

総合科学技術会議
第67回生命倫理専門調査会議事概要（案）

日 時：平成24年6月22日（金）13：00～14：44
場 所：中央合同庁舎第4号館 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、今榮東洋子
（専門委員）

阿久津英憲、高木美也子、田辺功、樋口範雄、
町野朔、水野紀子、森崎隆幸、吉村泰典
（招聘研究者）

若山照彦 山梨大学生命環境学部生命工学科教授
佐々木えりか （財）実験動物中央研究所応用発生学研究部部长
事務局：倉持隆雄政策統括官、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）胚作成の研究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

・動物クローン技術の現状

若山照彦 山梨大学生命環境部教授

・ヒトおよび非ヒト霊長類における胚作成技術の研究動向

佐々木えりか 実験動物中央研究所応用発生学研究部部长

3. 閉 会

（配布資料）

資料1 第66回生命倫理専門調査会議事概要（案）

資料2 「動物クローン技術の現状」

資料3 「ヒトおよび非ヒト霊長類における胚作成技術の研究動向」

議事概要：

(相澤会長) それでは、定刻になりましたので、第67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お集まりいただきまして、ありがとうございます。

まず最初に、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、お手元の資料をご確認ください。

議事次第、それから座席表の後、資料としては3種類ございます。1つが前回の議事概要(案)でございます。それから、資料の2というのが「動物クローン技術の現状」という資料でありまして、それから資料の3が佐々木先生からの発表の資料と、この3種類がございます。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、議事に入りますが、最初に、前回、66回目の生命倫理専門調査会の議事録でございます。

既にご発言の部分については各委員のチェックをいただいているところがございますので、全体を見ていただいて、お気づきの点がありましたらお申し出いただきたいと思いますが、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、承認とさせていただきます。

本日は、2件のヒアリングを予定しております。これまでと同じような進め方で、各専門分野の最新情報をお伺いするところでございます。

本日の最初のヒアリングは、山梨大学の若山照彦生命環境学部教授から、動物クローン技術の現状と今後の課題についてということでお話をいただきたいと思っております。

若山先生、よろしく願い申し上げます。

(若山教授) 若山照彦と申します。よろしく願いします。

4月から所属は移っているんですけども、環境が整っていないということで、この1年間は神戸の理研のままで実験を続けています。

では、早速始めさせていただきます。

大体こんな感じの話をざっとしていきたいと思っております。クローン動物についてという話と、それからクローン技術を使ってつくられるES細胞、それからクローン技術の将来の話です。

まず、異常について簡単に、本当に簡単に紹介していきます。

クローンマウスで、僕のメインは動物といっても本当にマウスしか使っていませんので、マウスの話がほとんどになります。

これはクローンマウスで、特に異常のひどかったもので、こんなのがしょっちゅう生まれてくるわけじゃないんですけども、これは例えば胎盤が巨大、

それから腸がはみ出て、それから頭蓋骨がなくて脳みそが露出している、生きて生まれてきています。

胎盤の話ですけれども、これはクローンマウスの胎盤、こちら側が同じ条件でつくられた自然なマウス。胎盤というのは自然な条件で、絶対にこれ以上大きくはなりません、逆にクローンマウスは例外なく、必ず2倍から3倍の大きさになります。

それから太りやすくなるという、こちら側がクローンマウスで、こっちが同じ条件、同時につくられた、コントロールしてつくられたマウスで、同じ飼育環境で、えさと水の量も同じにしているんですけれども、クローンマウスは太りやすくなるというようなことがわかっています。

これはその異常をまとめたものなんですが、例えば胎盤の巨大化は100%、すべての個体で起こります。それから、例えばエピジェネティックな異常DNA Methylationとか、それからマイクロアレイを使った遺伝子の発現に関しては、この「？」がついているのは、調べた個体に関してはすべてが異常ということで、調べていない個体のほうが多いんですけれども、調べた限り異常。それから、早く死にやすいとか、太りやすい、こういったのは個体差があって、早く死にやすいといっても死なない個体もあります。太らないのもあります。

ちょっと前のレビューなんですけれども、例えばエピジェネティックな異常というのがわかってきました。受精卵の核を見ると、この赤いのと青いのが受精卵のほうの卵子とか精子の由来の核を示している、エピジェネティックな状態を示していますけれども、クローン胚というのはその中間みたいな感じで、エピジェネティックの観点から見ても異常であるということがわかってきました。

じゃ、そのエピジェネティックな異常がわかっているならば、それを薬で無理やり修正してやればいいんじゃないかということで、そうすれば成績が改善できるのではないかということで、成績の改善ということが、いろいろな実験をやっているんですけれども、その中で成功した例として、エピジェネティックな異常を薬で改善するという方法があります。

例えば、TSAというのはトリコスタチンAという薬ですけれども、これはHistone Deacetylase Inhibitorで、簡単に言うと、このTSAという薬を加えると、ヒストンのアセチル化が高まって、結果的にクローンで特異的に見られるメチル化の異常をなくす、TSAという薬を加えるとエピジェネティック異常をなくすという薬です。

加えなかった場合、コントロールとしてゼロ、加えなかった場合はクローンの成績は1%ぐらいだったんですけれども、このTSAという薬をわずか5ナノモラー、ものすごい薄い濃度、5から50ナノモラーというすごい薄い濃度

を加えると、成績が6倍ぐらいに上がるということがわかりました。

ナノモーターというのものはものすごい薄い濃度で、僕らがやる以前からTSAはクローンで試みた人たちもいるんですけれども、常識的な範囲、マイクロモルとかの範囲で使うと逆に毒になってしまって、この実験でも500ナノモーターではもう既に成績が下がっていますから、ナノよりも大きいマイクロの単位でやると毒になるということがわかってあきらめていたんですけれども、薄い濃度だと成績が上がるということがわかりました。

結果的に、これ全部一度の実験で生まれたクローンマウスなんですけど、実はクローン、イメージ的にはこんなのをイメージしていると思いますけれども、実はこれ以前の実験では、1日にどれだけ実験しても1匹か2匹しか生まれないというのがクローンの現状だったんですが、この薬、エピジェネティックな異常を直すという薬を加えることによって、何となくSF的なイメージの同じ同一個体をたくさんつくることがちょっとずつ可能になってきました。

また、TSAという薬は、このようにTSAという薬を加えるとハイブリッドという雑種のマウスやICRというマウスには効果があるんですが、最も有名な近交系、世界で使われている大部分のマウスはこの辺のマウスが使われているんですけれども、それは同じ働きをする別の薬を加える、スクリプタイドという別の薬ですけれども、を加えるとつくることができるようになりました。

なので、エピジェネティックな異常を直すにしても、薬の種類によって効き目が、マウスの種類によって効き目が違うと、そういうことがわかります。

その結果、それまでつくることのできなかつた、数が増えただけじゃなくて、つくることができなかつたマウスの種類からでも何とかつくることができるようになってきました。

それから、これはその後の話なんですけれども、このエピジェネティック異常を直す薬は、逆に卵の中にあるHistone Deacetylase、HDACというものを阻害するんですが、これは卵にとって必要だからあるわけです。HDACを阻害するとクローンの成績は上がりますけれども、これは卵にとって必要です。

なので、自然な発生ではTSAを使うと子供が生まれません。なのにクローンの場合、それがあると生まれてくるということから、もしかしたら、これは仮説ですけれども、従来、成績が悪い原因というのは初期化が不完全とか、不完全という言葉がよく使われていましたけれども、実は卵というのは初期化をし過ぎるのかもしれない。卵の初期化因子かもしれないHDACを阻害することで何とか成績が上がったのかなと、そんなふうに考えてちょっと実験をしています。

次に、今のはエピジェネティックな異常に関する成績改善の方法の話だったんですが、最近の研究者はだれもが、エピジェネティック異常を直せば成績が上がるんだというふうに考えているんですが、僕のところはどちらかというと

モレキュラーよりかはテクニック、テクニシャンという感じで研究していますので、そんなエピジェネティックな異常よりもテクニックの改善で成績が上がるんじゃないかということを考えています。

というのも、クローンマウスをつくるためには、マイクロマニピュレーターを使って卵にかなりのストレスを与えます。そのストレスというのは、本当に物理的なものとか、いろいろなものがあると思うんですけども、それだけストレスを与えれば、エピジェネティックな異常とかそんなの以前に質が下がって生まれなくなるかもしれません。なので、テクニックの改善とかについてもいろいろ実験をしています。

ちょっと細かいのを省略して、どんな実験を、いろいろな実験をやっているんですけども、その中で当たりの実験を1つ紹介します。

クローン胚をつくるためには、必ずCBと言われている薬、サイトカラシンという薬を使います。これは世界中すべてのクローン胚で作業上必要だから使っています。細胞をやわらかくしたりして核移植がしやすくするための薬です。だれもがサイトカラシンを使っていて、これは標準なので、これ以外の薬の報告はそんなないんですけども、それよりも同じ働きをする、少し違うメカニズムの薬、LatAというのを使ってみました。クローンをつくるときに必ずこの薬が必要なんですけれども、似たような働きの違う薬、LatAというのを使った実験です。

