

体細胞クローンブタの作出と利用

大 西 彰

独立行政法人 農業生物資源研究所
動物生命科学研究所 発生分化研究グループ

1997年に報告された体細胞クローンヒツジの成功例以来、これまでにウシ(1998年)、マウス(1998年)、ヤギ(1999年)、ブタ(2000年)、ネコ(2002年)、およびウサギ(2002年)において体細胞クローンが誕生している。クローンブタの作出は、家畜の中で最も困難とされてきた。しかし、2000年、我々を含む3つのグループが相次いで体細胞クローンブタの作出に成功して以来、世界各国で体細胞クローンブタが誕生している。我が国においても、いくつかのグループで誕生例が得られている。

クローンブタの作出法

クローンの作出法は大きく2つに分類できる。一般には、体細胞と除核した未受精卵子を電氣的に融合させる方法が用いられる。一方、マウスで開発され、我々が応用した方法として、体細胞核を直接に除核卵子内に注入する方法がある。体細胞クローンを成功させる要因の一つに、体細胞核の“初期化”があげられる。“初期化”の原理に関しては不明である。しかし、体細胞の染色体を、未受精卵子の細胞質中に曝すことが重要な要因の一つに考えられている。ブタ卵子は、電氣的融合により活性化が生じやすく、体細胞核が、卵子細胞質中で十分に曝されないまま胚発生が開始する恐れがある。一方、注入法の場合、卵子を活性化させずに細胞核を細胞質中へ導入することができる。そのため、核を卵子細胞中で十分に曝した後、胚発生が開始できる利点がある。この手法は、マウスではかなりの熟練を要することから、敬遠されがちである。しかし、ブタでは意外なほど容易に行うことができる。実際、静岡県中小家畜試験場において

も、我々の手法を用いた複数のクローンブタの成功例がこれまで得られている。

誕生に伴う異常の有無

体細胞クローン動物における様々な異常が、これまで報告されている。特にウシにおいては、巨大産子の出現頻度が高く、30～40%の個体が生後まもなく死亡する。クローンブタに関しては状況が異なる。巨大産子が誕生することはない。生後死に関しては、一般の養豚業においても、平均12%(5～25%)のブタが離乳前に死亡するが、その範囲内にある。我々の場合、これまでに2頭のブタが誕生後に死亡している。内1頭は、哺乳中の事故死で、2頭とも病理鑑定における異常は何ら認められていない。その他の個体は全て生存中で、正常な繁殖能力を持つことが確認されている。

クローンブタの利用

畜産関係

体細胞クローンの場合、交配による遺伝子の組換えおよび分散が生じることなく個体の複製が可能となる。そのため、遺伝的に優れた能力を持つ種畜の増産・維持にクローン技術が利用できる。ブタは近交退化が生じやすく、群の維持管理が難しい。また、生産性に大きく影響するオーエスキー病やPRRS(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome)等の疾病汚染に曝される危険が常にある。そのため、種畜の保存が重要となる。種畜の保存には、精子あるいは卵子の凍結保存が一般的に行われる。しかし、ブタの場合、生殖細

胞，特に卵子の凍結保存技術が発展途上にあるため，確実な手段がない現状にある。体細胞の場合，凍結保存が極めて容易であることから，クローン技術による個体再生は，特に重要であろう。また，体細胞クローンで問題とされる epigenetic な遺伝子異常は，後代には伝わらないことから，種畜として体細胞クローンを利用することは，何ら問題がないと考える。

医学関係

家畜においては，ES細胞の樹立が困難であるため，遺伝子組換え動物の作出には，受精卵子の前核内に遺伝子を注入する手法が用いられてきた。この場合，遺伝子の染色体への挿入位置の制御が不可能なため，目的とする個体が得にくい問題があった。体細胞クローンの場合，遺伝子の発現を事前に確認した細胞のみを用いることができるため，遺伝子組換え動物

の作出効率が高まることが考えられる。一方，相同遺伝子組み換えによるターゲティングの効率が，体細胞では低いことが指摘されてきた。しかし，体細胞への遺伝子ターゲティングにより，ヒト $\alpha 1$ -アンチトリプシンを産生するクローンヒツジおよび α -1,3GT 遺伝子をノックアウトしたクローンブタが作出されている。後者の場合，ブタ臓器の表面に存在する糖鎖を破壊し，超拒絶反応を抑制することにより，ヒトへの移植を可能とする臓器の供給が目的となっている。慢性的な移植用ヒト臓器の不足を補うための技術として，注目されている。ブタの臓器は，生理学および解剖学的にヒトと類似しているとされている。そのため，体細胞クローンブタの技術の，異種移植や再生医療の分野への応用が，今後さらに増加するに違いない。