

# 序 論

河野友宏・佐々木裕之・中辻憲夫

体細胞クローンヒツジのドリーが衝撃的なデビューを果たしてから、早くも5年が経過した。この間の研究の進展はすさまじいばかりで、ヒツジ、ウシ、ブタ、ヤギ、マウス、ネコで体細胞クローンが誕生している。これほどクローンが容易(本当は決して容易ではない)に誕生すると誰が考えていただろうか? ゲノム情報の可塑性には驚かされるばかりだ。生命科学の研究対象としてクローンが純粋に興味深い題材であることは疑いのないところだろう。一方、科学者はもちろんのこと、宗教家、政治家はもとより、これまで発生学・生殖学などにほとんど興味を示さなかった一般の人々を巻き込み、クローン研究の是非が論議されている。これほどまで多くの物議をかもした研究も少ない。それだけクローンの誕生が大きなエポックであったと同時に、得体の知れない存在として脅威を与えているのかもしれない。クローン研究に対する賛否両論が錯綜するなかで、クローン人間につながる研究として危惧する声もあるが、再生・移植医療へ貢献する技術として、積極的に容認する考えに合理性を認めているのが大方の意見であろう。

個体発生には、緻密に仕組まれた発生のプログラムの正確な進行が要求されるわけだが、クローン胚ではこの時間軸がもの見事にリプログラムされる。しかし同時に、多発するクローンの多様な異常は、このリプログラミング [→今月のKey Words(p.1788)] の誤りと考えられ、その対象となった遺伝子の数により異常の状況と程度が異なって生じているのであろうと推測される。ドリーの生みの親である Ian Wilmut 博士が述べているように、「クローン個体はすべて何らかの異常を伴っている」というのがクローンのもうひとつの実態である。本特集では、最近明らかになってきたクローンに認められる形態的異常、ならびにエピジェネティクス [→今月のKey Words(p.1788)] の異常に関するトピック7編を紹介し、クローン研究の最新の情報を提供したい。

## 1. クローン動物研究の歴史

そもそも、核移植技術によるクローン動物の研究は、1950年代~70年代に両生類において盛んに行なわれ、脊椎動物で分化した細胞(たとえばオタマジャクシの腸管上皮)の核がリプログラムされ、再び全能性を獲得し個体発生を遂げる事が明らかとされた。しかしその一方で、成体の体細胞核からクローン個体を作出することはできず、そのリプログラミングの限界も同時に示されている。1980年代になると、両生類に代わり哺乳動物

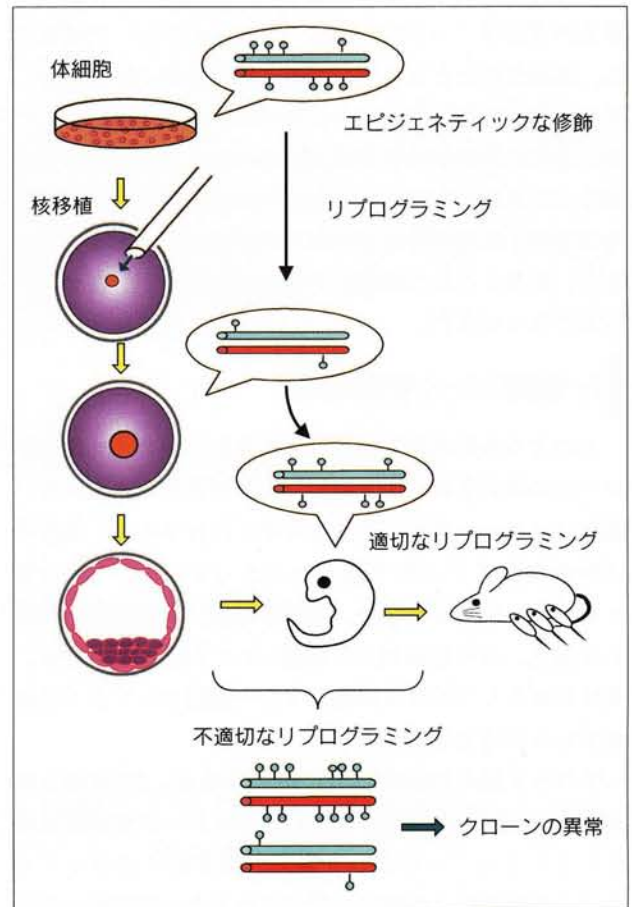


図1 ドナー核のリプログラミングとクローンの発生

における再現性の高い核移植技術が、雌雄ゲノムの発生に対する役割を研究するための道具として開発された。Surani 博士ら、ならびに McGrath 博士と Solter 博士のグループは、独立に開発したマウス受精1細胞期卵での核移植(前核置換)技術により、雌あるいは雄ゲノムのみをもつ雌核発生胚(gynogenetic embryos)および雄核発生胚(androgenetic embryos)を作製し、両者とも妊娠9.5日までに必ず致死となることを明らかにした。現在のゲノムインプリンティング研究の発展の契機となった研究で、その重要性を確固なものとした。彼らの一連の研究に、エピジェネティクスとクローンの接点を見た思いがする。当然、前核置換技術がクローン生産に応用されたが、期待された成果をあげるには至らなかった。

