

Per Olof Janson, professor i obstetrik och gynekologi, avdelningen för obstetrik och gynekologi, institutionen för kvinnors och barns hälsa, Sahlgrenska akademien; överläkare, kvinnokliniken, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg (per-olof.janson@obgyn.gu.se)

Barbro Fridén, med dr, verksamhetschef, kvinnokliniken, Varbergs sjukhus; medicinsk redaktör, Läkartidningen

»Du sköna nya värld«

Mänskliga embryon genom kloning: Vad är möjligt och vad är önskvärt?

II De flesta människor kom i kontakt med begreppet kloning i samband med nyheten om fåret Dolly. Kloningen av ett däggdjur har satt fantasin i rörelse och väckt beundran för den vetenskapliga bedriften men också skapat oro för att gränserna tänjts för människans kontroll av reproduktionen och för att denna kontroll teoretiskt kan utsträckas till människan själv. Den massmediala haussen kring kloningen av Dolly och hennes efterföljare inom däggdjursvärlden var dock långt ifrån början av denna utveckling. Sanningen är den att människan har begagnat sig av kloning under tusentals år inom jordbruk och avel. Asexuell reproduktion utnyttjas vid till exempel förökning av många av våra vanligast använda växter.

Den här artikeln vill utan att vara överdrivet polemisk åt det ena eller andra hållet sätta kloningen i mänskligt perspektiv och ge en uppdatering av vad vi vet idag om tekniken och dess eventuella tillämpningsområden. Vi hoppas att de fakta som presenteras skall ge upphov till reflektioner kring vad som är möjligt och önskvärt.

Embryodelning och kärnöverföring

Kloning innefattar två principiellt skilda begrepp, nämligen embryodelning och kärnöverföring. Embryodelning förekommer helt naturligt vid uppkomst av monozygota tvillingar, naturens egen kloning, det vill säga när det tidiga, omnipotenta embryot delas i två eller flera oberoende, men kompetenta, delar som sedan utvecklas till individer med identisk genuppsättning och därmed utgör en klon. Genom embryodelning kan endast ett begränsat antal individer skapas, och metoden kan inte ge upphov till en klon till en redan existerande individ. Artificiell embryodelning har utförts framgångsrikt med flera arter, även ryggradsdjur inkluderande får [1], ko [2], mus [3] och primat [4]. Försök har gjorts på människa även om dessa inte har lett till implantation utan endast till delning och utveckling av viabla embryon. Drivkraften för artificiell embryodelning på ryggradsdjur har i första hand varit ekonomisk, genom att skapa en klon individer med önskvärda egenskaper för att kunna använda dessa i husdjurs-avel.

Reproduktiv kloning i form av kärnöverföring innebär att kärninnehållet, det vill säga större delen av det genetiska materialet från en kroppscell från en individ, överförs till ett »tomt« äggskal från en annan individ. Man byter i processen mitokondrie-DNA, vilket gör att en klonad individ aldrig blir

Sammanfattat



Reproduktiv kloning med somatisk kärnöverföring, som visat sig möjlig hos flera djurslag, kanske inte är tekniskt möjlig hos människa.

Terapeutisk kloning har ännu inte fullt ut tillämpats i något djurslag, men den snabba utvecklingen av stamcellsforskningen, speciellt kring embryonala stamceller, pekar mot en framtida möjlighet.

Även om det finns enstaka undantag förefaller världssamfundet vara starkt emot reproduktiv kloning av människa, med i många länder lagfästa förbud, för närvarande därför att metoden är förenad med stora risker men på sikt också av sociala, filosofiska och etiska skäl.

Beträffande terapeutisk kloning synes såväl forskarsamhället som samhället i stort inte se några etiska hinder, under förutsättning att tekniken kan utvecklas på ett adekvat vetenskapligt underlag och på ett för de presumtiva patienterna säkert sätt.

en exakt genetisk kopia av den individ från vilken kärninnehållet tas.

Principiellt skiljer sig kärnöverföring från embryodelning, eftersom det med den förstnämnda metoden är möjligt att skapa en klon till en redan existerande individ. Här finns också möjlighet att skapa ett mycket större antal klonade individer än vid embryodelning.

