

種雄牛の体細胞クローン牛の肥育相似性およびクローン技術の認識度

谷山 敦，井上哲郎，中里 敏¹⁾，橋元大介，川口貴之，井上昭芳²⁾

キーワード：体細胞クローン牛，種雄牛，肥育，相似性，クローン技術，認識度調査

Performance of Meat Production in the Somatic cloned Japanese Bull and Recognition Level of Cloning Technique

Athushi TANIYAMA, Tetsuro INOUE, Satoshi NAKAZATO, Daisuke HASIMOTO, Takayuki KAWAGUCHI, Akiyoshi INOUE

目次

1. 緒言	106
2. 材料および方法	106
3. 結果	106
4. 考察	109
5. 摘要	110
6. 引用文献	110
Summary	111

1) 現壱岐家畜保健衛生所，2) 現県南家畜保健衛生所

1. 緒 言

1998年、我が国で世界初の体細胞クローン牛が誕生して以降、核移植技術を活用した家畜の改良増殖を目的に全国の42研究機関において2007年9月までに535頭の体細胞クローン牛が生産されている⁷⁾が、その生産過程において死産や出生後早期に死亡する割合が高いことなど課題が残されている。

しかし、生後1ヵ月以上生存した個体については、一般牛と同程度に正常に生育し、一般牛と差異のない生理機能を持つこと、加えてそれらの乳肉の構成成分が一般牛と異ならないうえに、ラットへの給与試験においても健康を損なうことがないこと等が報告されている⁴⁾。

本センターにおいても現在までに体細胞クローン牛11頭を生産しているが、死産4頭、生後直死2頭、3頭は20日齢以内で死亡している。しかし

2頭は順調に生育しており^{5, 6, 13)}、その内体細胞クローン雌牛1頭については受精卵移植による産子を得ており、また雄牛1頭については正常な精液性状を確認している。

今後、体細胞クローン技術の活用に当たっては、その生産性の向上に加え、クローン家畜の正常性、相似性、安全性に関する知見¹⁶⁾の更なる集積が必要である。

そこで、体細胞クローン牛の正常性、相似性の検証のため、本センターにおいて種雄牛「松寿丸」の耳細胞を用いて作出したクローン牛^{6, 13)}を肥育し、発育および枝肉成績について調査を行い、「松寿丸」本牛との相似性を比較検討した。

また、畜産関係者117名を対象にクローン牛に対する認識度、イメージ、必要性等に関する意識調査を行ったので、その結果を併せて報告する。

2. 材料および方法

種雄牛「松寿丸」の耳細胞の体細胞核移植により2001年12月21日に生まれた体細胞クローン牛（生時体重：39kg）1頭を用い、14ヵ月齢で精液採取後、15ヵ月齢で去勢を行い、肥育試験を開始した。肥育試験は本センターの給与プログラムに準拠して29ヵ月齢まで肥育し、その発育及び枝肉成績について調査した。また枝肉成績については、

直接検定後当场で肥育された去勢牛9頭の枝肉成績および「松寿丸」本牛の間接検定成績と比較した。

クローン牛に関する意識調査は、2004年に畜産関係者117名を対象として、無記名により設問に対し選択する方法で実施した。

3. 結 果

種雄牛「松寿丸」の体細胞クローン牛の体重は、肥育開始時16ヵ月齢で502kg、肥育終了時29ヵ月齢で896kgであり、肥育全期間において黒毛和種の去勢平均値⁸⁾を上回っており、特に25ヵ月齢

