

# 高度生殖補助医療の 安全性を問う

坂元志歩（サイエンスライター）



世界初の試験管ベビーは、今年 30 歳を迎えた。現在、高度生殖補助医療で生まれた子どもたちの数は、世界で累計 400 万人にもものぼる。しかし、ここにきてゲノムインプリンティングを主としたエピジェネティクスとよばれる遺伝子発現制御の研究から、生殖医療の問題が改めて浮上し始めている。

産婦人科の独特の形をした診察台の上で、足を広げる。シートのひんやりした感触とともに、心もとない感じがつきまとう。できることなら、こんな瞬間は少しでも早く通り抜けたい。子どもさえ、早く妊娠できれば……。

倫理規定という概念が希薄だった 1970 年代、子どもが欲しいという強い要望に応えるべく、高度生殖補助医療（ART：Assisted Reproductive Technology）が英国で始まった。華々しい最初の誕生は、今から 30 年前の 7 月 25 日、1 人の女の子であった。名前はルイズ・ブラウン。母親から取り出した卵子に、体外で多数の精子をかけて受精した受精卵を培養し（*in vitro* fertilization、以下 IVF）、胚まで育て

て子宮に戻す手法が使われた。日本でも試験管ベビーとよばれ、当時大きな話題になった。

それ以降、ART は世界中の国々で研究され、1992 年にはベルギーにおいて卵細胞質内精子注入法（intracytoplasmic sperm injection、以下 ICSI、顕微授精法ともいう）によって、初めての子どもが生まれる。ICSI は、取り出した卵子に細い管で直接精子を挿入して受精を行い、培養後の胚を子宮に戻すという手法で、精子に問題がある不妊に対して大きな福音となった。現在、ヒトが妊娠するために行われている ART は、大きく分けてこの IVF と ICSI の 2 つの方法がある。

日本では、多くの不妊カップルの願

に依って、今や日々誕生する出生児の 55 人に 1 人が ART で生まれている。しかし、ART の安全性に疑問を唱える研究は増えてきている。自然妊娠で生まれた子どもたちに比べ、ART で生まれた子どもたちでは、ゲノムインプリンティング異常症とよばれる先天性異常の発症率が数倍も高い場合があるという。

## 細胞がもつ父の記憶、母の記憶

細胞の中では、分裂期に遺伝物質が染色体というまとまった形を取る。ヒトは 46 本の染色体をもち、半分の 23 本を父親から、もう半分を母親から受け継ぐ。X、Y という 2 本の性染色体を除く、44 本の常染色体では、父親由来と母親由来の染色体がペアになっていて（相同

染色体)、基本的に相同染色体上には同じ遺伝子(対立遺伝子)が存在する。これらの対立遺伝子は、普通、父親と母親のいずれに由来しても同じように働くが、なかには父親からの遺伝子しか発現しないようプログラムされているもの(PEG: Paternally expressed gene)や母親からの遺伝子しか発現しないようプログラムされているもの(MEG; Maternally expressed genes)がある。発現とは遺伝子の情報が読み取られること、いわば遺伝子のスイッチがONになった状態をいう。ゲノムインプリンティング(ゲノム刷り込み)とは、エピジェネティクスとよばれる遺伝子配列の変化を伴わない遺伝子機能制御機構の1つで、父母のどちらか片親だけに由来する遺伝子を発現させる仕組みだ。エピジェネティクスによる遺伝子制御は、細胞分裂を経ても変わることがなく、この点で環境に呼応して発現量を変えるような一過性の発現変動とは区別される。「PEG、MEGといったゲノムインプリンティングは、これらの遺伝子のDNAにメチル基が付加される“メチル化”によって刻印され、普通、体細胞では一生変わることはありません」と国立成育医療センター研究所の秦健一郎部長は説明する。

では、ゲノムインプリンティングのためのメチル化という親の刻印は、いつ行われ、どのように受け継がれていくのだろうか? それは、あなたの両親の精子や卵子といった配偶子が作られる過程で形成され、受精によってあなたの体細胞に伝わる。この体細胞がもついわば父母の記憶は正常発生であるかぎり、一生にわたって消えることはない。ただし、あなたの親の刻印はあなたの配偶子形成の過程ではいったん消去され、あなたの性に応じた新たな印が刻まれ、再構築される。そしてあなたの刻印は、あなたのパートナーの刻印とともに、あなたの子どもへの体細胞に受け継がれる。このようにして、受精卵になるはるか以前に、誕生にかかわる精緻な仕組みが作られていくというわけだ(図1)。

