TWO BY TWO

2人ずつ——双子の生物学

Nature Vol.458(826-829)/16 April 2009

地球上には、一卵性双生児が驚くほど高率で生まれる辺境の村がある。これは遺伝子で説明できるのだろうか。古くから好奇の対象となっている双子の生物学について、David Cyranoskiが取材報告する。

2008年12月、Bruno Reversadeは、唾液を採取するためにインドへ旅立った。まず、アラハバードの市街北東部を訪れ、それから、さらに10キロメートル離れたモハンマドプルウムリという土壁で囲まれた、約人口2000人の農村まで足を伸ばした。そこで彼は、村人に研究用の特製カップを渡し、試料用の唾液を入れてくれるよう頼んだ。55人がそれに応じた。

この村の住人が体液を科学研究用に提供するの、今回が初めてではない。モハンマドプルウムリ村が少しばかり有名になったのは、主要産物の牛乳やマスタード

のおかげではなく、一卵性双生児が非常に多いためである。一卵性双生児の生まれる確率は、世界全体で250～300回の出産につき1回にすぎない。ところがウムリ村では、およそ10回に1回の割合で一卵性双生児が誕生する。ここでは村人たちは、双子の誕生を「神様からの贈り物」とよんでいる。

Reversadeは、この「贈り物」を授ける遺伝子を探している。「自然のクローンである双子は50秒に1組の割合で生まれています。発生頻度が非常に高いいくつかの遺伝病よりも高頻度です。ランダ

ムではありえません」と、シンガポール医学生物学研究所の発生生物学者であるReversadeはいう。しかし、多くの研究者はこれに異議を唱えており、すべての一卵性双生児の発生率も、双子が集中的に発生する事例も、確率で完全に説明できるだろうと主張している。1個の受精卵から一卵性双生児が生まれる原因については、遺伝子や確率に基づく理論のほかにもたくさんの説があるが、どれも広く受け入れられていない。また、一卵性双生児は遺伝的に同一だと思われるのに、性格や病気のなりやすさに違いがあり、どういう経

Bruno Reversade (子どもを抱く男性)は、各地の「双子の町」からDNAを採集している。

緯でそうなるのかも解明されていない。環境要因で説明がつくのは、こうした差異の一部であって、すべてではないのである。

こうした疑問に対して、20～30年ほど前から、新しい遺伝学技術や細胞生物学技術を用いて研究が行われてきた。現在 Reversade は、3つの「双子の町」から試料を採取しているところであり、ゲノム解析法を用いれば、双子形成に関与する共通の分子レベルの経路が見つけられるかもしれない。一方、発生学者や産科医は、生殖補助医療から手がかりを見いだそうとしている（P.26のコラム「双

子を作る」を参照）。生殖補助医療では、複数の胚を子宮内に移植するので二卵性双生児が高率で生まれるが、一卵性双生児も多くなることが知られているからだ。また、一卵性双生児で個人差が生じる仕組みに関する理論についても、現在再検討が行われており、一卵性双生児は、たとえ発生の最初期に分かれたとしても、遺伝的にまったく同一ではないことを示唆する研究結果がいくつか報告されている。「双子の研究に対するこうしたアプローチは、今まで考えつけないようなものでした」と、ブリティッシュ・コロンビア大学（カナ

ダ、バンクーバー）に所属する双子研究で有名な Judith Hall はいう。

Reversade が一卵性双生児の形成に関心をもつようになったきっかけは、半分に切ったカエルの胚がまったく同じ胚として発生していくようすを顕微鏡で観察したことだった。「純粋に畏敬の念をもちました」と彼は振り返る。彼がめざすのは、なぜ、共同で1個の胚を形成するはずの複数の細胞が、分かれて完全に新しい個体を形成し始めるのか、また、胚発生の初期段階（構成する細胞は少数で大きい）で起こるものなのか、それとも、胚発生に入ってから2週間後でも起こりうるものなのかを解明することである。胚の分割が遅すぎたり不完全だったりすると、体の一部がつながっている結合双生児になる可能性がある。Reversade は、双子形成が「調節的発生（初期胚の割球は、分裂してもそれぞれの胚が完全な個体に発生できること）」を研究する最良の方法になると考えている。彼は、双子形成の原因遺伝子を見つけることの重要性和実現性に関する研究テーマで、シンガポール政府の初めてのA*STAR Investigatorship（ハワード・ヒューズ医学研究所が授与する賞に倣った、科学技術研究庁による年間50万ドル＜5000万円；1ドル＝100円換算＞の研究助成金）を獲得し、2008年2月にシンガポールに移住した。

