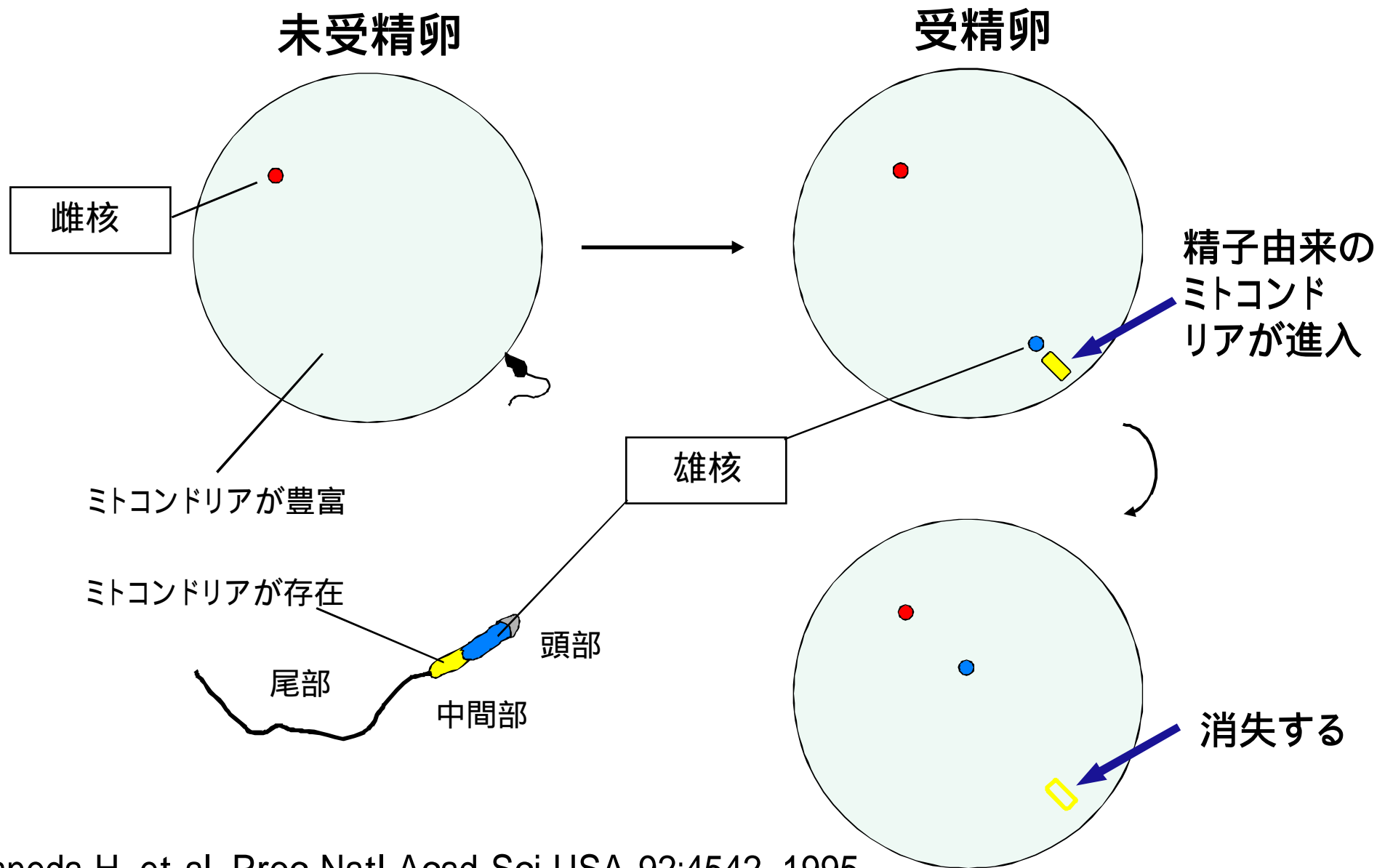


# ミトコンドリア病における 核置換技術について

国立精神・神経医療研究センター

後藤 雄一

# 受精に伴うミトコンドリアの挙動



# ミトコンドリアDNA異常の種類

質的異常

量的異常

欠失 / 重複

点変異

欠乏状態

転移RNA  
領域

rRNA・蛋白  
領域

ヘテロプラスミー

ホモプラスミー

分化した細胞

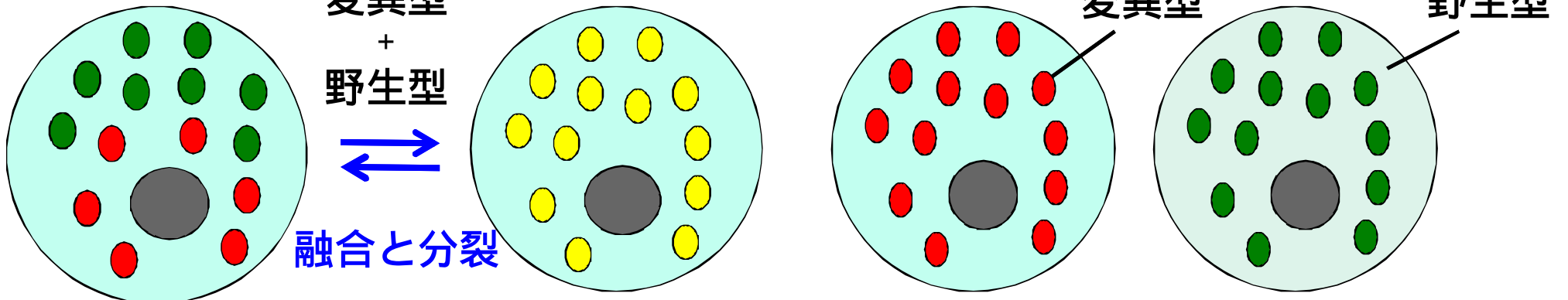
変異型  
+  
野生型

増殖中の細胞など

融合と分裂

変異型

野生型



# ミトコンドリア病における生殖補助医療

## 1. 診断

出生前診断  
羊水、絨毛  
着床前診断  
受精卵

検査医療体制

遺伝カウンセリング体制

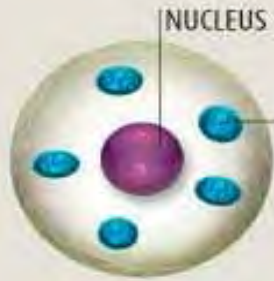
## 2. 治療

核置換（ミトコンドリア置換）  
細胞質移植  
卵子提供、胚提供

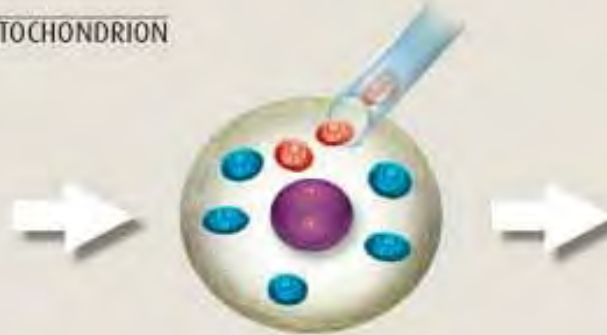
社会的  
コンセンサス

# 細胞質移植

母の卵



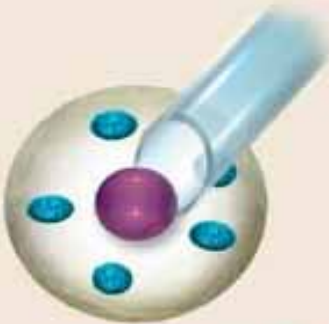
ドナーの卵



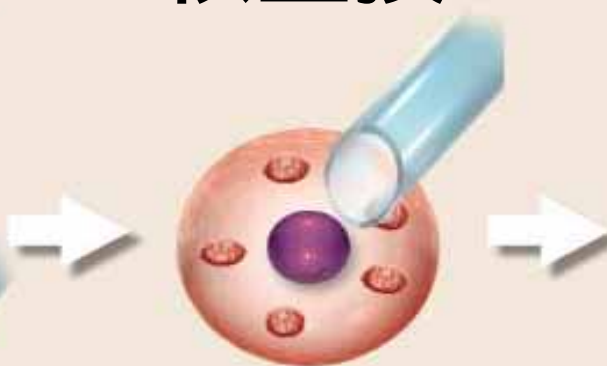
母とドナーの  
ミトコンドリアが混合

# 核置換

母の卵



ドナーの卵



“三人の親”問題

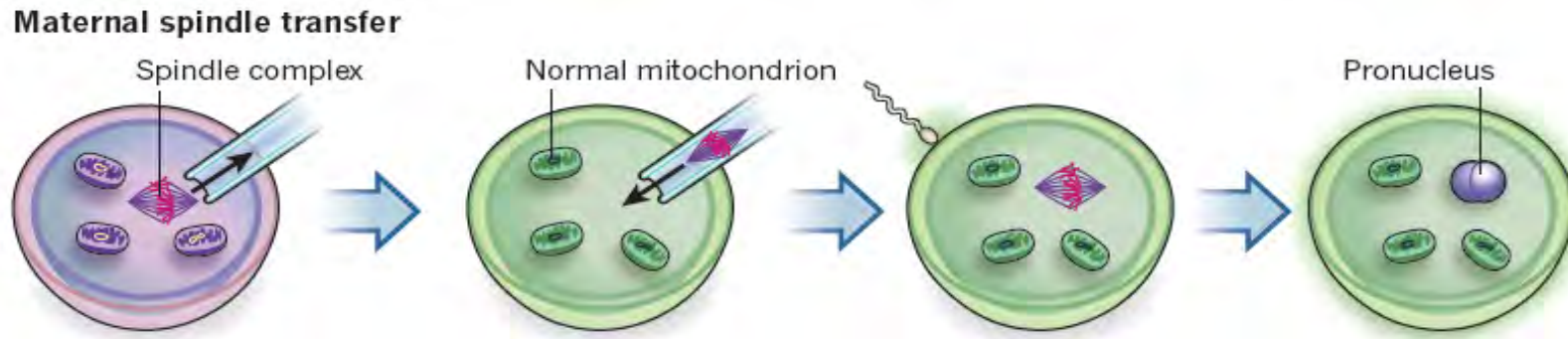
