

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 2 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 20 年 6 月 2 日 (月) 14:00~17:18

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の安全性について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

早川座長、池上専門委員、上野川専門委員、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、渡邊専門参考人

(食品安全委員)

見上委員長、小泉委員、長尾委員、廣瀬委員、本間委員

(説明者)

厚生労働省新開発食品保健対策室 鈴木専門官

(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 牛の繁殖技術 人工授精から体細胞クローンまで

資 料 2 我が国における体細胞クローン家畜の研究開発の現状

資 料 3 クローン動物のエピジェネティクスについて

## 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2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」を開催いたします。

本日は、宇理須専門委員が御欠席と伺っております。

また、本日は、専門参考人といたしまして、鹿児島大学農学部教授の小島敏之先生。

それから、東京大学大学院教授の塩田邦郎先生に御出席をいただいております。

なお、説明者といたしまして、厚生労働省新開発食品保健対策室の鈴木専門官に御出席をいただいております。よろしく願いいたします。

本日は、専門参考人の先生方から、生殖補助技術の現状。国内での調査研究の状況。それから、エピジェネティクスに関する研究についてお話を伺いたいと考えております。

一人せっかく来ていただいているのに、抜かしまして申し訳ございません。

独立行政法人畜産草地研究所の渡邊伸也先生に御出席いただいております。よろしく願いいたします。

それでは、事務局から配付資料の確認をお願いします。

○猿田評価調整官 議事次第に基づきまして、資料の確認をさせていただきます。

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が「牛の繁殖技術 人工授精から体細胞クローンまで」。

資料2が「我が国における体細胞クローン家畜の研究開発の現状」。

資料3が「クローン動物のエピジェネティクスについて」となっております。

お手元の配付資料のほか、委員の皆様には、厚生労働省提出の資料を事前に送付させていただきます。

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、事務局までお知らせください。

事務局からは以上でございます。

○早川座長 それでは、議事に入りたいと思います。専門参考人の先生方から御説明を伺う前に、前回のワーキンググループで、委員の先生方より御質問のありました事項についての説明を厚生労働省よりお願いいたしたいと思います。よろしく申し上げます。

○鈴木専門官 厚生労働省新開発食品保健対策室の鈴木と申します。

前回ワーキンググループで質問をいただきました事項につきまして、幾つかお答えをさせていただきますかと考えております。

まず、食品についてどういった意味を持つのかということの御質問をいただいたと記憶

しております。

食品でございますけれども、我々ども食品安全部で考えるとき、食品衛生法というものがございまして、すべての飲食物というような考え方で動いております。

この飲食物ということでございますけれども、外形や形態から社会通念に従って飲食物と考えられるものというふうに解釈をしております。

つまり、生きた牛とか、こういったものは飲食物という形にはなりません、肉ですとか、牛乳、それ以外のもの、牛乳、肉に限らず、すべてのものを食品として考えて評価の依頼をさせていただいたところでございます。

それから、後代について同じようにどのような意味かということの御質問を承っているかと思えます。

後代につきまして、先生方よく御存じのとおり、通常の生殖で生まれた牛たちということになりますが、この牛たち、一世代目だけではなく、二世代目、三世代目と続いていくものすべてを含めて後代という形で評価の依頼をお願いさせていただいております。

あと、米国の資料について、非公開の資料等ということで御質問を承ったと聞いておりますが、こちらの資料、提出させていただいております資料の中に既に入っておりますものですので、評価の際、必要であれば検討いただければと考えております。

最後に、法的な規制についてという御質問を伺ったんですけれども、申し訳ございません。次回、御回答させていただこうと考えております。

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、ただいま御説明をいただきましたけれども、先生方から何か追加の御質問等はございますでしょうか。

よろしいですか。

次に、先月、厚生労働省及び農林水産省で体細胞クローン家畜由来食品に関する説明会というものを開催したと聞いているわけでありまして、可能であれば、その概要について御説明をいただけますでしょうか。よろしく申し上げます。

○鈴木専門官 厚生労働省の鈴木と申します。

そうしましたら、本日、資料を用意させていただきましたので、お手元に届くように配付していただければと思います。

お手元に届きましたでしょうか。そうしましたら、この資料を用いて説明させていただこうかと思えます。

1枚目が説明会の概要というものになっております。その後ろに説明会で使用いたしましたパワーポイントが3つほどございますが、添付させていただいております。

1枚目の資料を用いて簡単に説明をさせていただきます。

まず、こちらの意見交換会の開催を2回ほど行わせていただいております。5月19日と23日、東京と大阪で1回ずつ開催しております。参加者でございますが、東京会場で149名、大阪会場で141名、一般の方はおおよそ100名程度両方とも来ておるといってございます。

それから、説明会の概要でございますが、こちら説明会は二部構成で実施させていただきました。

第一部で後ろに添付した3つの資料を用いまして、情報提供を行わせていただきました。具体的に申し上げますと、まず「体細胞クローン技術を用いた家畜に由来する食品について」というパワーポイントを用いまして、私の方から食品安全委員会に評価の依頼を行った趣旨ですとか、その中身、それから諸外国の欧米での評価書の中身とか、こういったものをできるだけわかりやすく説明をさせていただきました。

それから「我が国における体細胞クローン家畜の研究開発の現状について」というパワーポイントを用いまして、こちらは学術的な立場からクローン技術について、畜産草地研究所の渡邊先生から説明をいただき、その上で、渡邊先生にとりまとめていただきました報告書についての概要を御説明いただいたものでございます。

3つ目「クローン牛の食品としての安全性の研究」。こちらは東京大学の熊谷先生がパワーポイントを用いまして、平成11年～14年に行いました厚生労働科学研究などの結果について御説明をいただいたというものでございます。

そして、第二部におきまして、意見交換という形でフロアーとの意見の交換をさせていただきます。

その意見等の内容でございますが、下の方に「主な意見等」とございますが、このような中身になっております。

大きく分けますと、クローン技術に関する事項。それから食品安全委員会への諮問に関する事項。それからその他というようなくりにできるのかと思ひ整理させていただいております。

具体的に申し上げますと、まず、クローン技術に関する事項といたしまして、クローン技術の目的、どういった目的で行っているのかとか、そういった質疑がございました。

それから、死産、生後直死、病死が多いのはなぜか。それから、そういったものが非常

に不安であるというような意見、こういったものを聞いたところでございます。

それから、後代に影響はないのか。これは死産等が多いということから、後代に本当に影響はないのか、そういったことも検討してほしいという話でございます。

それから、流産の多い原因として、ミトコンドリアの影響があるのではないかとということでございますが、これは初期化等が行われるということが、どういうことかがはっきりしない中でミトコンドリアの影響もあるとも言われているというようなことの見解をいただいたようなものでございます。

クローンに問題があるかどうかという外国のデータも検討するのということ、こちらの食品安全委員会に評価を依頼した中で、いろいろな文献を提出させていただいておりますので、そういったものも検討していただきながらやっていくというような中身でございます。

それから、成長した牛についてだけではなく、死亡した牛についても原因の検討を行ったらどうかというような御意見がございました。

それから、イギリスの方の羊のドリーでございますけれども、この老化が早いとされる情報があるのではないかとというような話しはないかというのですが、どちらかといいますと、意見と申しますか、素朴な疑問を投げかけられたものでございました。

それから、食品安全委員会の諮問に関する事項でございますけれども、外国や企業からの要請で諮問したのかというような確認がございました。我々どもからは、前回お話をさせていただきましたように、こういった知見が集まったということからお願いをしているという実情のお話をさせていただいております。

それから、どのような方針で検討していくかというような、食品安全委員会が今後どのように進めていくかというようなことについてのお話もございました。

その他といたしまして、クローンの識別ができるようにするのかというような質問。それから、表示については、選択をしたいということから義務づけてほしいというような要望、それから長期的に考えると、やはりこういったものの不安は払拭できないというような御意見。それから、市場にこういったものが出ていないのかというような確認。こういったような中身のものが意見の中で出てきたものでございます。

すべてではございませんが、主なものといたしましては、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、ただいまの御説明に対しまして、先生方から何か御質問、コメントはございますでしょうか。いかがでしょうか。よろしゅうございますか。

それでは、議題の方に戻りまして、まず、牛の繁殖技術について、小島先生から御説明をお願いいたしたいと思います。

小島先生、よろしく申し上げます。

○小島専門参考人 鹿児島大学農学部獣医学科の小島と申します。

私の方からは人工授精から体細胞クローンまでということで、技術的な側面から今日は話をして、渡邊先生、それと塩田先生の方に話をつないでいきたいと思っております。

まず、私がこの話をするのに、どうして私がするのかというところなんですけれども、私のバックグラウンドを少しお話しますと、昭和 57 年に農林水産省の畜産試験所に入りまして、今日話が出てきます牛の受精卵移植がちょうど普及を始めようとしているときに、研究員生活を始めまして、その後、平成 7 年に行政部局であります家畜改良センターの方に移りまして、技術第一課長という立場で、ちょうどそのときに体細胞クローンの研究に携わっていたということで、人工授精は既に私が研究員生活を始めたときには、もう既に実用化段階に入っていたんですけれども、一応、受精卵移植から体細胞クローンまで一応自分で体験をしているということで、御説明をするということになったのではないかと思っております。

( P P )

牛の繁殖技術というのは、目的と言いますと、ここに書いておりますように、動物性タンパク質を供給するというのが最大の目的でありまして、そのために、効率的に増殖させるという技術を開発するということが求められてきたわけなんです。

当然、その根底には、生命の根源を見極めようとする生命倫理に立脚した敬虔な研究姿勢というのは、いわずもがな、こういう姿勢でやってきたということです。

( P P )

牛繁殖技術の研究開発の流れというのが、ずっと時間軸で上から順番に書いてあるんですけれども、人工授精から始まりまして、受精卵移植、体外受精、受精卵の顕微操作。それに伴って人工授精をするには、種雄牛を選抜する。あるいは精液の凍結保存が始まって広域化による普及促進。受精卵関連技術を実際にやるには優良雌を選定していくということが必要で、受精卵の凍結保存が可能になって、広域化による普及が促進された。

次に出てきた第 2 世代、1 行空けてあるんですけれども、体外受精関連技術、これによって体外培養技術が進展していった。その後、受精卵の顕微操作技術、特に一卵性双子、これも広義のクローンというふうに考えられるんですけれども、それと性別別という技術ができて、顕微操作技術が進展していった。

その次に現われてきたのが、体細胞クローン技術であると考えられるのではないか。上に書いてあるのは、第1世代の技術で、こういう技術が基になって体外培養顕微操作、それから体細胞クローン技術が開発されてきたということでもあります。

( P P )

技術開発に伴いまして、それだけでは普及促進というものは図れないので、やはり家畜改良増殖法というのが、まず、1950年に制定されて、凍結精液の実用化あるいは受精卵移植の普及、体外受精卵の実用化というのに伴いまして、それぞれ家畜改良増殖法というのは改正されてきた。技術開発と社会制度の整備が一緒になって、今の日本の動物タンパクの供給体制が整ってきているということでもあります。

( P P )

今日、詳しく述べますのは、人工授精技術と受精卵移植技術、それとクローン技術。受精卵移植技術には、体内受精卵移植と体外受精卵移植、クローン技術には受精卵クローンと体細胞クローンの2つがございます。これらを今から概要を説明したいと思います。

( P P )

まず、人工授精なんですけれども、これは発情を示す健康な雌牛に、優良な雄牛の精液を人為的に雌牛の生殖道内に注入すると、言葉で言えば、こういうふうになってくるんですけれども、現在、精液の凍結保存技術が確立しておりまして、現在、日本で飼われている牛、すべてという少し語弊があるんですけれども、ほぼ100%は凍結精液による人工授精による子牛が大本になっているということは、間違いのない事実であります。

( P P )

特徴としまして、人工授精技術というのは、雄牛を農家が一户一户飼っておく必要がないということで、非常に経費が節減されたと、かつ技術としては非常に単純であるという特徴があるんですけれども、ただ、生まれる子牛の性別は予知不能であるということで、それと優良さも、雄は当然種雄牛と選ばれる段階で優秀な雄を選んでいるんですけれども、雌は必ずしもそういうわけではないので、50%雌の要因が関与しますので、優秀さということに関しては、まだ生まれてくる子牛については未知数であると、その一部がやはり精子の性別技術というのを、最近、家畜改良事業団でソート90という性別精子が売られ始めましたけれども、そういうので、こういう欠点を補っていこうというところは、現在、出ております。

現在、ホルスタイン雌牛に、黒毛和種の凍結精液を人工授精する割合が、今、30%を超えているというのが、今の牛人工授精の現状であります。これは少しでも酪農家の経営を

楽にしようということで始められたところがあります。

( P P )

次に、受精卵移植技術なんですけれども、これは受精卵を人為的に別の雌牛の生殖道内に注入することによって、子牛を生産する技術であると、人の方は、当然お母さんに戻すということなんですけれども、家畜では、原則的に他の牛を借り腹として移植をするというのが原則でやっておられています。

特徴なんですけれども、人工授精は雄からの改良のみなんですけれども、受精卵移植は、雌雄両方からの改良が期待できる。ただ、効率は、ここに書いてありますように、人工授精に比べて非常に改良効率は悪いということは否めない事実であります。

それと、人工授精もそうだったんですけれども、受精卵の性別の制御は今のところは不可能である。ただ、受精卵の性判別はできるんですけれども、非常に手間がかかって効率も悪いということでもあります。

雄牛の能力は、先ほども人工授精のところで申し上げましたけれども、後代検定あるいは間接検定で証明済みなんですけれども、雌牛の能力は、一般的に過剰排卵に対する反応がよいものが選ばれる傾向で、それは必ずしも遺伝率が高くないので、理論上、雌雄両方から改良されると言いながら、本当に改良というところ貢献しているのかどうかというのが、なかなか難しいんですけれども、ただ、乳牛の種雄牛はほぼ九十数%は受精卵移植で産まれた子牛が基で種雄牛ができているというのは事実であります。

あと、受精卵移植の特徴といいますと、精液では無理なんですけれども、受精卵の場合、洗浄をきっちり行えば、伝染病に罹患している動物からの受精卵からでも健康な子畜を生産することができるという病気が幾つか既にわかっておりまして、これが受精卵移植の1つの特徴であると考えられます。

それと、人工授精と同じように、ホルスタインの雌牛に黒毛和種の受精卵を移植して子畜を生産する方式が、現在、非常に厳しい経営を続けています酪農家の副収入源になっているということは、大きな特徴であります。

( P P )

受精卵移植を2つに分けてまして、1つは体内受精卵移植、言葉としてややこしいんですけれども、これは、雌牛にホルモン処理をし、過剰排卵処理をして、たくさん卵巣に卵胞をつくって、そこに発情を起こさせて、人工授精をして、普通は発情期に1つの受精卵しか取れないんですけれども、それを複数個取ろうという技術を使って、通常やるんですけれども、そのときに、実際に人工授精をして、受精卵移植、受精卵の品質検査、凍結保存、

借り腹牛への移植という流れで、実際にこれは既に農家で普及レベルに達している技術であります。

( P P )

これは、受精卵の採取のところを実際に写真でお見せしているんですけども、バルーンカテーテルというものを使いまして、子宮頸管を通じてバルーンカテーテルを入れて、片側ずつ子宮角を洗浄して、受精卵を採取すると、こちらの方は実際にどの時期になると、この受精卵が子宮に降りてくるかというのを示しているんですけども、当然ここの卵管にあるときは、この方法では卵子は採取できないということになります。

( P P )

牛受精卵の移植方法なんですけれども、これは、私が農林水産省畜産試験場に入ったときに、ちょうど室長であった杉江博士が、1964年、ちょうど昭和39年東京オリンピックがあった年なんですけれども、世界に先駆けて、おなかを切らないで移植して、子どもを産ませたという方法がこちらなんです。

このときは、人工授精あるいは先ほどの採卵のときのように子宮頸管を経ないでやっていたという方法で、ちょっと技術的に難しいということで、現在は、使っている道具は違うんですけども、すべて子宮頸管を通じて受精卵を子宮角の中に入れるという方法に今は変わってきております。

( P P )

これは、実際に受精卵の体外培養はどういう方法でやるかということをお示したんですけども、直径35mmのプラスチックシャーレに、真ん中にドロップレットで、培養液を置いて、その上にパラフィンオイルをかぶせるということで、炭酸ガス気相のベースの培養液の中に入れてやるということ。

この方法ですと、非常に便利で、このまま培養液から出して、すぐに顕微鏡で卵子を確認できる。なおかつシリコンオイルが培養液の表面を覆っていますので、外に出しても汚染されることが非常に少ないという非常に便利な方法で、微小滴培養法という方法で、これはすべて体外受精から、あるいは体細胞クローンの培養からすべてこの方法で培養はされております。

( P P )

先ほど言いました胚の洗浄というのが、受精卵移植の場合の1つの特徴である。豚の場合、よく使われる技術なんですけれども、実際に、先ほど使った培養液、ドロップレットはつくったり、つくらなったりするんですけども、培養液を例えば10個用意しておい

て、そこに順番に移していくことによって、受精卵の周囲は透明帯というものに覆われているんですけども、その表面の病原微生物の数を感染に至らない数以下に減らしてやるという方法で、実際に受精卵の輸出入をやるときには、必ずこれはやるということになっている技術であります。

( P P )

