

体細胞クローン牛と一般牛との比較

誌名	石川県畜産総合センター研究報告 = Bulletin of the Ishikawa Pref Livestock Research Center
ISSN	1347913X
著者	長井, 誠 堀, 登 林, みち子 新谷, 英一 元藤, 映子 大橋, 愛美 常川, 久三 石田, 美保 田中, 孝一 金田, 信春 松田, 達彦 村上, 俊明 源野, 朗 北, 満夫 吉田, 幸雄 亀井, 勲 下村, 孝英 立浦, 凱一
巻/号	41号
掲載ページ	p. 1-5
発行年月	2009年8月

体細胞クローン牛と一般牛との比較

— 「のど」「かが」および後代牛の発育・血液・血清生化学的検査成績 —

長井 誠¹・堀 登¹・林みち子¹・新谷英一¹・元藤映了¹・大橋愛美²・常川久三³・石田美保⁴・田中孝一⁵
金田信春⁶・松田達彦²・村上俊明⁵・源野朗⁷・北満夫²・吉田幸雄⁸・亀井勲⁹・下村孝英¹⁰・立浦凱一¹¹

- 1 石川県畜産総合センター、2 石川県北部家畜保健衛生所、3 石川県農林水産部農業政策課
- 4 石川県農業総合研究センター、5 石川県南部家畜保健衛生所、6 石川県農林水産部生産流通課
- 7 石川県農林水産部農業安全課、8 石川県畜産協会、9 石川県立大学、10 石川県農林業公社
- 11 石川県獣医師会

Comparison of Health Status between Somatic Cell Cloned Cattle and Conventional Cattle: Growth, Hematology and Clinical Chemical Data of Somatic Cell Cloned Cattle "Noto" and "Kaga", and their offspring

Makoto NAGAI, Noboru HORI, Michiko HAYASHI, Eiichi SHINTANI, Eiryō MOTOFUJI, Megumi OHASHI,
Hisazo TSUNEKAWA, Miho ISHIDA, Takaichi TANAKA, Nobuharu KANEDA, Tatsuhiko MATSUDA, Toshiaki MURAKAMI,
Akira GENNO, Mitsuo KITA, Yukio YOSHIDA, Isao KAMEI, Takahide SHIMOMURA, Gaiichi TACHIURA

キーワード：血液・血清生化学的検査、体細胞クローン牛、発育

要 約

世界初の体細胞クローン牛「のど」「かが」は、1998年7月から12月にかけて5頭誕生し(Kato et al. Science 1998)、当所で飼養されている。体細胞クローン牛「のど」「かが」およびその後代牛について発育・血液・血清生化学的検査をそれぞれ10年間および7年間継続したところ、その測定値は通常に授精し産まれた牛と差がないことが確認された。

緒 論

1997年、ヒツジにおいて乳腺細胞由来の「ドリー」¹⁾が誕生して以来、家畜における体細胞を用いたクローン技術が、進歩し、世界初の体細胞クローン牛「のど」「かが」が1998年7月に当センターで誕生した²⁾。体細胞クローン牛は一般牛に比べ、流死産、生後直死の頻度が高いが、成牛まで成長した個体に関しては繁殖性および乳肉生産性は一般牛と差がないとされている³⁾。体細胞クローン牛の発育、血液・血清生化学的性状に関しては主に育成期において調査されているが、長期にわたって検査を継続した報告はない。そこで今回、体細胞クローン牛「のど」「かが」およびその後代牛において発育・血液・血清生化学的検査を10年および7年間継続したので、その成績を報告する。

材料および方法

I. 材料

体細胞クローン牛5頭(1998年7月5日生まれ双子(「のど」「かが」)、1998年8月8日生まれの双子(「のど2号」「かが2号」)および1998年12月8日生まれ(「のど3号」)および後代牛2頭(2000年7月10日生まれ、「かが2号」の後代

牛「こぶし」および2001年2月20日生まれ、「のど3号」の後代牛「ゆきつばき」)を検査の対象とした。

II. 発育検査

発育検査は体重、体高、体長および胸囲を1ヶ月ごとに測定した。体重は体細胞クローン牛は10年、その後代牛は7年間測定したが、体高、体長および胸囲については4年間測定を行った。

