

会議名	2007 動物バイオテクノロジーつくば会議—体細胞クローン技術の進展—
開催日時	平成 19 年 1 月 12 日 13:30-17:00, 1 月 13 日 9:00 - 17:00
開催場所	研究交流センター・つくば国際会議場「エポカルつくば」(つくば市)
主催者	農研機構 畜産草地研究所・農業生物資源研究所・東日本家畜受精卵移植技術研究会(協賛)
参加人数	約 150 人 (15 カ国)
1. 会議の概要	<p>基調講演では、IETS の機関誌 Theriogenology に掲載された過去 25 年間のクローン研究の総括と体細胞クローンの問題点を指摘しつつも、今後は無限の可能性を持ち、一部は既に明白となっている、と述べられた (Dr J. P. Kastelic)。会議は 7 つのテーマ (必ずしも共通目的で括られていないが) に分けて進められた。</p> <p>(1) 「発生に関与する卵および胚の品質」: 移植胚の胚質の評価が主観的であり、これが妊娠率に影響していることから、培養条件と胚操作手法が劇的に胚の遺伝子発現を損なうこと、着床前胚は劣悪な培養条件でもこれを補償する柔軟性を持つこと、それ故に mRNA 分析が生産された胚の正常性評価に有益であることが紹介された (Dr C. Wrenzycki)。豚と牛の孵化胚での発生について、日齢とともにどのような発生の変化が生じるかを科学的に説明し、始生殖細胞の同定と抗体・磁力装置による採取法の紹介があった (Dr P. M. Hyttel)。若齢家畜からの採卵と体外受精において、胚生産効率が低下する原因を追究し、若齢家畜では発情周期による内分泌支配を受けていないこと、これをカバーするには性腺刺激ホルモンの投与が有効で、卵胞直径と卵丘と卵母細胞間のギャップ結合が切断されず、卵丘細胞層の膨化による cAMP 量の増加が重要であることが指摘された (Dr C. Grupen)。</p> <p>(2) 「胚と生殖器との相互関係」: 豚の発情と排卵までの長い時間、精子は卵管膨大部・峡部接合部の精子貯蔵所で待機させられている。この間、精子受精能獲得変化は生じず、排卵後の卵子と会合するために貯蔵所から出て、卵管上部の重曹によって受精能獲得を起こし、受精となるが、これと同じことを体外で再現するに至っていない (Dr H. R. Martinez)。米国酪農家は泌乳支持エネルギー補給のため飼料に脂質を添加し、乳生産増のため bST を使用しているが、その生物学的機構は不明であった。これを子宮・胚の機能や発情周期と妊娠初期に関連する遺伝子発現から検討した研究が紹介された。要約すれば、魚油 (EPA と DHA 計 14.89/d) の飼料への添加および bST 500mg の授精時および 1 1 日後の投与は低受胎乳牛の繁殖成績向上のための管理技術となることが科学的に証明された (Dr W. W. Thatcher)。</p> <p>(3) 「家畜におけるバイオテクノロジー」: 中国での牛・羊・山羊の胚移植、豪州で体外受精し凍結保存した牛胚の内モンゴでの移植、XY 分離後の牛精子の凍結と人工授精、体細胞クローン牛および遺伝子導入牛の生産などの成績が包括的に紹介された (Dr B. Shorgan)。韓国では体細胞クローン牛生産と形質転換 (Tg) 豚作出の研究が急速に進展中である。既にヒトエリスロポエチンを乳中に分泌する豚群を作出した。ヒトの治療用タンパク生産目的の Tg 豚の作出は拡大中であり、またヒトへの臓器移植用 Tg 豚研究にも着手している。これらは韓国の国家プロジェクトとなっている (W. K. Chang)。イタリアでは、馬の経腔採卵した卵子の体外成熟、顕微授精や体細胞クローン胚作出と凍結保存、および胚移植での子馬生産が可能になっている (Dr C. Galli)。</p> <p>(4) 「クローン作製および幹細胞技術のための新たな取り組み」: 豚で 1 台の実体顕微鏡と細胞融合装置および培養器のみで効率的に体細胞クローン胚を作出し、それらの移植によって子豚生産できること、および Tg 豚生産にも適用できることが紹介された。これは資金難で考えたハンドメイドの方法で、牛クローン胚作出よりも難しい豚での問題を 3 つの改良によって克服したすばらしい研究といえる (Dr G. Vajta)。表皮の幹細胞や神経幹細胞の体外培養と分化について再生医療への応用を目的に基礎研究が行なわれている (Dr J. Motolik)。大量の幹細胞を未分化のまま培養するためには、人手による多労性の培地交換や一定量の薬品添加の作業は間違いを招き易い。この省力化のため、ロボット工学とマイクロ流体技術を応用した培養法を開発した。このオートメ化によって幹細胞の培養条件や分化の条件の検討、分化に関連した遺伝子発現や細胞機能の検査が容易になった。ヒト ES 細胞の他に豚 ES 細胞の株化にも成功したという</p>