以降はその上限を上回って推移した。また、肥育期間中の一日当たり増体量は0.94kgと良好であった（図1、図2）。

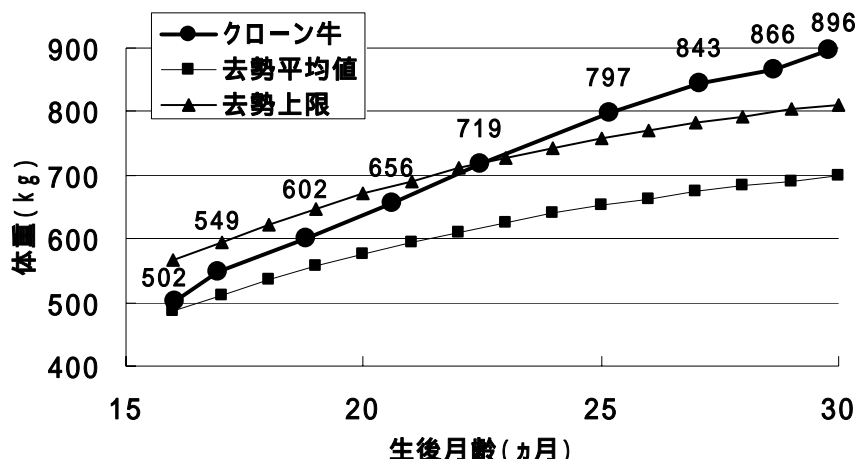


図1 「松寿丸」体細胞クローン牛の体重の推移



図2 肥育終了時の「松寿丸」体細胞クローン牛と枝肉

枝肉成績は 枝肉重量 547kg 胸最長筋面積 73cm²、
ばらの厚さ 9.2cm、皮下脂肪の厚さ 2.1cm、歩留まり
基準値 76.3%であった（表 1）。

「松寿丸」体細胞クローン牛の枝肉成績と対照
とした直接検定後当場において肥育した去勢 9 頭
と比較すると、特に胸最長筋面積、ばらの厚さに
関して良好な成績であった。また、種雄牛「松寿

丸」の間接検定成績⁹⁾も、同年度実施した 4 頭の
種雄牛の成績と比較して、胸最長筋面積およびば
らの厚さにおいて良好な成績（表 2）であること
から、産肉能力において「松寿丸」クローン牛と
ドナー牛「松寿丸」との間に枝肉成績に相似性が
推察された。

表 1 「松寿丸」体細胞クローン牛の枝肉成績

項目	クローン牛	対照牛
等級	A-3	
枝肉重量(kg)	547.7	485.0
胸最長筋面積(cm ²)	73	60.4
ばらの厚さ(cm)	9.2	7.7
皮下脂肪の厚さ(cm)	2.1	2.8
歩留基準値(%)	76.3	73.9
脂肪交雑(BMS)	5	6.2

* 対照牛: 直接検定後肥育した去勢牛 9 頭の平均

表 2 松寿丸間接検定成績 (肉用牛産肉能力検定成績 第27報)

	松寿丸	種雄牛A	種雄牛B	種雄牛C	種雄牛D
1日当増体重(kg)	0.92	0.96	0.90	0.93	0.93
胸最長筋面積(cm ²)	58	54	51	50	55
ばらの厚さ(cm)	7.8	6.5	5.9	6.5	6.5
皮下脂肪の厚さ(cm)	1.9	1.9	1.6	2.2	1.9
歩留基準値(%)	76.0	74.6	74.4	74.0	74.8
脂肪交雑(BMS)	10.4	10.0	6.9	7.9	8.6

* 種雄牛A～Dは松寿丸と同年度間接検定実施

また、クローン牛に対する認識度、イメージ、必要性等について調査した結果、認識度においては、牛の繁殖技術に関して「子牛の生産はほぼ100%人工授精の認識度」(82%)、「受精卵移植による子牛生産」(96%)や「クローン技術の種類」(75%)と高かったが、実際問題として「受精卵クローン牛肉の表示販売」(38%)や「体細胞クローンによる生産物の出荷自粛」(63%)に対する認知度は低い傾向であった(表3)。

クローン牛に対するイメージは、「高能力牛の複製」(48%)、「進んだ繁殖技術」(39%)など良いイメージの回答が多い反面、「実験動物のような感じ」との回答が27%であった。クローン牛に対