次に、体内受精卵移植と体外受精卵移植は、ちょっとややこしいところがあるんですけども、体外受精卵移植の一番出だしは、牛は牛なんですけれども、食肉処理場に出荷された牛の卵巣から、未成熟卵を採取して、それを体外成熟、体外受精、体外培養をして受精卵をつくって、やはり借り腹牛に最終的に移植するという方法で、こちらが卵巣から実際に卵子を吸引して行って、これは先ほどの微小滴培養法の、ああいうようなディッシュの中で体外受精をして、それでまたメEDIUMを移して体外培養をするということで、この技術ができることによって、非常に体外での受精卵の生存期間を延ばす、あるいは若いステージから、これは胚盤胞というステージなんですけれども、そこまで発育させることができるということを実現した技術で、体細胞クローンの1つの基盤技術になっているわけなんです。

( P P )

次にクローン技術というところに入っていくんですけども、クローン技術というのは、実際に技術面から行きますと、核移植技術あるいは家畜の場合は細胞融合技術であるということが出来るんですけども、これは1つの受精卵由来あるいは細胞を提供する動物と核内遺伝子構成が同一な個体を作成する技術ということで、受精卵由来の割球を用いる受精卵クローンと、今、この調査会でやろうとしている体細胞を用いる体細胞クローンの2つがあります。

実際にクローン作出の流れというのを見てみますと、先ほどの卵巣から未成熟卵を採取するというところは、体外受精と全く同じで、ここの体外卵子を取って、体外培養を経て体外成熟をさせるというところは、体外受精技術の知見が集積されて、今の体細胞クローンの基本的な技術になっているんですけども、ここからが少し違うんですけども、成熟卵から核を除去して、受精卵由来の割球あるいは体細胞由来の培養した線維芽細胞を、除核した成熟卵と融合するというところが、体細胞クローンあるいは受精卵クローン核移植技術の特徴でありまして、そうしてつくったものを再構築胚というんですけども、それを培養して、再構築胚を品質検査して、これだったら借り腹牛に移植しても受胎がかなり期待できるというものを実際に移植するということになります。

( P P )

この図は、受精卵クローンと体細胞クローンをちょっとポンチ絵で比較した図なんですけれども、受精卵クローンは、雄と雌で交配をしてつくった受精卵の割球、これ一つひとつを割球と言うんですけれども、それをばらばらにしてその一つを先ほどの除核をした成熟卵の中に移植して、受精卵をつくってやって、借り腹牛に移植して子牛をつくるというものなんです。

ただ、この場合は、当然ここで交配をしていますから、ここで産まれた子牛と親は遺伝子構成が同一ではない。ただ、半分半分、50%50%をもってきているということでありませう。例えばここで16細胞期の受精卵を使うと、16個の割球ができて、最大100%の成功率で16頭が産まれるわけなんですけれども、産まれた16頭はすべて遺伝子構成が同じですよということを受精卵クローンと言います。

次に体細胞クローンは、1頭の雄でも雌でもいいんですけれども、体細胞、すなわち皮膚細胞や、卵管上皮細胞、卵丘細胞いろんなどころから、今、できていますけれども、そういう体細胞、既に分化が終わった細胞を取ってきて、それを培養して、それをまた一つひとつを単離して、それを除核した成熟卵に移植して受精卵をつくって移植してやるということ。ということは、こちらでできた子牛は、この遺伝子をすべて引き継いでいるということになります。ですから、親イコール子、イコールここで産まれた子どもがすべて遺伝子構成が同じということになります。

もう一つ受精卵クローンと違うのは、ここで体細胞を培養系で維持しますので、理論上は無数につくることができるということになります。

今、受精卵クローンと体細胞クローンのお話をしましたけれども、これは人工授精からずっとお話をしてきたんですけれども、人工授精では成し得なかったこと、受精卵移植技術だけでは成し得なかったことが受精卵クローンあるいは体細胞クローンで、それぞれ一つずつですけれども、できなかつたことをできるようにしてきたというところがあります。

1つ例を挙げると、体細胞クローンですと、体細胞のドナー提供牛とクローン牛は性別が全く同じになるというところがあります。

もう一つ、こちらの能力をかなりの確率でこの子牛は引き継いでいる。これは人工授精、受精卵移植で成し得なかつた技術であるということです。

( P P )

これは、私が家畜改良センターにいるときに、卵管上皮細胞を使って、ジャージ種の牛をつくったときの論文から取ってきたんですけれども、ここにあるのはドナー細胞、ここ

にあるのが除核された実際の成熟卵、要はこういうのを顕微鏡の下で実際に操作をして、それで再構築胚をつくるということになります。

こちらは電気融合というのをやって、細胞膜同士をくっつきやすくしているということなんですけれども、その基になりましたのが、この卵管上皮細胞を培養して、シャーレ全面に発育した状態、コンフルエントな状態というんですけれども、そういうものになったときに、線維芽細胞になっているんですけれども、それを一つひとつ単離してこういう細胞になっているわけなんです。

ここに生体卵子吸引というのを書きましたけれども、例えば雌牛が細胞提供牛である場合、人では、これは既に実際に体外受精をやる時にやられているんですけれども、お母さんの卵巣から卵子を吸引して、それに旦那さんの精子と体外受精をさせるということなんですけれども、細胞提供牛が雌牛の場合、生体卵子吸引という技術を使えば、こことこの細胞の提供動物を全く一緒にすることができるということで、後で出てきます核とミトコンドリアの関係というところの解明に一つ何か貢献するんじゃないかと思っています。

( P P )

体細胞クローン技術の特徴をここに簡単にまとめましたけれども、生産効率はある意味非常に高い、培養系で細胞を維持するわけですから、あと優良・希少形質保有動物の複製が可能である。そのときに細胞を提供する動物をどういう動物を選ぶのかということが、非常に重要な問題になってくるわけなんですけれども、あと性別が当然細胞提供動物と子牛は一致するというので、性別が制御できる。

ただ、短所は、世代更新ができないというところが1つ欠点であります。育種、家畜改良というのは、雄と雌の不確定な部分があるんですけれども、交配をすることによって、今までになかった新しい未知の能力を持ったものをつくろうというのが、家畜改良、育種の基本理念ですので、それができないというところが1つの短所であります。

あと体細胞クローンでは、核の初期化が必要であるということで、実際に分化してしまった細胞をいかにまた元の初期化した状態に戻して、1つの受精卵として発育させていくということが非常に重要な操作になるんですけれども、核の初期化が必要であるということなんです。

現在の技術水準では、今も問題になっているというか、先ほども説明会でいろいろ質問が出たということなんですけれども、早期胚死滅、流産、死産、生後直死の発生率が人口授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植、受精卵クローンに比べて有意に高いというところ

ろがあります。

( P P )

これは、今、申し上げてきた技術をずっと横に並べたんですけれども、これは、今、人工授精です。これは体内受精卵移植、体外受精卵移植、受精卵クローン、体細胞クローンということで、一見何を示したらいいかというところ、ほとんど技術的には人工授精から受精卵移植という技術が一步進んだ段階とほとんどの体細胞クローン技術まで至るまで、技術の大きな流れは変わっていないんですけれども、ただ、ここで精子を受精というところは人工授精と体内受精卵移植、体外受精卵移植は精子を体外あるいは体内にしる、精子を入れることによって、受精卵として発育させていくきっかけをつくっているわけなんですけれども、受精卵クローンと体細胞クローンは割球あるいは体細胞を除核した成熟卵と融合させて初期化することによって、すなわち核移植することによって、受精卵としての発育のきっかけをつくっているというところが違うというところがあります。

( P P )

これは、核とミトコンドリアの関係なんですけれども、従来の繁殖技術と体細胞クローン技術というところなんですけれども、体細胞クローン技術は、細胞核の遺伝子は、細胞提供動物の  $2n$  遺伝子で、細胞質は除核された成熟卵由来の核外（ミトコンドリア）遺伝子を持っているということで、実際にミトコンドリア DNA の複製とその遺伝子発現は、細胞核の制御下にあるということと、核とミトコンドリア DNA の不適合による核内遺伝子の発現異常、細胞死、染色体異常が起こり、流産などの一因となっている可能性は当然考えられ、ミトコンドリア DNA 変異は、受精卵、個体の生存性に影響が及ぶものも当然あります。

ただ、変異の蓄積には年数が当然必要で、家畜の平均生涯年齢は短いということを考えると、ミトコンドリア DNA の変異というのが、実際にどれぐらい影響しているのかということがあります。

それと、牛のクローン、核移植では、核とミトコンドリア DNA は同種由来、ホルスタインあるいは黒毛和種という違いはあるかもわからないんですけれども、同種由来ですので、流産、出生直後の死産等の原因をミトコンドリア DNA と核との不適合に帰する科学的根拠は乏しいのではないかと。

では、どういうところが問題なのかというと、核の初期化というところに問題がある場合があるのではないかと考えられます。

( P P )

これは、ミトコンドリア DNA の役割を調べる手段としてあるんですけども、白が例えばホルスタインの成熟卵、こちらが核、赤が黒毛和種の成熟卵と核というふうに考えていただいて、これを実際にこういう状態の再構築胚をつくって、それで最終的に子牛までする。それを育てる。

そのときに、能力がどういう能力の係数、数値がこういうまとまりで比較すると、核内遺伝子の差がわかる。

次にこういうやり方でやると、ミトコンドリア遺伝子の差がわかるということで、実際にこうやっていけば、ミトコンドリア遺伝子がどのような役割をしているのかというのがきっちり突き止めることができるんですけども、まだここまできっちりやられた研究は今のところ存在はしていないというふうに思います。

( P P )

ここにクローン技術というのをまとめて少し書いてみたんですけども、先ほど申し上げましたように、切断 2 分離、一卵生双子をつくるというのも広い意味でのクローンなんですけれども、これは全く 1 つの受精卵を 2 つに割って、それぞれから双子をつくるという方法ですので、非常に遺伝子の相同性が高いというか、ほぼ完全に同一なんですけれども、ただ最高でも 2 頭しか取れないというところで、実際にクローン技術を人工授精のときに少し述べましたけれども、雄牛の検定で、実際に優秀な雄牛を選んでいくと、そのときの時間的に短縮させる、あるいは効率を上げる、正確性を上げるという意味で、クローン技術というものの活躍が期待されているんですけども、そのためには、もっと頭数を取りたいということで、1 つは、そういう理由で、これは受精卵クローンなんですけれども、胚由来核移植（受精卵クローン）、最終的に体細胞核移植（体細胞クローン）というのができて、開発されてきたという経緯があります。

( P P )

ここは技術指標となる数字、これは後で渡邊さんの方からももっと詳しく述べられると思うんですけども、まず、現在、日本において繁殖用のホルスタインも黒毛和種等すべて含めまして、繁殖雌牛約 260 万頭いるんですけども、雄牛は 2,000 頭しかいない。これは優秀な雄だけが残っているということなんです。雌牛は、ほぼ 100%凍結精液による人工授精で繁殖をされている。受精卵移植による産子は全産子数の約 1%が受精卵移植で生まれるようになっている。ここには 2005 年の数字を出していますが、ちなみに、人の体外受精児も年間約 1 万人産まれているということが報告されています。これらも出生数のほぼ 1%が人の場合も体外受精で産まれているということです。

ここからが問題なんですけれども、新生子死亡の発生割合ですが、人工授精は5.3%、体内受精卵移植は4.6%、体外受精卵移植は7.5%で、受精卵クローンは716頭の中で15%、体細胞クローンは535頭で31%ということで、クローンの場合は、死産と生後直死の合計を2007年の統計で表していますけれども、ただ、バックにある数字がかなり違います、この数字は現在公表されている数字であります。

( P P )

これは、皆さんのお手元の資料にはないんですけれども、受胎率というのを試してみました。人工授精では48.2%、体内受精卵移植は少し比較の対象が違うんですけれども、新鮮なものを入れた場合と、凍結受精卵を入れたもの、あるいは体外受精卵移植というもので若干違うんですけれども、人工授精より体内受精卵移植が高い場合があるということは事実であります。ただ、受精卵クローン、体細胞クローンは人工授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植よりは低いというのが一般的に認められています。

生時体重、これは人工授精の場合42.7kg、体内受精卵移植は43.4kg、体外受精卵移植は47.1kg、これは取ってきたデータがここなんですけれども、大体一般的な理解としても、体外受精卵移植で産まれる子どもは少し体重が大きくなる傾向はあります。

実際に受精卵移植と体細胞クローンでも生時体重が大きくなる傾向はあります。

次に、先天異常の発生率なんですけれども、これは分娩まで至った子牛のうちということで、人工授精では0.2~0.5%、それ以外でいうと、受精卵移植から以降の技術なんですけれども、印象としてほぼ変わりがないのではないかというのは、数が圧倒的に人工授精の場合と受精卵移植以降の場合と、母数になる数が圧倒的に異なりますので、比較のしようがないというのが事実なんですけれども、ただ、実際に、私の前任の教授なんですけれども、浜名先生（牛先天異常の権威）、その先生に直接電話をして確認しましたら、印象としてほぼ変わりがない。ただ、比較のしようがないのも言われておまして、分娩まで至った子牛のうちではほぼ変わりがないのではないかということです。

ここで、生時体重が大きくなる傾向があるというのは、当然分娩事故の発生リスクが高くなるというのは否めない。それが、やはり生後直死とか、死産に結び付いている可能性は当然あります。

( P P )

今、私が申し上げてきたところは、実際に動物性タンパク質を供給する。それがどんどん増大していく、そのための要求に応えるために、やはり産業的に優良な形質を持つ個体系統の増殖を可能にする技術として、人工授精、受精卵移植、クローン技術が関連の科学

技術の発展と相まって開発されてきたということでもあります。

( P P )

人工授精は、開発から実際に実用化まで約 20 年かかりました。牛受精卵移植も開発から普及、現在まで約 25 年かかっています。

体細胞クローンは、開発されて、たかだか 10 年、ドリーが産まれたのが 1997 年ですか、それから 10 年あまりで技術進展の高速化を差し引いても、その技術の複雑さというのは、ちょっとわかっていただいたと思うんですけれども、まだ、その完成までもう少し時間がかかるのではないかというのが正直なところです。

( P P )

これが最後なんですけれども、我々は繁殖技術を開発する度に、どういう要求を満足してきたかということで、遺伝力の強い雄の子を増やしたい、雌雄両方から改良したい。特定の品種を増産したい。優良種蓄の改良速度と検定精度を上げたい。性の産み分けをしたい。能力既知の特定個体をより迅速に時間の壁を越えて再生したいという、今まで我々研究者の要求を満たすように、技術開発はされてきたんですけれども、これは当然我が国のように限られた資源、限られた土地を活用するところでは、こういう技術開発は必然的なものであって、ただ、今、事故率が高いということがありますので、更に革新技術を導入することによって、今後の研究によって、技術の向上、特に事故率の低減、生産効率の向上を図る必要があるのではないかと考えております。

○早川座長 どうもありがとうございました。

それで、ただいま小島先生から御説明をいただきましたけれども、それに対しまして、何か御質問、コメント等ございましたら、お願いいたします。

いかがでしょうか。

先生、どうぞ。

○尾崎専門委員 最後のところで、ちょっとフォローし切れなかったところがあったのですが、新生子の死亡のところですか。人工授精と受精卵クローンの死亡率、これは有意に受精卵クローンの方が高いと考えてよろしいのでしょうか。

○小島専門参考人 そうですね。ここでは、必ずしも統計的な処理はされていなくて、受精卵クローンと体細胞クローンの数値は人工授精、体内受精卵移植、体外受精卵移植というものの事故率と全く別個のところで発表されている数字ですので、必ずしも統計処理はされていないんですけれども、人工授精の数が非常に母数が多いですから、それと 716 頭の 15%というのを比較したときに、意味がある統計処理かどうかというのが、ちょっとわ

からないというところが、実際に同じ条件で、こういうのを比較しようとしてやられた数字ではなくて、結果として出てきた数字を見比べたときにとということです。ただ、15%、31%というのは、一般的に高いと言って間違いはないと思います。

○尾崎専門委員 この質問は、後の塩田先生のお話の先取りになってしまうのかもしれませんが、受精卵クローンを含めて、受精卵移植でもいろいろな不都合が多分あるんでしょうけれども、そこにもエピジェネティックな異常ということが関わるとか、関わらないとか、そういった研究報告というのはあるのでしょうか。

○小島専門参考人 それは、私の知る限りではクローンをやられている先生で、やはりそこが1つの問題だということで、いろいろな方面からやられている先生は実際にいらっしやいます。論文も発表されています。

○早川座長 ほかにいかがでございましょうか。

どうぞ。

○和久井専門委員 今の先生の御発表の中で、クローンの場合の出生時の体重が大きくなるという御説明があったんですけども、これは原因的にはどのようにお考えですか。

○小島専門参考人 1つは、体細胞クローン、受精卵クローンもそうなんですけれども、体外で培養する期間が非常に長いんです。体外受精卵移植の場合も生時体重は四十七コマ何kgということで、通常の人工授精、体内受精卵移植よりも高いんです。それで体外で培養することによって、培養条件によって体重が重くなるのではないかとすることは1つの仮説として言われていまして、そこで血清の濃度を下げるとか、無血清培地でやってみるといようなことで体重が下がったと、それほど過大子は問題ではなくなったという報告は、いろんなどころで出ているんですけども、ただ、実際にそうなのかどうかというのが、系統立って同じ条件で一斉にこちらは血清を入れないでやられたという研究があまりないものですから、その部分はわからないんですけども、我々は1つの原因として、すべてではないと思うんですけども、体外で長期間培養することによって、生時体重が大きくなるのではないかとすることは想像しています。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

