

\*タイトル：世界で初めて成功：マウスを使ったミトコンドリア病の受精卵遺伝子治療

\*発表者：筑波大学大学院 生命環境科学研究科 TARA センター、助手 佐藤晃嗣（さとう あきつぐ）

筑波大学大学院 生命環境科学研究科、教授 林 純一（はやし じゅんいち）

\*発表論文：Sato, A. et al. Gene therapy for progeny of mito-mice carrying pathogenic mtDNA by nuclear transplantation 米国科学アカデミー紀要, November 7, 2005（報道解禁 8 日午前 6 時）

\*連絡先： 林 純一 電話:029-853-6650,7271 Email : [jih45@sakura.cc.tsukuba.ac.jp](mailto:jih45@sakura.cc.tsukuba.ac.jp)

## 1：これまでの背景と本研究の概要

今年 9 月にイギリスのニューカスル大学でミトコンドリア病治療を目的としたヒト受精卵核移植が認可され話題になった (1)。しかし、ヒトで受精卵の核移植を行う前に実験動物を用いることできちんとした条件設定や基礎研究を行うべきである。本研究はこの問題を解決するため、われわれが以前 (2000 年) 世界で初めて作製したミトコンドリア病の病態モデルマウス (2) の受精卵を用いて受精卵核移植を行った。その結果、受精卵核移植がミトコンドリア病の遺伝子治療法として極めて有効であることを実験動物を使って世界で初めて証明することができた。

細胞小器官の一つであるミトコンドリアは酸素呼吸により生命活動に必要なエネルギーを生産しているが、そこには核ゲノムとは異なる独自のミトコンドリアゲノム (mtDNA) が存在している。mtDNA には生命エネルギー生産に必須な遺伝子だけが存在しており、これらの遺伝子に突然変異が生じると呼吸活性低下により生命エネルギー生産が不十分になる。このため特にエネルギー要求の強い中枢神経系や筋肉系を中心に異常をきたすミトコンドリア病を発症する。しかし、mtDNA の突然変異はエネルギー生産以外に影響を与えることはない。

ミトコンドリア病マウス (2) は、突然変異型 mtDNA を持つため呼吸活性低下をきたしミトコンドリア病を発症した。そしてこの病気を発症した母親から生まれた子どもは必ず母親から突然変異型 mtDNA を受け取るため母親と同じ病気にかかることが予測できる。念のため雌のミトコンドリア病マウスから採取した受精卵の「極体」を使うことによって受精卵内の突然変異型 mtDNA の存在を「遺伝子診断」した。そしてその受精卵の核を正常なマウスの除核卵に移植することにより「核移植受精卵」を作製することで「受精卵遺伝子治療」を行った。

39 個の核移植受精卵を 2 匹の偽妊娠マウス (仮親) の子宮に挿入し、11 個体の新生児を得た。その結果、核移植をして誕生した 11 個体の受精卵遺伝子治療マウスでは全ての場合で突然変異型 mtDNA がほとんど除かれ正常 mtDNA に置き換わるためにミトコンドリアの呼吸活性が回復し、寿命がつきるまで病気を発症しないことが確認された。

## 2：受精卵遺伝子治療をヒトの受精卵に応用する場合の生物学的問題点

この操作によって自然界では起こり得ない二つの生物学的な問題が発生する。

(A) 第一は、核移植によって誕生した子どもは母親以外の女性の mtDNA、つまり「第三者 mtDNA」も含むということである。しかし、mtDNA はエネルギー生産に関係するだけでそれ以外に個性を含めたあらゆる形質に影響を及ぼすことはない。実際、今回マウスに導入された第三者の正常 mtDNA はミトコンドリア病の発症を完全に抑制するだけで、それ以外の副作用が発現することはなかった。

(B) 第二の問題は受精卵遺伝子治療によって誕生した子どもは第三者の正常 mtDNA と母親の突然変異型 mtDNA の二種類の mtDNA が共存するため、両者の間に「組換え体」ができる可能性があるという点である。しかし、われわれの先行研究 (3) で異なる個体の mtDNA が同一細胞内に共存しても、組換え体ができる確率が極めて低いこと、そして仮に組換え体ができたとしても、それによって新たな病原性突然変異が生じることはなく、呼吸活性は正常に保たれることが明らかになっている。