1986年に Wiladsen 博士が未受精卵への核移植を初めて試み、16~32細胞期胚の核からクローンヒツジの生産に成功した。この研究を契機に哺乳動物におけるクローン研究が本格的に始まり、1997年のドリー誕生へと結びつくことになる。この間、ゲノムインプリンティングの研究も分子生物学的な解析が飛躍的に進み、次々と刷込み遺伝子〔→今月のKey Words(p.1788)〕が同定され、胚発生にとどまらず、がん、細胞増殖、転写制御、さらに種々の遺伝病などとの関連が明らかにされた。一方、刷込み遺伝子発現を制御する生殖細胞で特異的に機能している新規DNAメチル基転移酵素が同定され、さらに遺伝子の高次構造の変化との関係が解明かされるなど、分子レベルでの遺伝子発現制御機構がしだいに明らかとなってきた。

## 2. 体細胞クローン研究の現状

このような研究展開の背景をふまえ、改めて体細胞クローンの現状を再考する必要性が出てきた。たとえば、実際にクローン誕生に至る成功率に注目すると、動物種にかかわらず1~3%程度にとどまっている。ドナー核として用いられる細胞は、線維芽細胞、卵丘細胞、卵管上皮細胞、胚性幹細胞(ES細胞)など多岐にわたるが、多分化能をもつ胚性幹細胞がドナー細胞としてとくに優れているわけではないようだ。

クローン誕生の陰の部分に注目すると、95%以上のクローン胚が発生過程のいずれかのステージで発生を停止してしまっているという事実が浮き彫りになってくる。この事実は、動物種や使われたドナー細胞種、あるいは核移植の手法にかかわらず、クローン胚の特性とし

て認められる。妊娠満期にまで発生した事例においても、誕生直後の死亡が頻発し、しかも、多種・多様な形態的および病理組織学的な異常を伴った事例も少なくない。さらに、無事蘇生し成長を開始したクローンのなかには、幼弱期に免疫不全などの症例で早世するものもある。

また、クローンが短命であることを示すデータも最近報告されている。培養細胞をドナー細胞として使用した場合にクローンの異常が頻発する傾向にあり、培養条件下でのエピジェネティックな修飾の変化とクローンの発生異常との関連も指摘されている。

これらのクローン特有の形態的異常については、本特集では、ウシクローンの多数の事例からドナー細胞種と発生異常の関連について(角田の項)、また、ES細胞クローンマウスにおける胎盤の肥大や胎仔の過成長などの形態的異常の遺伝性について(下澤・河野らの項)、それぞれ解説していただく。また、ウシクローン胚の作出段階における、ドナー核とレシビエント卵子の細胞周期の組合せと核のリモデリングについて(黒田・今井の項)も解説していただいた。

## 3. クローン動物にみられる異常の分子生物学的解明

クローンの誕生とその異常に関する分子生物学的なメカニズムを解明しようとする研究もようやく緒についてきた。分化した核のリプログラミングをエピジェネティック修飾の変化、とくに刷込み遺伝子の変化との関連において精査しようとする研究が最近盛んになり、具体的に刷込み遺伝子の発現異常やDNAメチル化の異常を証明した優れた報告がなされている。たとえば、マウスクローン胎仔では母方発現をする*H19*遺伝子の発現が完全に抑制されていたり、あるいは死産となった雌クローンウシでは、X染色体の不活性化を調節する母方発現遺伝子の*Xist*が両アレルで発現しているために、X染色体の不活性化が生じていないなどの事例が報じられている。また、エピジェネティックな遺伝子発現制御に最も重要なDNAメチル化に異常が認められることも報告された。ただし、クローン胚では当初予想していた以上に、DNAメチル化パターンおよび組織特異的遺伝子発現がうまくリプログラムされているという報告もある。おそらく、着床に成功し胎仔にまで発生したクローンでは、ゲノムのエピジェネティック修飾のリプログラミングがほぼ正常に行なわれているだろうが、一部で生じたエラ

