

仮 訳

動物のクローニング：
リスク評価

獣医学センター
米国食品医薬品局
保健社会福祉省

7500 Standish Place Rockville, MD 20855

2008年1月8日

第1章：

エグゼクティブサマリー（概要）

第1章：エグゼクティブサマリー（概要）

クローニングは、畜産業で現在利用されている一連の生殖補助技術（assisted reproductive technology：ART）に関わる体細胞核移植（somatic cell nuclear transfer：SCNT）のプロセスを指して使われる俗称である。本リスク評価文書には、米国食品医薬品局（Food and Drug Administration：FDA）の獣医学センター（Center for Veterinary Medicine、略してCVM、または単にセンターと呼ぶ）が従来食物として使用してきた種（すなわちウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ）でのクローニングに関する有用な情報を、科学的見地に基づいてレビューした結果を記載する。

A. 概要

本リスク評価文書は、SCNT 技術をはじめ、そのプロセスに伴う動物の健康への影響と、通常飼育動物による畜産業で ART が利用されていることを背景に、クローン動物とその子孫¹によって生じ得る摂食の有害性について述べたものである。第 II 章では、食用動物の育種で現在利用されている ART の概要をまとめ、また SCNT について詳しく説明する。第 III 章では、リスク評価の手法と動物クローニングへの適用について、またクローニングの結果生じるおそれのある有害性の本質について詳述する。後成的リプログラミングに伴うプロセスや、SCNT やほかの ART に由来する動物で顕著にみられる有害な転帰との関連性の要綱は、第 IV 章に記載した。第 V 章は、潜在的健康リスクを代理母のほか、クローンとその子孫など、クローニングの手法に伴う動物に健康上のリスクを与える可能性について述べる。第 VI 章は、クローン動物またはその子孫に由来する食料品を使用した結果生じるおそれのある摂食量のリスクについて触れる。各章で主題に関する結論が述べられているが、リスク評価は第 VII 章にまとめ、我々の全体的な結論もそこに記載した。また、リスク評価の手法をできる限り透明化するため、方法論はすべてリスク評価の本文中に記す。CVM が評価した情報とデータは、一般公開されており、ピアレビューを受けた刊行物か本文書の付録のいずれかで入手できる。CVM が結論を得るに至った手法については、バイアスが存在する可能性や不確実性に関する明確な記述とともに、本リスク評価文書内に示した。本文書は、データと基礎的な情報を含めた著書目録、用語集、および付録の一式がそろって完成版とする。

¹ 今回の分析の目的に合わせ、クローンは体細胞核移植によって無性生殖で単一の動物から作られた動物と定義されている。クローンは、このようにその核ドナー動物と遺伝的に同一である。クローンの子孫は、少なくとも1頭のクローン動物の親がおり（ただし、2頭のクローン動物が交配した結果として生まれることもある）、有性生殖によって生まれる。クローンのクローンは、クローンとみなされる（すなわち、SCNT プロセスに直接起因する）。

本リスク評価文書は、クローニングの結果として動物に導入される可能性のある有害性の本質を識別して特徴付けるとともに、米国で現在実施されているほかの ART を背景にそれらを置き換えて定性分析を行った結果をまとめたものである。転帰は既知の比較対象動物と比較して検討されるため、このタイプのリスク評価で前向きな転帰に関して引き出せる最も有力な結論とは、「別の新たなリスクはない」ということである。「別の新たなリスクはない」との所見がクローン動物の健康に適用されるとすれば、このクローニング法は、ほかの ART よりも大きなリスクを当該の動物の健康に対して何らもたらさないことを意味することになる。この所見をクローン由来の食料品の安全性に当てはめると、クローン動物やその子孫由来の食品について「別の新たなリスクはない」とする所見が意味するところは、通常飼育動物由来の相当製品でみられないような新たなリスクは一切ない、あるいはその安全性は我々が毎日口にしている食料と同程度である、ということになる。すべてのリスク評価で言えることだが、ある程度の不確実性は、我々が採用したアプローチか、データ自体のいずれかに本来備わっている性質による。不確実性が存在するところでは、CVM は不確実の度合いとその存在理由を明らかにするよう努めた。

