

リアが残存することが知られている¹³⁾。最近では、ヒトやチンパンジーのミトコンドリア DNA に起こる変異を統計的に解析すると、これまでの母系遺伝によるミトコンドリアの伝達様式では説明できず、精子由来のミトコンドリアが残存する可能性が指摘されている¹⁵⁾。また、ヒト卵細胞質内に精子を注入した実験において、精子由来のミトコンドリアが残存する例も示されている¹⁶⁾。卵子内に含まれているミトコンドリア DNA 数 (20 万分子) に比べて、精子のミトコンドリアははるかに少なく (50-75 分子)、過去のミトコンドリア DNA の解析では検出できなかった量の精子ミトコンドリア DNA が残存している可能性がある。また、線虫ではミトコンドリア DNA 間で組換えが起こることが示唆されており¹⁷⁾、卵子と精子のミトコンドリア間で組換えが起こり、このことが個体間でのミトコンドリアの多様性を説明する上で考慮するべき点かもしれない。

もし精子由来のミトコンドリアが残存する可能性がある場合、そのことが個体形成にどのように影響を及ぼすのかについては想像の域をでないが、ミトコンドリアと核との密接な関係を考慮すれば、その関係に不適合が起こった場合には、核遺伝子の発現異常、細胞死 (アポトーシス)、染色体異常などが起こりうる。このことが、自然界でも通常認められる流産などの一因となっている可能性を否定できない。

核移植とミトコンドリア

核移植技術は手法上の違いから大きく3つに大別される。つまり、1) 電気融合法を用いた細胞融合¹⁸⁾、2) センダイウイルスの膜融合活性を利用した方法¹⁹⁾、3) ガラス針による細胞質内注入による方法²⁰⁾、である。しかし、未受精卵に細胞核を移植するという点で3者は基本的に同じである。牛を含めた家畜類では、ほとんどの場合が1)の手法によって行われている。核移植の結果として、未受精卵に由来する細胞質とドナー細胞由来の細胞質は一体化することになり、細胞質に含まれる2種類のミトコンドリアが混在する状況が生まれる。すでに記したように、自然界においても受精の過程で一時的に卵子と精子のミトコンドリアが混在するが、精子のミトコンドリアは受精後の早い時期に消失する。核移植後のドナー細胞のミトコンドリアも精子と同様の挙動をとる。つまり、受精卵クローンの場合、ドナー細胞に由来するミトコンドリアは

胚盤胞期までには消失し、一部の例外はあるが²¹⁾、受精卵クローン牛にはドナー細胞由来のミトコンドリアは認められない³⁾。体細胞クローン牛では、現在のところドナー細胞由来のミトコンドリアは確認されていない²²⁾。つまり、受精と核移植におけるミトコンドリアの挙動は極めて似通っているが、そこから生じる個体のミトコンドリアの構成が異なっていることになる。受精の場合には卵子由来のミトコンドリアから構成されているのに対し、核移植ではドナー細胞に由来する個体の複製を目的としていながら、核移植後のミトコンドリアの分解という自然のふるいかけられる結果、ミトコンドリアの大部分は未受精卵由来のものとなる。クローン動物において生じる新たなミトコンドリアと核との関係が、クローン動物の生物として健全性、ひいては食品としての安全性が問題となってくるわけである。

マウスでは、受精卵へのカリオプラスト(核を含む細胞質)の融合や細胞質融合、あるいはミトコンドリアそのものの細胞質内注入によって、人工的に異なった個体に由来するミトコンドリアをもつマウスや2種類のミトコンドリアを持つヘテロプラスミックマウスが作出されている。これらのマウスが遺伝的に亜種の関係にある場合、ヘテロプラスミックマウスとして正常に繁殖させることができる^{23, 24)}。この場合、導入したミトコンドリアに完全に置換する場合もあれば、逆に受精卵のミトコンドリアが維持される場合もある。このような法則性のないミトコンドリアの伝達様式がなぜ起こるのかについては不明であるが、単に導入するミトコンドリアの量によっている可能性もある²⁵⁾。体細胞クローンと受精卵クローンでは、ドナー細胞の大きさの違いから導入するミトコンドリアは約30倍量異なっており、受精卵クローン牛ではドナー細胞のミトコンドリアが残る場合があることも、それを裏付けているように思われる。いずれにしても、亜種の関係にあるマウスにおいては、別の個体に由来するミトコンドリアを持っていても、ミトコンドリアがヘテロプラスミーとして混在する場合においても、動物の生存にとって重大な影響が及んでいる可能性は低い。一方、あるマウスの受精卵に、このマウスとは異種の関係にあるミトコンドリアを導入した場合にもヘテロプラスミーは起こる。しかし、この場合には先の亜種間のマウスの場合とは異なり、胚発生初期の段階で胚の生存性は著しく低下する²⁶⁾。進化的に離れた動物種のミトコンドリアが導入された場合には、核とミトコンドリアとの共存関係がうまくゆかず、胚発生を低下させると考えられる。

