

3.1. 後成的側面：クローンのリプログラミング

SCNT を行った後の核の活動のリプログラミングは、体細胞核が全能性の胚の状態に脱分化した後、胚細胞がその後に発育する間に異なる細胞型に再分化するという主に2つのステップを踏む時間依存的なプロセスである。(Yang ら、2007a 年)。総ゲノムのうち比較的ごくわずかの割合が体細胞内で同時に活動的になる。これらの遺伝子の多くはハウスキーピング遺伝子として知られる遺伝子であり、すべての細胞型で発現される。その他は各細胞型に特定の機能を付与する遺伝子に相当する。したがって体細胞の場合、転写に利用できる遺伝子の大部分が実はサイレントである。これらの遺伝子の再活性化は通常、再活性化を可能にする因子を含む卵母細胞の細胞質により、配偶子形成の期間中に部分的に生じる。発育上のステップに必要な遺伝子が適切に活性化されない場合、胚または胎児の発育は中断され、通常は致命的な結果に至る。この現象は、発育の初期および出生直後の時点で、クローン胚がかなり欠損している点と一致する。

体細胞核の脱分化には、DNA の変化と、レシピエント側の卵母細胞の細胞質で認められる成分に基本的に依存しているクロマチンの変化が必要となる。この変化は、受精後に生じるこれらを部分的に模倣する可能性がある (Jaenisch および Wilmot、2001 年)。結果的に、クローン胚は接合生殖の段階で全体的な DNA メチル化の異常なパターンをしばしば示す (Dean ら、2001 年、Kang ら、2001a 年、Kang ら、2001b 年)。後成的変化における変動性の高さは、遺伝子のメチル化のレベルと mRNA の発現パターンに関し、個々のクローン胚においても認められる (Dean ら、2001 年、Beaujean ら、2004 年、Wrenzycki ら、2005 年)。胚盤胞の段階で異常に発現された遺伝子の中には、出生直後に死亡したクローンの器官内で異常に発現しているものがあることが明らかになることもある (Li ら、2005 年)。ウシのクローンの胎児の場合、移植前の胚の発育期間の初期に証明されるメチル化のエラーが続くことがある (Hiendleder ら、2004 年)。卵母細胞の細胞質内に移入する前の体細胞核のメチル化の状態と関連するこれらの異常なメチル化のパターンの範囲は、主に定められていないままである。しかしながら、遺伝子発現に関しては、SCNT を行った後、胚盤胞の段階までに有意で比較的正常な核のリプログラミングが生じる可能性のあることがウシによるいくつかの試験で明らかにされている (Yang ら、2007a 年)。マウスの場合、転写活性とメチル化のプロフィールの両者から、*in vitro* においてクローン化された胚盤胞の内細胞塊由来の多能性細胞は、体内受精した胚から得た細胞との識別が不可能であることが明らかにされている (Brambrink ら、2006 年、Kishigami ら、2006 年)。これは、内細胞塊を形成する胚細胞の後成的状態が SCNT を行った後の胚盤胞期に比較的十分に再生されていることを示唆している。一方で、胎盤の前駆体である栄養外胚葉細胞の DNA は、過度にメチル化している (Yang ら、2007a 年)。このことは、試験を行った遺伝子 10,000 個中の約 400 個の遺伝子がマウスのクローンの胎盤の異常な発現を示す理由や、この器官がクロ

ーンの中でしばしば変化する理由の説明となり得る。

SCNT による胚の初期に認められるすべての後成的変化が結果的に異常を呈するわけではない。例えば、雌の胎児の2つのX染色体のうち1つの不活性化に関する複数の試験では、マウスの胚盤胞期のクローンの不活性化のパターンが明らかに正常であることが示されているが (Eggan ら、2000 年)、胎盤の X 連鎖遺伝子の発現が特に妊娠中期から後期に調節解除され得ることが明らかにされている (Senda ら、2004 年)。ウシの場合、X 染色体関連の遺伝子の発現は、*in vivo* で生じた胚と比較するとクローンの胚の初期の移植前の段階では遅れることが明らかにされている (Wrenzycki ら、2002 年)。X 染色体の不活性化の過程に関与する遺伝子の低メチル化は、死産の子ウシのさまざまな器官で認められる。しかしながら、クローン内で性別の発現を妨げるものは一切報告されていないため、死亡したクローンにみられる X 染色体の低メチル化の、健全なクローンに対して暗示する事柄は不明である。さらに一般的に考えると、遺伝子の2つの複製が同時にクローン内で後成的にサイレント化する機会はほとんどないとみなす必要がある。後成的機序による特異的遺伝子のサイレンシングや経路の不活性化は、クローンの正常な生命と矛盾しない。

