

人类胚胎基因编辑——科学与伦理

曲 彬 张 映 周 琪 李 伟

(中国科学院动物研究所)

摘要: 从 20 世纪 60 年代开始,是干细胞与基因工程等生物科学技术迎来蓬勃发展的时期。试管婴儿、胚胎干细胞、体细胞核移植以及基因编辑等技术的发展不仅给科学发展带来了革命性的突破,也给人们的生活和伦理认知带来了前所未有的冲击。科学的飞速发展使我们不仅拥有了治疗遗传病、肿瘤等重大疾病的武器,更拥有了操纵人类生命的能力,这使得科学和伦理之间产生了激烈的碰撞。近些年来,科学家群体自发举办国际峰会,广泛讨论科学、伦理和监管的问题,为科学界自我监督树立了典范,也为新技术的健康快速发展带来了福音。

关键词: 人类胚胎基因编辑, 伦理, CRISPR/Cas9

中图分类号: N1 B829

文献标识码: A

一、引言

2015 年 4 月 18 日,我国出版的英文学术期刊《蛋白质与细胞》(*Protein*

作者简介: 曲彬,中国科学院动物研究所博士研究生。研究方向为基因编辑技术开发及应用。

张映,中国科学院动物研究所助理研究员。研究方向为非编码 RNA 调控。

周琪,中国科学院院士,中国科学院动物研究所研究员。主要研究方向为干细胞与再生医学。

李伟,中国科学院动物研究所研究员。研究方向为干细胞和基因工程。

通讯作者: 周琪, E-mail: zhouqi@ioz. ac. cn

李伟, E-mail: liwei@ioz. ac. cn

and Cell)在线发表了中山大学副教授黄军就等人的研究成果。在这项研究中,黄军就领导的研究小组利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对人类胚胎中导致 β 型地中海贫血症的基因进行了修饰。这是首次突破性地对人类胚胎进行编辑尝试,论文一经发表,就在全球范围内引起了激烈的争议和讨论。那么,基因编辑究竟如何?我们可以继续利用它吗?

CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)技术的迅猛发展使得“定制婴儿”等问题比以往任何时候都更加令人期待,但对特定人群进行永久性的基因“强化”可能会导致社会不公,也有可能被强制使用,因此对其的争论可以与气候变化相提并论。它所涉及的技术可能会治愈包括抑郁症和艾滋病在内的多种重大疾病,但不正当的使用基因编辑技术也可能会给人类带来一场前所未有的灾难。

历史总是惊人的相似,试管婴儿以及克隆技术都曾经引发严重的伦理冲突,乃至人类对新技术的恐慌。当新技术的发展速度明显超过人们对新技术产生的伦理认知的时候,科学家和大众需要一定的时间来理解和接纳。前人解决类似问题的模式都能给我们很好的启迪,科研人员更应该以崇高的责任感和良知思考如何正确运用手中的新技术。

二、关于科学和伦理争端的案例

1. 试管婴儿

1978年7月25日世界上首个“试管婴儿”路易丝·布朗在英国诞生,被称为人类医学史上的奇迹^[1],罗伯特·爱德华兹教授也因此获得2010年诺贝尔生理学或医学奖。试管婴儿技术的发明与应用给无数不孕不育患者带来了福音,同时也产生了很多技术和伦理难题。首先,试管婴儿技术打乱了传统血缘关系和家庭观念。夫妻中在男方无法获取精子的情况下,需要用精子库中的精子与母体卵子受精,这样导致试管婴儿同时存在遗传学上和法律意义上的两位父亲;同理,“借腹生子”也会使婴儿存在遗传学的母亲和具有生养关系的母亲。那么究竟谁是对孩子在道德上和法律上具有权利和义务的父母?根据我国现有的法律规定,社会学父母对孩子具有相应的权利和义务,遗传学父母对孩子不享有和履行法律上的权利和义务。然而