する不安感については、「不安を感じない」が37%であったのに対し、「人為的操作」に対する不安が40%あり、「社会的に認知されていない」が18%であった(表4)。

体細胞クローン技術の必要性については、「種雄牛の作出、遺伝資源の保存」(55%)や「高能力牛の増産」(41%)の回答が多く、試験研究の方向性として「畜産振興のために活用」が62%であるのに対し、畜産振興以外に「絶滅危惧動物の保護や再生に活用」が56%と多い回答であった(表5)。

表3 牛の繁殖技術およびクローン牛に関する認識度

アンケート項目	認知度(%)
子牛の生産はほぼ100%人工授精で行われている	82.1
受精卵移植により子牛が生産されている	96.6
「クローン技術」には「受精卵クローン」と「体細胞クローン」がある	75.2
「受精卵クローン」の牛肉が表示販売されている	38.5
「体細胞クローン技術」により生産されて牛乳や牛肉は出荷自粛されている	63.2

表4 「クローン牛」に対するイメージ、不安感 (複数回答)

アンケート項目	回答率(%)
1. イメージ	
高能力牛の複製(コピー)	48.7
実験動物の様な感じ	27.4
繁殖技術のさらに進んだ技術	39.3
2. 不安感	
クローン技術自体が不安	9.4
人為的操作による特殊なもの	40.2
社会的に認知されていない	17.9
不安を感じない	37.6

表5 「体細胞クローン技術」の必要性、方向性 (複数回答)

アンケート項目	回答率(%)
1. 「体細胞クローン技術」の畜産振興上の必要性	
高能力牛の増産	41.9
種雄牛の作出、遺伝資源の保存	55.6
牛の繁殖技術	14.5
必要性を感じない	12.8
2. 「体細胞クローン技術」試験研究の方向性	
試験研究継続に抵抗がある	5.1
種雄牛造成など畜産振興のために活用	61.5
絶滅危惧動物の保護や再生に活用	56.4

4. 考 察

現在国内の各研究機関においてもクローン牛の正常性、相似性についての研究が進められており、坂下ら¹⁰⁾は、2頭の体細胞クローン去勢牛を用い肥育試験を実施した結果、発育は良好で、各臓器重量および枝肉の構成割合は人工授精産子と差がなく、また体細胞クローン間の枝肉格付成績における枝肉重量と脂肪交雑以外の胸最長筋面積、ばらの厚さおよび皮下脂肪厚で全兄弟牛や分割卵クローンと比べて相似性が高いと報告している。

山田ら¹⁴⁾は、肥育牛の体細胞クローン牛2セット(去勢4頭、雌2頭)を用いて肥育試験を実施し、クローン牛間およびそのドナー牛と比較した結果、去勢牛群に関しては生時体重にばらつきがみられたものの、肥育開始時以降の発育は相似性が高く、また枝肉成績では枝肉重量、胸最長筋面積、ばらの厚さで相似性が高いことを報告している。さらに、ドナー牛との比較ではクローン去勢牛群の平均が枝肉重量、脂肪交雑、胸最長筋面積およびばらの厚さにおいて上回っており、肥育場所等の環境要因が影響していると推察している。

長谷川ら²⁾は、黒毛和種雄牛候補から体細胞クローン牛2頭を生産し、発育及び肥育成績を比較した結果、と殺直前の体重差は46kg(746 vs 700)であり、ばら厚および皮下脂肪厚の値は近似傾向であったが、枝肉重量、胸最長筋面積および脂肪交雑には同様な傾向が認められなかったと報告している。

これらの報告では体細胞クローン間の比較により相似性を検討した結果、相似性が高い項目としては、各報告により違いはあるが、枝肉重量、胸最長筋面積、ばらの厚さ、皮下脂肪厚が上げられている。

本試験においては、体細胞クローン去勢牛1頭とそのドナー種雄牛の間接検定成績および直接検定後肥育した種雄候補牛の枝肉成績との比較しか行えなかったが、胸最長筋面積、ばらの厚さにおいては相似性が高いことが推察された。

