

総合科学技術会議  
第65回生命倫理専門調査会議事概要（案）

日時：平成24年4月26日（木）14：00～16：07

場所：中央合同庁舎第4号館2階 共用第3特別会議室

出席者：（総合科学技術会議議員）

相澤益男、奥村直樹、青木玲子、平野俊夫

（専門委員）

青野由利、阿久津英憲、位田隆一、加藤和人、高木美也子、  
田辺功、玉井真理子、田村京子、樋口範雄、町野朔、  
水野紀子、森崎隆幸、吉村泰典

（招聘研究者）

野瀬俊明 慶應義塾大学先導研究センター特任教授

河野友宏 東京農業大学応用生物化学部教授

事務局：吉川晃審議官、山本順二参事官

議 事：1. 開 会

2. 議 題

（1）前回議事録の確認

（2）生殖細胞作成研究の動向と生命倫理上の課題について専門家  
からヒアリング

・霊長類における「多能性幹細胞からの配偶子形成」研究の展望  
野瀬俊明 慶應義塾大学先導研究センター特任教授

・精子・卵子に特異的な遺伝子修飾の必要性と最近の研究動向  
河野友宏 東京農業大学応用生物化学部バイオサイエンス科教授

3. 閉 会

（配布資料）

資料1 第64回生命倫理専門調査会議事概要（案）

資料2 霊長類における「多能性幹細胞からの配偶子形成」研究の展望

資料3 精子・卵子に特異的な遺伝子修飾の必要性と最近の研究動向

議事概要：

(相澤会長) それでは、定刻になりましたので、これから第65回の生命倫理専門調査会を開催させていただきます。大変お忙しいところをご出席いただきまして、まことにありがとうございます。

それでは、まず事務局から配布資料の確認をお願いいたします。

(山本参事官) それでは、お手元にお配りしています資料をご確認ください。

きょうは、議事次第、それから座席表のほかに、資料としては3つございますが、一番目の資料1が前回の議事概要(案)でございます。

それから、資料2が本日ヒアリングをお願いしています慶應義塾大学野瀬先生の資料でございます。

それから、資料3が同じく東京農業大学の河野先生からの資料。

資料としては、この3種類でございますが、過不足等ございましたら、お知らせください。

(相澤会長) よろしいでしょうか。

それでは、議事の最初に、まず前回の生命倫理専門調査会の議事録を確認させていただきます。

ご意見、あらかじめ伺っておりますのでよろしいかと思いますが、ご承認いただけますでしょうか。

ありがとうございました。

本日は、お二人の先生にヒアリングをお願いしております。前回の専門委員会で議論していただきましたけれども、まだ現在の研究の進捗状況、それから法律的な観点からこれをどうとらえるかというようなところで専門の方々からご意見をいただくということが必要かと思っております。本日は、その観点からお二人の専門家の方に来ていただいております。

まず初めに、慶應義塾大学先端研究センター野瀬俊明特任教授をお願いしております。

霊長類におけるES細胞等からの生殖細胞作成の研究の展望についてでございます。

野瀬先生、よろしく願いいたします。

(野瀬教授) 野瀬です。このマイクロホンを使いますので、座らせてお話をさせていただきます。

それでは、モニター画面の方では文字が小さいかもしれませんので、その場合にはお手元の資料をごらんになってください。

この委員会の趣旨は、おおむねヒトの生殖医療を対象にしていると思われましたので、タイトルには「霊長類における」という冠をつけさせていただきました。

要は、ESやiPSという培養細胞であり、かつ多能性の幹細胞から、子孫を残

せるような精子・卵子という配偶子を作るための研究というのが行われている訳ですが、その現状と今後はどういう方向に問題点があるかというところをお話しさせていただきます。

ヒトにおいて、このような研究がどのような意義があるのかということについてですけれども、2008年、私と位田先生が参加者として参りましたHinxton Group Meetingというのがありました。ここで共同声明が出されており、主な点として、3つ、その研究の意義が述べられています。

1つは、生殖細胞は子孫を残すために、減数分裂という特異的な細胞分裂の仕方をします。この際、ゲノムの情報をきれいに半分に分ける局面で異常が起こる、それは染色体の不分離と呼んだりしますが、そのような染色体数の異常が起こる。これがどのようなメカニズムで起こっているのかわかっていません。相反して、この異常に起因する患者さん、Down症であったり、Turner症の患者さんというのは、おおよそ1,000人に1人いらっしゃいます。これは、数ある遺伝病の中でも、とても頻度の高い疾病になります。

このような問題に対して学術的な機構の解明をヒトの細胞を使って実施することができるだろうという利点が1つ挙げられます。

もう一つは、実際に薬であったり、有害な化学物質の作用というものをヒト、もしくはヒト個人の個体差に合わせて検定する、そういう評価系をつくることのできるだろうという利点、これが2点目になります。

さて、ここまでは多くの方も異議はないところですが、3つ目がちょっと厳しい。今まで入手困難であったヒトの受精卵、これは一部のクリニックでしか手に入りませんが、それをラボのレベルでたくさんつくるのが可能になるはずですが、それによって、今まで手がつけられなかったヒトの受精卵、あるいはそれ以降の初期発生、着床に至るまでの発生における異常であったり、例えば遺伝診断の技術的な向上であったり、また、後に問題になりますようなエピゲノムの変異というものを調べることができます。この解析には、大量の細胞材料が必要ですから、培養系はその研究素材を提供することができるだろうというふうに述べられています。

では、ヒトあるいは動物において精子や卵子を作るのにどれぐらいの遺伝子が関わっているのかというと、大ざっぱに見ていただきますと、マウスという実験材料の場合には、人為的に特定の遺伝子を破壊するという変異を起こす技術があります。それによって、この遺伝子をつぶしたらどうなるという仕事がたくさんやられています。2008年に統計をとられて、そのデータを示していますが、4年前の時点で、マウスにおいて400以上。多分、リスト漏れもありますでしょうし、現在だったら500以上のその遺伝子が精子の形成、もしくは卵子の形成に特異的に関わっていることが判明しています。これが多いの

か、少ないのかというと、実は多いです。精巣という臓器に特異的に発現している遺伝子が、およそ3,000あると見積もられています。これは全ゲノムの遺伝子の中の10%を超える値です。3,000の遺伝子が精子形成にかかわっているのですから、今現在500遺伝子というのは、まだまだ途中経過で、これからまだまだこういう遺伝子が見つかってくるはずですよ。

これらの変異はマウス実験レベルですので、子孫を残せないマウスも人為的に残しているわけですがけれども、ヒトの場合、自然に発症しているヒトの不妊症、あるいは不妊に関連するような疾病が見つまっているのが、およそ100以上学術論文のレベルではあるようです。ヒトの遺伝子変異はおおよそマウスで発見されている遺伝子と重なってはいます。ただ、まだ数は全然少ないですが、潜在的には3,000に等しいような数だけ病変を起こす遺伝子があるはずだということになります。もう一つわかっているのは、マウスの変異を起こした症状と、ヒトにおいて観察される症状はちょっと違うということです。

例えば、DAZという遺伝子は、実はマウスにはありません。そういうこともありまして、ヒトにはヒトの実験系。ヒトにはヒトの事情があり、マウスだからヒトのすべてがわかるわけではないということも確かに事実だと思われま

次に、薬物が生殖系に対してどういう影響を与えるかということについては、5年程前に世の中を騒がせました内分泌攪乱物質、環境ホルモンというのがあります。その危機は別に去ったわけではなくて、今なおずっと残っています。環境ホルモンというのは、女性ホルモンや男性ホルモンの擬似の機能をもたらすからということです。

代表的な例としては、ダイオキシンやBisphenol Aというプラスチックの合成に係るようなもの、これは今もどこかには蓄積されていて、生産が少し少なくなっただけですね。このBisphenol Aの場合には、Estradiolという女性ホルモンと同じような機能を持っています。具合が悪いことに、非常に微量で生体に有害な影響を与えることが判っています。例えば、次のような例があります。マウスの雌に対して一度だけ、この薬剤で被曝させます。別に投与するわけではなくて、そういうプラスチックに触れさせます。そうすると、ご覧のように、非常に長期間にわたって——この場合には2カ月以上ですけれども、マウスにとっての2カ月というのは卵形成2回ではありません。大体4日周期で卵を合成しますから、人間でいうともものすごい排卵数ということになります——その卵の中に、先ほど紹介しましたような染色体の数が合わない。きれいに半分に分かれない染色体不分離の異常を起こすことをこのグラフは示しています。無処理のControlが1-2%にあるのに対して、40%近くの卵子が異常を起こす。30-40倍という形でリスクを増やしています。しかも、長期間にわたって。

また、マウスではControlは1-2%ですけれども、ヒトの場合には正常でも

10%以上です。つまり、自然の状態で10%のリスクがある上にBisphenol Aの影響を受けたとしたら、とんでもない悪影響を与えることになると思われます。

もう一つの生殖細胞に対する危害という点で非常に大きなリスクがあるのが、先程も触れましたエピゲノムという現象です。ゲノムというのはDNAを指します。DNAの塩基配列に異常が起こった場合を突然変異といいます。エピゲノムというのは、DNAそのものではなくて、それを取り囲むヒストンという蛋白の修飾、あるいはDNA塩基に対する修飾のことで、マーキングのようなものです。いわば設計図に対して付箋をつけるようなものですが、その付箋の情報も実は遺伝的要因となることがわかってきています。

ゲノムに対するマーキングというのは、生殖細胞においては二度やり直し、あるいは塗りかえをします。受精直後にマーキング修飾を一たん白紙に戻すような初期化の反応が起こります。もう一つは生殖細胞が生殖腺の中に入るタイミングのあたりに起こります——これは後で河野先生が詳しくお話しになると思いますけれども——ゲノムには雄・雌の区別があり、雄のマーキング、雌のマーキングをやり直します。父母親から来たゲノムを、自分が雌だったら両方とも雌のマーキングに、雄だったら、雄のマーキングに全部塗りかえる作業をするのですが、そのために一度マーキングを消さないといけませんので、消した後もう一度塗り替えという大々的な作業を、この時期にします。

この塗り替え作業をするときに、もし外的な有害因子が来たときには、その塗り替え作業に異常をきたします。マーキングですから、間違ったらまた消せばいいというところもあるのでありますが、消せない場所にマーキングを入れて、二度と塗りかえられないような変異が起こる場合が知られ、そういうエピゲノム変異も子々孫々に伝わるということが判ってきています。

このような妊娠の極めて初期に起こるような生殖細胞系に関する異変というものどう検定するかという点において、これからお話しするような培養の中で——個体ではなくて培地の中で、生殖細胞をつくり、あるいは配偶子つくるという実験系で——化学物質の作用を見きわめられると考えます。その研究はとても有益なことだということには異論はないと思います。

次のスライドに移りますが、「体細胞から精子や卵子を作る」ということ自体については、実はこれはもうできています。iPS細胞という存在がそれを示しています。山中先生らが作られたiPS細胞系で証明されたことは、見方を変えればこういうことになります。

マウスの体細胞、ここでは赤い細胞にしてありますが、それを培養細胞としてiPSという未分化幹細胞をつくることができます。それを初期胚の胚盤胞に移植をするとキメラ胚ができ、そのキメラ個体がiPS由来の精子もしくは卵子を作り、その受精によって次の世代が作れました。だから、iPSは多能性、

全能性の細胞だという証明ができたのですが、この最初と最後をつなげますと、体細胞であった細胞から精子と卵子ができます。その受精によって正常な子供ができますということになります。