双子形成は家系によるものだと、しばしば考えられる。研究者たちの間では、二卵性双生児は2個の卵が排卵され受精してできるというのが、ほぼ一致した見解である。ただし今でも、二卵性双生児の形成に弱い相関を示す複数の遺伝子が見つかっているだけであり、一卵性双生児が生まれる仕組みについては、それ以上にはっきりしていない。複数の大規模な調査により、一卵性双生児の母親の家系に、一卵性双生児を子どもにもつ親戚が多いわけではないという結果が出ている¹。しかし実際には、この解釈に反して、一卵性双生児が多い家系や集団が存在している。

ISTOCKPHOTO

B. MERRIMAN

Reversade は、そうした家系や集団を 1 つ 1 つ訪れて調査しているところだ。

2 年前、彼はヨルダンを訪問し、15 組の一卵性双生児がいる家系で試料用の唾液を採取した。その家系図からは、1 個の優性遺伝子（コピーが 1 個だけあれば一卵性双生児が生まれる）が 22 対ある常染色体の 1 本に存在している遺伝パターンが読み取れる。しかし、実際の遺伝パターンの形成には、この遺伝子を 1 コピー保有していても一卵性双生児を産まない女性がいるように、この遺伝子の「浸透度が変動性」である必要がある（浸透度とは、ある遺伝子をもつ個体でその効果が現れる頻度）。「当然のことながら、浸透度の変動性は現段階ではブラックボックスです。もっと多くの双子がいてもいいはずなのですが」と Reversade はいう。彼によると、その理由の 1 つは、双子が胎内で「消えて」しまう、つまり 2 人のうち一方、最悪であれば両方が死亡してしまうからだという。

広く引用されている、イーストカロライナ大学（米国、ノースカロライナ州グリーンビル）の Charles Boklage（行動生物学および発生生物学を研究している）が計算した見積もりによれば、自然妊娠の少なくとも 12% は双子の胚だという。そのうち、双子が両方とも無事に出産までこぎつけるのは、わずか 2% である。1 人だけ生まれる確率はおよそ 12% で、大多数の双子はどちらの胚も死亡し、妊娠がまったく気づかれないこともよくある^{2,3}。こうした双子の妊娠を持続できるのは、2 個の胚の着床と妊娠を支える機構が本来母体に備わっているためであることが、いくつかの説から示唆されている。

創始者効果

ヨルダンで Reversade は、遺伝子検査を用いて、双子形成の原因と思われる遺伝子の一塩基変異パターンが双子のゲノムに共通してあるかどうかを探した。そして、第 4 染色体上に候補領域を 1 つ

ヒトの胚は、胚発生の初期もしくは後期に分裂して双子（一卵性双生児）を形成することがある。

見つけた。この領域に存在する複数の遺伝子の 1 つに、やや期待できる特徴がいくつかみられたのだ。この遺伝子は、マウス胚の胚盤胞期に発現するタンパク質をコードしており、脊椎動物の進化を通じて保存されている。しかも、細胞が分化してしまうと活性が低下するのである。Reversade は、この遺伝子もしくはこれと同一のシグナル伝達経路で働くほかの遺伝子の変異が、それぞれの「双子の町」の創始者（集団の起源となった少数の人々）に存在していて、それがやがて集団内に広がったのではないかと考えている。しかし、「この全容、つまり目当ての遺伝子とその作用する仕組みを解明するまでは」、この研究を発表するつもりはないと彼はいう。