以上、当センターで生産された体細胞クローン牛1頭の成績であるが、既報^{2, 10, 12)}と同様にドナー種雄牛との相似性や正常性が確認された。

しかし体細胞クローン技術の活用には当たっては

その生産性が低いことが課題であり、当センターにおいても体細胞クローン牛の生産性は、90頭のクローン胚移植に対し、受胎率30%、分娩頭数11頭(12%)、成牛まで生存したのは2頭(2.2%)と低い成績である。また独立行政法人家畜改良センターの報告¹⁾では、十勝牧場における移植頭数1,509頭に対し、受胎率25.9%、分娩頭数103頭(6.8%)、最終的に肥育試験終了まで生存したのは42頭(2.8%)であり、今後本技術が実用化されるためには体細胞クローン牛の生産性を飛躍的に向上させる技術が必要であると指摘している。現在、その原因としてエピジェネティック的な異常が注目され、研究が進められている^{3, 12, 15)}。

また、2006年に(社)畜産技術協会が「第25回食肉フェア」、「東京食肉市場まつり2006」および「家畜改良センターふれあいまつり」の3会場で実施した一般消費者3,305名を対象とした「畜産の新技术に関するアンケート調査結果」¹¹⁾によると、認識度においては、牛の生産に関して「人工授精」(43%)、「受精卵移植」(41%)は知られているが、「クローン技術」に関しては、「知っていた」が18%に対し、聞いたことがあるが技術の内容まで知らなかった人が72%を占め、言葉の認知度は極めて高いのに対しその技術内容までは知られていない技術であると指摘している。

今回、本センターが行ったアンケート調査は、あくまでも畜産関係者を対象に行ったため、「クローン技術」に関する認識度は高く、またそのイメージに対して、畜産分野において必要な技術であるとの回答も高かった。しかし、不安を感じるとの回答も多い結果であった。

体細胞クローン技術については、現在、国内関係機関の協力により、試験、研究、調査により得られた知見の集積が進められており、本センターもデータの提供を行っている。

また、体細胞クローン技術を用いて産出された家畜由来生産物の食品としての安全性については、2009年6月、食品安全委員会の「新開発食品評価」により、「現時点における科学的知見に基づき、体細胞クローン牛及び豚並びにそれらの後代に由来する食品は、従来の繁殖技術による牛及び豚に

由来する食品と比較して、同等の安全性を有すると考えられる。」としながらも、「新しい技術であることから、食品の安全性に関する知見について、引き続き収集することが必要である。」と公表している。

体細胞クローン牛については、出生前後の死産や生後直死が高い頻度で認められ、若齢期の死亡率が高い傾向があること等、解決しなければならない問題が残されている。近年、動物の発生に関わるエピジェネティクスの研究が注目されており、このエピジェネティックな修飾は、遺伝子発現を制御していることが知られている。しかし、クローン胚においては遺伝子発現等、エピジェネティクスに関係する異常が報告されており、今後、これらの研究により、正常な体細胞クローン胚の作出に関わるリプログラミング機構の解明や正常なクローン胚を選別・評価する技術の開発が期待される。

さらに、現時点では体細胞クローン由来の生産物は、消費者の理解を十分に得られていない現状もあり、生産物の出荷自粛を継続中である。今後、消費者の理解を得るためには、体細胞クローン牛の生産性を向上させる技術の研究・開発に加え、クローン技術を含め畜産における新技術の有効性やその生産物の安全性を十分理解してもらう努力を続ける必要がある。

このような現状の中、本センターにおけるクローン技術研究の継続は難しい状況にあるが、現在まで得られたデータの提供に加え、クローン胚作出における基礎的な胚の体外操作技術を応用し、通常胚の生産や受胎率向上技術の研究・開発に役立っている。

5. 摘要

黒毛和種種雄牛「松寿丸」の耳細胞を用いて得られた体細胞クローン牛1頭について肥育試験を実施し、その発育成績および枝肉成績について調査し、体細胞クローン牛の正常性および相似性を検討した。