胎盤の胎児の部分に関与していく胚体外の系統が、最初の発育の軸となる定義に至るパターン付けをするイベントが確立される胚の系統と異なる場合、クローン胚の異なる体細胞の系統への再分化は、胚盤胞期を経て開始される。ヒツジとウシを含む異なる国内種において、胎児の死亡の主な原因と考えられる組織学的異常および分子的異常のいくつかは、SCNT による胚の胎盤でも確認されている (Hill ら、2000 年、Heyman ら、2002 年、Wilmut ら、2002 年、Lee ら、2004 年)。

刷り込み遺伝子として知られる遺伝子のクラスは、代理母にクローン胚を移植した後に認められる胎児の高い死亡率において、明らかに重大な役を負っている。刷り込み遺伝子は、parent-of-origin の依存的な方法による遺伝子の2つの対立遺伝子の1つから発現される。それらの多くは特に胎盤で刷り込まれる (Coan ら、2005 年)。マウスのクローンの場合、いくつかの刷り込み遺伝子の発現が異常に低いことが胎盤でしばしば発見されたが、胎児の組織では認められなかった (Inoue ら、2002 年)。

流産した胎児のウシのクローンのさまざまな組織内の刷り込み遺伝子のメチル化状態を分析した報告が多数ある (Liu ら、2007 年、Long および Cai、2007 年、Lucifero ら、2007 年)。その結果は、SCNT を行った後に異常なメチル化のプロフィールと易感染性を示す発育過程の間の直接的な関連性を示唆している。同様の結論は、CpG アイランドを含め反復 DNA の塩基配列のゲノム全体のメチル化の解析結果から導き出すことができる (Kremenskoy ら、2006 年)。

またウシのクローンの場合、刷り込まれた *IGF2R* (Insulin Growth Factor II Receptor : インシュリン様成長因子 II 受容体) 遺伝子の異常な対立遺伝子の発現パターンが子ウシではなく胎盤で認められた (Yang ら、2005 年)。SCNT により誘導され胎児の発育期に特定の組織で観察される異常なメチル化のパターンが成体の健常なクローンに残る程度については、未だ判定されていない。DNA メチル化のパターンにおけるこれらの変化は体外受精および胚培養 (クローニングを伴わない) のほか、プロトコルに特異な方法および組織に特異な方法でも認められており、結果として内分泌変化と相関する胎児の過成長をもたらす (Hiendleder ら、2006 年)。

DNA メチル化などのいくつかの後成的変化は、外観上は正常にみえる異なるマウスのクローンの成功例において認められた (Ohgane ら、2001 年)。さらに広範な試験では、各マウスのクローンに異なる DNA メチル化のパターンがみられると結論付けられた (Shiota および Yanagimachi、2002 年)。これらの変動の程度も個々のクローン間で異なる。マウスでは、クローンの各組織内の 1,000 個の遺伝子座につき平均 2~5 個の異常にメチル化した遺伝子座が認められている。ゲノム DNA のメチル化状態が関与している限り、動物は明らかに最初の動物の完璧な複製ではないことをこのマウスのデータが示している。しかしながら、新生マウスと中年期または老年期の成体マウスのクローンから得た腎臓細胞の解析が近年示すように、これらの異常は動物の老化の進行とともに消失する可能性がある (Senda ら、2007 年)。

クローンのメチル化した状態の全体的な解析が国内種で不足しているにもかかわらず、ブタのクローンによる 1 件の試験には、ゲノムの 2 つの異なる領域でのメチル化の評価が含まれた (Archer ら、2003a 年)。対照群のブタとの比較では、ゲノムの転写領域および非転写領域の両者にメチル化の状態の差異があることをクローンが示した。また、クローニング法がブタにおける DNA メチル化のパターンを変える可能性があることを示した。しかしながら、この試験のすべてのクローンが試験実施時 (生後 27 週目) に健常で、明らかな発育異常が何ら認められなかったため、DNA メチル化のこれらの差異の生物学的関連は不明である。