この図は、エピジェネティックな異常がどうなったかというのを示したもので、例えば白いバーは受精卵です。白いバーが受精卵、これをエピジェネティックな異常、異常というか、エピジェネティックなレベルで見ると、1とします、これを1とします。受精卵を1として、クローン胚、赤いのがサイトカラシンを使ったもので、青いのがLatAを使ったものですが、受精卵と近ければエピジェネティックな異常がないということになります。

それに対して、こちらのヒストンに関してはエピジェネティックな異常がある、クローン胚にはエピジェネティックな異常がある。CBを使ってもLatAを使っても異常はある。こちらも、CBを使ってもLatAを使っても異常がある。こちらは1よりも下がっていますので、これも異常。ですから、サイトカラシンを使ってもLatAを使っても、エピジェネティックというのに関しては修正できません。

ところが、エピジェネティックではなくて物理的な内部構造、アクチンフィラメントに関して調べてみたところ、受精卵には細胞膜の表にあるアクチンフィラメント、これが正しい受精卵、正しい形態です。それに対して、サイトカラシン処理した卵は、アクチンフィラメントが異常に細胞質の中に蓄積していたりします。LatAは少し蓄積しているんですけども、かなりサイトカラシ

ンよりかは受精卵に近い、つまりエピジェネティックな異常とかじゃなくて、構造的に、物理的に大分受精卵に近づく。

その結果、異常がなくなる、アクチンというエピジェネティックじゃないところの異常がなくなる。

そして、出産率を調べてみたところ、サイトカラシンを使った場合、従来の方法です、これが普通の方法。従来の方法ではクローンマウスの出産率は5.9%ぐらい、これが今の平均的な出産率です。

それに対して、LatAという同じ働きの違う薬を加えると13%まで上がるというふうになっています。これは何度も言っていますように、エピジェネティックの改変ではなくて、テクニックの改変ということで、最近ではエピジェネティックがどうこうという、必ず皆さん、研究者たちが集中していますけれども、まだまだ技術的にも、核移植技術は技術的にももっともっと改善しなければいけないことがわかつています。

次に、今度は初期化を促進するというのが今までのお話だったんですけども、というか成績を上げるというような話だったんですけども、今度は、もう成績を上げるというのはあきらめて、あきらめてというか現状のままで、その中からいい胚だけを選び出すという、そういうテクニックです。

ただ、問題点として、いい胚を選ぼうと思っても、胚盤胞という初期発生の段階まで培養しても、いい胚はもちろん、悪い胚もきれいな胚盤胞まで発生してしまいます。移植した後でそれが流産するというのでだめなのはわかるんですけども、胚盤胞までの段階ではいいかどうか区別できません。肉眼というか、明視野では区別できません。

何かいい手法はないかということで、うちの部屋で新しい顕微鏡をちょっとお金をかけて開発しました。クローン胚を蛍光観察して、そして長期間培養するということです。

こんなのよくありふれた話だと思えますけれども、実は蛍光観察、長期間培養した細胞というのは、その後どうなっているか、だれも知りません。その時点で生きていても、もうダメージが蓄積して死んでいるかもしれない、というのも、蛍光観察はUVライトを当てるために毒性が強くなります。

僕のところでは超高感度カメラとかいろいろなものを組み合わせて、長期間UV蛍光観察をしながら長期間観察しても子供が生まれるという機械を初めてつくっています。それを使ってクローン胚を1細胞期から桑実期胚までイメージング、蛍光観察しながら桑実期胚まで培養します。そして、移植前にコンピューター解析を行って、そしてこれらの胚にどんな違いがあったかというのを見えています。

蛍光観察の利点は、肉眼では見られないところまで見られるという、そうい

うので実験を行う。これがそのモデル、一般的な、これは単に見ているだけの映像ですけれども、こんなふうに蛍光観察をしながら長時間培養することが可能になりました。赤いのが核、ヒストンを染めているので、RFPで赤く染めているのが核。緑色はチューブリンで、細胞質とか分裂の状態を示します。

この利点。これはもう一つ利点がありまして、マウスなんかではトランスジェニックとかを使ってこういう観察はよく行いますが、このシステムは普通のマウス、遺伝子組み換えとか使っていない普通のマウスで核を赤くしたり、チューブリンを緑にしたりとかというので、言ってみればトランスジェニックはマウスしかいませんけれども、ヒトの卵でも、僕はヒトのことは一切やりませんけれども、ヒトでも核を光らせて細胞膜を緑にするなんていうことが可能になるといって、そういう方法です。

ここまで培養した後で、コンピューターにかけて、それぞれ1個1個の胚がどんなふうに発生していったかというのを後から見るができます。それを見ることによって遡及解析、レトロスペクティブというのがありますけれども、選別をします。

どんなふうな選別をしたかというのと、胚盤胞まで、桑実期まで培養した段階で振り返ってみて、スピードの速かったものとか、同時に2細胞から4細胞になるときに、それぞれの割球が同時にぱかっと割れる胚とか、核の大きさや核の数など、それから今回初めてわかったこと、一番最後の染色体に関してだけ紹介しますが、実はこの実験によって初めて染色体が結構おかしくなるということがわかりました。染色体異常について紹介しますが、この解析によって初めてわかったことです。

これが1細胞期の状況で、雄と雌の核みたいな感じで2個ありますけれども、これは1細胞期です。1細胞期の核が融合してメタフェーズになって、アナフェーズ、テロフェーズになって、これは2細胞期です。こういう映像です。

その際に、普通だったらこういうふうにきれいに分離するんですが、Abnormal Chromosome Segregationという名前をつけていますけれども、ACSという卵は分離する際に、ここに見えていますように小さな染色体が1個はぐれてしまいます。こんなことはよく見つかってきました。よくあるということがわかってきました。これをACS、Abnormal Chromosome Segregationというふうに呼んでいます。

それはいつ起こるかというのと、いろいろな時期で起こるということがわかりました。1から2細胞期になるときにも起こりますし、2から4細胞期になるときにも起こりますし、4から8になるときにも起こります。

ただ、このような染色体異常が起こっても、それぞれみんなきれいな桑実期胚になります。なので、染色体異常が起こっていても外見では区別できません。

こんな感じでちょっと紹介しますと、今ここに染色体異常が起こっているのが見えていると思いますけれども、1から2細胞期になるときにこういう異常が起こります。ここに小さな点がある。それから、今度は2細胞期から4細胞期になるときに、ここに赤いがありますね、こんなふうになります。それから、4から8になるときにも、たしかこの辺なんですけれども、もう終わっちゃいましたけれども、こんなふういろいろな時期で染色体異常が起こるといいうことがわかってきました。

今度は、これ遡及解析できますから、異常が起こったというのがわかった段階でさかのぼって、顕微鏡の中で起こっているのと起こっていないのを分けることができます、移植する前に。なので、解析した後でいつ起こったかというのを調べて、起こっていないもの、それから起こったものとして分けて、それぞれを子宮に戻します。

その結果、予測されるのが、染色体異常が起こっていなければ子供になるし、染色体異常が起こっていれば子供にならないという予測だったんですが、大体そんな感じなんですけれども、染色体異常が起こっていなければ、そういうのだけ選べば7%ぐらい子供になります。

ところが、染色体異常が1から2細胞期に起こったものとか、2から4に起こったものは子供になりません。でも8から16細胞期で染色体異常が起こっていても、それは子供になるということがわかりました。胎盤のほうにこの異常のやつがいつてしまえば、子供は異常じゃないということになります、こんなことがわかりました。

それから、今度はこの方法を使って、一個一個移植と言っていますけれども、一個の卵を1匹のレシピエントマウスに移植することで、1細胞期から出産までを全部追うという実験をしました。

こんな感じでライブセルイメージングをいた後で、一度に100個ぐらいイメージングするんですが、その中でその卵をA、B、C、Dというふうに分けていきます。1個を子宮に移植します。1個では子供になりにくいので受精卵を混ぜてあげますが、1個のクローン胚を子宮に戻す。生まれてくるのを確認します。生まれてきた後で、これが生まれてきた、じゃこの卵は、このマウスの卵はどんなものだったかというのを後から遡及解析をして、Aというのはこんなふうに胚が発生したのか、そうすると子供になるのかということがわかります。

実際にその実験をした結果、このクローンマウスは、卵はこんなふうに発生をしていったということがわかりました。これちょっと変ですけども、こんなふうになる。このマウスはこんなふうに発生する。これがわかったことで、こういう発生パターンに共通する発生パターン、成長スピードとか分裂パター

ンとか、そういうのを見つけ出すことができれば、そういう発生をすればそれは必ず子供になるということがわかんと思います。

なので、まだ、これは確実に選別方法を見つけ出すところまでいっていませんけれども、幾つか指標が見つかりつつあるので、いずれ確実に子供になるという胚を移植する前に見つけることができるようになるかもしれません。そうになると、確実に子供になる胚と子供にならない胚というのを胚盤胞の段階で知ることができて、それぞれを比較、アレイをかけたり比較することで、なぜならないのかということの原因とかがわかってくると思います。

