

ARTのインプリンティング異常例などの遺伝的安全性の検討

研究分担者 有馬 隆博 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究協力者 宮内 尚子（東北大学大学院医学系研究科）

佐藤 芙美（東北大学大学院医学系研究科）

研究要旨

近年、生殖補助医療（ART）技術の普及により、これまで非常に希少疾患として知られる先天性ゲノムインプリンティング異常症の発生頻度の増加が世界中で注目されている。これには、ARTが、ゲノムインプリンティングが確立、維持される時期の配偶子や受精卵を操作する事が原因であると推察されている。全国多施設共同研究により、Beckwith-Wiedemann 症候群（BWS）、Silver-Russell 症候群（SRS）は、体外受精（IVF）や顕微授精（ICSI）などの治療を受けた児にその発症頻度が約10倍高く、またDNAメチル化の異常（エピゲノム変異）を高頻度に起こすことを明らかにしてきた。今年度は、DNA多型を含む22領域のメチル化インプリント領域を同定し、ヒトメチル化インプリント領域のDNAメチル化の解析を正確に行い、メチル化異常のパターンについて分析した。その結果、ART治療を受けた患者では、86%（7例中6例）において、複数のインプリント領域で異常を認めた。これらの症例は全例、精子型と卵子型メチル化インプリンティングの両方に異常を認めた。また、同一症例で、高メチル化と低メチル化を示し、またその程度は、完全型ではなく、モザイク型を示す事が特徴にみられた。一方、非ART群においては、SRSでは3例（10例中）、BWSでは1例（6例中）のみ、複数領域にメチル化異常を示すことが判明した。これらの複雑なメチル化異常は、受精以降のプロセス（受精卵培養、凍結胚操作など）で異常が起こり、疾患を発症へと導いた可能性が高いと推察された。

A. 研究目的

わが国の少子化、晩婚化の社会情勢と医療技術の進歩により、生殖補助医療（ART）は一般的な不妊治療に定着している。しかしARTの普及により、本来非常に稀であるインプリンティング異常疾患の発生頻度の増加が世界中で数多く報告されている。これにはARTが、ゲノムインプリンティング（GI）が確立する時期の配偶子を操作する事が原因であると推察されている。代表的な先

天性GI異常症はBeckwith-Wiedemann症候群（BWS）、Angelman症候群（AS）、Prader-Willi症候群（PWS）、Silver-Russell症候群（SRS）である。インプリント領域での片親性ダイソミー（UPD）、重複、欠失、メチル化異常などが発症原因と考えられている。またこれまでの先天性GI異常症におけるDNAメチル化の解析により、ARTとの関連が示された先天性GI異常症は、SRSとBWSで、いずれもDNAメチル化の異常

を原因とする（エピゲノム変異）の症例が多く、ART 出生児においてもエピゲノム変異の症例がさらに多い傾向にあった。このメチル化異常が ART 出生児の場合、どのような分子機構を原因として起こっているのか、つまり発症時期を特定することにより、そのリスク要因を同定することが可能であるかもしれない。

本研究では、ART により出生した先天性 GI 異常症（SRS、BWS）のメチル化異常について全インプリント領域だけでなく、全ゲノムにおけるメチル化状態について解析し、メチル化異常のパターンよりリスク要因について考察することを試みた。

B. 研究方法

(1) ヒトインプリント領域の網羅的解析：

全てのインプリント領域情報をもとに、ヒトインプリント領域の検索を行い、22 領域を同定し、PCR プライマーを設計した。この際、DNA 多型を含むようにし、条件検討を行った。

(2) 系統的、網羅的全ゲノムのメチル化解析 Reduced Representation Bisulphite Sequencing (RRBS)：

ART および非 ART の先天性 GI 異常症 Silver-Russell 症候群（SRS）患者および健常児の末梢血から DNA を抽出した。10ng の DNA を制限酵素 MspI で消化し、末端を修復した後、5 メチルシトシンを含むメチル化アダプターとライゲーションした。次に、電気泳動で 150-350bp の DNA 断片を回収、精製した後、Bisulphite 処理を行った。Bisulphite 処理 DNA を鋳型として、インデックス付きプライマーを用いて、PCR により増幅し、RRBS ライブラリーを作製した。作製したライブラリーのサイズ分布の確認および濃度を定量した後、次世代シーケンサー HiSeq2000（Illumina）にて配列を決定した。次世代シーケンサーにより得られた塩基配列データは、Bismark で hg19 ヒトゲノムにマッピングし、解

析した。Bisulphite 置換効率は nonCpG の置換効率によって算出した。CpG のメチル化は 100bp のタイル毎のメチル化率に変換し、その後の解析を行った。

（倫理面への配慮）

患者検体を用いる研究：ヘルシンキ宣言（エジンバラ改訂）、臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）に従い、本研究を実施。東北大学医学部倫理委員会より、研究プロトコルの承諾を得た。研究対象者の登録にあたっては、機密保護に十分に配慮した。すなわち研究対象者の同定や照会には研究登録番号、症例イニシャル、生年月日を用いて行うこととし、直接患者を識別できる情報は事務局のデータベースには登録していない。また、本研究に係わる臨床記録、検査データ、同意に関する記録など医療機関において作成されたものについては保管責任者が鍵のかかるキャビネットに保管。その保管期間は本研究終了時までとし、その後廃棄予定である。

組換え DNA 実験：全ての実験について、遺伝子組み換え実験および動物実験の承認を得ている。参加者は遺伝子組換え実験の教育訓練をうけ「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づき、実験拡散防止措置確認を行っている。