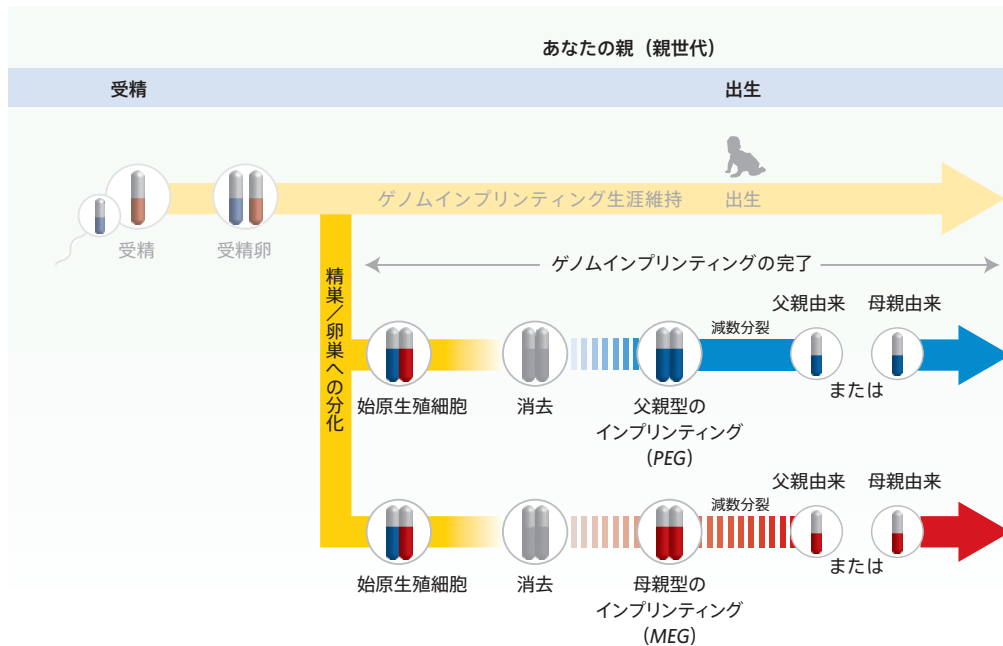
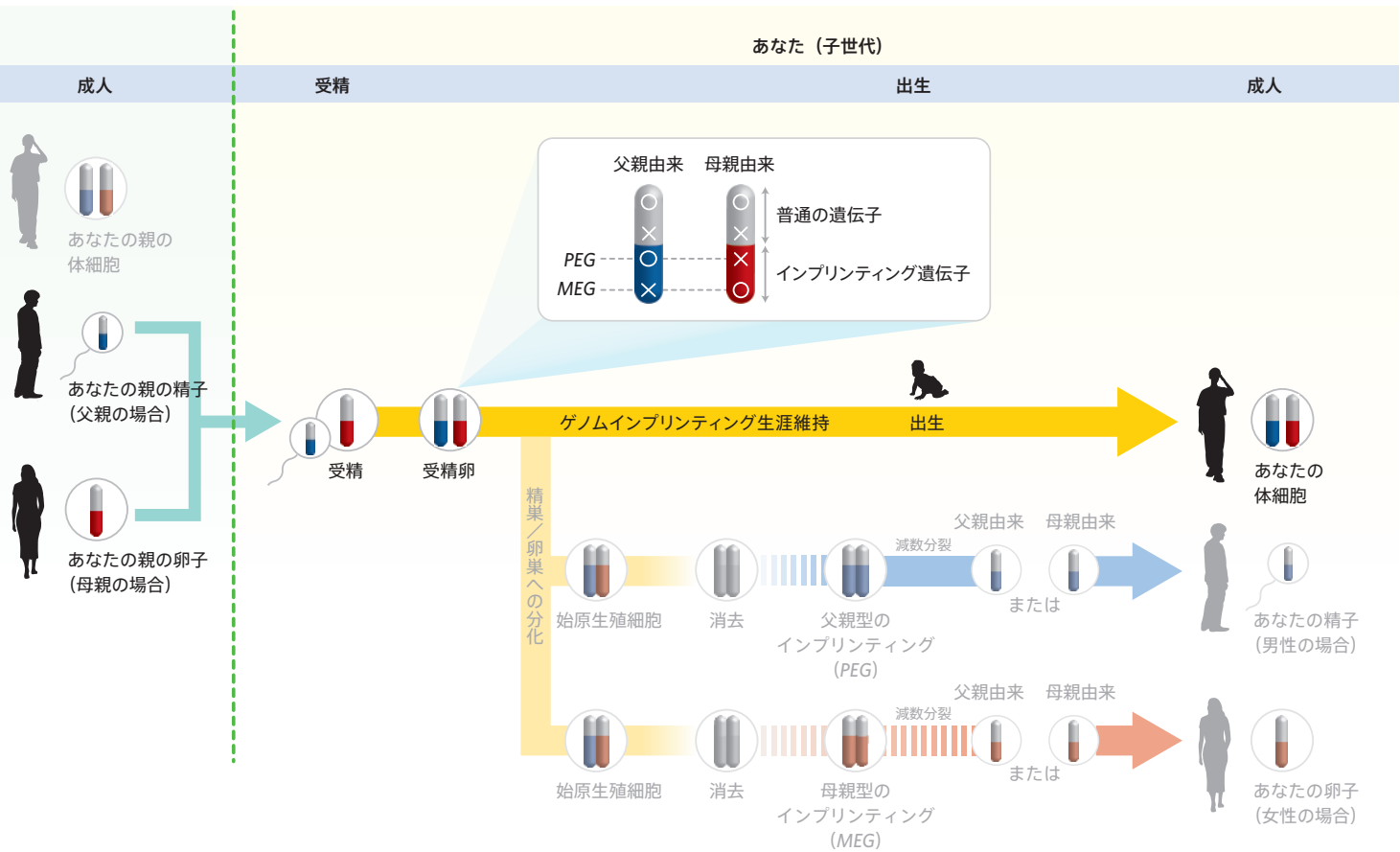