牛を含めた家畜類の核移植の場合、未受精卵とドナー細胞のミトコンドリアは同種の関係にある。例えば、わが国で行われている核移植では、和牛とホルスタイン種間の様々な組み合わせの未受精卵とドナー細胞を使って行われている。これらの品種はいずれも遺伝的には *Bos taurus* に属する近縁種で、異種のミトコンドリアを導入されたマウス胚のような核移植後の胚発生の有意な低下が認められるわけではなく、自然の受精に近い体外受精の発生率と何ら変わる場所がない。ミトコンドリアと核は密接な関係を保っており、両者が進化的に離れている場合には相性の問題が出てくる。しかし、現在牛で行われている同種間の核移植で見られる流産、出生直後の死産原因をミトコンドリアと核との不適合に帰する科学的根拠はなく、その原因は不可逆的な細胞分化の過程を経ている細胞を核移植によって脱分化させ、個体形成する過程で起こっている異常ととらえるのが妥当であろう。

ミトコンドリア DNA の変異とミトコンドリア病

ミトコンドリアは細胞のエネルギー生産に重要な細胞小器官であるので、ミトコンドリア DNA におこる変異の状況によっては、個体の生存性に影響が及ぶものがある。例えば、ヒトでもミトコンドリア DNA 内の突然変異と関連しておこるいくつかの疾患が知られている²⁷⁾。レーバー病（遺伝性視神経萎縮症）、ミトコンドリア脳筋症、ピアソン症候群などがこれにあたる。疾病の出現部位は高いエネルギー生産が求められる脳や筋肉に多く、ミトコンドリア DNA の突然変異によってエネルギー代謝に異常が起こり、乳酸アシドーシス（酸性症）やアポトーシスによって疾病が出現すると考えられる。細胞内には変異ミトコンドリアと正常なミトコンドリアが共存しているが、変異型は何らかの理由で正常なものより複製能が高く、時間の経過とともに細胞内に蓄積され、変異ミトコンドリアの量がある閾値を超えると症状が現れると考えられる。しかし、これらの疾患が必ずしも母性遺伝によって子孫に伝達されているわけではない。母性遺伝するためには卵細胞質にミトコンドリア変異が蓄積される必要があり、たとえそのようなことが起こったにしても、胚発生の過程でエネルギー生産に支障があれば胚発生の停止や流産に至る可能性が高い。また、ミトコンドリア病の伝達様式から、これらの病因が単にミトコンドリアにおける突然変異によってのみ説明できるわけではなく、核の遺伝的変異とも関連していなければ

ならない。しかし、ミトコンドリアと核は同一の細胞内にあり、細胞レベル、個体レベルでの両者の役割を分けて考えることは難しい。この意味で、まったく異なったミトコンドリアを有する細胞に核を導入できる核移植技術は両者の相互関係を解明する上で有用な実験系を提供しうる。