B. 技術の概要（第 II 章）

生殖補助技術（ART）は 1 世紀以上もの間、畜産業では広く採用されており、少なくともその技術のうち 1 種類（人工授精）は数百年間にわたり実施されている。これらの技術により、最新の SCNT の開発技術を通し、きわめて最小限度の生殖補助がなされる動物から自然交配の動物まで、一つの生物群集を成している。ART は、望ましい表現型の選択と伝播により国内の家畜種の遺伝的改良に役立つとともに、理想的な表現型の特徴が全国の群に組み込まれるスピードを上げるうえで一役買っている。たとえば人工授精の場合、物理的に存在する種雄を使用せずに有益なゲノムを伝播できるようになり、それによって遺伝的に優れた点を地理学上比較的小規模な地域枠を越えて伝播させることが可能になった。

一般的に用いられる ART の多くは、第一段階として受精に依存している。このような卵子と精子の結合は、種雄と種雌からの遺伝物質の組み換えを伴い、しばしば「遺伝子のトランプのシャッフル」と呼ばれている。育種家の見解によると、有性生殖から生じる表現型は予測不可能である、つまり交配から子の特性が推定できることもあるが、確実な予測はできない。こうした技術が最も進んだ形の核移植は受精を必要とせず、遺伝子の再シャッフルのリスクを伴わずに予め判明している遺伝子型と表現型を伝播できる。したがって、畜産業に直ちに最も大きく現れる SCNT の影響とは、表現型が判明したゲノムを伝播できる点となる。また、生殖機能が損なわれているおそれのある動物や、非常に有益ながら死亡した動物での繁殖も可能となる。ART のほかの新しい形式（たとえば体外受精、胚分裂など）といえる SCNT は、すでにある程度明らかになっている有害な転帰を動物や妊娠の

可能性のある種雌に与える。

C. リスク評価の方法論（第III章）

リスク評価は、定義済みの曝露シナリオに入れられる有害性を確認する際に、また曝露の発生という転帰が一度でも生じる見込みと重度を推定する際に用いる科学的見地に立った手法を取っている。リスク評価を構成するそれぞれのステップは、すべてではないにしても、多くは不確実性の度合いがさまざまであるため、リスク評価の担当者は、不確実性が何に端を発しているか、また何らかのリスクの判定を下す場合にはその不確実性によって生じるとされる影響について、明確に記載する必要がある。リスク評価は、リスクマネージャーが扱う範囲内の非常に幅広い背景事情への理解と責任に基づき、種々のオプションを選ぶ選択肢の科学的な基盤としての機能を果たすものである。

質的な面から言えば、リスクとは、考えられる転帰への曝露を結びつけると、検討中の物質やプロセスの内因的な性質が曝露と組み合わせることによる何らかの作用として考えられる。リスク分析を行う場合、「有害性」と、曝露の結果として生じる可能性のある潜在的「リスク」とを区別することがきわめて重要となる。「有害性」は、有害な転帰、損傷、またはある種の損失もしくは不利益を生む可能性のある行為や現象と定義できる。これらは時に損害と呼ばれ、有害転帰を検知する機会を最大限に増やせるよう設定した研究室の条件下でしばしば確認される。よって、このような観察に基づく概要は、しばしば「有害性確認」や「有害性の特徴付け」と呼ばれる。次に「リスク」とは、曝露が生じた場合に危害が生じる確率を推定する条件つき確率である。しかしながら、このような質的な評価においては、リスクは質的な背景の範囲内でのみ検討できるものであるが、定量的解釈はすべきではない。