要は、これらの過程を培養系の中で全部再現できないかというのが研究の最終目的になります。

ちなみに、ここでは雄の細胞を使います。雄の細胞を使って精子ができるのは異論のないところですが、雄の細胞を使って卵子もできます。これはどういうことかといいますと、簡単な実例を示します。この赤い細胞は雄で、これを使ってキメラを作りました。キメラの個体が雄の場合には、赤い細胞から精子ができます。その精巣のなかで赤く光っている像がありますが、これがiPS由来の精子です。その隣、移植先の個体が雌の場合で、雌として生育する場合には卵巣ができます。その卵巣の中で本来は雄であった赤い細胞は、このように雌(卵細胞)として振る舞います。つまり、雄の細胞からも卵子ができ、その卵子から子供もできます。

では、これらは完全に生体(in vivo)を使った実験系ですが、これをどこまで培養(in vitro)でできているのかということです。

後で詳しくお話ししますが、京大の齊藤先生——既にこの会でお話しになったと思うのですけれども——その紹介を少しさせていただきますと、iPSから初期の生殖細胞である始原生殖細胞(PGC)、図ではこのステージに相当しますが、ここまでは培養の中でも正しくできているということが証明されました。齊藤先生らが行われたことは、ここ(PGC)までを*vitro*で作っておいて、個体に戻す、もう一度生体に戻すと次の世代ができた。つまり、PGCのレベルまでは*vitro*でもちゃんとできているということです。

実は、実験系の中で分化はもっと進みます。卵のような細胞もできますし、精子細胞のような形の細胞もできますが、そこから子供ができたという証明をしている系がまだないのです。だから、子供ができるきちんとした生殖細胞ができたという分化段階でみると、今はこの始原生殖細胞の段階まで。今後はこれをもっともっと前進させようというわけです。

私のグループは、当初からその次のステップである生殖幹細胞を目指しました。ESやiPSから生殖幹細胞を作る。具体的には精巣の中にある、精子を作るための幹細胞を目指します。これからご紹介しますが、それらしいものはできているのですが、まだその成功には至っていない段階で、これは今現在も変わりません。

具体的な方法ですが、マウスですから遺伝子操作などいろいろな手練手管を使います。ここでは緑と赤の光の遺伝子が入っているマウスを使います。2つの光とも生殖細胞になったら光るように仕掛けてあります。緑の遺伝子(Oct4-

GFP)と赤の遺伝子(Vasa-RFP)の2種類使っていますが、両方発現する段階と片方しか発現しない段階というのがあって、緑だけが一番若いPGC、赤も緑も光っているのは次の段階で、赤だけ光ってくるようになると、もう一つ次のステップに移ったことを生きた状態で判定できるというシステムです。私が目指しておりました精子幹細胞というのは、始原生殖細胞よりも後の赤くなっているだけの(Vasa-RFP)細胞、これをin vitroで作ろうというわけです。

実例として、ES細胞の例をお見せします。先程のマウスからES細胞を作り、これを培養皿の中で分化をさせると、ご覧のように緑に光っていると、赤と赤が重なっているとかがという細胞たちになるのがわかります。生殖細胞と思われる細胞ができるわけです。ここから、Cell Sorterという機械を使って赤く光っている細胞を精製します。それをもう一度培地に戻して増やそうというわけです。大半は死にますが、ここで精子幹細胞をふやすのに必要な培養条件というのは判っているので、その条件で飼いますと一部の細胞が増えます。それが次の写真。赤く光る細胞がES細胞とは違った形態を持って増えます。これを詳細に調べますと、遺伝子発現のレベルやゲノムインプリントのレベル、この場合には雄のマーキングを示すゲノムの変化が起こったことが判り、これらが精子幹細胞であることの特徴を表わします。これはES細胞でもなく、始原生殖細胞でもない特徴です。また、この段階からもう一度分化を、幹細胞に必要なファクターを取り除いて分化をさせますと減数分裂がスタートします。つまり、精子形成の方向へ分化が行く。途中、緑に光る細胞が見えますが、これが減数分裂をしている細胞です。中には、減数分裂をし終わった丸い精子細胞というのが見られます。実際に、その精子細胞らしき細胞を分画しますと、生体内の精子一歩手前の細胞が持っている特性を持っているということも判りました。ここまでは着実な進歩といえます。

しかし、これで満足してはいけないのが生殖細胞でありまして、生殖細胞の機能は、単に精子や卵子を作ることではありません。あくまでも次の世代を作ることですから、これらが受精をして子供を作るのかということを検討しますと、いまだに成功を見ないのが現状です。まだ子供を作るに十分な状況までは正しく分化をしていないのです。

同じような実験は、ヒト細胞を使った報告例もあります。これは、我々日本人では昨年まで規制(ヒトES/iPS細胞から生殖細胞を作ってはいけないという指針)がありましたので、こういう実験はできませんでしたが、スタンフォード大のグループがほぼ我々の実験系と類似の実験をして示しています。ここでは緑だけの光り物(VASA-GFP)を使いまして、ES/iPSのどちらからも生殖細胞ができるということを下グラフが示しています。雄であろうが雌であろうが、胎児から作ったiPSであろうが、成体から作ったiPSであろうが、同じような培

地の中で生殖細胞初期のところまで分化することを示すデータです。さらに、彼らはD A Zという特殊な遺伝子を細胞に強制発現させて、——D A Z 遺伝子は、減数分裂を促す作用を持っています——無理矢理減数分裂をさせます。そうすると、下に示しますように減数分裂が進んだ細胞像を見ることができます。最終的に半数体で精子一歩手前になる細胞が作れました。全細胞の10-20%の細胞がESであろうがiPSであろうが、それが雄であろうが雌であろうが、半数体まで分化するということが証明されています。

では、これが子供になるのかということは材料がヒトなので、これはさすがのアメリカでも問うことはできません。私はできないと思います。形態的には精子一歩手前まで来ているのですけれども、恐らくこの状態では子供にはならないのではないかと思われまます。その根拠は幾つか挙げられますが、代表的なこととしては、減数分裂が起こると言っても、本当にちゃんと起こっているかどうか疑わしい点です。

これは卵子の場合の事例です。ES細胞から卵子を作った場合、通常、この時点で減数分裂に入って、2つの相同染色体が対合するという現象を起こします。正常な卵細胞では、こういう染色体像が見えるはずですが、ES細胞由来の卵子様細胞では、このように中途半端な形で終わっていることが多いとされます。この状態では子供ができるはずはありません。これは、かなり初期のデータですから、現在の研究ではもう少し改良された卵子像が見えてくるかもしれませんが、培養条件の中で減数分裂がどれだけ正常に行われるかどうかを知るのはかなり難しいものがあります。

また一方で、エピジェネティック変異というのがありまして、これが一番厄介な話となります。染色体数の異常であれば、検査すれば省くことができます。正しい数を持つ細胞だけを選ぶことも可能です。しかし、エピジェネティック変異は一番大変だということを説明します。

京大、篠原先生たちのグループの仕事です。ここで成されていることは、胎児期の生殖細胞から精子幹細胞を作っています。ES細胞からの精子幹細胞ではなく、生体から取った生殖細胞を基にした場合には機能的な精子幹細胞を誘導することは可能でした。その精子幹細胞をマウス精巣に移植すれば、精子ができ、顕微受精すれば子供ができるということから機能的にも精子幹細胞であることが証明されています。ところが、できるのは事実ですが、エピジェネティック変異も起こっていました。それは何かといいますと、ゲノムインプリントの異常です。先程言いましたように、精子幹細胞を誘導する時期は、インプリント、つまり雄や雌特有のマーキングに大変革が起こる時期に一致します。そして、この培養によって誘導された精子幹細胞にはインプリント変異が多いことが見つかっています。インプリントは、発生過程で消去と書き直しを

しますから、異常があっても次の世代ではキャンセルされるはずですが、このエピジェネティック変異を持ったマウスの系統に関しては、子々孫々に変異が遺伝していた。一見、正常な産子が生まれるだけでは充分ではないということです。このような人為操作に起因する変異をどのように排除するかというのが、恐らく *in vitro* で作る配偶子に課せられている究極の課題になると思われます。

ここで、もう一度齊藤先生たちの仕事の話に戻りますが、そこではマウス iPS から正常な子供が取れていました。何が違うのか？ 齊藤先生たちの成功は、初期の生殖細胞 (PGC) までを *in vitro* で作れたという点を証明したことにあります。その後はマウス生体に移植しています。しかも、その移植先は生まれ立て新生児精巣の管の中です。成体精巣では駄目です。PGC を新生児精巣の環境の中で発育させれば機能的な精子形成が可能になることを利用した実験で、しかも、マウスだから可能となる、精子形成ができない変異を持った家系のマウス (W/W<sup>v</sup>) を使います。もう一つは、マウスだから移植に際して組織免疫型を合わすことができます。同じ系統のマウスを使えばいいので、免疫拒否の問題がありません。こういう特殊な実験系を用いたからこそその成功でした。

では、同じことを他の動物種でもできるのかということを考えてみますと、理屈の上ではヒトであろうがサルであろうが、同じ実験を組むことは可能でしょう。でも移植先は新生児です。仮にヒトの場合を考えると、他人の男の子の赤ちゃんを連れてきて、その中に自分の細胞から作った生殖細胞を移植させて下さいというのは無理です。仮にそれが可能だとしても精子ができるまで10年ぐらい待たないといけません。マウスだから性成熟は1-2カ月で済みますけれども、サルなら早くて1年、普通は3年から5年。ヒトだったら10年ですから、実験系と考えても余りに無謀です。では、どうするのか？ いずれにせよ、他の動物へ適用するには、なんとかこの移植という手技ができないといけません。

ここで、ちょっと話が前後しますが、別の形の移植法に Xenograft という異種間移植の実験系があります。Nude マウスなどの免疫不全のマウスの背中に他種の精巣を移植して、その経過を見るという研究が、ここ10年ぐらい前から盛んに行われてきました。これは、その結果をまとめたものです。

このマウスの背中に未熟な精巣を移植するとその中で精子ができます。成功しているのはブタとかヤギです。その背中で出来たブタやヤギの精子を使って子供が生まれています。これはアカゲザルで、これも成功します。Nude マウスの背中に生後3カ月の幼いアカゲザルの精巣を入れて7カ月待つと、成熟した精子ができます。しかし、ヒトとマーモセットはうまく行きません。この場合は減数分裂に入ったところで発生が止まります。

実は、同じ霊長類でもアカゲザルとヒトとは精巣の組織構造が違っていて、アカゲザルはマウスに似ています。一方、マーモセットとヒトは同じような精巣構造を持っていますので、この相違が同じ移植結果をもたらすメカニズムを生んでいるのだと思います。ただし、マーモセット（3ヶ月齢）でも、自分の精巣をマーモセットの陰のうの中に戻し移植すれば、これは精子ができます。ですから、種が違えば必ずしも新生児でなくても良い可能性があります。

もう一つこの実験の示すことは、本来の性成熟に必要な時間が移植系を使うと短くなるということです。例えば、アカゲザルでは3カ月齢精巣を移植後7カ月待てば精子ができました。つまり、生後10カ月で精子ができたということになります。でも、本来アカゲザルの性成熟は3年から5年かかります。ですから、ヒトでも、もしこの移植実験系が成立するとすれば、生まれたての赤ちゃんの精巣から10年待たないと精子ができないはずはなくて、恐らく1年ぐらいの期間で精子ができるということが予測できます。さらに、その可能性を考えます。これはNudeマウスの個体への移植ですけれども、精巣をNudeマウスの背中ではなくて、培養皿のなかで器官培養すればどうでしょうか？ 先程紹介した生殖細胞の培養ではなくて、精巣丸ごとの培養ならばその中で精子ができる筈——と単純に思いますが、実はこれがなかなかできなかったのです。精巣を培養しても精子はできませんでした。これが成功したのは去年、横浜市大の小川先生のグループが初めて成功しました。どうやったら成功したのか、簡単に言うと、少し培地の組成を変えただけです。これは非常に驚きの現象でした。マウス新生児の精巣をAgarブロックの上にちょこんと乗せて培養します。問題は培地です。結果的に、これまで先人たちが30年以上苦労していたのは、牛の胎児血清を使って培養していたからでした。それを小川先生は我々が今一般に使っているKSRという人工の血清代用液に置きかえました。そうしたらできた。幼若精巣の培養から精子をつくるのが可能になりました。しかも、この精巣をホストにして精子幹細胞を移植したら——写真で示しています緑の細胞が移植したドナーの幹細胞です。それは、1週目には幹細胞のニッチに入って、2週目には精子形成を始め、完成された精子になり、健康な子供が取れました。つまり、「*in vitro*で精子ができた」ことになります。