もう一つ、今度は正反対の実験です。今のは僕のところで開発した高い蛍光顕微鏡を使った実験なんですけど、蛍光顕微鏡には弱点があります。その弱点をなくしたのが実験なんですけれども、何であれ、UVライトを使うということで光毒性が出ます。そして色が退色してしまうとか、高くて、これはクローンとは違う話ですけれども、後進国などでは蛍光顕微鏡が使えないので、そういう観察はできません。

どういうことをしたかというのと、僕のところで新しい蛍光顕微鏡じゃなくて普通の顕微鏡で蛍光観察をするという実験をしました。

例えば、蛍光顕微鏡は水銀ランプを使います、UVランプを使います。そうすると、UVランプのエネルギーのパワーというのはこんなにもものすごく高いんですが、ハロゲンランプ、普通のランプはエネルギーがこんなに低いので、蛍光色素を発色させるためのエネルギーとしては、ハロゲンランプは余りにも低過ぎて使えない、そう信じられていました。

ところが、オリンパスと共同で新しいアダプターみたいなのを開発して写真をとってみました。これは胚盤胞の写真なんですけど、僕らが開発した新しいアダプターを使った普通の顕微鏡で見た映像と、高価な蛍光顕微鏡を使ったものとほとんど遜色のない写真がとれるということがわかってきました。

こんなふうに、これも普通の顕微鏡で蛍光観察したもの、今まで普通の顕微鏡では蛍光観察なんかだれもできなかったんですけれども、簡単なアダプターをつけることでできるようになりました。

その技術をクローンに応用したものがこれなんですけど、今まで核を、クローンをつくる時には卵から核を抜かなければいけないんですけれども、核を抜くためには核が見えるようにしなければいけない。見えるようにするためには、このように蛍光色素を入れてUV観察しなければ見えなかったんですが、この技術を使うと、核を染色することは必要ですけれども、UVランプを使わずに核を染色することができます。

しかも、これ5分後、今インジェクションしてこんなふうにボーっとしていますけれども、色素がだんだん、5分もたてばこんなふうに見えてきて、簡単

に抜くことができるようになります。5分も待ってられないので、先行きませんが。

UVライトを使っていないので退色がありません。UVランプを使うと核がこんなふうによく光るんですけども、30秒もすると、もう核は全く、蛍光色素が退色して見えなくなります。ところが、ハロゲンランプという弱い光を使うので退色しません。10分間連続観察していても色素が残っています。

なので、こういう安い普通の顕微鏡が蛍光観察可能になってきたという技術です。この技術を使うと、例えばヒトの卵はUVランプを当ててはいけないというふうになっていますけれども、ヒトの卵でも蛍光観察が可能になる、UVランプを使いませんからできるなんていうこともありますし、発展途上国なども普通の顕微鏡を使って蛍光観察できるので、クローン技術がどんどん普及するのかなと思っています。余談ですけども、中学、高校でも蛍光観察が可能になる、そういう顕微鏡がつくられるようになると思います。

次、クローンのES細胞について簡単に。

クローン技術というのは、最初に何度も言っていますように、成功率が非常に低くて一、二%だったんですが、クローン胚からES細胞をつくるというのは成功率が10倍以上高くて、簡単につくれます。クローンマウスをつくるのは難しいんですけども、クローンES細胞をつくるのは簡単です。僕らnuclear transfer ES、ntESと呼んでいますけれども、クローンES細胞のことです。

クローンES細胞は、受精卵、言ってみれば卵子からつくられていますから、受精卵ESと比較しました。いろいろな実験で比較をしています。DNAマイクロアレイとか、いろんな解析結果、いろいろしたんですけども、僕らがつくったクローンES細胞と受精卵からできた普通のES細胞との間には違いがないという結論になっています。

それに対して、僕はiPSの仕事を全くしていませんから、これは僕の意見というか、聞いた話ですけども、iPS細胞というのはエピジェネティック異常がたくさんあるために、つい最近、新聞にも出ていましたけれども、何十ラインか調べていいのを選ばなきゃいけないとなっていますけれども、クローンES細胞というのはどのラインも受精卵と同じようなES細胞ですから、クローンES細胞のほうがiPSよりもESに近いかもしれません。

倫理問題、ここら辺もざっと飛ばしますが、問題点として、核移植が難しいということ、習得に半年以上かかるという技術、iPSに比べてかなり難しいですし、半年かかってできるというのはやる気のある人であって、やる気のない人は一生かかってもできません。

また、卵子の提供、これはこの会議ではご存じのとおりだと思います。

僕らがそれに対する回答として一つ報告しているのは、不妊治療で失敗した

卵、体外受精に失敗した卵が、失敗した段階でもう古くなっているのを捨てられてしまいます。再利用はしません。その捨てられてしまう体外受精に失敗した卵子を使った実験です。

古い卵子を使うと、これは新しい卵子を使った場合のクローン胚、クローン胚はきれいな2細胞期になります。それに対して、古い卵を使うと、2細胞期にはなるんですけども、何か小さな粒がいっぱいついて変な卵になります。

だからこの実験は失敗だろうと思ったんですが、その卵を使ってクローン胚をつくって、胚盤胞をつくって、そこからクローンES細胞ができるかとやったところ、フレッシュな卵を使った場合、16%でクローンES細胞ができました。それに対して、これAged Fertilization-Failure Oocyte、つまり体外受精に失敗して古くなった卵、6時間たった卵とか、24時間室温に放置しておいた卵を使ってもクローンES細胞はできる。

ですから、卵の提供という倫理問題は一つ回避できそうなこと。もう一つは、この古くなった卵を使うとクローンマウスは生まれません。新鮮卵子を使うと、このときの実験では2%ぐらいがクローンマウスになるんですが、この古い卵子を使ってクローン胚をつくと、クローンES細胞は樹立できますけれども、子供にはなりません。ただ、797個使ってできなかったからといって、1,000個やれば1匹生まれるかもしれませんから、絶対につくれないとは言えませんけれども、生命の萌芽にはちょっとならないかもしれません。

応用の話を少ししますと、例えばこれは共同研究でニューヨークのグループとやったんですけども、パーキンソンマウスのしっぽからクローンES細胞をつくって、それを自分自身に戻すということに、この実験が世界で初めて自分自身に、自分のしっぽから自分に戻したという実験の初めての報告例です。

それから、僕の部屋の専門では、不妊マウスから子供をつくるというようなことなんですけれども、ntES細胞、クローンES細胞の技術を使って、こんなふうにミュータントマウスとか年寄りマウス、もう自然では子供をつくれないうんですけれども、クローン技術がなかなか成功率が悪いので、クローンをつくろうとしても失敗する例のほうが多いです。

ところが、クローンES細胞というのは簡単に樹立できるので、失敗するような実験系ではクローンES細胞もつくります。このクローンES細胞をドナーとして、もう一回核移植します。そうすると成功する場合もあるということで、クローンES細胞というのは、再生医学に使われるiPSの前の時代の再生医学に使うものだというふうに考えている人が多いと思いますけれども、クローンES細胞というのは僕の分野にとっては、クローンマウスをつくる、クローン動物をつくるための材料をよくするための手段というふうに考えています。

最後、将来に関してなんですが、これに関しては僕のところは再生医学に関

して一切関係なく、動物をつくるということですから、そっちのほうをやっています。その中で絶滅動物の話、余りこの倫理委員会に関係ないかもしれないんですけども、絶滅動物の復活などの実験をしています。

よくマンモスの復活とかという話が出ますけれども、凍結死体は完全に細胞も死んでいます。これまで死んだ細胞からはクローン技術を使ってもつくれなかったんですが、ですから、クローンに成功した後でも絶滅動物の復活というのはSFの世界かなと思われていたんですけども、別の実験、精子というのは凍結や凍結乾燥して細胞、精子が完全に壊れて死んでいても、顕微授精すると子供になるということがそれ以前の実験でわかっています。

例えば、精子をフリーズドライにするとこんなふうに粉状になってしまって、室温で保存できるんですけども、その電子顕微鏡で見ると、フリーズドライ精子はもう細胞膜が壊れていて、完全にぼろぼろで、細胞としては死んでいません。ところが、その死んだ精子を使っても、顕微授精して卵に入れてあげれば、死んだ精子であったとしても子供が生まれる。精子ならば細胞が死んでいても、核が壊れていなければ子供になる。