III. 血液検査

血液検査は赤血球、白血球および血小板数をCelltac α 全自動血球計数器(MEK6358、日本光電中部株式会社)で測定した。

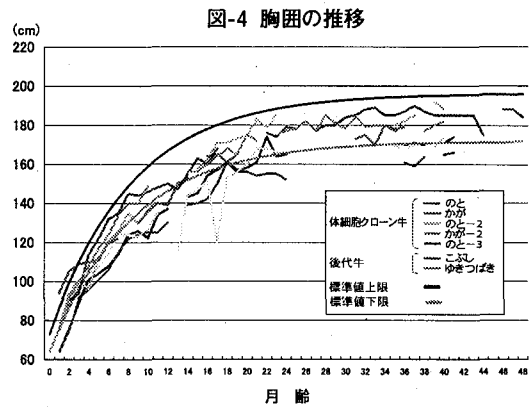
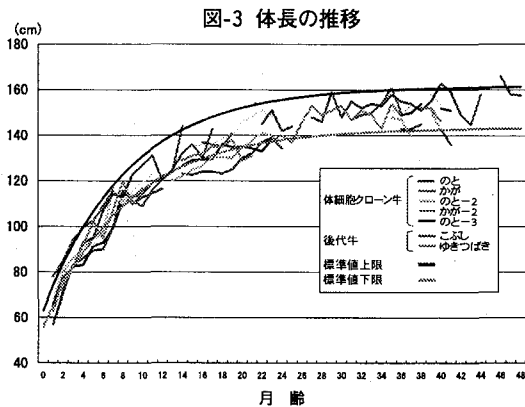
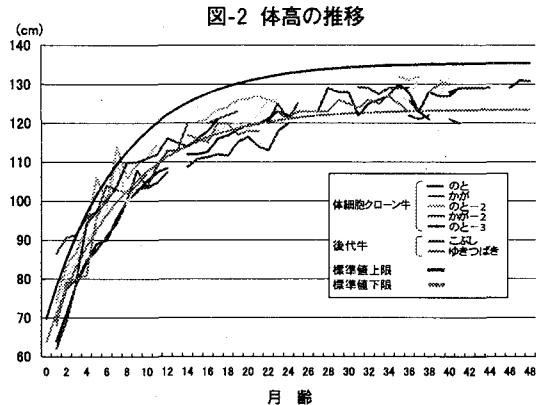
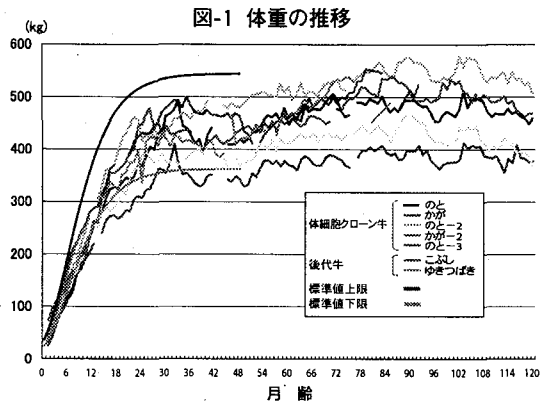
IV. 血清生化学的検査

血清生化学的検査はベンチトップ型自動分析装置(Express Plus、チバ・コーニング・ダイアグノスティクス社)を用い、総蛋白(TP)、尿素窒素(BUN)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GPT)、総コレステロール(T-Cho)、血糖(Glu)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンキナーゼ(CK)、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)およびマグネシウム(Mg)を調査した。

結 果

I. 発育検査

体細胞クローン牛およびその後代牛の体重、体高、体長および胸囲の推移を図-1~4に示した。体細胞クローン牛のうち1頭（かが）は体重、体高、体長および胸囲とも標準値（全国和牛登録協会黒毛和種正常発育曲線）の下限をやや下回ったが、その他は概ね標準値の範囲内であった。