Kloning genom tiderna

Ursprunget till de första kloningsförsöken var teorier framlagda i slutet på 1800-talet som först på 1910-talet omsattes i praktiska försök av Hans Spemann 1914. Han lyckades dela ett 16-celligt grodembryo genom att knyta av en cell från de övriga med hjälp av en tunn tråd. Han fann att både de kvarvarande cellerna och den avsnörda delen hade hela den gene-

II Fakta

Kloningens tidtabell

1914	Hans Spemann gör den första embryodelningen på groda.
1932	Aldous Huxley publicerar »Du sköna nya värld«.
1938	Spemann föreslår teoretiskt ett försök att överföra en cellkärna från en adult kroppscell till en »tom« cellkärna.
1952	Robert Briggs och Thomas King rapporterar framgångsrik kärnöverföring från embryonala celler till enukleerade äggceller på groda.
1962	John Gurdon rapporterar framgångsrik kloning av grodor med cellkärnor från fullt differentierade tarmepitelceller.
1970-talet	Kloningsperspektivet dyker upp i litteraturen: David Rorvik: »In his image: The cloning of a man« (1978); Ira Levin: »Pojkarna från Brasilien« (1976); Fay Weldon: »The cloning of Joanna May« (1989).
1986	Steen Willadsen klonar får genom kärnöverföring från embryonala celler.
1991	Intracytoplasmatisk spermieinjektion (ICSI) och andra typer av mikromanipulationer av humana gameter i fertiliserande syfte bereder vägen för embryobiopsier och preimplantatorisk genetisk diagnostik hos människa.
1995	Ian Wilmut och Keith Campbell klonar två får, Megan och Morag, med kärnor från differentierade embryonala celler.
1997	Wilmut och medarbetare på Roslininstitutet i Skottland rapporterar födelsen av Dolly, världens första får som klonats med donatorkärna från adulta celler.
1997	Polly föds på Roslininstitutet. Hon är ett får som klonats med en cellkärna från en fibroblast med en insererad gen för human faktor IX.
1999	Donald Wolf och medarbetare rapporterar framgångsrik kloning av apa genom överföring av embryonala cellkärnor.
1998–2003	Framgångsrik kloning av möss, kor, getter, grisar och hästdjur rapporteras.

tiska informationen intakt och drog slutsatsen att differentieringen till trots behöll varje cell all information. Spemann föreslog att det ideala försöket vore att flytta en cellkärna från en adult kroppscell till en »tom« äggcell och publicerade denna teoretiska princip 1938 [5]. Först efter andra världskriget, 1952, fortsatte arbetet med kärnöverföring i ett klassiskt försök utfört på groda [6]. De två forskarna Robert Briggs och Thomas King lyckades injicera kärnan från grodembryon till äggceller som enukleerats (cellkärnan med det genetiska materialet hade avlägsnats). En majoritet av de injicerade äggen kunde sedan utvecklas till embryon och grodyngel. Briggs och King gick ambitiöst vidare och använde somatiska celler från alltmer avancerade embryon, vilket också ledde till utveckling av friska grodyngel. Dessa försök publicerades som en hel serie artiklar fram till 1960.

Under 1970-talet utfördes intressanta experiment med kärnöverföring av John Gurdots grupp i Oxford. Kärnöverföring från odifferentierade celler, differentierade epitelceller och tarmceller samt specialiserade hudceller gav upphov till fertila, vuxna grodor [7]. Massmedier publicerade bilden av 30 små albinogrodor från ett kloningsförsök med

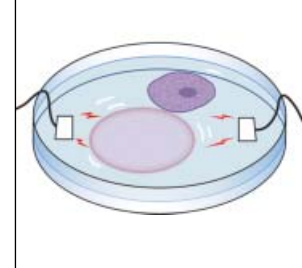
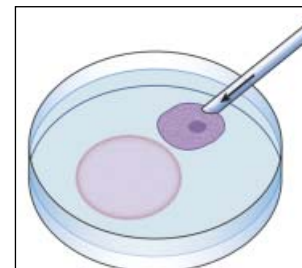
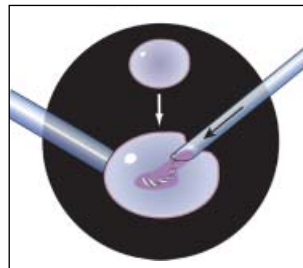
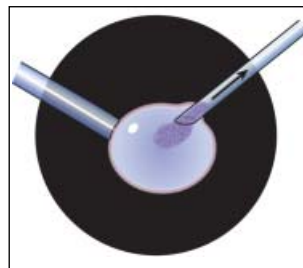
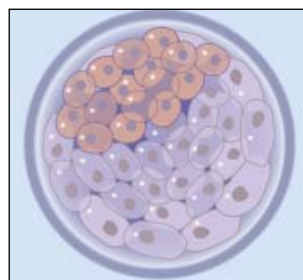