C. 研究結果

ART を受けた疾患患者（SRS:5 名、BWS:1 名）、自然発症の患者（SRS:10 名、BWS:6 名）について解析した。

(1) 疾患患者のインプリント遺伝子の DNA メチル化の解析と ART との関連：

DNA 多型を含む Bisulphite PCR Sequence 法を用いて、ヒトメチル化インプリント領域の DNA メチル化の解析を正確に行い、メチル化異常のパターンについて分析し、発症機序を推測した。また、インプリントを受けない領域に関して、2 領域についても同様の解析を行った。SRS の場合、

ART 治療を受けた患者では、6 例中 5 例において、複数のインプリント領域で異常を認めた。これらの症例は全例、精子型と卵子型 DMR の両方に異常を認めた。また、同一症例で、高メチル化と低メチル化を示し、またその程度は、完全型ではなく、モザイク型を示す事が特徴にみられた。BWS は 1 例しか ART 後の症例は解析出来なかったが、SRS の場合と同様の傾向が見られた (図 1)。

一方、非 ART 群においては、SRS では 10 例中 3 例、BWS では 6 例中わずか 1 例に複数領域にメチル化異常を示すことが判明した。

(2) 系統的、網羅的全ゲノムのメチル化解析：メチル化解析には、1 塩基のメチル解析結果を 100bp のタイル毎に算出し、転写開始点 (TSS) ($\pm 1\text{kb}$)、CpG アイランド、SINE、LINE、LTR、Repeat DNA および Simple repeat について解析し、健常児と比較してヒートマップにて示した。特に、ART 治療を受けた S9 では健常児に比較して全体的に低メチル化状態であった。メチル化異常領域 (20%以上メチル化されたタイルまたは脱メチル化されたタイル) は、TSS では 1831、CpG アイランドでは 1632、SINE では 4047、LINE では 726、LTR では 850、Repeat DNA では 205、Simple repeat では 143 タイルであった。また、メチル化異常領域数について、ART 群および非 ART 群で比較したところ、ART 群でメチル化異常数が多く、特に脱メチル化領域が多い傾向がみられた (図 2)。メチル化異常領域の内訳として、CpG アイランドでは転写開始点、SINE では Alu、LINE では L1、LTR では ERV1 が最も多かった。

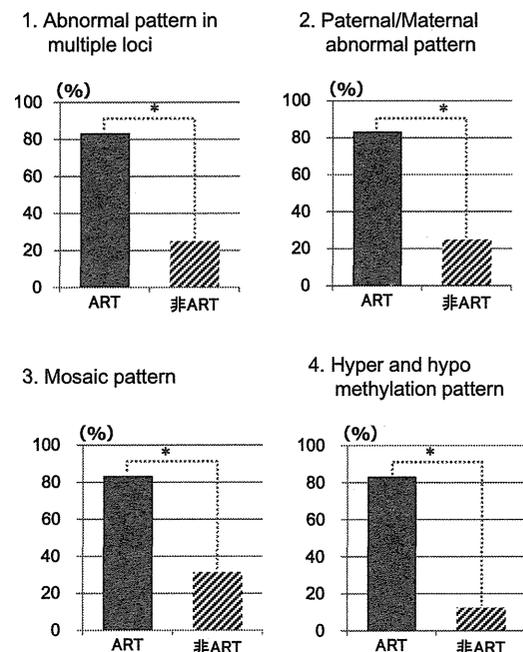


図 1 メチル化異常領域の比較 (*: $P < 0.005$)