図1 ゲノムインプリンティングの時期。あなたの体細胞がもつゲノムインプリンティングは、両親が胎児のときに獲得したもの。同じように、あなたが胎児のときに生殖細胞でのみ、インプリンティング領域の消去と再構築が行われる。そのゲノムインプリンティングはあなたのパートナーのものとともに、あなたの子どもの体細胞に受け継がれる。(なお、図では、親世代のゲノムインプリンティングの時期と、そのゲノムインプリンティングが子世代で生涯維持される流れがわかりやすいように、親世代と子世代の一部を薄く表現している。)

さらに詳しく説明すれば、このような親の刻印はあなたの両親が胎児のとき、将来父親ならば精巣に、母親ならば卵巣になる生殖腺という場所で始まる。この中で、将来精子や卵子になる始原生殖細胞において遺伝子に挿入されていたメチル基がすべて取り外される。ヒトでは妊娠5週目頃に始原生殖細胞が出現し、妊娠7週目にかけて将来の生殖腺へと移動を始めるといわれることから、この時期の生殖細胞で親世代のゲノムインプリンティングの消去が起こると考えられている。続いて、性別によってメチル基を入れる場所を変え、精巣と卵巣では正反対の場所がメチル化され、再構築される。「このメチル化再構築の時期は、精子と卵子で異なります」と東京医科歯科大学難治療疾患研究所の石野史敏教授はいう。精子は出生前にメチル化再構築を完了するが、卵子の場合は、マウスだと出生してから数日から数週間ですべて完了する。「ヒトでも出生後、

卵子が成熟し、排卵するまでの間に徐々に行われている可能性があります」と国立成育医療センター研究所の緒方勤部長は語る。

またメチル化は、ゲノムインプリンティング以外のエピジェネティクスにも使われている。「受精卵から原腸陥入期という初期胚の段階で、インプリンティング遺伝子以外の領域でゲノム全体にわたって大がかりなメチル化の消去と再構築が行われます」と秦部長は説明する。受精後発生の初期に、ゲノム全体で多くの遺伝子のメチル化が著しく変化するので(図2)。このダイナミックな遺伝子の制御によって、正常な発生が進んでいく。一方、前述のように、ゲノムインプリンティングは受精後も生涯維持される。見方を変えれば、発生初期の大規模な「メチル化の変化」という波の影響を受けないということが、ゲノムインプリンティングを受ける遺伝子の特徴の1つといえる。



精子と卵子が異なる遺伝子のインプリンティングを受けることで、2つが受精したときに受精卵の中に父親由来、母親由来でそれぞれ発現する可能性をもったインプリンティング遺伝子がいわば1:1で存在することになる。この仕組みは哺乳類に共通したもので、それゆえ哺乳類では雌と雄がいなければ、子どもは生まれません。「哺乳類には、100から200対ほどのインプリンティング遺伝子が知られていて、それらは胎児の成長や成長後の母性行動にかかわっています」と石野教授は説明する。