### 3：不妊治療とミトコンドリア病治療の違い

2001 年に米国のセントバーナバス医療センターのジャック・コーエンたちは正常な発生が進まない高齢者の受精卵に若い女性の未受精卵の細胞質を導入することで不妊治療に成功したと報告した。この不妊治療で誕生した赤ちゃんは核ゲノムは両親由来であるのに対し、mtDNA は母親だけでなく未受精卵の細胞質を提供した女性のものも含まれることが明らかになった。

その後コーエンたちの不妊治療は、若い女性の未受精卵の細胞質を導入することの有効性とその必要性に疑問が生じ中止されている (1)。しかし、ミトコンドリア病患者の場合は正常 mtDNA の導入の必要性が十分に存在し、今回の研究からその有効性も証明することができた。

### 4：結論

もちろん今回のようにマウスの受精卵遺伝子治療が成功しても、「倫理的問題」があるためこの治療を直ちに人間に応用できないかも知れない。しかしわれわれの研究によって「第三者の mtDNA」や「組換え体」が呼吸活性に悪影響を与えるという「生物学的問題」は全く存在しないことが明らかになった。少なくとも第三者の mtDNA は、母親由来で呼吸欠損を引き起こす運命にある突然変異型 mtDNA よりははるかに効果的で、この受精卵遺伝子治療はミトコンドリア病の母親の子どもをこの病気の発症から確実に救うことになる。

(1) Erika Check UK embryo licence draws global attention. Nature 437:305, 2005

(2) Inoue, K., et al. Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes. Nature Genetics 26:176-181, 2000;朝日新聞記事 2000 年 9 月 29 日 ; The Japan Times 記事 9 月 28 日

(3) Sato, A., et al. Rare creation of recombinant mtDNA haplotypes in mammalian tissues. 米国科学アカデミー紀要, 102:6057-6062, 2005



# ミトコンドリア病とは

ミトコンドリア病とは、ミトコンドリアの呼吸機能が低下することで全身に様々な症状が出てくる病気である。主な症状としては、痩せ、低身長、高乳酸血症（血液が酸性になる）、疲れやすい、筋力の低下、運動障害、てんかん発作、難聴などが見られる。重症例では、心伝導障害や腎疾患など生命に危険が及ぶような症状が現れる。この病気の原因の多くはmtDNAの突然変異によるため、母性遺伝によって遺伝することが知られている。

ミトコンドリア病と主な特徴

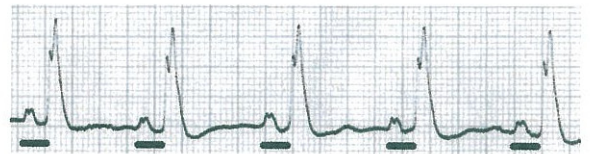
	CPEO (KSS)	MERRF	MELAS
mtDNA突然変異 遺伝	大規模欠失 散発性	点突然変異 母性遺伝	点突然変異 母性遺伝
小脳失調	+	+	-
知能低下	+	+	+
痙攣	-	+	+
周期性嘔吐	-	-	+
難聴	+	+	+
網膜色素変性	+	-	-
低身長	+	+	+
筋力低下	+	+	+
心伝導障害	+	-	-
高乳酸血症	+	+	+