今、体重が大きくなるというか、体重の大きさと死亡率が何か関係があるようなことを少しおっしゃっていましたが。

○小島専門参考人 分娩時のリスクが高くなりますのでね。

○早川座長 それも物理的な、つまり体重が大きいという物理的なこと。

○小島専門参考人 そうですね。やはり分娩に時間がかかってしまって、子牛を弱らせて

しまったり、それは当然あります。

○早川座長 そうすると、今の培養のところ、ある程度短縮できるような技術が必要と。

○小島専門参考人 今、血清の濃度あるいは無血清培地を使ったらどうかというのは、既に研究が始まって10年ぐらい経っていますので、今、実際に血清培地は市販されるようになっていきますので、以前ほど体外受精卵移植の過大子というのは問題にならなくなったところを見ると、やはりそれはかなりの部分が影響していたのかと思うんです。

○早川座長 死亡も減ってきているということですか。

○小島専門参考人 そこはまだ、受胎率は、正直なところ、ここ10年ぐらい体外受精卵の移植による受胎率というのは伸び悩んでいるというのが現状なんですけれども、先ほど申し上げました受胎率は、ほぼ一定のところに来ていきますのでね。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。よろしゅうございますか。

それでは、小島先生、どうもありがとうございました。

それでは、引き続きまして、我が国における体細胞クローン家畜の研究の現状について、渡邊先生から御説明をお願いしたいと思います。

○渡邊専門参考人 渡邊でございます。どうぞ、よろしく申し上げます。

私の方は、先ほど小島先生からお話がありました繁殖技術の発展を受けて、クローン技術をどのように展開してきたか、その結果について、私どもの報告書などを交えて御紹介したいと思います。

( P P )

まず、小島先生の方から技術の説明がございましたけれども、もう一度、核移植の操作について、スライドを交えて御紹介したいと思います。

( P P )

これが、核移植するときの卵子です。これが未受精卵です。

ここの上のところにあるのは極体と言われるもので、減数分裂のときに分かれた細胞のペアになるものですが、卵子の場合ですと、栄養分を片方にまとめるということで、もう一方、こちらの方は非常に小さくなります。当然ここにも核が入っています。

話が長くなりましたけれども、極体と呼ばれるものの下に、かなりの確率で卵子の核が含まれるということが知られております。

次に操作ですけれども、ガラスでつくった細い針を使って操作をいたします。このように刺していきます。この周りの方が透明帯と呼ばれるゼリー状の層になります。ここでバクテリアなどから卵子を守るとも言われますし、精子はここをくぐって、受精に向けた準

備をするとも言われております。

刺して透明帯に穴を空ける操作です。ここに穴が空いています。これが極体です。これを今度押します。押してこのようにいたします。そうすると、ここにかなりの確率で核が入っているわけです。

あとは、ここのところだけを取り出しまして、蛍光色素で染色して、実際に核が取れているかどうか確認します。ただ、卵子の本体については、蛍光色素で染めるということは、通常いたしません。

( P P )

次にドナー細胞です。一つひとつがドナー細胞で、これは卵丘細胞の由来の細胞です。ピペットに取ります。これを先ほど核を除いた卵子の中に入れて込んでいきます。

こういうふうここに入りました。これは、先ほど核を除いた卵子です。これが電極に挟んで電気融合をする様子です。ここに先ほど入れ込んだ体細胞がありまして、ここが核を取り除いた卵子の細胞質です。拡大すると、このようになります。ここが体細胞、ここが卵子です。

この電気刺激は、研究者によって、条件が結構違ってきます。私どもの例ですと、25 ボルト、10 $\mu$  秒という条件でやっております。この後、化学的な薬品で刺激を加えます。

ということで、ここで卵子の初期化のプロセスが始まりまして、あと電気融合等の中で初期化がなされて、ちょっと飛んでしまいますけれども、1 週間ぐらい培養をいたしますと、このようなクローン胚と呼ばれるものになります。

ここのだるまみたいになっているのがクローン胚です。普通の受精卵でも培養すると、透明帯から細胞質が飛び出すんですけれども、核移植ですと、御覧いただいたように、細胞質操作のときに、透明帯に穴を空けますので、より早い段階で、このように飛び出していきます。

ちなみに、色の濃いところが、内細胞塊と申しまして、将来胎子になる部分ということで知られています。この色の薄いところが、栄養膜細胞と申しまして、将来胎盤になるところということで、我々は認識しております。

( P P )

飛びますけれども、これが私どものところで飼っている体細胞クローン牛隼人です。

これが、Q&A 集に載っている隼人が子どもころの写真ですけれども、第 2 隼人が左側、こちらです。これが平成 10 年の 9 月生まれです。第 1 隼人は平成 10 年の 8 月生まれでした。

これが第2隼人です。今朝も頭をなでてきましたけれども、元気に生活しております。普通の牛です。今、10歳、今年の9月が誕生日です。今、約800kgです。

( P P )

次に本題に入りまして、体細胞クローン家畜の研究の現状ということで、ここにお示しいたしました3つのことについて簡単に御紹介させていただきたいと思います。

( P P )

これは、私どもの報告書の内容で取り上げている健全性に関する研究分野です。ここにございますように、研究分野としては、6つございます。

まず、生産転帰。転帰というのは、ある牛が産まれてきてどのような生涯をたどったかということですが、その調査概要の例としまして、生時体重、在胎期間、つまり、お母さんのおなかの中にどのぐらい入っているか、あるいは死亡月齢、いつ死んだか、死因、どのような原因で死んだかということです。

臨床病理、牛が飼われている現場でどのような健康状態あるいは病気の状態を示したかどうかということで、血液性状、心拍数、体温、病理について調査いたしております。

成長発育は体重、体高です。

繁殖性につきましては、妊孕性、ちょっとわかりづらい言葉かもしれませんが、簡単に言いますと、ある牛の繁殖する能力があるかどうかについての調査です。ですから、具体的にはある牛の精液の性状を調べたり、あるいは雌牛については、発情周期と申しますけれども、排卵の様子とか発情の様子を調査したり、あるいは実際に人工授精を試みたり、あるいは受精卵移植を試みたりとか、そのような調査です。それに関連して内分泌ということで、雌牛のホルモンですが、プロゲステロン、エストロゲン等の調査がなされております。

乳肉生産の方に移りますと、乳量、お乳の量、乳質、お乳の品質です。増体、肥育と申しますけれども、肉を生産するときの牛の体重の増え具合、と体形質、肉質というのは、生産された肉の様子です。どのようなお肉が生産されたかどうかという調査です。成分というのは、牛乳、お肉の成分、タンパク質、脂質あるいは炭水化物のような大きなレベルの成分から、あるいはアミノ酸、脂肪酸の組成等、細かいところまでいろいろやっております。

あと、生産物性状については、毒性、アレルギー性などを調べています。

これらの調査について、私どもの報告書では、平成12年～17年にかけて、国内で行われた74件の調査についてのデータ並びに私どもの方で独自に調査したものを合わせてま

とめた次第でございます。

( P P )

死因についてです。これは生後間もなくですけれども、全体では死産あるいは生後直死につきまして、ここにございますように、451頭の中で、死産が74頭、16.4%、生後直死ですと、451頭の調査牛の中で、65頭、14.4%ということがわかりました。

これについて、私どもの調査票ベースでのデータですけれども、48頭のうち難産が10頭、20.8%、難産の原因としては、恐らく先ほども話がありました過大子というものがあろうかと思われますけれども、ここでは調査票ベースということなので、このようなおおざっぱな項目でくくってあります。

次に死産の原因としては呼吸障害、48頭の調査票に書いてある症例の中で8例、16.7%、呼吸障害といいますのは、羊水誤嚥と称しまして、分娩のときに羊水を飲んでしまったものとか、あるいは呼吸が弱くて死んでしまったというものが含まれます。

生後直死のケースですと、69頭の調査票で記載があるものについて35頭、50.7%ということです。この呼吸障害は、死産のときとほぼ同じ内容でございまして、繰り返しになりますけれども、羊水誤嚥という羊水を誤って飲んでしまったもの、あるいは呼吸が弱くて死んでしまったものが主なものです。

これらの死因につきましては、一般牛でも認められるものでございまして、体細胞クローン牛特有のものというのではないと私どもは認識してございます。

( P P )

これは、国内の調査をとりまとめたものなんですけれども、解剖、病理検査をしたものについての症例を紹介したものです。

これは体細胞クローン牛、黒毛和種の雄ですけれども7例、黒毛和種の雌では5例、ホルスタイン種の雌では3例、それぞれ報告として公表されておりますけれども、それをとりとまとめますと、例えば生後直死の例ですと、ここでは心臓の構造異常というのが報告されております。

これは、もう生後直死ではなくて、後の周産期になろうかと思いますが、肺のうっ血。あと生後直死ですと、ここでは心臓の構造異常というのが報告されております。

これは、健康な牛を調査したら、異常がありませんでしたという話です。

ここの黒毛和種の雌のところですと、これは後の時期に死んだものですが、下垂体性小児症、免疫不全というのが認められましたということです。

これは、産まれて間もない症例ですけれども、これは元気な牛でしたから、著変なしと

ということでしたけれども、一方の牛では、腎臓のうっ血、臍帯の陥入というものが認められております。

こちらホルスタインの症例ですと、生後間もなく、これは死亡でしたけれども、著変なしということです。これは不妊という症例があったので、剖検、解剖して調べた結果、このような異常が認められましたということです。あとは、健康な牛を調査したところ、異常がありませんでしたということです。

ということで、いろいろ病気は出てくるのですけれども、普通の牛でも認められる病気ということでもあります。

( P P )

健全性の報告について、代表的なものをちょっと御紹介させていただこうかと思います。

これは、鹿児島県畜産試験場から提供していただいた報告書に載っているものですが、体細胞クローン牛を赤、後代牛を青、人工授精牛、一般牛ですね、これをグリーンということに表示させていただきたいと思います。

ここで示します赤血球、白血球、これらにつきましては、私どもの健康診断でもよく調べる値でありますけれども、これらの項目については、ある範囲内で、その牛の生理状態あるいは生まれてからの時期等で変動するというのが知られているわけですが、ここでは、赤血球、白血球につきましても、ある範囲の間で変動をするということが認められました。

ここでは、例えば体細胞クローンだから極端にけた違いの値を示すとか、そういうのは認められておりませんでした。

( P P )

次に、血清タンパク質あるいは尿素態窒素の値でございますけれども、これもある範囲内で変動するということが知られているわけですが、これについても体細胞クローン牛あるいは後代牛だから特段のけた違いな値が得られるということはございませんでした。

( P P )

これは、血清コレステロールと血糖でございますけれども、これについても体細胞クローン牛、人工授精牛あるいは後代牛である範囲内で変異をするというようなことでございます。

( P P )

次に、これは成長ですけれども、ほぼ同じように成長することが確認されました

けれども、ここの体細胞クローン牛で成長がいいという傾向が認められております。

これは、恐らく推測ではあるんですけども、体細胞クローンをつくる時は、優秀な牛を選んでドナーとしますことが反映されているものと考えられます。

( P P )

次に、体細胞クローン牛、後代牛、一般牛における死産と生後直死につきまして、私どもが各都道府県あるいは関係する研究機関にお願いしまして、調査をいたしました。その結果について、御紹介したいと思います。

ここでは、体細胞クローン牛が 451 頭、後代牛が 124 頭、一般牛 566 頭で、品種につきましては、ホルスタイン種の雌、黒毛和種の雌雄をまとめております。

そういたしますと、体細胞クローン牛、赤で示しましたけれども、一般牛と比較しまして、有意に死産も生後直死も高いというような結果が得られております。

ただ、後代牛になりますと、一般牛と比較すると、統計的に有意に差がないということが認められております。

( P P )

次に病死について検討したのが、この図でございます。病死を検討するに当たりまして、ここの区間を 1 か月ごと、30 日ごとに区切りまして、30 日最初の日の頭数を分母にとりまして、分子には 30 日の間に、死亡した牛の数を取ってパーセントで示しました。

そうしますと、2～30 日ですと、23、24% ぐらいで、体細胞クローンで高い病死率が認められております。

この傾向は、約 200 日まで認められます。ただ、それ以降、体細胞クローン牛は一般牛とほぼ同じ病死率ということが認められました。

一方、後代牛につきましては、産まれた直後から一般牛とほぼ同じ病死率を示すということが、私どもの結果では出ております。

ただ、各区間で集計するものですから、後の方になりますと、期間当初の動物の数が少なくなるものですから、1 頭だけたまたま病死があっても、パーセント的には跳ね上がるような結果になっております。

( P P )

これは、体細胞クローン牛における試験と殺等の蓄積ということで、動物の死亡牛全体の推移について、今とは別の角度から分析した表をお示したものでございます。

死亡牛全体、これは体細胞クローンですけども、最初のところは、病死等が多いものですから、それでどんどん増えていきます。

今度、600日以降は、試験と殺ということで死亡するものが増えてきます。この試験と殺といいますのは、大体においては、ほぼ健康な牛について、研究目的でと殺して調査するというところでございます。具体的には、肉の調査では牛を殺して肉を調べなければいけませんので、肉を調べると殺調査あるいは解剖して臓器を調べる調査などでございます。これが、こういう時期に行われていることです。

( P P )

次に、これは後代牛の調査ですけれども、後代牛は、出荷もできませんし、研究的には、クローン牛そのものよりも価値が少ないというふうに研究現場で認識されることが多いものですから、産まれてすぐ淘汰・廃用ということで処分されることが多いという事実を反映しまして、全体では1日で死亡が多く見られまして、後は、こういう試験と殺等でどんどん減っていくということです。

ここのところだと、主に肉質の調査などで、減って行って、あとここで最終的に調査が終わって処分というような形になって、クローン牛とはまた違った曲線になってしまいます。

つまり、後代牛ですと、どうしても体細胞クローンよりも研究的な価値が少ないと認識されるものですから、ある程度試験目的が済んでしまったら、早々と処分されてしまうという傾向がございます。

( P P )

次に、今度は繁殖性についての調査の一例ですけれども、これは鹿児島県でなされた血中プロゲステロンの濃度についてでございます。

ここの上の段が12-1、12-2、12-3、これが体細胞クローン牛です。この下の段の方が、これは普通の一般牛です。ここは一般牛を赤で示した今までのものと、ちょっと表示が逆転していますけれども、そのものの資料を拾ってきたものですから、ちょっと御勘弁ください。

そうしますと、クローン牛でも一般牛でも同じように変動するということがわかりました。

( P P )

ということで、これまでを総括しますと、今まで症例的な報告をいたしましたけれども、全国で同じような調査が複数の県で研究がなされております。

そうしますと、ほぼ同じような傾向が出ておりまして、総合的には生後200日以上、生存した体細胞クローン牛及び後代牛は一般牛と同程度に成育して、一般牛と差異のない整

理機能を有するということがわかっております。

あと、後代牛につきましては、普通の牛と産まれた直後からほぼ一緒ということがわかっております。

( P P )

次に、これはクローン牛及び後代牛由来の乳肉の性状調査について、大まかに御紹介したいと思います。

これは体細胞クローン牛についてです。体細胞クローン牛については、ここにございます、5つの項目について調査いたしました。

まず、栄養成分分析ですけれども、一般成分アミノ酸組成、脂肪酸組成を調べて、差異は認められないということでございます。

アレルギーについては、いろいろ試験法があるわけでございますけれども、ここの調査では、マウスの腹壁法を取り上げて調査したわけですけれども、ここで差異は認められないという結果が得られております。

あと、消化試験、これはラットに食べさせて、ラットを用いた消化性の試験あるいはここでは人工消化液の試験もやっているんですけれども、差異は認められないという結果が得られております。

小核試験においては、やはり差異は認められないということです。ここでは、ラットの飼養試験、14週間ということで実施しておりますけれども、乳肉の検体を凍結乾燥して、栄養成分を厳密に合わせた餌として調整したものをラットに食べさせて、ラットの成長、運動能力あるいは血液性状、試験終了後の解剖を調査いたしましたけれども、差異が認められないということでございます。

これらについては、申し遅れましたけれども、畜産技術協会の事業、平成11年～13年にかけて行われた事業の中でとりまとめた成果です。行ったのは、畜産生物科学安全研究所という研究所でございまして、GLPの規格認証に準じた調査をいたしております。

( P P )

次に後代牛です。こちらにつきましても、今、御紹介した体細胞クローン牛とほぼ同じ内容を調査しております。

それで、実施した機関も前と同じ畜産生物科学研究所でございます。

ただ、実施主体が前は畜産技術協会の事業でしたけれども、これにつきましては、高度化事業という別事業の中で行っております。

今回、一番違うのは、飼養試験です。この試験を行うときの設計会議におきまして、外

部の先生方のアドバイスをいただきましたけれども、その結果、飼養試験は12か月した方がいでしょうということで、延長して行っております。

結果につきましては、体細胞クローン牛の場合とほぼ一緒でございます、栄養成分分析、アレルギー誘発試験、消化試験、小核試験については、体細胞クローンの後代牛と一般牛と差は認められませんでしたという結果です。

一方、ラットの飼養試験についても同様ですけれども、ここでは12か月飼っていますので、そうしますと、繁殖試験ができるということで、ここで飼ったラットを交配して子どもを生産して、子ラットの生産状況あるいは運動能力、解剖等をしておりますけれども、そこでも差が認められないということがわかりました。

( P P )

ということで、生産物性状調査の結論を申し上げますと、体細胞クローン牛あるいは後代牛と一般牛が生産した乳肉をこれらの項目について比較した結果、差異は認めないということがわかりました。

( P P )

以上まとめますと、体細胞クローンそのものについては、死産あるいは生後直死、病死率が高くて、成功率が現時点では低いということがわかりまして、結果として人工授精などの方法と比べてコストがかかるということが判明しております。