いずれにしても、細胞内のミトコンドリア DNA は個体発生の過程において、自らの複製と娘細胞への均等分配を忠実に繰り返しているのではなく、DNA を構成している塩基は常にダイナミックに変化していると考えられる。個体に見られるミトコンドリアの多様性を考えれば、むしろ当然のことといえる。ヒトのミトコンドリア病に見られるような表現型への影響は、偶発的に細胞核あるいはミトコンドリアに起こった多くの変異の中で、核とミトコンドリアに生じる不適合の結果であり、家畜においても過去に同様の現象が起こっていても不思議ではない。しかし、これらの変異は年齢とともに蓄積されるのが一般的であり、肉用牛の場合は生後3年以内で、また乳用牛でも7~8年が牛の耐用年数（食品として出荷される期間）であることを考えると、乳・肉生産の過程ではこれらの異常が表面的にでてこない状況にあるのかもしれない。

ミトコンドリアの動物個体表現型への影響

ミトコンドリアが家畜の表現型、特に乳・肉生産に及ぼす影響について検討しているいくつかの報告がある。乳牛において、乳生産量の低い家系と高い家系のそれぞれを特徴づけるミトコンドリアの変異を見いだすことはできないが⁷⁾、乳脂率は変異と関係しているといわれている²⁸⁾。また、肉用牛（和牛）のミトコンドリア DNA 変異は肉質と相関するという報告もある²⁹⁾。しかし、核の遺伝情報に大きなバリエーションのある家畜において、乳質や肉質などの経済形質をミトコンドリアだけの影響として論ずることは難しい。

マウスでは、核の遺伝情報が均一化した多くの近交系が樹立されていることから、異なった個体のミトコンドリアを導入することによって表現型に対するミトコンドリアの影響をより正確に予測できる。例えば、ミトコンドリアが母系遺伝することを利用して、2種類の近交系マウス（C57BLの雄と *Mus spretus* 雌）を交配すれば、次世代には *Mus spretus* のミトコンドリアを持ち C57BL と *Mus spretus* の核が半分ずつ混在するマウスができる。このマウスに C57BL の雄を20代以上交配し続けると、核の遺伝情報は C57BL でありながら *Mus spretus*

のミトコンドリアを持つミトコンドリアコンジェニックマウスを作ることができる。このマウスをそれぞれの近交系マウスとの間で成長、運動性、各種臓器の重量、採食性などの表現型を比較すると、両者で有意な差が生じることが分かっている³⁰⁾。C57BLと *Mus spretus* はミトコンドリア DNA の塩基配列の違いから進化上は異種の関係にある。亜種の関係にあるマウスで同様なことをすると表現型は異種ほどの差を生じないことから、ここで見られた表現型の差は、異種に由来するミトコンドリアあるいはミトコンドリアと核との相互関係によってもたらされたものであると推察できる³⁰⁾。同様のことは胚発生にもいえる。C57BLと *Mus spretus* のミトコンドリアを持つコンジェニックマウスにおいて、それぞれの胚は体外での発生能に差があり、コンジェニックマウスの胚は体外の培養条件に極めて感受性が高く、胚発生率は極端に低下する²⁶⁾。

ミトコンドリアコンジェニックマウス系統の作出には 20 代以上の交配を必要とするが、核移植では 1 世代でミトコンドリアコンジェニック動物を作出することができるわけで、個体形質へのミトコンドリアと核の不適合性を考慮する必要がある。繰り返しになるが、わが国における牛の核移植に用いられている未受精卵とドナー細胞の由来は、核もミトコンドリアも進化的には極めて近縁の同族種の関係にある。上記のマウスの例から考えると、クローン牛においてミトコンドリアの置換が起こったとしても、それが表現形質にまで影響を及ぼす可能性は考えにくく、あるとしても個体差と区別できないくらいに低いと考えるのが妥当であろう。実際、これまでに作出されてきた受精卵クローンと体細胞クローンについて、クローン牛間あるいはドナー細胞の由来となった元牛との間で成長、体高等の基本的な表現型を見る限りにおいて大きな差は見いだされていない。

クローン牛肉、クローン牛由来のミルクの食品としての安全性とミトコンドリアの影響

本章で検討してきた点は、核移植を使ったクローン牛の生産において、生産された牛がドナー細胞のミトコンドリアのタイプではなく、未受精卵子のそれに置き換わることが知られており、このことが核移植を行っていない通常の牛と比べた場合に動物の表現型、特に肉質や乳生産にどのような差が生じるのかということにある。哺乳動物のミトコンドリアに関する研究の歴史は 60 年に

