

食品安全委員会新開発食品専門調査会 体細胞クローン家畜由来食品の食品健康影響評価に係る ワーキンググループ第4回会合議事録

1. 日時 平成 20 年 12 月 8 日（月） 14:00～16:05

2. 場所 食品安全委員会 大会議室

3. 議事

（1）体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品に係る安全性について

（2）その他

4. 出席者

（専門委員）

早川座長、池上専門委員、尾崎専門委員、熊谷専門委員、澤田専門委員、手島専門委員、和久井専門委員

（専門参考人）

小島専門参考人、塩田専門参考人

（食品安全委員会委員）

見上委員長、小泉委員、本間委員

（事務局）

栗本事務局長、日野事務局次長、北條評価課長、猿田評価調整官、鶴身課長補佐、新谷係長

5. 配布資料

資料 1 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について

資料 2 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品の知見について

参考資料 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由

来する食品の食品健康影響評価に関する主な論点メモ

6. 議事内容

○早川座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまより、第4回「体細胞クローン家畜由来食品の食品健康影響評価に係るワーキンググループ」を開催したいと思います。

本日は、上野川専門委員、宇理須専門委員が御欠席と伺っております。和久井専門委員におかれましては出席と伺っておりますが、何らかの事情で遅れられているものと思います。

専門参考人といたしまして、小島先生、塩田先生に御出席をいただいております。前回の第3回ワーキンググループで御了解をいただきました専門参考人招致の件でございますが、新たに専門参考人として、独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター遺伝子工学基盤技術室長の小倉淳郎先生に小グループでの検討の段階から御参加をいただいております。本日は御都合により御欠席ということでございます。

本日の議論でございますが、前回の第3回ワーキンググループにおいて、クローン動物の健全性とエピジェネティクス等に関しまして、小グループで文献の精査、詳細な議論を進めていただき、その結果を踏まえて全体で議論をするということとしております。

本日は小グループにおける検討結果について御報告をいただき、議論をしていただくと。体細胞クローン家畜に由来する食品の評価についても検討してまいりたいと思います。

それでは、事務局から配付資料の確認をお願いいたします。

○猿田評価調整官 配付資料の確認をさせていただきたいと思います。

配付資料は議事次第、座席表、ワーキンググループの名簿。

資料1「体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について」。

資料2「体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品の知見について」。

参考資料「体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品の食品健康影響評価に関する主な論点メモ」となっております。

また、お手元のファイルにこれまでの資料をつづらせていただいております。本日の資料は以上でございますが、不足等がございましたら、事務局員までお声をおかけください。

以上でございます。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、議事に入りたいと思います。小グループにおける検討結果について、各担当

の先生方より御説明をいただきたいと思います。

資料1の「I. 家畜における繁殖技術の概要」について、小島先生からお願いいたします。

○小島専門参考人 私の方から「I. 家畜における繁殖技術の概要」ということで説明させていただきます。お手元の資料1の2～5ページにわたって説明させていただきます。

主な繁殖技術ということで書いてありますが、ここには特に我が国は非常に限られた資源、土地を有効に活用する必要があるということで、特に終戦後以降、活発な技術開発が進められてきまして、特にその主眼としたところは優良な遺伝形質を有する個体、または系統を効率的に増殖させるということでありまして。それはとりもなおさず国民に動物性タンパク質を安定的に供給するというのが第一の目的でありました。

単にその家畜に対する繁殖技術の開発だけではなくて、繁殖技術の開発確立に伴いまして、その技術と言いますのは後ほど述べます人工授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植の3つを指しますが、その技術開発確立に伴いまして、家畜改良増殖法というものが昭和25年に初めて制定されまして、その後、改正を重ねて現在に至っております。

人工授精技術ですが、そもそもこの人工授精技術という技術ができる発端はそこには書いてはいないんですが、補足説明させていただきますと、動物あるいはヒトの配偶子を実際に *in vitro* に出して、観察をするというところからそもそも始まっておりまして、最初は純粹に生物学的な興味から派生した技術であります。家畜においても実際にそういうことでやっていきますと、優秀な動物からの精液を採取して、それで精子を *in vitro* に取り出すわけですから検査もできる、希釈もできる。普通の自然交配をすると1頭にしか受胎させることができないのが、複数頭に1回の採精分で受胎させることができるという技術になってきておりまして、それで先ほど申し上げました優良な遺伝形質を有する個体、あるいは系統を効率的に増殖させるという目的とが合致して、優秀な雄牛だけを残すことができた。

それと同時に精液を凍結保存する技術が相まって、人工授精技術というのが全国的に普及をして行きました。

現在、人工授精技術によって、牛の場合では、ほぼ100%で人工授精で子牛が生まれているということでありまして。

2段落目のところは、乳用種であるホルスタイン種雌牛と肉用種である黒毛和種雄牛の凍結精液を人工授精する割合が、現在、人工授精総数の約30%を占めているということがそこには書いてあります。これは現在、非常に生乳の消費量が伸び悩んでいるとか、飼料が高騰しているという時代にあって、酪農家の貴重な副収入源になっている技術でもある

ことを示しています。

次に、体内受精卵移植に移らせていただきます。体内受精卵移植の技術開発ができて、いわゆるこの段階で生殖工学というものが幕開けをしたと言われております。昭和 39 年に、日本の技術者が現在行われている方法（非外科的移植法）で子牛を生産することによって、世界中にその技術は広まりました。

先ほどの人工授精技術と同じように、受精卵も凍結保存をするという技術が同時に開発されまして、体内受精卵移植技術は農家での技術として普及するようになったと考えられています。ただ、人工授精技術よりは、やや複雑な技術でありまして、その技術の概要は体内受精卵移植技術の第 1 段落目に書いてございます。

現在、2005 年の統計では、我が国の牛の産子のうち、全体の約 0.6% の 16,155 頭がこの体内受精卵移植によって生産されております。先ほど人工授精技術のところではほぼ 100% と申し上げましたけれども、体内受精卵移植での生産される子牛の割合が 0.6% ということで、それで先ほどの人工授精ではほぼ 100% という表現を使っておりますので、御了解いただきたいと思います。

体内受精卵移植技術の特徴は、人工授精技術は雄牛だけからの改良であったのが、体内受精卵移植を用いることによって優秀な雌牛にホルモン剤を投与することによって過剰に排卵をさせる。それに優秀な雄牛の精液を人工授精して、雄側だけではなくて、雌側からも優良な遺伝形質の持った種畜をつくるのがこの技術で可能になったということであります。

次に、体外受精卵移植です。これは体外受精卵移植と一言に言いましても、実際に技術的には卵子の体外成熟と体外受精、それと体外培養技術の 3 つによって成り立っている技術であります。

体外受精卵移植技術はそこに書いてありますように、一般的には食肉処理場に出された牛から卵巣を実験室に持ち帰り、その卵巣から卵子を吸引して体外受精の供することにより、一旦はその食肉処理場に出された雌牛から、もう一度その個体由来の子牛をつくることを可能にした技術であります。

ただ、応用的には上記のようなことが考えられますが、1 段落目の最後に書いてありますように、今回話題になっております体細胞クローン技術の基盤技術になっている技術であります。特にそれは何かと言いますと、体外で受精卵を長期間培養することが可能になったということであります。この体外受精卵移植によりまして、2005 年の統計によりまして、我が国の牛の産子のうち 2,308 頭、全体の約 0.08% がこの技術により生産されております。

今、述べました人工授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植ですが、家畜でこれらの技術が確立されまして、ヒトの不妊治療に応用されているわけです。

次にクローン技術です。クローン技術は1段落目に書いてありますように、胚の割球細胞を用いる受精卵クローン技術と体細胞を用いる体細胞クローン技術の2つがあります。その次に技術の説明ですが、4ページの図を見ていただけますでしょうか。

そこに体細胞クローン牛の産出ということで、模式図が描かれております。まず簡単に御説明いたします。右側の体細胞提供牛ですが、これは冒頭で述べましたように、優良な遺伝形質を有する個体、または系統を効率的に増殖させることが本来の家畜繁殖技術の中心テーマでありましたので、ここもやはりそういう牛を選抜するということが当然必要になってくるわけです。

そこから体細胞を採取する。耳の細胞であったり筋肉の細胞であったり雌牛ですと卵管上皮細胞とか卵丘細胞とか、そういうあらゆる部位の細胞をとってきまして、*in vitro*で体細胞を培養する。

培養を続けるとシャーレー面に増殖した状態（コンフレントと呼びますが）、そこで線維芽細胞となりますので、その細胞を維持しておくわけです。一方、それだけでは子牛にすることができませんので、左側の卵子提供牛が必要になります。これは当然雌牛で、それから卵子を採取する。卵子を採取するときは先ほど体外受精のところで申し上げましたように、食肉処理場に出された牛の卵巣を実験室に持ち帰る。あるいはヒトでよくやられているように、現在、牛でも一般的な技術になりつつあるのですが、超音波画像診断装置と特殊な針付きプローブで生体の雌牛から卵子を吸引することによって、卵子を採取してまいります。