3.1.1. 継代的な後成的遺伝

限定的なデータは、クローン内での核の活動をリプログラミングする間に生じる後成的調節不全が有性生殖によって誕生した子に伝達され得るか否かによって、利用可能となる。マウスを使用したいくつかの報告が示すところによると、クローニング後に結果的に肥満の表現型となるような後成的異常は、クローン×クローンの交雑による子が肥満の表現型

を呈することがないように、クローンの生殖細胞において修正されている (Tamashiro ら、2000 年)。エピ対立遺伝子をもつ多くの遺伝子がゲノム内に存在する可能性があるものの、その検出にはクローンとその産子の両者の表現型に対する影響を可視化する必要がある (Peaston および Whitelaw、2006 年)。最近のデータでは、父親側で出生時および出生後に認められた異常を、同じ大型クローンで産生した雌 19 頭と雄 11 頭の子がすべて失していることを示した (Ortegon ら、2007 年)。

さまざまな条件に応答する継代的な後成的遺伝は、多くの真核生物で実証されており、哺乳類において重要な役割を果たしている可能性がある。ことに雌が母体と胎児へのストレスをまねく条件化で妊娠を継続している場合は、特に環境影響が特異的遺伝子のサイレンシングまたは活性化をもたらす多くの後成的修飾を誘発する可能性がある。このような妊娠による子において認められる後成的修飾は、後の産子に伝達される可能性がある。これらの現象は適応の機序とみなされるが、3 世代後では可逆性であることが明らかになっている (Gluckman ら、2007a 年、Gluckman ら、2007b 年)。in vitro での実験の条件下では、後成的遺伝が時としてマウス胚にみられることも示されている (Roemer ら、1997 年)。異なるマウスのモデルは現在、刷り込まれていない特異的な対立遺伝子に存在する DNA メチル化などの後成的なマークが父系や母系の生殖細胞系列を通してどのようにエピ対立遺伝子として伝達されているかを調査する際に利用できる (Wolff ら、1998 年、Cooney ら、2002 年)。現在では、RNA が遺伝的表現型の決定要素となり得ることを示唆する証拠がある。アグーチのマウスの表現型の場合、尾部先端のホワイトの特性が伝達されるのは、メンデル式ではなく、精子内にセットされた RNA により、また機序を阻害する RNA により Kit 遺伝子の発現を下方制御する方法による (Rassoulzadegan ら、2006 年)。今回の科学的な意見書の対象である家畜種については、同様の試験や転帰は確認されていない。クローンとその産子に対するこれらの観察事項の関連性は、完全には明らかにされていない。クローンの後成的修飾がその後の世代では消失することも予測されており、現に自然に誘導されている例がある。

3.1.2. 後成的なテロメアの修飾

SCNT による胚を發育させるドナーの体細胞核の能力と関連のあった後成的機序のひとつには、クローンのテロメアの長さがある。テロメアとは短いもので、染色体の末端部に位置する高頻度反復配列 DNA であり、分解されたときには末端部の不適切な融合を防止して回復させる。テロメアは、DNA 複製と関連する問題があることから、細胞分裂の各期間で短くなる。そのため、テロメアには加齢の過程を制御する機能がある。酵素のひとつであるテロメラゼは、生殖細胞や胚細胞などのさまざまな再生組織内に存在し、伸展する能力や複数回の細胞分裂を経たテロメアの長さの定数を保持する能力がある。哺乳類初の

クローン（「ドリー（Dolly）」）のテロメアは、年齢マッチさせた自然交配による対応動物に比べて短いことが明らかになっている（Shiels ら、1999 年）。これを理由に、クローンが早老化を示す点について最初に検討が行われた。しかしながらその後、大多数の試験において、ウシ、ブタ、ヤギのクローンのテロメア長が同等であるか、または年齢マッチさせた自然交配による対照群よりも長い例が、老化したドナーの細胞をクローニングに用いた場合でも報告されている（Lanza ら、2000 年、Jiang ら、2004 年、Betts ら、2005 年、Jeon ら、2005 年、Schaezlein および Rudolph、2005 年）。現在のデータは、主に使用されている細胞の繊維芽細胞のドナー細胞由来のクローンではテロメア長の回復は通常のことであることを示している。同様の大型クローンから得られた 30 頭の子のテロメア長は、年齢マッチさせた対照群と異ならなかった（Ortegon ら、2007 年）。