核周囲のミトコンドリアが  
キャリアオーバー

ドナーの  
ミトコンドリアのみ

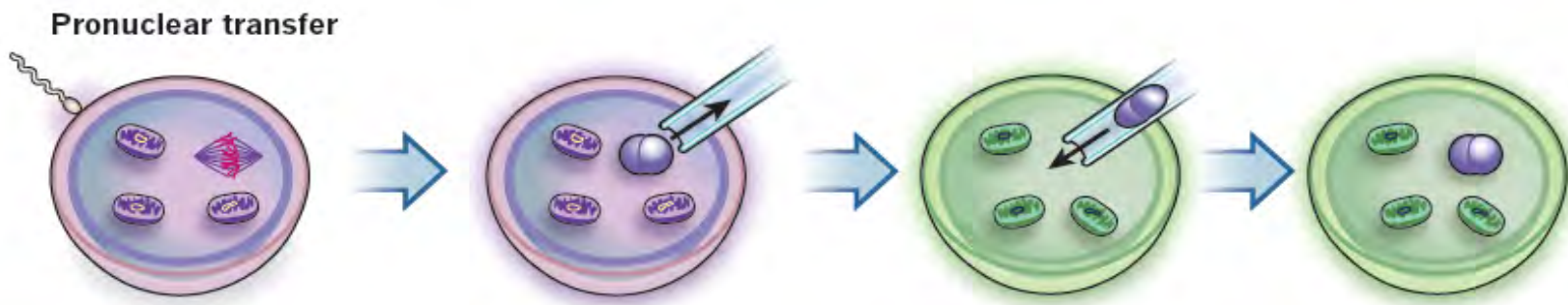
変異mtDNAは伝わらない

# 核置換 nuclear replacement

## 紡錘體移植 Spindle transfer



## 前核移植 Pronucleus transfer



UK sets sights on gene therapy in eggs  
nature 2012

# Mitochondria replacement therapy (MRT)

**卵子核移植の承認**  
**“3人の遺伝子を持つ子ども”**

**英 下院                      2015. 2. 3                      可決**

**英 上院                      2015. 2. 24                      可決**

慶應義塾大学 末岡浩博士 提供

New Scientist

---

DAILY NEWS 27 September 2016, updated 27

September 2016

# Exclusive: World's first baby born with new "3 parent" technique

By Jessica Hamzelou

2017年2月

キエフ(ウクライナ)で  
2例目の報道

Nadia Clinic 公式 Facebook

ルールは国によって異なる



# 英 国

研究目的で使用する卵子の提供について:

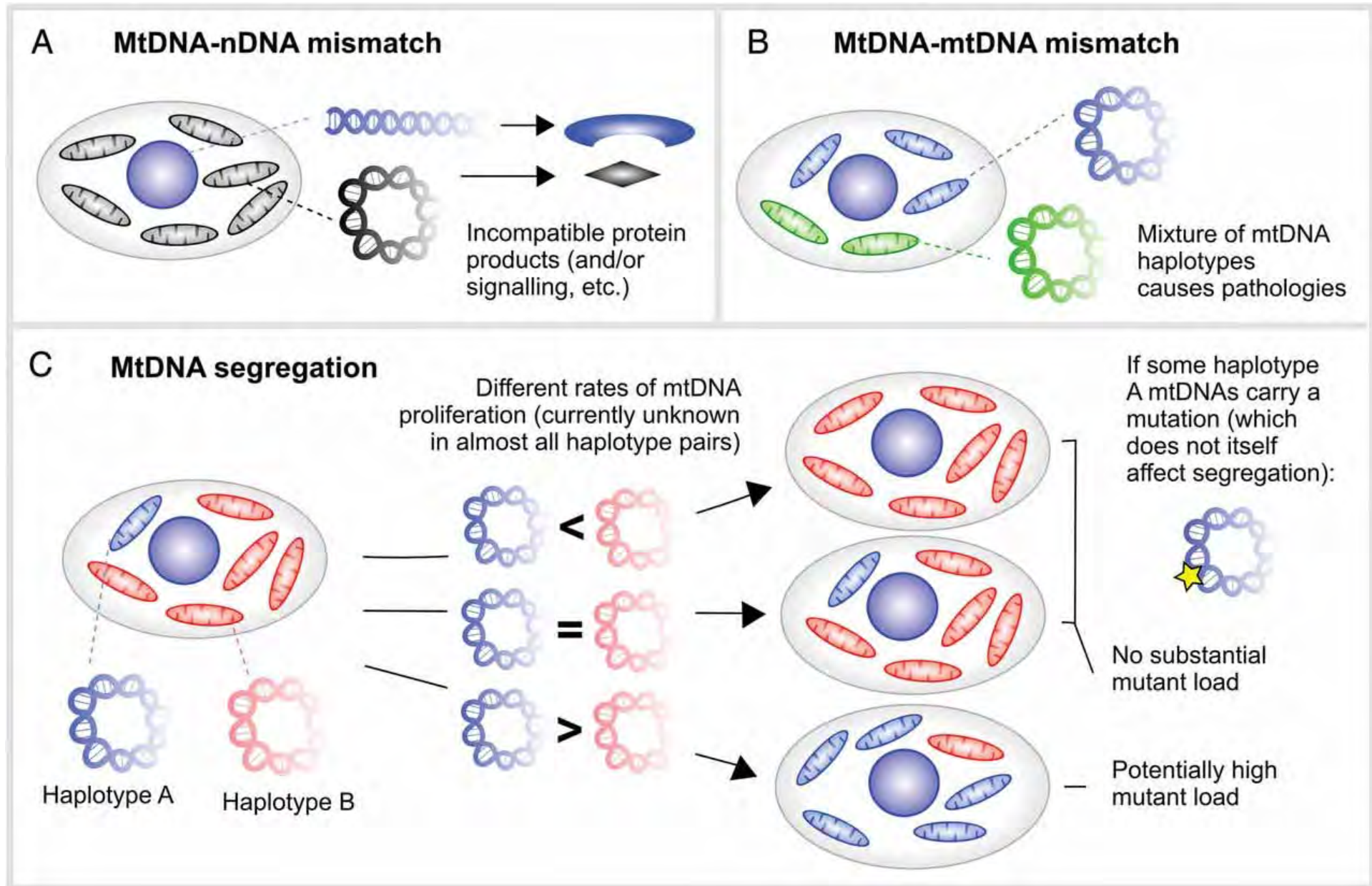
HFEA 1回の卵子提供に対して750ポンド補償

ニューキャッスル大学ミトコンドリア疾病研究  
地元から相当数の卵子提供

インフォームド・コンセント  
特定の目的または幅広い目的でも構わない

慶應義塾大学 末岡浩博士 提供

# 本法に特異的な安全性の問題

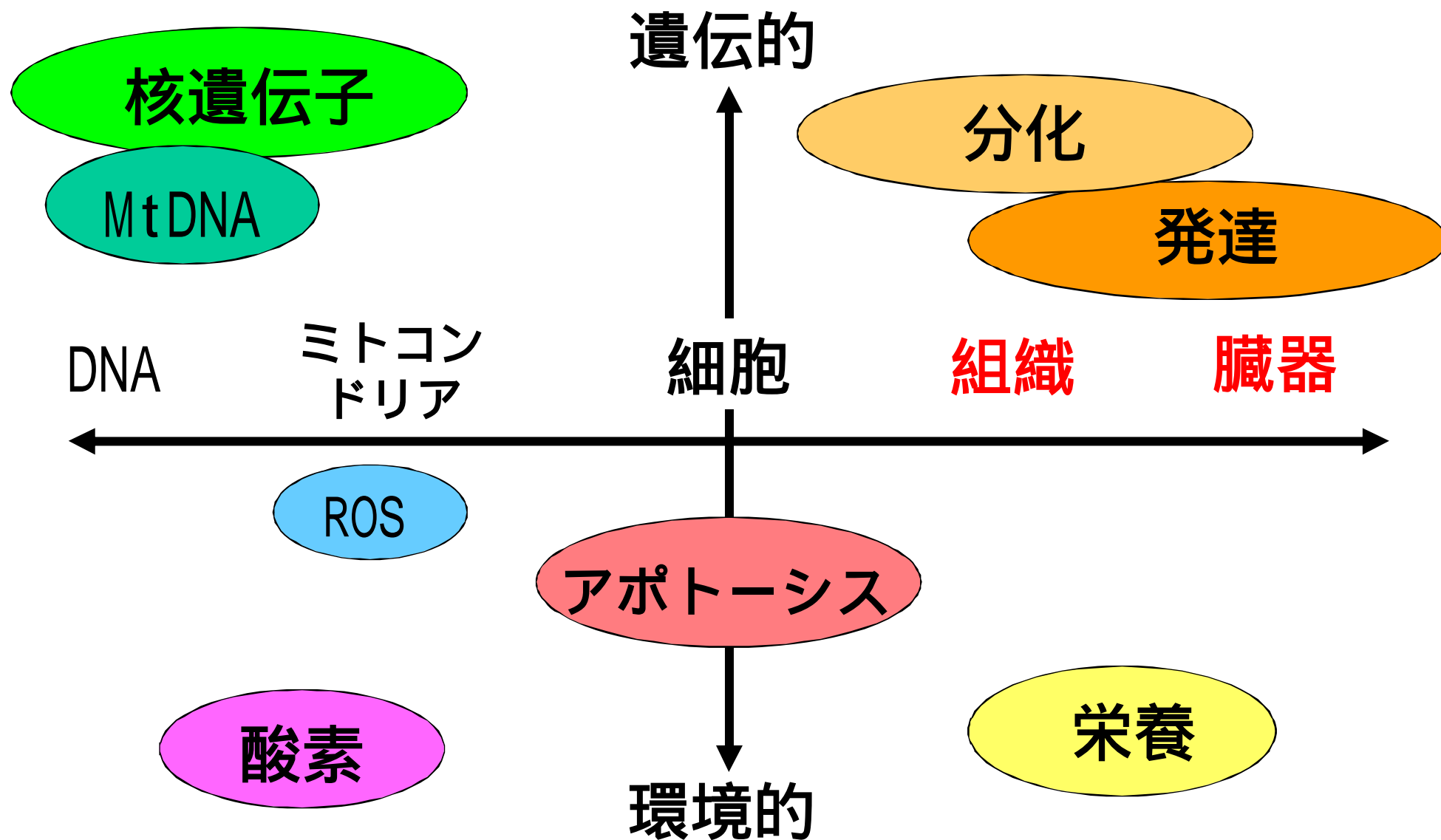