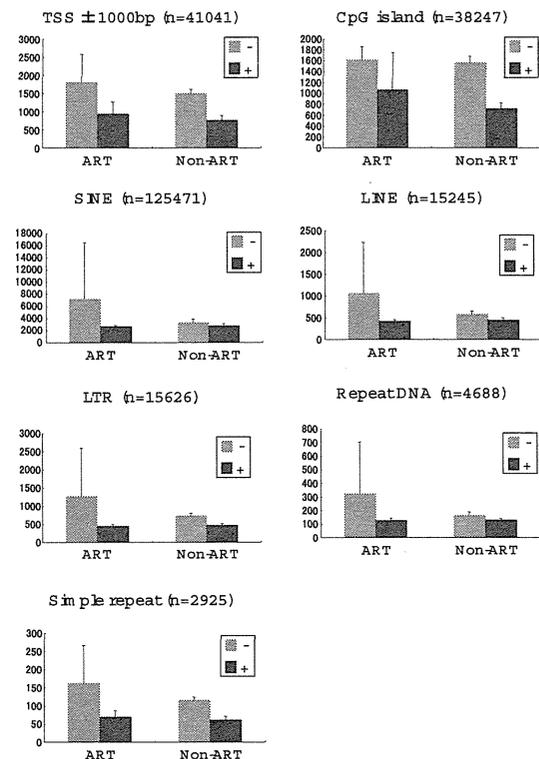


図 2 メチル化異常領域の比較

D. 考察

インプリント異常症は、IVF や ICSI 症例に多い傾向にあるが、リスク要因となりうる ART 操作は排卵誘発法や量、胚培養液の種類など様々であり、特定

するに至っていない。ART 操作と DNA メチル化異常に関する動物実験や細胞培養での報告は多数あるものの、ヒト研究においてこれらの検証を行うには限界もある。我々の ART 出生児の疾患患者解析より、非 ART 児に比し、複雑なメチル化異常を呈すること、臨床症状に特異性が見られることから、ART によるリスクは、配偶子形成よりむしろ受精以降の過程で発症するものと考えられた。この結果は、受精卵培養や培養液（法）が影響を与えているように思える。動物胚（ウシ、ヒツジ等）の体外培養によって、胚移植後に子宮内での過剰胎児発育が起こり、出生した産仔の死亡率や疾患罹患率が高くなる事が報告されている (Large offspring syndrome: LOS)。これは GI 遺伝子 IGF2R のメチル化の低下と発現の低下によって、IGF2 が過剰に産生されることが原因と推測されている。また、このメチル化の異常は、排卵誘発あるいは体外培養によって生じる事が判明している。マウスにおいても、培養液の組成や体外操作によるメチル化異常についての報告がある。ヒトでは、BWS は胎児、胎盤の肥大が特徴で LOS と関連する。逆の現象として、SRS では GI 異常が子宮内発育不全 (IUGR) の原因となる。インプリント異常疾患である新生児一過性糖尿病 (TNDM) でも IUGR がみられ、ART と関連するかもしれない。しかし、不妊症自身の遺伝的背景も考慮しなければならない。つまり、相乗効果が働くのかもしれない。インプリント遺伝子以外の影響に加え、原因遺伝子の探索は重要で、安全な ART 治療を行う上で、予防、診断に十分生かせられると考えている。

E. 結論

メチル化異常を呈するインプリント異常症の場合、ART 出生児はその異常のパターンが複雑である。この異常は、受精以降のメチル化の維持に原因があると推測される。つまり、受精以降の胚操作（受精卵培養、凍結胚操作など）に注意を払わなければならないと考えられる。今後エピゲノム異常を示す症例の発症機序の解明とリスク要因の同定は急務である。

F. 健康危険情報

症例数が少ないため、未だ正確には評価できないが、ART により発症したインプリント異常症の場合は、受精以降のプロセス（受精卵培養、凍結胚操作など）、つまりメチル化の獲得より、むしろメチル化の維持に影響を与える可能性があり、注意を払わなければならない。

1. 論文発表

1. Hiura H, Okae H, Chiba H, Miyauchi N, Sato F, Sato A, Arima T. ART and imprinting errors. **Reproductive Medicine and Biology**. in press.
2. Okae H, Matoba S, Nagashima T, Mizutani E, Inoue K, Ogonuki N, Chiba H, Funayama R, Tanaka S, Yaegashi N, Nakayama K, Sasaki H, Ogura A, Arima T. RNA sequencing-based identification of aberrant imprinting in cloned mice. **Hum Mol Genet**. in press.
3. Hiura H, Toyoda M, Okae H, Sakurai M, Miyauchi N, Sato A, Kiyokawa N, Okita H, Miyagawa Y, Akutsu H, Nishino K, Umezawa A, Arima T. Stability of the abnormal imprinting of human induced pluripotent stem cells. **BMC Genetics**. 14, 32, 2013.
4. Chiba H, Hiura H, Okae H, Miyauchi N, Sato F, Sato A, Arima T. DNA methylation errors in imprinting disorders and assisted reproductive technologies. **Pediatrics international**. 55, 542-549, 2013.
5. 樋浦仁、有馬隆博、生殖補助医療とエピジェネティクス、エピジェネティクス-基礎研究から産業応用への展望、株式会社シーエムシー出版 印刷中。
6. 千葉初音、有馬隆博、生殖医療と児の奇形、エピジェネティクス異常、医学のあゆみ 医歯薬

出版株式会社 印刷中.

7. 千葉初音、岡江寛明、有馬隆博、ヒト生殖補助医療 (ART) とエピジェネティクスの異常、遺伝子医学MOOK25号 178-183, 株式会社メディカルドゥ 2013.
8. 井原基公、有馬隆博、生殖細胞と酸化ストレス、医学のあゆみ 医歯薬出版株式会社 247(9), 851-855, 2013.
9. 濱田裕貴、岡江寛明、有馬隆博、ARTとエピジェネティックな異常、臨床婦人科産科 医学書院 68(1), 98-105, 2014.

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 日本人類遺伝学会 第58回大会「ARTと先天異常」有馬隆博、仙台 (11/22/2013)
2. 第58回日本生殖医学会 学術講演会・総会「ARTとゲノムインプリンティング」有馬隆博、神戸ポートピアホテル、神戸 (11/16/2013)
3. 第31回日本受精着床学会総会・学術講演会「基礎から臨床へ、ARTとエピゲノム」有馬隆博、別府 (8/9/2013)
4. 第54回日本卵子学会「生殖領域におけるエピジェネティクス研究の最前線」有馬隆博、学術総合センター2階 一橋記念講堂、東京 (5/25/2013)
5. 第116回日本小児科学会学術集会「生殖補助医療と小児科医療の接点」有馬隆博、広島市文化交流会館、広島 (4/20/2013)
6. 日本生殖再生医学会・第8回学術集会「乏精子症とゲノムインプリンティング」千葉初音、有馬隆博、シェーンバッハ・サボー、東京 (3/10/2013)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

予後調査の問題点の抽出 ARTの品質管理（着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査）

研究分担者 末岡 浩 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 准教授

研究協力者 佐藤 健二 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 助教

研究要旨

生殖医療の新たな展開として重篤な遺伝病を対象に開始された着床前遺伝子診断（PGD）に関して、これまでに実施された施設による出生児の予後を含め、詳細な実態調査の実施が行われてこなかった。これに対し、平成23年4月～平成25年3月に厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「生殖補助医療により生まれた児の長期予後の検証と生殖補助医療技術の標準化に関する研究（主任研究者：吉村泰典）」における分担研究として、「着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査」を行い、これまで日本で行われてきたPGDの実施状況の詳細を明らかにする作業を開始した。PGDについては、出生児の長期予後を含む、継続的な全国調査が必要であることから、今回の調査では、前回の調査項目をさらに精査し、修正を加え、平成24年10月1日から平成25年9月30日までに実施されたすべてのPGD実施症例のデータを集計し、現状の把握とともに問題点を抽出した。