その卵子は染色体数が n の半数体でありますので、その半数体の核を取り除くという操作が必要になってきます。その後、先ほどの培養系で維持している体細胞の細胞1つと卵子の核を取り除いた卵子を顕微鏡下に置きまして、ここには言葉としては書いていないんですけども、卵細胞質とその周りの二重線のところが透明体というものなんですけど、その間の囲卵腔という隙間に体細胞を移植しまして、その後に電気刺激等で細胞融合を起こすことによって、再構築胚というものができ上がります。それを先ほどの体外受精卵移植のところで述べました体外培養技術を駆使しまして、実際の牛の子宮の中に入れても発育することができる発育ステージまで、約1週間ですけれども、培養をいたします。その後、受胎牛の子宮に移植をして、出産をさせる。それで生まれたものがクローン牛ということになります。

このとき当然ですが、体細胞提供牛とクローン牛は同じ性別。そして、また核内遺伝子は全く同じものを持っていますので、かなりの相似性をもって能力が再現できるということになります。それが図中に F0 と書いてあるものです。

その次に F1 の説明です。一般の牛あるいはこちらでもクローンでもいいわけですが、それを自然に繁殖させることによって、このときは人工授精あるいはアメリカなどではまき牛交配で自然で交配させているという場合もあるようですが、それで生まれたものが後代ということで、F1 ということであります。

現在、後ほども述べますけれども、受胎牛からクローン F0 が生まれるところで非常に事故が多いということですが、技術の面からこの事故率をできるだけ低減させようという努力も行われております。これが大体、体細胞クローン技術の説明であります。

もう一度、3 ページに戻っていただけますでしょうか。後ろから 2 番目の段落ですが、体細胞クローン動物では先ほど申し上げましたように、細胞を提供する動物の優良な遺伝形質が産子に表現され、当然のことながら性別も一緒になります。ただ、このところは非常に重要なことでありまして、人工授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植の単独の技術だけでは、これはなし得なかった技術であります。それが体細胞クローン技術というものができまして、これが可能になったということであります。

ただ、先ほども若干触れましたけれども、事故が多いということは否めない現時点での事実でありまして、その原因の 1 つとして有力視されておりますのが、再構築胚に全能性を獲得させるというリプログラミングという操作での不具合です。すなわちこの全能性の獲得が再構築胚の正常な発生及び正常な産子の産出に重要な要件になると考えられております。

体細胞（完全に分化した細胞）を除核した卵子と一緒にすることによって、あたかも 1 個の受精卵のように発育してくることが必要になってくるわけで、このリプログラミングが非常に重要な要件になっていると考えられています。

ただ、こう述べますと体細胞クローン技術は今での技術とは違うという感じを持たれるかも知れないんですけども、体細胞クローン技術というのは今までの人工授精技術、体内受精卵移植、体外受精卵移植、その他の顕微操作技術のような、今まで培われた技術の延長線上にある家畜繁殖技術であると考えられています。

4 ページの体細胞クローン動物の産出数と効率のところを見ていただけますでしょうか。皆さん御存じのように、1996 年にイギリスのロスリン研究所で羊のドリーが生まれまして、衝撃的なことが起こりましたが、早くもその 2 年後に、我が国で牛で体細胞クローン牛が

生まれております。平成 20 年 3 月 31 日現在の統計では、我が国では体細胞クローン牛は 551 頭が出生をしております。

その頭数は次の段落に書いてあります米国での 570 頭、EU 加盟国での約 100 頭ということで、EU は完全にしのいでいますが、アメリカと肩を並べる技術水準にあると考えられております。

5 ページの 2 段落目ですが、体細胞クローン豚については非常に少ないんですが、正確な数は現在、農水省の方で登録はされているんですが、豚の場合は牛と違って、もう完全に医工学用に用いられているというところが多いことで、遺伝子導入などもその中に技術が入ってきていますので、単純に体細胞クローン豚という頭数はなかなかはっきりと把握できない状況にあります。

5 ページの真ん中ほどです。体細胞クローン家畜産出の成功率は、従来の繁殖技術と比べると全体的に低いと書いてあります。その文章では、雌牛に移植された 3,374 個の体細胞クローン胚から 317 頭、9 % の産子が誕生しているということで、ちなみに人工授精、体内受精卵移植は約 50 %、体外受精卵移植は約 35 ~ 40 % というのが子牛が生まれる割合であります。それに比べると非常に低いということが言えます。

もう一つ、付け加えておかなければいけないのは、人工授精や受精卵移植等の他の繁殖技術でも当然見られるのですが、流産、死産、過大子等の割合が体細胞クローン家畜では他の繁殖技術と比較して、非常に頻度が高くなっているということです。

その次の文章に、人工授精と体内受精卵移植と体外受精卵移植、受精卵クローン、体細胞クローンの死産あるいは事故死等の死亡率の割合を書いています。おおよそ現在でもこの数字に近い割合で事故は起こっていると思います。ただ、先ほども申し上げましたように、リプログラミングの研究がもっと進むことによって、当然この事故率等は低くなってくるということが予想されております。

もう一度、豚に戻ります。豚の記述がほとんどないんですけども、豚でもやはり牛で述べてきたと同じような技術開発の経緯で体細胞クローン豚というものがつくられてきておりますので、ほぼ同様と考えていただいてもいいかと思います。

以上です。

○早川座長 ありがとうございます。ただいまいただいた御報告に関する個々の御意見、御質問につきましては、あと 2 件御報告をいただきたいと思っておりますので、その後に改めて個々に承りたいと思います。

それでは、引き続きまして「II. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並び

にそれらの後代について」を熊谷先生から御説明をお願いいたします。

○熊谷専門委員 それでは「II. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について」ということで、国内外のこれまでの知見をレビューする形で検討を進めてきました。

全体の構成としては、最後の方にまとめというのがありますが、途中は非常に長いので、かいつまんでフレーズフレーズで順次説明していきます。

発育段階ごとにと言いますのは、胎子の時代、出生前後、出生後1週間程度。これを周産期としまして、春機発動が見られるまでの時期を若齢期としております。その後の時期につきましては、繁殖性も含めまして、成熟あるいは加齢期というふうにステージを分けて、健全性について検討をいたしました。

まず最初に「(1) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛」ということで、6ページの胎子発育の部分から見ていただきたいんですが、そこに最初から次のページの1フレーズ目までには、使う細胞の種類とか培養条件によって発生に異常を来すといったような報告を並べてあります。

7ページのパラグラフの2つ目から8ページまで、パラグラフは変わっていますが、まとまりとしてつながっています。ここには妊娠の中断、受胎率がこの体細胞クローン牛で低下するという記載。胎盤の異常について、主に報告を並べております。

8ページに行きます。4行目からパラグラフが始まっていますが、ここには胎盤とか胎子において水腫が見られるという知見。それに関連して、胎子の過成長に先行して胎盤の過成長が認められるとか、胎盤葉の肥大化といったことが観察されたという報告が記載されております。

8ページの中ごろよりちょっと下に独立したパラグラフがあります。ここには胎盤の過成長が胎子に供給されるフルクトースの増加を誘発し、心筋を含む筋機能に影響する低血糖及び高フルクトース血症を引き起こすというようなことを考える研究者がいるということが述べられております。

次のステージは、出生前後ということになります。我が国で集められたデータ、我が国で生産された牛に関する報告を集計した結果が最初のパラグラフに書いてあります。体細胞クローン牛451頭のうちの死産は74頭で16.4%、生後直死が65頭で14.4%。それに対して従来の繁殖技術により牛の死亡率は、括弧書きにありますように死産4.6%、生後直死1.9%ということで、有意な差が認められております。

死産の主な原因としては、難産、窒息、羊水誤嚥等の呼吸障害、生後直死でも窒息、羊

水誤嚥等の呼吸障害が主たる死因であることが認められております。生後直死した体細胞クローン牛では、過大子の傾向が認められているということです。

9 ページのその後のパラグラフには、過大子についての観察が記載されております。過大子の発生は対細胞クローン牛の妊娠で頻度が高く、受精卵クローン牛や人工授精における妊娠でも頻度は低いが発生しているということが報告されています。牛における過大子の発生率は、体細胞クローンでは 13.3%、受精卵クローンでは 8.6%、人工授精では 9.5%という報告があります。

次のパラグラフは、体細胞クローン牛ではありませんで、一般牛の記載があります。過大子の発生は難産とそれに関係する罹病及び死亡を招くことが多いとか、難産との関連について記載があります。

9 ページの「帝王切開により」という文章から始まるパラグラフですが、そこから 10 ページの最初のパラグラフの終わりまでは、主に生後直死と死産に伴って認められている異常が記載されています。羊水誤嚥とか敗血症、形態的異常、内臓の腫大とか疾病感受性の増加とか、突然死、吸入の減少、呼吸、起立困難といったような個別的なことの報告があるということが述べられています。

10 ページの次のパラグラフは、過大子の発生率がその体細胞クローンをつくる条件によって異なることが観察されているということが述べられております。

次の「過大子の発生の他」というパラグラフですが、心臓の構造異常とか、その他組織の異常が観察されているということ。生後 1 週間までに死亡したような牛ですと、ヘルニアとか呼吸困難、腹水症、脂肪肝などの異常が観察されております。

次のパラグラフは、異常もあるけれども正常もあるということで、血液学的検査とか血液生化学的検査で、この時期に異常もあるけれども正常もあるという報告があります。

10 ページの一番下のパラグラフから 11 ページにかけては、成長に関わるホルモンを調べた知見が述べられております。一部ホルモンのなもので、値が低いとかそういうことも観察されています。しかし、あまり変わりはないという報告もあります。