満たないものであり、ミトコンドリアそのものの機能、細胞レベルでのミトコンドリアの伝達能、ヒトに見られるミトコンドリア病に関する研究の蓄積はあるものの、ミトコンドリアと核との相互作用や動物個体の表現型へのミトコンドリアの関与については研究が始められたばかりである。このような状況下で、現在までに得られている科学的データに基づいて、ミトコンドリアが置換されたクローン牛の食品としての安全性について以下のようにまとめることができる。

個体形成の出発点は受精卵であり、核移植の場合には細胞核が未受精卵に移植されたときに胚の発生が始まる。いずれの場合にも発生開始直後には2種類のミトコンドリアが混在するヘテロプラスミーとよばれる状態になる。その後、受精の場合には精子、核移植の場合にはドナー細胞に由来するミトコンドリアは細胞質内で分解され、卵子由来のミトコンドリアとなる。この意味で発生開始時のミトコンドリアの挙動は自然の摂理に従った様式をとるが、核移植の場合問題となるのは、ドナー細胞を提供した牛をクローン技術によって複製しようとしているにもかかわらず、ミトコンドリアは未受精卵のタイプに置き換わることにある。ミトコンドリア DNA の発現は細胞核の支配下にあるために、核移植によって置き換わったミトコンドリアと核との相性の問題が生じる。マウスを用いた実験から、ミトコンドリアと核が異種の関係にある場合には、胚発生は阻害され、子孫を残すための繁殖能も低下する。生まれた子孫はその後正常に生存するが、体成長、運動性、臓器重量などの表現型はオリジナルの近交系マウスと異なっている。従って、進化的に遠縁の関係にある核とミトコンドリア間の不適合性は動物の繁殖能に影響を及ぼす。しかし、亜種あるいは同種のミトコンドリアが存在する場合には、繁殖能の低下も認められないし、受精卵クローンや体細胞クローン胚の発生率はすでに行われている体外受精などの成績と比べて何ら変わることはない。このことは、進化的に近縁の動物種間での核とミトコンドリアの不適合の可能性は低く、クローン牛生産の過程で生じる異常出産は核移植後の核のリプログラミングが正常に起こっていないことが主たる要因であると考えられる。

現在、牛の生産は肉牛、乳牛に限らずほとんどすべての場合人工授精技術に依存している。過去には、欧米牛と和牛との間で人工授精し、欧米系の乳・肉生産形質を和牛に導入して家畜の改良を図ってきた歴史的経緯があり、また、現在でもホルスタイン種を妊娠させて牛乳を生産させるために、ホルスタイン

への和牛精子の人工授精はごく一般的に行われている。この場合、生産された牛の核は雑種となりミトコンドリアはホルスタイン種のものとなる。このように異なった品種間での核とミトコンドリアの関係においても、これまで食品の安全性を考慮すべき事態には陥っていない。以上を総合すると、核移植により未受精卵由来のミトコンドリアをもつようになったクローン牛は生物学的にまったく新しい存在ではなく、従来からの牛には存在しない新たな物質を保有することも考えられない。したがって、クローン牛が食品衛生上の問題を提起する科学的根拠は見あたらない。クローン牛の食品としての安全性は、これまで行われているとおり、屠畜場での臨床検査、牛乳においては成分検査によって食品としての的確さを判定する従来どおりの基準によって十分対応可能であると考えられる。

- 1) Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J. and Campbell, K. H. S. (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385, 810-813.
- 2) Kato, Y., Tani, T., Sotomaru, Y., Kurokawa, K., Kato, J., Doguchi, H., Yasue, H. and Tsunoda, Y. (1998) Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*, 282, 2095-2098.
- 3) Takeda, K., Takahashi, S., Onishi, A., Goto, Y., Miyazawa, A. and Imai, H. (1999) Dominant distribution of mitochondrial DNA from recipient oocytes in bovine embryos and offspring after nuclear transfer. *J. Reprod. Fertil.*, 116, 253-259.
- 4) Evans, M.J., Gurer, C., Loike, J.D., Wilmut, I., Schnieke, A.E. and Schon, E.A. (1999) Mitochondrial DNA genotypes in nuclear transfer-derived cloned sheep. *Nature Genet.*, 23, 90-93.
- 5) Brown, W. M., George, M. Jr. and Wilson, A. C. (1970) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 1967-1971.
- 6) Takeda, K., Onishi, A., Takahashi, S., Kojima, T. and Hanada, H. (1997) Genetic variations of bovine mitochondrial DNA D-loop region in Japanese Black, Japanese Brown and Holstein breeds. *Anim. Sci. Technol.*, 68, 1161-1165.
- 7) Hauswirth, W. W. and Laipis, P. J. (1982) Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 4686-4690.
- 8) Olivo, P. D., Van de Walle, M. J., Lapis, P. J. and Hauswirth, W. W. (1988)