## ミトコンドリア病マウス (ミトマウス)



## 心伝導傷害

正常マウス



ミトマウス

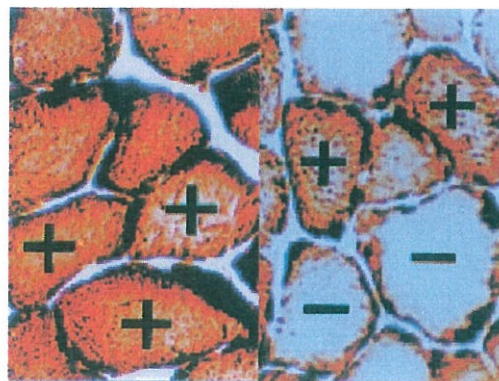


## 低身長・低体重



正常マウス ミトマウス

## 筋肉異常



正常マウス ミトマウス

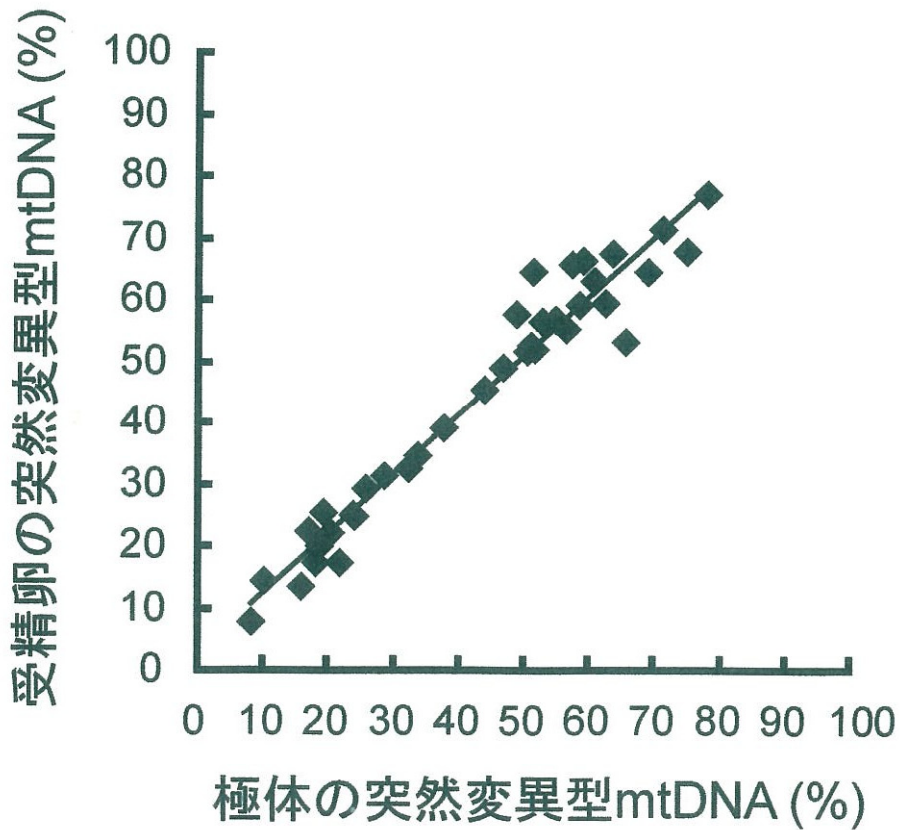
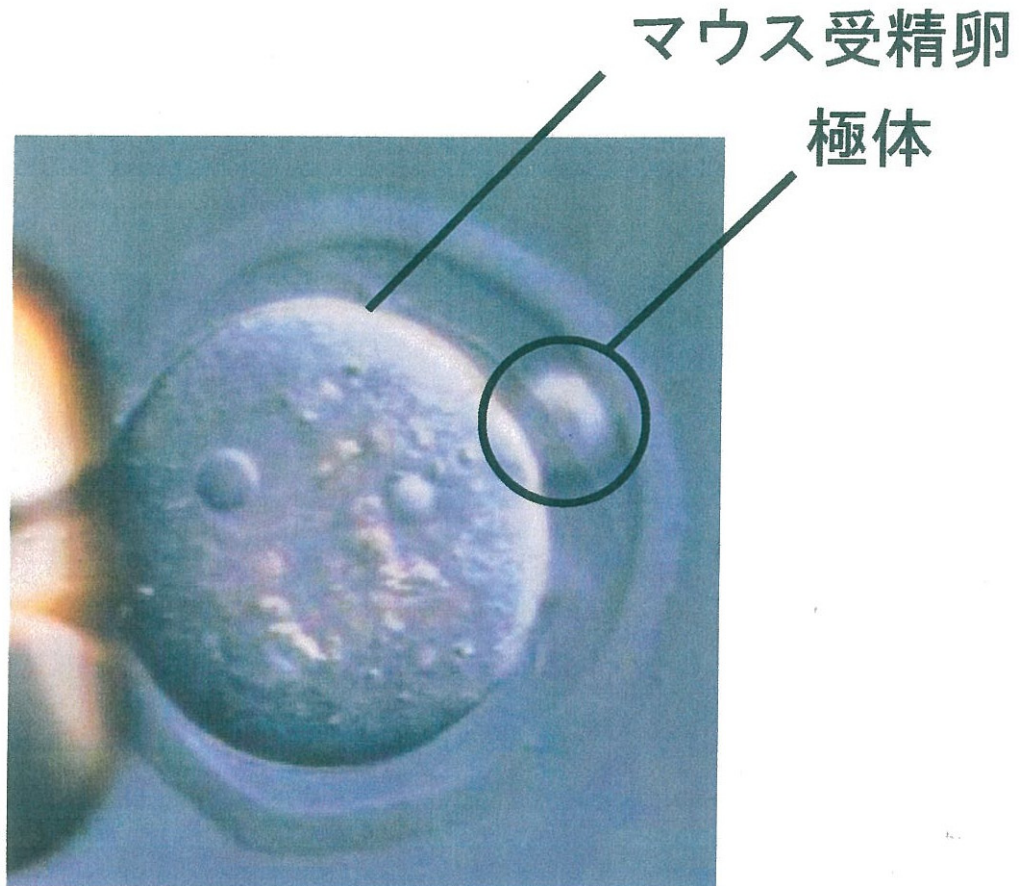
## 腎肥大