では、体細胞ではどうかということをやってみました。

これは、16年間冷凍庫の中で凍らされていたマウスで、これをもらって、この中から体細胞を取り出します。ここが実は1年間以上かかって一番難しかったところなんですけれども、死体から核を取り出すという技術を開発して、この核を使って、こんなふうに核を、従来は細胞を、体細胞から細胞をとるんですけども、この実験ではもうダイレクトに核だけをとってしまいます。その核を卵の中にこういうふうに入れます。ダイレクトのクローンはつくれなかったんですが、この死体からntES細胞、クローンES細胞を、凍結死体の脳細胞なんですけれども、クローンES細胞をつくってみました。そうすると、16年間凍結されていた凍結死体からでも、10ライン、2.4%なんですけれども、樹立することができました。

16年たって、これはクローンES細胞の樹立成績です。凍結する前はこれだけなんですけれども、なぜか1週間ぐらい凍結すると成績が上がって、また下がっていきますけれども、16年たってそんなに下がりません。ですから、もしかしたら1万年たってそんなに下がらないかもしれませんが、16年間凍結されていても、クローンES細胞の樹立は可能であるということがわかりました。

このクローンES細胞を使ってもう1回、クローンES細胞を使ってクローンマウスをつくるのは失敗したんですけども、クローン胚からクローンES細胞をつくるのには成功しました。このクローンES細胞を使って2回目の核移植をします。そして、クローンをつくろうとしたところ、この16年間凍結されていた死体からでも、このntES細胞、クローンES細胞を使うことでクローンマウスを

つくることに成功しました。

これがこのクローンマウスで、もともとはこんな凍結、かちんかちんに凍った凍結死体なんですけれども、クローンES細胞という技術を真ん中に挟むことでドナー細胞がよくなって、クローンマウスをつくることに成功しております。

マンモスの復活なんてあるのかどうかですけれども、例えばこれは予備実験なんですけれども、このクローン胚、どこからつくったかというところ、スーパーで買って来た肉を使って核移植をしても、染色体が異常になっているのもあるんですが、まともなものもあります。ですから、凍結されている組織がよければ、これはマウスの卵なんですけれども、他の動物でもできるだろうと。

問題点としては、マンモスはもう絶滅しているんで、マンモスの卵子もマンモスの子宮も、手に入りませんけれども、ゾウを使うとかということができると思います。実際に、ウシや水牛間では異種間胚移植で成功していますし、本当かどうかわからないですけれども、イヌとオオカミの間でも成功しているというのがあります。

また、クローンES細胞をつくるだけならば、卵子があればいいだけで子宮はいりませんから、樹立成績も高いので、例えばマンモスのクローンES細胞というのが最初に成功するかもしれません。

次に、永久凍土というのは、実は凍結だけじゃなくて自然に乾燥してしまっているんで、ドライ状態になっています。そこで僕のところでは、体細胞をフリーズドライにして、1週間ぐらいしかやっていませんけれども、室温保存してどうなるかという実験をしましたけれども、体細胞であっても、フリーズドライになってしまった体細胞であってもクローンES細胞をつくることできる。

なので、永久凍土の中で乾燥してしまっている組織であっても、DNAが壊れていなければの話だと思いますけれども、クローンES細胞はつくれるということがわかりました。

こんな感じです。どうもご清聴ありがとうございました。

(相澤会長) どうもありがとうございました。

それでは、これから質疑をさせていただきますが、ちょっとその前に私から簡単な言葉の説明をお願いしたいと思います。

先ほど、初期化を促進させるというところで、初期化をし過ぎてしまったという表現があったのではないかと思うんですね。ちょっとその言葉の意味を。

(若山教授) これはもう全くアイデアだけで、今は実験をいろいろやっているところなんですけれども、初期化というのはDNAのいろいろな修飾されているものが体細胞から受精卵の状態に戻る、それをつまりいろいろなものが外れたりしてゼロに戻る、これを初期化で完成されたものだとすると、例えば修飾されているものをとり過ぎてみてもだめなわけなんです。つまり、言ってみれば、ゼ

ロじゃなくてマイナスになってしまったものを、僕らは「し過ぎた」という考え方をしています。

(相澤会長) ありがとうございます。

それでは、どうぞご質問、ご意見。どうぞ。

(高木専門委員) マウスではntES細胞が比較的よくできるということなんですけれども、ヒトではなぜこれがそんなに難しいことなんでしょうか。

(若山教授) 僕、ヒトの実験はしていませんけれども、クローン技術はテクニクの技術みたいなもので、動物種によって全然、似ているんですけれども、微細なところが違います。

なので、例えばマウスとラットというのは外見が似ていて、ちょっと大きさが違うだけですけれども、マウスはできるけれども、ラットはほぼ不可能というぐらい、実際に再現できないので不可能だと思われていますけれども、似ている動物種でもできません。

そのできない理由というのが、ラットはクローンが不可能ではなくて、ラットのクローン技術がわかっていないだけなんです。ラットの卵に対して一番いい培養液は何か、一番いい核移植の方法は何かということがわかっていないからラットはできない。僕はそう信じています。

同じことで、マウスができてヒトはできない。ヒトでなぜできないかといったら、ヒトでのヒトの卵を使った本格的な実験が行われていないからじゃないかなと思います。マウスの場合、マウスにはかわいそうなんですけれども、1日何百個も卵を使って細かい実験ができます。そういうことをして最適な条件というのを見つけ出しますけれども、ヒトではそれができないからかなというふうに思います。

(森崎専門委員) 最近の進歩について、いろいろありがとうございます。

ちょっと2つ確認というか、お尋ねしたいんですけれども、前半でお示しいただいた初期化の条件の改善によってクローンの効率がよくなったということと、従前から、あるいは現在も言われているクローン動物の異常というものは、率が改善されることによって質的な改善というのがどれぐらい現在やられているのかということ、一つお伺いしたいと思います。

(若山教授) そこは残念ながら、成績が五、六倍まで上がってきている現状なんですけど、クローンの異常は全く改善できていません。

(森崎専門委員) もう1点は、後半でお話いただいた核移植をしたES細胞を作成して、その次にクローンというお話なんですけれども、間にntES細胞というステップを入れることによって効率が上がるというか、実際にクローンの生物が得られるということは、その間でステップをかませることによって、いいものだけが数多くの中から選ばれることで異常なものが淘汰されるというか、減

るということで、実際にはセーブ、要するに正常に近いものが得られてくるという理解でよろしいのでしょうか。

(若山教授) そこに関しては解釈があると思うんですけども、僕らテクニックの側の立場からすると、間に挟むことによって成績が上がっているのではなくて、例えば凍結死体の核移植はテクニックそのものが難しくて、例えば100個の核移植するのはもう限界ぐらいな難しさがあります。それに対して、一遍クローンES細胞にしてしまうと、これはもう生きている細胞になるので、普通の核移植ができるので、テクニック的にやりやすくなります。そうすると1,000個でも核移植ができます。

結果的に、クローンES細胞を間に挟むことで生まれてくるんですけども、使った卵から計算すると成績は変わりません。ですから、クローンES細胞にすることで初期化がしやすくなるとか、そういうことはなくて、マニピュレーターが、核移植がやりやすくなる、それだけの違いだと僕らは思っています。

(吉村専門委員) 先生にもう10年近く前だと思いましたが、クローンのマウス、マウスのクローンは、要するにいろんな異常が、胎盤が大きいとか早く死ぬとか、ニューモニエになるとか、いろんなことをお聞きしたんですけども、クローンマウスの雌とクローンマウスの雄をかけ合わせると、これは異常が少ないという話を僕は先生から聞いたことがあるんですけども、それはどうしてなのでしょう。

(若山教授) 僕らの仕事ではないんですけども、初期化という言葉が何か出ていると思いますけれども、僕らはマイクロマニピュレーターを使って体細胞を卵側に戻すという初期化を行います。

ところが初期化というのはもう1種類あるということになっています。もう1種類というのは、胎児が卵子とか精子をつくる時に、胎児が体内で自然の力で卵子や精子をつくるという初期化、この2種類が初期化にはあるらしいんですけども、僕らがやっているマニピュレーターでやる人工的な初期化は不完全なんですけど、不完全ながらも生まれてきた胎児は、胎児の体内で胎児自身が本当の初期化をするので、次世代は正常になる。

ですから、逆に言うと、僕らのマイクロマニピュレーターはいまだに不完全な初期化しか起こせない不完全な技術ということだと思います。

(相澤会長) どうぞ。

(青木議員) 大変勉強になる話、どうもありがとうございました。

私全く専門外なんですけれども、この薬品を使う、TSAとかスクリプタイトとか先生おっしゃいましたが、こういう薬品があるというのは私、初めて知ったんですけども、2つ質問があって、一つは、こういう薬品というのは市販されているわけですか。

(若山教授) エピジェネ異常とかとよく言われていますけれども、それを直す薬として、よく抗がん剤なんかで使われている薬で、がんを治すけれども、逆にがん細胞を殺すという点で、抗がん剤の副作用と同じで、毒性も強いという、そういう薬です。ですから、普通に市販で売っているものです。