11 ページの次のパラグラフ。これは赤血球とかヘマトクリットといったような血液の所見。血中グルコースとか乳酸値という血液生化学パラメーターの所見が述べられています。これは出生直後に低いのもありますけれども、これが時間が経つと戻るということが観察されているということが述べられています。

11 ページの「生後 1 週間」から始まる部分ですが、これにつきましてはサイロキシンとか IGF といったようなものの測定について述べられております。いずれの値も生後 50 日ま

では正常レベルに戻ったという知見が述べられています。

次のステージは若齢期です。これも我が国で生産された牛のデータに基づきまして、体細胞クローン牛 482 頭で病死したのは 94 頭、19.5%と集計されています。

病死した日齢を調査した結果、約 200 日齢までは従来の繁殖技術による牛に比べて死亡率が高い傾向があるけれども、それ以降は対照牛と同様に極めて低いレベルで推移するという調査結果があります。

血液検査の結果、従来の繁殖技術による牛の変動の範囲内の変化であったということが次の記載であります。

成育につきましても、対照牛の標準発育曲線と大きく外れることはないという集計結果が述べられています。

12 ページは 4 つ目の行変えのパラグラフまでです。これはいろいろな異常について認められているのを列挙してあります。内分泌系の異常とか栄養消化吸收、感染症への抵抗性、筋骨格異常、ミネラルの欠乏症とかいったことが述べられています。

いずれも要するに異常を呈した牛について調べたら、こういう異常があったという報告をとりまとめたものです。

従来の繁殖技術で生産された乳牛で、死亡率が最も高いのは生後 1 週目であって、これら疾病の発生は生後 2 週間でピークとなったという呼吸器障害とか下痢症ですね。そういう従来技術で生産された牛についても、そういうことが認められるということが報告されています。

次のパラグラフは、呼吸不全とか腎臓の発育異常、肝臓脂肪症などの異常が生後間もなくは認められるけれども、数か月を過ぎれば、ほとんどの体細胞クローン牛は正常に発育し、成熟期に達するという報告が幾つかあります。

12 ページの最後の方のパラグラフは、死亡牛についての異常の記載があります。

12 ページの最後の行から 13 ページにかけては、血液とかホルモンなど、その他の多数の生理学的パラメーターに関して、クローン牛とそうでない従来牛とは差異がないという記載。そういう報告が幾つかありまして、それをまとめて記載しております。

次のステージは春機発動後の成熟加齢期ということになります。これもやはり我が国の体細胞クローン牛のデータを取りまとめてみますと、生後 200 日以上にわたって生存した体細胞クローン牛は従来の繁殖技術による牛と同程度に成育し、差異のない生理機能を有することがわかっております。

次のパラグラフでは、体細胞クローン牛の成育について、対照牛の値と同等か品種にお

ける標準値の範囲内であったという多数の報告があるということですね。

と畜検査と病理組織学的所見というのも報告されていまして、それによれば構造的な異常所見は認められなかったということがあります。

不受胎の体細胞クローン牛1頭につきましては、生殖器官に異常があったということが下から2つ目のパラグラフに書いてあります。

最後のパラグラフに、寿命について記載されています。これにつきましては、現在、我が国の一番高齢の体細胞クローン牛は10歳で健常な状態ですけれども、その後はわかりませんので、寿命に関して検討できるデータは、残念ながら現在は十分には得られていないとしました。

14ページの一番最初のパラグラフは、免疫機能について調査した報告によれば大きな差はない。

次のパラグラフは、体細胞クローン牛の泌乳期の初期に免疫抑制状態に陥る可能性があるという報告も一方であります。

繁殖性についてですが、これは14ページの3つ目のパラグラフから15ページの中ごろまで記載がありますけれども、春機発動を迎えるのが遅いとか、初回発情時の体重が重いというような異常を報告する例もありますけれども、大部分の報告につきましては、通常牛と差異がないとされております。

15ページの豚の方になります。体細胞クローン技術を用いて産出された豚。これは16ページに出生前後からのステージの記載が始まります。我が国で生産された体細胞クローン豚のデータから死産は90頭のうち22頭、24.4%、生後直死は8頭、8.9%、病死が25頭、27.8%発生しているということがまとめられています。

次のパラグラフは、5頭の体細胞クローン胚につきまして、5頭のうち4頭は分娩まで維持されて、それぞれ5～9頭の体細胞クローン牛、合計28頭が生まれたという記載があります。

16ページの中ごろより先のパラグラフには妊娠期間。これは従来技術とほとんど同じ。生時体重、胎盤重量も正常の範囲内であったというような報告があります。豚によっては子宮内発育遅延が増加している例も認められております。

17ページの4行目からのパラグラフにつきましては、異常が認められた場合の記載があります。死亡した体細胞クローン豚とか、そうした豚にはヘルニアとかが見られる。下痢や髄膜炎といったような異常、感染症というのも認められております。

次のステージで若齢期につきましては、成長、生理学的パラメーターについては、対照

と差異がないという報告です。それがそこにずらずら並べてあります。

春機発動後の成熟及び加齢期につきましても、繁殖機能を含めまして対照期、対照豚と大きな差異がないというような報告が並べてあります。

以上のレビューをまとめますとどういうことになるかというのが、18 ページの中ごろ以降から書いてあります。

まず最初に、体細胞クローン技術を用いて産出された牛です。周産期における死産及び生後直死が多く認められ、その主な原因として過大子の発生による難産、窒息、羊水誤嚥が認められている。過大子の発生は従来の繁殖技術による牛でも認められているが、体細胞クローン技術を用いて産出された牛において高い頻度で認められている。また、出生直後の血液検査等において、従来の繁殖技術による牛との間に差が認められたとの報告があるが、生後2か月以内に回復したとされている。

若齢期においては、従来の繁殖技術による牛と比較して、死亡率が高いことが報告されている。死因は従来の繁殖技術による牛でも知られている肺炎等であったとされている。また、感染症への抵抗性の低下の報告もある。

血液検査等では、従来の繁殖技術による牛と有意な差は認められていない。若齢期に認められる死亡率の高さは、周産期において多く認められる異常と共通の要因によるものと考えられる。この時期に認められる異常は、おおむね6か月以降まで成長した牛では従来の繁殖技術による牛と異常や死亡率の差は認められていない。

若齢期を過ぎて生存している体細胞クローン牛については、従来の繁殖技術による牛と比較して、臨床病理、血液検査等のパラメーターに関して、差異は認められていない。

成育、繁殖性、乳肉生産のデータにおきましても、従来の繁殖技術の牛と差異は認められていない。

採取可能であった体細胞クローン牛の病理組織学的検査においても、異常所見は認められていない。一部の体細胞クローン牛において免疫機能が低下したとする報告があるが、一方で対照と差がないとする報告も多数ある。一般的に体細胞クローン牛が従来の繁殖技術による牛と比較して感染症等の疾病に特に感受性が高いということを示す知見は報告されていない。

体細胞クローン動物産出の成功率は、ドナーまたはレシピエント細胞の由来、細胞の培養方法、核移植の方法等により影響を受けると考えられました。今後、これらの要因について研究を進めることにより、体細胞クローン動物産出の成功率は向上するものと考えられます。

体細胞クローン技術を用いて産出された豚についてです。周産期における死産及び生後直死が多く認められているが、その死亡原因は従来の繁殖技術による豚でも認められているものである。また、幾つかの報告において、生時体重は低いという報告があるが、離乳期には回復している。若齢期以降において、体細胞クローン技術を用いて産出された豚については、臨床・病理、血液検査、成育、繁殖性においても従来の繁殖技術による豚と差異は認められていない。

次は、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚をとりまとめたまとめです。体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の出生前後において、主に発生異常と考えられる死産及び生後直死が認められた。また、体細胞クローン技術を用いて産出された牛については、若齢期においても死亡率が高い傾向が認められているが、おおむね6か月齢を超えると従来の繁殖技術による牛と同様に健常に発育する。なお、これらの死亡原因は従来の繁殖技術でも認められているものである。

出生後及び若齢期に生理学的に不安定な牛及び豚が認められるものの、それらは成長とともに回復し健常となる。これらのことから、体細胞クローン技術を用いて産出され、食用に供される可能性のある牛及び豚については、従来の繁殖技術による牛及び豚と比べて差異のない健全性を有すると認められました。

なお、人獣共通感染症等の食品衛生法で規定された疾病にかかり又はその疑いがある場合及びと畜場法で規定されている異常を呈する場合には、食用に供することが禁止されており、体細胞クローン技術を用いて産出された動物であるか否かにかかわらず、現行のと畜検査において、必要に応じてそれらは処理されるということが言えます。

次に20ページの後代についてです。後代の定義なのですが、これは一番最初のパラグラフにありますように、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚から受精を介して産出された産子F1及びその産子から受精を介して産出された子孫のことを言います。

まず牛の後代についてです。これもやはり我が国で生産された牛のデータのとりまとめから体細胞クローン牛の後代124頭における死産は11頭、8.9%。生後直死は1頭、0.8%。従来の繁殖技術による牛の死亡率につきましても、死産4.6%、生後直死1.9%。これと比較し有意な差は認められておりません。