3.1.3. 大局的にみる後成的調節不全

後成的調節不全はクローニングに独特の現象ではなく、複製物のほかのすべての形状で認められるものであるが、特に *in vitro* の要素を相当量もつ ART の場合にみられる現象である。これは、SCNT を経て得られた体外受精卵と胚を *in vivo* で産生された胚と比較したところ、ウシにおいて観察され（Camargo ら、2005 年）、同様にほかの種でも認められた（Gardner および Lane、2005 年、Wrenzycki ら、2005 年）。これらの異常が SCNT 自体のもつストレスによるものであるのか、代理母に移入する前の初期胚がさらされる *in vitro* の環境の結果によるものであるのかは不明である。また、いかなる胎児の後成的状態も、いかなる有機体のあらゆる生命段階そのままの後成的状態でも、部分的には環境に対する反応である点を記憶に留めておくべきである。

3.2. 遺伝的側面

十分に維持されてきた機序は、変更されたゲノムに複雑な発現過程の影響が及ぶのを防止し、減数分裂的に派生した胚ゲノムと同様に SCNT により同程度の効率をもつものとみなすことができる。SCNT を行った後の染色体障害は、移植前の段階では日常的に高頻度で認められるが、主に形態学的に異常な胚にみられる（Booth ら、2003 年）。同様の大型クローンから得た 30 頭の健常な子の染色体には異常は一切みられなかった（Ortegon ら、2007 年）。

マウスの染色体安定性は *in vitro* でクローン化または受精した胚に由来する胚細胞間で異なる可能性があるが、これはおそらく遺伝的原因よりもむしろ後成的原因によるものである（Balbach ら、2007 年）。

3.2.1. ミトコンドリア DNA の修飾

クローン間での遺伝的な差異は、ミトコンドリア DNA に由来する可能性がある。ミトコンドリアは主に細胞のエネルギー源として用いられるが、胚の発育に必要なとされるステロイド合成やプログラム細胞死においては特に、その他の細胞生理上重要な役割がある。有性生殖の場合、雄のミトコンドリアは異質なものとして認識され、卵母細胞の細胞質において種特異的な方法で除去される。このように、ミトコンドリアは厳しい母性遺伝を示す。SCNT が行われた後、胚は卵母細胞の細胞質（同質性）のみから得られるミトコンドリア DNA か、またはドナー細胞とレシピエント細胞質の両者から得られる（異形成）ミトコンドリア DNA を所有することができる（Steinborn ら、2000 年）。成体体細胞には、典型的に数百から数千ものミトコンドリアが含まれている。この数は生殖細胞系の特異化の時期にはこれより減少するものの、卵母細胞が成長する間は劇的に増加し、受精時のマウスの卵母細胞の 100,000 個ほどに増える（Shoubridge および Wai、2007 年）。これまでに分析された大多数のクローンが異形成である証拠はほとんど示されなかったが、試験の実施数は少数であり、このことはおそらく驚くべきことではない（Hiendleder ら、2005 年）。ミトコンドリアの複写数と機能における変化や、レシピエントの卵母細胞からのミトコンドリアの機能不全の伝達は、発育の起点で成体の代謝病の危険因子となり得ることが推測されている（McConnell、2006 年）。

3.2.2. サイレント変異

後の世代に（有性生殖を通して）伝達され得るクローンの核 DNA のサイレント変異を SCNT が誘発する範囲は、未だにほとんど確定されていない。

有性生殖による動物の誕生において、頻度は低いがこのような変異は自然発生的に生じており、おそらく同様のことが核移植後にも実際に生じているであろう。これらの突然変異は、個々の子の対立形質の組合せによっては次世代で異常表現型をもたらし得るが、スクリーニングが可能であり、また従来の交配プログラムで排除することができる。