# 核置換(細胞質移植)に関して研究すべきこと

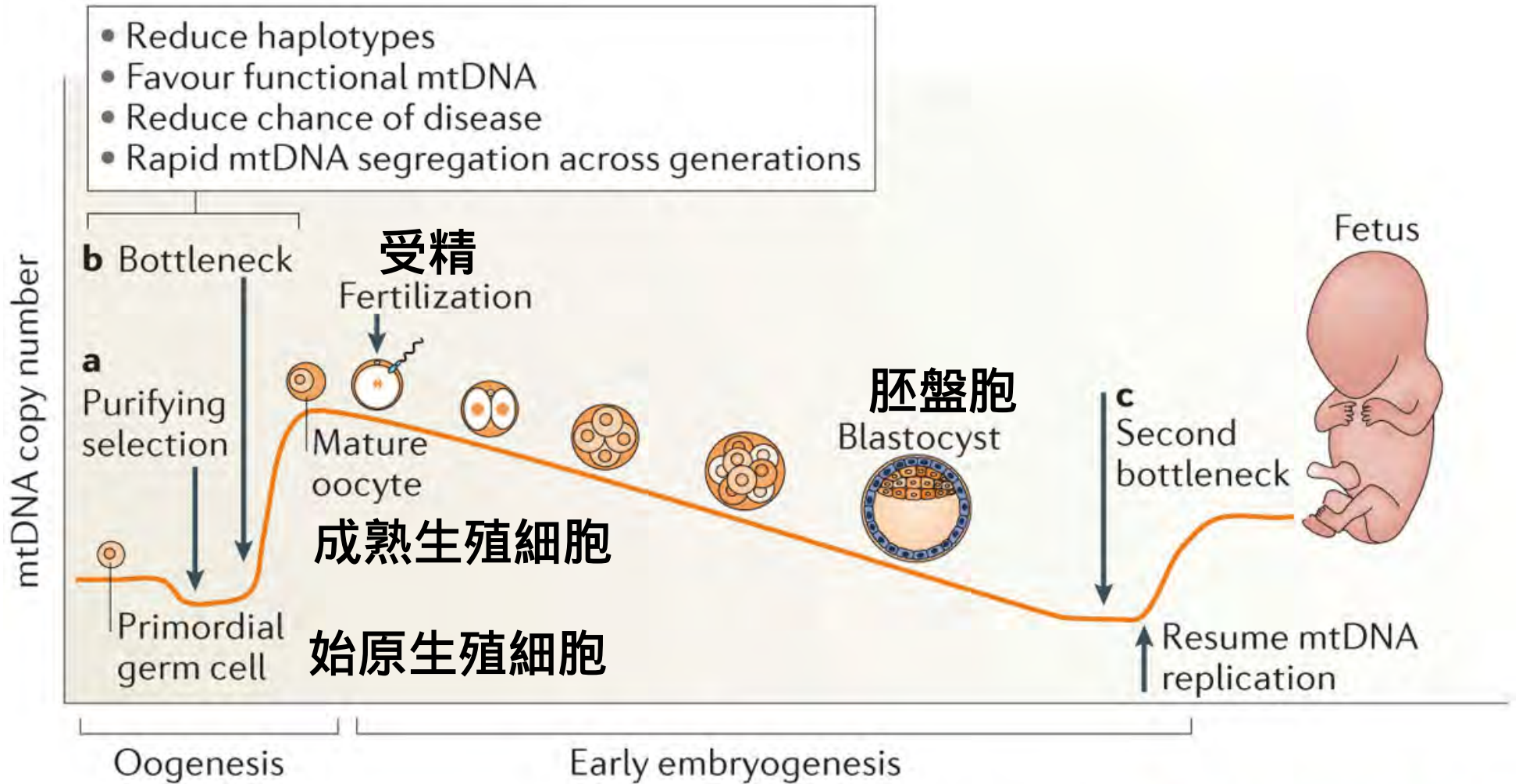
1. 置換 / 移植技術自体の安全性
2. ドナー細胞 / 卵の選択の妥当性
3. ミトコンドリア病病態関連
  - ・ ヘテロプラスミー
  - ・ mtDNAのコピー数
  - ・ mtDNAの発現とミトコンドリア機能  
(特に、核-ミトコンドリア相互作用)