病死は202頭のうち14頭、6.9%であります。しかし、これは生後2日目以降は対照とほぼ同等の死亡率で推移するということが明らかにされております。

次は1頭の死産した牛の後代につきまして、免疫不全が認められたという記載があります。その後21ページの(1)の牛の後代の最後のところまで、成育あるいは生理機能につ

きまして、従来牛と比べて差異がないということの報告がずらずら書いてあります。

21 ページの一番最後の方から、豚の後代についての記載があります。これにつきまして、そこに報告ごとに記載がありますけれども、とりまとめますと、成育、生理機能につきまして、従来豚と差異はないという記載が大部分です。

これらをまとめまして、22 ページの下 4 分の 1 くらいのところからですが、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代において、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の周産期や若齢期に認められた異常は認められておらず、F1 の健全性は従来の繁殖技術による牛及び豚と差異は認められない。

体細胞クローンを用いて産出された牛及び豚の後代は、人工授精等の従来の繁殖技術を用いて、受精を介して産出される。したがって 1 代目の子孫である F1 において、従来の繁殖技術による牛及び豚と比べて同等の健全性を有することから、受精を介して産出される 2 代目以降についても従来の繁殖技術による牛及び豚との差異は想定されないとしました。

以上で終わります。

○早川座長 ありがとうございます。

それでは、引き続きまして「III. 体細胞クローン動物のエピジェネティクス等」について、塩田先生から御説明をお願いいたします。

○塩田専門参考人 24 ページから説明させていただきます。

少し補足したいんですが、言葉の問題で、4 ページにクローン動物をつくる時にこういう技術を使ってやっているというのがあって、そのときに先ほどの説明の中で事故率という言い方がございましたけれども、これは要は通常の発生あるいは出産がうまくいくものを理想的に置いたときに、それに比べてということで、それが事故であるのかどうかというところは大変問題でございます。したがって、その言葉の使い方が改めて同じきめでエピジェネティクスのレベルで使えるかということ、私はそうではないと考えています。

同様にその絵の中で、再構築胚というのがあって、再構築胚が全能性を獲得する、しないという言い方になりますけれども、大変厄介なのは、再構築胚ができていれば、全能性を獲得しているはずでありまして、逆に再構築胚が全能性を獲得していなければ、再構築胚と呼べないということに多分なるんですね。

というような言葉の部分で、ある意味ではあるレベルで、そうやってしまわなければいけないということがありますので、多少混乱が出てまいります。再構築胚の全能性獲得であるとか、事故率であるとか、あるいは再構築胚ができるできないということは一体どういうことなのか。そのことが少なくともどうやっとう動物が生まれてくるのだ。その場合に

生殖細胞だけではなくて、体細胞の核を使って生まれてくるのだという、そこが非常にこれまでわからなかったけれども、エピジェネティクスの研究によってわかったきたとなっていていくんだと思います。

先ほどの事故率のところ、もしそれを一番わかりやすく解釈し直すとすれば、発生がうまくいく受精卵を 100 としたときに、そのうち 90 が死んでしまうとすると、これは多分事故なんですね。ところが、体細胞の核をそのまま発生させようとしたときに、それはほとんど発生しないわけですから、その核を移植して発生して、それが幾らかでも発生したとすれば、もともと発生しないものが発生しましたから、それが事故率で言えるかというと、体細胞側から見てみると、むしろ事故ではない正常のことが起きている。むしろ発生しなくしていることが大事だということになってきます。

ですから、どっち側から見るかによって、事故であるのかないのかということが起きているのであって、人間の都合から考えて、これが事故であった、こちらは事故ではないということには多分ならないと思います。

改めて 24 ページの最初の部分ですが、体細胞クローン動物のエピジェネティクスについての説明の最初の記載で、通常の交配により得られる受精後の接合子は、全能性を有する胚となる。逆に正常の接合子同士であっても、その後のことで全能性が失われたり、全能性が獲得できないということが起きますから、この場合は最終的にはうまくいったものを見ているわけですが、うまくいかなくて生まれてこないということも出てきます。

最終的に体ができて生まれてくるとすると、すべての条件が整っているから生まれてきているわけで、その途中でうまくいかなかった場合は、当然発生の異常で生まれてこない。あるいは何らかの異常が当然あるだろうということになって、この後申し上げます発生の時期に従ってやられた研究のたくさんの論文がその発生の前の段階、あるいは着床の前を含めて見ているというのは、そういう時期だとつまり発生がいけない胚を検出しやすくなるので、原因追究の材料としてはよかったということになります。

発生が進んでいくと、逆に異常を見つけることがだんだん困難になってきます。なぜならば異常がなかったら発生が進んだわけですね。進んだ胚を解析していますから見つからないわけです。ということになっていくというのが大前提にございます。

くどくなりますが、全能性の獲得が行われない場合には、その後の細胞の分化でありますとか、組織や器官の形成が適切に行われないということが考えられますから、そうすると先ほどの言葉で言うと事故率ということになります。逆にその部分が解析してわかってくると、それによって事故を回避しようという技術が次には考えられるということになっ

ていくんだと思います。

エピジェネティクスの定義でございますけれども、DNA の塩基配列が同じままで、つまり DNA の塩基配列の変化を伴わずに細胞分裂後も継承される遺伝子機能を研究する学問ということになります。つまり受精卵から最終的に体ができ上がってくる数十兆におよぶ細胞の DNA の塩基配列はほとんど一緒なわけです。ほとんどと言った意味は、一部の細胞では DNA の一部がなくなっていくということがありまして、しかし、普通の体細胞の場合ですと、全部一緒です。塩基配列が一緒のまま細胞ができてくるということで、体ができてきます。

そういう制御としては、DNA のメチル化がありまして、もう一つはヒストンの修飾があります。DNA のメチル化がゲノムの DNA の正常の細胞に見られる唯一の科学修飾です。ヒストン修飾はこれまでに 60 種類以上の修飾が知られております。

そのためにエピジェネティクスの異常あるいはエピジェネティクス制御は何が行われているかという、歴史的な経過を見ますと、DNA のメチル化の解析が先に行われています。その後、ヒストン修飾の解析が行われるという時代が続いています。

この後、申し上げます論文のほとんどが DNA の検出をしているというのはそういう理由です。

もう一つは、DNA のメチル化パターンという言葉が 25 ページの上に出てきます。あるいは DNA のメチル化のパターンの組み合わせ、ゲノム全体を見たときの DNA のメチル化プロフィールという言い方をしますけれども、どういう意味かと言うと、細胞の種類によって DNA の遺伝子の場所によってメチル化されたりされなかったりするということがあるという、そのパターンです。

そのパターンの組み合わせをプロフィールと言って、そのプロフィールがうまくできないということで、いろいろな細胞ができてきます。そのプロフィールが組み合わせが悪くなると細胞がうまく生き残れないということになりますし、機能が獲得できないということになります。

そうすると哺乳類の体ができていくときに、遺伝子ごとにメチル化と脱メチル化の両方が適切に行われていくということで、細胞ができ上がるということになります。ということは別の言い方をすると、哺乳類の胚の発生及び分化の過程では、ゲノム全体のエピジェネティックな変化が起きていくということになります。

受精後におきるエピジェネティクスな変化は、着床前のリプログラミングと呼ばれることがあります。論文の中で多くの言い方で記載されているものがあります。

もう一つは、受精以外にいろいろな細胞ができてくるときに、それぞれの細胞に伴った、ある意味リプログラミングということが起きます。特にこの場合は次の個体をつくることが問題ですから、特にこの後、F0 以外に F1 のことに及びますと、配偶子の形成とほかの体細胞の形成はどう違うんだということになってまいりますので、そのときには特に配偶子ができるエピジェネティックな変化のことを配偶子形性のリプログラミングと呼んでいます。

そのリプログラミングと言うときに、実は論文によって遺伝子の非常に狭い領域、特定の領域だけを指している場合や、あるいは方法によって各遺伝子を意味せずに DNA 全体を大まかにぼやっと見ているものを含めて、論文によっては全部リプログラミングという言い方にしています。グローバルなエピジェネティックな変化もまとめて言いますと、DNA 全体をグローバルなエピジェネティックな変化という言い方でくくってございます。

多くの研究は着床前の胚について、あるいは着床後の胚についてやられている研究が最初にあるわけですが、それはなぜかということ、最初の発生率が低いからということです。もう一つの興味は、もともと体細胞であった核のエピジェネティックな状況が卵に移植した後に何が起きるんだということを知りたいというためです。そういうことがありまして、クローン動物のエピジェネティックの解析が行われています。

25 ページの下の方ですが、初期に行われていますのは、脱メチル化が起きる起きない。もともとメチル化されていた場所がメチル化されなくなっていくということをクローンの胚の場合と生殖細胞を使った発生の場合を比較しています。そうすると、そこでコントロールの対象側と比べて、クローン胚では違いが認められましたということになっています。

こういうときにやるときは、初期胚を使っている研究の場合は、胚の DNA そのものが少ないわけです。つまり集められる卵の数で研究しているわけですね。そのための方法としては、例えば抗体を使って DNA を染色するとか、そういうやり方でありまして、ゲノム全体を何となく見ているというやり方です。そうしたときに違いがあるとかないとか。