このストーリーは Reversade のインド滞在中に、予想外の展開となった。モハンマドブルウムリ村から帰った Reversade は、筆者に E メールで「事態はますます複雑になってしまいました」といつてきた。「村では 3 週間前に、いけば新しい一卵性双生児が生まれました。全員が生き残っているわけではありませんが、この 30 年間に生まれた双子は 55 組ほどになります。ある母親には一卵性双生児の子どもが 2 組いました。これはまったく驚くべきことです」。彼は村人たちから、水源である池をとともに使っている水牛が、3 組の双子を生んだことを聞いたという。Reversade はその水を採取して、生殖に影響しそうなあらゆる物質について調べた。村で双子が生まれ始めたのは、

近くに空軍基地ができたおよそ 40 年前であるが、彼は明白な環境汚染物質を示す証拠を何も見つけられなかった。それでも、一部の村人は、土壤中に双子形成の原因になる何かがあると信じている。

少なくとも 1 つの関連遺伝子探索プロジェクトは失敗に終わった。2004 年、ハイデラバードにある細胞分子生物学センターの研究者たちは、双子形成と関連する遺伝子を探すために、ウムリ村から血液検体を集め、また、食習慣や社会的慣習を調べるために 1 人の社会学者を迎えた。「しかし、何 1 つ意義のある結果は得られませんでした」と、同センターのディレクターである Lalji Singh は話し、研究チームがこの結果をわざわざ発表するようなこともなかった。

Reversade は、もっと新しい技術を利用すれば、遺伝子の発見に必要な感度が得られるだろうと期待している。実際、研究対象となるすべての候補領域に次世代の遺伝子配列決定装置を適用する計画だが、同じ分野の研究者たちを納得させるまでの道のりは長い。シンガポールのゲ

ココノオビアルマジロはいつも一卵性の四つ子を出産する。

ノム研究所のディレクターである Edison Liu によれば、それぞれの「双子の村」については近親婚の疑いがもたれており（ウムリ村の住人たちは否定しているが）、これが双子形成に遺伝子が関与しているという仮説を証明することになるという。しかし、「双子形成という稀少な現象が地理的に集中しているのは、統計的には偶然の産物であり、今回の観察結果についてはいくらか疑念をもつべきでしょうね」とも話している。

Reversade は、おそらく今年の夏に、ブラジルのリーニャ・サンペドロというドイツ人入植地を訪れるつもりである。ここでは、金髪碧眼の人が多い。1990年代には、この集落での出産の10%が双子で、そのほぼ半数は一卵性だった。アルゼンチンのジャーナリスト Jorge Camarasa は、昨年出版した『Mengele: the Angel of Death in South America（メンゲレ：南アメリカの死の天使）』という本の中で、この集落の双子発生率の高さは、ナチの「死の天使」と恐れられた医師、ヨーゼフ・メンゲレに原因の一端があると述べ

初期胚の細胞は互いに接着する能力を失ってしまう可能性がある。

ている。彼が、「支配者民族」を増産するために双子の遺伝子を研究し、その実験を行ったというのである。メンゲレの考えは当時の科学者にはあまり受け入れられなかったし、Reversade は、この集落の双子がメンゲレによるものだという考えは間違っていることを今回明らかにできるものと期待している。「この集落で双子が多い本当の理由を説明できれば、謎を解く完全な道筋がみえてきます」と彼はいう。

ヒトは、一卵性の多胎妊娠・出産の点で、哺乳類の中で最も抜きん出た種の1つであるが、アルマジロはさらにその上をいく。コノオビアルマジロ（*Dasypus novemcinctus*）は、1回の出産で、2回分割した胚に由来する一卵性の四つ子を産む。Reversade にとって重要なのは、アルマジロの例からみて、哺乳類には一卵性の多胎妊娠・出産の遺伝的基盤が存在する可能性があることだ。どうやら進化は、アルマジロの繁殖戦略にかかわる遺伝子に味方してきたようである。アルマジロでは、1個の卵から複数の胚を作り出すことで、子宮の形による物理的な制約をうまく回避しているのかもしれない。

ヒトとアルマジロの多胎が同じ遺伝子（1個もしくは複数）によるものなのか、または同じ進化上の理由によるものなのかは明らかでない。研究者の大半は、ヒトの双子は進化上有利なものではないと考えている。女性の身体機能は、通常、1回の妊娠につき1人の胎児だけを育てるように進化しており、そこにほころびが