ーが異常としてクローン産仔で顕在化しているものと思われる (図1)。

本特集では、体細胞クローンマウスの特性と刷込み遺伝子の発現解析結果の成果から、両者の関連性について(井上らの項)、また始原生殖細胞をドナー細胞としたクローン胎仔を活用したインプリント記憶のリプログラミングについて(石野らの項)解説していただく。さらに、ゲノムインプリンティング、X染色体の不活性化の機構とクローンマウスでの異常との関連性について(佐々木の項)、またRLGS (restriction landmark genomic scanning) 法によるゲノムワイドなDNAメチル化解析から判明したクローンの異常について(服部・塩田の項)、それぞれ解説していただいた。

#### 4. 今後の進展

クローン研究が今後どのような進展を見せるのか興味深い。体細胞クローン技術は、当初、とくに日本では農学領域における研究という色合いが強いものであったが、現状では種雄ウシなど特別優良な個体を複製するなど、その可能な用途に限られてきた。その一方で、幹細胞生物学とその再生医療への応用研究が急速な展開をみせるなか、現在ではES細胞とともに将来の再生医療を担う重要な技術であるとの認識が広がりつつある。ヒトES細胞が樹立され、さらにES細胞からさまざまな体細胞を分化誘導させる実験系が開発されてきた。そこで、患者の体細胞を用いてクローン技術により胚盤胞を作成し、これをもとに患者自身のES細胞を樹立して、分化誘導により必要な細胞をつくり、患者に移植する戦略が注目されている。もちろん、遺伝子治療への応用も同時に可能となる。

最近、核移植胚より作製されたES細胞を用いて免疫不全マウスの治療に成功したことがCell誌に報告された。先にも述べたが、培養系でのエピジェネティックな修飾の変動をどのように評価すべきか、今後の課題となろう。また、遺伝子改変により拒絶反応を軽減させたクローンブタの臓器を移植医療に利用しようとする考えもあるが、ブタからの感染の可能性、あるいはヒト以外の臓器を利用することへの抵抗など、やっかいな問題が指摘されている。現在、クローン研究は新しい局面を迎えており、その本質を再考して真価を問うよい時期と考えている。

すでに多くのクローン動物に関する優れた著書、総

説、特集が数多く出版されているが(興味本位のものも多い)、クローンの異常とエピジェネティクスとの関連に焦点をあて、最新の研究成果を特集したものはない。最近では、エピジェネティクスの重要性を示す象徴のひとつとしてクローン動物が捉えられ、新たな研究領域の展開が期待されているのと同時に、クローン技術が再生・移植医療へ組み込まれてゆこうとする大きな2つの潮流が生まれている。

本特集では、クローン研究の第一線でご活躍の先生方に、とくにクローンに認められる異常の発生状況・特質・遺伝性について、またインプリンティングやDNAメチル化機構の研究でご活躍の先生方から、エピジェネティクスとの関連についてご寄稿願った。これまでにない切り口で、クローン動物に特異的な発現現象を洞察することができるものと期待している。読者諸氏が、クローン動物とその誕生のメカニズムへの理解を深めるために、またクローン研究の将来を展望するうえで、本特集が少しでも役立てば幸いである。

#### 編者プロフィール

##### 河野友宏

略歴：1982年東京農業大学大学院農学専攻博士後期課程修了、東京農業大学総合研究所助教授を経て、1996年より教授、2001年よりバイオサイエンス学科教授。研究テーマ：個体発生とエピジェネティクスとの関連を、クローンおよび単為発生胚を題材に研究している。関心事・抱負：生殖細胞、胚の操作技術の将来像。好奇心の旺盛な学生を育てたい。

##### 佐々木裕之

略歴：1987年九州大学大学院医学系研究科修了、医学博士、九州大学遺伝情報実験施設助手、Wellcome/CRC研究所研究員、九州大学遺伝情報実験施設助教授を経て、1998年より国立遺伝学研究所総合遺伝研究系人類遺伝研究部門教授。研究テーマ：ゲノムインプリンティングとDNAメチル化を中心とするエピジェネティクス。関心事・抱負：優秀な研究者を育てたい。

##### 中辻憲夫

略歴：1972年京都大学理学部(生物科学系)卒業、1977年同大学院理学研究科修了、理学博士。スウェーデンウメオ大学助手、米国マサチューセッツ工科大学生物学教室研究員、米国ジョージワシントン大学医学部研究員、英国ロンドン大学客員研究員、明治乳業ヘルスサイエンス研究所主任研究員、研究室長を経て、1991年国立遺伝学研究所教授、1999年から京都大学再生医科学研究所教授。現在、幹細胞医学研究センター長を併任。研究テーマ：発生生物学と発生工学、とくに哺乳類の生殖細胞とES細胞の発生分化と発生工学を研究。