(青木議員) すると、こういう薬を使うと成功率が上がりますというのは、もうやっている人の中ではみんな知っていて、知られてみんな使う薬品なわけですね。

(若山教授) そうですね、僕らが最初に報告していて、その後、追試がされていて、何度も言った動物種によって最適な条件が違うので、TSAはウシには効かないけれども、スクリプタイドはブタに効くとか、そういうふうには違いはあるんですけれども、このTSAとかそういう薬は、多分クローン動物共通して成績を上げていくだろうというふうに考えられています。

(青木議員) そうなんですか。それで、こういう薬品というのは幾つぐらいあるんですか。例えばこのマウスのクローンには大体幾つぐらい薬品を使うものなんですか。

(若山教授) 今回ののは全部、核のヒストンに作用する薬だけを報告しているんですが、ヒストンじゃなくてDNAのほうに作用する薬とかも含めると、本当にもう試し切れない量がたくさんあります。

ただ、今のところ明確に効果があったのは、そのヒストンに作用する、今回紹介した薬は6倍まで上げるという明確な差が出たんですけれども、DNAとかに作用する薬とか、あるいは間接的に作用する薬とかいろんな薬を試していて、多過ぎて試し切れていないんですけれども、それから1個の薬でも、濃度と、いつ投与するかというのと、どのくらい期間投与するかという3つを見つけ出さないと毒になるので、なかなか見つけられないんですけれども、ちょっとずつ違う薬も効果があるというのはわかってきています。

(青木議員) どうもありがとうございます。

(田辺専門委員) 16年間凍結保存されていたマウスのクローンというのは、このマウスは性質とか、さまざまなことを調べられたんだと思いますが、特に異常というか、能力的な問題とか、あるいは行動的な問題というのはないんでしょうか。

(若山教授) 16年間、つくられたクローンマウスに関しては、僕らが調べられるのは限られているんですけれども、マイクロアレイとか、それから繁殖能力、それから体重とかを調べているだけなんですけれども、異常がないというよりか、クローン動物特有の異常しかない。ですから、ちょっと太りやすくなったというのもありますし、アレイに関してもばらつきが出るんですけれども、16年間置いておいたからといって異常が増えたとか減ったとか、そんなのはなか

ったです。見つけていません。

(阿久津専門委員) 質問ではないのですけれども、意見というか、ここでの考えなんですけれど、世界一上手なクローンの研究者の研究室が頑張ってやって、1%から7%になった、7倍の成功率が上がった。しかし、逆の意味言うと、99%異常だったのが93%の異常になった、胎盤の異常は100%出るということで、これはもう当然ヒトには生殖目的を禁じる法律がありますけれども、そのさらに強い一つの科学的エビデンスであると思います。胎盤の100%異常というのは、ヒトでの妊娠にもし当てはめるとすると、胎盤の異常というのは母体側にとっても致命的なことになりますので、そういったサイエンティフィックなエビデンスからも、当然こういうことは行っていけないというふうな科学的な論拠になるのかなというふうに思いました。

(相澤会長) これについては、若山先生、いかがでしょう。

(若山教授) 僕はヒトには手を出しませんし、僕は畜産出身ですから、僕は家畜を増やすという方向が頭に常にあります。

家畜でも、例えば胎盤が大きくてお母さんが死んでしまうなんていうことはあるかもしれませんが、ですから、そういうのがなくなるように、僕らは正常なクローン動物をつくるというのを考えているんですが、それ言うと、じゃ正常になったらヒトのクローンやっていいのかとかと言われてちゃうので、余りそういう話したくないんですけれども、とにかく家畜に応用できるようないい品質のクローン動物をつくるというのが僕らの仕事です。ヒトに関しての応用は考えていません。

(樋口専門委員) ちょっと本当は私は、余計なこと言わないで、全く今のお話との関係で、前に一度北海道のほうへ行ったことがあって、そのときに北海道、ちょっともう本当、昔のことで覚えていないんですが、北海道の酪農関係の酪農大学というのがありましたっけか。

(若山教授) ありますね。

(樋口専門委員) その先生の話を聞いて、そういう酪農の関係者にとっては、クローニングというのはすばらしいことなんだというところから始まって、高知県か何かの何とかという立派なウシがまず写真が出てきて、やっぱりこれ以上のものをももちろん望んでいるけれども、もうこれで十分なんですと、肉質から何から。だから、これと同じものをつくりたいと思っていて、そういう形でずっとやっていてという話で、それは相当成功もしているという話が、今日だと何かマウスでもなかなか大変だなという話ですね。

だから、そういうほかのいわゆる家畜類なんかでは、クローニングというのはすごく進んでいてということなのかというのがまず1点ですよ。

それから、そのときには、やっぱり酪農の人の感覚と、こっちのほうのここ

の人も含めてでしょうけれども、そういう、それこそクローニングを規制するほうからするとすごく感覚が、でも同じように生物を相手にしているわけですから、すごく違うんだなと思って、それとの関係で言うと、結局もうお話しになったのかもしれないんだけど、ここで動物のクローニングについて、先生は何でも自分はテクニシャンであると、だからテクニック上の何とかという、テクニシャンというのはテクニシャンなりの倫理があって、それから喜びも当然あると思うんですね。私は一生かけても多分習得できないというか、さっきのだめなほうの例に自分はなっちゃうと思いますけれども、やっぱり一つ一つ丹念にやっていると、何かの形で技術が習得していくところにあるかあると思いますけれども、でもやっぱりそれにプラスした何かの目的がありますよね、多分、これの。

それはやっぱり一番最後に言われた、やっぱり実際のマンモスを何とかという話ではなくて、極めて実用的かもしれないけれども、家畜類であれ何であれ、そういうようなもの話なのか、それともやっぱり、そもそももっと、ちょっと言い方がうまく言えないけれども、やっぱり純粹に、人間はやらないかもしれないけれども、生命は生命ですからね、動物であれ何であれ。その動物の生命の根源のあり方みたいなところに、こういう実用的な話とは別に、家畜が増えるかどうかはともかく、そういう興味というほうが強いのかという、何か漠然とした質問で恐縮なんですけれども、最終的な自分の関心、目的みたいなものはどういうものなんだろうというのをちょっとお聞かせ願えるとありがたいと思います。

(若山教授) まず、ちょっと質問が多かったので忘れちゃったかもしれないんですけども、酪農家がこれを実用化できるかどうかなんですけれども、僕はマウスしかやっていないんですけども、大学の畜産関係の先生たちと話をすると、もう実用化レベルになっています。

ただ、問題は実用化というか、コストの問題、成績が五、六%、家畜では10%を超えていますけれども、だとコストが高くなります。つまり、移植してもお母さんが生まなければ、その分飼育費とか高くなるので、コストが高くなるんですけども、でもクローンですから、おいしいとわかっているウシのクローンはおいしいんです。そこはもうわかっています。

なので、生まれてくる子供がおいしいというのはわかっているので、しかもブランド牛というか、ですから、コストは高くなるんですけども、A5級のものすごく高いおいしい肉ができるので、つくるコストは高いんですけども、販売価格も高くなるけれども、味に見合った値段になるところまで来ています、今は。

ただ、これは近畿大の例なんですけれども、近畿大があそこまでいったので、

販売というか、そういう方向に向けて進もうとしたら、この政府からの許可とか以前に、大学側でクローン牛を販売するのは大学の名前を傷つけるとか、そんな理由で禁止になってしまったとか、そういう理由もあります。

ですから、まず、もう少し成績が改善すれば、本当にもう実用化レベルに容易に達するということ。

2つ目は、農家、先ほどの大学の例もありますけれども、農家も一部の農家は、おいしいのはわかっているんだからつくって売りたいと思う農家もあるんです。でも逆に、風評被害じゃないですけども、クローン牛なんていうのをどこかで作り出されてしまったら、まともにつくっているところもクローン牛だと思われてしまう、うちの売れなくなるからやめてくれ、そういうふうにする農家も結構あります。

なので、まだ今のところ、逆にクローン牛というブランドみたいなのをつくってしまって、クローンだったら必ずおいしいとかというふうにして、だれもが買うようになってくる時代に来ればそういうのはなくなると思うんですけども、今のところ農家のほうは半々ぐらいな感じです。

次は僕の考え方なんですけれども、僕は畜産出身というので、ウシ、マウスしかやっていませんけれども、農家に役立つ、それが結局は成功率を上げるということにつながるわけなので、テクニックをとにかくよくして、あと普及するためには簡単にしなければいけないので、僕らは難しいテクニックをどんどん採用していますけれども、成績が上がったらそれをさらに簡略化してだれもができる技術に改善するという、とにかくテクニックを利用して成功率を上げる、同時に奇形、異常も減らせるなんていうのもできたらいいんですけども、それがメインのテーマになっています。

そこから派生することとして、このテクニックを使うと不可能だったものもつくれるようになる。不可能というのはつまりマンモスとかそういう、同じテクニックなので両方同時にやっている。

あと、結局クローンの成功率を上げる、かなり地味な仕事で、長いことやっても失敗ばかりでなかなか改善できません。それに対して、このマンモスじゃないですけども、変わったことをすると、変わったことをすれば必ず変わった結果が出るので、それは発表できるので、あとマンモスみたいな話だとちょっと夢もあるみたいなことで、グラントもとりやすくなる。