体細胞クローン牛は肥育期間中良好な発育を示し、肥育終了時体重は896kgであった。枝肉成績は、枝肉重量547kg、BMSNo.5であり、特に胸最長

筋面積、ばらの厚さに関して、良好な成績であり、「松寿丸」の間接検定成績に相似していた。

また、畜産関係者117名を対象にクローン牛に関する意識調査を行った結果、認識度において、「クローン技術」に対する認識度は高かったが、実際問題として「受精卵クローン牛肉の表示販売」や「体細胞クローンによる生産物の出荷自粛」に対する認識度は低い傾向であった。

6. 引用文献

- 1) 独立行政法人家畜改良センター、「家畜改良における牛体細胞クローン技術の活用のあり方について」,(2009)。
- 2) 長谷川清寿, 佐々木恵美, 安倍亜津子, 中村良一, 高仁敏光: 黒毛和種種雄牛候補に一次選抜された子牛からの体細胞クローン牛生産手法の検討(第2報), 鳥根県立畜産技術センター研究報告, 39, 1~6(2006)
- 3) 小倉淳郎: 体細胞クローン動物のエピジェネティックと表現型. 日本胚移植学雑誌, 31-(2), 87~93 (2009)

- 4) 熊谷進: 「バイオテクノロジー応用食品の安全性確保及び高機能食品の開発に関する研究」分担研究報告書, 厚生労働省, (2003)
- 5) 中里 敏, 井上哲郎, 谷山 敦, 清松邦章: ウシ体細胞クローン胚の体外発生と移植成績, 長崎県畜試研究報告, 10, 4~6(2001)
- 6) 中里 敏, 小笠原俊介, 谷山 敦, 松尾信明: ウシ体細胞クローン胚の体外発生とクローン産子の生産, 長崎県畜産試験場研究報告, 11, 1~3(2003)
- 7) 農林水産省: 「家畜クローン研究の現状について」

- て」プレスリリース(2007)
- 8)農林水産省農林水産技術会議事務局編，日本飼養標準肉用牛（2000年版），(2000)
- 9)農林水産省生産局畜産技術課，独立行政法人家畜改良センター：肉用牛産肉能力検定成績（第27報），61～65
- 10)坂下邦仁，窪田 力，田原則雄，岡野良一，西博巳，川畑健次，大園正陽，米丸光政：体細胞クローン去勢牛の肥育成績，鹿児島県畜産試験場研究報告，35，28～37(2002)
- 11)社団法人畜産技術協会：畜産の新技术に関するアンケート調査結果(2006)
- 12)高橋昌志，阪谷美樹，小林修司，小林修一，澤井健，志賀一穂：体細胞クローン牛胚におけるメチル化状態の検出と評価，日本胚移植学雑誌，26(3)，112～117(2006)
- 13)谷山 敦，中里 敏，廣川順太，小笠原俊介，松尾信明：体細胞クローン雄牛の発育性および精液性状，長崎畜試研究報告，12，6～7(2006)
- 14)山田信一，西山厚志，河村 正，後藤裕司，撫年浩，奥村寿章，山内健治：体細胞クローン肥育牛の発育および枝肉成績に関する相似性の検討，日本畜産学会報，75-(2)，165～177(2004)
- 15)山中賢一，高橋昌志：総説 体細胞クローン作出におけるエピジェネティック研究の現状について，日本胚移植学雑誌，30(2)，99～105(2008)
- 16)渡辺伸也，永井卓：総説 わが国における体細胞クローン牛を対象とした健全性調査の実施状況，日本胚移植学雑誌，29-(1)，14～28(2007)

Summary

Somatic cell cloned bull, "shoujumaru, Japanese Black", was fattened, and growth and dressed carcass characteristics were examined. The clone was compared with the progeny of his donor on dressed characteristics.

The clone got normal growth for the fattening period, thus market weight was 896kg. The dressed carcass weight was 547kg and BMS Number in meat quality was 5. Especially, the rib eye area and rib thickness were good and similar to the progeny test of sires of the donor.

Additionally, we obtained questionnaires of 117 people in the livestock trade about recognition of cloning technique. Most of them had understanding to "Cloning technique". But, they had little understanding to "sales of the *embryos-cloned beef* are approved" and "sales of the *somatic-clone beef* are controlled voluntarily".