ILLUSTRATION: URBAN FRANK

Så går kloning till: Ett obefruktat, donerat ägg erhålls från en kvinna, och cellkärnan med det genetiska materialet avlägsnas, s k enukleering (uppe t v). DNA från den somatiska cellens kärna injiceras i den tomma äggcellen. Ägget innehåller nu DNA från den somatiska donatorcellen samt kvarvarande s k mitokondrie-DNA från äggcellens cytoplasma (nere t v). En alternativ metod (bilden t h) är att fusera hela den somatiska cellen med den tömda äggcellen genom att ge en elektrisk stöt. Denna elstöt omprogrammerar äggcellen till att bete sig som ett differentierat embryo med donatorcellens arvs massa.



Cellerna delar sig och bildar en s k blastocyst (eller ett preimplantationsembryo) med ett tusental celler (t v). Vid reproduktiv kloning överförs blastocysten till en surrogatmamma eller till mamman om såväl äggcellen som den somatiska cellkärnan kommer från den kvinna som önskar barnet (t h). Förekomsten av mitokondrie-DNA och omgivningspåverkan gör att barnet inte blir en exakt kopia av donatorn.

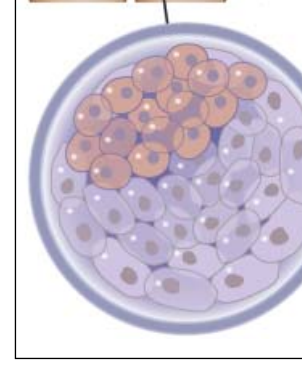


ILLUSTRATION: URBAN FRANK

genetiskt material från en albinoidindivid till ägg av en vildtyp, och forskargruppen fick stor uppmärksamhet. Fortfarande hade dock ingen lyckats använda en cellkärna från en vuxen däggdjursindivid för att skapa en vuxen klon.

Först i slutet av 1990-talet lyckades Ian Wilmut på Roslininstitutet i Skottland överföra en adult färcellskärna, från mammarrävnad från en sexårig tacka, till en enukleerad äggcell och skapa ett embryo som sedan utvecklades till det världsberömda fåret Dolly [10]. Namnet fick hon efter den kända, högbarmade country and western-sångerskan Dolly Parton, eftersom Dolly klonats med en cellkärna från en mammarcell. Dolly var den enda överlevande efter 277 kärn-