正常マウス ミトマウス

## 2

# 極体遺伝子診断

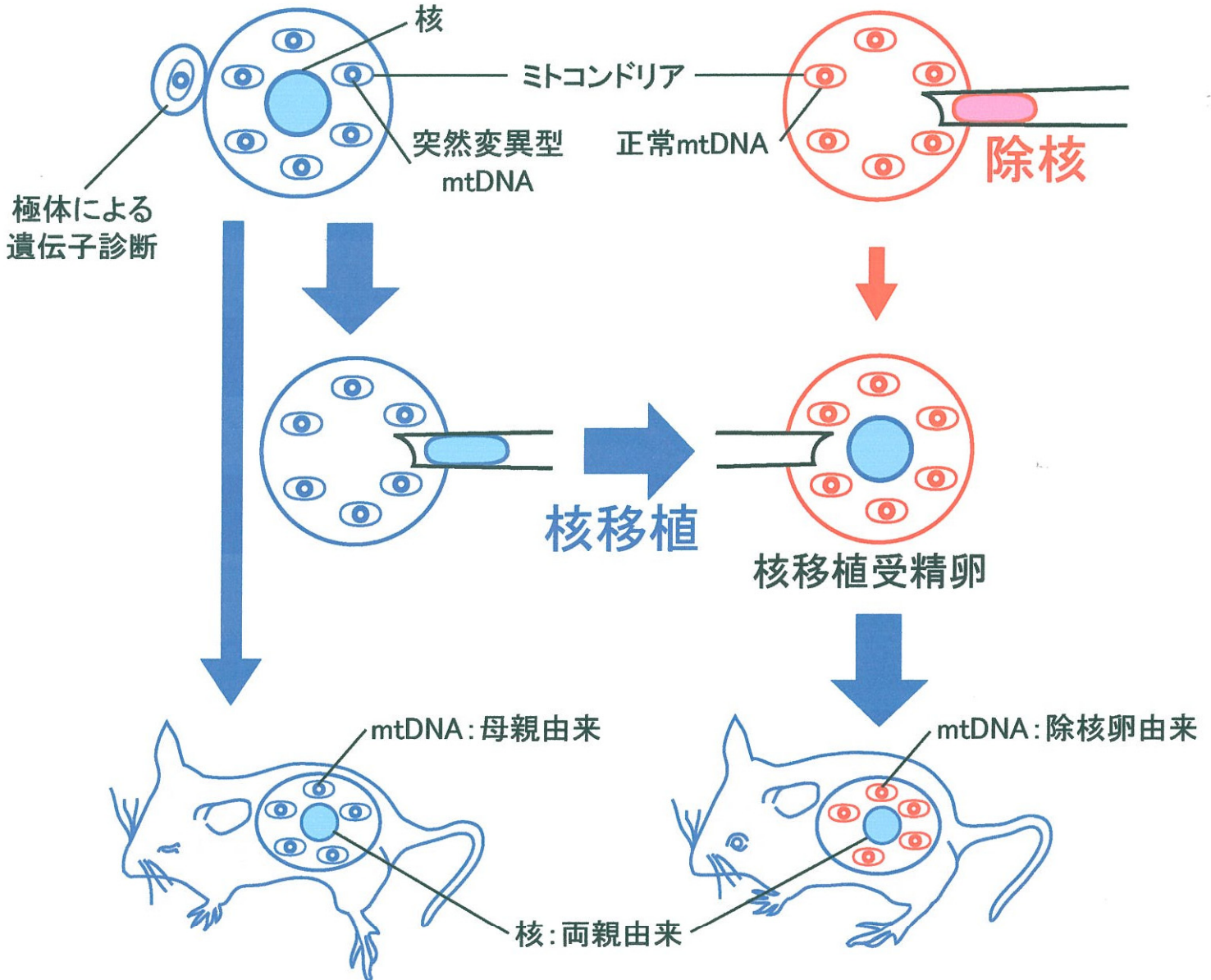




# 3 ミトコンドリア病の受精卵遺伝子治療

ミトコンドリア病マウスの受精卵  
(突然変異型mtDNAによる呼吸欠損)

