

遺伝子工学

Transgenic primate offspring

トランスジェニック霊長類の誕生

Gerald Schatten & Shoukhrat Mitalipov

Nature Vol.459(515-516)/ 28 May 2009

世界で初めて、導入された外来遺伝子を子孫に継承できる遺伝子改変（トランスジェニック）ザルが作り出された。この成果は、これまで限界があったトランスジェニックマウスを用いたヒト疾患治療の研究にとって大きな一歩となるだろう。

ヒト遺伝子の機能に関する研究は、ゲノムに外来 DNA を組み込んだトランスジェニックマウスの開発によって、培養細胞ではなく生きた動物個体で厳密に調べることができるようになり、大きく進歩した。遺伝子導入技術の開発は、生殖目的のクローン作製技術の進歩にも助けられ、ラットやウサギ、ブタ、さらにはネコやイヌといった哺乳類でも次々と進められている。こうした流れの中、Nature 2009 年 5 月 28 日号の p. 523 で佐々木えりかたちは、導入した外来遺伝子が子孫へ受け継がれるトランスジェニックザルを作り出すという、霊長類研究における画期的な成果を報告した¹。これを使えば、ヒト疾患を研究するための霊長類の系統を確立することができるだろう。

マウスモデルは、貧血や喘息から自閉症や統合失調症に至るさまざまな疾患や障害の研究で用いられている。しかし、すべてのヒト疾患について忠実なモデルを作り出せるわけではない。例えば、嚢胞性繊維症の遺伝子を発現するよう遺伝子改変したマウスでは、この疾患に典型的な肺の障害がみられない（嚢胞性線維症のブタモデル²のほうが有用である）。特に、アルツハイマー病など脳の高次機能障害は、げっ歯類でモデルを作り出すことが難しく、限界がある。そこで、ほかの多くの疾患も含め、貴重な生物モデルと期待されるのが、ヒトにごく近縁な動物、つまりヒト以外の霊長類である。

米国では、霊長類を用いた研究は、地方および連邦当局の厳しい監視の下で行われている。その結果、この 10 年で作り出されたのは、緑色蛍光タンパク質（GFP）の遺伝子を導入したアカゲザルが 1 匹³と、ヒトのハンチントン病の原因遺伝子をもつ初めての霊長類モデルとしてのアカゲザル⁴だけである。もう 1 つ別の研究では、遺伝子改変したアカゲザル胚の着床により、導入遺伝子を発現する胎盤が得られた⁵。しかし、導入した外来 DNA が配偶子（精子や卵）へ

伝達された例はなかった。改変された遺伝子をもつ子どもが生まれるためには、導入遺伝子が配偶子にも継承されなければならない。そして、生まれた子孫を繁殖させることで、トランスジェニック霊長類の系統を確立できるのだ。

佐々木たち¹は、こうした研究をさらに推し進め、いくつかの斬新なアイデアを取り入れた。まず注目すべきは、アカゲザルではなく、コモンマーモセット（*Callithrix jacchus*）を研究対象にしたことである。コモンマーモセットは小型のサルで、性的に成熟するまで 1 年しかからない。また、世代交代がかなり短く、双子が生まれることも多い。実験の過程で研究チームは、体外受精（IVF）による胚よりも、交尾した雌の輸卵管から洗い出した体内受精の胚のほうが、導入遺伝子の担体として優れていることに気がついた。遺伝子発現の目印となるレポーター分子として、GFP をコードする遺伝子を注入したところ、体外受精した胚ではおよそ 70% しか発現がみられなかったが、体内受精の場合ほぼ 100% の胚で発現していたのである。無事に誕生した 5 匹の遺伝子改変マーモセットのうち 4 匹は、体内受精した胚から生まれたものだった。

佐々木たちはまた、遺伝子の導入効率を高めるため、受精卵を糖溶液中に入れて収縮させ、外側の膜（透明帯）と受精卵の間にすき間を作り出して、導入遺伝子を含むウイルスベクターをより多く注入できるようにした。そして、80 個の胚を 50 匹の代理母の子宮内に移植すると、7 匹が妊娠し、最終的に 5 匹の子どもが生まれた。GFP 遺伝子は、子どものゲノム内の数か所に組み込まれており、緑色蛍光タンパク質の発光によって、さまざまな組織で発現していることが確認できた。さらに、これらのマーモセットを性的に成熟するまでずっと追跡したところ、導入遺伝子が配偶子にも存在していることが確認された。佐々木たちは、導入遺伝子の生殖