そういうことで、生き残るために、研究者として研究費がなければ生きていけませんから、地味なことばかりしているわけにもいかないの、そういうのを同時にやっています。それが現状です。

(吉村専門委員) そこまで僕、世界の若山先生がそんなことをおっしゃる必要はなくて、要するに世界の第一人者であることはだれもが認めている、私は研

究者ですばらしいと思うんですけれども、もう一つ、先生はリプロダクティブ・クローニングがご専門だと僕は思うんですけれども、先生も途中でおっしゃっていたんですけども、動物をつくるとか人間をつくるとか、つくることではなくて、やはりこのセラピューティックというか、もう一遍原点に戻って、このESをつくることによって、クローン胚からESをつくることによって、このESの要するに利用方法というのをもう一回再検討というか、その辺にやっぱり私はまだ道は残されているし、iPSはここまでいっちゃったんですけれども、やっぱりクオリティーの点から非常に劣るということを考えると、クローンESの私は利用方法というのはもう一回、先生みたいな人が考えていただけるとありがたいなと思います。

先生みたいな、やっぱり世界の一流の第一人者がそこまで言われることは私はないんじゃないかなと。

(相澤会長) それでは、よろしいでしょうか。若山先生、どうもありがとうございました。

(若山教授) どうもありがとうございました。

(相澤会長) それでは、佐々木先生は準備のほうはよろしいでしょうか。

(佐々木部長) はい。

(相澤会長) 次のヒアリングは、佐々木えりか実験動物中央研究所応用発生学研究部部長にお願い申し上げます。

タイトルは「ヒトおよび非ヒト霊長類における胚作成技術の研究動向」です。どうぞよろしくお願ひします。

(佐々木部長) 公益財団法人実験動物中央研究所の佐々木でございます。よろしくお願ひいたします。

ちょっと失礼して座って。

私のほうは、ヒトおよび非ヒト霊長類における胚作成技術の研究動向ということで、今日は私自身、実験動物中央研究所というところで、コモンマーモセットという小型の霊長類を使って、ヒト疾患モデル動物をつくる研究をしています。なので、霊長類の仕事を中心にお話しさせていただきます。

今回、水野さんのほうから、アメリカでクローン技術を使ってヒトの卵子で核移植を、除核していない未受精卵に核移植をして多能性幹細胞をつくるということが成功したということで、新聞にも載っておりますけれども、この研究も含めて、霊長類や動物でどういった研究動向になっているか紹介してほしいということだったので、霊長類を中心にお話を今日は持ってまいりました。

もう若山先生のお話がありましたので、余りこの辺、話す必要もないと思うんですけれども、クローンってまず何でしょうということで、生物学辞典を引くと、無性的な生殖によって生じた遺伝子型を同じくする生物集団。あとウィ

キペディアを調べますと、インターネットで調べますと、もともとはギリシャ語で小枝の集まりを意味するもので、無性生殖によって増殖した個体集団を指す生物学用語として定義されているということで、無性生殖って何でしょうということなんです、分裂とか出芽、孢子形成、栄養生殖などで増殖するもので、動物で有名なのはヒドラとかプラナリアでして、ヒドラは出芽でここに、これがヒドラの個体なんです、ここから小さいヒドラが出てきて、こうやって増えていきますし、プラナリアは切っても切っても、またプラナリアができてきて、いわゆる精子と卵子の結合を必要としない生殖方式です。

一方、哺乳類はすべて精子と卵子の受精が必要な生殖様式を持っておりますけれども、今回はこの哺乳類において遺伝子型が同じ個体を、この無性生殖によって作り出すものとして提起させてもらいたいと思います。

先ほど若山先生がずっとお話しなさっていましたが、クローン研究、実際1952年にカエルで始まっておりますけれども、体細胞由来、体細胞の核由来の移植によるクローン動物というのは、1997年にヒツジでドリーが作られておりまして、翌年に若山先生がマウスで個体を作出されております。

その後、ウシ、ブタ、ウサギなどさまざまな動物種で行われておりますけれども、先ほど若山先生がおっしゃったように、動物種によって全く成功率、作出効率が違います。特に、ブタなどはもう研究レベルではかなり実用化、この核移植を使った個体を使って、実験動物として使っていくというような実用化レベルになっておりますが、マウスはやはりいまだに結構難しいというような状況です。

こちらがそのドリーと、あとCumulinaちゃんですけれども、このように15年たっても、動物によってかなり状況が異なっております。

それで、なぜ私たちがクローンの研究をしているかということなんですけれども、これは動物を使ったクローンの研究についてですけれども、やはり遺伝的に同一な個体をつくることができるということで、先ほどお話にも出ていました優良な家畜の個体を安定的に生産することができたりとか、繁殖が困難な系統動物の維持、生産、それから絶滅、若山先生はもう絶滅したものを復活させようとされていますけれども、そういった希少動物を増やすこととか、あと特に、マウスは近交系といって、遺伝子の遺伝的背景が一定な動物がおりますが、ほかの動物ではほとんどありません。ブタは（近交系が）ありますが、サルなんかはそういう遺伝的背景が一定の動物がないので、実験動物として使う上で結構ばらつきがありますが、クローンで遺伝的背景が一定の動物をつくることができると、その実験のばらつきが減るといったようなメリットがあるということです。

あと、ペット産業で、ペッロスで非常に悲しい思いをされた飼い主さんが

クローンをつくるというようなこともあるかと思えます。

これもちょっと動物倫理問題の面でいろいろと考えなきゃいけないがありますが、技術としては可能であると。

それから、もう一つ、この技術をさらに、新たに遺伝子組み換え技術を使って、例えばマウスとラットではES細胞、iPS細胞でキメラ動物というものがつくれまして、標的の遺伝子を破壊することによって、その遺伝子がどういう機能をしているのかということ調べていくことができますけれども、実はこのキメラができるES細胞というのはマウスとラットしか、今、おりませんで、ほかの動物でそういった遺伝子の機能を解析していく上でこのES細胞が使いませんので、体細胞にこの標的遺伝子の破壊を行ってノックアウト動物をつくるということが、この技術を応用することによってできるようになります。

特に近年ですと、霊長類で、霊長類の脳だけでしか発現していない遺伝子がわかってきまして、それがどういう役割をしているのか。脳の高次機能をつかさどっているだろうとは思われていますけれども、全く機能がわかっていないという、そういった遺伝子が幾つもありまして、そういった機能を解析する上でもこういった技術が重要になってきます。

それから、やっぱり疾患モデルをつくるとか、あと組み換えたんぱく製剤などの医薬品の製造などにも応用できるといった利点があります。

そのクローンの作成の種類なんですけど、一卵性多子、それから受精卵分割、受精卵核移植、体細胞核移植と、大きくこの4つに分かれます。

一卵性多子というのは、いわゆる双子、三つ子です。これは自然に子宮の中で受精卵が分割してつくられるものですが、受精卵分割、受精卵核移植、それから体細胞核移植などは人工的につくられて、一般にクローンというところの3つを指します。

それぞれどうやってつくるか、簡単にご説明させていただきますけれども、受精卵分割クローンというのは、いわゆる、これは普通に自然交配で得られた受精卵でも構わないんですが、この受精卵が2割球、4割球と分裂しているときに、この割球をばらばらにして、その割球からそれぞれ個体をつくるという方法です。マウスでは2細胞期のものをばらすとクローン個体ができますし、ヒツジ、ブタ、ウサギでは8細胞期になるまでにばらせば、それぞれの個体を得られます。ただ、もちろんその作出効率の問題で、8細胞期でばらしたから8匹生まれるかということ、なかなかそうもいかないんですが、こういった技術がございます。

それから、受精卵クローンに関してですが、こちらは受精卵の割球をやはり同様に分離しまして、それぞれの割球を除核した未受精卵に移植して、この核を移植したクローン胚をつくって、その個体を得るという方法です。

こちらの方法は、先ほどにもお話に出ていました、ゲノムのインプリンティングの異常が比較的少ないと考えられる。もともと受精卵ですので、かなり発生能を持っている核ということで、比較的少ないために個体の作出効率が高いというふうに考えられております。実際、ここに写真がありますけれども、ウシでこのように受精卵をばらしたクローン個体できております。

そして、体細胞核移植ですが、もう余りご説明する必要もないかもしれませんが、除核した未受精卵にこの体細胞由来の核を移植して、それからクローン胚を作出して個体をつくるということで、これが本当に効率よく、そして正常な個体ができるようになれば、無尽蔵に同じ性質を持っている動物をつくることができるという夢の技術で、研究者はみんなこれを何とかしたいと思って研究を進めているわけです。