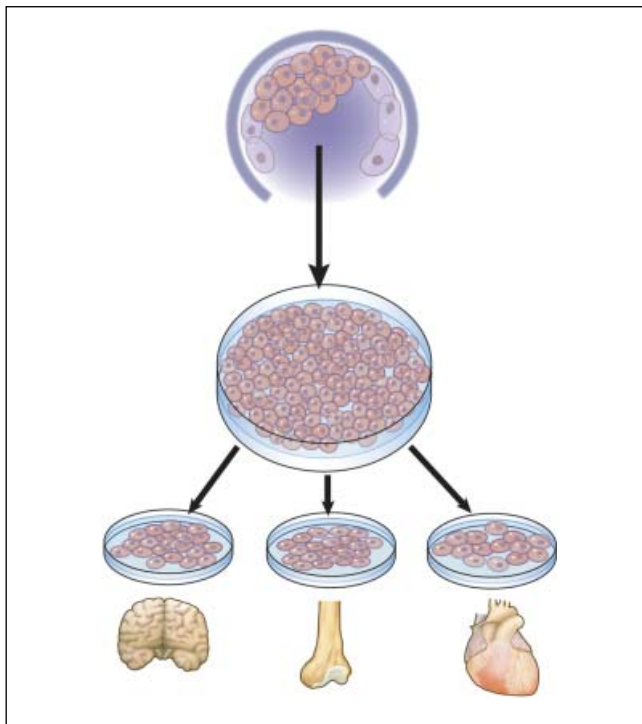


ILLUSTRATION: URBAN FRANK

Terapeutisk kloning: Stamceller skördas från blastocystens inre cellmassa. Resterande celler destrueras. Stamcellerna sås ut i en petriskål med speciellt medium och bringas att dela sig, för att senare differentieras till olika vävnadsceller, till exempel nervceller, benceller eller hjärtceller.

överföringar, och det ger därmed experimentet en mycket låg utfallsfrekvens [8]. Dock har man oförtruet gått vidare, och adult kärnöverföring har nu lett till födsel av levande avkomma i flera arter, som ko [9], get [10], gris [11], mus [12] och hästdjur [13]. Som bäst har man lyckats i cirka 3 procent av kärnöverföringarna. Primater har ännu så länge kunnat klonas endast genom kärnöverföring av embryonala celler [14].

Wilmot och medarbetare har gått vidare och klonat får med en insererad human gen för faktor IX [15]. Detta får föddes samma år som Dolly och lever fortfarande, medan Dolly fick avlivas på grund av multipla sjukdomar under vintern 2003.

I december 2002 hävdade den kommersiella/religiösa gruppen Clonaid att man lyckats klonat människa och att ett friskt flickebarn med namnet Eve fötts [16]. Clonaid har inte kunnat följa upp med bevis på att Eve verkligen existerar eller att hon är en klon till den kvinna som fött henne.

Reproduktiv kloning

Efter det att fåret Dolly föddes 1997 har kloning med levande avkomma rapporterats för ett flertal laboratoriearter, och man har härigenom fått erfara att det finns ett stort antal risker med kloningsproceduren: hög frekvens av missfall och intrauterin fosterdöd; utvecklingsstörningar under graviditet och neonatalperiod; »large offspring syndrome« (andnings- och cirkulationsstörningar, hjärn- och njurmissbildningar och immundefekter hos nyfödda som kan leda till tidig död) [17]. I detta perspektiv kan det synas absurt att över huvud taget annonsera en avsikt att försöka framställa barn genom kloning, men det har som ovan nämnts faktiskt gjorts på flera håll av bland annat en religiös sekt i USA [16], ett bioteknikföretag [16] och en italiensk IVF-läkare i samarbete med en amerikansk reproduktionsfysiolog.

Forskarna Rudolf Jaenisch och Ian Wilmut, den sistnämnda en av männen bakom Dolly, avrådde bestämt från human

II Fakta

Human reproduktiv kloning – för och emot

För

Human reproduktiv kloning kan vara en av flera metoder att behandla ofrivillig barnlöshet. Hos par där den ena parten saknar fungerande gameter eller är bärare av allvarlig genetisk sjukdom kan kloning vara ett alternativ till ägg- och spermiedonation eller adoption. För vissa par kan reproduktiv kloning vara ett tänkbart sätt att ersätta en förlorad graviditet eller ett förlorat barn.

Emot

Risker: Human reproduktiv kloning torde, att döma av erfarenheter från djurexperiment, vara förenad med hög missfallsrisk, risk för störd utveckling före och efter födelsen, risk för lidande och förkortad livslängd på grund av immundefekter, diabetes och missbildningar i flera organsystem.

Störning av biologisk mångfald: Genom asexuell fortplantning uteblir den genetiska variationen, vilket motverkar den normala evolutionsprocessen. Av mera omedelbar vikt är att den asexuella förökningen kringgår fertiliseringsprocessens naturliga genetiska kontrollmekanism.

Avsaknad av behov: Indikationerna för human reproduktiv kloning är alltför svaga och torde snarare botten i tillfredsställelse av egna, egoistiska behov än intresset för barnets bästa.