系列細胞への継承がわかり、遺伝子改変した子どもの誕生が期待できると考えた。そして、期待は現実のものとなった。GFP 遺伝子を導入したマーマセットを親にもつ最初の赤ん坊も、皮膚に GFP を発現していたのである。

このトランスジェニックマーマセットの子どもの誕生は、間違いなく画期的な成果である。トランスジェニック動物を一から作るのはいやっかいで、なかなかうまくいかないことが多いプロセスだが、これからは最初の遺伝子導入個体を作製するだけでよいのである。その後の世代は、自然繁殖によって作り出すことができ、特異的な導入遺伝子をもつサルの小集団（コロニー）が最終的に確立される。このコロニーは、ヒトの難治性疾患を研究するための貴重なモデルになるだろう。そればかりでなく、絶滅が危惧される霊長類種の保存にも役立つと考えられる。またトランスジェニック霊長類の研究は、幹細胞生物学に関するさまざまな基本的な疑問を解明するうえでも役立つ可能性がある。霊長類の幹細胞は、近年では、核移植クローニング⁶によって成体細胞から作り出されており、これらの細胞を、患者特異的な人工多能性幹細胞（iPS 細胞、同じく成体細胞に由来）と比較解析することで、新たな情報が得られることだろう。

今後、トランスジェニックマーマセットは、感染症や免疫学、神経疾患などの研究に役立つモデルになると期待され

る。例えば筋ジストロフィーの原因遺伝子のような、変異をもつ単一遺伝子を発現するよう操作したマーマセットができれば、これまでのマウス研究⁷で得られた知見を、現在有効な治療法がほとんどない患者へ適用できる日が近づくかもしれない。ただし、研究用モデルとしてのマーマセットにも限界がある。マーマセットは新世界ザルであり、アカゲザルやヒヒなどの旧世界ザルよりも、ヒトとの類縁関係は遠い。さらに、生物学的な差異のため、エイズや黄斑変性症、結核といった疾患は旧世界ザルでしか研究できない。

トランスジェニックマーマセットの作出効率もまだまだ低い。佐々木たち¹が達成したトランスジェニックマーマセットの作出効率はかなりよいものだが、マウスの作出効率には及ばない。また佐々木たちは、ほかの霊長類研究と同様、胚へ遺伝子を導入するためにウイルスベクターを使っており、結果的に、導入遺伝子はゲノム中のランダムな部位に入り込んでしまうことになる。このことが、作出効率が低く、また一部は誕生まで至れなかった理由の1つだと考えられる。現在のトランスジェニックマウス作製では、通常、胚性幹細胞が使用される。この場合、相同組み換えとよばれる自然のゲノム修復過程を利用することで、胚性幹細胞ゲノムの特定部位に、導入遺伝子を直接的に組み込ませ、変異させる⁸。今回のようなウイルスベクターによる導入遺伝子のランダムな



今回作製された 5 匹のトランスジェニックマーマセット

Box 1 疾患の霊長類モデルのコロニーを確立する前に検討すべき課題

- 疾患モデル作製の初期プロトコルを最適化する。
- 研究は主として、臨床前試験の予定があり効果が期待できる治療法が提示されているような、難治性疾患を対象とする。
- 研究対象の疾患について、トランスジェニックマウス、もしくは霊長類以外の哺乳類でモデル動物が作製できないことを確認する。
- 迅速かつ有益な研究成果が得られるようなトランスジェニック動物の開発に努める^{13,14}。例えば以下のものを利用する。
 - 誘導可能なプロモーターをもち、遺伝子のスイッチを入れたり切ったりできる導入遺伝子。
 - 特定の代謝状態を検出できるレポーター導入遺伝子。
 - マウスの遺伝子座 *Rosa26* と同じような作用をもつ、標的ゲノム内の遺伝子トラップ部位。これを利用すれば、高効率の組み込みや、挿入された DNA 配列の強い発現が可能になる。
- Cre-lox 技術。ゲノムから導入遺伝子を切り出すのに使える。
- 相同組み換えによる遺伝子ターゲティング法。特定遺伝子の機能を喪失した動物を作製できる。
- 磁気共鳴画像法 (MRI) や陽電子放射断層撮影法 (PET)、蛍光法、その他、全身の画像化技術によって非侵襲的なイメージングが可能な導入遺伝子レポーター分子。
- 霊長類コロニーを隔離して、ほかの研究用コロニーからの混入を防ぐ。
- ワシントン条約 (絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約) その他の規制を明確化し、絶滅危惧種がまだ保護されているうちに、分子レベルおよび細胞レベルの研究対象として共有できるようにする。
- これらの技術の長所と限界について、公の論議の場を設ける^{11,12}。