基盤となる知見がまだ不十分である

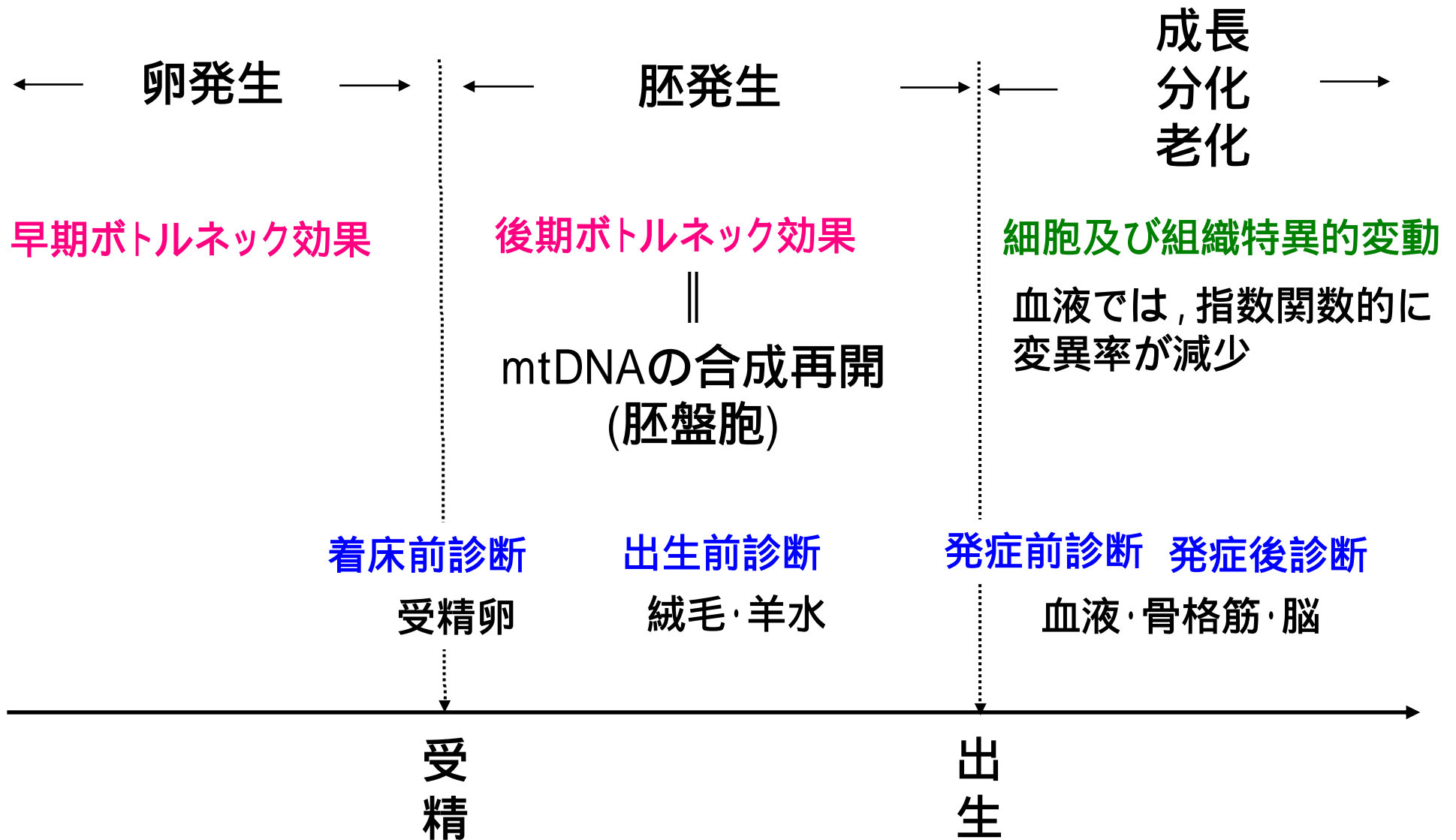
# 変異率に影響を与える要素