通常の育種法での例は、自然発生的に DNA で生じる突然変異は発現を妨げ得るものの結果として子の表現型に貢献する修飾となる刷り込み遺伝子の後成的状態を妨げるものではないことを示している。これが雄親から突然変異を受けるヘテロ接合の個体のみに影響を及ぼす遺伝性の筋肥大である「キャリピージ表現型」を呈するヒツジの症例である（Charlier ら、2001 年）。関連した状況がブタにおいても認められている（Van Laere ら、2003 年）。現在では、DNA だけではなく RNA も遺伝性の表現型の決定要素となり得ることを示唆する証拠がある（Rassoulzadegan ら、2007 年）。

核のリプログラミングには体細胞核のクロマチンの著しい再構築が必要とされるため、SCNT は、家畜での今日の遺伝学的選択法として用いられる育種法の転帰により大きな影響を及ぼし得るドナーのゲノムにおいて、サイレント変異の発生を増大させることになる。

3.3. その他の側面

クローニングのプロセスには、卵母細胞の細胞質のいくつかの修飾が含まれる。卵母細胞の細胞質の一部は核を吸引する間に除去され、残存する細胞質は解体されることになる。これは、胚の発現に必要な完全に機能性を備えた細胞質の不足をもたらすおそれがある。卵母細胞の細胞質の回復を目的とするプロトコルの中には、外来性の卵母細胞の細胞質の追加やいくつかの除核した卵母細胞の融合などがある。細胞質の修飾は、除核した卵母細胞とドナー細胞の融合の結果として生じることもある。これは、機能性を備えたミトコンドリアを含め、ドナー細胞の細胞質を卵母細胞内に導入するものである。これらの細胞質にみられる障害は、細胞質とクローン胚の発育に影響を及ぼし得る細胞小器官の機能不全をまねくおそれがある。

3.4. SCNT の後成的側面と遺伝的側面についての結論

- ・ 成的調節不全は、クローンに影響を及ぼし、発育異常をまねくおそれがある有害作用が存在する可能性の主要な原因となる。
- ・ 臨床的に健常なクローンは、後成的なリプログラミングが十分に機能的であることを示す。
- ・ クローンの DNA 塩基配列はドナー動物の複製であるが、その他の差異が存在する可能性がある（例、ゲノム DNA のメチル化状態）。
- ・ 現在のところ、限られた入手データによると、SCNT によって誘発される後成的調節不全がウシおよびブタの産子（F1）に伝達されるとする証拠はない。

4. 動物の健康および福祉上の SCNT の影響

動物の健康には、身体的健康、感染性および非感染性疾患の排除および本質的な生命維持能が挙げられる。動物の福祉とは、疼痛、疲労および苦痛を取り除くことである。健康と福祉が不十分であるか、あるいはそれらが改善されているかを確認するには、クローンな

らびにクローンと非クローン動物との比較データを参照した、ある動物の生命における様々な段階に照らして調査する。

クローニング技術に関連したリスクについては、クローニング技術自体に直接関連したリスク、ならびに技術の開発段階および採用したプロセスの制御レベルに関連した危険を明確に区別することが重要である。

クローニングについての文献は高度監視下にある集団および環境で行われた作業の報告に基づいているので、観察および記録された効果は、日常的な生産システムでの管理状況を反映していない可能性がある。クローンは、有用であると考えられる性質を持つ動物に由来しており、その性質はその特別な形態により、その動物らを正常集団の枠外へと区分するような生産形態から成っていることが多い。したがって、ARTで生産した動物との比較以外にも、クローンと正常集団のパラメータ間の比較には慎重さが必要である。

4.1. 動物の健康

動物の健康は、クローニング、代理母、クローン自体およびその産子に使用する体細胞および卵母細胞由来の動物に照らして検討される。

4.1.1. 体細胞および卵母細胞の供給源動物の健康

SCNTのプロセスでの核ドナーとして使用する細胞は通常、既存の細胞培養液あるいは目的の表現型を有する生きた動物の耳に付した穿孔などの低侵襲手技のいずれかから得る。卵母細胞ドナーとは、卵母細胞が解体処理後に取得可能である任意の同種動物、もしくは卵母細胞が *in vivo* で選別された卵子によって回収される、非常に有益および/または監視された動物であり得る。これらの技術はそれ自体では、供給源動物に対して重大な健康上のリスクをもたらすものではない。本項の後半では、供給源動物の健康上の役割およびその後のクローンの健康に対する影響を述べている。