したがって遺伝子の各領域でメチル化されたりされなかったりする、先ほどのメチル化パターンとかメチル化プロファイルというのと少し違う意味合いになります。しかし、この場合も DNA のメチル化を見ているということになってきます。そのレベルでの違いがありましたと。逆に言うと、このときは遺伝子の各領域がどうなっているかはよくわからないけれどもということになります。

同じようなやり方で、豚で調べてみて、そのときにセントロメアであるとかサテライト DNA という言い方が出てきますが、これはまた遺伝子の場所の問題で、ゲノム全体のグロ

ーバルの中の一部を見ているということになってきます。一部とはいえ、セントロメア、サテライト DNA と言ったときに、DNA 中の占める割合が多いので、これを見ているとゲノム全体がわかるのではないかという考えの下にやっていると思います。

少なくともその一部にそういう解析をまとめて見てみると一部の異常がある、あるいは体細胞クローンではそうではない胚と比べたときに、一部の違いがあるということがわかってきています。

それはある意味では当然で、体細胞の核自体がもともと違ったエピジェネティック状態にありますし、精子と卵子も違った状態にあります。そうすると、それが最初から一緒だというのはおかしいことになりまして、むしろ違うんだから、それは当然だということになっていきます。

ということが着床前の胚でわかりまして、その後に胎盤及び胎子の解析がなされている時代は、この場合はなぜ胎盤だというと、胎盤の組織はとりやすいからです。胎子がまだその組織が小さくてうまくとれないとしても、胎盤側についてはとりやすいと。もう一つは、着床しない、胚がうまく発生しないとすると、胎盤の機能、形、解析を疑っていいということになりまして、それで胎盤の解析が行いやすいということになっていきます。

そうしたときに起きている形態的な変化の一つは、細胞の組成がどうも違ってきている。その細胞の組成は DNA のエピジェネティック状況によって決まってくるから、そのことは形態的な違いとエピジェネティックな違いに矛盾はなく、むしろそうになっているのはエピジェネティックの異常によっているんだということは、ほとんど疑問の余地のないところです。

そういうふうにして調べたときに、遺伝子の領域によってエピジェネティクス状況が違うのではないかと。なぜならば細胞が違うからということ調べていきますと、やはり違いがありましたという論文がマウスを使った実験でわかってきています。それが 26 ページです。

そんなような結果を基にしながら、このマウスの解析の場合は、マウス自体が小さいですから、なかなか解析しづらいわけですが、次のクローンの牛を使って解析をやられているのが 27 ページに出てまいります。

そこで調べてみると 2 つやり方がありまして、1 つはこれまでにエピジェネティックで制御されているとわかっている X 染色体の不活性化に関わる遺伝子でイグジストというのがありますが、そういう遺伝子であるとか、雄由来、雌由来のゲノムによってエピジェネティック状況が違うということがわかっているインプリンティングという遺伝子の一群が

ありますが、そういう遺伝子について調べて見たところ、異常がありましたと。異常の場合、これも何度も言いますが、正常の生殖細胞を使った胚と比べての異常でありまして、実際にはそれが異常かどうかというのは別問題ですが、こういうものが見つかります。

もう一つは、遺伝子領域にフォーカスをして、今、言ったイグジストやインプリングディングの遺伝子ではない場所を調べてみると、やはり体細胞と元の部分を引きずった形のDNAのメチル化の異常が見つかるということが報告されています。

要はここまでの段階で、出生に至るまでのところ、着床に至るまでのところで、いずれもそのエピジェネティックの異常は見つかります。それは発生が普通と違って、いきにくい原因がそういうことであるということがわかってきたということになります。

その後、出生後ですが、異常が見つかる数はだんだん減っていくんですが、とはいえ異常は見つかります。その異常は遺伝子の領域について解析されとか、あるいはイグジストであるとかいう形で見つかるこれまでのやり方が、組織が大きくなるだけやりやすくなるということでやられています。

しかし、生まれてきた後正常で、見た限りは生まれてくるまでのところがほとんど正常で、その場合に異常を見つけるのが大変難しくなります。数千か所を調べながら数か所で異常があったということがわかってきて、更に飼育して発生が長くなっていくと、その異常すら見つけられなくなっていくということが起きています。

異常が見つけれないというよりは、生き残ってきた動物については異常がないから生き残っていると。あるいは異常のあった細胞は死んでいっているということになるんだと思います。

着床前の胚から生まれてくるまで、あるいは生まれた後にずっとエピジェネティックの異常がどこまであったり、あるいはそれが果たして発生異常の原因であるかどうかという研究がずっとなされてきたわけです。

そのことは28ページ以降に書かれています、遺伝子の発現解析と関係しています。研究者のグループでエピジェネティクスの異常を見ているグループは、遺伝子発現の異常の解析をすることは可能ですが、遺伝子発現の解析をやっているグループが必ずしもエピジェネティクスの技術が、技術的な問題でできるというものではございません。

そのために研究の流れとしては、遺伝子の発現解析が先に行われる、あるいは広く行われるということが起きています。そのときに起きていることは、幾つかの遺伝子で特にこれまでにエピジェネティクスで制御されているとわかっている遺伝子で異常があります。

そのうちの1つはインプリントの異常でありますし、初期胚の全能性に係るオクトという遺伝子であるとか、幾つかの代表的な遺伝子についての解析、ゲノム全体を見て、DNAチップを使って解析する方法等を使って異常があるということが見つかっています。

ということは、先ほどのエピジェネティックの異常ということがあって、そういうことが起きているんだと。全体を合わせるとそういう解釈が可能です。逆にエピジェネティクスの異常がなくて、遺伝子発現だけが異常ですということが科学的に考えられるかという、多分そうではないと思います。

ですから、遺伝子発現の異常のところについては、エピジェネティクスの異常が基であろうということになります。そして、そういう遺伝子発現の基の異常があるから発生が止まるとか、そういうことが起きていて、そのことは体細胞の持つ正常性であり、あるいは胚の持つ正常性である、そのせめぎ合いのところで発生が途中までで止まる、あるいは最後まで行くことが行われているということになります。

遺伝子発現のところにつきましては、着床前であり、胚盤胞であり、胎子・胎盤の解析でありということが起きています。出世後も一緒です。だいたいそこで解析されている遺伝子で、これまでにわかっているような遺伝子を解析しているのが30ページまでつながります。

遺伝子発現とおそらくその基になっているエピジェネティックの部分での異常が正常胚と比べたときの違いが見つけれられる。その部分が異常かということ、体細胞側で起きていることを考えると、そちら側からのサイドでは異常とは言えなくて、ある意味異常というふうにして細胞がいろいろできていて、体ができてきているということになるんだと思います。

そういう中で今まで申し上げているのは、胚が発生していくときにエピジェネティック状況が正常になされていくかいかないか。あるいは体細胞と初期胚型に変わっていくかどうかということを見ているわけですが、31ページの後代の部分です。

果たしてそれがどこまで続くんだというところで、そこを言及している部分が幾つかあるわけですが、後代の場合であってもクローンでなくても、生殖細胞が当然できなければ後代ができないわけです。生殖細胞ができるためには、個体ができ、その個体の中に生殖細胞があるということになります。

もしエピジェネティックの異常があると個体がまずできないとか、生殖細胞自体ができないということになります。そうすると後代の場合は最初のF0の代に比べると、圧倒的にエピジェネティックの異常を検出ということができなくなっている。けた違いに少なくな

っていく。つまりほとんどが正常。それをどこまで正常と言うかは難しいんですが、検出できないくらいにならないと生殖細胞もできてこないということになります。

したがって、異常があるという報告はありますが、それが果たしてエピジェネティックの異常を含めて、そのクローンにとって異常なのかどうかというのは、大変議論があるところだということになってきます。そのレベルの異常というのはクローンに特有となかなか言いがたいということになってきます。

その後、DNAの変異とか染色体異常についての報告がされています。これまで申し上げましたのは、エピジェネティックの異常がすべて遺伝子発現に関係するような言い方をしましたけれども、必ずしも実は遺伝子発現だけではないわけです。エピジェネティックの制御というのは、遺伝子がどう機能を制御するか。それは発現に限りません。そういうことを含めてありまして、そうすると果たしてそのクローン動物では変異が起きやすくなっていないか、あるいは染色体レベルでのもっと大きな変異が検出されないかということの研究されている部分があります。そうすると一部については核型の異常があった。同様にある遺伝子領域について、ある細胞について見たときに、やはり異常が認められるということが一部報告がございますけれども、一部の報告ではないということになっています。

これはクローンであるなしにかかわらず、核型の異常があるような異常は非常に大きな異常ですから、その場合は個体の形態的に異常として検出することが普通は可能です。クローンの動物だけで核型異常が見失われて、普通の胚とは違って異常ではないように見えて、核型の異常まで出てくることがあるかということ、それは多分ないだろうと思います。したがって、その染色体異常については、特にクローンで異常であるとは思えないと思います。