正常マウスの除核卵  
(正常な呼吸活性)

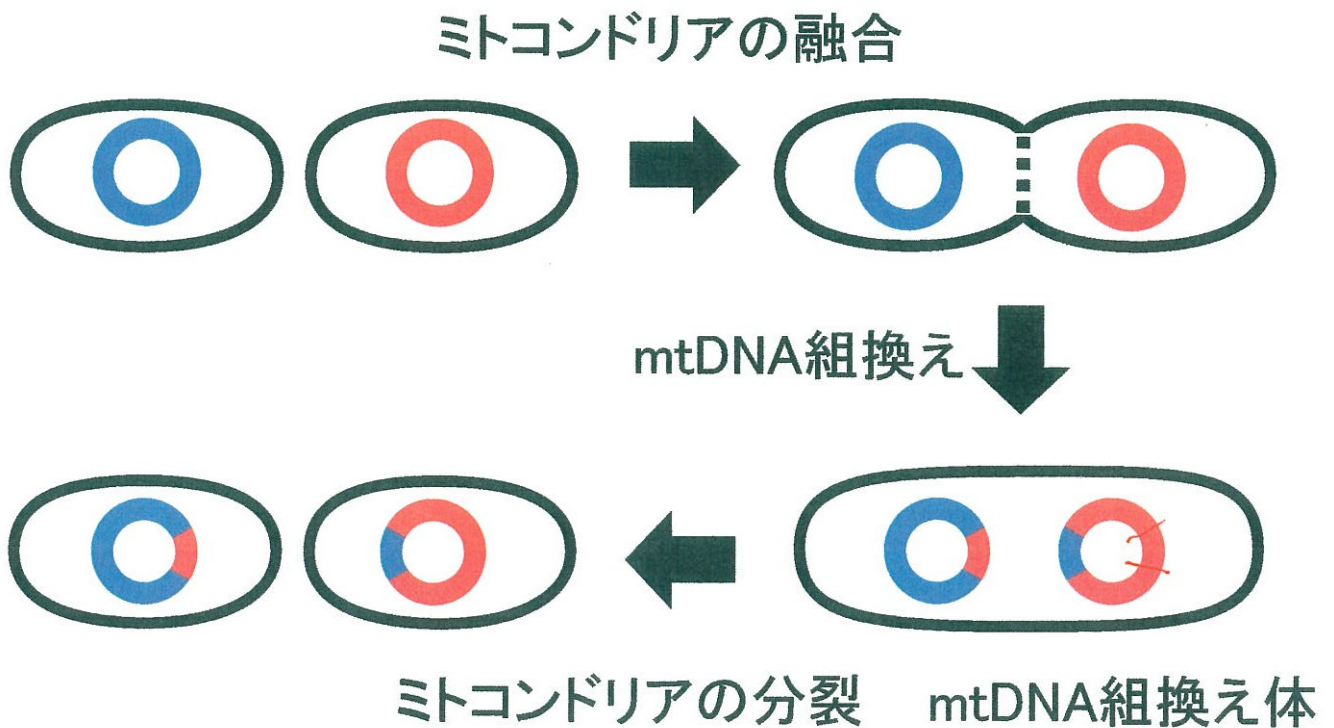
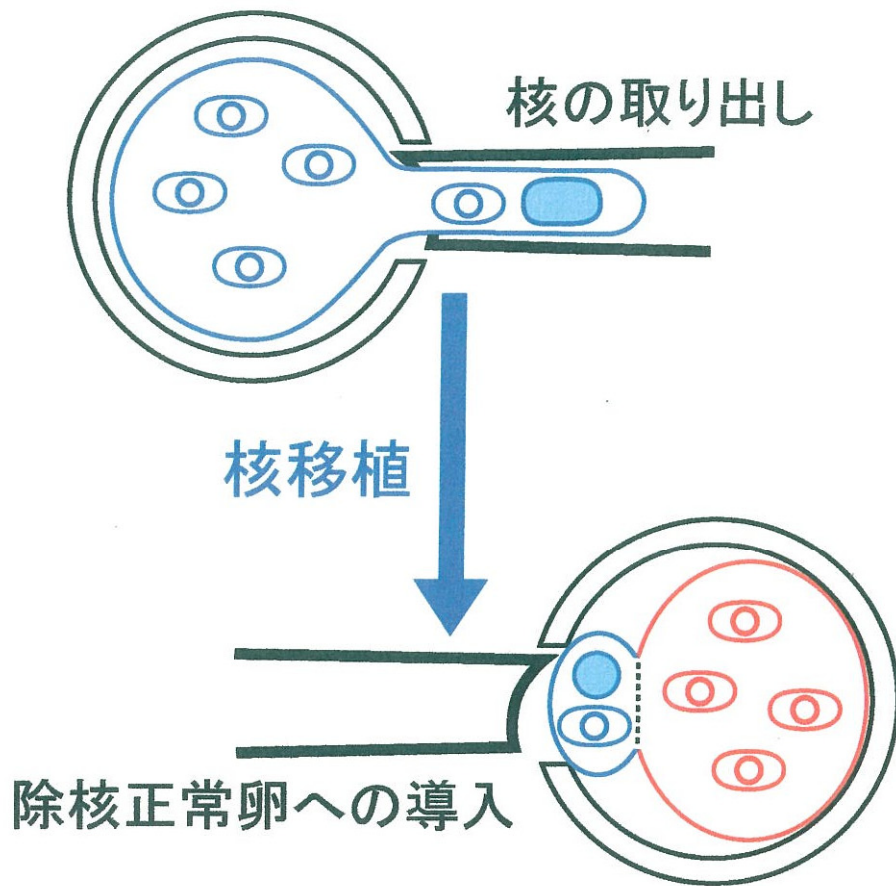