	<p>(DrM. B. Wheeler)。</p> <p>(5)「クローン胚における分化とメチル化」：赤シカの枝角幹細胞と 150 日齢牛胎子の筋芽細胞を材料とし、それぞれ未分化状態の細胞と体外培養で分化した細胞を体細胞クローン作出のドナー細胞として用いた。結果は類似の胚盤胞発生率と移植後の産子生産率であり、ドナー細胞の分化状態が植移植効率に影響しないことが確認された</p> <p>(DrD. Wells)。 妊娠 6-90 目で流産した体細胞クローン胎子を材料とし、4 つのインプリント遺伝子のメチル化状態を調べた結果、個々の胎子によって異なるが、広範囲の異常なメチル化インプリンテングが生じており、これが流産と発生異常に密接に関係していることが指摘された (Dr Q. Y, Sun)。</p> <p>(6)「クローン胚における初期化」:Dolly の生みの親、DrK. H. S. Campbell は、体細胞クローンの生産効率向上にはレシーピエント卵子の細胞周期と時間齢が重要で、特に MPF と MA P キナーゼが移植膜の崩壊と成熟前の染色体濃縮に影響すること、MII 期卵での除核よりも第 1 成熟分裂の終期での除核は細胞質除去が少なく、またヒツジ卵母細胞の 10mM カフェイン 6 時間処理で MPF と MA P キナーゼが増加し、体細胞核移植胚盤胞の細胞数が増加し、移植後の妊娠率を大幅に改善できることを示した。これは現実的な技術として有効である。</p> <p>(7)「形質転換動物作製における新手法」：鶏で Moloney murine leukemia virus をレトロウィルスベクターとして eGFP 遺伝子を導入し、これが生殖系列の細胞に入り、次世代にも伝えられることが報告された。この手法はヒトの各種サイトカインやテトラサイクリンを鶏卵で生産させる技術として期待される (DrB. C. Koo)。 豚の幹細胞に二重に遺伝子導入し、これを体細胞クローンのドナー細胞として用い、除核と電気的融合条件を改良し、移植胚の受胎豚と胚の日齢差を 1 日以内とし、アルトレノゲストで発情同期化した性成熟期の雌豚に移植することによって、Tg クローン豚生産効率が飛躍的に向上した。さらにこれらの子豚の体細胞をリクローニングすることによって急速に Tg 豚群を形成できることが示され、生物医療と畜産への応用の目が近いことが強調された (Dr H. Niemann)。</p>
2. 今後の研究開発分野として重要と思われる関連発表	<p>以上が会議の要約であるが、これだけの著明研究者を一堂に集めた会議とその内容の先進性には感服するのみである。企画・組織化・推進の中心人物は畜草研の永井卓博士で、会議の総括においてクローン研究の安全性と消費者の安心感の確保が重要であることが指摘されたが、海外研究者を含めて異論はなかった。それにしても、海外での研究展開の早さと戦略的研究対応には驚くばかりである。会議を通じて感じたことは、既に体細胞クローン家畜の生産は目標を半ば以上達成しており、これと形質転換のための遺伝子操作技術がドッキングして、家畜乳や鶏卵からのヒト有用タンパクの生産および臓器移植のための豚の作出に力点が置かれているという研究の現実がある、ということであった。これに比較して、国内での研究が大幅に遅れていることは、誰一人日本での研究を紹介するスピーカーが居なかったことから明らかである。研究を守りの姿勢にし、法律や消費者反応におびえては、前に進むことはできない。もっと積極的に挑戦する研究者の出現とその研究を資金的に支える体制が求められている。それも早急に！</p>
3. その他の発表課題で関心のあったもの	
4. 今後研究開発課題採択に当たって参考とすべき事項	
5. 会議の所感	<p>専門分野であるとはいえ、英語での持続的な会議にはいささか閉口した。何とかフォローアップできたというのが実感として残った。</p>
報告者	花田 章