现实中代孕母亲会产生更多的问题,比如美国实施的“借腹生子”案例中,便有数起代孕母亲舍不得孩子而拒不交还的情况,而当生下的婴儿身体存在缺陷时,当事人则互相推卸责任。其次,如何处理不用的精子、卵子以及移植后剩余的胚胎。有关这个问题争议颇多,有人认为胚胎具有和成人同等的道德地位,不能被他人随意剥夺。另一部分人则认为胚胎跟人体其他组织的细胞一样,只具有生物学上的生命,因此毁掉胚胎不是“杀人”。

关于试管婴儿带来的一系列问题,经过长时间的讨论,不同的国家和地区逐渐开始形成一些规范,我国规定人类辅助生殖技术必须在经过批准并登记的医疗机构中实施;并不是所有人都可以实施试管婴儿,只有正常情况无法怀孕,并且法定结婚夫妇才能进行;供精人工授精的精子来源只能从国家批准的精子库中获得,并且供精者和受精者互相保密,夫妻双方需要签署知情同意书,对供精辅助生殖生育的子女同样负有伦理和法律上的权利和义务;我国法律还规定医疗机构和医务人员不能进行任何形式的代孕技术。

2. 动物克隆和胚胎干细胞技术

1997年2月27日英国《自然》(*Nature*)杂志报道了一项震惊世界的研究成果:英国爱丁堡大学利用克隆技术,即利用分化成熟的乳腺细胞核通过核移植技术转移到另一个去核的卵细胞中,获得了克隆绵羊^[2]。此研究被《科学》(*Science*)杂志评为该年度世界十大科技进步的第一项。有人称这是划时代的突破,但也给人们带来了恐惧和疑虑——人类距离克隆人还有多远?围绕这个问题的争论一直没有停止过,2005年3月8日第59届联合国大会通过投票表决批准了《联合国关于人类克隆宣言》,呼吁成员国禁止一切形式的人类克隆,包括为研究胚胎干细胞(Embryonic Stem Cells, ESCs)而进行的治疗性克隆。虽然宣言获得了通过,但是并没有成为全面禁止人类克隆的国际公约,因此不具有法律约束力,而且不同立场的国家对提案仍存在很大的分歧,中国、英国、比利时、法国、日本等国家投了反对票,反对国表示不会束缚本国科研人员为研究胚胎干细胞而进行的治疗性克隆。

胚胎干细胞的治疗具有巨大的医疗价值,因此在各国如火如荼的展开,但是胚胎干细胞的研究同样面临着伦理的考验,主要集中在胚胎干细胞的来源及体外人类胚胎存活的时间等问题。

1999年美国总统一克林顿宣布解除胚胎干细胞医学研究的禁令,但是规定了胚胎干细胞的来源必须是不孕夫妇治疗中多余胚胎的捐赠或流产死亡胎儿,不允许通过体细胞核移植技术获得人类的胚胎干细胞。德国由于90年代制定《胚胎保护法》禁止以研究目的杀死人类胚胎,一直禁止涉及人类胚胎的应用研究。

1979年,美国卫生、教育及福利部伦理咨询委员会首次提出,研究人员对人类胚胎的实验不能超过14天,这一规则后来逐渐被多国监管机构采纳,因为小于14天的人类胚胎还未分化出神经等结构,尚不具备“人”的特征。我国在2002年由卫生部医学伦理学会起草的《人类胚胎干细胞研究的伦理原则和管理建议》中对相关问题做了详细规定,包括禁止将干细胞研究的胚胎放入任何妇女或动物子宫,禁止使用超过14天的胚胎,禁止利用人配子和动物配子制造嵌合体,禁止利用人的体细胞核与动物线粒体DNA制造嵌合体,禁止一切形式的买卖配子、胚胎和胎儿组织的行为。