**遺伝子発現制御の変化は時に重篤な症状を生む**

ゲノムインプリンティングにかかわる遺伝子が最初に見つかったのは1984年、それ以後次々と発見されていった。2008年1月には石野教授らと緒方部長らの共同研究によって、ヒト14番片親性ダイソミーで発症する奇形症候群

の分子メカニズムが明らかになった<sup>1,2</sup>。それまで、ヒトでは14番染色体において、本来、父親と母親両方から1本ずつ受け取るはずの染色体の組み合わせを2本とも一方から受け取る病気（片親性ダイソミー）があり、原因はゲノムインプリンティング異常であることはわかっていたが、その詳細な制御メカニズムは不明であった。

緒方部長らがヒトの14番ダイソミー様の奇形の症状を呈するが14番ダイソミーではない症例を調べたところ、インプリンティング調節領域の欠失やDNAメチル化異常で発症していることを発見。石野教授らが、同じ原因遺伝子でマウスの遺伝子操作を行い、ヒトで見られる症状と同じような症状がマウスで現れることを突き止めた。単純化していうと、父親性ダイソミーでは、PEGが2倍量発現し、MEGの発現はない。母親性ダイソミーの場合はその逆で、MEGの発現が2倍量になり、PEGの

発現がなくなる。本来あるべき姿から遺伝子発現制御が変化することで、場合によっては重篤な症状が現れるのだ。今回解析を行った領域のインプリンティング遺伝子であるPEG11の発現異常では、新生児致死や、成長不良などの症状が現れた。

**ICSIでは正常な発生が行われているのか？**

では、3万個ほどある遺伝子がどの時期に、どのくらい発現しているのがよいといえるのか？ 石野教授らは、死産の多いクローン動物でエピジェネティクスを明らかにすべく、準備しているときにある奇妙な現象をとらえた。マウスを用いた、自然妊娠とIVF、ICSIという基準となる正常コントロールの検討中に「ヒトのARTでも行われるICSIの作業手順を踏んだときにだけ引き起こされる、遺伝子発現の変化（シフト）をとらえた」のだ。

実験で使用されるマウスは、遺伝的

な背景がよくわかっている系統のものが選ばれて利用されることが多い。こうしたマウスの系統は、何世代もの間、同じ家系内で交配が繰り返され、遺伝的には均一化されて、エピジェネティックな発現制御もよくそろっている。上がるべきところで、上がるべき遺伝子の発現量が増加し、下がるべきところで減少する。たとえ個体が違って、その時期や量はほぼ一致しているという。遺伝子発現のパターンが、系統内ではある程度の規則性をもってみられるのだ。「しかしICSIでは、この遺伝子発現のパターンが自然妊娠のマウスと明らかに異なっていました」と東京医科歯科大学の幸田准准教授は話す。

自然妊娠と比べて、ICSIの新生仔で起きている遺伝子発現のシフトが何を意味するのか? 「このシフトが正常範囲内のことなのか、そうではないのか、現時点でははっきりした答えはありません」と幸田准教授はいう。したがって、この段階でヒトでのICSIが危険だと宣言するものではない。系統で管理されたマ

ウスと、ヒトが同じ経過をたどるかどうかは定かではないし、受精卵を培養する薬剤なども、ヒトのほうが好条件で行われている。例えば、培養の過程で使う血液製剤も、マウスでは異種のウシ由来のものが使われるが、ヒトではヒト由来のものだ。卵子や精子、受精卵が他人の血液製剤にさらされる危険性(C型肝炎やHIVの薬害の例のような、未知の感染性微生物存在など)を考えなければ、同種間のもは培養条件としてはよいといえるだろう。また、系統で管理されたマウスよりも、ヒトのほうがはるかに遺伝的多様性は高いはずで、個人差によってもたらされる遺伝子発現のシフトと、ICSIによって起きているシフトのどちらが、生まれてくる子どもにより大きな影響を与えるのか、現状では知る術がない。

ただし、ARTで生まれてくるヒトの子どもたちは、自然妊娠よりもゲノムインプリンティング異常が起きやすいといった報告はいくつもなされている。エピジェネティックな変化の中では、ゲノ