- Nucleotide sequence evidence for rapid genomic shifts in the bovine mitochondrial DNA-loop. *Nature*, 306, 400-402.
- 9) Piko, L. and Taylor, K. D. (1987) Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early embryos. *Dev. Biol.*, 123, 364-374.
 - 10) Sutovsky, P., Moreno, R.D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C. and Schatten, G. (1999) Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature*, 402, 371-372.
 - 11) Kaneda, H., Hayashi, J., Takahashi, S., Taya, C., Fisher Lindahl, K. and Yonekawa, H. (1995) Elimination of paternal mitochondrial DNA in interspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 4542-4546.
 - 12) Sutovsky, P., Navara, C. S., and Schatten, G. (1996) Fate of the sperm mitochondria, and the incorporation, conversion, and disassembly of the sperm tail structures during bovine fertilization. *Biol. Reprod.*, 55, 1195-1205.
 - 13) Gyllensten, U., Wharton, D., Josefsson, A. and Wilson, A. C. (1991) Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature*, 352, 255-257.
 - 14) Zouros, E., Ball, A. O., Saavedra, C. and Freeman, K. (1994) An unusual type of mitochondrial DNA inheritance in the blue mussel *Mytilus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 7463-7467.
 - 15) Awadalla, P., Eyre-Walker, A. E. and Smith, J. M. (1999) Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. *Science*, 286, 2524-2525.
 - 16) St. John, J., Sakkas, D., Dimitriadi, K., Barnes, A., Maclin, V., Ramey, J., Baratt, C. and De Jonge, C. (2000) Failure of elimination of paternal mitochondrial DNA in abnormal embryos. *Lancet*, 355, 200.
 - 17) Lunt, D. H. and Hyman, B. C. (1997) Animal mitochondrial DNA recombination. *Nature*, 387, 247.
 - 18) Willardsen, S. M. (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, 320, 63-65.
 - 19) McGrath, J. and Solter, D. (1984) Inability of mouse blastomere nuclei transferred to enucleated zygotes to support development in vitro. *Science*, 226, 1317-1319.
 - 20) Wakayama, T., Perry, A. C., Zuccoti, M., Johnson, K. R. and Yanagimachi, R. (1998) Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 394, 369-374.
 - 21) Steinborn, R., Zakhartchenko, V., Jelyazkov, J., Klein, D., Wolf, E., Muller, M. and