ここまでお話しすると、次に我々が考えていることは大体想像がついていただけるかと思います。この器官培養系の利用は、先ほど齊藤さんたちの研究成果のところで紹介しました幾つかの問題を克服してくれます。1つは、移植免疫の問題を排除することができます。免疫は個体レベルで起こりますから、精巣の器官培養でやる限り、免疫的に適合している必要はありません。他人（異個体）でも良いわけです。また、例えば免疫不全の宿主を作る必要はありません。それから、性成熟に要する時間も短くできるでしょう。また、毎日生きた

ままを観察できますから、その実験が失敗かどうかを直ぐに判断できます。

もう一つ大事なのが、マウスに限らず多くの動物種に適用することができることです。私が今考えているのは、サルの細胞をサル精巣にという系ですが、恐らくヒトのiPSやES細胞由来の生殖細胞を同じ霊長類のサル精巣に移植するというのも実験としては有効に成立するでしょう。ただ、これには生命倫理の規制上の問題があるのかどうか？——実は、この場で私の方がお聞きしたい疑問です。ヒト生殖細胞を異種個体の生殖巣へ移植しては駄目だということは知っていますが、これは個体ではなく、あくまでも培養系です。つまり、ヒトとサルの細胞を一緒にして混ぜて培養するに等しい。これは実験系として成立するだけではなく、恐らく、ヒトのiPS由来の精子を作るとすれば、最も可能性の高い系だろうと思っているからです。

さて、ここまでは精子についてお話しました。卵子については、河野先生がお話しされるので簡単に行きます。

ES細胞やiPS細胞から卵もできます。これを最初に報告したのは2003年、Dr. Scholerのグループですが、これが論文の抜粋です。その時できた卵子は結構いい卵子で、卵から2細胞期胚や胚盤胞期胚という、単為発生をしている像が示されています。つまり、完全に成熟した卵に近い卵ができているということを実証していたのですけれども、この卵子から産子はできていません。それ以降、この卵子分化は幾つものグループが散々行っていますし、誰がやっても卵子様分化はできます。嘘ではありません。

もう一つ隠れたエピソードがありまして、これは今も問題のままですが、精子に幹細胞があるのならば、卵子にも幹細胞があるのかという問題が今も残っています。99%の専門家はある訳がないと思っていますが、1%ぐらいの人たちがあるのではないかと思っている筈です。事の始まりは、生殖細胞特異的なVasaという遺伝子があります、それを発現していれば生殖細胞だと今はほとんど言い切っているわけですが、そのVasaを発現している細胞が卵巣外周の周辺にもあるということが見つかりました。卵巣の中にあれば卵細胞ですけれども、外にあるのだから卵細胞じゃない。しかも、それは減数分裂をしていません。生後卵巣内の卵細胞は全て減数分裂期に入っているのに対して、減数分裂に入っていない生殖細胞みたいな細胞があり、それを卵巣内に移植すると、減数分裂するような細胞像に変わるというのです。それ自体は、実は私も良く知っている研究者でしたので、そのデータが嘘ではないことは知っていました。その下に示す緑の蛍光写真は、私のところのデータで未発表のもので、Vasa抗体で染めただけですが、卵巣の外側に確かにVasa陽性の細胞があり、生殖細胞らしきものがあることが判ります。しかも、それを培養すると、短い期間ならば増えることが判りました。減数分裂している卵細胞は増えません、増えるVasa

陽性細胞が存在するという事には同意しますが、これが卵子の幹細胞なのかどうかは判りません。と書いていましたら、2009年になりまして、——これもほとんどの研究者からは疑問視されていますので、眉唾と思って聞いてください、と言うのも大変失礼な話なのですが——上海大学のグループが報告しました。精子幹細胞と同じような培養条件でこのような細胞を飼うと、増やすことができるというのです。私が用いた条件と同じなので増えるとは思えないのですが。さらに、それを卵巣に移植したら卵ができて子供ができたというのです。私はこの報告を支持するかどうか決め兼ねています。ただ、歴史上異端視されていた事が、場合によっては正解だったということもあります。もし、これが正解であれば、精子幹細胞と同じ技術、同じ方法で卵子も大量に供給することが可能になり、卵子ができない女性の細胞から卵子を作ることができる可能性を秘めています。

これはマウスのiPS細胞から卵ができるという、私のところのデータです。上はマウスの雄のiPSから卵子様のものができている像です。下の写真はカニクイザル。これらは未発表データなので、お手元の資料には添付しておりません。サルの雄のiPS細胞からも生殖細胞を増やすことができ、その生殖細胞を分化させると卵子ができ、結構いい感じの卵胞形成をしています。

このような卵子形成についての課題も同じで、*in vitro*では二次卵胞レベルまでの成熟途中までは形の上では出来てきます。ただ、本当の意味で成熟卵まではまだできていません。これを如何にして培養下でも成熟した卵子を作るのかが、これからの研究者の努力目標ということになります。勿論、最初に言いましたように、それが本当に正常な産子形成能を持つかどうかというのは、また次の課題になりますが、これまで行われていなかったような方法、つまり、移植や器官培養という方法をここで合わせて使うことによって、可能性はぐんと大きくなるであろうと考えています。

ここまでヒトへの医療応用を念頭にしてお話しましたがけれども、冒頭に挙げた3つの意義のほかに、より現実的な意味で社会貢献できる意義がもう一つあります。ヒトへの応用というのは、かなり将来的な問題ですし、倫理的にも非常に問題のあるところですが、その応用をサルに限定して考えます。では、サルにおいて*in vitro*の生殖細胞から産子を作るということにどんな意義があるかと言いますと、サルのESあるいはiPSは、実はマウスの場合と同じようなキメラ個体を作る能力がありませんが、*in vitro*で生殖細胞を作る能力はありました。この方法を利用して特定遺伝子に変異を起こしたノックアウト・サルを作れないか？ ノックアウトマウスは多々ありますけれども、霊長類でこの遺伝子改変をするシステムというのは、まだ世界中どこを見てもありません。これができることになると、様々なヒト疾病の霊長類モデルができます。それは

マウスで十分だと言われればそれまでですけれども、そんなことは決してないでしょう。霊長類特有の高次の脳機能を含めて、いろいろな形でヒトに代わる霊長類サルの研究モデルが必要にされています。例えば、iPSを使った再生医療において、ヒトの細胞をヒトに移植して検定するというのは非常にリスクが高い事です。それに置きかえて、先ずはサルのiPS細胞を使ってモデルサルに移植して、その再生系を検証することが前臨床試験として適切だと思います。当然、その中には不妊医療への応用も含まれるでしょう。マウスで全てが完全に可能とされたとしても、次の世代を作るだけでなく、次の次の世代までずっと異常が起こらないかという検証はヒトではできません。少なくとも、先ずサルで検証されない限り、ヒトへの応用は決して行ってはいけないと思っています。私の発表は以上です。

(相澤会長) どうもありがとうございました。内容が次々と進展を示しているところですので、議論もいろいろとあるかと思っています。どうぞ、ご質問、ご意見を出していただければと思います。いかがでしょうか。

どうぞ。

(阿久津専門委員) 途中で引用されました齊藤先生の研究ですけれども、そのなかで、例えば途中まで分化させたのを精巣に移植して産子を得るという。個人的な考えとしては、恐らく最終的に産子をつくるというのがこの場合目的ではなくて、途中までの体外培養系での細胞が性質上、機能上、正常に近いかどうかを検証するための手段だったと思うんです。体外培養系での研究上、多分一番大事なことになってくるのが、機能上、性質上、正常とどのくらい近いかどうかを検証するという事になってくると思うのですけれども、現段階で——最初に先生がマウスとヒトでは相当違うんですよというのを1つ例に挙げておられましたけれども、この*in vitro*でつくった精子、あるいは卵子、あるいはそれに類似したものが性質上きちんと正常に近いものかどうかを確認するという方法として——ヒトの場合、どのようなことが考えられると思いますか。今現在、先生のお考えとしていかがでしょうか。

(野瀬教授) 今すぐヒトの系でそういう実証系をつくるのは難しいと思うのです。究極的にはその答えはない筈です。だからこそ、まずマウスで完璧な培養系をつくり、マウスで完璧な品質管理の手段を全工程別に作り上げていく。このレベルでまず遺伝子発現を全部チェックする。次のレベルでは、ゲノムの異常をチェックする。あるいはエピゲノムの状況を全部チェックする。いろいろなクライテリアを順番に組み立てて、最終的にはこれらの工程を経過した精子については異常のない産子ができるというようなマニュアルができるはずですね。できなければいけません。それをヒトにすぐに応用できるかというのもまた問題ですので、その途中に霊長類であるサルを置いて、霊長類でも同じこと

が再現できる、ということができれば、次に実際にヒューマンの場合でやってみましょうという時に、それらのクライテリアを全てクリアして行くというふうに考えた方が良くは思っていますけれども。

(阿久津専門委員) 1つ、現段階の例えば i P S、生殖細胞分化の指針の6条だったと思いますけれども、それでは、ヒト胚を作成してはならないということになっています。要するに、受精をさせてはいけないということですが、それ以外の方法として、それに近いような確からしさを求める解析法というのが現段階で生殖細胞を専門にやられている先生側の現段階の方法、あるいは知識として、それに近いような解析方法は存在するものなんでしょうか。

(野瀬教授) 最終的に、例えばこの10項目を検討すれば正常な子供が生まれるというような、そんなものはないと思います。ただ、今のレベルはそれよりも前の段階で、1つ、2つぐらいの項目の段階だと思いますが、まずは染色体数はちゃんと半数になっているとか、染色体遺伝子に傷がついていないとか、変異型はどこにもないとか、インプリントのパターンが精子だったら雄型になっている、卵子だったら雌型になっているとか、ということはヒューマンであろうが、今でもできます。形態的にも卵子や成熟卵としての特徴は抗体による免疫染色とかいろいろな方法でチェックすることができる、というよりもチェックすべきことが既に沢山あります。それらすら、今はまだクリアしているような段階ではないのです。全てにおいてこんなに立派な卵子ができたのに、なぜ受精させてはいけないんだというところまでは来ていないということです。

(樋口専門委員) 私は、法学部にいて本当にわかりません。申しわけない。その上でですが、せっかくいるので素人の質問を3つ。

まず1つは、先生のおわかりながら一生懸命聞いたんですけれども、13枚目のスライドのところで、先生から質問が寄せられましたよね。培地の変更でこういうことが意外に簡単にできるようになったんだよと。それで多くの動物類への適用が期待できる。サルかけるサル。サルかけるヒト。ヒトに移植するのは、それは全然バツだということになっているけれども、こういう培養系の中でやることまで今のルールの中で、もう既に日本では禁止されているんでしょうかという質問がありましたよね。これどなたか、きつとここ、私以外の人でだれか答えてくださると思いたいので、ちょっとそれを促したい。これが1です。