前回の結果と同様、わが国におけるPGDの大部分は染色体均衡型転座保因者に対するPGDであり、単一遺伝子病などの重篤な遺伝性疾患に対するPGDを実施した施設は3施設であった。単一遺伝性疾患に対するPGDは、合計26採卵周期、23症例に対して施行された。この期間に実施されたPGDの対象疾患としてはデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）、筋緊張性ジストロフィー（DM1）、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症（OTC）、福山型筋ジストロフィー（FCMD）、骨形成不全症（OI）、先天性表皮水疱症（CEB）の計6疾患であり、DMDおよびDM1がそれぞれ11症例、8症例であり、その他の疾患はすべて1症例であった。

転座保因者に対するPGDは、合計76採卵周期、46症例に対して施行された。対象疾患としてはロバートソン転座および相互転座保因者であり、それぞれ男性保因者と女性保因者に分けて比較した。採卵周期数および症例数は、相互転座女性保因者（33周期、22症例）と同男性保因者（34周期、19症例）は、ほぼ同数で、ロバートソン転座はすべて女性保因者（9周期、5症例）であった。

今後PGDの適応については科学的な見地からも議論が必要と考えられた。PGDの実施施設と妊娠成立後の分娩施設が異なる事例が多く、児の長期予後も含めた、妊娠後のフォローアップを確立するシステムの構築が必要と考えられた。

A. 研究目的

着床前遺伝子診断（PGD）はわが国での臨床実施が開始されて以来、実質的にはすでに8年が経過し、出生が累積されつつある。PGDは、顕微授精、割球生検、遺伝子診断、長期培養、胚凍結などの先進的生殖医療技術を必要とする。この技術面での知見や成果についての具体的な集積データとして、欧州生殖医学会（ESHRE）のPGD Consortiumでの年次累積集計が行われているが、各施設ベースでの技術的背景などの詳細データは明らかにされておらず、その知見の共有化はなされていない。

また、遺伝学的診断の精度のみならず、生検胚からの妊娠効率や出生までに生じる流産や出生後の成育についても今後の継続的な情報の集積が必要である。加えて単一細胞に対する複雑な遺伝子診断の精度や対応に関して、個々の疾患や事例によって異なることが多く、遺伝子病の特徴によっても異なる。さらに、わが国では倫理面での議論から対象事例は限定的であり、今後の対象を検討するうえでも実態調査が必要である。

そこで実態調査と問題点の抽出を目的として、平成23年4月～平成25年3月に厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「生殖補助医療により生まれた児の長期予後の検証と生殖補助医療技術の標準化に関する研究（主任研究者：吉村泰典）」における分担研究として、「着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査」を行い、これまで日本で行われてきたPGDの実施状況の詳細を明らかにした。出生児の長期予後も含めた、継続的な全国調査が必要であることから、今回の調査では、前回の調査項目をさらに精査し、修正を加え、日本におけるPGDの現状の把

握とともに問題点を抽出することを目的とした。

B. 研究方法

研究協力施設は日本産科婦人科学会にPGDに関する倫理審査依頼を行った医療機関等、計12施設である。調査は平成24年10月1日から平成25年9月30日までに各施設で実施されたPGD症例すべてを対象とした。

調査フォーマットには、ESHRE PGD Consortiumの基本的調査項目に加え、倫理審査や遺伝カウンセリングにおける課題、出生児の長期予後などの項目を加えて、わが国独自のフォーマットファイル（File-Maker Proを使用）を平成24年度のフォーマットから今年度は新たに改修し、作成した。

ファイルは、①患者情報・適応・費用、②倫理審査・カウンセリング、③PGD、④妊娠・出生前診断、⑤分娩、⑥児の予後の6種類のレイアウトに分けられている。

このフォーマットに基づき、協力各施設で事例ごとに記録し、連結不可能匿名化データとして、集計機関である慶應義塾大学医学部にて集計し、結果の検討を行った。

胚移植可能胚率は診断可能胚数に対する胚移植可能胚数の割合として算出した。

胎児心拍が一つ以上確認された場合に臨床的妊娠とし、臨床的妊娠率は採卵および胚移植あたりの胎児心拍が確認された症例数として算出した。また、着床率は100移植胚あたりの胎児心拍が確認された数と定義した。

なお、本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会の審査承認を得て行った。

C. 研究結果

1. 単一遺伝性疾患に対するPGD(表1a,1b)

単一遺伝性疾患に対するPGDは、合計26採卵周期、23症例に対して施行された。

この期間に実施されたPGDの対象疾患としてはデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD)、筋緊張性ジストロフィー (DM1)、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (OTC)、福山型筋ジストロフィー (FCMD)、骨形成不全症 (OI)、先天性表皮水疱症 (CEB) の計6疾患であった。内訳は、DMDおよびDM1がそれぞれ11症例、8症例であり、その他の疾患はすべて1症例であった。

受精方法は媒精による通常の体外受精 (IVF) の1周期以外は、すべて卵細胞質内精子 (ICSI) 注入法による顕微授精であった。生検時の透明帯開口方法にはすべてレーザーが使用されていた。生検方法は、Day3の分割期胚の割球吸引法が全周期で実施され、胚盤胞生検も1周期併用されていた。