三、人类胚胎编辑的科学意义和伦理争议

人们在研究细菌的过程中偶然发现细菌有一种特殊的对抗噬菌体感染机制,也就是我们所熟悉的CRISPR技术。法国微生物学家埃马纽埃尔·卡彭蒂耶和来自加州大学的詹妮弗·杜德纳^[3]合作,在2012年首次证明体外纯化的Cas9蛋白加上20个碱基的导向RNA就可以对基因组DNA进行定向切割。随后在2013年初,张峰和乔治·丘奇^{[4][5]}发表论文显示CRISPR/Cas9能在哺乳动物细胞中高效编辑基因。该技术简便易行,理论上只需要设计一段20个碱基的RNA引导序列,再加上天然存在的Cas9蛋白,就可以定位和修饰任何一段人类的基因组。该技术不仅能方便基因组的定位和编辑,整个基因治疗市场可能也会因此而改写,谁能抢到先机就会占据优势,随后会带来大量的资本融入。于是全世界的实验室在迅速完善和发展CRISPR技术的同时,专利权的争夺也进入了白热化阶段。杜德纳和卡彭蒂耶参与成立了Caribou Biosciences和Intella Therapeutics两家公司,并且从加州大学那里获得了CRISPR专利的独家授权。她们的竞争对手乔治·丘奇和张峰等创立的爱迪达斯医药公司(Editas Medicine)在2016年1月4日向美国证券交易委员会递交招股说明书,准备在纳斯达克

上市。

在 CRISPR 技术发展逐渐成熟的同时,2015 年 3 月《麻省理工技术评论》(*MIT Technology Review*)杂志上发表的一篇名为“定制完美婴儿”的文章^[6]中,作者表达了对于 CRISPR 技术应用于人类胚胎的担忧,一方面由于 CRISPR 系统存在的脱靶效应,可能会在非靶位点的位置产生切割效应;另一方面,CRISPR/Cas9 并不能在胚胎中造成 100% 的切割,而且不同细胞产生不同的切割效应,很难保证在所有细胞中都得到相同的精确修饰。

随后 2015 年 4 月 18 日,中山大学黄军就等^[7]在《蛋白质与细胞》杂志上发表文章,利用 CRISPR/Cas9 技术对人类胚胎中导致 β 型地中海贫血症的致病基因进行了修饰,这是首次对人类自身胚胎进行的突破性基因编辑尝试。随后,广州医学院范勇等人也发表了他们在人胚胎中进行 CCR 等基因编辑的工作。尽管黄军就等人研究使用的是医院人工授精过程中废弃的不能正常发育的人类胚胎,并于实验 48 小时后终止实验,而且获得了中山大学附属第一医院伦理委员会的批准并符合相关法律,但是该论文最初投给《自然》和《科学》杂志时,仍然由于伦理道德问题被拒稿。论文一经发表,立刻引起了生命科学界的激烈讨论和国内外媒体的广泛关注,英国生物学家爱德华·兰菲尔在《自然》杂志上对这一研究进行批评,认为应该暂停此类研究,并表示需要广泛讨论后才能进行下一步研究。哈佛大学医学院干细胞学家乔治·戴利认为,这是国际上首次报道成功使用 CRISPR/Cas9 技术对人类胚胎细胞进行的基因编辑,这一研究无疑具有里程碑意义,但是绝对不要误以为已经可以将这项技术应用于人类疾病治疗。实验结果显示,黄军就的团队使用 86 个废弃胚胎引入 CRISPR/Cas9 系统进行编辑,71 个胚胎存活,最后发现只有 28 个胚胎成功被编辑,成功率大约 30%,此外,文章还检测到了大量的脱靶剪切效应。国际学术界和媒体普遍认为,该研究的意义在于使用 CRISPR/Cas9 系统对人类胚胎基因编辑的首次尝试,试验中的所体现的技术稳定性和安全性的评估也表示目前对人类胚胎开展编辑工作还为时尚早,离真正的临床应用还非常遥远,但是对于是否应该继续开展人类生殖细胞的 CRISPR 基因编辑研究,是否通过法律途径监管此类研究等尚未达成共识。