クローニングに関係のある動物とそうした動物由来の食品に対する有害性とリスクを検討するには、有害性とリスクの識別、既存のデータでリスクの問題を取り上げる程度の決定、残存している不確実性の特徴付け、およびリスク評価に最も適切なリスク定義の採択の4点を扱う必要がある。

有害転帰と関連性をもつ原因が遺伝子組換えの結果によるのか、クローニングであるのかを判定することは不可能なため、本リスク評価文書では、絶対的に「クローンのみ」によって生じた有害性やリスクを識別する際には、遺伝子組換えクローンを明確に除外する。また、今回のリスク評価では、少なくともクローン動物とその子孫ならびにそれらに由来する食品は、通常飼育動物とこれに由来する食品と同一の法規の規制対象となるものと考えられている。

有害性とリスクの原因：外来遺伝子が SCNT によって誕生した動物に導入されることはなかったため、生じ得る有害性の可能性に関し土台となる仮説では、クローン動物に認められる異常は、ドナー細胞核の不完全または不適切なプログラミングが原因とされる。これらの異常は肉眼的な場合（解剖学的異常、大きさや成長速度の差、受胎能、罹患率、死亡率の低下など）があり、本質的には潜行性の高い異常となる場合もある。潜行性の有害性が存在すると考えられる場合、クローンが非顕性の生理的変化を伴わずに明らかに正常な外観と機能を備えて発現することが年 1 回ある。ここでいう変化には、変更を臨床化学上、血液学不完全または不適切なプログラミングが、または設定した生理的変化のポイント（ホルモン値の変化など）の変化も含まれる²。摂食リスクについては、不完全または不適切なプログラミングの結果として生じるおそれのある、関連ある潜行性の有害性には、食物の栄養学的な内容に影響を及ぼすカギとなるタンパク質の発現上の変化も含まれる。同様の有害性は、ほかの ART や自然交配を経て生まれる動物で生じる。今回のリスク評価の目的は、比較対象動物では特にみられない独特の何らかの有害性が生じるか否か、または、ほかの ART または自然交配を経て生まれたウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギでは確認されていないかどうかを判定することにある。

クローニングに関連する動物の健康と摂食リスクについて述べるため、今回 2 つの補完的なアプローチを採用した。まず、クローン動物の健康に関する情報については、Critical Biological Systems Approach (CBSA) と呼ばれる CVM が開発したアプローチの枠組みの中で評価された。摂食リスクには、「組成分析」と呼ばれる第 2 のアプローチと併せて CBSA を適用した。CBSA と組成分析を駆使して入手できたデータをすべてレビューしたうえで、次に証拠の重みという手法を用いて、クローニングに関連のある動物におけるリスクとクローン動物によって生産された食物を摂取したヒトにおけるリスクに関する結論を引き出した。

CBSA：このアプローチでは、クローン動物のライフサイクルを機能面から発達上の 5 つのノード（節目）に分ける。発達ノード 1 には、SCNT に関係する技術的ステップの中でも初期（細胞融合）が該当するほか、胎児の発達期間全体にも及ぶ。発達ノード 2 には、種雌の分娩誘導、出産、重要な出生後数日間などの周産期が含まれる。第 3 の発達ノードとなる「若年期の発達と機能」は、出生から思春期の出現までの急速に成長する時期を網羅する。「生殖期の発達と機能」ノード（発達ノード 4）には、クローンの生殖寿命全体を通しての思春期と生殖期の機能が該当する。「思春期後の成熟期」ノード（発達ノード 5）は、性的に成熟している、または成熟したクローンの非生殖的機能（成長、体重増加、疾患の罹患頻度、加齢、また可能であれば寿命など）で構成されている。