同様にミトコンドリアのDNAの解析が行われています。というのは、核を移植するときに細胞質も一緒に細胞の融合法によって核が移植されていますので、そうするとミトコンドリアが体細胞の細胞質のミトコンドリアに入り込むということが考えられて、そうすると、もともと卵にあるミトコンドリアと細胞質にあるミトコンドリアが一緒にあるという状況で、ヘテロプロスミーという状況があって、それが影響するかしらないかということが研究されています。同様にそういう方法を使っているけれども、結局は卵型の方に置き換わっていったような記載もあります。もしそこがヘテロの場合であったとしても、果たしてそれがどこまで表現形として、動物の体の研究に影響しているのかということ、これはよくわからない。もともと違う遺伝子を持っているという核内小器官ですから、その部分が果たしてどこまで表現形として問題なんだろうということについては、これは全く

別のバイオロジーとして、また研究しなければいけないというレベルがあるんですが、改めて言うと、その部分が個体発生に有害であるのかということは、未だほとんどわからないという状況であります。 ついでに言うと、仮にヘテロであっても、ミトコンドリアの持っている遺伝子は数が少ないんです。ミトコンドリア自身がつくられているタンパク質は 500 種類くらいあって、ミトコンドリアの持っている遺伝子が 30 種類くらいですから、残りの 500 近くの遺伝子は実は核にコードされている遺伝子です。 その核にコードされているのが結局移植されたときに、そのタンパク質が来るわけですから、そうするとタンパク質側の構成成分としてはほとんど核側に支配されているということになりますから、最終的には軽度なヘテロプラスミーといった部分も置き換わっていつている過程ではないかと推測はされます。つまり持ち込んだミトコンドリアは最終的には消えゆく運命にあるだろうと考えられます。

最後にテロメアの長さですが、テロメアの長さで当初一番最初にやられたときに、ドリーの解析のときにテロメアの長さがどうも違うと、短いという報告がされました。しかし、いろいろな研究をやっていくうちに、どうもテロメアはいろんな長さがあると。個体によって随分違い、細胞によって随分違い、改めてそういう目でドリーで解析されたデータを眺めてみると、必ずしもドリーの方が異常であるとは言えないと、そこまでわかっておりまして、そういう背景の中でテロメアに異常があった、なかったという論文が幾つかあるんだということにはなっています。テロメアに関して、その異常によって胚が途中で異常になっているだろうということの証拠はなかなか得がたいということになっていきます。

33 ページ以降、全体のまとめでございます。改めてエピジェネティクスの基本ですが、DNA が一緒に同一の遺伝子構成を持つ細胞はエピジェネティクスの変化に基づき、必要とされる遺伝子の適切な発現調節を行い、種々の機能や性質を有する体細胞へと分化することができる。これはクローンであるなしにかかわらず、起きていることです。

体細胞クローン動物の産出に至る種々の過程に関するエピジェネティクス研究によって、通常の受精を介した動物の産出との間にエピジェネティクスな変化や遺伝子プロファイルの違いが多くあるということがわかってきました。だから途中で発生が止まっているんだと。つまり最初の説明ですと、その発生率が低いんだという言い方になります。ですから、原因不明ではなくて、原因がわかっているんだと申し上げていいと思います。

分化の進んだ体細胞はほかの細胞に分化しないように制御されていますから、そのことがむしろ正常です。その正常は発生を進めようとする別の正常の邪魔をします。つまり体細胞を利用する体細胞クローン動物の産出においては、先ほど申し上げました定義が問題

ですが、再構築された胚においてリプログラミングがうまく進むことがその後の体細胞クローン胚の発生に、胎子の正常な発育に重要であるということになります。

多くの場合は体細胞クローン動物においては、エピジェネティクス制御が完全に受精卵とすぐに同じようになるかという点、恐らくそうではないんです。そのために発生がうまくいかず、正常な出生に至らないということが多くなります。その意味では正常です。

そして、体細胞クローン動物産出の成功率が低いことの原因の一つは、したがってそのレベルでのドナー細胞の格納、エピジェネティクス書換え、リプログラミングが受精卵における精子由来の核のリプログラミングのようにうまく進まないということが考えられるということになります。

健康に発育した体細胞クローンの動物では、エピジェネティクスな変化が少ないという結果は残っていたとしても、その異常が遺伝子発現に影響を与えないので残っていて、もしそれが遺伝子発現に大きく影響を与えるような場合だと、細胞の不具合が起きて、組織の不具合が起きて、個体が生存に苦しくなるということが起きていきますから、逆に言うと遺伝子発現に影響を与えない領域であるとか、あるいは発現している遺伝子が生存や形質に影響を与えない領域であって、つまりそれは正常の範囲だということになっていきます。というふうにエピジェネティクスな変化の制御が正常に適正に行われなかったことが、体細胞クローン動物における発生と分化が適正に行われなかったことの主な原因と考えられます。

したがって、エピジェネティックな変化の制御の異常は、体細胞クローン動物に実は限ったことではなくて、恐らく普通に起きていることだと思います。ただし、クローンの場合は体細胞の核を移植していますから、それが通常の生殖細胞とは違った状況にはありますから、生殖細胞を使った場合よりも低くはなるだろうということは今までの結果からよくわかるわけです。

体細胞クローン動物では、同様にヘテロプラスミー、ミトコンドリア DNA の解析から、ミトコンドリアがヘテロであるということも報告されていますけれども、それが有害であるという証拠はありません。

テロメアに長さについても、クローンだから短いということにはなかなかない。本来にずっと短い場合は、多分発生の初期には淘汰されているということになっていきます。

体細胞クローン動物の後代では、クローン動物に残存し得るすべてのエピジェネティクスな変化の違いは、受精を介した従来の繁殖の場合と同様に、細胞の核が生殖細胞を得るときに、つまり次の世代を生むためには生殖細胞をつくらなければなりませんので、生殖

細胞を得るときにリプログラミングされていく必要があります。そうでないと生殖細胞はできません。

そのために後代ではエピジェネティックな制御は極めて少なく、けた違いに少なくなると思います。そうすると受精を介した従来の繁殖技術に比べて、そう異常があるということではなくて、恐らく同等あるいはほとんど変わらないという言い方で適切かと考えております。

少し長くなりましたが、以上でございます。

○早川座長　ありがとうございました。

それでは、ただいま各先生方から小グループにおける検討結果について御報告をいただきましたけれども、まずは「Ⅰ．家畜における繁殖技術の概要」について、何か御意見、御質問がございましたら、お願いいたします。いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

先ほど用語の問題について多少御意見がございました。それは後で整合性をとるようにするということで、よろしいでしょうか。

それでは、続きまして「Ⅱ．体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について」の報告ですが、御意見、御質問お願いいたします。

どうぞ。

○小島専門参考人　19ページの3つ目のパラグラフの「体細胞クローン動物産出の成功率は」というところですが、私のところと今の塩田先生がまとめられたところでは、どちらかというところ再構築胚のリプログラミングが成功率に大きく影響しているということを中心に書いていますので、その辺りとの矛盾が感じられるところがあります。

勿論、細胞の由来、培養方法、核移植の方法も影響を与えますが、全体的な流れとして、ここにリプログラミングという言葉がないというのが1番目と3番目のまとめと矛盾するような感じがいたしました。

○早川座長　矛盾というのか、表現の仕方ですね。

○小島専門参考人　表現の仕方です。

○早川座長　熊谷先生、何かコメントございますか。

○熊谷専門委員　ここの部分のまとめの話なんですけれども、整合性ということでそういう記載があっても構わないと思います。あってもいいと思います。

○早川座長　先生は因子を挙げておられるわけですね。

○熊谷専門委員　はい。

○早川座長　こういう条件というか因子が、先ほどの再構築胚の成功をより高ためるため

に必要だみたいなことも含めてですね。

○熊谷専門委員 全体のまとめというものは一体どこに、いつくるのか知りませんが、そういうところは少なくとも必要だと思います。でも、ここに記載があってもいいと思います。

○早川座長 塩田先生、要するに言いぶりの部分もあるんだろうと思うんですが、何かございますか。

○塩田専門参考人 私は矛盾だとは思わないんです。つまり、各章によってレベルはいろいろあってよくて、特に 19 ページでは成功率は培養方法、技術的なことでこうなるはずだ。その理論的裏づけはエピジェネティクスに対してどういうことが影響を与えるのか。仮に培養方法自体が影響を与えるということは言っておりますから、ここのレベルで先にそこにリプログラミングと言ったならば、一番最初のところと同じように再構築胚といったときに、本当は発生が止まっているんだから胚と言えなくなっているけれども、見た目に胚だから胚といっている式の矛盾が生じるわけです。

ですから、Ⅰ章ではそういうふうにして使っていて、Ⅱ章ではそういうふうに言っていて、そのことがⅢ章でわかってきているんだという意味合いの方がまともだと思います。そうしないと今度はエピジェネティクスを説明しなければいけなくなって、それを説明すると、動物を離れてわけがわからないということが起きますので、私はここの部分については、この記載で適切なのではないかと思います。

○早川座長 わかりました。

小島先生、いかがでございましょうか。それぞれの章ごとの言いぶりが言いぶりとしてあるんだけれども、より分子レベルにⅠ章、Ⅱ章、Ⅲ章という感じで収れんしていくということから考えれば、それぞれの章における言い方はそれなりの言い方だと思います。

○小島専門参考人 第Ⅰ章はシンプル過ぎるところがあるのですが、作出の方法を書いているんですから、当然、細胞の由来の違い、培養方法、核移植の方法というものを逆に書き加えた方がいいという気はします。