組み込みは、理論的には、不活性化状態にあるがん原因遺伝子や、ホストゲノムの一部となっている内在性ウイルス性配列を活性化することも考えられ、その後の世代で、導入遺伝子の継承状態を監視することが必要になる。

あらゆる動物実験と同様、霊長類の遺伝子改変は、「動物の幸福」に関する社会的な懸念を引き起こす。疾患の霊長類モデルのコロニーが確立される前に、さまざまな方面からの検討がなされるべきだろう (コラム参照)。実際、今回の研究に伴って、いくつかの生命倫理的問題が再び沸き起こった。特に懸念されるのは、生殖目的でヒトの配偶子や胚に、不当かつ無分別に遺伝子改変技術が使われる可能性があることだ。遺伝子改変技術はまだ完成度が低く、非効率的であり、ヒトはもちろん、動物に与えるリスクは計り知れない。そこで、ヒトの生殖系列細胞の遺伝子改変を防ぐために、専門の学会や規制当局が作成した既存のガイドライン (例えば英国の「ヒトの受精および胚研究認可局 (HFEA)」によるもの⁹) が、絶対に必要となる。ヒトの遺伝子組み換えを含むいかなる危険な研究も進めないためには、子宮に着床しないよう遺伝子を改変して生殖不能にした胚性幹細胞をヒト胚から作り出す技術¹⁰の使用を、まじめに検討することも必要かもしれない。

幹細胞研究における近年の飛躍的な進歩や、霊長類の発生生物学における今回のような最新の成果によって、当然のこ

とながら、ヒトの生殖補助医療技術への応用にますます関心が高まるだろう。それゆえ、今後考慮すべきは、ヒト胚を用いた研究を統括する現実的な政策の確立を求めていくことである^{11,12}。トランスジェニック霊長類は、医学研究やトランスレーショナルリサーチ (基礎と応用を橋渡しする研究) への利用が将来的に大いに期待できるが、研究者は、遺伝子改変や生殖生物学の新技術に伴う生命倫理問題について、議論の場を設け、一般市民と対話していくことが必要である。(船田晶子 訳)

ピッツバーグ大学医学系大学院 (米)、Gerald Schatten
オレゴン健康科学大学 (米)、Shoukhrat Mitalipov

1. Sasaki, E. *et al. Nature* **459**, 523-527 (2009).
2. Rogers, C. S. *et al. Science* **321**, 1837-1844 (2008).
3. Chan, A. W. S., Chong, K. Y., Martinovich, C., Simerly, C. & Schatten, G. *Science* **291**, 309-312 (2001).
4. Yang, S.-H. *et al. Nature* **453**, 921-924 (2008).
5. Wolfgang, M. J. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* **98**, 10728-10732 (2001).
6. Byrne, J. A. *et al. Nature* **450**, 497-502 (2007).
7. Lim, L. E. & Rando, T. A. *Nature Clin. Pract. Neurol.* **3**, 149-158 (2008).
8. Nagy, A., Gertsenstein, M., Vintersten, K. & Behringer, R. *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 3rd edn (Cold Spring Harbor Lab. Press, 2003).
9. www.hfea.gov.uk/docs/SCAAC_Genetic_ModificationJan09.pdf
10. Hurlbut, W. B. *Stem Cell Rev.* **1**, 293-300 (2005).
11. Schatten, G. *Nature Cell Biol.* **4**, s19-s22 (2002).
12. Berg, P. *Nature* **455**, 290-291 (2008).
13. Raymond, C. S. & Soriano, P. *Dev. Dyn.* **235**, 2424-2436 (2006).
14. Rochefort, N. L., Jia, H. & Konnerth, A. *Trends Mol. Med.* **14**, 389-399 (2008).