供給源動物の疾病状態は、クローンへの感染リスクに影響を及ぼす。細胞内マイコプラズマやゲノムに組み込まれたウイルスヌクレオチド配列などの数種の疾患原因物質は、体細胞核および卵母細胞と直接に関連し得る (Philpott, 1993 年)。

現在、胚移植に携わる機関から発行された自主ガイドラインは、移植に伴う感染リスクの低減を目的としている。OIE (国際獣疫事務局、www.oie.int) は、IETS (International Embryo Transfer Society: 国際胚移植学会、www.iets.org) から密接な協力を得て胚移植に関するガ

イドラインを編集した。胚移植手技に供する動物 (*in vivo* 由来の配偶子および胚) のために、供給源動物および代理母を生物学的に安全に管理するための詳細なプロトコルが作成されたが、*in vivo* で産生された胚に適用されたプロトコルが全て *in vitro* 由来の胚、クローン胚および遺伝子導入した胚に応用できるわけではない (Stringfellow ら、2004 年)。

4.1.1.1 体細胞核の供給源

体細胞核の供給源の多くは、クローニング手技が繁殖用に設計されている目的の形態を有する動物であり、それ自体は生存期間中、健康の観察および調査に供されるものである。供給源動物の疾病状態 (感受性または耐性) の選択は、クローンがそのような疾病形態に影響を受ける可能性があることから重要である。病原体はある組織に対してそれぞれ異なる親和性を有すると考えられることから、疾病伝播は核が採取される組織型によって異なる可能性がある (Sharp、1971 年; Lilja ら、1997 年; Dinglasan および Jacobs-Lorena、2005 年; Erne ら、2007 年)。

SCNT により、体細胞中の細胞質内病原を受容卵母細胞へ移送することが可能となる。しかしながら、病原体が *in vitro* 受精および卵母細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection: ICSI) 中、病原体が精子あるいは器具に付着した場合の危険も存在する。このリスクは供給源動物の衛生管理により低減される (国際獣疫事務局および OIE、2007 年)。

4.1.1.2 卵母細胞の供給源

生きた動物あるいは食肉材料から卵母細胞を回収する手技ならびに *in vitro* での操作に関連した健康上のリスクは、移植用の胚を *in vitro* で採取する場合に発生するリスクと同等に重大である。解体処理された動物由来の卵母細胞を採取すると (外科的介入とは対照的に)、クローンによって保持され、子宮内または生後の生存能力に影響を及ぼす細菌およびウイルスによる汚染のリスクが増大することになる。これらのリスクはすでに慎重に確認しており (Bielanski、1997 年)、その予防のための手技は認可されたガイドラインとして IETS により提案され、OIE が採用している。*in vitro* 受精の手技とは異なる SCNT 技術での工程が存在する一方で、卵母細胞摘出、体細胞核を有する卵母細胞の融合、あるいは摘出した卵母細胞の細胞質への体細胞核の直接注入に関連する特異的な健康のリスクは報告されていない。

卵母細胞供給源動物の耐病性がどの程度クローンに影響を及ぼすかは定かではない。なぜならそれは体細胞核と同じ方法ではクローンの遺伝的性質に寄与しないからである。しかしながら摘出した卵母細胞の供給源動物は、卵母細胞質から生じるミトコンドリア関連遺

伝形質を経て寄与を行う場合がある。

4.1.2. 代理母の健康

代理母として供されたウシ（移植後、妊娠 50 日目）における初期妊娠率は、クローン保有ウシ（65%）と胚移植（58%）および人工受精（67%）などの他の人工法を使用したウシ間では大差がないことが分かった（Heyman ら、2002 年；Lee ら、2004 年）。しかし、クローン保有代理母の妊娠期間全体にわたって、他の ART では見られなかった妊娠損失が継続し、生存していた胚は *in vitro* での胚生産法にしたがった胚の 3 分の 1 にすぎない（Lee ら、2004 年；Wells、2005 年）。

妊娠第 2 期および第 3 期における代理母の妊娠損失は、胎盤異常、胎児水腫、血管の拡張を伴う臍帯の腫脹および胎盤葉の異常な腫脹および減少に関連している（Wells ら、1999 年；Hill ら、2000 年；Chavatte-Palmer ら、2002 年；Batchelder ら、2005 年）。