ですから、今、塩田先生がおっしゃったように、全体として考えるのであれば、現状のままをいじらないということであれば、再構築胚というのはなくてもいいと思います。ただ、逆に第Ⅰ章にそういうものをつけ加えた方がいいという気もします。

○早川座長 それでは、今いただいたような御意見の方向で、また先生には御負担をおかけすることにはなるんですが、ちょっと加えていただければと思いますが、いかがでしょうか。そういう方向でのまとめ方でよろしいですか。それでは、そういう方向で少し工夫

をしていただければと思います。

ほかにかがでございましょうか。よろしいでしょうか。

それでは「Ⅲ．体細胞クローン動物のエピジェネティクス等」について、御意見、御質問等がございましたらお願いいたします。いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

小島先生、どうぞ。

○小島専門参考人 今更というところで、もうちょっと前から気がつけばよかったんですけども、言葉の問題です。私の解釈と違うところで 32 ページに「ホモプラスミー」とあるんですけども、そこで「（ドナー核とレシピエント細胞の mtDNA が同じ）」と書いておられます。

「（2）ミトコンドリア DNA」の 4 行目から 5 行目にかけて「通常の受精卵のミトコンドリアは卵子由来の単一のタイプとなる」というところのホモプラスミーはよろしいんですけども、核移植に関与する因子のところのホモプラスミー「（ドナー核とレシピエント細胞の mtDNA が同じ）」というところは、私の解釈ではほとんどの場合がレシピエント細胞のミトコンドリア DNA ですべて置き換わって、ドナー核由来のミトコンドリア DNA がなくなってしまっていて、あたかも卵子由来のレシピエント細胞由来のミトコンドリア DNA だけになることをホモプラスミーと解釈していたのですが、その辺りはその解釈が間違っていたのか。ここではドナー核とレシピエント細胞のミトコンドリア DNA が同じということを目指してのホモプラスミーなのかというのが不明な点です。

○早川座長 塩田先生、いかがでしょうか。

○塩田専門参考人 先生がおっしゃることで現実的にはいいのではないのでしょうか。研究できる、できないも含めて違うものが仮にあったとして、少なくとも細胞融合で核を移植している場合は残って、最初は両方があって、それがだんだんなくなって、最終的にはそれがゼロになって一方が残るからホモになる。その検査の仕方はミトコンドリアの DNA を調べているわけです。そうすると、調べる限りは出てこないだろう。

私が先ほど申し上げたことは、それも含めてだけれども、実は核のタンパクがいついて、ミトコンドリア自体を、それがどちら由来だと言い始めると実はよくわからないところが出てくる。

もう一つは技術的な問題で検出されないものもあるわけですが、実際はどうかというと、やはり先生が言われた形の部分でもうそれはホモだ。だけれども、理想的なホモは通常、受精のときに精子側のミトコンドリアはほとんど関係しない。卵側のものが残っている。母系家族で少なくともミトコンドリアにとって、生命の起源がわかるという式の、

そのホモというのはあるんだと思います。しかし、それとは多少レベルは違うけれども、現実的には先生が言われているところの定義でいいのではないかと思います。

○早川座長 そうしますと、この言葉として、精子はほとんどミトコンドリアを持たないため、だから、こうなんだというつながり方ですね。ここはいかがですか。

○塩田専門参考人 精子はミトコンドリアをたくさん持っておりまして、ただ、受精にあまり関わらない。果たして本当に普通の受精のときに、精子は全くないのか。ここはまた別の議論がございまして、核だけをとって移植してやる顕微授精とかそういうものと違って、普通の受精のときに果たしてミトコンドリアがどうなっているのかというところは、普通の場合も必ずしもゼロとは言えない部分があるんだと思います。ですから、そちらの方がまだミステリーです。だけれども、最終的に発生が進んでいったときに、普通は精子由来のミトコンドリアは残らないことになっています。

○早川座長 ということで、この表現は「精子はほとんどミトコンドリアを持たないため」を取ってしまえばいいですかね。小島先生、例えばこの文章を取って「通常の受精卵のミトコンドリアは卵子由来の単一のタイプとなる」という言葉だけを残せばそれでいい。そういうことでもあるような感じがしたんですが、いかがですか。

○塩田専門参考人 「精子はほとんどミトコンドリアを持たない」というよりも「持ち込まないため」ですね。

○早川座長 それでは、そういうふうにしてください。

○塩田専門参考人 ミトコンドリアは確かにすごくたくさん持っています。

○早川座長 ほかにいかがでございましょうか。

塩田先生、先ほどお手を挙げられたような気がしたんですが、いかがですか。

○塩田専門参考人 私が一番最後にまとめのところで改めて言わなかったのも、先ほどの問題が起きたと思って、もう一回そこを改めて説明させていただこうと思っています。

30 ページの下ですが、熊谷先生がまとめられたところと関係しますけれども「(3) エピジェネティックな変化に影響を及ぼす因子」というところを、私は先ほど飛ばしたんです。つまり、培養条件は技術的なことで変わり得るんです。だから、技術を改善することで発生がうまくいくようになるだろう。

そういう方法を探していますという流れは、仮にこのことを意識しようがしまいがずっとあって、それでクローン動物が生まれるあるいは人工授精が可能になることが現実的にはあるんです。そのときに何が起きているかというところ、そういう部分はエピジェネティックな変化を起こしている可能性がある。そちらをインデックスにしながら、胚の培養法で

あり、核の移植法であり、あるいは *in vitro* の受精であり、受精卵の育て方でありということが改善されていくことはみんなが目指している方向の 1 つだと思います。

○早川座長 よろしいですか。ここに先ほどの話の続きが書いてあって、そういうことです。

ほかにいかがでしょうか。

小グループの報告書について、よろしいですか。

それでは、よろしければ、これまでの議論を踏まえますと、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の死亡率等が高いことの主な原因としては、エピジェネティックな変化の制御が適正に行われないことによるもので、成長した体細胞クローン家畜は従来の繁殖技術による家畜と差異のない健全性を有することになるのではないかと思います。

今後の評価でありますけれども、こうした結果を踏まえまして、体細胞クローン家畜に由来する食品の安全性への差異の有無について、これから検討してまいりたいと思います。

参考資料の主な論点メモを御覧ください。1 枚紙のものでございます。

タイトルは「体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品の食品健康影響評価に関する主な論点メモ」というものでございます。これは前回の第 3 回のワーキンググループで御議論をいただいたものであります。

1、2、3 とございますが「3. 体細胞クローン家畜に由来する食品の評価」でありますけれども「2. における評価をもとに、体細胞クローン家畜（牛及び豚）及びその後代に由来する食品と従来の繁殖技術による家畜（牛及び豚）に由来する食品の安全性上の差異の有無について評価する」となっております。「また、評価のため、体細胞クローン家畜（牛及び豚）に由来する食品と従来の繁殖技術による家畜（牛及び豚）に由来する食品との栄養成分等の比較データ等も参考にする」となっているところでございます。

というわけで、事務局から体細胞クローン家畜に由来する食品に関する知見について御説明をいただければと思います。よろしく申し上げます。

○鶴身課長補佐 そうしますと、資料 2 に基づきまして、厚生労働省から提出のありました資料等を基に事務局の方で概要をとりまとめております食品の知見について御説明をさせていただきますと思います。

全体といたしましては、1 ページ目にございますように「1. 肉及び乳の成分比較」。

「2. アレルギー誘発性」として「（1）マウスの腹腔内投与試験」と「（2）タンパク質の消化性」。

「3. 遺伝毒性試験」。

「4. 亜急性・慢性毒性試験」についてまとめております。

2 ページ目からになります。

「1. 肉及び乳の成分比較」ですが、一般的に牛の乳、肉の成分というものは、飼料や環境によって大きな影響を受け、食品成分の大きな変動をもたらすということが一般的に言われている。

「(1) 牛肉」です。黒毛和種の体細胞クローン牛の9つの部位について、一般成分、アミノ酸、脂肪酸の分析をし、従来の繁殖技術による牛の肉と検討しておりますが、実質的な差は認められなかったとされております。

36 行目で、同じく黒毛和種の体細胞クローン牛の肉について、重量や脂肪の割合、水分、タンパク質、脂肪酸、アミノ酸、病理学的検査が行われております。この結果、水分、タンパク質、脂肪、脂肪酸等の12の項目で有意差が認められておりますが、脂質や脂肪酸の違いはドナー牛（高い脂肪交雑）に由来すると考えられ、ほかの変数は一般に認められる値の範囲内であったとされております。また、組織病理学的検査でも異常は認められなかったということです。

43 行目にまいりまして、11頭の体細胞クローン牛の肉について同様の記載の分析が行われておりまして、差は認められなかったとされております。

48 行目から、9頭の黒毛和種の体細胞クローン牛の分析が行われておりますが、8か月、12か月のクローン牛でミオシンⅠとミオシンⅡaが高く、いずれの月齢においてもミオシンⅡbが低かったとされております。

また、体細胞クローン牛で酸化的代謝が高く、解糖系代謝が類似していたとされております。

同じ試験ですが、8か月齢の黒毛和種で脂肪酸分析の結果、不飽和の脂肪酸の割合に差が認められた。また、24か月齢でステアリン酸、トランスバクセン酸、シスバクセン酸が低く、18、24か月齢でデルター9不飽和化酵素活性が高かったとされております。