それで、まず今回ご依頼のあったヒトのESのクローンについて内容をまずご説明した上で、霊長類で今どういった研究が行われているか、ご説明させていただこうと思います。

まず、このNoggleという方なのですが、もともと一番最初は情報に従いまして、除核をした未受精卵に皮膚からとった体細胞の核を移植して、それを融合させてクローン胚をつくりましたけれども、この方法ですと、大体培養3日目ぐらいで発生が停止してしまっていて、それ以上は一切発生が認められておりませんでした。

その理由として、受精卵が発生していく間に、その胚が持っている、最初は母性遺伝子が動いているんですが、途中から胚が、自身が持っているゲノムが活性化していろんな遺伝子が発現していくんですが、この活性化が不十分であるから発生が停止したものと考えられております。

そこで、彼らは何でこれを思いついたのか、私にもちょっとよくわからないんですけども、未受精卵を除核せずに、そこに核を移植して、ちょうどこの真ん中の部分ですか、それを培養したところ、非常に効率いい20%ものクローン胚が胚盤胞まで発生したということです。

この胚盤胞の内部細胞塊を取り出して培養しますと、いわゆるヒトES細胞、それから霊長類のES細胞のマーカーと言われているSSEA-3、4とかTra-1-60、Tra-1-81、Oct4、Nanog、Sox2、それからアルカリフォスファターゼといった、こういったマーカーに陽性で、さらに三胚葉に分化する多能性を持つES細胞ができたということです。

しかしながら、その核型、通常は2倍体、普通の受精卵からESをつくれれば2倍体のはずなの、これが3倍体となっていたということです。

実は、先週、ちょうど国際幹細胞学会が横浜で開催されまして、私そちらに出席していたんですが、ちょうどこの方が講演されておりました、私、何で3

倍体になるか。実はもともと未受精卵、除核しないと2N、そして体細胞を入れると2N、本当は4Nになるはずなのになぜ3Nなのかというのが全くわからなくて、本人に聞いたんですが、わからないということでした。

それで、実はその後、彼らは実験を続けておりました、その後にとれた5ラインのESは4倍体だとおっしゃっていましたので、恐らくこれは多過ぎる染色体を何とか減らそうと染色体を放出した結果、このような3倍体ができてしまったんだと考えられます。

それから、彼らは次にいったん体細胞の核を入れるんですが、その後またこの核を除いて、未受精卵由来の核だけで発生させた胚を作出しておりました、これはいわゆる単為発生になるんですけれども、こちらはもうさらに胚盤胞までの発生率が高く、60%近い率で胚盤胞まで発生しております。こちらでもES細胞が樹立されておりました、これは一度移植した核を除いていますので、2倍体のES細胞ができておりました、未分化状態を維持しつつ多能性を持つというものができております。

こういった、この技術が今後どれぐらいこのES細胞、iPS細胞の研究に役に立っていくのか、本当に必要なのかということを考えていきたいと思うんですけれども、まず最初に私たちの研究をちょっとご紹介させていただきます。

実は、私たちも2009年に同様の現象をコモンマーモセットという小型のサルで認めております。これはたまたま我々が核移植をしていて、胚盤胞に時々なるものがあって、最後に核型解析をしたら核を抜くのが失敗していたということがわかって、それで明らかになったことなんですけれども、除核をしなかった未受精卵に、これはマーモセットの未受精卵にマーモセットの体細胞の核を入れますと、こういった胚だけが非常に効率よく胚盤胞まで発生いたします。

この移植した核はGFP、緑色の蛍光遺伝子を持っているんですけれども、こちらの移植した体細胞由来のゲノムが活性化していることがわかっております。

ただ、これが個体になるかということに関しては、まだ余り明らかになっておりません。

これらの結果から、ヒト、霊長類ではもしかすると4倍体でしか胚盤胞にいかないのではないかというふうに、ちょっと考えてしまいたくなるんですが、実は2007年にアカゲザルというサルで2倍体の核移植胚のES細胞が既に樹立されております。ですので、恐らく霊長類でもその技術を磨くというか、技術をさらにいろいろと確立していけば、ヒトでもこの通常の2倍体胚の体細胞核移植ES細胞は樹立する、できる可能性は非常に高いのではないかと考えております。

そこで、ただ本当にこういった細胞、先ほど若山先生もおっしゃっていましたけれども、核移植をした受精卵を使ってES細胞をつくるのは非常に簡単、簡

単と言っでは言い過ぎですけれども、割と効率よくできる。でも、これが個体になるのかどうか。すなわちこうやってつくられた胚が生命の萌芽であるかどうかということがやっぱり重要ではないかと思っております。

我々は、私たちの目的は、このマーモセットという小型のサルを使って実験動物として、よりヒトに近い疾患を研究するためのモデルをつくっていくということが目的で、クローンマーモセットをつくる研究をしておりますが、やはりマウスやブタよりも、よりヒトに近い発生学的な特徴を持っている、卵子や精子の発生に関する特徴を持っているものだと考えられますので、こういった霊長類を使ったクローン個体の作出の研究がヒトの倫理問題を考える上である程度の指標になっていくんじゃないかとは思っております。

我々はこのマーモセットを使ってクローン動物を作出することを目指しておりますけれども、まず、マーモセットの体細胞、もしくはマウスでは比較的クローン作出効率が高いと言われているES細胞を使って核移植を行いました。ですが、もう全く8細胞期以降は発生しない。先ほどのNoggleと同じような状況でございます。

現在のところ、ヒトのクローン胚で得られている胚というのは、単為発生の胚、もしくは3倍体、4倍体の胚ということで、いわゆる正常な2倍体胚とはかなり違うということで、じゃこれが本当に個体発生能があるのかというのは、もちろんヒトでは実験ができませんが、現在のいろいろな研究の状況から考えますと、単為発生胚はやはりゲノムのインプリンティングの状態が正常ではないので、恐らく個体発生能の可能性は低いであろうと。それから、3倍体、4倍体胚に関しても、染色体数が正常ではないので、恐らく個体の発生能は低いとは考えられます。

ただし、ヒトでは自然妊娠でも3倍体ということがありまして、まれに出生するケースもあるようですので、やはりこういった胚が個体になるかどうかということについては、霊長類を用いた動物実験が重要なのではないかと考えております。

それから、またこういった体細胞核移植によって得られたES細胞は、そのドナーの体細胞核と全く同じ、同一の遺伝的背景を持っているかということなんですが、3倍体、4倍体胚、それから単為発生に関しましては、恐らく違うだろうというふうに考えられます。単為発生の胚の場合は、卵子ができる時点で染色体の相同組み換えなども起きておりますので、恐らくドナーと全く一緒ということはないと思われれます。

それから、現在はできておりませんが、将来的に体細胞の核移植が可能になった場合ですが、それに関しまして、卵子が持っているミトコンドリアDNAが異なりますので、100%一緒というふうにはならないかと思えます。

なので、こういった、このクローン胚を用いてつくられたES細胞、今後どういう研究に使っていくかということをもまさに考えていかなければいけないんですが、ドナーと全く一緒なのかということに関してはよくよく考える必要があるのではないかと考えております。

ただし、こういったクローン技術が全く医療に応用不可能なのかということに関してなんですが、2009年に、これはもしかすると医療に有用な技術じゃないかと思われる論文が発表されております。それがミトコンドリア置換なんですが、先ほど言いましたように、ミトコンドリアDNAはお母さんの卵子に含まれているものが受け継がれてまいりますけれども、例えばミトコンドリア病などの患者さんの卵子の核だけを取り出して、健全なドナーのお母さんの卵子にこの核を移植することによって、ミトコンドリア病を発症してしまうような赤ちゃんをあらかじめ治療というか、発症の予防をするということが可能である。この卵子にお父さんの精子を顕微授精してやることによって個体が生まれると。アカゲザルではこの方法によって、もともとこれは別にミトコンドリア病ではありませんが、正常な赤ちゃんが生まれております。ですので、こういった技術の使い方はもしかするとあるのかもしれないと思います。

それから、最近、iPS細胞を使った胚盤胞補完法による臓器の作出の研究がありまして、これはちょっとクローン技術とは違うんですけども、こういった技術を確立する上でも、動物実験を使った発生工学の研究は重要であるということでご紹介させていただきたいと思います。

こちらは、ヒトのiPS細胞を臓器がヒトと比較的大きさが似ているブタの胚盤胞に注入してやって、もともと臓器欠損モデルのブタの胚盤胞に入れてやると、その欠損した臓器の部分はヒトのiPS由来のものができるということで、前回の倫理委員会で上野先生がお話しになられていると思いますので、詳細は割愛いたしますけれども、ただ、この技術を今後ヒトに応用する上で、やはり霊長類のiPSなどを使った実験は必要だと思うんですが、技術的な問題がございまして、ヒトも霊長類もキメラができるようなiPS細胞は樹立されていないということです。ここの技術的な問題を克服していかなければいけませんので、こういった上でも動物の実験は非常に重要であるというふうに考えております。

それから、このケースではブタを使いますけれども、例えば非ヒト霊長類でこの実験を行う上で、実は霊長類の胚盤胞にES細胞を入れてもキメラにならない理由として、そのES細胞、iPS細胞だけの問題ではなく、この胚盤胞の問題もあるのではないかとというふうに言われております。