全採卵数は222個であり、そのうち68.9% (153/222) が受精した。受精した胚の85.6% (131/153) が生検され、そのうち100% (131/131) が生検に成功した。生検成功胚のうち、80.9% (106/131) で診断が成立し、そのうちの41.5% (44/106) が胚移植可能と判断された。PGDを施行した26周期のうち、34周期に胚移植がおこなわれた。採卵周期あたり、平均8.5個の卵子が採取され、そのうち受精した胚は平均5.9個で、そのうち5.0個に生検可能であった。診断可能胚数は平均で4.1個であり、そのうち1.7個で移植可能胚と診断され、1.4個が実際に胚移植された計算となる。

hCG陽性は4周期で認められ、そのうち胎児心拍陽性は3周期であった。採卵および胚移植あたりの臨床的妊娠率はそれぞれ11.5% (3/26)、8.8% (3/34) であり、

着床率は8.1% (3/37) となった。採卵周期および胚移植周期あたりの分娩数の割合はそれぞれ7.7% (2/26)、5.9% (2/34) であった。流産数、異所性妊娠はそれぞれ1周期、0周期であった。

2. 転座保因者に対するPGD (表2a, 2b)

転座保因者に対するPGDは、合計76採卵周期、46症例に対して施行された。

対象疾患としてはロバートソン転座および相互転座保因者であり、それぞれ男性保因者と女性保因者に分けて比較した。採卵周期数および症例数は、相互転座女性保因者 (33周期、22症例) と同男性保因者 (34周期、19症例) は同等で、ロバートソン転座はすべて女性保因者 (9周期、5症例) であった。受精方法は全体の約76.5%がICSIのみであった。生検時の透明帯開口方法はレーザーと機械的方法がほぼ同程度に実施されていた。生検方法は、Day3の分割期胚の割球吸引法が約81%で大部分を占め、約19%に割球圧出法が実施され、極体生検および胚盤胞生検は全く行われていなかった。

全採卵数は564個であり、そのうち76.2% (430/564) が受精した。受精した胚の74.2% (319/430) が生検され、そのうち99.7% (318/319) が生検に成功した。生検成功胚のうち、87.1% (277/318) で診断が可能であり、そのうちの22.7% (63/277) が移植可能胚と判定された。PGDを施行した74周期のうち、31周期に胚移植が行われた。採卵周期あたり平均7.4個の卵子が採取され、そのうち受精した胚は平均5.7個で、そのうち4.2個に生検が可能であった。診断可能胚数は平均で3.6個であり、そのうち0.8個で移植可能胚と判定され、0.5個が実際に胚移植された計算となる。

hCG陽性は12周期で認められ、そのうち胎児心拍陽性は10周期であった。採卵および胚移植あたりの臨床的妊娠率はそれぞれ13.2% (10/76)、32.3% (10/31) であり、着床率は28.95 (11/38) となった。臨床的妊娠率は、相互転座男性保因者において、高い傾向を認めた。採卵周期および胚移植周期あたりの分娩数の割合はそれぞれ10.5% (8/76), 25.8% (8/31) であった。流産数、異所性妊娠はそれぞれ3周期、0周期であった。

3. 出生前および出生後診断 (表3)

出生前診断として、羊水検査は6例で実施され、そのうちの5例(約83%)で結果は正常であったが、染色体異常が認められた1例は人工妊娠中絶となった。羊水検査未施行は4例であった。

4. 分娩および出生児 (表4)

確認された分娩数は9であり、不明を除外すると、全体の約80%で帝王切開術が実施されていた。単胎における出生体重の平均は3064gであった。

D. 考察

本調査から、日本におけるPGDの現状を明らかにした。

わが国におけるPGD実施件数の多数を染色体均衡型転座保因者に対するPGDが占めた。一方、単一遺伝子病などの重篤な遺伝性疾患に対するPGDを実施している施設は3施設にとどまり、1症例以外はすべて大学病院での実施であった。今後PGDの適応については科学的な見地からも議論が必要と考えられた。PGDの実施施設と妊娠成立後の分娩施設が異なる事例が多く、児の長期予後も含めた、妊娠後のフォローアップ

を確立するシステムの構築が必要と考えられた。

E. 結論

生殖医療の新たな展開として開始されたPGDに関する幅広く、継続的な調査が必要である。実際に胚操作や遺伝子診断の技術的課題、安全性、倫理社会面に発生する問題点、出生児の長期予後の検討などを通じて検証が必要であり、向後に継続的な追跡が求められる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kenji Sato, Kou Sueoka, Mariko Isobe, Yuki Mizuguchi, Yoko Izumi, Suguru Sato, Akira Nakabayashi, Yasunori Yoshimura: Current status of preimplantation genetic diagnosis in Japan. J Assist Reprod Genet.to submitted

2. 学会発表

佐藤健二、末岡 浩、佐藤 卓、中林 章、吉村泰典

「フォーマットファイルを使用した、我が国における着床前遺伝子診断実施状況の全国調査 第一報」 “第31回日本受精着床学会学術講演会”。口演発表 大分県 別府国際コンベンションセンター、2013.8.8-9

佐藤健二、末岡 浩、佐藤 卓、中林 章、吉村泰典

「着床前遺伝子診断実施状況の全国調査 第一報」 “第58回日本生殖医学会”。口演

発表 兵庫県 神戸国際会議場、神戸ポートピアホテル、2013.11.15-16

末岡 浩、佐藤健二、佐藤 卓、中林 章、高橋香織、五十畑葵、泉 陽子、水口雄貴、磯部まり子、苛原 稔、吉村泰典

「わが国における着床前遺伝子診断 (PGD) データコレクションからの分析と問題提起-単一遺伝子症」 “日本人類遺伝学会 第58回大会”。示説発表 宮城県 江陽グランドホテル、2013.11.20-23

佐藤健二、末岡 浩、佐藤 卓、中林 章、高橋香織、五十畑葵、泉 陽子、水口雄貴、磯部まり子、苛原 稔、吉村泰典

「わが国における着床前遺伝子診断 (PGD) データコレクションからの分析と問題提起-染色体異常症」 “日本人類遺伝学会 第58回大会”。示説発表 宮城県 江陽グランドホテル、2013.11.20-23