2つ目は、これは指針の中の言葉なんですけれども、ヒト i P S 細胞というのは何かというと、人工的に多能性を誘導されたヒト幹細胞であり、ヒト E S 細胞とほぼ同様の能力を持つ細胞だという定義をしているんですが、ほぼというのは、例えば生殖細胞や何かはちょっと無理だよという話かなと私は思って——本当に素人だと思っんですけれども、そうじゃなくて、全く同様のという

話になるんですか。これが2問目です。質問自体が本当にピント外れだったら無視してもらったほうが。

(野瀬教授) いえいえ、全く外れていません。むしろ本質だと思います。

(樋口専門委員) 3つ目です。3つ目は、一番初めに、こういうことをやることの社会的意義というのが位田先生も言ってこられたケンブリッジの2008年の会議で3つあるんですよと。こういうちゃんとした社会的意義あることをやっておられるという話で始まったと思うんですけども、まだまだきっと私は科学者ではないから、本当ばかみたいにすぐ期待したり何なりするんだと思いますが、先生が今まで、あるいはほかの方も含めてやられている研究で、この一番最初の目的のどの程度までやってきているものなんですか。これもまた本当につまらない質問をしているのかもしれないので、申しわけない。

(野瀬教授) なるほど。2つ目の質問。ほぼESのiPSとESとは何が違うのかというところですね。これはその文書を書かれた人に聞きたいぐらいですけども、恐らくマウスのESという定義をした場合、マウスでは、本来キメラを作り産子(配偶子)を作る能力まで持っているものを初めてESと呼びます。というか、良いESというふうに呼びます。ESにも悪いESがあって、悪いESというのは、例えばキメラを作ろうとしてもキメラになりませんか、キメラにはなったんだけど、精子や卵子にならないというのが悪いESなのですね。この悪い例も含めて、ではそれは臨床応用には不適かということ——ヒトの場合ですが、不適ではないのです。神経は作れるし心筋も作れるとなれば、それはiPS細胞として十分に有効利用できますよね。何もヒトのiPSでヒトが作れるという定義をする必要は全くない。そこに「ほぼ」というオブラートが入ったのではないかと解釈します。

(樋口専門委員) 科学的な話ではなくて文化的な話だということですね。文化的というか——まあ、いいです。

(野瀬教授) 何か定義の問題みたいなものですね。

3つ目にご質問いただいた点、どこまで現時点でその目標に追いついているのかというところは、研究者それぞれ言うことは違うかと思うのですが、例えば、ヒトの細胞で今一番先頭を走っているのは、途中でご紹介しましたスタンフォード大学のグループです。後は皆さんが追随している状態が続いていると思います。日本ではまだ始まったばかりですから、これからだと思いますが、彼女らが目指しているものは、今*in vitro*で望めることとして最高峰まで来ている筈です、精子一步手前で染色体的にも異常のない産物ができたと証明しているわけですから。彼女たちが次に一体何を望むのかなのですが、その系を用いて、例えば薬剤の効果であったり、アッセイ系を調べることは可能ですし、エピジェネティック変異を調べることもできます。つまり、2つ目の項目

の意義については調べることができますね。それから、1つ目の意義の減数分裂に関わる異常というのも、ある程度実験系としては扱うことは最早可能だと思います。数字上の問題です、パーセンテージが十分そこまで来たということです。3つ目の意義は全然まだ無理なのですから。

2つ目のご質問で、もう一度問題点を言いますと、ヒトの細胞をマウスであろうがサルであろうが、個体の精巣に移植してはいけません。マウス精巣でヒトの精子を作るという実験はしてはいけません、それは私も知っています。しかし、生きた個体ではなくて、一たん摘出した精巣に細胞を入れます。これは全く実験ベースの*in vitro*の実験系です。それをしばらく培養するとヒトの精子ができてしまいました。これは規制に違反しますか、しませんかということです。どなたかがお答えいただけるということですから。

(相澤会長) 位田先生、今のところについてのコメントをいただければ。

(位田専門委員) 基本的にさまざまな指針なり法律なりルールというものは、つくられる時点で想定してわかっている状態に対してどうするかということを考え、かつそれしか考えていないので、それ以降に新たなさまざまな発見なり新しい方法ができたり技術ができたり、もしくは知見ができてきたことに対しては、ルールをつくった時点でわかっているなければ条文には当然入れることができないと思います。したがって、当時は、個体に入れてはいけませんということは認識していたのですが、それ以外に今野瀬先生がおっしゃったさまざまなやり方というのはわかっていた。ES指針は2001年ですから、もう10年以上前の段階では、そんなことは、まずES細胞についてはほとんどわかっていたので、ルールがないとしか言いようがない。ルールがないというのは、では、やってはいけないのか、やっていいのかというと、それもよくわからないというのが答えで——実は答えになっていないんですが。ルールの点から言うと、そういうことだと思います。

(野瀬教授) 現在、恐らくヒトiPSを使う限り、大臣承認か何かの遺伝子組み換え実験の申請書を出すと思うのです。それを審査する方が必ずいらっしゃって、その方が悩まれることになると思うのですが。だから、全く無秩序に実験が行われることはないのですけれども、必ずだれか悩む方がいらっしゃるので、何とかしてあげた方が。

(位田専門委員) つけ加えると、これは文部科学省なり、もしくは場合によっては厚生労働省なりがお答えになるべき話だろうと思いますけれども、ルールがないから、少し見合わせてくださいという話になるのではないかと、今までのやり方からすると。その間に議論をしてルールをつくる。ルールをつくったときには、それはどこまでやっていいかということ、またその時点でわかっている知見に基づいてどこまでやっていいか、どこからがいけないかということ

を決めるしかない。現時点でわかっていないことがまたさらに明らかになった場合には、それに対応する手だては当面ない、ということです。ある意味ではイタチごっこのようなものですが、ルールと科学の発展については、ルールのほうがどうしても後追いになるというのが限界だと思っています。

(吉村専門委員) 参考になるかどうかかわからないんですけども、要するに、ヒトの場合、早発閉経になった卵巣を取り出しまして、あるスペシフィックな培地の中で培養して、それをまた本人に戻すという臨床研究はされています。

(野瀬教授) ヒトからヒトへですね。というか、同じヒトに。

(吉村専門委員) 同じヒトに。それは、臨床研究として一応やってもよろしいのではないかということは、施設でも認定されています。この精子の系に関して、マーモセットを使うとか、あるいはまたサルを使うとか、そういったことが許されるかどうかということについては、もし学会にそういった研究を許可してほしいということをおっしゃられたらノーだというふうに今のところは言うと思います。

(野瀬教授) それは子供をつくるという目的ではなく、あくまでも学術的な研究としてもノーですか？

(吉村専門委員) 学術的な研究に関しては、そうではない。それを戻すということになると、それはノーだということです。

(野瀬教授) そうですね。戻さなければどうでしょう。

(吉村専門委員) それについては、決まりはないんじゃないでしょうか。

(相澤会長) 町野先生、今のことに関して何かコメントは。

(町野専門委員) すみません、どういう事態かというのをまだ十分私は把握していないので、ルールがないということは私はないと思うんですよね。ルールは決まっていると思うんです。すみません、まことに先生と同じように初歩的な、もう一回素人に説明していただけますか。どういう研究をやるかと。

(野瀬教授) 要するに規制されているのはヒトの配偶子になるものを、異種の動物に対して作ってはいけないと。

(町野専門委員) つくるとは、どういうことですか。

(野瀬教授) 例えば、マウスにヒトの精子を作らせてはいけない。たとえ、そのマウスが交配する、しないにかかわらず。それは、個体に対して規制があるのはよく知っているのですけれども、そうではなくて、マウスの精巣の中で、精巣というのは摘出されたものでいずれは死ぬようなものですが、その中にヒトの精子になる可能性のある細胞を入れるという実験そのものは、今のルールで言うと、私はセーフではないのかと思うのですけれども。

(町野専門委員) 私は、今のルールではそれはないと思います。

(野瀬教授) 同じことはサルであってもいいわけですね。

(町野専門委員) はい、恐らくそう思います。

(野瀬教授) その中でヒトの精子ができてもいい訳で、それを論文報告しても何ら恥じることはない。ただ、それを使って受精させてはいけないというのは、もう既に規制があるのですから。だから精子を作る作業として、異種の動物の精巣と一緒に培養するということが規制対象としてはセーフ？

(町野専門委員) はい、現在、それはないと思います。

(野瀬教授) ないというのは規制しないということですか？

(町野専門委員) いや、恐らく、もし皆さんが問題だと思えば規制しろということになるだろうと思いますけれども、現在までやってきたということは、胚をつくるときについての問題を非常に主にやってきたわけですね。これは今回の問題ではないですから、その問題ではないと。

それから、臨床研究というのは、先ほど吉村先生もおっしゃいましたとおり、ヒトを対象とするわけですから、これはヒトを対象としているものではない。簡単に言うと、今の場合は、キメラ個体をつくるのと、非常に似ている話ですよ。動物が優位のキメラ個体。中に人間の細胞が入っていると。

(野瀬教授) ただし、個体ではないと、

(町野専門委員) そう。だから、人間の個体ではない。かどうかが、議論はいろいろありますけれども、キメラがどこからヒトかというのは、非常にまたわけがわからないところなんですよね。

(野瀬教授) それは大丈夫なのですか。ヒト・ブタのキメラは可能ですか？ 器官レベルでもヒト・ブタキメラというのは可能なのですか？ それも規制されているように私は理解していますが、

(町野専門委員) 胚の段階では規制をされているということだと思います。胚の段階でそれをつくって、そして個体をつくるということについては禁止をされていると。しかし、最初から個体の中にやってキメラをつくるということについては、今のところ何もないということだろうと思います。だからこそ、人間の体の中に、動物の例えば肝臓を入れるということについては、これは臨床研究の問題にはなりませんけれども、法律についてはこれは規制はないという話だと思います。それから、指針についてもないだろうと思います。そこらは、恐らくは、文科省のほう指針だとか、そういうことをいろいろ知っていますけれども、私の理解に誤りがあるかどうかは、文科省のほうに一回聞いてみられたらいいだろうと思います。

(相澤会長) ただいまのことは、この委員会で即明快なソリューションを出すということとは違うと思いますので、今のような問題提起という形で受けとめさせていただきます。

それでは、そのほかのご質問、ご意見。

どうぞ。

(高木専門委員) 最後に、ヒトの疾病モデルということで、サルにおいて knockoutサルみたいなものをつくっていきたいということをおっしゃっていたのですけれども、結構、今世界的に霊長類にこういうことをするというのも問題になっているのですけれども、こういう研究を海外でもなさっているのでしょうか。どうなんでしょうか。

(野瀬教授) これも国によって違いますね。ドイツなんかは霊長類に対してかなり厳しいと聞いていますし、チンパンジーとか、いわゆる類人猿の場合は実験材料としてはほとんど使っていないはずで、どの国も。実験材料として、多く広く使われているのがマカクザルと呼びますが、ニホンザル、アカゲザル、カニクイザルという、進化的に中途の位置にいる——社会性は持っていて知能も持っているけれども、それほどヒトに似ていないというサルまでは実験動物として研究材料に使われていますね。日本でもそうです。また、さらに下等なサルのマーモセットというのは、より世代サイクルが短い、個体が小さいとか、大概の霊長類は一産一子ですけれども、マーモセットは2匹で、それだけでも2倍ということなので、そういう利点を持って——特にトランスジェニック技術がマーモセットで成功したのは日本ですから——日本でも先行して実験開発が進んでいるというふうに理解をしています。それは、ドイツでもイギリスでもアメリカにもそういう研究グループがあります。

(阿久津専門委員) 最後のページで i P S 再生医療で不妊治療というときに、i P S 細胞作製について導入遺伝子が入る入らないの研究は今行っている段階ですけれども、そもそも遺伝子改変をしているものなので、そこから、たとえば精子・卵子ができた場合、その精子・卵子は遺伝子改変をされているということになりますので、それで不妊治療へ応用するというのを念頭に置いてやるということは、遺伝子改変の生殖ということになってしまいます。そもそもそういうこと自体が不妊治療に妥当かどうかということになってしまおうと思います。