一方、後代牛については、死産、病死あるいは成長などが一般牛と比べて統計的に差異はなかったということです。

あと、後代牛が生産した乳肉の性状、クローン牛もそうですけれども、一般牛と差異がなかったということがわかりました。

結局、研究の進展によって、体細胞クローン牛の作成効率が高まれば、家畜改良の促進などの面で、クローン技術というのは、これから利用が期待できるのではなかろうかということがあって、我々期待しているところでございます。

以上です。

○早川座長 どうもありがとうございました。

それでは、ただいまの渡邊先生の御説明に対しまして、委員の先生方から、何か御質問、コメント等はございますでしょうか。

いかがでございますか。

どうぞ。

○池上専門委員 先ほど厚生労働省の方からは、一応、食品として考えるときには、乳と

肉の部分以外も食用とする部分が対象となるというお話だったんですけども、実際に栄養分析とか、その他の試験というのは、そういった通常の乳とか肉の部分以外を食用とするような臓器の部分、そういうところまで試験はされたんでしょうか。

○渡邊専門参考人 私どもでとりまとめた調査、畜産生物科学研究所で行った試験あるいは都道府県等の研究報告等を見ますと、そういう臓器等についてやられたというのはありません。やられているのは、肉あるいは牛乳そのものについてというのがすべてとっていいと思います。

○早川座長 よろしいでしょうか。

どうぞ。

○池上専門委員 そうすると、今の乳や肉類の分析結果から見て、臓器その他についても安全上、特に問題がないと判断してもいいと考えておられますか。

○渡邊専門参考人 私の方は、安全かどうかというのは、恐らく先生方に御判断いただくことと思うんですけども、やったことですね、乳肉については、データの的に差がないということは言えるかと思います。

○早川座長 どうぞ。

○尾崎専門委員 今の御説明の中で、乳肉に関する安全性試験をいろいろな形でやられておられますけれども、この質問は、ちょっと粗探しのところかもしれないのですが、消費者の目線から言うと、恐らく気になるところではないかと思うのです。それは異常プリオンについての可能性です。別に特にこのケースで科学的に高いとは私は考えないですけども、そういうものが出やすい状況になっていて、例えば若齢でも出てくるとか脳脊髄以外でも出てくるとか、そんな可能性はないのでしょうか。あるいは、それに関して、欧米の研究も含めて調査したものがあるのかどうか、そんなところ、もし、御存じでしたら教えていただきたいのですが。

○渡邊専門参考人 私の知る限りですと、クローンといわゆる BSE の関係の報告書はないと思います。ですから、何とも言えないかと思います。

ただ、研究としては、プリオンのノックアウト牛なんていうのをつくっている研究者はいますけれども、私の方でわかるのはここまでです。

○尾崎専門委員 安全委員会の方からたくさんの資料をいただいて、それを全部見るのがなかなかできないのですけれども、厚生労働省サイドあるいは食品安全委員会のサイドで異常プリオンについての研究というものがあるのかどうかということは把握されているのでしょうか。

○鶴身課長補佐 前回も欧米の概要のところを御説明させていただきましたけれども、その限りにおいては、特にそのような記載はなかったように思います。

ただ、おっしゃられるとおり、原著論文は非常に多くございますので、すべてを細かくというところはまだ至っていない状況です。

○早川座長 よろしいでしょうか。

どうぞ。

○和久井専門委員 今の御質問と少し絡むといえば、絡むんですけれども、12か月の飼養試験を行っておられるんですけれども、凍結乾燥ということで、大体5%ぐらいの混入なのかなという想像なんですけど、この場合は、乳肉というのは、乳と肉を分けて凍結乾燥したものを混餌投与して行ったということですか。

○渡邊専門参考人 説明が舌足らずで申し訳なかったんですけれども、やった試験は乳と肉を別々に凍結乾燥します。乳の方は、5%ないし10%、肉の方が1%ないし5%という2つの区を設けまして、それで栄養成分を基礎飼料と同じになるように、あるいはカロリーもそろえて投与します。

ですから、試験区としては、標準的な基礎飼料の区と、あと牛乳であれば低濃度区、高濃度区ですね。その3つです。

肉についても、標準的な基礎飼料と低給与区、高給与区というんですか、その3つずつを調査しております。

○和久井専門委員 あくまでも横紋筋ですね。

○渡邊専門参考人 そうですね。

○和久井専門委員 平滑筋については。

○渡邊専門参考人 平滑筋はやっていません。

○和久井専門委員 骨髄は。

○渡邊専門参考人 骨髄はやっていません。

○和久井専門委員 やはり一番初めのお話ではないですけれども、すべての食物という食べ物として考えたときには、先ほどの先生とダブるんですけれども、横紋筋だけで結論として出していいのか、ちょっと重箱の隅をつつくようなところで申し訳ないですけれども。

あと、凍結乾燥させたということの投与方法だけでいいのかというところですか。その辺はいかがでしょうか。

○渡邊専門参考人 そうですね。すべての臓器をやらなかったかということについては、

私どもの試験設計は、肉、普通食べる部分ですね、そういうことでやっております。私どもの試験というのは、今回の諮問とはまた別にやったものですから、諮問と必ずしも合わないところはあるかと思われまます。

そのところは、恐らく私が言うのもあれなんですけれども、先生方が御審査なさるときに、私どものデータをワン・オブ・ゼムとしてとらえていただければよろしいのではなからうかと思ひます。

凍結乾燥につきましては、私ども、実はラットの餌ということを考えていますので、そうすると、やはりラット餌ですと、扱いやすさを考えますと、凍結乾燥して粉状にして配合するのが一番使いやすいということでやっております。ですから、そういう観点で一連の試験をしたという次第です。

○和久井専門委員 確かに一般的にもほかに方法が、コンスタントな再現性の方法が見にくいので、凍結乾燥を使う場合というのは、結構あるのはわかるんですけども、実際に国民の方が凍結乾燥させた肉だけで、安全性を評価していいものかという、それを納得してもらえるものなのかというのは、私自身が昔からちょっと疑問に思っていたところがありましたので、その辺はいかがなのかなと思ひまして、質問させていただきました。

○早川座長 よろしいですか。ほかにいかがでしょうか。

○澤田専門委員 前の先生のとときに、むしろ御質問すべきかもしれないんですけども、ホルスタインと和牛のかけ合わせをよくつくられるというお話で、その理由がよくわからなかったんですけども。

○小島専門参考人 1つは、ホルスタインの初産牛のとときに、難産を避けるために黒毛和種の方が体格が小さいものですから、黒毛和種とホルスタインの一代交雑種をつくって、それを産ませる。産ませた場合、乳牛だと雌牛が好まれるわけなんですけれども、雄牛は非常に安く売らないとだめだということで、一代交雑種ですと、雄でも雌でもホルスタインの純粋種よりは高く肉牛として売れるという意味もありまして、そういうことで、現在のホルスタインの人工授精の約3割は、そういう人工授精の方式を取られているということです。

○澤田専門委員 ミルクの方に関しては、効率はどうなるんでしょうか。

○小島専門参考人 ミルクの方は、親牛は分娩をすることによって乳を出しますので、それは産まれる子どもの品種には関わりはないと思ひます。そういう結果になっていると思ひます。

○澤田専門委員 これからの利用の点で、そういうかけ合わせは価値があるのか、クロー

ンとクローンのかけ合わせなんですけれどもね。

○小島専門参考人 それは、今、クローンとクローンのかけ合わせで、実際にやられたというケースはあるんですけれども、それは当然優秀な雄を細胞提供牛に使っているわけですから、それから産まれた雄、それから産まれた雌を掛け合わせて、自然繁殖をさせて、多分、人工授精が多いと思うんですけれども、それで後代をつくるというのは十分意味があることだと思います。

○澤田専門委員 実際に、これから流通する可能性を考えまして、日本でもあり得るのかというのを、ちょっとお聞きしたかったのが質問の趣旨です。ありがとうございました。

○手島専門委員 アレルギーの誘発試験のところなんですけれども、乳肉のエクストラクトでのアレルギー誘発性を一般牛とクローン牛で調べられていると思うんですけれども、この試験の方で全体を見るということで、特に問題はないと思うんですが、一方で、アレルギータンパクの量的なものを一般牛、それからクローン牛の間で調べたという実験はされておられますか。

○渡邊専門参考人 残念ながら、そういった試験はやっておりません。ここにお示ししたものが、私どもが行ったすべてです。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

どうぞ。

○小泉委員 このクローン牛との差を見ていますと、生後に亡くなる確率はすごく高いですが、これは一般の牛でも認められると、3番目のスライドに書かれております。その原因として呼吸障害を起すとあるが、これは要するに確率が高いだけで、クローンと一般牛との間で呼吸障害の種類とかには差がないのでしょうか。

○渡邊専門参考人 言われるとおり、種類には差がありません。いわゆる一般の牛ですと、分娩事故とか、難産とか、そういうことで処理されるものが含まれます。

ただ、やはりクローンですと、このとおり頻度がどうしても高いというような現象だということですね。

○小泉委員 もう一つ、初期化のときに、人の技術によって差があるということはあるのでしょうか。

○渡邊専門参考人 勿論あります。やはりその人個人もあるでしょうし、あと、その研究機関等によって、流儀が微妙にございます。そこによって微妙に違ったりしてきます。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。よろしゅうございますか。

それでは、渡邊先生、どうもありがとうございました。

引き続きまして、クローン動物のエピジェネティクスについて、塩田先生から御説明をお願いしたいと思います。

○塩田専門参考人 塩田でございます。参考人ということで、エピジェネティクスの説明にまいりました。

アメリカ、ヨーロッパの報告書を日本語に訳したときに、言葉として大変わかりづらい日本語が出てきます。後成的という訳になっています。それは、もともとの英語で言いますと、エピジェネティクスということになります。

( P P )

つまり、スペルで書くと Epigenesis となります。それで、ジェネティクス (genetics) に接頭語のエピ (Epi) がくっついているという考えが一番素直かと思います。

エピは、例えばエピローグという言葉がございますけれども、そのエピです。プロローグに対するエピです。あるいは化合物でエピアンドロステロンという言い方をして、上とか外とか周りとか近くという言い方をする言葉の接頭語になります。ジェネシスは、これも古い言葉で、創造を意味します。

( P P )

文献で行きますと、エピジェネシスというのは、どういうことかという、何とアリストテレスの時代に書かれた語です。私たちの哺乳類を含めて体がどうやってできてくるんだという議論の中の1つとして出てまいります。体の各部分は、受精卵の分化より、あるいは同化により発達していくというのが基になっております。

( P P )

しかし、この考えはなかなか認められない時代が続きました。(ここに写真がございますが)顕微鏡を使って精子を観察してみると、精子の中に人間の小さいのがいるという図です。生まれる前から人は人の形をしているという(後成説に対する)前成説を支持するものです。顕微鏡ができて1600年代でも、後成説が認められていなかったという考えが現れております。この図は、この後成説と対立する考え、前成説です。つまり人間もほかの動物も、もともと体があって、そして体の中には心臓があって、頭があって、皮膚があって、人間の小型、動物の小型のものがいて、これがそのまま大きくなって、前から決まっているという説です。

それに対して、(随分前ですけれども、どうせ見えない時代でやっているわけですから)そうではないのではないかと、もともとそうではないものが少しずつ変わってくるはずだという考えです。

それで、このエピジェネシスとエピという言葉とジェネティックという言葉が一緒になりまして、エピジェネティクスという言葉が生まれております。

( P P )

安全と安心といったときに、この距離が大変長いのだと、つくづく思います。学生に講義をしていてもこれは思います。

このときに、安全側は幾つかの評価の指標がございまして、解剖学的、病理学的、生理学的、生化学的、発生学的、幾らでも記載のしようがございまして。

これに対して、実際にこれをやる手段としては、例えば重量をはかるとか、形を見るときか、あるいは目視によるものがほとんどでしたけれども、だんだん分子の解析ができるようになってきて、つい最近、ほとんどの動物で、私たちが目にする実験動物のレベルや、人間で、DNAの配列がみんなわかってきたわけです。

それに対して、一番下のエピゲノムとございまして、エピジェネティクスのゲノム全体の解析ですが、そういう部分が、実はまだ行われていません。人間も含めて、ほかの生物を含めて、今、これをどうするかという時代に入っています。

安全性を考えるとときに、現在の先端科学を用いてやりましょと、これはある意味では食品に限らず行われているわけです。

厄介なのは、新たな発見は次の疑問を生みますので、サイエンティストの方は、新しい発見を基にして、いつも次を言いますから、いつまで経ってもわからない、ということです。

この辺までの説明は、まだ、私たちの家族もわかるんですが、だんだんこうなってくると、ここで耳をふさいでいます。そして、専門家の領域が増えてくる分だけ、専門家の細分化が進んできて、この細分化が進んでくると、今度は専門家の中ですら、自分の専門ではないからわからないということが起きてきます。結果として、安心・安全ということからますます遠のいていくだろうと思います。

一方、こっち（安心）はどうやっているかという、昔から食べていたから、おじいちゃんが食べていたから、うちの家族はこうだったから、あるいはこうだと、非常に相入れない部分です。中には、それでもいいよと食べる人は、ある意味で鈍感であったり、ということになります。うちの家族にどうやってウナギを食べさせられるか、これは大変苦労しています。なぜならば、一人のメンバーが気持ち悪いと、でも私も食べていて、ほかの人も食べている、なかなかそうならないというところがございまして。改めてそういう生物について、エピゲノム、ゲノムのレベルでいろいろ説明できるかという、多分できませ

ん。

そういうことが前提で、改めて、可能な限りの安全検査をやるとして、そして、最終的には、もし私が自分で判断するとすれば、要は私の家族の中で、これは大丈夫、そう言うけれども、おなかですくのならば食べて、これはおいしいから食べて、そういう言い方に変わる分、この安全と安心の距離はものすごくある、というのを痛感しております。この会議に呼んでいただいて、しばらくこのことを、お風呂に入ったりしながら考えていました。

( P P )

改めてエピジェネティクスの説明をいたしますので、是非、御理解いただきたいと思えます。

( P P )

単細胞の生物、これは実は皆さんの体の表面にもたくさん単細胞の生物が住んでおりますし、おなかの中にもいます。例えば腸内細菌というのがそうです。大腸菌もそうです。大腸菌は、DNAの長さ、大きさが4.6メガベースですが、(私たちの体は)哺乳類のDNAは、けた違いの大きさに、これが2,500メガベースということになります。

大腸菌の場合は、1個の大腸菌が2つに分裂して、4つに分裂して、8つに分裂して、倍々に増えていって、幾ら増えていっても、この大腸菌のDNAのゲノム情報を全部使って、みんな同じような生き方をしています。わかりやすく言えば、単細胞の生物というのはDNAを区別なく、全体を使っているということになります。この生物では、当然ながら神経はありません。筋肉もありません。

多細胞の生物は、生命の始まりを仮に受精卵と考えると、受精卵が2つに分裂をして、4つに分裂をして、8つに分裂をして、最終的には体ができていきますが、そのときに、一部の細胞は別の形質を示します。フェノタイプが変わってくるわけです。この時、例えば血管の細胞であり、心臓の細胞であり、神経の細胞でありというふうにして、フェノタイプを示しますが、DNAそのものは受精卵から最終的に分化した細胞まで同じです。

問題は、こういう(単細胞)生物では、もともとあったDNAの情報を全部使って、同じことをやってずっと生きていくということです。この上で、もし、不都合があれば、ある細胞が死んでいけば、それで済み次の世代は分裂した次が担うことになります。つまり、効率は極めて悪いかもしれませんし、あるいは、逆に、良いかもしれません。とにかく生き残った細胞が、現在、地球上に今いる単細胞生物である微生物だということになります。

多細胞の生物の場合は、こちら(下図)です。発生の途中で、生存に都合が悪くなって

死ぬ細胞はたくさんあります。例えば、私たちの指の間には細胞があったわけです。けれども、体ができてくるときに、途中で死んでいます。尻尾の痕跡も同じです。私たちの体ができ上がってくるときに、最終的には、先ほどの古典的な生物学の解剖学、生理学の細胞の分け方を用いますと、約 200 種類の細胞が出てきます。実際は、もっとたくさんあると思います。そして、人間の体で約 60 兆の細胞集団です。とてもこの図に 60 兆書けません。

当然ですが、私たちの体は進化をたどっていくと、昔は単細胞だったはずですが。これが随分昔の時代があったけれども、最終的には多細胞になって、今、私たちがここにいることとなります。ここにいる私たちは、ずっと死なないで生き残ってきて、偶然の結果として、ここに生き残っているということとなります。生命の誕生から今まで 1 回も死んでいないわけです。幸いにここにいる人たちはみんなそうですね。このことで、生命はずいぶんとフレキシブルで融通が利くものだと思います。

( P P )

改めて、先ほどの問題ですが、ここにある DNA があって、これを使い分けしながら、いろいろな細胞ができてくるときに、何が起きているかといいますと、図の上の方に種類を書きました。そして、縦軸に細胞の種類を並べてございます。これは模式図です（実際のデータとは異なります。）。同様に右の方に遺伝子の載っている場所を書いてございます。この遺伝子で説明しますと、ある遺伝子は中が黒く塗りつぶされて、ある遺伝子は黄色に塗りつぶされています。これらは、少なくとも遺伝子が使われるという場所と、使われないという場所が、それぞれ遺伝子の領域によって複雑にでき上がってくるんだなということを示しています。つまり、細胞の種類によって、遺伝子の 1 番は、例えば起きて（活動できる状態にあり）ます。2 番も活動しています。ところが、3 番については、どうやら眠っており活動できる状態ではない、4 番も眠っている、ということを示しております。そのようにして、筋肉は筋肉特有の遺伝子の発現を可能にして、そして、神経は神経特有の遺伝子の発現を可能にしています。