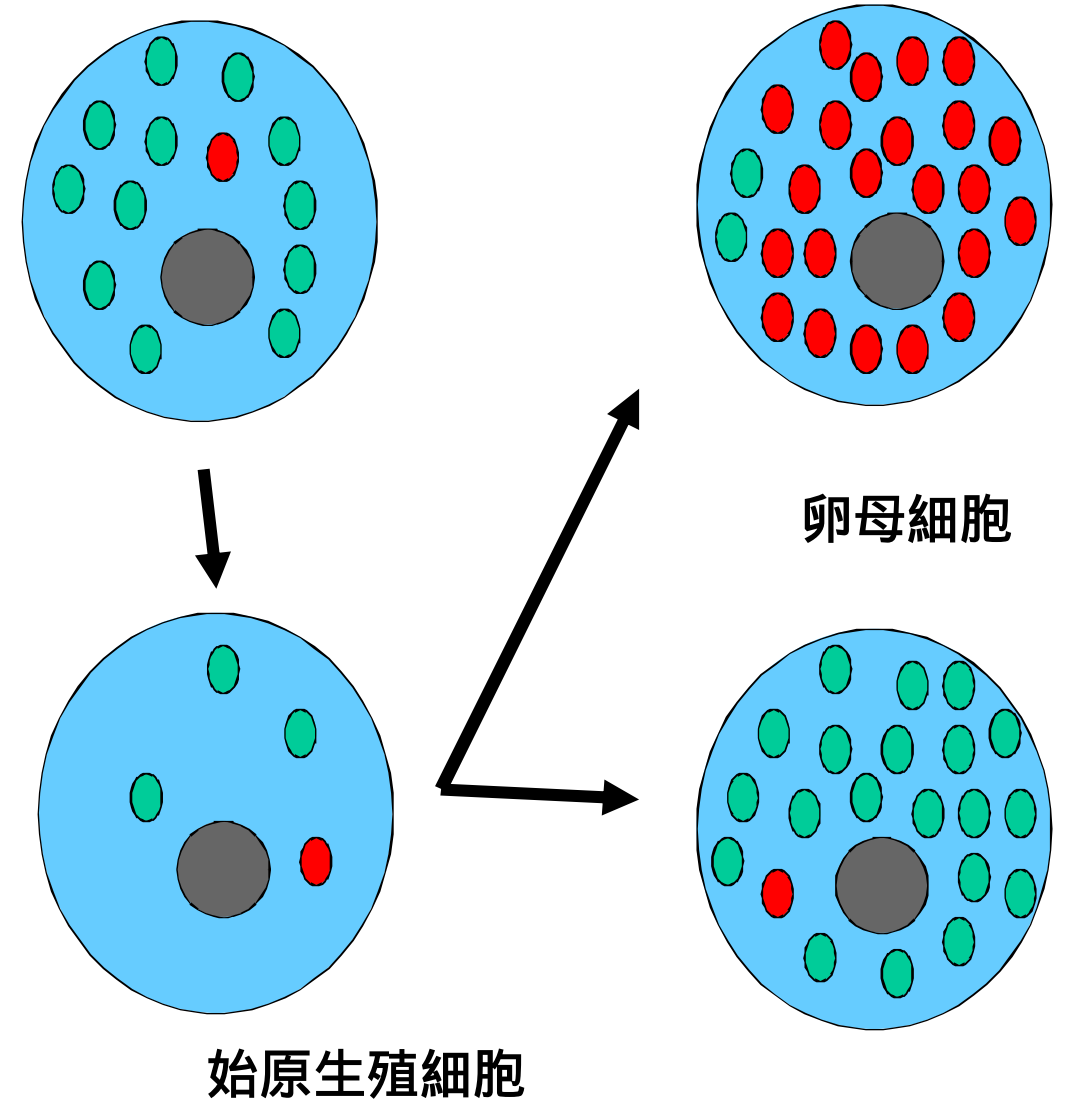
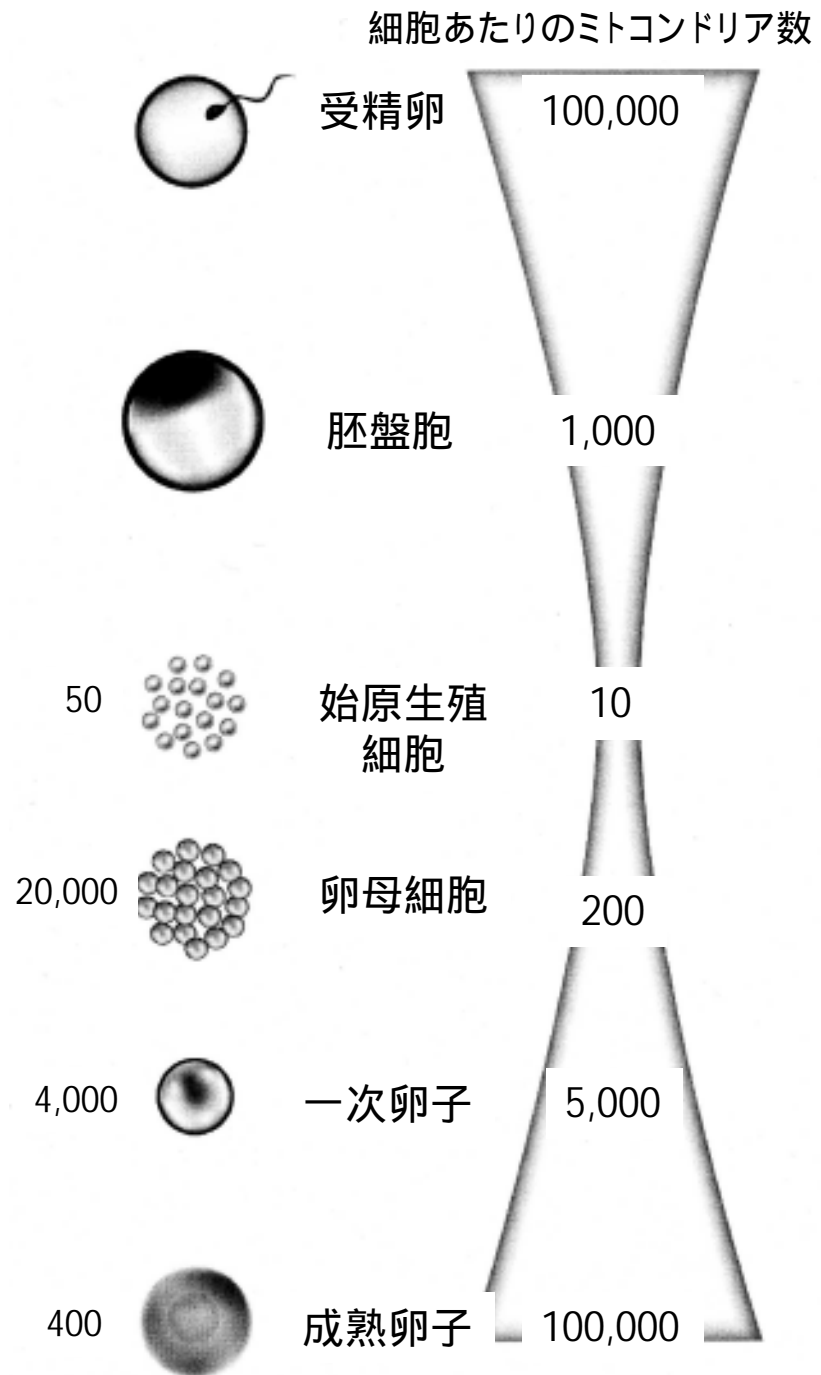
# ライフサイクルにおける ミトコンドリアDNAコピー数の変動