(野瀬教授) 初期の iPS の方法は、ウイルスのゲノムが入っています。徐々に改良が積み重ねられていまして、今は一過的にだけ遺伝子を入れれば iPS を作ることができます。また、後日、導入した遺伝子を跡形もなく抜き去るという技術でも iPS は成立します。つまり、遺伝子ゲノムに傷をつけないで iPS を誘導する技術はマウスにおいて既に存在をします。ヒトにおいてもそれはできる。ただ、本当に1塩基も傷つけないかと言われたら、1塩基抜けるかもしれない可能性はあるとは思いますが、そのレベルです。

(阿久津専門委員) なぜかというのと、以前に米国で若い人の卵細胞質を卵子に注入して不妊治療を行ったという例があります。生まれた子供の細胞質内のミ

トコンドリアを調べると、それはハプロだった、つまり受精の時に移植した細胞質ミトコンドリアが残っていたということになりますそのときに、ネイチャー誌上でもすごく話題になったのが初めて染色体改変のヒトができたというのが、かなりショッキングに取り上げられました。ですので、こういった方法というのは、非常に慎重に考えていくべきなことだというふうに思います。

（野瀬教授）全くそうだと思います。一方で、不妊治療に応用するというのを一番強く熱望されている方というのは、恐らく絶対不妊の方、つまり卵子形成か精子形成が全くできない方が恐らく一番熱望されるわけです。その方々は恐らく遺伝的な欠損があるわけで、その欠損を補わない限り、つまり遺伝子治療を行わない限り、その方のお子さんという形での不妊治療ができないのではないかという議論はあると思います。ただし、遺伝子治療という形でなくても蛋白治療であったり細胞治療という形で補えるような疾患もあるはずで、その方の配偶子をそういう形でつくることも全部が全部ではないですけれども、あるパーセンテージの人たちには望めるとは思います。

（吉村専門委員）すみません、最後に確認だけ。私の理解では、マウスESからは、先生の発表の後、分化した精子により産子は得られているという認識があったんですけれども、先生はそうじゃないとおっしゃったんですけれども、それは事実関係はどうなんですか。

（野瀬教授）そういう論文が出ましたが、多くの方々があれは嘘だったというふうに、今は認識されていると思います。

（相澤会長）位田委員。

（位田専門委員）私は科学者ではないので変な質問かもしれませんが、先生、ところどころでここまではできているけれども、ここからはできないであろうとか、これは正常にこうなっているかはわからないとか、いろいろおっしゃったんですが、現時点ではそうであるとしても、将来、何年後かわかりませんが、近い将来、それは克服されて、現実に行えるようになるというふうにお考えでしょうか。

（野瀬教授）勿論そうです。特に、マウスという遺伝子治療に問題がない、つまり、いろいろな遺伝子の操作が自由自在にできる系では、近い将来には完全に*in vitro*でつくった精子・卵子が次の世代につながるという実証が行われると思います。

（位田専門委員）それを今はヒトではできないでしょうし、将来的にもヒトでやるのは難しいということでしょうか。または、いろいろな条件で難しいとは思いますが、ヒトでもそれが実現し得ると、もし実験系でやれるものであるとすれば実現し得る、というふうにお考えですか。

（野瀬教授）はい、そこがこの委員会の存在意義だと思うのですが。つまり、

クローンの場合もそうですけれども、ヒトに応用したら、これは1,000に1の確率で成功するとか、100に1の確率で成功するということですよ。それをヒトでやってはいけないというのは、1,000に999、100に99が失敗だからやってはいけないというわけです。ただし、地球上の全ての所でそれを規制することは不可能で、どこかでそういうマッドサイエンスをやる人は出てくる。それを熱望する患者さんも出てくるということは想定しないといけないだろうと思います。

(相澤会長) よろしいでしょうか。

それでは、野瀬先生ありがとうございました。以上とさせていただきます。

次に、もう一方のヒアリングに移ります。東京農業大学の河野友宏教授です。生殖細胞作成研究の最近の研究動向の今後の課題ということでお話をいただきたいと思います。

どうぞ、よろしく願いいたします。

(河野教授) それでは、始めさせていただきます。東京農大の河野でございます。よろしく願い申し上げます。

きょうお話しさせていただきますのは、精子と卵子がどのように違うかというお話をさせていただきたいと思います。

それで、今野瀬先生のほうから、かなり迫真に迫るお話ということで、私も大変興味を持ってお伺いしていたんですが、私の話は、私の立場は、いずれにいたしましても、生殖細胞、ヒトに応用して世の中の役に立てたいという立場ではございません。あくまでも精子と卵子がどのような違いがあるかと。そのことは、私たち哺乳類を含めて、なぜ次世代をつくるために精子と卵子が存在するのかということをお話しさせていただきたいと思います。

多分、私は期待——もしお役に立てるとすれば、そこに流れている仕組みが今後恐らくiPS、ES細胞で精子や卵子をつくる時に大変重要な情報を含んでいるんであろうということを思っております。ですから、あくまで私は情報提供するというところでございまして、それを用いた生殖細胞を作成して、今後のいろいろな方面に役立てたいという立場でお話しすることではございませんし、私自身もそういう立場にいたいと。ちょっと野瀬先生とは立場を異にするんですけれども、そう思っていない一人ということでお考えいただければと思います。

それで、これはもうこの委員会でも何人の先生方も何回も何回もお話しになっていると思いますが、いずれにいたしましても、生殖細胞というのは唯一次世代にゲノムを伝えられる存在の細胞である。唯一であると。生殖細胞なしには次世代はできない。特に哺乳類におきましては、しかも、精子と卵子という2種類の異なる生殖細胞が不可欠であるということがわかっております。この

点が第1でございます。

もう一つは、生殖細胞は、したがって、長い進化の歴史を考えますと不死の細胞であるということになるかと思えます。また、当然このことは先ほど野瀬先生のお話にも出てまいりましたけれども、エピジェネティクス、あるいはエピゲノムというような遺伝子の配列を調整する化学的な修飾、面倒くさいですけども、そこにくっついた何らかのマーキング機構と考えていただければいいかと思えますが、ここが非常に重要な問題になってくるんであろうと。このような仕組み、エピジェネティクスの仕組みというのは、恐らく体細胞のクローン、不妊治療、胚の体外培養、幹細胞研究、iPSを含めて非常に密接に関連していることになる。

このような仕組みを理解する。エピゲノムを中心としたリプログラミングの仕組みを理解することは、もちろん発生、分化・脱分化、疾病、老化、進化などの解明につながるというのが私の立場でございます。

それで、基本的には精子と卵子違うと。そんなの当然だろうとおっしゃると思いますが、私が申し上げているのは、それでは、もはや精子と卵子という形を取り除いたときに、ゲノムというレベルで考えたときに一体何が違うんだらうということでございます。中には、それは雄のほうはYという染色体があるのではないかとおっしゃるかもしれませんが、精子の染色体はYを持つものとXを持つものがあります。それでは、Xを持つ精子とXを持つ卵子を比べた場合、その染色体は何が違うんだらうかという疑問がわいてくるわけでありまして、もし、同じであれば、何も精子と卵子の遺伝情報、ゲノムは次世代をつくるために不可欠にはならないはずであるということでございます。

実は、先ほども言葉で出ておりましたけれども、ゲノムインプリント、このエピゲノムによって調節される一部の遺伝子群は精子から伝わったとき、卵子から伝わったときに、その発現の仕方が決定的に異なっている。したがって、遺伝の情報として、すなわちDNAの塩基の配列としては精子も卵子も実は同じであるけれども、その遺伝子より働かせる情報が違うということになるかと思えます。

それで、これはもう古典的な、今では古典的になっておりますけれども、1980年代にSuraniたち、あるいはMcGrath&Solterたちが核移植を初めて用いまして、このような精子だけのゲノムを持ったもの、あるいは卵子だけのゲノムを持ったものは本来発生してもいいはずなのに、着床の初期の段階で必ず致死となるというような決定的な情報を出されたということでございます。

ここから端を発して、雄と雌のゲノム、精子と卵子のゲノムは、機能上決定的に違うんだということが定義づけられたわけでございます。

それで、これは哺乳類があらわれた進化ですけども、最近の研究によりま

すと、哺乳類の中にY染色体があらわれたのは、恐らく1.5億年ほど前であろう。有袋類、それから真獣類、胎盤をつくる動物、私たちがあらわれてきたと。当然Y染色体があらわれたときに、雄・雌を決定するSRYという遺伝子ですが、精巣を誘導する遺伝子があらわれてきたということになるかと思いますが、この胎盤をつくるということと、卵子が特別、精子が特別な機能差を持つようになったこととは深い関係がございます。

それで、このような仕組みが実は精子と卵子の中にゲノムの機能を調節する間でサイクル、エピゲノムサイクル、エピジェネティックサイクル、生殖細胞系列、系列細胞といいますけれども、ずっと生殖細胞だけを追ってまいりますと、ごらんいただきますように、この青い精子でございますが、卵子、ここからスタートしていただきますと、実は見えないマークが精子は青で示しております。こういうマーキングがされていると。ずっとこれがマーキングが発生の過程で私たちの体、すべての細胞にマークが残っているということでございます。

卵子は卵子で、今赤でお示ししていますけれども、やはり卵子型、すなわち雌型にしっかりマーキングされているということでございます。これがずっと体細胞で残る。

ところが、この発生が進みまして、胎児期にまた次の世代の生殖細胞が分化してまいりますと、ここで雄・雌の情報が混同していますと非常にややこしいことが起きますので、これはできた生殖細胞がやがて発生する生殖細胞としない細胞が出てきている。これはまずいということで、リセットのプログラムがなされている。これは先ほどお話もございました。

というのは、一たん雄・雌、すなわち、その個体が母親、父親からもらった染色体上に組み込まれている。DNA上に組み込まれているエピゲノムのエピジェネティックなマーキングが一たん消去される。そして、その個体が雌ならば雌らしく、雄ならば雄らしく、もう一度そのマーキングがつけ直されるというプロセスが実は私たちが生殖細胞をつくる過程で行われています。しっかりと行われているわけです。このことが少しでも狂えば、重篤な疾患に結びつくということになります。

きょうは、このお話でございます。

当然ここには、この仕組みには、随分いろいろなことが最近わかってまいりましたが、まだまだわからないことだらけであります。

いずれにしても、きょうお話するエピジェネティックな——後天的なという意味ですけれども、このマーキングの主要な仕組みとしては、メチル基がDNAにくっつくということでございます。特にシトシンにくっつきます。その中でもシトシンとグアニン、CとGというペアがございますけれども、こ

のシトシンにつくということになります。これがくっつきますと、遺伝子の発現を制御することにつながると。このパターンが雄・雌間で違うということになるわけでありませう。

これはマウスの事例でございますけれども、そういった——これは、その一部の特に重要なインプリント遺伝子というような遺伝子だけ、これは精子から来た染色体と卵子から来た染色体で本当は同じく出るはずなんです。私たち一セットずつ持っていますから、1本ずつ同じ、例えば1番の染色体もお父さんから来ますし、お母さんから来ます。2本をワンペアとして持っています。

これは本来ですと、両方から等しく発現しているのが一般的な遺伝子です。ところが、一部の遺伝子は、精子から来たとき発現する。卵子から来ると発現しない。あるいはその逆。卵子から来た染色体からは発現するけれども、精子から来た染色体で発現しないという仕組みがそこに仕組まれている。これが雄・雌の決定的な機能差と。精子・卵子のゲノムの間の決定的な機能差を形成しているというふうに理解できます。