2015 年 12 月 1 日,在华盛顿召开了为期 3 天的“人类基因编辑国际峰会”,来自世界各地基因编辑领域的顶尖学者共同探讨飞速发展的基因编辑

技术的基础研究变革、潜在应用,以及这项革命性技术带来的科学、伦理和监管问题。在华盛顿会议结束后发表的声明中明确表示,因为生殖细胞的临床应用将会作用在被编辑后代的所有细胞上,该编辑基因会传至其后代并成为人类基因库中的一员。生殖细胞的基因编辑还存在各种技术层面、社会层面以及伦理道德层面的问题,其安全性目前还无法估计,且一旦被编辑的基因进入人类基因库,该影响不可逆,不受地域限制。在目前状况下禁止用于人类生殖的相关细胞系(包括精子、卵和早期胚胎)的基因修饰和编辑,这也是第一次在这样的国际会议上达成的共识。但是,大会鼓励基因编辑技术的基础研究以及在体细胞层面上的临床应用。

然而仅仅过去了三个月,2016年2月1日英国人类受精与胚胎管理管理局(HFEA)宣布,弗朗西斯克里克研究所发育生物学家凯西·尼娅坎和她的团队获得一项“包括对人类胚胎进行基因改造”的新实验室研究许可证。管理局允许尼娅坎对人类胚胎进行为期14天的实验,且该实验只能以研究为目的,研究人员不能将胚胎编辑用于临床,也不能将编辑后的人类胚胎植入女性体内。尼娅坎说她的这项实验是为了找到在人类生育早期起到关键作用的基因,从而更好了解人类生命的最早期阶段,帮助搞清楚为什么有些女性会出现流产。

2016年4月22日,日本生命伦理专门调查委员会宣布,允许日本相关机构在基础研究中“编辑”人类受精卵的基因,但出于安全和伦理方面的考虑,不允许将该技术应用到临床和辅助生殖中。该委员会指出,涉及受精卵基因编辑的基础研究和临床研究的分界线,在于是否将经过基因编辑的受精卵放入子宫。此外,有关“设计”特定容貌和能力的基础研究也不会被允许。受精卵基因编辑的基础研究还必须公布实施情况,保持透明度。

四、科研人员如何应对新技术的变革

近些年来生物技术以前所未有的速度向前发展,不断地挑战着人们的认知和社会伦理规范。科研人员逐渐认识到不仅要在实验室做研究,还应该承担更多的社会责任,来应对新技术可能引起的伦理问题以及如何在科研群体中建立良性的自我约束和监督机制。

1975年的阿西洛玛会议是现代生物技术发展史中以“预警性思考”应

对 DNA 重组技术潜在风险的具有里程碑意义的历史事件。研究发现 DNA 重组技术可能存在潜在的生物危害,以伯格和罗伯特·波洛克为首的科学家呼吁自愿“暂停”重组 DNA 技术的相关研究,并号召全世界科学家和公众广泛参与科学政策的讨论。会议经过激烈的争辩,最终达成共识:大多数的重组 DNA 实验研究应该在采取适当的安全措施下继续进行,那些存在潜在的重大风险的实验应该在现有控制条件下暂停进行;基于实验室安全的考虑,会议将涉及重组 DNA 分子构建和传播的实验描述为极小风险、低风险、中度风险和高风险四个风险等级,并依据这些风险等级提出具体的风险预防措施和安全标准。会后不久,伯格等科学家将会议报告提交给美国国立卫生研究院,经过科学家、制药公司、政府人员以及公众代表多次讨论后,于 1976 年 6 月 23 日正式颁布了《有关重组 DNA 分子研究的准则》。阿西洛玛会议标志着一个科学家和公众参与科学政策讨论的新时代的到来,对当代生物技术研究的规制决策和诸多理论与现实问题的探讨具有重要的参照价值。