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1a 単一遺伝性疾患に対する PGD

	DMD	DM1	OTC	FCMD	OI	CEB	合計
採卵周期数	14	8	1	1	1	1	26
症例数	11	8	1	1	1	1	23
女性年齢 (歳)	38	37	44	40	35	42	39
IVF/ICSI 前のキャンセル周期数	0	0	0	0	0	0	0
受精方法							
IVF	0	1	0	0	0	0	1
ICSI	14	7	1	1	1	1	25
IVF+ICSI	0	0	0	0	0	0	0
不明	0	0	0	0	0	0	0
IVF/ICSI 後のキャンセル周期数	0	0	0	0	0	0	0
PGD 周期数	14	8	1	1	1	1	26

DMD, Duchenne muscular dystrophy; DM1, myotonic dystrophy type 1; OTCD, Ornithine transcarbamylase deficiency; FCMD, Fukuyama congenital muscular dystrophy; OI, Osteogenesis Imperfecta; CEB, congenital epidermolysis bullosa; IVF, in vitro fertilization; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

表 1b 単一遺伝性疾患に対する PGD

	DMD	DM1	OTC	FCMD	OI	CEB	合計
<u>胚発生</u>							
採卵数 (1回の平均採卵数)	115(8.2)	76(9.5)	6(6)	8(8.0)	16(16.0)	1(1.0)	222(8.5)
受精卵数	81	52	6	5	8	1	153
生検胚数	76	36	5	5	8	1	131
生検成功胚数	76	36	5	5	8	1	131
診断可能胚数	63	28	4	3	7	1	106
胚移植可能胚数	25	12	2	3	1	1	44
胚移植可能胚率	39.7	42.9	50.0	100.0	14.3	100.0	41.5
移植胚数	23	9	2	2	0	1	37
<u>臨床結果</u>							
胚移植周期数 (% per OR)	21(150.0)	8(100.0)	2(200.0)	2(200.0)	0(0)	0(0.0)	34(130.8)
hCG 陽性	3	0	0	1	0	0	4
胎児心拍陽性	2	0	0	1	0	0	3
臨床的妊娠率 (% per OR)	14.3	0	0	100	0	0	11.5
臨床的妊娠率 (% per ET)	9.5	0	0	50	0	0	8.8
心拍陽性胎児数	2	0	0	1	0	0	3
着床率	8.7	0	0	50	0	0	8.1
分娩 (妊娠継続中)	1(1)	0	0	1	0	0	2(1)
流産	1	0	0	0	0	0	1
妊娠中絶	0	0	0	0	0	0	0
異所性妊娠	0	0	0	0	0	0	0
双胎	0	0	0	0	0	0	0

DMD, Duchenne muscular dystrophy; DM1, myotonic dystrophy type 1; OTCD, Ornithine transcarbamylase deficiency; FCMD, Fukuyama congenital muscular dystrophy; OI, Osteogenesis Imperfecta; CEB, congenital epidermolysis bullosa; OR, oocyte retrieval; ET, embryo transfer.

表 2a 転座保因者に対する PGD

	ロバート	ロバート	相互転座	相互転座	合計	
	ソン転座	ソン転座	男性保因者	女性保因者		
	男性保因者	女性保因者				
採卵周期数		0	9	34	33	76
症例数		0	5	19	22	46
女性年齢 (歳)		-	39	37	38	39
IVF/ICSI 前のキャンセル周期数		0	0	0	1	1
受精方法						
IVF		0	5	2	7	14
ICSI		0	4	32	22	58
IVF+ICSI		0	0	0	4	4
IVF/ICSI 後のキャンセル周期数		0	0	0	1	1
PGD 周期数		0	9	34	31	74

表 2b 転座保因者に対する PGD

	ロバート ソン転座 男性保因者	ロバート ソン転座 女性保因者	相互転座 男性保因者	相互転座 女性保因者	合計
<u>胚発生</u>					
採卵数 (1回の平均採卵数)	0(0.0)	56(6.2)	268(8.4)	240(7.2)	564(7.4)
受精卵数	0	46	198	186	430
生検胚数	0	45	154	120	319
生検前凍結胚数	0	0	37	13	50
生検成功胚数	0	45	153	120	318
診断可能胚数	0	39	132	106	277
胚移植可能胚数	0	13	28	22	63
胚移植可能胚率	0	33.3	21.2	20.8	22.7
移植胚数	0	7	13	18	38
<u>臨床結果</u>					
胚移植周期数 (% per OR)	0(0.0)	7(77.8)	10(29.4)	14(42.4)	31(40.8)
hCG 陽性	0	1	5	6	12
胎児心拍陽性	0	1	4	5	10
心拍陽性胎児数	0	1	5	5	11
臨床的妊娠率 (% per OR)	0	11.1	11.8	15.2	13.2
臨床的妊娠率 (% per ET)	0	14.3	40.0	35.7	32.3
着床率	0	14.3	38.5	27.8	28.9
分娩	0	1	4	3	8
流産	0	0	1	2	3
妊娠中絶	0	0	0	1	1
異所性妊娠	0	0	0	0	0
双胎	0	0	1	0	1

表3 出生前および出生後診断

	合計	結果		
		正常	異常	不明
出生前診断				
羊水検査	6	5	1	0
絨毛検査	0	0	0	0
臍帯穿刺	0	1	0	0
未施行	4	-	-	-

表4 分娩および出生児

	単胎	双胎	合計
分娩数	8	1	9
分娩方法			
経膈	1	0	1
帝王切開	3	1	4
不明	4	0	4
性別			
男児	2	2	4
女児	2	0	2
不明	4	0	4
体重 (g)	3064	2232	2897