もう一つ、そういう中で例外なのは、生殖細胞、この場合、ここに精子と書いています。模式図ですから、ここに同じことを書きますが、一部の細胞だけが次の世代をつくるということになって、そして、もう一回ここ（受精卵）に戻ります。したがって、卵から受精卵ができて、受精卵から体ができて、体ができた後、発生の過程で生殖細胞ができて、生殖細胞から卵ができるということを繰り返して、今までの生命がつながっているということになります。

そのときに起きていることは、こちら側の生殖細胞以外の細胞、体細胞といいますが、体細胞はすべて DNA のメチル化という、この後に説明いたしますが、塩基配列は全く一緒なんだけれども、DNA のメチル化という情報が違ってきます。

同様に体細胞に限らず、生殖細胞も生殖細胞特有の DNA のメチル化のプロフィールができてきます。また、精子と同じように、卵もそのようになります。卵と精子は違ったプロフィールを持ちます。このことは、クローンを親牛とした後代検定の場合すごく重要になりますので、そのことを是非覚えておいてください。

( P P )

これも家族と話していて、ああそうかと思ったのですが、例えば脂肪は細胞ですということがあまり理解されていないかもしれません。これは専門家の間では当たり前なのですが、脂肪というのは、単に脂肪がふらふらあるというのではなくて、脂肪細胞なのです。脂肪をため込んだ細胞です。同じく筋肉あるいは肉というのは筋細胞です。ですから、肉とか、仮に脂肪が混ざった肉とか、あるいは脂肪の塊というときは、あれは細胞を食べているということになります。その中には、一部血管の細胞がありますし、一部血管の平滑筋の細胞もあるということは一般に認識されていないかもしれません。とにかく体中の組織のほとんどは細胞由来で、そして、細胞が食べているもののほとんどです。

この細胞の、おいしさの成分はタンパク質で、それ以外に核酸があります。核酸とは何だというと、DNA です。

( P P )

改めてエピジェネティクスの定義です。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と、非常に難しい言い方になりますが、何のことはない、先ほどのことです。受精卵が細胞分裂を繰り返して、幾つかの細胞ができます。最終的に 200 種類の細胞が生まれます。そのうちの一部は、例えば神経細胞であり、グリア細胞であり、脳を含めて、哺乳類ではそういうことが起きます。脳のない生物では、別の細胞ができます。

この間に、DNA の塩基配列は一定なわけです。変わっていないんです。それがエピジェネティクスの基本です。ですから、多細胞生物を考える場合は、エピジェネティクスを考えないと、体がなぜできるかがわからないわけです。

( P P )

DNA のメチル化というのがどういうことかと言いますと、私たちの体の DNA は、4 種類の塩基からできています。アデニン、グアニン、シトシン、チミンです。その中で、哺乳

類では主に、アデニン、グアニン、シトシン、チミンの中の CG という配列があるときに、多くの場合、メチル化されています。DNA のメチル化というのは、シトシンの 5 位の場所にメチル基（メチルアルコールのメチル）が導入されることです。DNA のメチル化は酵素が行います。

DNA の配列をここに示しましたが、この酵素が作用すると、ここ（シトシン）をメチル化します。まだメカニズムは不明ですが、逆に脱メチル化するメカニズムがあります。一旦メチル化されると、この図で示したように細胞分裂を起こしても続いていくメカニズムが知られています。ですから、発生の過程で一旦ある遺伝子がメチル化されると、次の細胞世代でメチル化していて、体ができあがったときに、（つまりしばらく後になっても、）まだメチル化されているということが起き得ます。それによって、例えば私たちが指をけがしたときに、その指から新しい個体が発生するとか、今、尻尾はなくしましたがけれども、尻尾を切ったときに、もう一回尻尾が出てくるといったことがないように再生が防がれているわけです。つまり、再生が簡単に行かなくなっています。私たちの体の多くはそうです。

そういうふうにして、一過的に物事を終えるのではなくて、DNA のメチル化を含めてエピジェネティクス機構が働くと、その遺伝子の働き方をしばらく持続します。しばらくというのは、細胞の種類によって違ってきますけれども、それによって組織の一定性を保ちます。遺伝子のメチル化の場所によりますけれども、もし、このメチル化が遺伝子発現の場所に現れると、この遺伝子はずっとサイレント（不活性化）になります。あるけれども、使わないということが起きてきます。

私たちが、今、携帯電話を持っていて、昔は単に電話をかけるだけが電話の機能でしたがけれども、今はいろんな機能が付いていて、それをみんな使っているかというのと、そうではないわけです。つまり、使わない機能がたくさんあるのですが、私たちが最終的に体ができ上がったときには、実は DNA をみんな使っているのではなくて、ある場所によっては、遺伝子を使わなくしています。その機構の 1 つが、ここで言っている DNA のメチル化です。

（ P P ）

メチル化が起きる時に、こういうことも起きます。（この図は配布していませんが）先ほど言いましたように、3' -ACGTACGT-5' とこういう配列があるとすると、反対鎖は DNA の 2 本鎖ですから、反対鎖も 3' -ACGTACGT-5' となります。この図で、黄色に書いた CG と茶色に書いた CG がございます。モデルとして一方側をメチル化して、一方側はしないという図になっています。このときに起きるメチル化、CH<sub>3</sub> と書いたメチル基が導入される反応が、酵素によって、DNA の合成が行われた後に行われます。これは、酵素が行います。

この酵素が行うと、この反対側が同じく CG になりますから、ですから、ここにもメチル基を導入します。そういうふうにして、ここに細胞があったのですが、細胞分裂によって、この基の DNA の配列が次に受け渡されるということが起きます。これは 2 番目の細胞（娘細胞）です。

次の細胞でこれが基になると、また次の細胞が生まれてくる時、酵素が親鎖 DNA のメチル化を認識して反対鎖（新生鎖）にメチル基を導入します。次の細胞分裂に際しては新たにできた娘鎖が親鎖（鋳型）になって、さらに新しくできた DNA に酵素によってメチル化が起ります。したがって、DNA 塩基配列以外に、DNA のメチル化パターンが次の細胞に伝えられるということになります。つまり、ここでメチル化のパターンが伝えられるのと同じように、隣の細胞も元の細胞から由来した場合はメチル化のパターンが受け継がれるということが起きているわけです。

中には、この機構が働かないとか、積極的に脱メチル化する機構がありまして、そうすると、もともとメチル化されたのが、されないという組み合わせが、体ができていくことによって起きていきます。

（ P P ）

DNA は細胞の中の核の中にありまして、裸（単独）でいるわけではございません。DNA のメチル化が起ると、そのことと合わせて核の中で、別のタンパク質に巻きついて存在しています。ヒストンというタンパクです。ヒストンに巻きついています。DNA が巻きついたものが、更に巻きついている、コイルがコイルをつくって、更にコイルをつくるというふうに DNA は凝縮した形で核に収まっています。DNA そのものを抽出すると、2 m（約 1 m の長さが 2 本入）にもなります。それが 10 ミクロン以下の核の中に収まるというのは、こういう凝縮した形を取れるからです。

遺伝子が働くときは、一部が緩みます。緩んでいるところは、普通、DNA がメチル化されないところで起きます。DNA のメチル化と、ヒストン修飾がいつもお互いに依存して、そして、遺伝子が起きたり（活性化されたり）、寝たり（不活性化されたり）ということがあって、このことは、細胞世代を超えて持続するという性質を持っています。もし、DNA がメチル化されたり、クロマチンが凝縮したりすると、何が起きるかと言いますと、ここに遺伝子があったとしても、この遺伝子を動かそうという指令が来ても、実は、この遺伝子は動かない、ということになります。もともとこれはなかったものと考えてくださいというような挙動に出ます。あっても使えないのです。その結果、例えば、肝臓の細胞が神経細胞と同じような機能を果たせるか、というと果たせないわけです。

そうすると幾つかの遺伝子のスイッチを考えられることになります。ラジオを想像していただいたときに、メインスイッチというのがあります。メインスイッチが切られてあれば、ボリュームスイッチを幾ら上げても音は出ません。もし、メインスイッチを入れてあれば、ボリュームスイッチを上げれば上がります。遺伝子の調節には、少なくとも違ったレベルの2つのスイッチがあって、メインスイッチに相当する方がエピジェネティクスのスイッチです。エピジェネティクスのスイッチは、最近、DNAの塩基配列がよくわかってきた後、ここの部分、果たしてどうだろうねというふうにして、今、一番盛んな領域、研究しなければいけない領域の1つになってきています。

( P P )

したがって、ひと昔前の教科書では、DNAの配列があって、それから mRNA の配列のことが書いてあって、それからタンパクがあって、糖鎖があって、あるいは脂質があって、それは先ほどの脂肪も関係しますが、それから代謝全体を見るものがあったのですが、もう一つこの先に問題になってくるのは、エピジェネティクス情報です。それは、この図でちょうど間に挟まってきます。エピジェネティクスの情報として、DNAのメチル化と、クロマチン構造と書いていますが、これはヒストンの修飾を解したクロマチン構造という意味です。

DNAの配列は、個体によって違います。ですから、これによって、これは例えばだれだれの血液であるかということは解析できるわけです。だけれども、この図の下の部分は、細胞の種類によって異なります。細胞の種類によって異なっているのですが、さらに下のトランスクリプトーム (mRNA) と違う大きな部分は、細胞世代を超えて、次の細胞世代で持続しうる点です。個体ではなくて細胞世代に伝わるメカニズムがあるということです。ですから、1回分裂した後も、前の細胞と同じ細胞のフェノタイプを示せる。そうすると、クローンをつくるということは、それを覚えてやるということになりますから、あるいは再生医療の細胞をつくるというのは、それを覚えてやるということになっていくわけです。

( P P )

これは1つ例として、脂肪細胞が線維芽細胞と言われる細胞からできてくるときの移り変わりです。私たちがどこかを怪我したときに、最初に増殖して埋めてくれる細胞が線維芽細胞です。このデータは、線維芽細胞の細胞株を用いた実験です。まず、細胞が増えた後に、ある種の薬剤の処理をしてやると、脂肪を持った細胞が現れます。つまり、培養下である種の細胞のフェノタイプを変えることができます。1回変わったフェノタイプは元に戻りません。これを分化と言います。分化の根っこで何が起きているかという、遺伝

子の先ほどの DNA のメチル化情報なのですが、ある遺伝子ではメチル化されるし、ある遺伝子では脱メチル化されるという両方の組み合わせが、非常にたくさんのゲノムの場所で起きているんだということがわかってきました。つまり、ある遺伝子のところは起きていくし、ある遺伝子は寝ていくし、それは細胞が分裂して、あるいは増殖して別の細胞に変わっていくときに、必ず起きています。それが、あちらこちらで起きていますが、この図はたかだか数十か所を示したのですが、これが数千か所、数万か所レベルで起きております。

( P P )

そうすると、先ほどの食べる肉の話ですが、あるいは骨でも一緒です。神経でもそうです。遺伝子があって、その遺伝子配列は、どの組織もどの細胞も全部一緒です。(一部の例外は免疫細胞なんかで、例えばある種の免疫細胞の一部は DNA がなくなると、組換えを起こすということがわかっています。それは、利根川先生たちの業績です。) だけれども、それは例外的で、ほとんどの場合は、DNA は全く一緒なのだけれども、使う場所と使わない場所が組み合わさって、私たちの体ができてくることになります。

そうすると、遺伝子のもともとの、DNA のもとのところが起きたり、寝たりする、このスイッチの話が、最終的には、ある遺伝子の発現に関係し、その細胞がどういう細胞であるかということに関わります。でも、逆に、その場所があまり形質に関係のない遺伝子のところだと今は関係ないということが起きます。このように、エピジェネティクスは今までなかった生物学で、エピジェネティクスが、今、その新たなパラダイムになってきつつあります。

( P P )

改めて、生殖あるいは個体の発生とは一体なんだということに入ります。

( P P )

私たちが、今、ここに 200 種類の細胞、60 兆の細胞の塊として存在するわけですが、これができたのは、先ほどから申し上げていますように、受精卵があって、そして細胞分裂を繰り返して、最終的にはこうできました。

この過程で、胎子期に幾つかの細胞の集団ができて、これはそのまま培養すると、ES 細胞とか胚性幹細胞という細胞になりますが、そういう細胞の集団がある分裂の過程で生まれてきます。

そのうちの一部から生殖細胞が生まれてきます。その生殖細胞が、もし、受精卵が X、Y を持っていて雄であれば精子ができます。もし、これが雌であれば、別の個体から同様に

卵ができます。卵と精子が一緒になって受精卵ができて、もう一回ここ（受精卵）に戻りますから、このようにぐるぐる回って行って、今の私たちはここにいるということになっていくわけです。

このときに、クローンというのは、ここの核を、受精卵ではありませんが、卵に移植するということになるわけです。

( P P )

改めて、さっきの受精卵が分裂を起こして行って、ES細胞の基になる細胞とか、（それからES細胞だけでは体ができませんで、）着床して胎盤をつくる必要があります。胎盤の働きで、胎子のからだを作る細胞は栄養をもらいながら、あるいは、ガス交換を受けながら、それから母親の免疫系から、逃れながら、胎子の細胞が育ってゆきます。胎盤が機能するために、最初の細胞分裂、胎盤の細胞の分化が必要です。胎盤の細胞は、細胞の塊の外側にいつもあります。内側の細胞はそうではありません。外側の青く書いた方です。その細胞をここに書いてございます。栄養膜細胞、胎盤の基になる細胞、トロホブラストステムセル（Trophoblast stem cell、TS細胞）というトロホブラスト幹細胞と、胎盤以外の組織になり得る胚性幹細胞（ES細胞）ですが、こういう細胞が、それぞれ今、樹立されています。そして、この細胞ができるために、先ほどのエピジェネティクスのマークを大きく変えています。変えないと、こういう細胞ができないことになります。

( P P )

代表的な遺伝子の1つは、Oct4という遺伝子があります。このOct4は、実はほかの遺伝子を動かすとか抑制するという転写を指令する遺伝子で、転写因子と言います。

発生が開始すると、ある時期に、Oct4という転写因子は内細胞塊（ES細胞になる）では発現しているけれども、栄養外組織（TS細胞の基になる）だと発現しないということが起きます。つまり、Oct4は、これから体の中のどの細胞にもなれる細胞で発現するという特徴をもっていて、発現しなくなった細胞は、胎盤の細胞に分化するということになっていきます。

最初の分化に関係する発生の謎は、このOct4がどのようにして発現したり、しなかったりするのということになっていきます。

( P P )

この図はちょっとわかりづらくて申し訳ないんですが、白丸で書いてある黄色以外のところ、これはメチル化されていないマークです。ES細胞ではOct4が目覚ましているということが、この実験からわかります。TS細胞、胎盤の細胞に基になる、あるいは別の組

織、肝臓であるとか、腎臓であるとか、別を見ると、実は高度にメチル化されていて、この遺伝子を動かそうにも、これは寝ていて動けないということが起きております。

( P P )

つまり、DNA の塩基配列は一緒ですが、DNA がこちら (ES 細胞) は緩んだ状況にあって、こちら (TS 細胞) は縮んだ状況にあることがわかります。緩んでいるとき何が起きているかというと、DNA はメチル化されておらず、ある種のヒストンの修飾が起きます。

同様に別の修飾ヒストン修飾の組み合わせもたくさんあるんですが、ここにはアセチル化のマークだけを付けていますが、それによりヌクレソーム構造は緩みます。一方、TS 細胞のヌクレソーム構造は縮んでいきます。このように TS 細胞では Oct4 遺伝子は動かなくなり、ES 細胞では動ける、ということが起きます。

( P P )

Oct4 の遺伝子は ES 細胞でメチル化されていません。これはマウスのゲノムの図なんですけど、Oct4 は 17 番の染色体に乗っかっています。ES 細胞では目を覚ましています。そして、Oct4 は TS 細胞では寝ています。同様に、ほかの体細胞でも寝ています。体全体と前ゲノムで一体どうなっているんだろう、という疑問が生じます。つまり、体を作っている数百種類の細胞は、一体どうなっているんだろう、脂肪細胞はどうなっているんだろう、という問いかけが、同じゲノムを使いながら、いろいろな細胞が生まれてくるメカニズムからわかることになります。

( P P )

この図は、そのうちの一部分の一部です。DNA が、こちらに細胞の種類があって、これは何でも構わないのですが、こちらに遺伝子のローカス (Locus) の略が書いてございまして、要はこのように、起きている、寝ているの組み合わせがたくさんあって、使う、使わない場所があって、細胞ができています、ということになっていきます。

( P P )

これを一番最初にお示ししました図で示しましたが、DNA のメチル化プロフィールと呼んでいます。プロフィールは細胞特有です。細胞特有のために、例えば細胞を取ってきて、細胞同士を比較すると、この細胞の違いがこういうところにあるなということがわかります。

同様に、ある種の細胞が集まって、組織ができますから、例えば組織ごと、脳と筋肉を比較すれば、DNA のメチル化を調べることで組織を言い当てるのが可能になります。そういうふうにして、DNA のメチル化プロフィールが細胞ごとの違い、組織の違いというこ

とを規定することが可能になります。

( P P )