それで、これはその特徴的なところだけを挙げております。赤い丸がついておりますけれども、赤い丸は、実は卵子の形成過程で、その領域のシトシンにメチル基がぺたぺたとくっつくという領域です。これがつきますと、そこに赤い字で書かれている遺伝子、青い字で書かれている遺伝子、いずれありますけれども、その周辺の遺伝子がどっちから出なさいということが決定されてしまうということでございます。

こういう領域が1番から18番まで、かなりの箇所でございますけれども、お気づきのように、1つの箇所のメチレーション、これは必ずしも1つのシトシンという意味ではありません。領域という意味で、後でお話ししますけれども、領域なんですけれども、その領域でメチル化のメチル化が入るか入らないかによって、かなりの多数の遺伝子の発現が制御されるということになります。

ここくっつけてございますのは、1カ所のメチル化の状況によって発現を制御される遺伝子群でございます。このようなものが実は哺乳類では決定的な役割を演じていると。

これは、個体が発生することのみならず、さまざまな疾患にもつながっております。そのほかがんにも当然つながっているということでございます。

これは見ていただきますとおもしろいことに、雄は精子の形成過程で入るのはわずか3カ所です。わずか3カ所です。あとは卵子が形成される過程でメチル化がそこに付加されていくということになります。

もっと模式的に書きましたのがこの図でございます、このスターが卵子と精子、ついている場所が成熟した卵子と精子では違いますよと。左側の上が卵子、成熟卵子、下が精子でございます。この違いが精子と卵子の違いである。

それでは、このようなエピゲノム情報を改変することによって、雌型のゲノムのパターンを雄型にできるかどうかということを試したのが私たちの研究でございまして、要するに、このときには、まだこのエピゲノムが完全に精子と卵子の違いを意味づけているのかどうかということは証明されていない。その違いというのは、これを変えることによって個体形成が雌だけのゲノムでできるかどうかを示すことが最も端的であるということでございます。

順番から申しますと、実は生まれたばかりの赤ちゃんでは非常にナイーブでございまして、このようなエピゲノムの情報が全く入っておりません。入っておりません。かなりニュートラルな状態になります。

しかし、これだけでは精子と同じような遺伝子発現パターンが相対的にはありません。先ほど申し上げましたように、雄側ではたった3カ所がメチル化を受け、遺伝子の制御をされ、雄らしい遺伝子発現パターンが形成する。

ここは雄型を変えることができませんので、先ほど来出ていますマウスは遺伝子改変ができますので、このメチル化領域を取り払う。制御するというところで、遺伝子改変動物を使って2カ所だけ遺伝子に改変をもたらしますと、ごらんいただきます。これは模式図で大変恐縮ですが、下段の左と右とを比べていただきますと、本来は卵子ゲノムであったはずなのに、そのエピジェネティックなパターンというのは極めて精子に近くなるということになるわけでありませぬ。これはメチル化酵素の話でありまして、シトシン、実際に入っているかどうかということ、卵子に入っているかどうかをお示ししている絵であります。グリーンに染まっているのが実際にメチル化シトシンを染める抗体で染めたものでありまして、赤ちゃんのときの卵子、ngと書いてございますけれども、これはほとんど染まっていない。核の中抜けております。しかし、発生が進んで大きくなった卵子では、卵子の中にちゃんと緑がたくさん入ってメチル化を受けたというマークでございます。実際に少しややこしいことですので、もうこれは簡単にご説明しますけれども、このような雌の新生児の卵子、二重欠損の遺伝子改変を受けておりますが、この卵子を核移植でごらんいただきますと、大きくなった卵の細胞質に入れてやりますと排卵卵子のようになります。したがって、ここで減数分裂の中期というところでとまっておりますが、半数体になっておりますが、このゲノムは一晩前までこの新生児の卵子でありました。2倍体の卵子でありました。

これを、これはほとんど要するに、精子に近い、精子のゲノムに近いものであるというふうに考えられますので、これを正常な雌、大人の雌が排卵した卵子の中に移してあげるという操作をします。そういたしますと、この2つのセットの染色体は、1つは雌型のちゃんとした修飾を受けている。1つは限りなく雄に近い修飾を受けた雌の染色体というのがそろいまして2倍体になる。

では、実際これは発生するのかと申しますと、これが見事に発生しまして、この卵子の30%ぐらいはぼこぼここと、40%ぐらい割れてきます。実際に大人にもなります。これは全部精子は一切かかわり合っていないと申しますのは、先ほどから申し上げていますように、精子と卵子のゲノムの機能差をつくり出しているのは、このエピゲノムの情報であるということが決定づけられたと申し上げてもいいのではないかと思います。

そこで、実際それではエピゲノムの修飾、具体的に申し上げれば、今回はDNAのメチレーションということで申し上げますけれども、それは一体どんなものなんだろうということで疑問がわいてきまして、私たちは——ここは時間もございますので、少し飛ばさせていただきます。

次の生殖細胞における包括的DNAメチル化解析の重要性という課題、テーマに移らせていただきますが、このように修飾というものは極めて重要であるということは決定的に違うということをご理解いただけたと思います。

では、実際にこのDNAのメチル化というのは一体どうなっているんだろうということは、これまで調べることができませんでした。できませんでした。しかし、これを決定的に詳細にすべてを明らかにしないと細胞の性質ということは特定できません。先ほど来出ているどれが正常でどれが正常ではない。あるいはほぼそうであろうとか、こういうあいまいな表現がされていましたが、これが決定されれば、さらにそれを定義づけられる。どういう性質を持った細胞なのかということも定義づけられるのではないかと思います。このような研究がここ一、二年可能になってまいりました。

先ほど来出ておりますように、このメチロームと申しますが、全ゲノムレベルにおけるDNAのプロファイル、これは細胞ごとにも違いますし、もちろんこれは体細胞間でも違いますし、動物種でも違います。さまざまな細胞で異なったものを持っていますが、これの一部が異常になれば、ここにお示したようなさまざまな表現系に異常があらわれると、極めて重要なマーキングシステムであるということがわかるわけであります。

私たちは、特にこの生殖系列に興味を持っているわけがございますから、特に雌でございませぬけれども、この生殖系列、これは全部精子ができるまでというのを発生過程でお示した絵でございませぬけれども、この生殖細胞ができる過程のすべてにおいて、このエピゲノムのプロファイル、すなわちDNAのプロファイルがどのように変化するかを全ゲノムを対象に解析したいという興味に駆られて、これはしなければいけないということで解析を始めたわけがございます。

きょうお話しするのは、この中で卵子と精子の包括的なメチル化のパターンをどうなっているかということを決めたというお話をこれからさせていただきます。

きますが、現在私たちは、この後、受精卵ができて胚盤胞という段階になりまして、子宮に着床し、それから生殖巣ができるあたりです。このグリーンの小さなものが胎児の体の中にかかれていますけれども、この絵の中で。この段階では、どのようなメチル化プロファイルができていくかということは今研究して大体データが出てきたというところでございますが、きょうは精子と卵子だけについてお話を申し上げます。

それで、たくさんございますけれども、これは読んでみると大変でございますので、かいつまんで申し上げますけれども、いずれにいたしましても、ATCGという中で特に重要なのは、シトシンとグアニンが対になった配列が重要である。そのうちのシトシンがメチル化を受ける。メチル基がくっつく。それから、この Cp、これ CpG アイランドとか CpG サイトとか申しますが、これが CpG サイトが CpG という対がたくさん並んだ領域を CpG アイランド、密集する領域ですと申します。こういった密集する領域は、遺伝子の発現を調節するプロモーター領域というのがございます。この領域にたくさん必ずあると、こういった密集地域があるということでございます。

ゲノム全体では、どのくらいこの C と p G が並んだサイトがあるかと申しますと、2,100万カ所あります。2,100万カ所です。ですから、この2,100万が本来でしたら、全部どのシトシンと CG のシトシンがメチル化されているか、されていないかを全部プロファイルできれば、非常にクリアになるはずなんです。クリアになるはずなんです。

ということで、私たちは、それを生色系列で始めた。

一番下でございますけれども、革新的ゲノム解析技術、次世代シーケンサーの出現により、全ゲノムレベルの DNA メチル化状態の解析が可能になった。これは先生方、もうご案内のとおりと思いますが、ここ数年のゲノム解析技術というのは大変急速に発展しておりまして、ヒトのゲノム決まった、10年もかかった、世界じゅうの人が動員されて10年かかったものが、今でしたら恐らく10日ほどで全部ゲノムのは、しかも100人程度のものを10日ほどで一遍に決められるというような時代になっているということでございます。

ここにお示したのは、今市販されているような、これは Illumina 社という私たちのラボでよく使っているものでございますけれども、大学のゲノムセンターで使っているものでございますけれども、Illumina 社というアメリカの会社です。しゃくにさわることには日本のものは1つありませんで、アメリカから高いものを買わなければいけないという状況でございます。

この HiSeq なのは一番新しいんですけども、大体200から300ギガというようなものを一遍にアウトプットします。というのは、人間100人分ぐらいのゲノム情報を1回の解析でこの機械1台で出してくると。オペレーター1人いれ

ば出してくるということの時代でございます。そのときの解析も恐らく200万ぐらいあれば大体できてしまうということになるかと思えます。このHiSeq2000という機械を使いまして、私は行っております。

これは、まただんだんややこしい絵になってまいります、これが全体像でございます、何を示しているかと申しますと、染色体はマウスは実は20本、20本でございます。すなわち、19番目まで番号が振られています。あとはYかXかということになるかと思えます。

この絵で示しているのは、青は精子のメチル化レベルを、赤は卵子のメチル化レベル、先ほど申し上げましたように2,100万カ所のその一つ一つがメチル化されているかされていないかを決定した図です。ただし、2,100万カ所全部カバーできたわけではございませんで、正直申し上げますと、2,100万カ所のうち、約70%から精子では80%が決定できたということでございます。今これを鋭意100%に近づけるように、さらにデータをポリッシュアップしているというところでございます。

これでは少しわかりづらいので、少し拡大した絵がここにあります。これでもまだまだわかりづらいかと思えますが、7番染色体領域にあるインプリント遺伝子を調節する領域をお示ししております。

それで、一番上、このドットで点々点々というのがございますように、下の3つのパネルでございますけれども、この青い点々で結びついたのは精子ゲノムです。この点の1つがCとGのシトシンをあらわしております。CとGのシトシンをあらわしています。それがメチル化されているか、していないか。

上のほうにぺたっと、100というところにくっついていれば、その場所のシトシンはメチル化されていますよ。それで、下のほうのゼロということにかいた、そのドットが位置していれば、そのシトシンはメチル化されていませんよという情報でございます。これが2,100万カ所全部出てくるということでございます。

それで、これはごらんいただきますと、精子は上のほうにぺたっと大体くっついていることがおおそおわかりいただけると思えますが、実は精子というのは、ほぼハイパーメチレートと申しまして、高度にメチル化されたシトシンをたくさん持っているというふうに理解できます。逆に、卵子は非常に分かれているところがございます。100%に近いところがずっと並んでいるけれども、次の場所に移りますと、今度はほとんどメチル化されていないということで、重なったところが上と下の両方に分かれていることがごらんいただけますでしょうか。すなわち、卵子はある特定の領域では高度にメチル化、ある特定の領域では低メチル化状態にあるということがおわかりいただけると思えます。

こういう領域で雄と雌、すなわち精子と卵子のゲノムで、極端にメチル化が

違う領域が存在してくるということが全部判定できるわけでございます。雄の精子側では高度にメチル化されているけれども、卵子側ではメチル化を受けていないという領域を全部スクリーニングすることができるわけでございます。これ全部で調べていくと。もちろん、大きなコンピューターを使いまして、目ではとても追っていきませんから、こういうある条件を与えまして、こういう場所は何カ所ありますかということをコンピューターに聞いて1週間ぐらい計算させます。1週間ぐらいかかりますが、全部それで出してくるということでございます。