生じて双子ができるというのだ。一卵性双生児として生まれる赤ん坊では、先天異常のリスクが2～3倍になる⁴ことを踏まえ、リスク要因の観点から双子形成を一種の疾患であるかのようにみなす研究者もいる。「大半の人は、双子は望ましい結果ではなく、失敗の結果だと考えている」と、発生学者でミオ・ファティリティ・クリニック（鳥取県米子市）の客員研究員を務める Dianna Payne は話す。

1回に1人だけ妊娠するシステムがエラーを起こす理由は不明である。双子形成に関する説の1つによれば、わずかの違いが初期胚の細胞を互いに反発させて、2つの細胞塊に分かれさせるという。Reversade は、ためらいつつも、自分が候補だろうと考える変異遺伝子によって、胚の細胞間の接着能力が失われて分割してしまうのではないかと予測している。

Hall が支持しているのは、ヒトの双子発生がこれほど高頻度な理由を、受精の時期から説明する説である。ほとんどの哺乳類は、排卵したばかりの「まさに受精すべき最適な時期」に交尾できるよう、発情周期を認識しているのだと彼女は話す。「ヒトはいつでも性交渉をもってしまい、まさにその最適期をあっさり逃してしまうのです」。彼女によれば、排卵後時間が経過してから受精した卵は、その周囲にある透明帯とよばれる外膜を破って着床する際に、胚盤胞期にある胚に裂け目が入って2個に分割する可能性が高いのだという⁴。このシナリオでは、双子形成は、受精卵の着床の確立を高めるために生まれた、ヒトの繁殖戦略の副次的影響だと考えられる。

正常な遺伝学

ハダッサ・ヘブライ大学医学系大学院（イスラエル、エルサレム）の Isaac Blickstein とノースウエスタン大学（米国、イリノイ州シカゴ）の Louis Keith は、一卵性双生児の形成には遺伝的要素がからんでいるが、変異や異常と考えら

れるものではないだろうとみている。2人の主張によれば、ヒトの双子形成は、「まだ特定されていない、先天的に胚分割しやすい一次卵母細胞集団」が存在するせいだという⁵。

双子形成について、すべての研究者が認めていることが1つだけある。それは、生殖補助医療では、一卵性双生児が通常よりも高率で生まれることだ。昨年発表された総説論文によると、通常の2～12倍もあるという⁶。薬品による卵巣への刺激や、体外で培養した後に子宮内へ胚を移植することは、双子の形成と密接に関係している。この培養条件が、直接的に作用して胚の分割を促すか、もしくは透明帯を硬くするために胚がそこから出て着床するときに、2つにちぎれるのかもしれない。

ヒトの双子形成を最も生体に近い状態で観察できるのは、おそらく、体外受精の際に余ったものとして冷凍保存された胚

を解凍し、その発生を2分ごとに低速度で撮影した画像だろう。ミオ・ファティリティ・クリニックのPayneの研究チームは、26個の胚のうち25個で、胞胚腔が少なくとも一度はつぶれることを見つけ驚いた。胞胚腔とは、液体で充たされた胞胚内の腔所で、胎児になる予定の凝集した細胞塊を支援する。胞胚腔の崩壊が高頻度で劇的なほど、胚が生き残る確率は少なかった。しかし最も驚いたのは、つぶれた2つの胞胚腔の中で細胞塊が分割され、できた2つの断片が、まるで卵の中の別々の部分に2つの胚を作るかのようには発生したことだ。「この時期の細胞は非常に接着性が高く、胞胚腔がもう一度膨らもうとすると、一部の細胞は反対側の内壁にぴったりくっついてしまいます」とPayneはいう。この培養システムは子宮内環境を完璧に再現したものではないため、一部の細胞が死んでしまったり、細

胞膜の細胞間接着が弱くなったりして、胞胚腔の崩壊が引き起こされるのではないかと、彼女は考えている。こうしたメカニズムが遺伝子異常によって引き起こされたものなら、自然妊娠の胚でも同じように起こっている可能性がある、Payneは話す。「でも、それをカメラで見ることはまずできないでしょうけど」。