² このような潜行性の有害性は、標準的な食品の安全性評価に典型的に含まれるものではない。

CBSA を用いて入手データを評価する方法は、リスク評価（すなわち動物の健康または摂食リスク）の各構成要素の本質的な部分から作り上げられた。たとえば、動物の健康の有害転帰の確認には、クローン動物と妊娠中の代理母を対象とした。人工授精（artificial insemination : AI）、体外受精（in vitro fertilization : IVF）、割球の核移植（blastomere nuclear transfer : BNT）などのほかの ART との比較で重点が置かれたのは、クローンの発育と正常に発達する可能性であった。動物の健康に関する今回の評価では、肉眼的変化から生化学的変化（遺伝子発現上の変化、酵素活性の差異など）に至るまで、クローン動物の福祉に影響を及ぼす可能性のある広範囲にわたる有害性について検討した。摂食リスクについては、肉眼的に異常のみられるクローン動物をこの分析から除外し、SCNT プロセスの結果として生じる可能性のある独特の潜行性の有害性を同定することに重点を置いた。このアプローチの理論は第 IV 章に記載されており、これらの潜行性の有害性の源として後成的リプログラミングの役割を負う分子レベルでの証拠を示す。有害性は潜行性であるという仮説から、有害転帰の場合（およびこのように摂食リスクが潜在する場合は）可能な限り高感度の画面にするため、個々の動物や動物ごとの個々の分析物までも含め、データセットは極力解像度が高いもので評価した。このリスク評価において、動物の健康を評価する際に用いる解像度が最も詳細なレベルに入るのは、個々の動物の生理学的測定値と生化学的測定値であった。技術が成熟するにつれ、ゲノミクス、プロテオミクス、およびそれらを統合した代謝測定値などの分子レベルの技術は、上記のような測定を支援するものとなる（NAS 2004）。

組成分析：クローン動物から生産した食物を摂取した場合のリスクに関し結論に達することを目的に、動物の健康に関する所見（CBSA から得られたもの）を組成分析アプローチの結果と共に検討した。潜行性の有害性が存在する可能性を見出すために、リスク評価のこの部分で検討するデータには、ビタミンおよびミネラルの詳細な分析、脂肪酸のプロファイル、クローンから生産した食肉や乳のタンパク質の特徴付けのほかに、肉眼的に認められる組成の測定値（カーカスの組成、脂肪とタンパク質の割合など）を対象として含めた。クローンから生産した食物の成分は、比較対象動物から生産した食物の組成と比較し、また食肉と乳について公表されている参照範囲とも比較した。これらの比較は、クローンからの食肉や乳が通常飼育動物からの食肉や乳と著しく異なるか否かを判定するベースを形成するものとなり、食物摂取によるリスクに関する全体的な結論に影響を与えた。

証拠の重み：証拠の重みの評価は、単一の研究や、そのほか研究のサブセットにも依存していない。代わりに、リスク評価の経過で集められた全情報について、専門家の判断に基づいている。これにより、評価されるエンドポイントの矛盾点と、評価の何らかの特定の面に関する情報量には変動性がある。第 IV、V、VI 章には、有害性確認と有害性の特徴付

け、およびその後に行うリスク評価と関連するとみられる研究の詳しい説明を記した。確認された有害転帰ごとに、その転帰によるクローニングの因果関係の経験による証拠は、ほかの起因物質やプロセスとの関連があったことを示す経験的な証拠と比較した。

D. クローンとその子孫の後成的リプログラミングの影響 (第IV章)

後成学とは、発現と細胞増殖の期間中に生じる遺伝子発現の可能性における安定的な変化の研究として定義されている。有性生殖では、二倍体ゲノムは、2つの一倍体ゲノムが融合することによって新たに作られる。その後そのゲノムは機能を備えた有機体の中で発現するが、これは「プログラム」によって制御されている。遺伝子発現の後成的制御にはいくつかの例があるが、中でもDNAメチル化が最も特徴付けられる可能性がある。