生殖医療の新たな枠組み構築
～非配偶者間人工授精における告知と出自を知る権利に関する研究～

研究分担者 久慈 直昭 東京医科大学 産科婦人科 教授
研究協力者 仙波由加里 桜美林大学加齢発達研究所客員研究員・
スタンフォード大学FSI客員研究員

研究要旨

本研究では、第一に出自を知る権利を認める立法以前に非匿名での提供による治療を実施していたニュージーランドの歴史的な経緯と現状、第二に匿名性廃止以前の情報開示をすすめているオランダの経緯と現状を調査し、我が国においてAID出生者の提供者情報を得る権利を今後どのように扱っていくべきか、また匿名で行われたAIDの出生者に対する情報自主登録制やドナーリンキングを実施する場合の課題について考察した。その結果、ニュージーランドでの経験から、親子関係を確定する法整備が行われていれば、出自を知る権利を認める立法無しでも非匿名性の配偶子提供治療体系を構築出来る可能性が示された。オランダの経験からは、匿名でおこなわれたAIDによる出生者の情報自主登録機関は、登録者のDNA情報を長期にわたって管理したり、当事者を心理面や社会面から継続的にサポートすることが求められるが、そのためには安定かつ継続性のある資金調達が不可欠である。運営資金をいかに長期にわたり安定的に調達できるかどうか、重要な課題であることが明らかになった。

A. 研究の目的

我が国では 1949 年にはじめて提供精子を使った人工授精（AID）で子どもが生まれ、以来、この技術で生まれてきた人が日本国内だけでも 1 万人以上いると言われている。近年、顕微授精技術の向上などに伴って、AID の実施件数は減少傾向にあるが、それでも 2013 年 7 月現在もなお、15 施設が AID の実施施設として日本産科婦人科学会に登録され、また 2011 年の 1 年

間で 3082 周期の AID が実施され、165 件の妊娠が成立、あきらかな流産でない経過不明まで含めると最大 135 人の児が出生している可能性がある¹。

このように多数の AID で生まれた子ども（以下、AID 出生者）が既に存在し、また今なお年 100 人以上のペースで増加しているが、近年、海外でも国内でも、AID 出生者から提供者やその情報を知りたいという要求がでてきている。米国には 2000 年に設立されたドナー・シブリング・レジストリー

(以下、DSR と記す) という米国内外に約4万人の会員(2013年8月末現在)を持つ配偶子提供の当事者(配偶子提供で生まれた子ども、その親、提供者)が登録するNPO組織があるが、そのDSRが2009年10月から2010年1月にかけてAIDで生まれた会員741人について、インターネットを活用して調査を実施しているが、「提供者に連絡をとりたいか」という質問項目に対し、82%がいつか連絡をとりたいと答えていたⁱⁱ。また米国における別のインターネットを利用した調査でも、85人のAID出生者のうち、提供者を特定できる情報を持っている人は6%にすぎず、情報を持たない人のうち、提供者に会い、提供者を特定できる情報を得たい、提供者と関係を築きたいと考えている人があわせて76%もいたⁱⁱⁱ。日本でも、2005年にAID出生者たちがドナー・オフスプリング・グループ(DOG)という組織を設立しており、提供者の情報入手を要求している。彼らの中にはAID出生者に提供者情報を提供できないのなら、AIDの実施を禁止すべきだと主張する者もいる^{iv}。

この要求の大きさは、海外においてAID出生者が提供者情報を求めて訴訟を起こしたケースがあることから明らかである。たとえば、2002年には英国で、ジョアナ・ローズともう一人匿名の原告が、英国ヒトの受精および胚研究認可局(HFEA)に対して提供者情報を求めて裁判を起こした。原告は、AID出生者である自分たちにも欧州人権条約の第8条によって遺伝的な親を追求する権利があり、HFEAがそれを阻害しているのは不当であると訴えた^v。2008年には、カナダのブリティッシュ

ユ・コロンビア州(以下BC州と記す)で、AIDで生まれたオリヴィア・プラテンが、BC州を相手に裁判を起こしている。その主張は、「養子の人たちには、州の養子法で生物学的な親の情報を得られる仕組みが用意されているのに、匿名の精子提供者から生まれた人にはそれが適応されないのは、権利と自由に関するカナダ憲章を侵している。また、AID出生者が生物学的な起源に関する情報を得られるといった法律がないことも、憲章の7が示す個人の生命、自由、安全の保障を侵していることになる」というものであった^{vi}。BC州では、1996年に改正された養子法によって、生物学的な親の名前が記載されている出生登録、もしくはそれに代替する書類を保管することが定められており、養子は19歳になれば、人口動態統計局長にそのコピーを請求し、得ることができる^{vii}。この二つの裁判に共通するのは、AID出生者が属する自治体における方に明文化された権利の主張として、提供者の情報を求めていることであり、結局二つの裁判とも原告の主張は退けられたが^{viii}、これらの動きから匿名でこの治療を行うことの合法性にも疑義が提出されたことは否めない。また結局批准はされなかったものの、オーストラリアのヴィクトリア州では2013年6月に、2008年にできた生殖補助医療法(Assisted Reproductive Treatment Act 2008 Vic)修正法案が提出され、その中で提供配偶子での出生者は生まれた時期に関係なく、提供者の氏名等を含む情報にアクセスできるようにする(つまり匿名で提供したものにも情報開示を強制する)という内容さえも盛り込ま