それから、一番下の紫の点々、ドットで結んだものは何かと申しますと、これはメチル基を入れる生殖細胞のゲノムにシトシンにメチル基を付加するために必要な酵素がございます。メチル基転移酵素です。それを欠損したらどうなるのかというのを全部で調べたものでございまして、ごらんいただけますように、このメチル基をシトシンに付加するのに必要な酵素を持たないマウスの卵子では全部低メチル、ほぼ全部低メチル化になると。すなわち、この酵素に何らかの障害が起きれば卵子側では正常なメチル化が生じないということは、ごらんいただければ明らかでございます。

ちなみに、どのくらいの細胞を使ってやったかということをお知らせすると、卵子は1万個の卵子を使って解析いたしました。動物関係の先生がもしいらっしゃいますと、そんな実験は不適切であるとおしかりを受けるかもしれません。動物福祉に反すると。私たち、この研究のために2,000匹ほどのネズミを1万個を何回もやりましたので、2,000匹以上の雌マウスを供試して卵巣から卵子を集めたということでございます。これは、技術の進歩に伴い、これを解析したのは二、三年前ほどからこのプロジェクトを開始していますが、現在、私たちが持っているテクニックでは、かなりその数を減らすことができるようになったと。10分の1程度にまで、この解析を可能にする卵子の数というのは10分の1程度の数。現在は、1,000とか2,000というオーダーにまでリデュースすることができるようになっております。

精子はたくさんありますので、大した問題ではございませんけれども、いずれにいたしましても、精子も1万匹とかという数が必要になってまいります。

このことは大変重要な意味を持ちます。大変重要な意味を持ちます。これは、*in vivo*で生産された卵子・精子ですから、ほぼすべてが正常という前提のもとに話は出たデータでございます。もし、これが半分は異常、半分は正常、あるいはその中間のものはたくさんあるという状況では、このエピゲノムの情報がどのようなものであるかということをお正確に把握することは全く不可能でございます。それをやるには、一つ一つの細胞でこのような情報を解析できる技術の発達を待たざるを得ない。一卵子から一精子から、その情報が。ただ、仮

にやったとしても、その精子・卵子はつぶしてしまうわけですから、隣の精子・卵子が正常であるという証拠には一切ならないと。ですから、あくまでこれは、あるプロポピュレーションの中でどの程度の正常性があるかということとを判定するにとどまる。幾ら言ってもとどまってしまうということになるかと思いますが。

実際に、この円グラフが出ておりますけれども、上の円グラフだけで結構でございますがごらんいただきますと、卵子に特異的、卵子から来たゲノムに特異的にメチル化を受ける、ある程度シトシンとグアニンが固まった領域ですね。これが新たに1,329カ所。精子のほうでは349カ所見つかっております、1,600、1,700近い、こういった雌側のゲノムと雄のゲノムでメチル化状態が決定的に異なる領域が今回の解析からわかってまいりました。これは非常に重要なこととでございますけれども、まだまだ解析の途についたばかりでございます、これですべてが語られるものではございません。もしかしたら、一シトシンの場所のメチル化シトシンがメチル化されているかされていないでも重要な機能につながる場合もあるかもしれません。それが2つでも、あるいは3つ、どのくらいでつながるかどうかということも今後わかってくるかもしれません。

さらにわかったことは、今回はこのようなシトシンとグアニンのほかにも、シトシンとグアニンというつながったペアじゃないシトシンにもメチル化の情報があるということが最近わかってまいりました。この機能については、今のところ全くわかりませんが、これに組織特異的、あるいは精子特異的、卵子特異的ということがあるということが次第にわかってまいりまして、私たちの研究でも精子にはほとんどございませんけれども、CpGサイト以外のメチル化というのはございませんけれども、卵子のほうには幾分あるというようなこともわかってきまして、解析の対象がシトシンとグアニンの対以外にも広がろうとしていると。そうなりますと、シトシンがゲノム全体でどのくらいあるかということ、2,100万の数倍あるだろうというとてもない数になってくるわけでございます。

このようなものは、先ほど出てまいりましたが、1つだけ特徴的なメチル化酵素ということでお話しさせていただければ、Dnmt13Lという酵素を挙げておりますが、私たちが今回使いましたのは、これメチル基転移酵素の一つでございます。詳しいお話はしませんけれども、この酵素は決定的な役割を演じた。こういうものが精巣・卵巣の中では3種類から4種類ぐらい働いているというふうに考えられています。

このことは、こういったメチル化がうまくいきませんと、もちろん、先ほどiPSのところでも減数分裂のお話が出ておりますけれども、実はこのDnmtに依存的な、あるいは非依存的なでもいいんですけれども、このメチル化が正常に行

われませんと、下にお示ししているような減数分裂が正常に進行しないということもわかっておりますし、あるいは精子や卵子がもちろんできないというようなことにもつながっていきこうということでございます。

大分時間も参りましたのでまとめさせていただきますと、いかにDNAの、卵子のDNAメチル化の特徴ということを羅列させていただきました。これは、今私がお話しさせていただきましたことをただまとめたものでございますので、お目通しいただければと思います。

次に、最後になります、残る疑問と問題ということでございます。

皆様にお配りした時点の資料では、疑問だけを挙げさせていただきました。精子ゲノムと卵子ゲノムのエピゲノムの修飾の領域は一体どうやって決まっているんだろう。私たちは結果を見れるようになりました。非常に新しい革新的な技術を使って、その結果を解析することはかろうじてできるようになりましたが、どうやってそれが決定づけているんだろう。その場所にこちらだけ入りなさい。卵子側だけ入りなさい。精子のほうでは入るのをやめなさいということを決定づけてくる仕組みについては、はっきり申し上げてノーアイデアというところがあるところが世界的にもそうだと思います。

それから、DNAメチル化以外にこのようなエピゲノム修飾でほかの因子というのはかかわってくるのかと。要するに、遺伝子を発現するのに重要なエピゲノム修飾というのはあるのか。もちろんございます。これはヒストンというDNAを巻きつけるタンパク質のところに出ているヒストンというところがメチル化、あるいはアセチル化を受けておまして、このようなメチル化、アセチル化の状況によりまして遺伝子発現は大きく変わってまいります。大きく変わってまいります。

それから、これはメチル化の異常。それが異常を起こすということも、その原因も全くわかっていない。もちろん、なぜそこにメチル化が入るかがよく理解できないんですから、異常の原因もよくわからない。もしかしたら、異常の原因を理解することによって正常なメチル化がどこに入るかを決定する仕組みがわかるかもしれません。いずれにしても、今のところ、ほとんどわかっていない。やみの中ということでもあります。

ということございまして、圧倒的に、これは決定的に現在では、人為的にエピゲノム修飾を制御する仕組み、人為的にはどなたも持っていないと思います。こうやったらほとんど同じようなものができましたというのは、それは人為的にここを決定するという意図のもとにやったものではございません。精子らしきもの、卵子らしきものができたときに、ある程度一緒になりましたということを示しているだけで、その制御機構にまで踏み込んだ制御のシステムが確立しているわけではございません。

それから、問題でここのディスプレイのほうだけでしかお示ししていませんけれども、先ほど申し上げましたように、1つの生殖細胞レベルでのエピゲノムの情報を把握することは不可能です。全体を染めたり何かして何となくしているしていないということを見ることはできますが、このようなハイレゾリューション、一つ一つのメチル化される場所がしているしていないを決定することはできない。したがって、正常な発生能を支持する生殖細胞はこれだと判定することは、エピゲノムのレベルではできない。現在はできない。

それからもう一つ、さまざまな環境要因、これは胚の操作、体外培養です。これによってエピゲノム修飾に異常が生じることは広く知られております。

それで、これは吉村先生がご専門でございますけれども、体外受精児等のフォローアップスタディーの中でもそういうことが指摘されつつあるというふうに伺っております。

動物分野ではクローンが異常というのは、あるいは体外受精で生まれた子供が大きくなるというようなこともよく知られたことでございます。

それから、さらにその現象。これは野瀬先生もご指摘しておりましたけれども、一体次世代にどういう影響があるのかということについても、これからのことではございますけれども、実質的に把握することは大変困難であろうということが想像するにたかくないということでございます。

私の分野の研究、私たち中心の研究しかご紹介しておりませんが、以上でございますが、最後に私が言うのは、立場は違うかもしれませんが、私は立場は基本的に、このような研究をするのは実験動物のレベルで主でやるべきだと基本的に考えておる人間でございます。また、とかくリスクの問題でこの生殖細胞のことが議論されますけれども、本当にリスク、要するにどこまで安全性か、どこまで可能なのかという問題で議論が終始している感が私の誤解かもしれませんが、あるように思いますが、そのようなことが生み出す生命観、私たちが持つ生命観にどのような影響を及ぼすのかということのを特に倫理の先生方には私お聞きしてお教えいただきたい。

これはもう後世に任せるしかないということなのかもしれませんが、次世代に遺伝情報を残していく生殖細胞を操作するという技術をどこまでやっていいのかということは、今できる範囲の中での私たちは評価をすべき立場ではないのかなというのは、これは常日ごろ個人的に思っていることでございます。

少々余分なことを申し上げましたけれども、以上でございます。

(相澤会長) ありがとうございます。現在進めておられる研究の最先端のところと、また重い示唆もいただきました。

それでは、ご質問、ご意見いただければと思います。

玉井委員、どうぞ。

(玉井専門委員) 信州大学の玉井です。人文社会系の研究者なので先生のお話についていくのが精いっぱいだったんですが、エピゲノム変異の一部が子孫に遺伝するというようなことが、さきほどの野瀬先生のお話の中にもあったかと思えます。その点に関して、先生はあまり言及されなかったので、もしかしたら先生ご自身の研究の範囲からは少し外れる話題なのかもしれないと思いつつ、そのあたりの研究の動向と申しますか、もし、何かご紹介いただけるのであれば、大変ありがたいです。

(河野教授) 恐らく野瀬先生のお話にありましたように、今後そういった情報がどんどん蓄積してくると思います。ただ、生殖細胞を扱っている私からいたしますと、この絵の中で示しております生殖系列、このエピゲノムのリプログラミングリセットの機構というのは物すごく強力です。基本的に。

実は、例えば形態的にいろいろな状況でございますけれども、個体には発生するけれども、親に何らかの異常が生じているというようなことがありまして、多くのエピゲノムプログラム、エピゲノムのプロファイルというのは、新たに生殖細胞がつくられる過程でリセットされます。それはほぼ正常にリセットされる。ただし、これは *in vivo* の話です。生態系の中では強いプログラム、リセット機構が働いている。非常に興味深いところなんです。ただ、これからは野瀬先生のお話にありましたように、断片的にそれが異常がそのまま残っていくと。恐らく私たちが今まで遭遇しているのは、それが正常な生体の中でリセットを受ける領域の変異だけに私たちはまだフォーカスを合わせていない。それに外れた領域でエピゲノムの異常が起きた場合には、もしかしたら、この生殖系列の強力なリプログラミング機構を持ってしても、それがリセットできない場所もあるかもしれない。これは今後データを蓄積するしかないと思います。可能性は十分あると思います。

(相澤会長) 加藤委員。

(加藤専門委員) 先生が基礎研究に従事している立場でその分野のお話をされた上で、最後のほうで、安全性の議論に終始するのではなく、もう少し大きな議論が必要なのではないかということをおっしゃったのは、とてもおもしろいと思いました。一般に基礎研究の方がどういうふうにかような社会的議論に参加すべきかは非常に難しいところで、私がこうあるべきだと意見を言うよりも、少し先生のお考えを聞いてみたいのですが。