- Brem, G. (1998) Composition of parental mitochondrial DNA in cloned bovine embryos. *FEBS Letters*, 426, 352-356.
- 22) Evans, M. J., Gurer, C., Loike, J. D., Wilmut, I., Schnieke, A. E. and Schon, E. A. (1999) Mitochondrial DNA genotypes in nuclear transfer-derived cloned sheep. *Nature Genet.*, 23, 90-93.
- 23) Meirelles, F. V. and Smith, L. C. (1997) Mitochondrial genotype segregation in a mouse heteroplasmic lineage produced by embryonic karyoplast transplantation. *Genetics*, 145, 445-451.
- 24) Takeda, K., Takahashi, S., Onishi, A., Hanada, H. and Imai, H. (2000) Replicative advantage and tissue-specific segregation of RR mitochondrial DNA between C57BL/6 and RR heteroplasmic mice. *Genetics*, in press.
- 25) Muramatsu, H., Nagao, Y., Minami, N., Yamada, M. and Imai, H. (2000) Intra-specific transfer of liver mitochondria and their fate during embryogenesis after microinjection into mouse zygotes. *Theriogenology*, 53, 398.
- 26) Nagao, Y., Totsuka, Y., Atomi, Y., Yonekawa, H. and Imai, H. (1998) Effect of different type of mitochondrial DNA on preimplantation embryonic development in the mouse. *J. Reprod. Dev.*, 44, 129-134.
- 27) Wallace, D. C. (1992) Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Biochem.*, 61, 1175-1212.
- 28) Schutz, M.M., Freeman, A.E., Beitz, D.C. and Mayfield, J.E. (1992) The importance of maternal lineage on milk yield traits of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75, 1331-1341.
- 29) Mannen, H., Kojima, T., Oyama, K., Mukai, F., Ishida, T. and Tsujii, S. (1998) Effect of mitochondrial DNA variation on carcasses traits of Japanese Black cattle. *J. Anim. Sci.*, 76, 36-41.
- 30) Nagao, Y., Totsuka, Y., Atomi, Y., Kaneda, H., Fischer Lidahl, K., Imai, H. and Yonekawa, H. (1998) Decreased physical performance of congenic mice with mismatch between the nuclear and the mitochondrial genome. *Genes Genet. Syst.*, 73, 21-27.

まとめ

人類は、野生の牛から出発し、何世紀もの長い時間をかけて家畜として優れた形質を持つ牛を求め改良を重ねてきた。今世紀には、精液の保存技術の開発に始まり、人工授精や受精卵（胚）移植の技術開発が進められ広く普及されるに至った。これら技術をベースに近年開発されるに至った核移植技術は、優良な雌雄牛の利用拡大、家畜改良の促進、生産効率の促進等を招来し、食料資源としての家畜牛の改良をさらに推進させるものとして期待されている。

人工授精では、凍結保存した精子を用いる。自然交配では、1頭の雄に対する年間交配頭数は50—100頭程度であるのに対し、1頭当たり数千—数万頭に増大できる。この技術の普及により、我が国においては繁殖牛頭数約200万頭に対し、雄牛は約2千頭しかいない。

受精卵（胚）移植は、性腺刺激ホルモン投与によって過剰排卵を誘起した雌牛に人工授精を施し、回収した受精卵を別の牛の子宮に移植することによって子牛を生産する技術である。雌牛の場合は1生涯に多くても8—10産しかできないため、雌牛からの遺伝育種的改良速度を早めることを目的として開発された技術である。我が国においては年間に1.1万頭の牛に過剰排卵処理を施し、得られた受精卵は4.5万頭に移植され、その結果1.5万頭の産子（全産子数の約1%）が生産されている。乳用牛候補種雄牛は約90%が受精卵移植牛で占められている。

体外受精においては、薬剤により受精能を付与した精子（自然交配においては精子は子宮内や輸卵管内の物質の作用によって受精能を獲得する）と成熟卵子を培養液内で数時間反応させることによって得た受精卵を約7日間体外で培養して胚盤胞期胚に発育させ、雌牛に移植する。我が国においては年間約9千頭に受精卵を移植し、1.7—2千頭の産子が生産されている。受胎率は生体内受精卵と比べ約10—15%低く、35%前後である。人工授精や胚移植と比べいくつかの問題点が指摘されており、羊膜水腫、四肢の屈曲、過大子症候群等の発生が報告されている。

初期胚核移植においては、過剰排卵処理してから人工授精することによって子宮内から得られた初期胚（16－32細胞期）の細胞を、除核した後に活性化した成熟卵子に物理的に挿入してから、電気刺激により両細胞を融合することによって核移植胚が得られる。それを体外培養してから牛の子宮に移植する。我が国においてはすでに約500頭の産子が得られている。

体細胞核移植では、初期胚核移植における初期胚細胞の代わりに、継代培養したのち血清飢餓培養をした体細胞を用いる。我が国においては、1999年末までに111頭が出生し、そのうち19頭が死産であった。流死産胎子と生後直死産子27例の病理所見からは、新規な病理変化は見い出されていない。生時体重はそれぞれの品種の平均値よりも約10kg大であったが、子牛の発育・体重推移に通常繁殖動物との間の相違は認められていない。産子のうち雌牛2頭については人工授精によって受胎が確認されている。雄牛についても精液性状と受胎能力が正常範囲であることが報じられている。