哺乳類の胚はその発育過程で主として2回、主要な後成的リプログラミングを経る。そしてその2回ともがクローニングに重大な影響をもつ。これらのうち1回は受精直後に起こるもので、移植前のリプログラミングと呼ばれている。もう1回は、配偶子形成（最終的に精子と卵子になる細胞の発現）の期間中に起こる。移植前のリプログラミングは、受精後と、核移植の場合は除核卵母細胞によるドナー核の融合後に起こることから、これはクローニング法により最も早く影響を受けており、欠陥のあるクローンの発現に最も直接的に関与している可能性がある。配偶子形成のリプログラミングは、これによりクローンの有性生殖に使用される配偶子が発生するため、クローンで顕著にみられる異常に関与している可能性もあるが、子孫に対してはより広範囲にわたる影響をもっている可能性がある。

SCNTによるクローンの産生の効率（すなわち、移植される胚の数と比較した、生存している子が誕生する数）は非常に低い。このように効率が低い理由は、不適切な後成的リプログラミングと関連している可能性がある。クローニングの際は、ドナー核が受精由来の接合体であるかのように、何とか胚発育を誘導するようドナー核を促す必要がある。これは多くの回で成功していない。異常な後成的リプログラミングは、生体外培養の重要な構成要素とともに、クローン胚と胎児のゲノム全体と個々の遺伝子レベルと、ARTを用いて生まれた動物の同様の発育段階で認められている。IVFの低い成功率とSCNTのさらに低い成功率で示されるとおり、これらの多くは致死的である。最終的に正常で健常と思われるクローンに至る成功例が少ない中、SCNT由来の胚でのリプログラミングは、受精由来の胚でのリプログラミングと同程度の成功率であるとみられる。生存し明らかに健常なクローンは、受精由来の動物に比べ、後成的なレベルの差異をある程度示すことがあるものの、これらの差異が健康な状態や正常に成長し発育する能力に対して有害な影響をもつとは思われない。

獣医学センターでは、クローンが摂食リスクを有することになる場合、それらのリスクが生じ得る唯一のメカニズムは、ほかの ART で認められる場合と同様に、不適切な後成的リプログラミングから来ていると考えている。異常な制御を受けている遺伝子は自然に存在し動物のゲノムを構成する「正常な」遺伝子であり、ほかの供給源から組換え DNA の技術を経て導入された遺伝子ではない（すなわち、クローンは遺伝子組換え動物もしくは遺伝子改変動物ではない）点に注目することが重要である。

有性生殖によるクローン動物の子孫では、不適切な後成的リプログラミングがほかの ART または自然繁殖で認められる以上のレベルで予測されることはない。それらのクローンの親とは異なり、クローンの子孫は雌雄の配偶子の結合によって生まれる。クローンの両親から新しく生じたこれらの配偶子の発生は、核移植と関連のある何らかの残余的な後成的リプログラミング上のエラーをリセットするとみられる。したがって、クローン内で認められる異常は、次世代に伝達されるとは考えられず、生まれる子は正常で健全である。このように、有性生殖を経て生まれたほかの動物に比べて食品の安全性に関する懸念が何かしら新たに付随することから、クローンの子孫については予測しない。

E. クローニングに関わる動物に対するリスク（第 V 章）

クローニングと関連のある動物に何らかのリスクをもたらす潜在的な有害性を確認するため、第 V 章では、全 5 種の発達ノード（妊娠と分娩期、周産期、若年期、生殖期、思春期後）のクローンの健康に焦点を合わせる。クローン胎児を妊娠中の代理母の健康リスクについても検討を行い、SCNT の健康上の転帰はほかの ART の転帰と比較する。第 V 章の全体的な結論は、クローニング法に関わる動物（すなわちウシおよびヒツジの代理母とクローン）の健康上の有害転帰のリスクが高まっているというものである。クローンウシとクローンヒツジにおけるリスクの増大は、ライフサイクルの初期に限定されているものと考えられる。有害転帰のいずれもクローニングに特有のものではないにもかかわらず、SCNT によって生まれた動物に認められるこれらの異常は、ほかの ART で生まれた動物と比べると、発生率が高い。