# 変異率の変動と時間軸

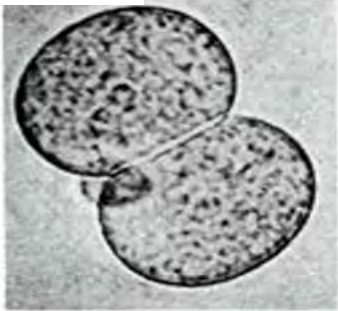


# 早期ボトルネック効果



# 後期ボトルネック効果

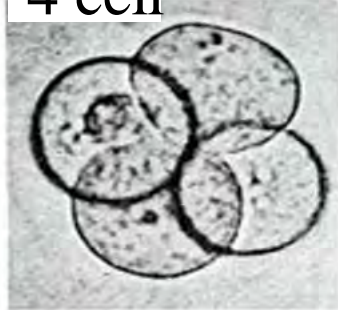
2 cell



Morula



4 cell



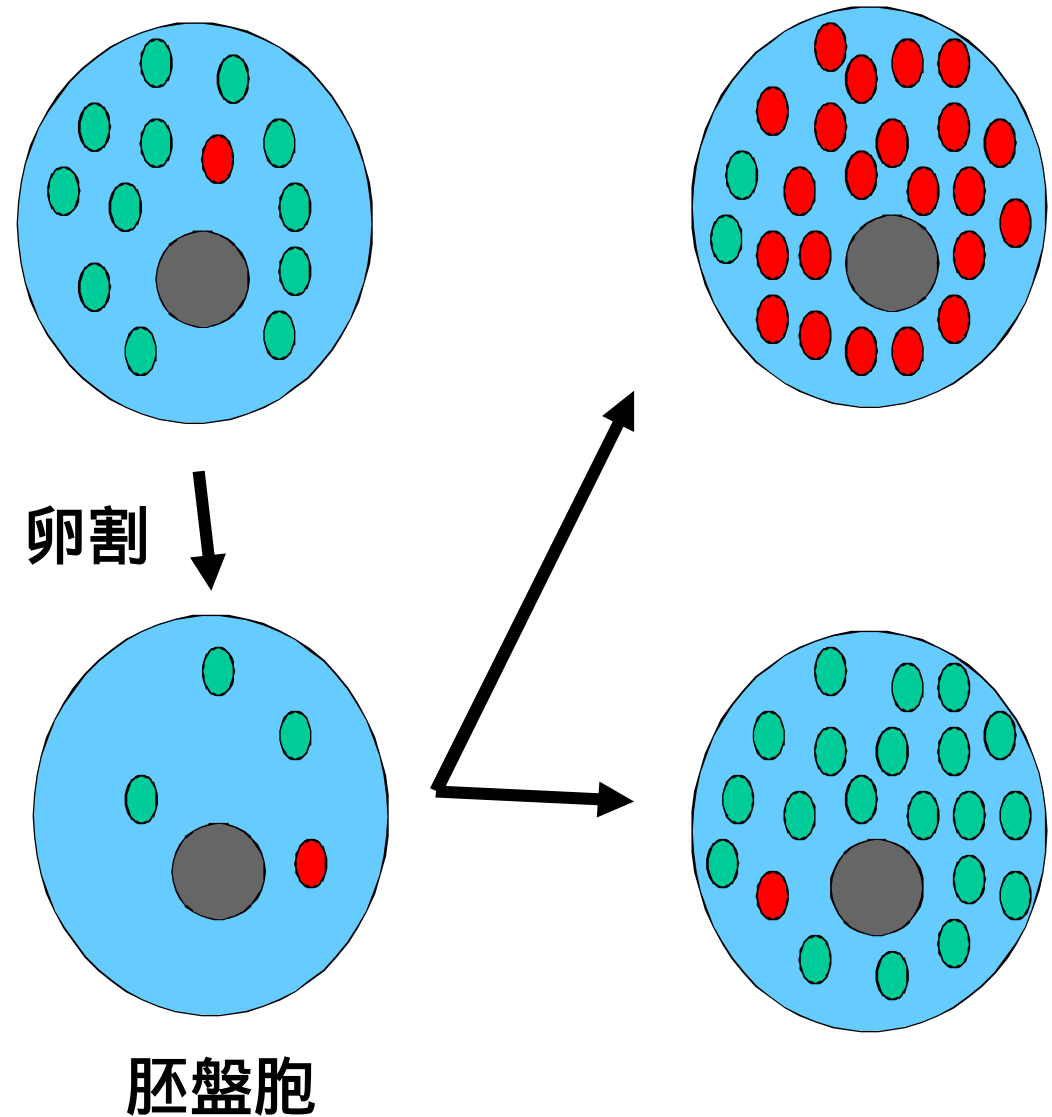
Blastocyst



8 cell



Blastocyst

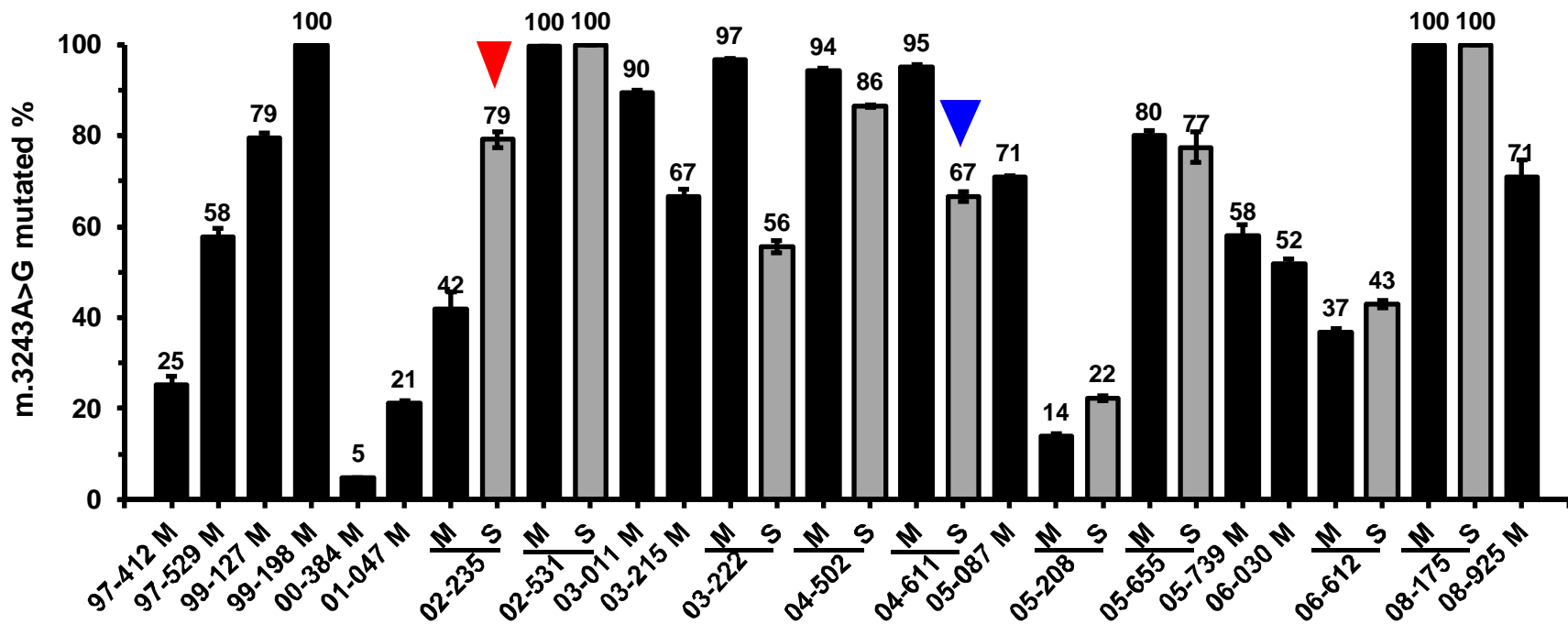




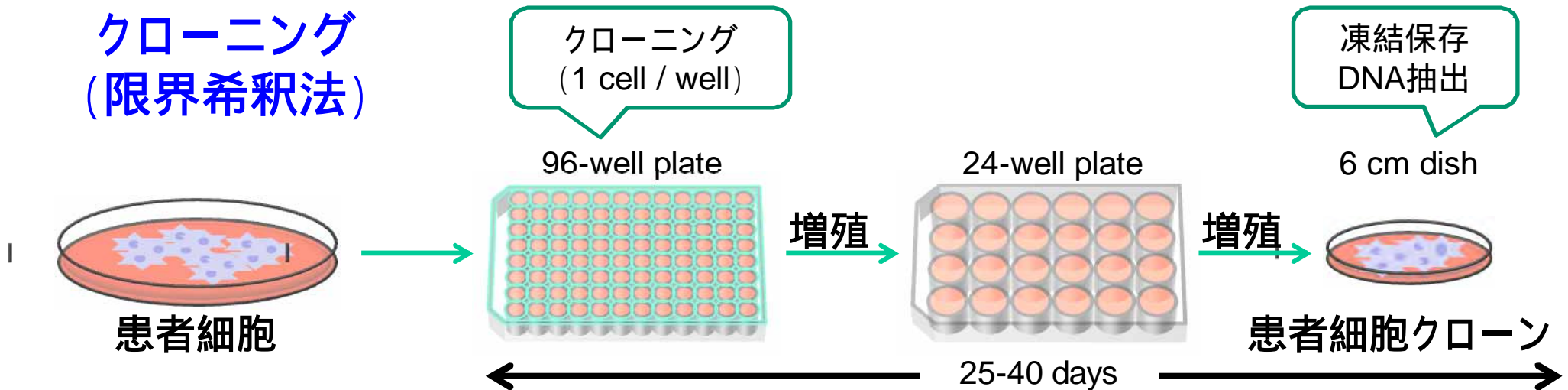
# 変異率に影響を与える要因

- **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

# 患者由来細胞の3243変異の比率はまちまち



## クローニング (限界希釈法)



# 患者線維芽細胞におけるm.3243A>G変異率



ミトコンドリア  
 呼吸酵素複合体IV  
 活性染色

健常者



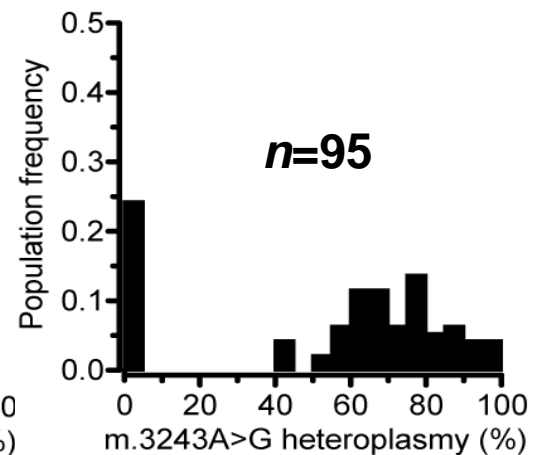