しかし、特殊なカメラがなくても、一卵性双生児に関するもう1つの問題を明らかにすることはできる。それは、一卵性双生児でも、見た目や性格、疾患の発生傾向に個人差があるということだ。「疫学研究が行われるようになって50年になりますが、多発性硬化症や統合失調症、1型糖尿病の発症について、双子の間で個人差がある理由はまだわかっていません」と、トロント大学（カナダ、オンタリオ州）で双生児研究に携わるArturas Petronisは話す。

双子を作る

クローン技術を使ったヒトの双子作製は、SF小説のように思えるだろうが、もう既に、ある種の不妊治療のために試験が行われている。

発生・不妊治療センター（ギリシャ、パトラス）の医師であるKarl Illmenseeは、冷凍保存してあったヒト胚を解凍し、手作業で発生のおさまる段階で分割し、できた各細胞集団を体外で培養した。すると、6～8細胞期（写真）にある高品質の胚を2分割するのが、生存能力のある一卵性双生児胚の作製に最も有望な方法であることがわかった。彼は体外受精後この段階まで発生した12個の胚を2分割し、できた24個の胚のうち

16個が健康で成熟した胚（桑実胚か胚盤胞）へ発生することを見つけた¹⁰。

これらの胚は、子宮内へ移植できる発生段階にあった。しかし、Illmenseeが実験を行ったのは「3倍体」、つまり染色体セットが2つではなく3つの胚だった。この種の胚は普通、出産まで生き延びることはなく、体外受精（IVF）の処置過程で廃棄される。

Illmenseeは、この技術によって、体外受精で得られた胚が少ないカップルの妊娠のチャンスをもっと高められるだろうと説明している。しかし、そこから生まれる子どもは健康なのだろうか。マウスやヒツジ、ウシ、ヤギ、ブタ、ウマ

など各種の動物で、胚分割法によって双子が生まれている。ただし、この技術を使って疾患モデル用に霊長類の一卵性双生児を作ろうという試みは、複数の妊娠例はあるものの、誕生に至ったのは1例だけで、それも双子ではなかった^{11,12}。Illmenseeは、研究室でヒトの双子を作り出そうという試みが1例だけあったと話す。その試みでは、分割した胚はわずか2、3回の卵割後に発生を停止してしまった¹³。

Illmenseeが研究界の本流を外れることになったのは、1980年代初頭に彼の実験研究の一部に対して疑問の声が上がったからだ。そうした彼の研究報告の中には、マウスのクローンを作ったとする報告もあった。現在は、倫理的反対を受けないように、慎重に

なっていると話す。彼は、双子の作製に関する米国生殖医学会の倫理委員会報告をきっかけに出し、こう述べている。「1個の胚を2個以上の胚に分割することで、不妊カップルの要求に応える道がいくつか生まれるでしょう。こうした方法のリスクについて十分なインフォームド・コンセントがなされるのなら、倫理面での大きな反対はないと思われます」。

D.C.

昨年、アラバマ大学（米国、バーミングハム）の Jan Dumanski は、意外だが可能性のある 1 つの説を発表した。それは、一卵性双生児は突きつめると遺伝学的にそれほど同一ではないというものだ。彼女の研究チームは、19 組の一卵性双生児を比較し、双子の個人それぞれで重複もしくは欠失した DNA 領域があることを見つけた⁷。これらの領域は、双子の 2 人の間でいくつかの疾患の発症傾向に違いがある理由の解明に役立つと考えられる。

双子に個人差が生じる理由は、DNA 配列以外にも存在するかもしれない。ベルピッチェ生物医学研究所（スペイン、バルセロナ）の Manel Esteller は、3 歳から 74 歳までの一卵性双生児を対象に、ヒストンのアセチル化とメチル化のパターンの違いを調べた。これらのパターンは、一般に遺伝子の活動を制御する「エピジェネティック」な印で、DNA の塩基配列に変化はない。その結果、若い双子ほどエピジェネティックな印が似通っていたが、年を取るにつれ、あるいは環境要因が異なるにつれ、パターンの差が大きくなった⁸。「双子の一方が喫煙や薬物摂取を始めたり、大気汚染のひどい場所へ引っ越ししたりすると、たとえそれが 1 年間であっても、エピジェネティックなパターンにはっきりと差が現れます。この種のパ