れたことからわかるように^{ix}、提供者の情報をすることはこの治療で生まれた子ども達の当然の権利であるという認識も広がりつつある。

このように多くの AID 出生者にとって、提供者の情報は様々な理由からどうしても必要であり、またそれはある視点からすれば基本的な人権の主張であるという認識を元に、近年世界的に、第三者の関わる生殖医療での出生者の提供者情報を得る権利を尊重し、提供者を非匿名化する動きが広がりつつある。実際に、スウェーデン、スイス、オーストリア、ノルウェー、オランダ、ニュージーランド、英国、フィンランド、オーストラリアのヴィクトリア州、ニューサウスウェールズ州、西オーストラリア州、南オーストラリア州と米国ワシントン州では、提供配偶子等で出生した者の提供者の非匿名情報を得る権利が法で保障されており、これらの国においては、法律成立以降は（あらかじめ提供時に子どもへの情報開示を提供者に約束させることによって）提供者と AID 出生者双方合意の元に、AID 治療が施行されている。

一方で、これらの立法を行った国を含み、以前に匿名を条件に配偶子を提供した提供者情報を、出生者に開示してもいいのかと言った点について、さまざまな議論がおこっている。匿名で提供された提供者情報開示をめぐることは、出生者の提供者情報を知る権利と提供者のプライバシー権が衝突し、この衝突を穏やかに解決するためには、自主登録制（ボランティア・レジスター制）を導入して、多くの提供者に自己に関する情報を自ら開示・登録してもらうよう働きかけていくしかない。

自主登録制を経て収集された情報をもとに、提供者や異母きょうだいを探す取り組みをドナーリンキングと呼ぶが、世界にはすでに、このドナーリンキングを実践している組織がいくつか存在する。オランダにも FIOM という組織がこれを行っているが、FIOM は現在、世界で唯一、国の支援を受けドナーリンキングを実践している組織である。

そこで本研究では、第一に出自を知る権利を認める立法以前に非匿名での提供による治療を実施していたニュージーランドの歴史的経緯と現状、第二に特に匿名性廃止以前と以降の両方の情報開示を一つの機関が行っているオランダの経緯と現状を調査し、我が国において AID 出生者の提供者情報を得る権利を今後どのように扱っていくべきか、またこれまでの匿名での提供で生まれた AID 出生者に対する情報自主登録制やドナーリンキングを実施する場合の課題について考察した。

B. 方法・結果

1. ニュージーランドにおける告知と出自を知る権利の現状～歴史的背景と現在の問題点～

本調査は 2013 年 10 月に行った、ニュージーランドにおける配偶子提供の歴史的経緯と、現状についての関係者の聞き取り調査を基礎としている。

1) 社会的背景

ニュージーランドは南半球に位置する人口約 400 万の島国である。University of Canterbury の Professor、Ken Daniels は、AID における匿名性の問題に影響するニュー

ジーランドの特色として、第一に人口の13%が血統を非常に重視するマオリ族であること、第二に平等 (equality) を重視する国民性をあげている。たとえば150年前に入植者とマオリ族で取り交わされた条約 (ワイタンギ条約) について、これまでのいきさつではなく、その当時双方がそれぞれに考えていたイメージに出来るだけ沿うよう原点に立ち戻って、できるだけ平等・原則的に解決しようと努力していることなどがあげられるという。

2) 出自を知る権利に関する歴史的経緯

ニュージーランドは、2004年に出自を知る権利を法律 (The Human Assisted Reproductive Technology Act 2004、以下2004年ニュージーランド生殖補助技術法) として確認したが^x、そのはるか以前から実質出自を知る権利を確保するシステムで配偶子提供がおこなわれてきた。1980年代に既に出自を知る権利を認める法律を成立させていたスウェーデン、オーストラリア・ビクトリア州をはじめとして、世界のほとんどの国が出自を知る権利を法律で認めることから非匿名配偶子提供の体系が始まったのに対して、法律成立以前から子どもが提供者に会うことが出来るシステムへの移行が起こったという点で、非常に特殊な国である。今後我が国が非匿名配偶子提供体系への移行を考えると、実務先行、立法はその追認というこの過程は一つの選択肢として非常に興味深い。

Ken Daniels によれば、彼とカウンセラーの Joi Ellis (後出、Fertility Associates) らは告知を勧め、出自を

知る権利を1970年代からすでに確保しようと努力を始め、ニュージーランドでその頃でもすでに主要な不妊治療機関グループであった Fertility Associates 創立者の一人である Dr. Richard Fisher と1978頃に出自を知る権利について話し合いを持った。それまで、多くのこの国の医師たちは1) 提供者が減少するであろうこと、2) (この頃告知をする親が少なかったので) 親もそれを望んでいない、という二つの理由であまり非匿名性のシステムに乗り気ではなかった。しかし出自を知る権利が法律上認められておらず、また前述した数々の困難が存在するため現実には権利確保は難しいと考えられていたこの時代でも、出自を知る権利をカウンセラーだけでなく医師たちもある程度認めていたという。これ以降、徐々に提供者に対して、治療により子どもが生まれたあとで、子どもに提供者自身の情報を開示したり、子どもとの接触を勧めるようにクリニックが話すようになっていったという。その後、1980年代に文化的にも、地理的にも非常に近い関係であるオーストラリア・ビクトリア州において立法によって出自を知る権利が認められた。おそらく、このことも有形・無形に非匿名性への動きを助けたのではないかと推察される。

Fertility Associates の Counsellor Team Leader、Joi Ellis によれば、the Adult Adoption Information Act in 1985 成立が AID で生まれた子どもに提供者の情報を与えるという動きを大きく後押ししたという。この法律では、養子が20歳に至ったときに元々の出生証明書と、生物学的な親の情報