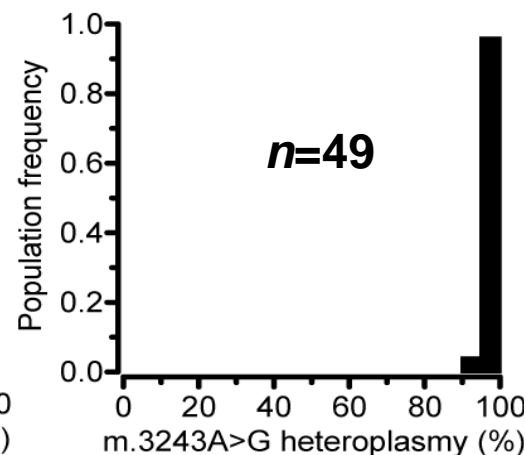
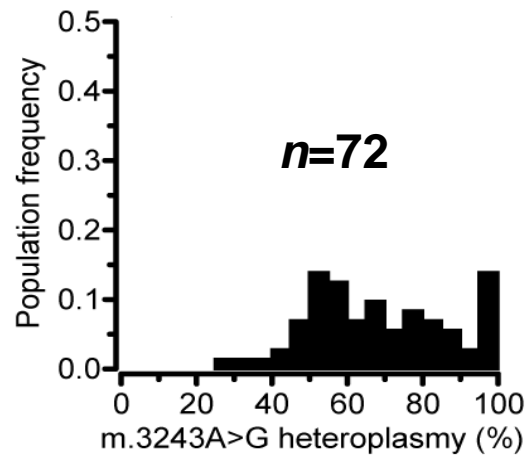
患者1



患者2



患者3



患者線維芽細胞株は様々な変異率を有する細胞で構成された集団であった

# ヒト受精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

病的変異をもつ動物が存在しない

(ミトコンドリアDNA変異導入技術が未熟)

## 余剰胚、新規作成胚の使い分けは可能か

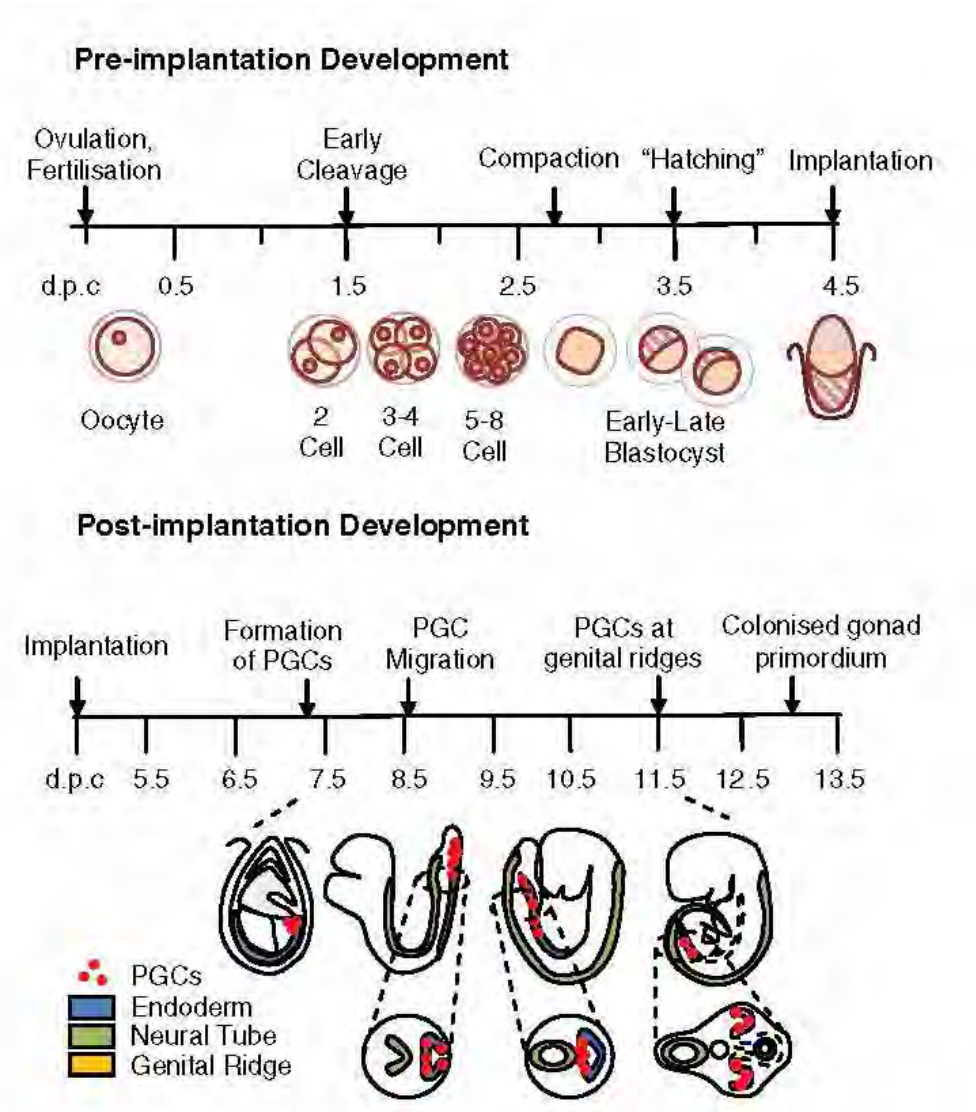
病態研究においては区別は必要ないのではないか

(治療研究では必要)

## ES細胞 / iPS細胞できること、できないこと

未熟な細胞は、ミトコンドリアがあまり機能していない。分化技術が確立し、通常の発生と同じ状態であることが確認される必要がある。

# 原始線条出現（又は14日）までの間でも想定される研究有用性



一細胞解析 Single cell analysis  
を用いた研究が有用

母系遺伝、父系遺伝の機序解明  
(父由来mtDNAの挙動研究)

変異mtDNAの  
始原生殖細胞 (PGCs)への分布  
神経管 (外胚葉)、内胚葉への分布