ミトコンドリア病マウス  
(呼吸欠損が原因の病態発症)

受精卵遺伝子治療マウス  
(正常)

# 4

## 第三者のmtDNA導入と組換え



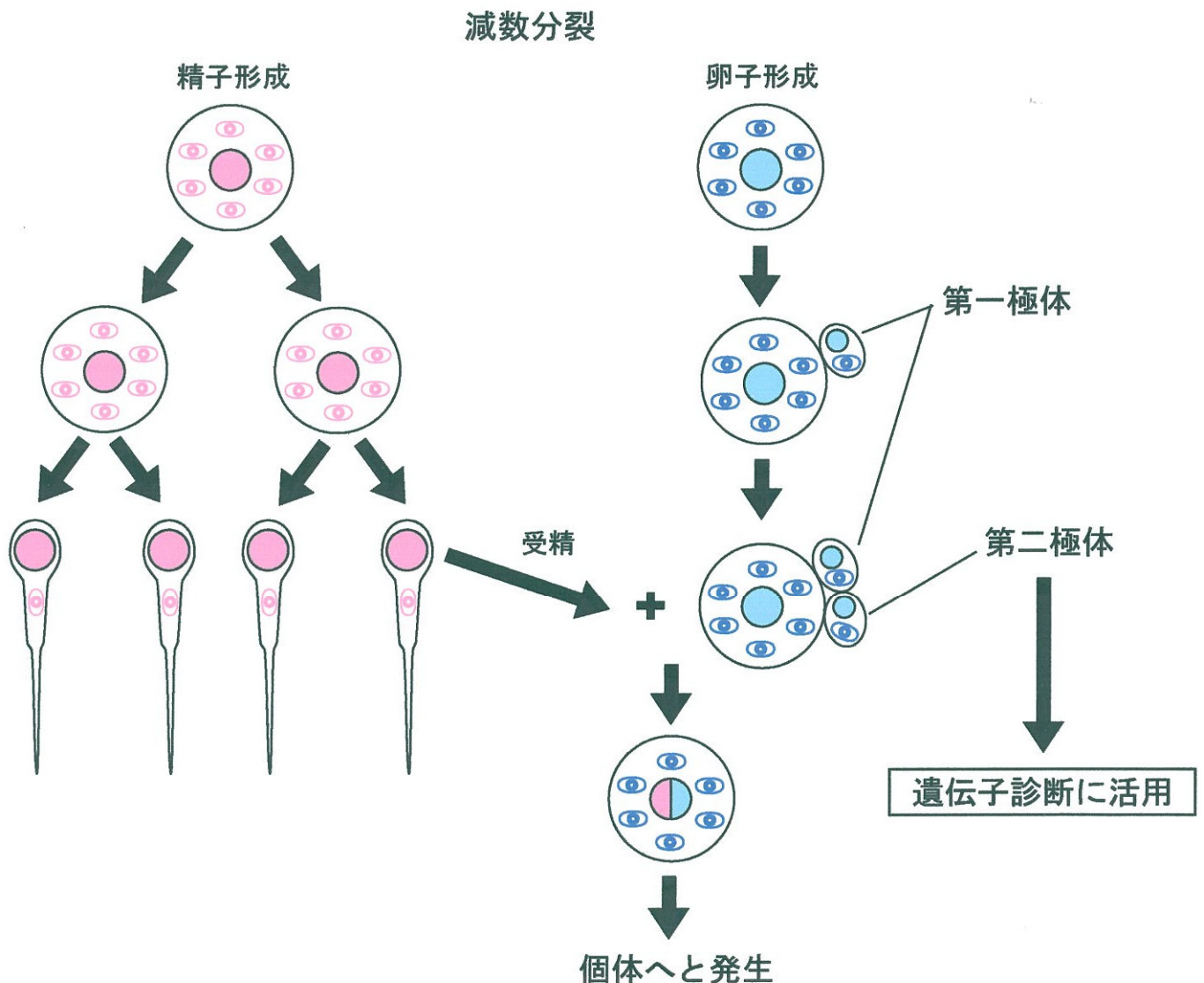




普通、細胞は染色体を2セットもっている。これに対して精子と卵子は1セットずつ染色体を持っており、受精により父親と母親由来の染色体が組み合わせることで多様性が生じるようになっている。そのため、卵子を作る際に2セットの染色体のうち、1セットを捨てなくてはならない（精子ではこの1セットは捨てることなく精子として使用される）。

この染色体1セットは「極体」として卵子の外に捨てられる（この過程を減数分裂とよぶ）。極体には染色体の他にも若干のミトコンドリアが含まれているため、我々は極体を使用して突然変異型mtDNAの遺伝子診断を行った。