そのことは、DNA のメチル化プロファイルを比較していくと、もう細胞がなくても、ゲノムがあれば、どの細胞とどの細胞が近いか、遠いかということがわかってきます。あるいは同じ種類であるかどうかということがわかります。このことを基に、私共は、クローンで解析してみたわけです。

( P P )

これもまた先ほどのものの一部です。今、このレベルで数千か所がわかってきています。

( P P )

極めて大事なことは、もし、DNA が全部寝ていれば、全く機能しないということになりますから、これは細胞が死にます。同じくみんな起きていれば、これは、例えば会社でも大学でもそうですが、みんなが起きて、ものを言い合っているというところで、授業も成り立たないということになっていきます。

( P P )

したがって、起きて起きて、全部が寝るという状況は、細胞は生きられないという状況だということになります。実際は、起きていることと、寝ているところの組み合わせができています。その組み合わせが、ある細胞から別の細胞になるときに変化します。その結果、別の細胞のプロフィールができあがります。このようにして、体ができていって、数百種類、私らの体の中にあるということになるわけです。

( P P )

また、専門のスライドで申し訳ございませんが、もう少し体ができるときに何が起きているかということを考えています。これは、ちょっとまた混乱いたしますが、DNA メチル転移酵素、DNA をメチル化するための酵素です。その酵素が、どうやら DNA のメチル化で制御されているようです。少し混乱するように、わざとこれを入れたのではないのですが。つまり、肝臓では、Dnmt1o という DNA メチル転移酵素の幾つかの種類の中の 1 つは防がれていて動けなくなっています、発現しなくなっています。精子では、同様にこれも働いていません。転写因子が来ても動けない、要はないのと同じことです。ところが、卵でだけ、目を覚ましています。その理由は、ここから遺伝子が読まれていくように、ここの遺伝子が緩んでいなければいけないです。オープンになっていなければいけないです。

そのために、卵でのみメチル化されていないのです。ところが、ほかの組織では全部メチル化されて、卵以外では発現してはいけませんよということが起きております。もし、

これがそうならないと卵はできません。そういうことがあって、ここの領域を注目したときに、ここだけを見ていただきたいんですが、精子はメチル化されています。卵が一部、ここがほぼメチル化されていないということです。

受精というのは、卵子と精子が一緒になって1つの細胞になることです。この実験のデータを基に、受精のときに何が起きるのだということを一度見ていただくと、体ができてくるというのは、どういうイメージかということがおわかりいただけると思います。これは、排卵して20時間後の卵で受精した後ということです。興味深いのは、Dnmt1の遺伝子を制御する領域のそれぞれのCGの配列のメチル化パターンが、メチル化されている精子側のシグナルと、卵側の100%メチル化されないシグナルが、受精によって、どのように変化するかということです。受精により卵と精子のどちらでもないDNAメチル化パターンに変化することが示されています。この後、受精卵が分裂して2つに分かれ2細胞期になります。2セルです。2セルは、まだ双子になれるだろうという時期です。受精卵が1回のDNA合成（複製）を終えた後だということになります。1回のDNA合成で、なんと驚いたことに、さらに大きくDNAメチル化パターンが変化します。次に4セル、同様にもう1回DNA合成が起きて、細胞が4つになるというときに注目します。また変わります。こうやって複雑なプロフィールを繰り返していきます。1つの遺伝子の上流についての実験結果ですが、これが数千、数万か所で起きていることを想像してください。これが数百種類の細胞を生む基になっていっているわけです。

そして、更に複雑なのは、DNAメチル転移酵素が、こういう制御をやっていますから、DNAのメチル化によって、これが制御を受けており遺伝子が影響を受けるということです。DNAメチル転移酵素が、別の細胞のDNAのメチル化を制御することと関わってくるわけです。そういうことになって、これを全部データを取り理解するには、この後、恐らく何十年か最新機器を使っていろいろな解析をやって、膨大な予算を投入することが必要になると思います。

( P P )

今のような複雑なことがあるということを背景にして受精から発生を得て誕生を考えてみてください。昔はすべて見た目でこうだということやってきたわけですが、改めて受精子の変化だけ取り出してみても、（通常の交配でも、in vitroの受精でも）極めて複雑なことが行われています。

実は、先ほどのDNAのメチル化マークを使ってエピジェネティクス変化を調べていくと、意外なところで、エピジェネティクス状況は結構影響を受け変わるということが、最近わ

かってきています。

この図は、F1 のストレイン、いわゆる近交系、昔の言葉で純系というふうに言っておりましたが、遺伝子がきれいな動物です。きれいというのは、個体間で差がないという、ある意味ではクローンに近いわけです。普通の生物の世界では、佐渡で日本のトキが絶滅したように、純系は生きていけません。逆に言うと、実験動物というのは近交系ですから、みんなその意味ではおかしい動物です。遺伝子がみんなきれいだという意味です。

それに対して、実はそういう卵というのは、*in vitro* ですごく弱いということで、こちらは純系です。C57 の BL6 と書いた、B6 はそうです。37% しか細胞分裂を繰り返して廃盤細胞というステージまで到達をしません。そのため、よく経験的に研究者の間で使われるのは、近交系の掛け合わせ雑種第一代 F1 です。F1 の方は 91% というので、通常研究者は、F1 を使っています。これは経験的にそういうことをしています。なぜこうなるかわからないままです。

このときに何が起きているかというのを調べます。培養するとき酸素濃度を変えてやりますと、通常私たちが空気中で酸素を吸っているときというのは、20% 近いわけですが、5% に酸素濃度を下げてやると、この発生率が少し上がります。こちらは、約 80%、あまりかわらないという状況があつて、酸素濃度を変えたとき、変えないとき、そして、均衡系と F1 でどうなるかということ調べたわけです。先ほどの遺伝子領域の幾つかについてです。そうすると、結論は、まず、F1 ハイブリッドで、ハイブリッドと近交系で異なる、同じじゃない場所があります、ということが 1 つです。もう一つは、培養の仕方で、影響を受けます、ということです。エピジェネティクスは雑種におけるゲノムの利用法の違いを生みますし、培養の物理的・科学的環境により変わってくることは、どうやら間違いなさそうです。このことは、卵に限らず、普通の細胞培養でも起きています。

ということで、少なくとも *in vitro* で胚を扱う操作そのものというのは、いろいろな可能性を生みます。試験管内での培養法の違いにより、あるいは、ゲノムの組み合わせにより、遺伝子の場所がメチル化されたり、されなかったりがあつて、いろいろな組織の組み合わせができていっていると考えた方がどうもよさそうです。

(P P)

今までをまとめます。まず、いろいろな DNA のメチル化プロフィールができて上がります。

これらは、もとは、受精卵のパターンが変化して、発生を通してできたわけです。このうちの一部から生殖細胞ができて、別の個体の生殖細胞と一緒にあって初期胚ができて、こうやってぐるぐるまわっているわけです。こうやって、私たちの体ができて、この

ときのエピジェネティクスの状況は、いろいろなものによって影響を受ける可能性があります。それによって、さまざまな細胞が生まれてきているということになります。

( P P )

正常の発生のメカニズムとして重要であります。したがって、DNAのメチル化が異常だとどうして途中で死ぬとかというのは、ある意味で、むしろ当然であることになります。

つまり、もし、心臓の細胞ができなければ、循環器を必要とする時期になれば、死んでおかしくないわけです。もし、肺を使う時期になったときに、肺の機能の一部がおかしければ、これは死んでおかしくないわけです。もともと遺伝子のどこを使うかということが適正につくられてきていないからということ、当然あるだろうということになります。改めて、クローン動物を解析します。

( P P )

これは随分古いスライドですが、マウスでつくられた当初、成功率は2%ぐらいでした。そのときに、1つ考えておきたいのは、発生率が低いことです。今、これが5%を上回っているかと思えます。とはいえ、90%以上死んでいるわけです。最初(発生前)に)それで、100%と書きました。この時期は、例えば卵は生きていて、それからドナーとなる核の提供者となる細胞は生きていて、受精直後は生きていて100%です。そして先ほどのメチル化と脱メチル化の組み合わせが悪いと、当然培養していても死んでいくということは起きますし、もし、胎盤ができなければ、ここで死んでいくということは起きますし、そして血管ができなければ、あるいは心臓ができなければ、肝臓ができなければ、幾つかの意味で、どんどん下がるだろうということになります。

そうすると、クローンはなぜ死ぬんだというのは逆で、なぜ生まれるのかということになります。せめて2%にしても、何でこんなので生まれるんですかと、なるほど、ここまで来たときに、逆にこちらは死ぬのはこうやって見ると、当たり前だということになってくるわけです。つまり、かなり遺伝子の使い方がフレキシブルである、ということになります。

( P P )

胎盤はこの写真のようにできています。生まれてくるのは、ネズミの場合、約20日でハツカネズミと呼んでいるわけですね。着床はこの付近です。これまでは *in vitro* で子宮の中であり、卵管の中であり、あるいは母親の体にまだ直接養分を血管からもらわない状況であります。

胎盤ができることで、それで、最終的にはげっ歯類とか、あるいは人間の胎盤を模式図

で書いていますが、こういう細胞の集団ができ上がります。いろんな細胞の集団ができ上がります。

( P P )

ここにコントロールの正常交配による動物の胎盤の、これが半分です。こちらがあつて、こっちにもう一個付いているちょうど半分で来ています。それがあります。こちら1番と3番と書いてあるのがクローンです。

わかりやすいように下に絵を描きますと、普通は細胞の境界線、ここにある種の細胞があつて、こちらにある種の細胞があつてということになって、ここに境界線が見えるんですが、これが乱れて、非常に幾つかの複雑な形になっています。

結果として、この胎盤は、こちらの胎盤よりも大きくなっています。よく、なぜ、クローンの動物の胎盤は大きいのですかと聞かれます。いろんなレベルの答えはありますけれども、1つ大きいのは、細胞が複雑に、もう少し幾つかの部分がこのようにきれいにいかなくて、複雑に組み合わさっていますね、結果として大きくなっていますねということは言えます。多くの場合そうです。でも必ずしもそうではあません、ということも起きております。

( P P )

同じく、これがもう少しわかりやすい組織ですが、これは自然交配のときの細胞の層がここに透明の部分があつて、少し濃いところがあつて、もう少し薄いのがあつて。ここだけ薄いところを広げたときに、少しだけ違う細胞集団に見えると、こういう組み合わせができてきます。

このときに、ある細胞集団が、どうやら異常にここは増殖しているということが見られます。この増殖のメカニズムは何だろう。

( P P )

先ほど言いましたように、エピジェネティクスの異常は一番考えやすいということで、全体を解析します。これは、先ほど出したのと同じですが、イメージです。生のデータではございません。実際はもっと複雑です。この中で、これが正常のプロフィールだとすると、クローンでは、この中である一部起きているべきが寝ているとか、寝ているべきが起きていると、そういうことが起きていることを報告してきました。例えば、ここに胎盤のDNAメチル化プロフィールが書いてございますが、その中に生殖細胞用のパターンが含まれている。この中のこういう部分で異常があるということ、私たちは以前に見つけて報告したわけです。

ただし、異常はその数の問題が重要になります。この解析をやるときに、1回に1,000か所とか2,000か所の場所を解析して調べています。そうしたときに、数か所で異常が出てくるという結果が得られています。異常が出てくるのは、クローンの動物によって一定していません。中には、全く今の形の解析をやったときに、ここでは、このクローン1では異常があったのに、別のクローンではこっちだ、あるいは1も2も両方ともここは異常だと、そういうことが起きています。

( P P )

ここでの解析はマウスですから小さい動物で、組織が限られていますので、生まれてきた動物、ここまで来て胎子の発生がほぼ完成した時点で胎盤の解析をやったわけです。そこで、もう少し発生の早い時期で解析できないか。予想では、もっとたくさん異常があるはずだということになります。だから死んでいるのではないかと、考えられます。マウスで、この時期（発生の早期）に実験をやるのは大変厄介で組織が足りな過ぎる、小さ過ぎるということになります。

( P P )

それで、当時、今もこの名前でしたでしょうか。先生方をお願いして、クローン牛のサンプルを解析いたしました。これは数年前です。核の提供者になった卵丘の細胞がここにあります。核移植をして、59日目の胎膜、胎子を包んでいる膜です。胎膜も細胞です。それから胎子の脳の解析を行いました。胎膜から取り出した59日の胎子はこの大きさで、6センチぐらいの体長ということになります。これに、卵丘細胞と、コントロール側の胎膜を示します。ICFMと書いたのが胎膜です。それぞれ、2頭のクローン牛（1番、2番）及び人工授精牛の胎膜と脳のDNAメチル化を調べました。まず、最初の遺伝子グループが、卵丘細胞で、もともとメチル化されていなくて、卵丘細胞のために働いていたような遺伝子（群）です。これらは脳や胎膜ができてきたときに、全部メチル化されて、眠っています。少なくとも脳ができてくるときに、胎膜ができてくるときに、眠らせることというのは極めて大事だったはずです。次に示す遺伝子（群）は、逆に、もともと眠っている遺伝子です。この細胞で眠っているところが、胎膜や脳などの組織ができてくるときに、脱メチル化が起き目を覚ますということが見られます。

最後は卵丘細胞で眠っていて、脳ができるときは、そこは眠ったままであるのだけれども、胎膜ができるときは目を覚ましています。そういう組み合わせがあって、これが数千か所、数万か所で起きているはずです。

クローンのときに、これがどうなったかということです。先ほどの予想は、もう少し、

先ほどのマウスで見たものよりも、発生の早い時期であるだけに、異常がたくさんあるはずだと考えていましたが、どうやら予想どおりになりました。つまり、ここが正常個体ではメチル化されるのですが、このクローンで見ると、どうもそういうことは起きていません。しかも、異常を示す遺伝子は数が多く、起きています。クローン1番に限らず2番でもそういうことが起きました。つまり、もともとメチル化されているべきところが、メチル化されない場所がありますねということが起きています。したがって、これらの遺伝子領域というのは、このクローンの1番、2番で頻繁にエピジェネティクス、DNAのメチル化の異常がある場所だということがわかってきたわけです。

( P P )

先ほどの模式図で書くと、正常の発生はこういうふうになっています。核移植した場合は、もともとあったこれから核を取ってきて卵に移植したときに、このメチル化のプロファイルを大きく書き換えて、作り直していかないと、元の細胞のままだということになります。元の細胞のままのものは、そのまま体に戻しても、母親に戻したとしても、育つとは思えません。あるところまで来たものが、育ち始めるのですが、そのうち、ほとんどはうまくいかなくて、死んでいくだろうと考えられます。逆に生まれてきたものというのは極めてラッキーで、これは異常があるのだけれども、生まれてくるまでは、まだ、それほど頻繁に使わなくても済む遺伝子、あるいは発現がなくても、そこまでは生きられる遺伝子というのがあったのではないかと考えられます。

これは、個体によってどっちへ入るか、こうなって2%で生まれてきても、この後死ぬかもしれない。あるいは98%でも何か処置をすると生まれるかもしれないということが、この中には全部含まれていて、クローンの個体ごとに違ってくるということがあります。

先ほどの胎盤がなぜ大きいかというところですが、これは幾つかの解釈がありまして、もし、普通の胎盤の大きさでいったら、ひょっとすると、2%もうまくいかなかったかもしれない。つまり、ある種の機能が少し落ちたとすると、それをカバーしようとして、更に細胞増殖を伴って、そして、そこに栄養を更に供給するのだということがあってもおかしくないんです。細胞や組織は、普通考えているよりもっと融通が利くようだと考えたほうが良さそうです。ですから、胎盤が大きくなるのが異常だというのではなくて、最終的に生まれてきたものはそうなっていて、そのことがあったから生まれてこられた可能性はあると、逆に考えることは可能だと思います。それを実験的に証明するのは大変厄介ですが、いずれにしても、実は胎盤というのは、動物によってすごく大きさが違う、形も違うという、極めて新しい組織ですから、そのぐらいの違いがあるのは、何の驚きもないと

いう気もいたします。

( P P )

更に、私たちがマウスで検出したクローン異常について、誕生後の追跡研究を紹介します。ちょっとこれはややこしいのですが、ここだけ見ていただきたいんですけれども、A群は新生子、生まれてすぐです。B群は5か月、C群は26か月で、生まれた後にエピジェネティクス異常がどのくらい続くかということ解析した研究です。同様に、この表は同じことですが、上に生まれてすぐ新生子があって、それで10か月程度があって、27か月があるということです。この実験は、言うのは簡単ですが、2年ぐらいマウスを飼っているということになり非常に大変です。この表で、プラスマイナスというのは、約2,000か所を調べた中で、4つぐらいの異常が新生子、新しく産まれたマウスで検出されました。このとき、対照側で、もともとメチル化されていないシグナルとして遺伝子の場所が検出されているのですが、それがクローンの1番と2番両方で、どうもそのスポットがないことがわかると思います。つまり、メチル化されているのです。ところが、こっちは全く逆で、もともとメチル化されスポットが見えなかったのが、1番、2番でいくと、脱メチル化により検出されるようになっていました。こちらは、そのうちの1個が違う。こういうことが起きています。

( P P )