(河野教授) 多分研究者というのは突き詰めていくので、ややもすると、私自身もこれは自戒を込めてですけども、その影響ということを考えずにいく場面が少なからずあるかもしれません。野瀬先生は非常に慎重に、きょうも皆様方にいろいろな法的な問題をお聞きなさって、そういう心配ない研究者だと私は

思いますけれども、ただ、目先のことをやっていると、なかなか難しい問題も出てまいります。私も特に若い時期やっていたことは夢中になるということがございますから、ただ、いろいろなご批判を受けました。やはりご批判を多方面の方から受けました。こういう研究をやることについて。そういう中で、はたと気づいたことは、私たちは確かに基礎研究だという隠れみに隠れてやっているけれども、そこで証明された事実というのは非常にいろいろなところに影響を及ぼすと。ですから、今私は立場は違いますが、いろいろな方にお教えを願いたい。お考えいただきたいということを申し上げて、最後に申し上げさせていただきます。

それは、ただ基礎だから責任を逃れるということではないんだというふうに最近はおもっています。当然そこからやってきたことはこういう時代ですから、すぐにマウスのことはヒトでもできるはずだということは、だれもが想像がつくこととございますから、やはり私たちも一緒に、基礎だから考えなくていいということではなく、考えて、考えなければならないと。必ずしも私が幹細胞していなくても言及している。そういう立場なんです。

(加藤専門委員) ありがとうございます。非常にわかりやすいというか、私も理解できるご意見だと思います。もう一点だけ関連して、そのままお聞きしたいのですが、先生は今おっしゃったように経験を持たれてきたので、現在のよう、社会的にも理解される発言をされているのですが、例えば20代、30代の若い研究者は、本当にデータも出さないとはいけない。しかし、その中でその研究が社会にかかわるかもしれない。大きなインパクトを出すかもしれない。そういう方々がどういう形でこういう分野にかかわるかというのは非常に難しいと思うのですが、ダイレクトな先生の分野の後継者は、どうしたらよいと思いますか。すみません、大きな話にしてしまいました。

(河野教授) これは大変難しい問題だと思います。いろいろな先生方、一切規制すべきでないという先生方います。ただ、私は先ほどから申し上げていますように、そのことを考えながら、念頭に置きながら、いずれの研究者も自分の判断でやらざるを得ない。ただし、もちろんコンプライアンスで法的なものをしっかり守りながらその範疇でやらなきゃいけないということとございます。

ただ、若い人ももちろんそういうことがあるんだということを私たちは、少し先輩としては伝えていくべきだなとは思っています。

誤解を受けてはならないと思いますから、若い研究者がそういう研究をやめるということを申し上げているということでは一切ございません。これは、もうやっていただきたいし、日本の優秀な若い研究者はたくさんいらっしゃいますから、ますます世界をリードしていただきたいとは思っています。

(加藤専門委員) 規制を守りなさいということではなく、やはりベネフィット

はあるので、ぜひしっかりと研究してもらわないといけない。それが大前提だと思います。

(河野教授) ただし、よく考えてやっていただきたいということです。

(加藤専門委員) そうということです。

(相澤会長) 阿久津委員、どうぞ。

(阿久津専門委員) 先生に質問というわけではないのですが、個人的意見として、まず今回ご発表された内容は、DNAメチロームというのは、あらゆる生命現象に深くかかわっていると。根本的にDNAメチル化の確立、制御というのは、生殖細胞、精子・卵子ができる過程で重要なものがついてきているというのが非常に重要だと思います。さらに、現在、生命科学、メチル化の解析の機器の進展によって非常に細かなところ、それも膨大な領域もマウスで解析できるようになったというのがお話の内容だったと思いますが、例えば、産婦人科で妊娠中の病気、子供の発育が悪い子宮内胎児発育遅延だったり、妊娠中に合併する病気の多くが胎盤に起因すると言われていて、最近はそれもエピジェネティックな異常がそれに起因するのではないかというふうにわかってきました。さらには、病気の中には、エピジェネティックな乱れも影響しているということも指摘されています。それをもとにたどると生殖細胞ができる過程であったり、受精後の発生にまで関連性をさかのぼることになってきていると思います。ですので、生殖細胞の分化、幹細胞からの分化研究というのは、単純にそれを不妊治療に使う生殖医学というだけではなくて、多くの疾患の病気のメカニズムを解明する重要性があるのではないかと思います。ここまで基礎研究の知見や解析技術が上がったのだし、ヒトでは当然できないので、ヒトでできるとなったら、*in vitro*の幹細胞からの分化研究というのがベースに、それをもっとプリサイズなものにすれば、不妊の原因だけではなくて、これまでわからなかったあらゆる病気が原因としてリサーチできることになるんじゃないか、というのが非常に重要なのではないかと思います、いかがでしょうか。

(河野教授) 私、そこまで踏み込んで私の意見をお話しすることは控えたいと思いますけれども、役に立つのは間違いないと思いますし、今申し上げたように、精子・卵子のメチロームというのは基本的にはその後の発生のすべてに影響を及ぼすということは間違いないので、今阿久津先生のご意見は私は事実だと思います。間違いないと思います。

ただ、それを今後やるには大変な資金力と組織力が必要になります。一方で、こういった研究は私たちの小さなラボでやっているような状況ではないと思いますが、なかなか包括的な研究組織は日本にはできていない。できているのはアメリカと中国は物すごい勢いでできているというようなことです。

(相澤会長) どうぞ。

(森崎専門委員) 大変興味ある、あるいは重要な問題と現状を紹介いただきました。

最後に疑問とそれから課題、現代の困難点というのを述べられたところで、1つ私が気になったというか、今後多分、近未来に十分それをクリアされるであろうという点は、1細胞の生殖細胞でのエピゲノム情報の状況の把握は現在不可能であるということ述べられましたが、現在可能になった全ゲノムの配列解析が比較的どこのラボでとは言いませんけれども、容易になった現状を考えると、機器開発、あるいは解析手法の進展に伴って1細胞レベルで変化をすることは短い時間の間に十分可能になるだろうということは予想できると思います。そうすると、生殖細胞がどのようにしてできるのかという過程、あるいはそこにおける修飾の情報の変化をもたらす変化というものが十分把握できるようになるということになるので、マウスの研究だけではなくて、当然その技術はヒトの疾患の本質に迫るような情報にもつながることをある意味では根拠の話が述べられているように思いました。そう考えてよろしいかどうかだけ確認させてください。

(河野教授) おっしゃるとおりだと思います。このゲノム解析技術の革新的な進歩というのは、私たちの想像をはるかに超えているということだと思います。1年前の機械を買って損したなというのは、1億円もするようなのを買っておいて、すぐ新しいのが出てパフォーマンスは何倍もするわけですね。ああ、どうしようという事態が起きていますから、恐らく技術、早く読むということと、少ないサンプルで読むという両方の技術は、革新的に進んでいくだろうと思います。それは間違いないと思います。

ただ、私、1細胞というレベルになったときに、どこまで再現性の高いデータが取れるかということについては、少なくともここ一、二年でそれができるかどうかということはなかなか難しいかもしれません。仮に、それがとにかく少なくなればなるほど病気、疾患、分化の異常等々、脱分化を含めて、どの時点でどの細胞がどのような変化をしていくかということがすべてスクリーニングできてくるということになるかと思いますが、その技術の開発というのは、貢献度というのは、はかり知れないのは間違いない。先生がおっしゃったとおりだと思いますし、近い将来間違いなくできてくるんだろうなというふうに私も思います。

(高木専門委員) メチル化異常によってある疾患が起きていたとすると、今後それを治療するというような方向というのは、あるんでしょうか。

(河野教授) それは先ほど申し上げましたように、メチル化を入れたり抜いたりするということが全ゲノムレベルです。いろいろな主役がございましてでき

ます。ただ、つけることは余分なところにもついてしまう。抜くときには余分なところも抜いてしまうという。要するに、狙ったところ、必要なところだけ入れる、取るという操作をすることがなかなかできない。それは、先ほど申しましたように、そこに入れという命令はどのように決まっているのかと。それがわからないんですね、今のところ。だから、わかったとしても、それをそこだけ入れるような技術ができるかどうかというのは、また次の非常に高いハードルになろうかと思えます。

(相澤会長) 水野委員、どうぞ。

(水野専門委員) 先生は先ほど基礎研究は動物レベルで、そして、ヒトには非常に慎重におっしゃいました。私もそう思いますけれども、一方で、DNA情報や不妊治療の技術については、社会の人々のほうにそれにアクセスしたいという欲求が強くあります。例えば、DNAの解析についても、自分のDNA情報を詳しく知りたいとか、あるいは不妊治療の場合ですと、体外受精はもう広く行われていますし、代理懐胎をやりたいというニーズもあります。そういうニーズがあり、それが自己決定という形で正当化されて、社会においてはヒトに実際にどんどん適用されていくという問題があります。

数年前に、私は吉村先生や町野先生と一緒に日本学術会議で代理懐胎についての議論をいたしました。違う専門の学者が集まりまして、ある種の異分野格闘技みたいな議論になって、大変な1年余りでしたが、そこに生物学者の方が参加しておられて、代理懐胎について非常に消極的でいらしたのが、とても印象的でございました。エビデンスは出ていないけれども、エピジェネティック変化で何が起こるかということについて、まだ我々には全然わかっていないのだと強くおっしゃったのです。

ニーズの声に押されて危険なことが社会でヒトに行われていく現状に対して、生物学者、基礎研究の先生方のほうで、むしろ積極的にその危険性について発言して頂く必要があるように思います。先ほど次世代への影響は把握が困難だとか、あるいは体外培養はエピグラムへの影響は明らかであることをおっしゃいましたけれども、そういうことをむしろ積極的に発言をしていただくことが、対社会的には意味があるように思います。

(河野教授) 私も実は吉村先生の学会でお世話になっている1人ですし、また、この不妊治療の分野で働く技術者を養成している一人でありまして、深く不妊治療には携わっている1人かなというふうに理解しています。

不妊治療自体は、これはこのこと自体が問題だと申し上げているわけではありませんし、また世界的な中でも非常にルールがだんだん厳密になり、それから調査等もやられているということで、その評価系というのが確立されつつあるというふうに理解しています。

ただ、そのことと生殖細胞に、生殖細胞を人為的に操作したり、それからそれを生産するということとの違いは明らかにしておいたほうがいいだろうと。その延長線上に直接不妊治療があるという考えではないんじゃないかなというのが私の立場なんです。

常に生殖細胞のことをやると不妊治療というのは、実はそこに大きな一線があるということは念頭に置かれたほうが私はいんじゃないかというふうに考えています。

それからもう一つ申し上げます。生物学者が比較的後ろ向きだというのは何となく私はわかるんです。漠然とした不安を覚えるんです。やっていて漠然とした不安を覚えるんです。多分、それが根底にあるんじゃないかなと思います。（相澤会長）ありがとうございます。

きょうお二人から伺った内容でも、これからこの生命専調で議論していかなければならない問題点、それから今後の進め方、そういうようなことがいろいろと際どいところで抗争しているなというふうな印象でありました。

そこで、この次の専調でも引き続きヒアリングを行わせていただきます。そして、そういうようなことを経て次のステップへという形に進みたいと思います。

それでは、事務局から次回の予定をお願いいたします。

（山本参事官）きょうの議事録につきましては、いつもと同じように、皆様にご確認をいただいた上で内閣府のホームページ上に公開させていただくという手順をとりますので、よろしくをお願いいたします。

それから、次回の会合ですが、既に前回予定を申し上げましたとおり、5月25日で時間は13時からの予定をしておりますので、よろしくをお願いいたします。

以上でございます。

（相澤会長）それでは、本日の専調はこれで終了させていただきます。どうもありがとうございました。