ターンはとても動的なものなのです」と、Esteller はいう。しかし、Petronis は、自然発生的でランダムに起こるエピジェネティックな変化のほうが、環境に引き起こされる変化よりも大きく関与しているのではないかと考えている。

エピジェネティックな個人差は、発生の 1 日目から既に始まっているのかもしれない。実際、ケンブリッジ大学（英国）の研究チームが、マウス胚で最初の 4 つの細胞期に既にヒストンのメチル化の違いがみられる場合があると報告している⁹。Petronis は、エピジェネティックなパターンに違いが生まれることで、まず細胞塊が分割して双子形成が進むのではないかと考えている。一卵性双生児に関する彼の研究から、ゲノム上でエピジェネティック・パターンが最も異なる遺伝子座は、細胞分裂過程に関与する複数の座位であることが明らかになった。これは「双子形成の仮説で考えられている理由の 1 つである、初期発生段階での（遺伝的な）不一致を反映している可能性があります」と彼は語る。

そうだとすれば、Reversade は双子形成の原因遺伝子を決して見つけることはできないだろう。しかし、そんなことで、ブラジルの双子の町の訪問をキャンセルする彼ではない。アルマジロから、双子形成

の遺伝子が見つかるはずだと確信しているからだ。また、ゼブラフィッシュには結合双生児のように頭が 2 つある個体を生み出す変異があり、これも同じく彼の確信の根拠になっている。さらに、ヨルダンの家系も、「エピジェネティックな現象では説明が付きませんが、伝統的な遺伝学では説明できるのです」という。

この研究で双子形成に関与する遺伝子が見つからない場合、彼は次に何をするつもりなのだろうか。「とりあえず研究結果を発表するまでですよ」と、彼はいうばかりである。 ■

David Cyranoski は、*Nature* のアジア・パシフィック地域の特派員。

1. Lewis, C. M., Healey, S. C. & Martin, N. G. *Am. J. Med. Genet.* **61**, 237-246 (1996).
2. Boklage, C. E. *Int. J. Fertil.* **35**, 75-94 (1990).
3. Boklage, C. E. The frequency and survival probability of natural twin conceptions. In *Multiple Pregnancy: Epidemiology, Gestation, and Perinatal Outcome* (1995).
4. Hall, J. G. *Lancet* **362**, 735-743 (2003).
5. Blickstein, I. & Keith, L. *Twin Res. Hum. Genet.* **10**, 394-399 (2007).
6. Aston, K. I., Peterson, C. M. & Carrell, D. T. *Reproduction* **136**, 377-386 (2008).
7. Bruder, C. E. et al. *Am. J. Hum. Genet.* **82**, 763-771 (2008).
8. Fraga, M. F. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102**, 10604-10609 (2005).
9. Torres-Padilla, M.-E., Parfitt, D.-E., Kouzarides, T. & Zernicka-Goetz, M. *Nature* **445**, 214-218 (2007).
10. Illmensee, K., Levanduski, M., Vidall, A., Husami, N. & Goudas, V. T. *Fert. Steril.* doi:10.1016/j.fertnstert.2008.12.098 (in the press).
11. Chan, A. W. S. et al. *Science* **287**, 317-319 (2000).
12. Mitalipov, S. M., Yeoman, R. R., Kuo, H. C. & Wolf, D. P. *Biol. Reprod.* **66**, 1449-1455 (2002).
13. Hall, J. L. et al. *Fertil. Steril.* **61**, S1 (1993).

新しい研究は nature から始まる

Gateway to New World of Science

Nature は、これまで、数多くの衝撃的な論文を発表してまいりました。しかし、そうした研究成果は、いつも同じところにとどまってはいません。伝統や文化が世代を越えて受け継がれるように、その研究成果によって、別の研究者が刺激を受け、さらに革新的な成果が得られ、それが *Nature* に掲載されることもあるのです。*Nature* は、こうして発展する科学への貢献と研究者のサポートをこれからもしていきます。