このように、幾つかの解析を組み合わせても、大体1,000か所につき、1、2か所ぐらいの割合で異常が出てきています。ただ、恐らくその異常は、生きていく上では差し障りなかった場所だから生きていたと考えることが可能です。そうでなければ死んでいるはずですが。遺伝子を壊して動物がどうなるかという研究と全く同じように、遺伝子が動かなければ、死ぬ場所というのは沢山あるはずですが。そして、8か月から11か月になってきたときに、予想外のことが起きました。異常を検出しようとした時に、この頻度が少ないということに気づきました。生後に、時間の経過とともに、異常が減るということが起きているようです。23か月、27か月になると、実は全く検出できなくなる、ということになりました。その解釈ですが、新生子では、例えば肺の機能が異常だからこれで死ぬ、問いことはあるでしょう。一方、生後時間が経つと、ある細胞の一部がほかの細胞との競争の上で一部が死んでいくということも想定されます。というのは、私たちの皮膚の細胞はしょっちゅう生まれて、しょっちゅう死んでいますから、そんなようなことがあったときに、最終的に生き残ってくる、こういう動物の組織あるいは動物自体というのは、ほぼこのレベルの検出ができなくなっていくということが起きていると考えていいと思います。

( P P )

後代 F1、更にクローンのクローンをつくって、次を生ませたときに、それが果たしてどれぐらい正常（あるいは異常）かというのは、こう考えると非常によくわかります。核移植をしてつくったこの動物で、1,000 か所につき、1 か所か 2 か所の異常があったとして、これを核移植の基に使って、ここに持ってきたとしたときに、その多くは異常がたくさんあれば、当然死ぬ側に行くわけです。しかし、もし、この細胞、この動物がここで起きたのと同じように、発生を繰り返して、ここで生殖細胞をつくったとすると、もともとあったものから細胞が変わりながら淘汰を繰り返されて、やっと生殖細胞にたどり着くわけです。

つまり生殖細胞は、ほぼ正常化されて、体細胞ができて、個体ができてくるということになります。なぜなら、もし、大幅に DNA メチル化異常になると生殖細胞ができなくなり、逆に（受精能を持った）生殖細胞ができる場合は、DNA メチル化が正常であったと考えるしか、考えようがないからです。核移植であろうが、正常交配や人工授精であろうが、個体発生の過程では生殖細胞もゲノムの広範の DNA メチル化変化を伴って、他の細胞と同じようにできてくるわけです。生殖細胞ができるためには、生殖細胞特有のメチル化プロファイルができていかなければならないのですが、そうではなかったら、生殖細胞ではなくて別の細胞になりますから、次の個体をつくる場所に寄与しなくなります。ですから、もし、ここでこれを交配させると、つまり、クローンの生殖細胞同士を交配させると、あるいはクローンと正常個体を交配させると、これまでに見られた異常よりも極めて少なく、例えば計算としては、1,000 分の 1 とか、更にけた違いに、その異常は少なくなるはずですが。別の言葉で言えば、異常を検出できないということになります。ですから、もし、クローン動物を次に交配して、次の生物、次の世代ができてきたとき、それに異常がないというのは不思議でも何でもなくて、ここで生殖細胞特有のプロファイルができる必要があるからです。そうやって生き残る細胞が次の世代を生んでいるのが、私たちの体です。

( P P )

まとめですが、このころ、生まれてすぐ解析したとき、1,000 か所、2,000 か所の解析で数か所の異常が見つかります。ただし、1,000 か所、2,000 か所ですから、場所としては、実は 1 けた上を調べなければいけない。もし、全部見るとすれば、そういう状況にはありますが、しかし、生まれてくる動物については 0.1% ぐらいだろうということになります。生まれてこない動物については、もっと多いはずですが。先ほどの牛で示しました。その割合は、動物によって、妊娠期間によって、随分違うはずですが。そして、今、お示ししまし

たのは、5 か月あるいは 23 か月となっていくと、1,000 か所に、1、2 か所、3 か所という異常すら実は検出できにくくなっていきます。

( P P )

つまり、ゲノム全体、私たちは配列がみんなわかりましたが、どこの細胞が使われて、どこが使われていないかということが、これから先、わかっていく時代に入りましたが、まだわかっていません。

( P P )

そうやって、幾つかの細胞ができてきます。

( P P )

遺伝子の別レベルのスイッチとなって、簡単に体細胞から別の細胞ができ上がってこない仕組みとなって、私たちの体があります。

クローンの異常というのが、すべてある遺伝子が起きているか、寝ているかの組み合わせになるということになります。そうすると、牛の体の中で、私たちがある遺伝子を発現している組織は食べられないという場所があるかということ、そういう細胞は無いのです。ですから、少なくともその考え、エピジェネティクスの異常が気持ち悪いというのではなくて、もし理解していただけるとすれば、これはその別レベルでの好き嫌いはあるとしても、今のところ、これで、もし異常があったとして、それで多少体重が重かったり、軽かったりしたとしても、これは毒性とはちょっと違う世界だと考えています。

( P P )

DNA のメチル化を中心にお話ししましたがけれども、DNA のメチル化は、ヒストン側の修飾と大きく依存しています。ヒストンにアセチル化とか、メチル化とか、ADP リボシル、たくさんあります。核の中で、今、これが非常にせめぎ合いをやって、いろんな組織、いろんな細胞をつくるということが行われているわけですが、こういう化合物に対して、いろいろなものが影響を与えます。

例えば、先ほど例でお示ししましたがけれども、培養下での酸素濃度、それから温度あるいは栄養素として、例えばメチル基を導入するときの基質になるのは、アミノ酸の代謝物です。S-アデノシルメチオニン (SAM)、アミノ酸代謝を異常にするとか、あるいは妊婦に適量を飲むように進めている葉酸なんかというのは、この SAM の代謝の影響を与えます。幾つかのいろんな化合物は、そういう部分に影響を与える可能性があります。それは、栄養として重要であったり、過剰に取り過ぎたらそうではない場合があったり、いろいろなレベルで起きています。そのほか、例えば細胞外の成分であり、ホルモンであり、あるい

は成長因子であり、いろいろなものが細胞を制御しています。その制御下にあるのは、メチル化の基質や供与体であったり、あるいは DNA のメチル転移酵素やヒストン修飾酵素(たくさんの種類がある)が読まれるとか(転写されるとか、翻訳されるとか)、あるいは、読まれないとか、あるいは核に入るとか、入らないとか、というレベルで様々な制御を受けながら、数百種類の細胞が生まれてきているということになります。

したがって、そのことは発生に限らず、さまざまな化合物の影響による、私たちの体への影響も考えなければいけませんし、同様に、発生であるとか、分化であるとか、老化であるとか、いろんなものの部分で重要なインデックスになってくるはずですよ。

( P P )

クローンのところだけについてまとめますと、エピジェネティクスは発生の基本のメカニズムになります。同じ DNA を持っているながら、どうやって違った細胞を生み出すか、それは生殖細胞も含めてです。生殖細胞だけが次の世代を普通の場合は生みます。ですから、それ以外の細胞でやった場合、それがクローンということになります。

クローン発生の成功率が低いのは、ある意味では当たり前で、エピジェネティクスの数万か所に上る部分が完全に基へ戻るとはどうも考えにくい。エピジェネティクスで制御されている遺伝子の数が多過ぎます。したがって、体細胞核移植技術は、その動物にとっては危険を伴います。つまり、せっかく途中まで育ったのに死んでしまう。あるいはせっかく妊娠したのに、母親は流産するという結果になります。ただし、これは動物にとってはです。しかし、これは食品として安全か否かとは、違った議論です。そして、クローンを異常と呼ぶかどうかなんですが、エピジェネティクスの異常、交配を通常にやった動物でも *in vitro* で胚を触ったときに、その異常は検出されますし、あるいは動物の F1 と系統をかけ合せたときと、そうではないときに起きていって、ジェネティックだけで説明できないような現象が起きてきます。それから、クローンのお示ししましたが、加齢に伴ってもエピジェネティクスの変化は起きます。

( P P )

実はここですが、ここで見つかった異常は、(もともと対照でこのスポットがあったんだけど)10 か月になるとなくなっているんです。それで、このときもなくなっている。どうやらコントロール側だけを見ていったときに、20 か月経つと、生まれてすぐとは随分違ってくるということはわかってきます。

典型的な例は、グロビンの遺伝子です。胎子期に使っている遺伝子と大人になって、普通に呼吸して使っている遺伝子は、同じグロビンであっても違う遺伝子を使っています。

胎子型と大人型は少し構造が違っています。そのとき起きていることは、エピジェネティクスによる胎子型と大人型遺伝子の使い分けです。遺伝子の使い分けによって生物は生きているということになります。

以上、全部の説明でございます。

○早川座長 どうもありがとうございました。それでは、ただいまの塩田先生の御説明に對しまして、委員の先生方から御質問、コメント等ございましたら、お願いいたします。

どうぞ。

○上野川専門委員 大変興味深くお伺いしたんですけれども、1つ、例えばメチレーションによって、例えば遺伝子がサイレントになる。そうすると、食品的に考えると、ある程度特定なタンパク質とか、そういうものがなくなってしまう。そういう意味では、特に影響はないかもしれない。

しかしながら、例えばあるものがなくなったことによって、例えばタンパク質の中で直接性のものがあって、そしてそれがなくなることによって、従来考えられなかったもの、例えばホルモンみたいなものとか、あるいは毒性物質みたいなものが、新たにできてきてしまう。要するに抑制が取れてしまうと、逆に今まで一定量ずつつくられたものが、より過剰につくられてしまうという可能性というのは全くないのでしょうか。

○塩田専門参考人 例えばこの酵素が目を覚ましたら毒性をつくれますよということが考えられるかどうかということですね。

○上野川専門委員 そうです。それから、普通一定量必要ならば、例えばホルモンなんかがありますが、それが非常に大量につくられてしまうとか、多分ないとは思いますが、従来報告の中にそういうのが。

○塩田専門参考人 少なくともホルモンも含めて、その組み合わせを考えたときに、既に牛の体の中であって、発生やその動物の個体の一生で使われるものについては、その増減はあるだろうと思います。

○上野川専門委員 要するに、ホメオスタシスというか、恒常性が崩れるようなことはないかということです。

○塩田専門参考人 当然、例えば発生の仮定でそれが起きたとして、それが個体に不都合ならば死んでいるはずなのです。むしろそれが死んでいる理由だろうと思います。あるいは細胞ができてこない、あるいは臓器ができてこないということはあるだろうと思います。

逆に言うと、それが生き残って、最終的に生まれてくるとは考えにくいと思います。

○上野川専門委員 生きているということは、恒常性が保たれていて、異常もないと。

○塩田専門参考人 恒常性が保たれていないのに生きているということがあったら、これは新たなサイエンスの世界になりまして、多分それはないと思います。

○上野川専門委員 従来、そういうことも全く報告されていない。

○塩田専門参考人 そうです。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

どうぞ。

○池上専門委員 今のお話の中で、ちょっとわからなかったところがあるんですが、クローン動物では、最初に核を融合したときに、遺伝子が初期化するというふうに説明を受けるんですけども、それと今のメチル化のメカニズムとはどう関係するのかということが1点。

もう一つ、例えば年齢がある程度高い動物の細胞を使ったとしても、結局、いわゆるテロメアは長い状態に戻っていくという話もありますね。動物の寿命が生まれた時と同じ状態になるということと、今のメチル化という現象で、どこまで説明ができるんでしょうか。

○塩田専門参考人 私は、初期化という言葉を使うのは反対です。なぜかと言うと、今、私が説明したようなことを考えて解析していきますと、どこを初期化と呼ぶのかというのが、大変難しくなってきます。ただ、生まれてきた場合に、初期化がうまくいっていないとならないでしょうねという言い方は、アメリカの文献も日本の場合もあります。それは、言葉の問題になりますけれども、もし、例えば、「初期化がうまくいかなかったら生まれていません。」と、一般の会話としてはわかりやすく、そう聞こえるんですが、生まれたときに初期化がうまくいったと言い換えているにすぎません。ですから、「初期化イコール何ですか？」と言われたときは、エピジェネティックの状況のすべてですと言わざるを得ませんが、本日、説明致しましたように事は複雑です。核移植による初期胚では、全くもって受精卵と同じことが起きるかということ、ここは1個の細胞の世界ですから、解析しようがなくて、多分そうじゃないんだと思います。ですから、多くは途中で死んでいると思います。だけれども、生き残る細胞がいて、個体をつくっていると思います。ただ、このことは普通の受精の場合も起きていると思います。

ですから、初期化というのは、ある意味長生きしたから、あの家系は「若返りの遺伝子がある。」といってもいいぐらいの、科学とはすごく遠い世界の話だと思うんです。ですから、仮に初期化因子とか初期化遺伝子という言い方に、もっとわかりやすくなっていくとすると、多分一個で納得できる話ではないだろうと思います。でも、ここが一番厄介で、ほかの研究者がやっているときに、先ほどのデータの中の説明も含めて、「先生、一体初

期化とはどう定義されますか？」ということ質問します。すると、まともに答えられる核移植に携わっている研究者は殆どおりません。

それから、体細胞の年齢についてなんですが、年齢という考え方は大変厄介で、私たちが年齢と言っているときは、個体の年齢、寿命をいつも気にしています。細胞の年齢としたときに、個体の年齢と同じ感覚でとらえていいかという、すごく違うと思います。例として、テロメアの話がされましたけれども、テロメアは、実はテロメアを制御する遺伝子の1つ、テロメラーゼというのがございますが、テロメラーゼはDNAメチルで制御されています。ですから、テロメアの異常もDNAメチル化で説明できます。遺伝子はあるにもかかわらず、動いていないというのは、そういうふうにして細胞によってスイッチがオンになったりオフになったりしているのです。細胞によっては、それが目を覚ますんです。ですから、生まれてきたということは、そういう遺伝子が元に戻った、だからテロメアはこうなっていますね、あるいはテロメアの長さは回復していますねということにならないと、テロメアを研究してきた人たちは、テロメアは要らないものだということになってまいります。しかし、生まれてきた個体では、そういうことは起きていないのです。

もう一つは、テロメアは、個体によって随分違います。初期にテロメアの異常が原因だというふうに論文が出されましたけれども、後で見ると、必ずしもそうではない。なぜかという、テロメアの長さは正常でも個体によりすごい幅があるからですね。見てみると、そんなに傾向が見えるけれども、実際にやってみると、そうじゃなくても生きていたり、そうではなかったりということが出てきます。テロメアの長さで、とりあえずの説明をあの論文ではやっていますけれども、あれは必ずしも全部説明できるとは思いません。

さらに、寿命の問題は、例えばずっと生きている細胞のどこかが異常になっていくということが、よく言うのは、年をとったらがんになって、だから細胞のがん化を研究すれば、老化の研究かという言い方ができますけれども、実際はそうではなくて、老化が一番問題になるのは、がんの問題よりも、がんで死ななかった人たちの老化の問題になってくるという個体レベルの別問題が出てきます。少なくとも細胞の老化という観点を、今のこの形で議論できるかという、なかなかできない。DNAのメチル化は、変わってまいります、それは培養の影響なのか、老化と言えるのかというところがわかりません。わからないとか、定義しようがないという気がいたします。大変抽象的で申し訳ありません。

○池上専門委員 わからなくなってきました。

○早川座長 もし、更に御質問があれば、よろしいですか。

ほかにいかがですか。どうぞ。

○廣瀬委員 今回の質問にも関係するんですけども、DNAのメチル化というと、我々、すぐに発がんとの関係が頭の中に浮かんできます。実際にがん細胞というのはDNAのメチル化があって、発がんの初期に既にメチル化が起っていると考えられます。

このように、メチル化がクローン動物で多いということになると、やはり将来的にクローン動物ががんになりやすいかということが非常に気にかかるんですけども、その辺りはいかがでしょうか。

○塩田専門参考人 逆に言うと、正常細胞でメチル化のない生物をつくれるかと、つまりメチル化というのは、決してそれによってイコールがんではなくて、遺伝子のどこを眠らせるか、どこを起こすかという区別なのです。それがたまたま、がん抑制遺伝子というのは、例えばある一定増殖まできたときに、それを止めるとか、あるいはDNAが壊れたときに直すとか、それはがん遺伝子ですね。どこの領域でそれが起きるかということでありまして、したがって、クローンはがんになるかということ、今まで、もしなれば、がんの新しいメカニズムとしてやりやすいので、研究しやすくなりますから、それで、いろいろなことが考えられるようになるのですが、残念ながら今までクローンで生まれてきて、がんになった例がありません。そして、それは高発現するような形では起きていなくて、ただしある種の化合物、ある種のもので、そういうようなことが、これはクローンの研究ではなくて、ある可能性については、随分心配されますから、それは変異原性の化合物に対して、エピ変異原、エピミュタゲンと言いますが、それをしっかり見ておかないと危ないのではないかという議論は別にあります。これはクローンとは別です。

ですから、クローンで起きたDNAの記憶異常というのは、クローンだから多いのではないんです。つまり、元の体細胞の形があって、その書き換えが不十分というか、全部の書き換えは無理だというぐらいのところ、何とかかいくぐって数%が生き残ってきているということを起こしているわけです。ですから、そこでそう変なことは起きなくて、変なことが起きている場合は死んでいるわけです。そういうことになると思います。

○廣瀬委員 そうすると、ある種の遺伝毒性の発がん物質、そういうものに対して、感受性が高くなるとか、そういう可能性は否定できない。

○塩田専門参考人 それは、エピジェネティクスのメカニズムというよりは、そうなったときに、どういう遺伝子が、例えばがんになるような化合物を取り込みやすくなるだろうか、あるいは消化機能として、普通は消化しなかったものなり、あるいはその組み合わせです。どうでしょうか。それを実験できるかどうかなんですけど、わかりませんね。わかりませんというよりも、そういう動物をつくらうとしてもつukれないのではないのでしょうか。