II. 血液検査

赤血球数、白血球数、血小板数およびヘモグロビン値を図-5~8に示した。体細胞クローン牛およびその後代牛の検査値は、概ね一般牛正常値⁴⁾の範囲内で推移した。

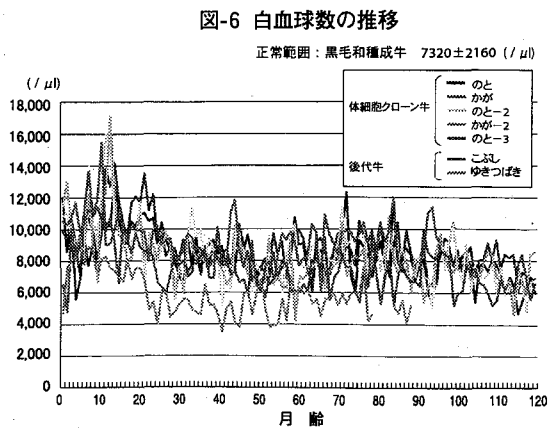
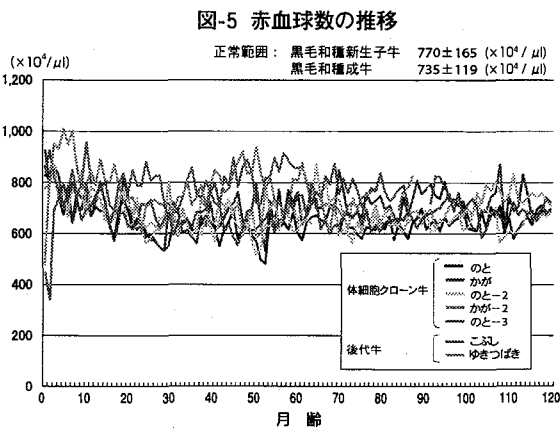


図-7 血小板数の推移

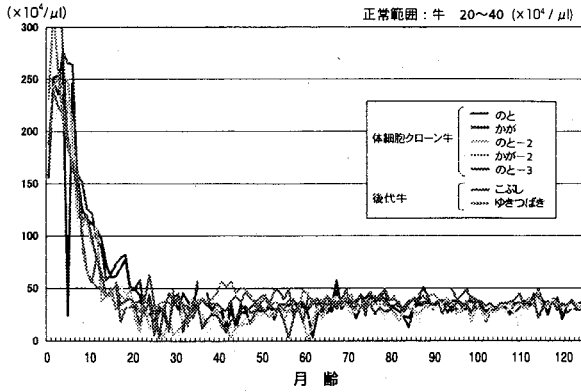
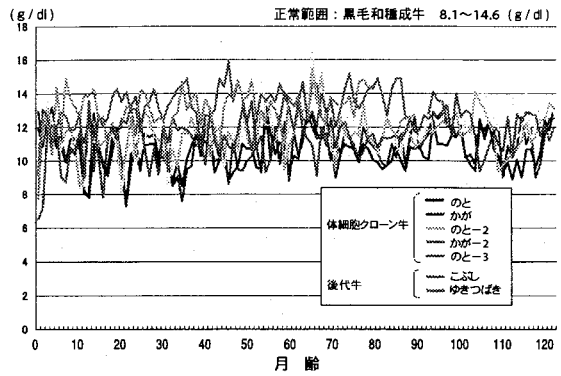


図-8 ヘモグロビン数の推移



Ⅲ. 血清生化学的検査

血清生化学的検査では、TP、BUN、GOT、 γ -GPT、T-Cho、Glu、LDH、CK、Ca、IPおよびMgの11項目について検査した(図-9~19)。BUNについては変動が大きく、 γ -GTPは

若干高めに、Mgは若干低めであったが、一般牛の正常値⁴⁾を大きく逸脱する個体は認められなかった。CKは大きく正常値を上回る個体があったが持続せず、概ね正常時の範囲内で推移した。