極体は卵子外に放出されるとじきに小実し、将来の体の構築には寄与しない。そのため、極体を使用した遺伝子診断は卵へのダメージを最小限に抑えることが可能である。





# ミトコンドリア・ミステリー

驚くべき細胞小器官の働き

林 純一



2003年度  
講談社出版文化賞  
科学出版賞受賞

監修 池内 了 竹内 夫 西澤 潤一 丸山 功作 柳田 邦男 豊 稔 彰

②



図1-2 ミトコンドリアのプロフィール

③

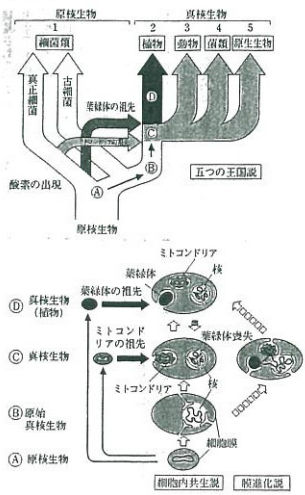


図2-1 五つの王国説と細胞内共生説に基づくミトコンドリア進化のシナリオ

⑦

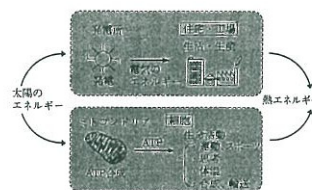


図3-1 エネルギー工場としてのミトコンドリア

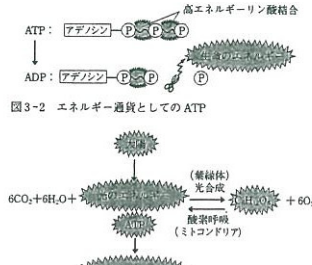


図3-2 エネルギー通貨としてのATP

⑪

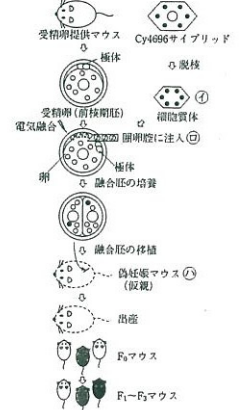


図8-7 大欠型mtDNA導入マウス作製手順を示した模式図

外部から導入されたCy4696サイブリッド由来の大欠型mtDNAを神フマウスを作製するための実験工程。この工程において、正常(野生)型mtDNAは白色で、大欠型mtDNAは褐色で表した。正常型mtDNAのみを持つマウスは白色、大欠型mtDNAを少量だけ持つヘテロプラスミマウスは淡灰色、大量に持つマウスは褐色で表した。図は破線で表した。(Inoue, K. et al. Nature Genet. 26:176-181, 2000より改訂)

⑧

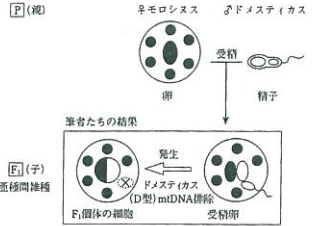


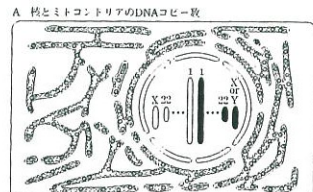
図6-6 マウス種内交配における精子mtDNAの運命

⑨

臨床症状	CPEO (KSS)	MERRF	MELAS
外眼筋麻痺	+	-	-
聴覚低下 (両の向の聴下がり)	-	-	-
網膜色素変性	(+)	-	-
心伝導ブロック	(+)	-	-
小脳失調	+	+	-
筋力の低下 (ミヤコウズでんかん)	-	+	-
局所性痙攣	-	-	+
短縮低下、筋力低下	+	+	+
低身長	+	+	+
頭痛	+	+	+
高乳酸血症	+	+	+
糖尿病	±	±	±
腎臓病	-	+	+
腎臓病 (母性遺伝)	-	+	+

表7-1 ミトコンドリア遺伝子疾患三大病型の臨床症状にともなった特徴

⑤



mtDNAは両親からそれぞれ1コピーずつ継承する。mtDNAはすべて母親由来で1つの細胞当たり数千コピー存在する。核には限局的な1-22番染色体とX染色体(○)とY染色体(●)がある。交雑種の1-22番染色体とXまたはY染色体(●)が持っている遺伝情報が含まれる。ただし、Y染色体という構造をとるは細胞分裂するときだけである。

⑥

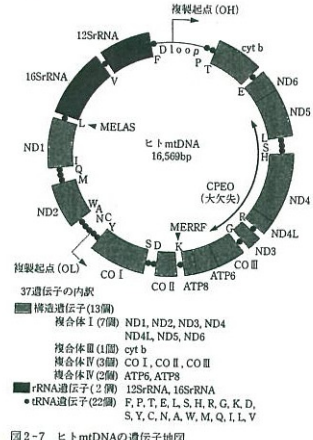


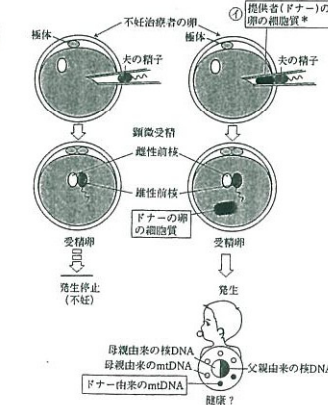
図2-7 ヒトmtDNAの遺伝子地図

## 第8章

# ミトコンドリアの謎を解くモデルマウス

科学雑誌「Nature」に掲載された論文「Scientists introduce mito-mouse」の紹介ページ。この論文は、大欠型mtDNAを導入したマウスモデルの作成と、その結果として得られた知見について述べている。

⑫



\* 不妊治療者の卵の細胞質は何らかのタンパク質因子が欠落しているため正常発生のきっかけがつかず発生停止したが、ドナーの卵の細胞質によりこの因子が供給されるため発生が正常に進んだ。ただしこの因子は一時的に必要なだけでそれ以降は必要ではなかった。しかし、そのとき偶発的に導入されたドナーのmtDNAは自己複製し赤ちゃんの体の中で増えつづけた。

図8-11 第三者の細胞質移植による遺伝子改変マウスの発生