例えば遺伝子を導入したとしても、遺伝子を壊したとしても、果たしてそうなる理由、そういう候補が、今、私は考えつきませんが、もし、それがわかれば、クローンでその領域がそうになっているかどうかというのを見るのは早くできますから、さっき 1,000 か所調べた、2,000 か所調べたというのは、ランダムに 2,000 か所解析したんです。

その中でどうなっているか。だけれども、もともとここが危ないとわかっているのだったら、ここを最初にやればいいということになりますね。ですから、そういう解析ではございませんので、なぜ、それができないかという、今、先生が言われたような場所が人体も含めてどこかにあるとは考えにくいからです。

○早川座長 今の話は、非常にがんにかかりやすい個体ですね。牛でも、ネズミでもいいんですけども、クローン技術でクローン動物としたときに、それががんのアッセイ系になれるかもしれないという話はあるかもしれませんね。

○塩田専門参考人 よけいなことを申し上げました。

○早川座長 あくまでも動物側の話ですね。

○塩田専門参考人 そうです。ついよけいなことを言いました。今日はよけいなことを言わないように考えていたのですけれども、食品の安全と関係なく、実はそこがすごく人類にとって大事になっていきます。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

どうぞ。

○池上専門委員 もう一つは、クローン動物のトレーサビリティーが本当に可能なのかどうか。今までのメカニズムから考えると、遺伝子組換えのような簡単な方法ではできないのではないと思うんですが、その辺はいかがでしょうか。

○塩田専門参考人 私もそれはできないのではないかと思います。と言いますか、遺伝子をいじればできるのです。つまり、その遺伝子を見ればいいんですから、同様に個体判別として考えたときに、もともと個体がそうかというのは、エピジェネティクスの問題ではなくて、親牛と全く同じゲノム配列を持っていますよというのだとしたら、これはできるはずです。ただ、コストがかかり過ぎます。

ですから、個体識別としてはあり得ると思いますけれども、だけれども改めてクローン全部について、それぞれエピジェネティクスの範囲の中でできるかということ、それが変わっていくのが個体の発生ですから、そのエピジェネティクス情報を元にはできないと思います。しかし、クローン間の中で、もともとクローンにする動物はこのパターンだということですと、これはゲノム側で理屈の上ではできるんです。膨大なお金がかかると思います

けれども。

○早川座長 無事に生まれたとして、環境要因で変わってくるということはありますでしょうか。メチル化の話です。

○塩田専門参考人 まさに、先ほどの培養条件下もそうですし、栄養条件もそうですし、温度もそうですし、そうやって体ができてきますので、すごくたくさんの化合物あるいは制御系がまさにそれを変えているんだと思います。そうしないと、体ができてきません。数百種類の細胞は生まれてきません。

○早川座長 そういう意味で、なかなかトレースしていくのは難しいですね。

○塩田専門参考人 したがって、ゲノム情報で見るとはならないかと思えます。

○早川座長 どうぞ。

○上野川専門委員 やはり DNA メチレーションが基本的には、例えば発生の段階で重要な役割をするとかあったんですが、今のお話ですけれども、基本的にそれ以外に、例えばサイレントにならないで、さっきもありましたけれども、例えば臓器によってレセプターの発現が違ふとか、いろいろ見られますね。それも DNA メチレーションで行われているのか、あるいはそれ以外の DNA メチレーション以外に全体の臓器形成とか、器官形成にはいろいろなファクターがあると思うんですけれども、DNA メチレーションと、それとの関連とか、ちょっと勉強させてもらいたいと思います。

○塩田専門参考人 遺伝子の総数の中で、例えば概算で何割ぐらいが DNA のメチル化で制御されているのだろうか。組織特異的な遺伝子の、今のところ私たちの持っているデータだけで見たときに、少なくとも数十%ぐらいは DNA のメチル化で制御されています。あるいは DNA のメチル化が起きると、ヒストン修飾が起きていきますので、半分ぐらいはそうやって制御されていると考えています。今、持っている数千の情報の中から行くと、そうなります。

ただし、もう一けた上のレベルがゲノムでありますから、全体でどれぐらいかはわからないのです。そのために、エピゲノム全体（エピジェネティクス情報全部をさす）をどう解析するかという時代に、今、入っているんだらうと思えます。

それから、DNA のメチル化以外にヒストン修飾が 10 種類ぐらいあって、その組み合わせと DNA のメチル化でもって、サイレントになる、ならないが起きていますから、そうなると、実は DNA のメチル化だけでいかない部分というのも出てはくるのだと思います。

○上野川専門委員 しかしながら、DNA メチレーションというのが、クローン動物の安全性とか、そう考える場合に、基本的に最も重要なコンセプトというふうに理解してよろし

いですか。

○塩田専門参考人 先生が言われた安全性は何の安全性になりますか。

○上野川専門委員 食としての安全性です。

○塩田専門参考人 私は食としてはやる必要はないという気がします。

○上野川専門委員 要するに、個体発生の段階で生まれるか、生まれないかが重要だと。

○塩田専門参考人 はい。同様に、どうやって、例えばある種の異常が出たときに、それが起きたのだと、DNAは一緒だけれども、何が違うのというときには、DNAのメチル化で行くべきだと思います。だけれども、それを食べることが安全かというのは、幾らメチル化を調べてもそこはわからないと思います。わからないというよりも、やったから安全になるとは、とても考えにくいですね。むしろ、どう動物の健康をモニターできるかという上ではあっていいと思います。動物のためのそちら側ではですね。

ただし、これも毎回ですが、採血してすぐできるではなくて、体の細胞ごとに違いますが、幾つかの代表組織を一部ずつ取りながらということになるのだと思いますが、それで2頭の59日目の核移植と、それからコントロールを比較してみたわけですが、あのことから明らかで、ですから、改めてかなりの数のクローンの動物でそういうことをやるかという、それは多分要らないだろうと思っています。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

どうぞ。

○尾崎専門委員 今日の先生のお話で、大変私もよく理解できたのですが、多分2つ重要なところがあって、1つはDNAに白ペンキを塗ったり、はがしたりというメチル化ということが、正常な、通常の状態でも常に起こっている。それがある閾値を超えれば病態につながっていくのだという話です。

○塩田専門参考人 いえ、違います。閾値ではなくて、どこの遺伝子が起きるか寝るかです。閾値ではないのです。

○尾崎専門委員 閾値というのは、そういうイベントが幾つそろったときに、細胞が正常でなくなってしまうのか、そういう意味で閾値という言葉を使ったのですが。

○塩田専門参考人 それがまた細胞によって違ってきますね。つまり、肝臓が肝臓として機能するために、もし、ここで神経の遺伝子が目を覚ましたとすると、それはよけいに覚ましているけれども、別に肝臓にあっても死なないかもしれませんね。そういうことが起きています。

○尾崎専門委員 程度という意味で、そういう話をしたのですが。もう一つは、後代にな

れば、生殖細胞に起こったエピジェネティックな異常というのは、理論的にも回復する、修復するということですか。

○塩田専門参考人 もし、エピジェネティックの異常が生殖細胞になるために起きる場所で起きてしまえば、例えば精子をつくるために、ハスピンという遺伝子が絶対に目を覚まさないといけないのです。もし、それが覚まさないで精子にならないのです。ですから、次の世代に行きません。同様に卵をつくるために、さっきの卵特有の DNA メチル転移酵素 (Dnmt10) が目を覚まさないで、そうならない。正常で起きている DNA のメチル化プロファイルの変化が異常になってくると、その細胞にならなくなりますから、そうすると、生殖細胞のない生物が生まれてくるように、ですから、これは当然次の世代に行きません。

生まれてきた場合は、98%以上できていて、生殖細胞があったら、これは更にけた違いに精度は上がっています、ということにはなっているはずですよ。

○尾崎専門委員 修復というよりも受け継がれないという、そういう言い方が正しいのですね。

その2つが重要なことだと思ったのですが、ここで先生に質問なのですが、流産とか生後直死というのは、通常の動物でも起こっているわけですね。そういうものに対しても、かなりの部分がメチル化異常で説明ができていますかということですよ。

○塩田専門参考人 正常でも起きていると思います。ただ、そのような解析はされていません。さっきの初期化の言葉の使い方もそうですが、その分野（エピジェネティクス解析）をやっている方々は、解析する代わりに初期化と呼んでいることが多いように思います。

私たちは自分たちでクローンをつくったりはしていないわけですよ。つまり、さっき言った、それが一番最初から2番目ぐらいに示したスライドのところの専門家の細分化のところですよ。すべてを1研究室でできないのでありまして、それをやっている方々が、すべて今のレベルでやっていくと、なかなか前に進まなくなっていくんですよ。余談ですが、ドリーが生まれたのはよくやったなと思います。普通は、今、私たちが言ったことをやっていると、生まれてくるのはまず無理だと思います。事実、誕生効率が極端に低かったわけですよ。だけれども、ラッキーにも生まれてしまったのです。

そうすると、改めて考え直してみると、確率としてはそれぐらいあっていいのかなと思います。ですから、生きるのが不思議で、死ぬのは当たり前なのだけれども、あの場合は生まれたということが起きているわけですよ。それで、改めてやってみると、結構、生物は柔軟に対応しているということになってきたわけですよ。

○尾崎専門委員 私がなぜこんな質問をするかということ、体細胞クローンで起きている流産あるいは生後直死という現象が、自然発生の延長であるのか、それであれば安心である。しかし、例えば自然界に全くないものを人工的に作り出してしまったのであれば、そのあといろいろなところで予想がつかない出来事が起こる可能性があるのではないかと、そういう不安にかられるということです。その辺り、塩田先生の御見解を聞きたいと思います。

○塩田専門参考人 さっきの人工授精の成功率が50%、それから普通の場合でもネズミの妊娠で20%ぐらい死んでいますね。逆に言うと、受精するかしないかということも非常にきわどいところをやって、次の子孫を残しているわけです。

したがって、どこまでが自然で自然でないかというのは、人工授精辺りを間に挟むとわからなくなっていくのです。それで、実験動物で、近交系の動物を使って、遺伝子のきれいなもの同士で、普通は次の世代を自然ではつukれないですね。つまり、トキはそれでいなくなった。絶滅危機に瀕している動物というのは、そうやって個体数がある程度割り込んだら、後が難しくなる。これは自然です。そうすると、実験動物を含めて、幾つかの中では、それは既にそうではなくなっている。逆に言うと、そういう生物を救うためのクローン技術を使おうという動きは別にあるわけですね。ですから、自然であるか、ないかは大変厄介で、逆に言うと、通常の人を含めて、流産とか異常の原因の1つにエピジェネティクスが関わっている可能性について、今、いろんな研究が始まっているのだと思います。自然であるか、ないかではなくて、普通の病気に対して、どこまで関わっているのだろうかということをやっているのだと思います。

○尾崎専門委員 今、始まっていると解釈するわけですね。

○塩田専門参考人 はい。慢性疾患の原因追究とかね。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

生き残って、つまり出生して、それで普通に生育したものは、エピジェネティック的に言えば、言わば正常な揺らぎの範囲の中にあると、そういう表現をしてよろしいでしょうか。

○塩田専門参考人 そうですね。揺らぎなのか、エピジェネティックスのフレキシビリティと、その逆ですね。どこまでをフレキシブルで、どこまでがそうではないか。環境によってはそれによって生き残る、生き残らないが起きてきているはずなのです。ですから、例えばある種の栄養がないと、こいつは生きていけないというものでも、この環境だったら生き残るということをやっている生物は来ていますから、そうすると、フレキシブルで

なければ、やはりそこまでも生き残れてこないだろうという部分がございまして、果たして、その定義がどこまで可能かという辺りになっていくと思います。

それから、個体によっては、ある種の、例えば太りやすかったり、太りにくかったりを含めて、それからある種の物理的な影響に対して感受性が高かったり、弱かったり、そこはすごく出てきます。つまり、マウスの系統の中でもすごく違ってくる。そのときには、実はこういう生物はこういうことが起きていると、先ほどのストレインのかけ合せで違ってくるというのをお見せしたように、フレキシブルの範囲も結構あるのだと思います。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。

どうぞ。

○熊谷専門委員 個体によっていろいろ出方が変わってきて、そういうところがあって、バリエーションが非常にあるので、そうすると、体細胞クローンが1つと、それから、もしそうすると、何となく体細胞の由来のものが、元に戻して、そこから各細胞をつくり出す過程で、ランダムにいろんなことが起こるような気がするわけですがけれども、そうだとすると、何でこんなにうまくいってしまうんだらうかというのは、確率的に考えてどうなんだらうかというのが非常に疑問なんです。

○塩田専門参考人 今、言われたように、それがいわゆる範囲を設定しないランダムだと、そうはならないと思います。当然、体の中の状況があり、培養の状況があって、細胞のセレクションが行われて、結果として2%生まれているということが起きていますから、決してランダムではなくて、結果として、その数字が出てきています。

今、熊谷先生が言われたことで1つ大事なものは、最初に配られた資料の中で、7ページに「無性生殖とは」というところがあって「後天的に獲得する性質は一般的に異なります」と書いていますから、これはすごい厄介なのですが、私が言っているのは、そういう場所もあるという、たくさん場所で数か所出てくるということです。それをもって、ランダムにいろんなことが起きていたり、あるいはそれぞれに全部違ったりと言われると、細胞がどうやってできるかということすらわからなくなります。ほとんどがうまくいっていて、極めて一部の場所でスイッチが少しずつ間違っているというのがあるということ、今、見つかっているのはそれぐらいの違いですね。

仮に数が少なくても決定的に生きていく上で必要な場所というので、そういうのが起きると、これは死んでいるわけですから、遺伝子のノックアウトと同じことです。ですから、生まれてきたものについては、ほぼそうやって見えるはずですよ。

それから、ランダムではと、その言葉の使い方は難しいですけども、ランダムという

のは大変厄介で、以前に私たちが書いた報告の中では、クローンで起きやすい場所、起きにくい場所、幾つかは考えられます。もともと遺伝子の中でかたい場所というか、ほとんど使われない場所とよく使われる場所というのは分かれています。それは、遺伝子が染色体の端っこにあるか、真ん中にあるかでも随分違ってきます。それで染色体特有のマークができてきますけれども、それは、その意味ではランダムではないと思います。やはりエピジェネティクス変化が起きやすい場所があつて、起きにくい場所があつて、ある種の条件だったらもっと効率が上がったり、下がったりはあるんだと思います。ものによっては、したがって、ある種の培養下では、培養液をこういう成分にしておくとうまいというように探している研究者はいるわけです。その意味ではランダムではないです。

○熊谷専門委員　それで、前の厚労省の報告書には、見かけうまくいって、機能的にも異常が見つからないと、今のあれでいくとね。そうだとすると、例えばプロスタグランディンとかステロイドホルモンとか、ある種のものだけがけた違いに高くなって、それでそういうホメオスタシスをきちんと保ってしまうような、そういうことが果たして起こり得るだろうかというのは、それは起こり得ないとなりましたけれども、それは改めてこういうものを通してみるとどうですかね。

○塩田専門参考人　ストレインによって、あるいは牛の系統によって、そういう差はすごくありますね。例えばロバとラバは、胎盤ホルモンの量が10倍以上違います。ただ、それが違うから、低いから、良い、悪いというのではなくて、だから生まれてきている、生まれにくいがあると思います。さっきのクローンの胎盤のところで言いましたけれども、普通のものに比べて大きいから異常だというのは（言うのは簡単ですけども）、もし、それが大きくなかったら、多分生まれていないということが起こって、そこはそういう抵抗（アダプト）が起きているはずなんですね。無駄にでかくはなっていないだろうと思います。例えば、最も大きな哺乳類の臓器である肝臓の大きさにしたって、やはり無駄ではないと、むしろそういうふうに考えた方がいいと思います。

○熊谷専門委員　非常に極端な場合に、例えばエストラジオール、 $17\beta$ のみが、例えば3けたぐらい高くて、それにアダプトして平気で生きているという状況は。

○塩田専門参考人　あり得ます。それは、例えばステロイドの受容体はDNAのメチル化で制御されているものが結構わかっているのです。幾らあつても、それに反応しないということはある得ます。ただし、そうすると、ステロイドの反応している場所というのは、生殖器だけではないですから、あちこち異常が出てきますね。恐らく遺伝子のノックアウト

と同じぐらいのフェノタイプになっていくだろうと思いますね。だけれども、その部分というのがようになってきたときに、それは当然次の世代を産めないとか、その程度のことは起きると思います。つまり、生殖の過程に、まず、生殖器ができないということもあると思います。雄雌の決定している大事な遺伝子 SRY というのがありますけれども、SRY も DNA のメチル化で制御されています。ですから、外見は雄か雌か決められて、だけれども、実は機能的には違うという個体は、いろんな意味で出てきてもおかしくはない。ただ、それがクローンに限らず起きていることは起きているのです。それで、もし、再現よくつくれたら、これはまた研究の題材としては面白いですけれどもね。なかなかそうは行きませんけれどもね。

○早川座長 ほかにいかがでしょうか。よろしいですか。

それでは、塩田先生、長時間にわたってありがとうございます。

○塩田専門参考人 少ししゃべり過ぎました。

○早川座長 これまで3人の先生方にプレゼンをいただいたんですが、全体を通して、何か御質問、追加的なコメント等はございますでしょうか。よろしいですか。

それで、本日の説明を踏まえて、次回は、これまでの知見の整理、評価項目の整理を行ってまいりたいということですが、そういうことでよろしゅうございますか。

それでは、議題1はこれで終了したいと思います。

議題2のその他でありますけれども、何かございますでしょうか。

○鶴身課長補佐 特にございません。

○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ということにいたします。

本日は、参考人の先生方には、お忙しいところどうもありがとうございました。