図-9 血清総蛋白の推移

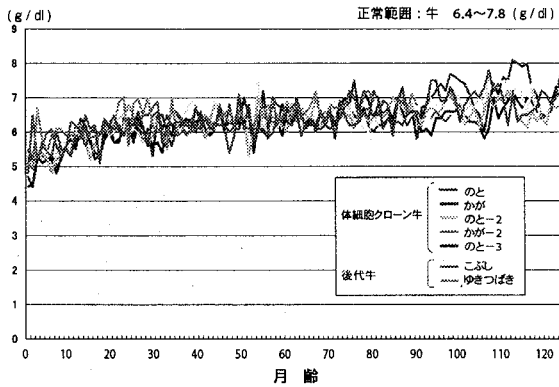


図-10 尿素窒素の推移

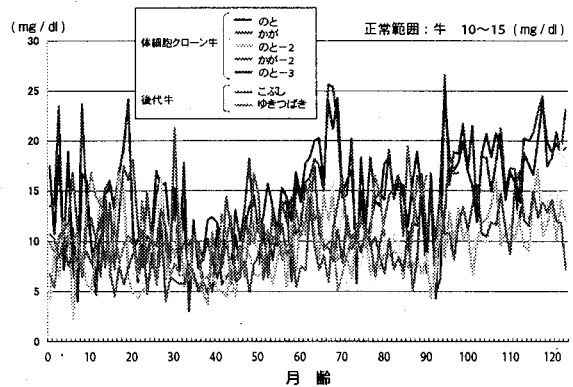


図-11 グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼの推移

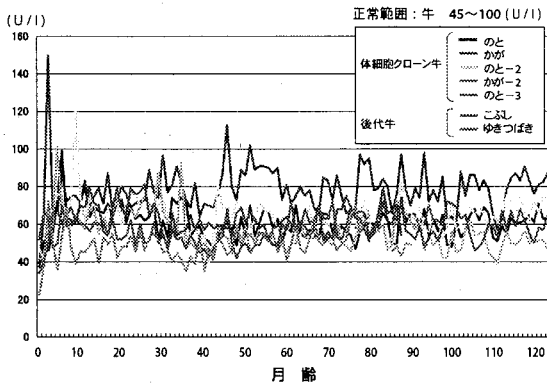


図-12 γ -グルタミルトランスペプチダーゼの推移

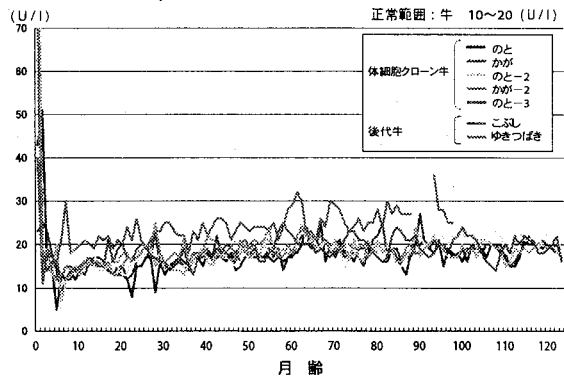


図-13 総コレステロールの推移

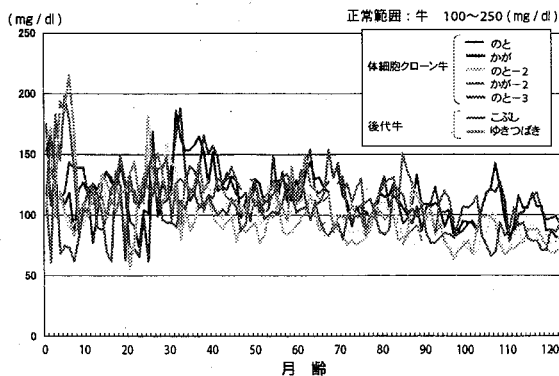


図-14 血糖の推移

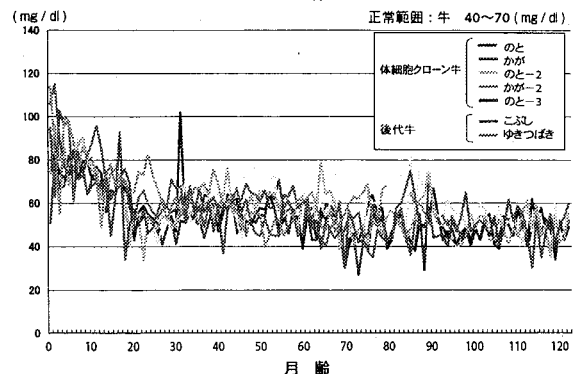


図-15 乳酸脱水素酵素の推移

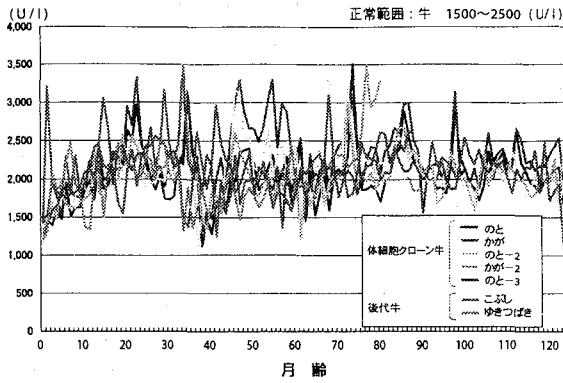


図-16 クレアチンキナーゼの推移

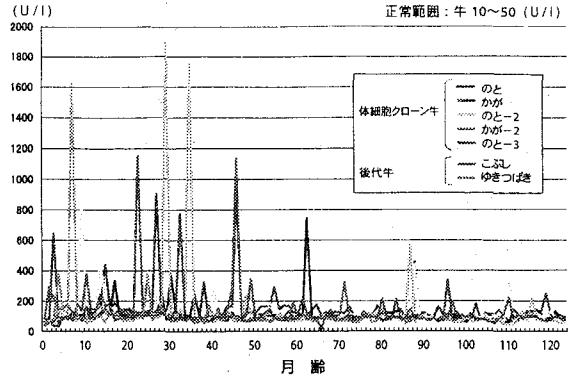


図-17 カルシウムの推移

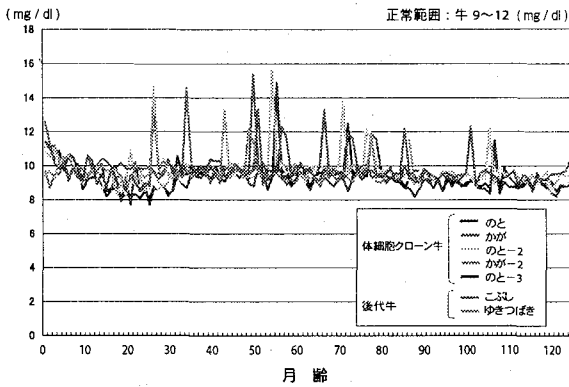


図-18 無機リンの推移

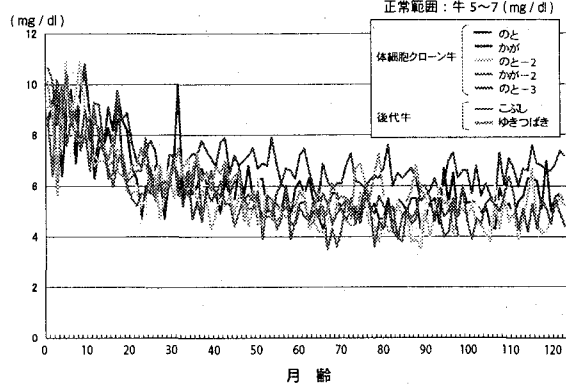
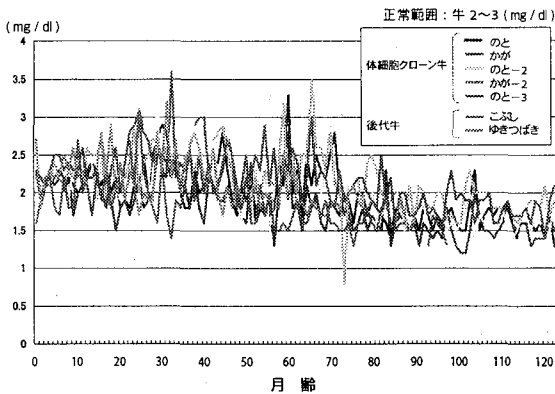


図-19 マグネシウムの推移