58 行目にまいりまして、3頭の黒毛和種の体細胞クローン牛の後代になります。一般成分、アミノ酸、脂肪酸等の分析において、従来の繁殖技術による牛の差異は認められなかったとされております。

「(2) 豚肉」になります。4頭のハムライン種の体細胞クローン豚の肉について調査がされております。質的形質は従来のものと同等であった。それから、5頭の体細胞クローン牛の肉について脂肪酸、アミノ酸、コレステロール等の分析がされておりますが、従来の繁殖技術による豚の肉との差異は非常に小さく、USDAの標準値と同程度であったとさ

れております。

71 行目にまいりまして、豚の後代の肉になります。242 頭についてアミノ酸、脂肪酸、ビタミン、ミネラル等の 58 の項目が分析されておりますけれども、差が認められたのはエイコサジエン酸のみであった。その他の項目はすべて USDA の標準値と同程度であったとされております。

75 行目にまいりまして、44 頭の金華豚の後代の肉について pH、含水量、脂質等の分析が行われておりまして、対象と比較して同様であった。

78 行目で 15 頭の金華豚の後代の肉、臓器について水分、タンパク質等の分析が行われております。一部の項目で差が認められたが、異常な値ではなかったとされております。

83 行目にまいりまして「(3) 牛乳」になります。15 頭の体細胞クローン牛の乳について、脂質、乳糖、pH、窒素、固形分等々の試験がなされております。その結果、カリウム、亜鉛、ストロンチウム、リンにおいて差異が認められたが、著者らは飼料成分の違いによるものとしている。その他の項目については、差は認められていないとしております。

90 行目で 2 頭のホルスタインの体細胞クローン牛の乳について記載の検査が行われております。その結果、血清アルブミンと 2 種類の脂肪酸に有意な差が認められておりますが、一般に認められる範囲の中であって、生物学的有意差は認められないとされております。

96 行目、9 頭の体細胞クローン牛の乳について、アミノ酸、ミネラルの分析の結果、差が認められないとされております。

99 行目から 10 頭の牛の体細胞クローン牛の乳について分析がされておりますが、こちらにも有意な差は認められておりません。

102 行目にまいりまして、6 頭のホルスタイン種と 4 頭のジャージー種の乳について分析がされておりますが、環境や餌に由来すると見られる差はあるものの、正常な範囲内であるとされております。

106 行目にまいりまして、5 頭のホルスタイン牛について分析が行われております。ステアリン酸、共役リノール酸が高値であり、トランスバクセン酸が低値であったとされております。

110 行目は 6 頭のホルスタイン種、3 頭のジャージー種の乳について差は認められなかったとされております。

113 行目、3 頭のホルスタイン種の乳について分析がされておりますけれども、実質的な差は認められなかった。

そのほか、体細胞クローン牛の乳について脂質、タンパク、カゼイン、ラクトース等の分析の報告が幾つかございますが、従来の繁殖技術による牛の乳の値の範囲内であるという報告がされております。

122 行目にまいりまして、後代の乳になります。3 頭のホルスタインのクローン牛の後代の乳について分析がされておりますけれども、差異は認められておりません。

127 行目「2. アレルギー誘発性」として「(1) マウスの腹腔内投与試験」。

「①牛肉及び豚肉」について行われております。凍結乾燥し、粉末にした体細胞クローン牛の肉を用いて、マウス腹腔内注射による感作試験として、1 回目の処置から 14 日後に投与がされており、注射部位における色素漏出斑の直径を測定されております。その結果、従来の繁殖技術による牛肉と差は認められなかったとされております。

135 行目、後代の肉も同様な試験が行われておりまして、差は認められなかったとされております。

5 ページにいきまして、140 行目からは豚の後代の肉です。同様の試験の結果、有意な差は認められなかった。

146 行目「②牛乳」といたしまして、同様に凍結乾燥し、粉末にした体細胞クローン牛の乳について同じ検査が行われておりますが、有意な差は認められておりません。

153 行目、同様に体細胞クローン牛の後代の乳です。こちらについても同様な試験が行われ、有意な差は認められておりません。

159 行目から「(2) タンパク質の消化性」ということで「①牛肉」についてです。体細胞クローン牛の肉を用いて *in vitro* での人工胃液、人工腸液による消化試験が行われております。この牛の肉は凍結したものを混合にして均一にしたものを用いたということですが、従来の牛の肉の消化性と比較して、人工胃液を用いた場合には 45 分でやや低く、人工腸液では 90 分でやや高かった。その他の時間において差は認められなかったとされております。

167 行目からは、凍結乾燥し、粉末にした体細胞クローン牛の肉を飼料に添加し、SD ラットに 8 日間混餌投与しております。そのうち 3 日間の糞中の全窒素量を測定して消化率を比較しておりますが、有意な差は認められておりません。

173 行目からは、体細胞クローン牛の後代の肉を用いて行われておりまして、有意な差は認められておりません。

「②牛乳」は 6 ページの 180 行目からになりますが、体細胞クローン牛の乳を用いて行われておりまして、差は認められておりません。

186 行目からは、体細胞クローン牛の後代の乳を用いて行われており、有意な差は認められておりません。

「3. 遺伝毒性試験」ですが、凍結乾燥し、粉末にした体細胞クローン牛の肉、乳を混餌投与した ICR のマウスの骨髄細胞を用いた小核試験が行われておりますが、有意な差は認められておりません。

199 行目で、体細胞クローン牛の後代の肉、乳、204 行目で体細胞クローン豚の後代の肉を用いて同様の検査が行われておりますけれども、有意な差が認められておりません。

209 行目にまいりまして「4. 亜急性・慢性毒性試験」の結果になっております。

「(1) 牛肉及び豚肉」ですが、211 行目、SD ラットを用いた混餌投与による試験が 14 週間の反復混餌で行われております。この結果、投与による異常は認められておりません。

217 行目になりますが、Wistar ラットを用いて牛の肉が基礎となる飼料を投与して 21 日間の反復投与が行われております。この試験においての明確な配合量はわかりませんが、ミートプロテイン 21%という記載がされております。この結果、投与による異常は認められておりません。

222 行目にまいりまして、SD ラットを用いた 12 か月の反復投与・生殖併合試験が行われております。後代の肉を用いております。この結果、投与による異常は認められなかったとされております。

230 行目からは、ddy マウスを用いた混餌投与試験 28 日間の反復投与が行われております。豚の後代の肉が用いられておりますけれども、投与による異常は認められなかったとされております。

235 行目から「(2) 牛乳」になります。

236 行目で SD ラットを用いた 14 週間の反復混餌投与試験が行われております。これは牛の乳を用いておりますが、投与による異常は認められなかった。

242 行目、Wistar ラットを用いた 21 日間の反復投与試験が行われております。こちらも牛の乳の配合量は不明ですが、最終的な餌として乳脂肪分が 1.8%という記載がされております。投与による異常は認められなかったということでございます。

247 行目にまいりまして、SD ラットを用いた混餌投与試験です。牛の後代の乳を用いておりますが、12 か月の反復投与・生殖併合試験が行われております。投与による異常は認められなかったということでございます。

以上でございます。

○早川座長 ありがとうございました。

それでは、ただいまの食品に関する知見について御意見、御質問がございましたら、お願いいたします。

どうぞ。

○小泉委員 最初の２ページ辺りにいろんな項目が書かれていますが、タンパク質とか脂質、脂肪酸等については、濃度の有意差なのか、組成の有意差なのか。どちらなんですか。

○鶴身課長補佐 ところどころに書いてあるんですが、それぞれ分析をした項目、アミノ酸であれば何種類の項目を分析したとされていて、それぞれの濃度に有意差がなかったというものです。

タンパクについては、プロフィールも見ていまして、その組成も見られているようですが、差はなかったという記載になっています。

○小泉委員 例えば脂肪酸などは組成がかなり違うので、組成について違うのであれば、組成なのか濃度なのかきっちり書いた方がいいのではないかと思います。

○鶴身課長補佐 わかりました。

○早川座長 よろしくをお願いします。

ほかにいかがでございましょうか。よろしいでしょうか。

それでは、ただいまの食品に関する知見において、栄養成分からアレルギー性あるいは毒性試験等がございますので、慎重にというか、各先生方におかれましては、次回までに御専門の立場からそれぞれの分野において「てにをは」も含めて、この報告書をどう仕上げていったらいいかということで御検討、御確認をいただきたいと思います。お忙しいところ誠に恐縮でございすけれども、よろしくお願いいたします。

それから、次回でありますけれども、先ほど小島先生のところで少しつけ加えていただくというか、修文していただく部分がございます。それも含めて、先ほどの食品に関する知見において、もし何かあれば、それも出していただくということで、今回はそういう形で議論をしたい。それから、全体のとりまとめについても御議論をいただきたいと思っております。

全体を通しまして、先生方から何か御意見等ございすでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、議題（１）はこれで終了にさせていただきます。

議題「（２）その他」でありますけれども、何かございすでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございせん。

○早川座長 それでは、これで本日のワーキンググループの審議は終了いたしたいと思
います。御協力どうもありがとうございました。