Oacceptabel människosyn: Att klonat en människa innebär ett avsteg från en humanistisk människosyn, där varje individ har ett värde i sig, och närmar sig en mekanistisk människosyn där en människa kan liknas vid en sinnrik apparat, där genuppsättningen kan styras. Human reproduktiv kloning skulle kunna tillfredsställa mera extrema önskemål från personer som fruktar döden, strävar efter evigt liv eller för sin egen eller samhällets skull vill reproducera individer med exceptionell begåvning, skönhet eller andra fysiska egenskaper.

Autonomi och individualitet: Att frivilligt eller ofrivilligt bli jämförd med sin »upphovsperson« kan menligt påverka den klonade individens utveckling till självständighet och hans eller hennes rättmätiga uppfattning om sig själv som fri och unik.

reproduktiv kloning i nuläget i en artikel 2001 [18] där de ovan nämnda riskerna framhävdes. I artikeln berördes också ett hittills olöst problem kring den mycket höga missfallsfrekvensen vid kloning av djur, nämligen störningar i så kallad genomisk reprogrammering, en process som gör spermien och äggets genom kompetenta att uttrycka embryots gener. Denna reprogrammering, som normalt under spermatogenesen och oogenesen tar månader respektive år, måste vid kloning ske i den somatiska donatorcellkärnan på några minuter eller högst några timmar efter det att kärnöverföring skett och delning av det aktiverade ägget startar. Författarna pekar också på en synnerligen obehaglig möjlighet av en partiell reprogrammeringsdefekt som kan leda till långsiktigt störd viabilitet hos avkomman. Ett forskarlag kring Rudolf Jaenisch vid Massachusetts Institute of Technology har analyserat muterade gener hos klonade möss och funnit en överrepresentation av mutationer [19]. Jaenisch säger i rapporten, som publicerades i Proceedings of the National Academy of Sciences: »Cloned humans should have similar problems and most if not all would be expected to be abnormal.«

I år publicerades ytterligare en rapport som kan betyda ett avsevärt hinder för human kloning eller gör den omöjlig [20]. Dr Gerard Schatten i Pittsburgh observerade ett stort antal misslyckanden att åstadkomma somatisk kärnöverföring hos

rhesusapa. Orsaken visade sig vara att kloningsproceduren berövade cellkärnan två proteiner associerade med cellspindel, Nu MA och HSET, som är nödvändiga för celldelningen. Hos just rhesusapan, i motsats till hos många andra arter, är dessa proteiner samlade runt kromosomerna i obefruktade ägg och försvinner i det första steget av kärnöverföringsprocessen. Hos andra andra arter är spindelproteinerna mera utspridda i ägget, och i samband med kärnöverföring kvarstår en tillräcklig mängd av proteinerna för att celldelningar skall kunna ske. Opublicerade data från forskargruppen i Pittsburgh antyder att samma svårigheter som hos rhesusapa också torde föreligga vid försök med kloning av humana ägg. Även om problemet kanske går att lösa återstår mycken forskning innan man kan göra somatisk kärnöverföring hos människa, även i det mera etiskt acceptabla syftet att åstadkomma så kallad terapeutisk kloning av stamceller. Alldeles oavsett vad man anser om indikationerna för, och etiken bakom, human reproduktiv kloning måste man konstatera att riskerna för närvarande sannolikt är stora och outredda, och att det för tillfället är ovisst om proceduren över huvud taget är möjlig.

Terapeutisk kloning

Möjligheten att framställa embryonala stamceller genom somatisk kärnöverföring för specifik terapi till den person som donerat cellkärnan har tagits emot med entusiasm av forskarsamhället och presumtiva patienter. Möjliga terapiområden skulle kunna vara regeneration av nervceller och hjärtmuskelceller, vilket i sin tur kan förbättra Parkinsons sjukdom, Alzheimers sjukdom och hjärtsjukdom. Problemet med reprogrammering kvarstår att lösa vid denna typ av kloning, och det känns angeläget med en intensiv forskningsinsats som inte behöver vara associerad med de reproduktiva kloningsaktiviteterna.

Samhällets inställning till kloning

På internationell nivå har man i flera instanser avrått från reproduktiv kloning [21]. På nationell nivå har många länder en lagstiftning som förbjuder reproduktiv kloning, till exempel Frankrike, Tyskland, Japan, Peru, Spanien, Schweiz, Storbritannien och de nordiska länderna.