ムインプリンティング異常は症状がわかりやすい。病気自体は何万人に1人くらいの割合でしか起こらないが、例えば過成長などを起こす遺伝病であるBeckwith-Wiedemann症候群のARTでの発症率は、自然妊娠の3~9倍となっている(表1)。ほかにも、肥満や低身長を起こすPrader-Willi症候群、精神遅滞やてんかんを起こすAngelman症候群、低身長や低体重を起こすSilver-Russell症候群などが知られており、ARTとの関連性が危惧されている。なお、これらのゲノムインプリンティング異常症の一部は、家畜における生殖補助の結果、過成長を生じるlarge offspring症候群との類似性を示す。また、ゲノムインプリンティングとの関連は不明であるが、低出生体重児や先天奇形症候群の発症率もARTによって増加することが報告されている。パーミンガム大学(英国)のEamonn R. Maher教授は、ARTによって生まれた子どもの低体重が一生の健康状態と密接にかかわるのではないかと指摘している<sup>3</sup>。これは疫学的な調査により、出生時の低体重と大人になってからのインスリン非感受性や心臓血管病との間に関連があると報告されているという間接的な理由からだ。

**遺伝子発現の変化はなぜ起こるのか?**

ヒトの発達過程では、遺伝子作用の変動や環境変化を緩和し、正常発生を保持しようとする仕組みが存在する。エッセン大学(ドイツ)のBernhard Horsthemke教授は、「だからこそ、精子競争や体内環境といった生物学的なフィルターを回避して生まれてくるARTの子どもたちであっても、彼らが健康であることは驚くに値しないが、この緩和していた経路がうまく機能しないと、通常は隠れていた遺伝的、あるいはエピジェネティックな変化が顕在化するのかもしれない」と推察している<sup>4</sup>。

では、ゲノムインプリンティング異常を含むエピジェネティクスの変化の原因については、どのように考えられている

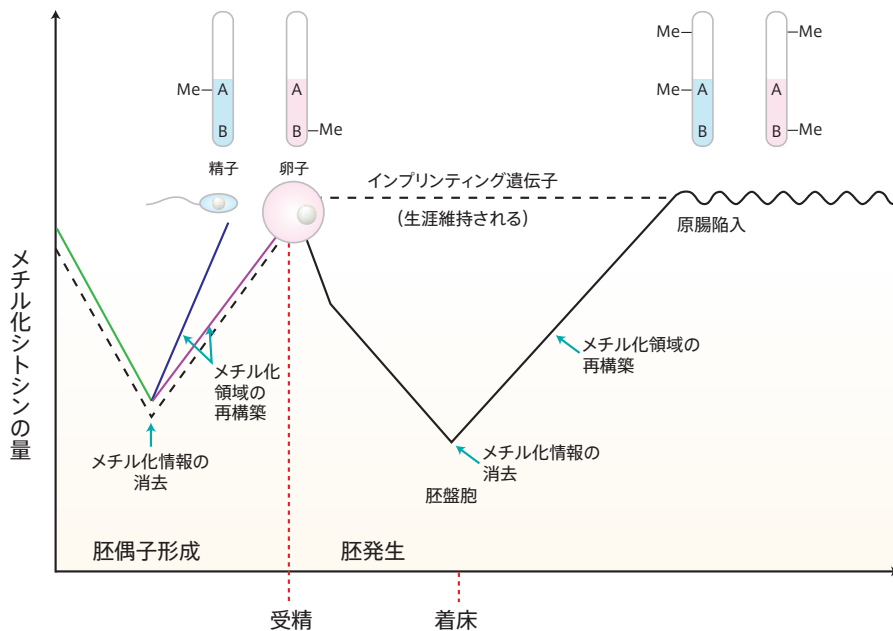


図2 メチル化情報は発生過程で再構築される。精子や卵子が作られる過程でゲノムインプリンティングにかかわる領域のメチル化が行われ、受精後もずっとその情報は保持される。ゲノムインプリンティング以外のメチル化領域は、受精から胚盤胞期にかけてメチル化情報が消去され、胚盤胞から原腸陥入にかけて再構築される。

表 1 ヒトにおける ART とインプリンティング異常症 (Beckwith-Wiedemann 症候群) の報告

報告者	総患者数	ART 患者数	ART 患者数 総患者数	ART 児出生数 全出生数	自然妊娠での発症率	ART 児での発症率	ART の種類
DeBaun (米国)	65 人	3 人	4.6%	0.76%			IVF, ICSI
Gicquel (仏)	149 人	6 人	4%	1.30%			IVF, ICSI
Maher (英)	149 人	6 人	4%	1.00%			IVF, ICSI
Halliday (オーストラリア)					1/35580 (0.003%)	4/14894 (0.027%)	IVF, ICSI
Sutcliffe (英)	213 人	11 人	5.2%				IVF, ICSI, ホルモン治療