代理母の高流産率は、異常な、および／または発育の悪い胎盤形成の所見に関連付けられてきた。このような胎盤異常は初期胚損失、流産、死産、難産、出生前および出生後死に伴っている（Wakayama および Yanagimachi、1999 年；Hill ら、2001 年；Tanaka ら、2001 年；De Sousa ら、2002 年；Hashizume ら、2002 年；Humpherys ら、2002 年；Suemizu ら、2003 年）。胎盤を組織学的に詳細に研究し、7 頭のクローンウシにおいて妊娠が異常を伴っていたことが分かった（Lee ら、2004 年；Batchelder ら、2005 年；Constant ら、2006 年）。胎盤数の減少や母体・胎児交換の結果に現れる胎盤発育の異常が、反すう動物 SCNT の妊娠における主要な限定因子の 1 つとして見られる（Arnold ら、2006 年）。この胎盤発育の異常は着床後の初期段階から現れるが、生体クローンの発育および出生を必ずしも妨げるものではない（Hill ら、2000 年；Hoffert ら、2005 年；Chavatte-Palmer ら、2006 年）。胎盤異常を初期段階で検出すれば、代理母の健康を脅かすことなく妊娠を停止させることができる（Hill および Chavatte-Palmer、2002 年）。

興味深いことに、数種の反すう動物では、副腎皮質刺激ホルモン（adrenocorticotrophic hormone: ACTH）および胎児コルチゾールの放出により胎児は出生時間を決定するのに役立つ（Liggins ら、1967 年）、胎児下垂体が破壊されると妊娠は延長される。したがってクローンは下垂体機能不全を何度か経て難産の発症率に影響を及ぼす可能性がある。

帝王切開術が選択されることが多いことから因果関係を判定することがやや困難であるにもかかわらず、帝王切開術での出生率はウシまたはブタのクローン胎児を有する代理母で高いものとなっている。ウシにおける研究では、初期に帝王切開術を選択された割合は

2000年で100%であったが、2005年には54%に低下した (Panarace ら、2007年)。

その後の代理母の受精率でクローニングに関する文献に記録されているものはない。正常な繁殖後、子ウシを分娩することを促進するために帝王切開を選択せざるを得ないウシの受精率は変わらないが、反面、重篤な難産 (Tenhagen ら、2007年)、主に子宮内膜症を引き起こす感染 (Gschwind ら、2003年) のために帝王切開が必要である場合の受精率は有意に減少する。

4.1.3. クローン (F0) の健康

クローンの健康について4つの異なる状態を判定することができる：(i) 重大な異常を示し、妊娠を停止する必要があるクローン；(ii) 障害を示し、出生後期間に死亡したクローン；(iii) 可逆的な障害を示したが出生後に生存しているクローン；および (iv) 欠陥が検出されなかったクローン。

周産期はクローンウシの健康と発育にとって最も重大な時期である (Chavatte-Palmer ら、2004年；Wells ら、2004年；Panarace ら、2007年)。このことは、観察された病状のほとんどが胎盤機能不全を伴うか、それに続発するという事実から明白である (Constant ら、2006年)。

ウシ内在性レトロウイルス (bovine endogenous retrovirus: BERV) が再活性化する可能性を分析し、有性生殖したウシおよびクローンウシ間で比較した (Heyman ら、2007a年)。BERV配列は転写されず、RNAは、クローン、ドナー動物または対照の血液からは検出されなかった。

SCNTの免疫機能に与える影響ならびにクローンの感染性物質に対する感受性を評価するにはより多くのデータが必要である。さらに、SCNTに特に関連していなくとも、代理母の感染状態に応じて、数種の特異性ウイルス (例えばペスチウイルス、ヘルペスウイルス) により母体からクローンへ経胎盤的に感染が起こることは留意する必要がある。このことはSCNTに特に関連しておらず、胚が代理母に導入される他のARTでも起こり得る。

4.1.3.1. 妊娠および周産期のクローンの健康

過大子症候群 (large offspring syndrome: LOS) は妊娠後期での変化と共にウシおよびヒツジ由来のクローンで見られ、周産期死亡の増加、過剰な胎児サイズ、胎盤発育異常 (胎児水腫発症率の増加など)、内臓の腫脹、疾病感受性の増強、突然死、吸乳の減少ならびに呼吸