Medan konsensus har nåtts på politisk nivå angående det olämpliga i reproduktiv kloning har uppfattningarna om terapeutisk kloning varierat. Vissa hävdar att tekniken borde bli tillåten enligt lag, eftersom den syftar till något gott och andra terapimöjligheter är begränsade eller obefintliga. Man menar vidare att ägg som blivit över vid IVF-behandling borde kunna doneras frivilligt. Andra hävdar att användning av såväl klonade som överblivna embryon är oacceptabel, eftersom den betyder destruktion av ett mänskligt liv [22].

I Sverige uttryckte Vetenskapsrådet i sin utredning om etiska frågor kring stamcellsforskning en positiv attityd till terapeutisk kloning och att kärnöverföring i terapeutiskt syfte torde vara etiskt godtagbar, även om den i det nuvarande kunskapsläget inte är tillåten i lag. I den statliga utredningen »Rättslig reglering av stamcellsforskning« [23] sägs att somatisk kärnöverföring inte bör förbjudas men skall »vara underkastad begränsningar motsvarande dem som gäller vid forskning på befruktade ägg«, där en gränsdragning bör »ske från fall till fall inom ramen för den forskningsetiska prövningen«. Vidare säger utredningen: »Någon detaljreglering beträffande forskning som bygger på somatisk kärnöverföring bör inte införas. Det forskningsetiska normsystem som är under införande är mer lämpat för den närmare kontroll som krävs.«

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

1. Willadsen SM, Polge C. Attempts to produce monozygotic quadruplets in cattle by blastomere separation. *Vet Rec* 1981;108:211-3.
2. Willadsen SM. Cloning of sheep and cow embryos. *Genome* 1989; 31:956-62.
3. Agrawal KP, Polge C. A protocol used for splitting mouse embryos into two halves. *Indian J Exp Biol* 1989;27:607-10.
4. Chan AW, Dominko T, Luetjens CM, Neuber E, Martinovich C, Hewitson L, et al. Clonal propagation of primate offspring by embryo splitting. *Science* 2000;14;287:317-9.
5. Spemann H. Embryonic development and induction. New Haven, Conn: Yale University Press; 1938.
6. Briggs R, King TJ. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1952; 38:455-63.
7. Gurdon JB. Methods for nuclear transplantation in amphibia. *Methods Cell Biol* 1977;16:125-39.
8. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-3.
9. Wells DN, Misica PM, Tervit HR. Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biol Reprod* 1999;60:996-1005.
10. Baguisi A, Behboodi E, Melican DT, Pollock JS, Destrempes MM, Cammuso C, et al. Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nat Biotechnol* 1999;17:456-61.
11. Polejaeva IA, Che SH, Vaught TD, Page RL, Mullin J, Bal S. Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature* 2000;407:86-90.
12. Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, Johnson KR, Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 1998;23:369-74.
13. Holden C. Genetics. First cloned mule races to finish line. *Science* 2003;300:1354.
14. Wolf DP, Meng L, Ouhibi N, Zelinski-Wooten M. Nuclear transfer in the rhesus monkey: practical and basic implications. *Biol Reprod* 1999;60:199-204.
15. Schnieke AE, Kind AJ, Ritchie WA, Mycock K, Scott AR, Ritchie M, et al. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* 1997;278:2130-3.
16. CNN: <http://www.cnn.com/2002/HEALTH/12/27/human.cloning>
17. Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev Reprod* 1998;3:155-63.
18. Jaenisch R, Wilmut I. Developmental biology. Don't clone humans! *Science* 2001;291:2552.
19. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, Friedman A, Hochedlinger K, Yanagimachi R, et al. Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:12889-94.
20. Vogel G. Nuclear transfer. Misguided chromosomes foil primate cloning. *Science* 2003;300:225-7.
21. Adorno R. Biomedicine and international human rights law: in search of a global consensus. *Bulletin of the WHO* 2002;80:959-63.
22. President's Council on Bioethics. Human cloning and human dignity: An ethical inquiry: <http://www.bioethics.gov/reports/cloningreport/index.html>
23. Socialdepartementet. Rättslig reglering av stamcellsforskning. SOU 2002:119.



= artikeln är referentgranskad