Beckwith-Wiedemann 症候群は、卵子にインプリンティング異常を示し、過成長を特徴とする疾患である。その発症率は、ART において、自然妊娠の 3~9 倍となっている。

のだろうか？ 緒方部長は、「ART を必要とするカップルの高年齢や遺伝的な素因に加え、ART に付随する技術によって生じる物理的変化や人工的な環境と、自然妊娠との差」を可能性として挙げた。受精卵となった後で、ゲノム全体で大掛かりなメチル化の消去と再構築が行われていることを考えると、体外の人工的な環境でこの時期を過ごすリスクは考えられる。また、卵子のメチル化の時期も問題だ。「排卵誘発剤を使い、無理に卵子を成熟させることによって、ヒトではメチル化によるゲノムインプリンティングの確立がうまく行われない可能性もあります」と緒方部長はいう。秦部長は「配偶子や受精卵の培養環境がゲノムインプリンティングを含むエピジェネティックな遺伝子機能制御に影響を与える可能性もあります」と語った。このような時期に、卵子や受精卵が母体という環境からどのような影響を受けているのか、まったくといていいほどわかっていない。そのため、環境を模倣することもむずかしい。

### ART の追跡調査を開始する

これはあくまで経験的な印象と断ったうえで、「ART で生まれてくるお子さんは、分娩時に苦労することも多く、成長後もどこか変だという印象を受けることが多い」という医療関係者の声もある。また、保険が効かない高価な ART は、

個人が経営する病院などで行われ、分娩以降は別の施設に回される場合も多いと聞く。ART は、経済的負担が大きい。費用は施設ごとに異なるものの、1 回につき数十万円はかかる。大量のホルモンを投与して、卵子を採取する必要があるため、母体に与える負担も、それ以上に心の負担も大きい。少しでも早く結果を望む患者のニーズに応えるような形で、確実に受精させられる ICSI が選択されやすい傾向がある。日本の医療では、受胎という努力と、無事に生み育むという努力が異なる次元で行われ、行き違いが生じている現実も見え隠れする。

産科婦人科学会では、以前から、ART を行うことに対して起こるリスクを患者に事前に説明することを推奨している。また、可能な限り ART で生まれる子どもの記録を残すことが重要だ。産科婦人科学会倫理委員会登録調査小委員会の齊藤英和委員長によれば、「これは分娩時の状態や、成長後の過程について追跡調査を行える土壌を作るためだ」という。国立成育医療センターを中心とした研究班も立ち上げられた。ART で生まれてくる子どもたちや親たちの遺伝子発現状況を調べることで、実際にヒトで何が起きているのかを調査していくという。ゆくゆくは、この調査結果を ART で誕生した子どもたちの医療に役立てていく予定だ。

五体満足ということが、健康に生まれてきたということを意味するのか、遺伝子を網羅的に解析するという技術が向上した結果、私たちは新たな基準を目の当たりにすることになった。はっきりした答えは出ていないものの、不妊カップルの遺伝的素因と同じくらい、技術的な操作にともなう環境要因が胎盤形成や胎児の成長を支配するエピジェネティクスの過程に不都合だという証拠は増加してきている<sup>4</sup>。DNA で書き記されたためられた私たちの体の中にある古文書は、急速に読み解かれようとしている。見つかりつつある遺伝子発現の変化が多様性の範囲であるのか、そうではないのか。そうではなかったときに、我々は古文書を書き変えるのか。残念ながら、今のところエピジェネティクスを制御する方法は見つかっていない。こうした事態を受け入れて生きていくのは、生まれてくる子どもたちだ。IVF のルイーザ・ブラウンは 30 歳。初の ICSI で生まれた子どもは 16 歳になったところだ。ART で生まれた子どもの多くは 20 歳以下。今後、彼らが受け止めていくものは何であるのか、その答えは誰も知らない。 ■

1. Ishino F. et al. *Nature genetics* **40**, 243-248 (2008)
2. Ogata T. et al. *Nature Genetics* **40**, 237-242 (2008)
3. Maher ER. et al. *Hum Reprod* **18**, 2508-2511(2003)
4. Horsthemke B. et al. *Human Reproduction Update* **11**, 473-482(2005)