如今,基因编辑技术又走到了一个新的十字路口。2015 年 12 月 1 日的华盛顿人类基因编辑峰会同样是一次具有划时代意义的事件。CRISPR 技术的发展速度已经远远超过的人们的适应能力和伦理的认知范围。当人们还在担心基因编辑技术是否可以定制“完美婴儿”的时候,黄军就和范勇等人报道了人类胚胎编辑的研究。CRISPR 技术的发现者之一、法国微生物学家埃马纽埃尔·卡彭蒂耶感叹“发现来的有点突然”,她也没有预料到这项技术会引起如此巨大的争议。

詹妮弗·杜德纳提出监管人类基因编辑的 5 个步骤,其中第一步就是采取用于测量基因编辑技术效率和脱靶效应的标准,也就是首先要解决基因编辑技术的安全性问题。声明中提到,一旦将(基因)修改引入了人类种群,遗传的变化将很难被消除,对特定人群进行永久性的基因“强化”,可能会导致社会不公。而此次峰会开始的当天,张锋在《科学》杂志发文称^[8],他们通过调整 CRISPR/Cas9 蛋白成功降低了脱靶效应,张锋和同事将 Sp-Cas9 酶突变了 3 个氨基酸,从而将基因编辑中的脱靶效应降低到了几乎无法检测的水平,这意味着基因编辑技术的安全问题将会越来越有保障。

在会议过程中,科学家们还探讨了基因编辑技术用于“强化人类”的可能性,是否能够把人类改造得对疾病更具抵御能力,或者提高人类大脑的认

知能力?与会科学家认为,人们对基因在人类认知水平和其他许多特征中的作用仍然知之甚少,此时对该技术的使用更需谨慎。正如英国皇家学会会长保罗·纳斯所表示的那样,基因编辑技术对改善人类健康和福祉提供了伟大的机会,但同时也带来了明显的道德和社会问题。“结论是,怀有敬畏之心,在我们对人类基因库做出任何永久性改变之前,我们应该极为谨慎地行事。”麻省理工博德研究所的埃里克·兰德这样说。但是科学家并没有呼吁完全禁止基础研究层面上对人类胚胎和生殖细胞进行基因编辑。在声明中指出,基因编辑技术的基础研究和临床前期研究不应被暂停或终止,而是应在适当的法律和道德监管监督下继续开展。事实上,这些具有风险性的技术,如基因编辑技术,进入市场前仍需要相关部门反复斟酌,如何更好地管控它们。如果法律过于松懈,那么整个市场会变得混乱不堪,不良事件频发,最终会扼杀该技术的整个市场,而如果法律过于严格,对于科学的发展和创业公司则十分不利,因为这会扼杀他们的创新能力。此次就CRISPR/Cas9革命性技术召开的国际峰会有望成为制订新规范的开始,让我们在敬畏生命的同时,也能够最大化的享受新技术带来的福祉。

为了应对国内外基因编辑技术的飞速发展,推动我国基因编辑技术的研发及其在生命科学基础研究、农业畜牧业育种以及基因治疗等医学领域的应用,防范基因编辑研究可能带来的生物安全风险和伦理争议,推动我国在基因编辑技术应用和监管方面的政策规范制定,提升我国在基因编辑相关科学前沿、重大应用及下游产业化等领域的国际竞争力,香山科学会议于2016年6月7—8日,在北京召开了以“基因编辑技术的研究与应用”为主题的学术研讨会,围绕:(1)基因编辑技术研发;(2)基因编辑在胚胎和生殖细胞中的应用;(3)基因编辑在模式生物中的应用;(4)基因编辑在医学领域的应用等中心议题进行了深入讨论。

虽然我国在基因编辑研究领域已经取得的很多成果,但是跟美国和欧洲等发达国家相比仍有较大差距,尤其是核心技术专利方面的差距,未来可能会限制我国在基因编辑研究方面的转化应用。国家需要在政策引导和科技布局方面对基因编辑研究进行大力支持,充分发挥基因编辑研究在国家安全、人口健康和生物产业升级中的重要作用。这些支持应该包括:

1. 对基因编辑研究领域进行重点支持,包括支持基因编辑技术的原始创新和系统优化,旨在建立一批具有自主知识产权的基因编辑技术体系,促

进基因编辑的下游应用;支持基因编辑技术在重大疾病治疗中的研究和应用,旨在开发一些重大遗传性疾病(如地中海贫血、镰刀性贫血症等)、重大感染性疾病(如艾滋病、乙型肝炎等)的基因治疗新技术,促进我国健康产业和生物产业的发展等。

2. 加强法律、法规和伦理指导原则的建设,保障基因编辑研究和应用健康有序开展。基因编辑技术的滥用可能引起巨大的伦理争议,影响国家形象、社会稳定和行业发展。建议通过制定相应的法律、条例或伦理指导原则来明确我国基因编辑技术的适用范围和禁止使用对象;对于没有伦理争议且有重大医学应用价值的研究(如体细胞和成体干细胞基因编辑等),要支持其临床前研究和临床实验的开展;对于可能带来巨大伦理和社会问题的基因编辑工作(如改变人类胚胎和生殖细胞基因组序列等),应设定严格的研究边界,禁止临床实验和应用。

五、结论与展望

基于现有的技术水平和伦理认知,应该严格禁止人类生殖系基因编辑在临床上的应用,同时鼓励基因编辑的基础研究和在成体细胞层面的基因治疗。对我国来说,更应该加强基因编辑技术本身的研究,力争做到源头技术的创新。同时我国同样迫切需要科技部和卫生部等相关部门在基因编辑和基因治疗领域明确管理职责,尽快制定基因编辑研究的伦理指导原则,进一步促进我国基因编辑研究的健康快速发展。

参考文献

- [1] Steptoe, P. and R. Edwards, Successful birth after IVF. *Lancet*, 1978, 312: 366.
- [2] Wilmut, I., AE Schnieke, J McWhir, AJ Kind, KH Campbell. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Cloning & Stem Cells*, 1997, 9(1): 3-7.
- [3] M Jinek, K Chylinski, I Fonfara, M Hauer, JA Doudna. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 2012, 337 (6096): 816-21.
- [4] Cong, L., Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F.. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems.

Science, 2013, Feb 15; 339(6121): 819—23.

- [5] Kevin M. Esvelt, Prashant Mali, Jonathan L. Braff, Mark Moosburner, Stephanie J. Yaung, George M. Church. Orthogonal Cas9 proteins for RNA-guided gene regulation and editing. *Nature Methods*, 2013, 10(11): 1116—1121.
- [6] 梁普平, 黄军就. 推开人类胚胎基因研究的神秘大门. *生命科学*, 2016, (04): 2—7.
- [7] P Liang, Y Xu, X Zhang, C Ding, R Huang. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein & Cell*, 2015, 6(5): 363—372.
- [8] IM Slaymaker, L Gao, B Zetche, DA Scott, WX Yan. Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity. *Science*, 2016, 351(6268): 84—88.

Human Embryo Gene Editing—Science and Ethics

QU Bin ZHNAG Ying ZHOU Qi LI Wei

(Institute of Zoology, CAS)

Abstract: The development of biotechnology is very rapid in the past half-century. Biotechnology, including test-tube baby, embryonic stem cells, somatic cell nuclear transfer, and gene editing, led to a revolutionary breakthrough of science as well as the unprecedented impact on people's life and ethical cognition. The rapid development of science provides us not only the weapon against genetic diseases, cancers and so on, but also the ability to manipulate human life, which makes the fierce collision between science and ethics. In recent years, scientists have convened international summit spontaneously to discuss the science, ethics and regulation of gene editing technology, which largely promotes the self-supervision among scientists and is helpful to the healthy development of the new technology.

Key words: Human embryo gene editing, Ethics, CRISPR/Cas9

(责任编辑 肖利)