体細胞核移植胚の胚盤胞への発生率は融合した卵子の20－50%、これら胚盤胞を受胎牛に移植した場合の受胎率は30－50%、分娩に至る受胎牛は5－20%であることが認められている。流死産や生後直死、奇型等の産子の異常の出現率は、体外受精卵移植の場合よりも大きい。その理由として、核の初期化が不完全または不適切であることの可能性、ドナー細胞核の遺伝子の一部に不可逆的変化が生じることの可能性が考えられている。

体細胞クローン牛においては、体温、血中炭酸水素イオン濃度、血中グルコース濃度、血中成長ホルモン濃度、血中レプチン濃度、血中IGF-II濃度、血中GFBP-1、-2、-3、-4濃度は、生後直後においては異常値を示す個体があるが、正常に成長する個体においてはやがて正常値に復することが認められている。同一年令の通常繁殖動物に比してテロメア長が有意に短いことが認められていることから、細胞の自己死の起こるテロメア長に早く達することが考えられるが、同一動物種の同年令動物間でもテロメア長の分布は幅広いため、そのことが個体そのものの生存期間内に起こるかどうかは不明とされている。最近では、老化させたドナー細胞からのクローン牛では、かえってテロメア長が長くなるとの報告もある。初期胚の核移植を施した胚盤胞期胚の染色体の倍数性異常は、体外受精

により得られるものとほぼ同じであり、核移植操作による異常の増加が見られないことが報告されている。

核移植の結果、未受精卵由来の細胞質とドナー細胞由来の細胞質が一体化し、2種類のミトコンドリアが混在する状況が生まれるが、体細胞クローン牛においては現在までドナー細胞由来のミトコンドリアは確認されていない。ドナー細胞のミトコンドリア量が、体細胞クローン牛に比して著しく多い受精卵クローン牛においては、ドナー細胞のミトコンドリアが残っている場合が認められている。しかし、マウスにおいて、異種間のミトコンドリアの混在によっては発生初期の胚の生存性が低下するのに対し、亜種間のミトコンドリアの混在の場合にはこのようなことが認められていない。我が国における牛の核移植に用いられる未受精卵とドナー細胞の由来は、核もミトコンドリアも進化的には極めて近い同族種の関係にあることから、核移植牛に見られる流死産と生後直死をミトコンドリアの混在に帰することはできず、また、たとえクローン牛においてミトコンドリアの置換が起こったとしても、表現型にまで影響をおよぼす可能性は考えがたい。

以上を要約すると、(1) 受精卵クローン牛や体細胞クローン牛においては、流死産や生後直死の発生頻度が従来技術によって生産された牛に比して高い傾向が認められているが、順調に生育する牛も多数存在し、それら個体については調べた限りにおいては各種生理機能を含め特段の異常がこれまで認められていない。(2) 植物や微生物、は虫類以下の動物の中には、極めて微量または少数でヒトに対して毒性や病原性を発現し、食品として摂取した場合にヒトに危害を招来するものが少なからず存在する。しかし、ほ乳類や鳥類については、その構成成分であるタンパク質が一部のヒトにアレルギーを招来することはあっても、ヒトが食品として食した場合に、構成成分自体がヒトに毒性や病原性を発現することは知られていない。(3) 受精卵クローン牛や体細胞クローン牛において、構成成分として新規に毒性物質や病原物質が生産される可能性を示すような科学的知見は得られていない。

したがって、受精卵クローン牛や体細胞クローン牛に特有な、食品としての安全性を懸念する科学的根拠はない。しかし、その時代時代における科学的知見

には自ずと限界があり、新しい技術については多面的な角度からのデータの集積によって安全性を確認する努力が払われるべきである。成長した受精卵クローン牛や体細胞クローン牛の両者には本質的な差はなく、現時点で得られている限りの知見からは食品としての安全性を危惧する根拠はないが、より多数のクローン牛について、生理的・機能的データ、乳肉に関するデータをとることによって安全性の裏づけを得ることが望まれる。

