene: 18.2-40.7%) (<i>PPARG</i> & <i>RAG1</i> : 9.1-27.3%)	No	Yes	Cas9	Cytoplasmic injection	[63]
Rhesus and cynomolgus zygotes	<i>MECP2</i>	Rhesus: 9.5% Cynomolgus: 3.7%	No	N.D.	TALEN	Cytoplasmic injection	[64]
Cynomolgus zygotes	<i>MECP2</i>	2.0%	N.D.	Yes	TALEN	-	[65]
Rhesus zygotes	<i>DMD</i>	6.1% (46.47%)	No	Yes	Cas9	Cytoplasmic injection	[66]

*1 denotes the result of genetically modified neonates (including fetus or stillborn) per transferred embryo (%) or genetically modified embryos per injected zygote (%)

*2 'No' shows that no off-target mutations were identified at potential off-target sites.

No off-target mutation, but mosaicism

16

Reports on mouse embryonic editing for disease prevention

Table 1. Examples of HDR-mediated gene modification in mammalian zygotes

Subject	Gene modification	Efficiency in neonates (embryos)	Off-target mutation	Mosaicism	Genome editing	Remarks	Reference
Mouse zygotes	Introduction of V5 tag (42bp) into Sox2, two loxP (34 bp) sites into Mecp2	Sox: 6.0%, Mecp2: 0.8%	Yes (Mecp2)	Yes	Cas9	Cytoplasmic or pronuclear injection	[39]
Mouse zygotes	Correction of Crytg with 1bp deletion in exon3	4.4–5.7%	Yes	N.D.	Cas9	Cytoplasmic injection	[40]
Mouse zygotes	Correction of <i>Dmd</i> ^{mdx}	9.1%	(No) ^a	Yes	Cas9	Pronuclear injection only, or pronuclear and cytoplasmic injections	[41]
Mouse zygotes	Correction of <i>Crbl</i> ^{dh}	27%	Yes	Yes	TALEN	Pronuclear injection	[42]
Rat zygotes	Correction of <i>Tyr</i> ^f , <i>Asip</i> ^a , <i>Kit</i> ^h	Tyr: 7.7%, Asip: 18.2%, Kit: 4.0%	(No) ^a	Yes	Cas9	Pronuclear injection	[43]
Human zygotes	Introduction of silent mutations into <i>HBB</i>	(4.7%)	Yes	Yes	Cas9	Cytoplasmic injection	[24]

^a(No) shows that no off-target mutations were identified at potential off-target sites.

Off-target mutation, mosaicism

17

Ishii, T. Briefings in Functional Genomics 2015; 10.1093/bfpg/elv053

Cas9 treatment of mouse embryos for gene repair

Table 1. Serum creatine kinase (CK) levels and forelimb grip strength of wild-type, *mdx*, and *mdx-C* mice.

Litter	Mouse no.	Percent of correction	Sex	CK(U/L)	Forelimb grip strength (grams of force)					
					Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Avg. ± SD
No. 1	WT	–	M	318	170	163	140	132	169	154.8 ± 17.5
	<i>mdx</i> -04	0	M	6,366	64	56	52	59	57	57.6 ± 4.3
	<i>mdx</i> -06	0	M	7,118	102	123	109	79	97	102.0 ± 16.1
	<i>mdx-C1</i>	HDR-41%	M	350	141	150	154	143	133	144.2 ± 8.1
No. 2	WT	–	F	449	128	116	109	102	103	111.6 ± 10.7
	<i>mdx</i> -20	0	F	30,996	107	105	92	78	61	88.6 ± 19.3
	<i>mdx</i> -10	0	F	38,715	84	64	67	62	53	66.0 ± 11.3
	<i>mdx-C3</i>	HDR-17%	F	4,290	123	126	101	107	102	111.8 ± 11.8
No. 25	<i>mdx</i> -02	0	M	14,059	54	64	47	41	52	51.6 ± 12.1
	<i>mdx</i> -03	0	M	4,789	129	120	116	104	92	112.2 ± 35.6
	<i>mdx</i> -05	0	M	11,841	91	94	54	64	54	71.4 ± 24.0
	<i>mdx-N1</i>	NHEJ-83%	M	240	145	154	147	138	133	143.4 ± 44.8
	<i>mdx</i> -01	0	F	7,241	108	95	103	105	85	99.2 ± 30.5
	<i>mdx</i> -04	0	F	5,730	100	112	103	114	100	105.8 ± 32.3
	<i>mdx</i> -07	0	F	6,987	74	73	73	73	70	72.6 ± 19.6