SCNT 由来で妊娠中の代理母として用いられる雌ウシと雌ヒツジは、妊娠と分娩の期間中に健康上の問題のリスクが増大する。これらの問題には、異常な胎盤の発生と機能、および水症（尿膜の水症）³や過大な胎児が原因の異常分娩（難産）などの妊娠後期の合併症がある。胎児の過成長と妊娠後期の合併症は、総合して過大子症候群（large offspring syndrome : LOS）と呼ばれている。頻度は低いですが、生体外培養の重要な構成要素をもつほ

³ ウシの胎児は、羊膜腔と呼ばれる液体を満した膜の中で育つ。羊膜腔を囲むのは、第 2 の液体を満した膜の尿嚢である。胎児からの老廃物は、尿嚢に含まれる液に溜められる。水症とも呼ばれる尿膜の水症は、妊娠中に尿嚢中に液体が過剰に蓄積する。

かの ART でもこれらの症状が発生している。ウシやヒツジとは対照的に、クローンを妊娠中の代理母のブタとヤギは、妊娠中の合併症のリスク増大がみられない。

クローンが生まれると、健康リスクに関して種ごとに明確な差異がある。クローンブタとクローンヤギの場合、周産期の罹患率と死亡率は上昇しないものとみられる。しかしながら、クローン子ウシとクローン子ヒツジの場合、ほかの ART を用いて生まれた子ウシと子ヒツジに比べ、両者の罹患率と死亡率が周産期に上昇する。LOS と関連のある周産期のクローンの臨床徴候には、呼吸系疾患、長期にわたる横臥位⁴、臍帯腫大、高熱症および低体温症、屈筋腱の収縮、および主要器官の異常な発育を伴う症状などがある。これらのクローンの生存については、臨床徴候の重度と適切な出生後の処置の両者が作用した結果とみられる。

周産期と同じく、若年期間のクローンの罹患率と死亡率のリスクは種ごとにさまざまである。自然交配または ART によって生まれた動物に比べ、クローンウシは、生後約 6 ヶ月まで罹患率または死亡率のリスクが増大し続ける。これらのリスクは、初期の発達段階で最初に注目される異常が後遺症となって周産期を越えて持続したものとみられる。対照的に、クローンブタとクローンヤギは、若年期の罹患率または死亡率のリスク増大はみられない。先天異常による有害な影響を受けていないクローン子ウシと同じく、クローンブタとクローンヤギは、若年期全体を通して健全にみえ、成長と発達の正常なパターンを示す。

健康上の有害な影響のリスク増大は、クローンが成長し思春期に近づくに従い、評価の対象となっただけの種においても報告されていない。クローンは雌雄ともに正常な生殖機能を持ち、受精能があるとみられ、有性生殖を経て正常な子が生まれる可能性がある。最終的に、現在利用できる情報が示すところでは、成熟したクローンは正常で健全であり、通常飼育動物に比べ、この発達ノードでの健康上のリスク増大は認められない。

クローニングと関連してのクローンの最長寿命や、長期にわたり健康状態が続く可能性に関し何らかの結論を引き出すことは、この技術が誕生してから比較的時間がないため、現段階では不可能である。

有性生殖由来のクローン動物の子孫は、正常で健全であるとみられている。第 IV 章に記載のとおり、クローンにおける何らかの残余的な後成的リプログラミング上のエラーは、配偶子形成期にリセットされ、結果的に有性生殖により正常な子が生まれると見込まれている。これらの予測と整合性のある、クローンの子孫の健康状態に関するデータは、通常飼育動物に比べ、健康問題のリスク増大が認められないことを示している。

⁴ 呼吸系疾患と長期間にわたる横臥位は、クローン子ウシの周産期死亡を伴う問題が最も多くみられる。