それがこちらの研究報告なんですが、今年の3月に報告されてありまして、もともと彼らはサルの胚盤胞にサルのES細胞を入れて、キメラができませんでした。そもそもは、彼らはこのES細胞がキメラ作出能力がないからできないん

だろうと考えておりましたので、それならば個体になる能力のある、この内部細胞塊をサル胚盤胞に入れてやればどうかということで行って見ましたら、キメラにはならず双子になってしまったという報告をしております。すなわち、そもそもこの胚盤胞が、内部細胞塊にしるiPS細胞にしる、そういった異種の細胞を受け入れる能力がないのではないかと報告しております。

最終的に彼らは、このもっと早い段階、4細胞期胚ぐらいの細胞の透明体を除去して、その割球を混ぜることによってキメラはできるというふうに言っておりますので、全くサルでキメラができないわけではないんですが、この胚盤胞補完法に使えるような技術のためのキメラ作出という技術確立が、今後、必要になっていくというふうと考えられます。

こういった、ヒトのクローン胚を使った研究をしていく上で、私はやはり動物実験が非常に重要だと思っておりますが、ヒトのクローン胚を使って今後どういった研究が必要なのかということをごちょっと考えてみました。

これ、もう倫理的な問題で、もちろんあれなんですけど、可能性としては、免疫拒絶のない多能性幹細胞の作成ですとか、免疫拒絶のない臓器の作成、それから不妊治療ということがあるかもしれませんが、いずれももう既にiPS細胞の作成技術が非常に進んでいて、iPS細胞、質がよくないと言われておりますが、数で勝負ができるという上では、私は非常に大変よい技術で、ここをもっとファインにしていくほうが、私個人の意見でありますけれども、重要なのではないかと考えております。

また、免疫拒絶のない臓器の作成に関しましても、やはりiPS細胞の胚盤胞補完法の技術をもう少し検討していくほうが、よりいいのではないかと考えています。

それから、不妊治療に関してですけれども、そもそも体細胞核移植で得られるクローン個体って、そういう個体をつくるということ自体はもう禁止されておりますが、それを万が一考えたとしても、これはもう遺伝的には夫婦間の子供ではありません。ですので、不妊治療としてこれが成り立つのかということもあります。

それから、もし本当にそういうことを考えていく上であれば、もちろん倫理的なことはあるにしても、iPS細胞から配偶子をつくって夫婦間の子供をつくるというほうがまだ、私は、不妊治療を受けたい患者さんに対して、最もその要望にこたえられるものなのではないかと考えております。

ただ、一方で、先ほどもご紹介いたしましたけど、ミトコンドリア病などを予防、治療する上では、この核移植技術はある程度有効な手段なのではないかと考えておまして、最終的には卵子の提供、倫理的な問題という高いコストを払ってまで行う必要があるかどうか、コストアンドベネフィットを

十分に考えて、そのベネフィットが上回る時にはそういったゴーサインを出すのがあるのかというふうに考えておりますが、現時点ではそのような、コストを上回るベネフィットがあるものはなかなか難しいのではないかと考えております。

まとめになります。最終的には私自身はそういった考えを持っております。

最後になりますけれども、このマーモセットの核移植の実験は、広島大学と慶應義塾大学と、あと実中研の共同研究でありますことをつけ加えさせていただきます。

ありがとうございました。

(相澤会長) どうもありがとうございました。

それでは、ご質問、ご意見いかがでしょうか。どうぞ。

(阿久津専門委員) ご発表ありがとうございました。

先生のところでは、マーモセットの受精卵のES細胞の樹立はもうされていると思うのですけれども、今回、そのマーモセットの体細胞核移植をして、七、八%胚盤胞にいったけれども、ES細胞が樹立できなかったというのは、どの辺が問題点なんでしょうか。

(佐々木部長) ちょっと理由がよくわからないんですけれども、ICMの取り出しの部分が余りうまくいかないですね。取り出して培養しましても、ES細胞というか、ICMがエクスパンドしないというのが問題点となっています。

(阿久津専門委員) 個数的なところがちょっとわからないのですが、通常の受精卵だと十分にES細胞ができる個数があったんだけど、ntESではできなかったということでしょうか。

(佐々木部長) そうですね。今通常、普通の受精卵ですと大体3個に1個ぐらいできるんですけれども、多分数十個やったんですけれども全く。1回ぐらいパッケージまでいったこともあるんですけれども、十分にエクスパンドしなかったというのが理由です。

(阿久津専門委員) もう一つよろしいでしょうか。ニューヨークのエグリらのグループだと、ヒトの場合、胚性ゲノムの活性化が4から8細胞期にあって、それが全くクローンの場合は起こっていなかったというのが指摘されていたのですが、このマーモセットの場合はその辺どうなんでしょうか。

(佐々木部長) その辺、十分な解析をしておりませんで、もう大体8細胞期を超えることはほとんどなくて、大体ゲノムのアクティベーションがマーモセットでは8細胞期ぐらいなんですけど、そこでとまってしまっていますので、恐らく同様じゃないかというふうに考えております。ただ、まだちゃんとした解析はしておりません。

(相澤会長) いかがでしょうか。特段のご質問等はございませんでしょうか。

(阿久津専門委員) もう一つ質問です。コモンマーモセットではiPSも樹立はされていますよね。

(佐々木部長) はい。

(阿久津専門委員) その際、受精卵でつくったES細胞とコモンマーモセットのiPS細胞の質的な評価で、何か違いとかあるのでしょうか。

(佐々木部長) グローバルなエクスペクション、ジーンエクスペクションは、マイクロアレイで見る限り比較的近いと思いますが、そのマイクロアレイを行ったiPSはレトロウイルスを使ったもので、ベストなものではないというところなんですけれども、基本的には非常に似ているという程度ですね。

(阿久津専門委員) コモンマーモセットでは、疾患モデルというのは幾つかあるものなのでしょうか。

(佐々木部長) 疾患モデルでは、外科手術による脳梗塞モデルとか、心筋梗塞モデル、脊髄損傷モデル、それから薬剤誘導によるパーキンソン病モデルがございます。

それから、我々トランスジェニックマーモセットの作出技術を持っております。

(阿久津専門委員) 免疫不全マーモセットというのはいないんですか。

(佐々木部長) 現在つくっています。

(森崎専門委員) 今日のお話の本筋からちょっと外れるのかもしれませんが、先生のこれまでの生殖細胞、あるいはES、iPS細胞とコモンマーモセットを使った検討で、もちろんヒトに近いということが最大の利点で、なおかつ実験に使うことが、容易でないにしろ、比較的容易であるということだと思っておりますが、とはいえヒトではないということで、何かこれはやっぱり違うんだというようなことは、この領域でございますでしょうか。

(佐々木部長) 恐らくiPS細胞ができてしまっただけからはそれほど違いがないんですが、実はiPS細胞をつくる場所で非常に苦労しました。ヒトは山中4因子を入れれば、比較的簡単に割とどなたでもすぐにできるんですが、マーモセットの細胞はなかなかプログラムしにくくて、かなり苦労して、最終的には山中4因子では足りずに、6因子を入れることによってできるというのを見出しておりました。そういった若干の違いがありまして、それが実際に治療効果のある程度予測する上で、マーモセットがヒトと違うからというふうに考えなければいけないかというところはちょっとわからないんですが、今後よく考えていきたいと考えております。

(吉村専門委員) ミトコンドリア置換のことですけれども、人間に応用するとすると、初めはやっぱり高齢者の卵子を核置換して、ミトコンドリア、要するに細胞種置換と言ってもいいと思うんですけれども、そういったことに使う場

合と、あるいはまたミトコンドリア病の治療に使うということも可能性として考えられると思うんですけれども、やはりどうしてもこういったときにヘテロプラスミーが問題になってくると思うんですよね。その点については先生、どういうようなお考えをお持ちでしょうか。

(佐々木部長) ちょっと私自身はこの核移植の研究は動物だけと思って考えておりました、今回、ご依頼があって、私なりの考えを述べさせていただいたこととありますので、あれなんです、やはりある程度はまず、やっぱり動物実験でそういったところもクリアにしてから、最終的にどうするかということを考えていかなきゃいけないというのが私の意見です。それはある程度のN数が稼げないと何ともいえないかというふうに考えております。

(相澤会長) よろしいでしょうか。

それでは、佐々木先生のお話は以上とさせていただきます。どうもありがとうございました。

本日の議事は以上で終了でございます。

次回の予定等について事務局から説明をお願いいたします。

(山本参事官) 今回の議事録につきましても、いつもと同じですけれども、皆様にご確認をいただいた後に公開させていただきますので、よろしく願いいたします。

それから、次回の会合は、既に予告をしておりますとおり、7月12日水曜日、午後2時から、14時からということで予定をしておりますので、よろしく願いいたします。

以上でございます。

(相澤会長) それでは、これで本日の会議を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。