考 察

黒毛和種雌を対象とした発育試験³⁻¹²⁾では、出生や成長の過程で死亡あるいは淘汰されなかった体細胞クローン牛は対象牛と同様に成長し、標準発育曲線を大きく逸脱しなかったことが報告されている。今回の調査においても、1頭の体細胞クローン牛は標準曲線をやや下回ったものの、他の体細胞クローン牛および後代牛は標準曲線の範囲内で成長した。

血液中の赤血球系、白血球系および血小板系の血球は、それぞれが生命維持に重要な機能を営んでおり、様々な診断に用いられる¹⁾。また、血清中の各種生化学成分量は種々の疾病に際して変動し、家畜の健康の指標となる⁴⁾。これまでの体細胞クローン牛および後代牛を対象とした血液・血清生化学的検査の多くは主に生後12ヶ月齢以内のウシを対象として

いた¹³⁻¹⁶⁾。今回、体細胞クローン牛については10年、その後代牛については7年間の長期にわたり検査を継続し、一般牛の正常値との比較を行った。

血液検査では、体細胞クローン牛およびその後代牛の検査値は、概ね一般牛正常値¹⁾の範囲内であり、個体別にも推移パターンに特徴は認められなかった。

血清生化学的検査では、BUNにおいてはいずれの個体も正常値の上限あるいは下限を下回る測定値を示したが、上限あるいは下限の値を持続するのではなく、一定の傾向は認められなかった。尿素窒素は腎における排泄能と蛋白質の異化作用の均衡によって測定値が定まり腎機能の指標として用いられるが、飼料中のTDNやDCPの値によっても測定値が変動する¹⁾ことから、飼料中の摂取成分による影響である起因する可能性が示唆された。

γ -GTPは若干高めに推移した。通常 γ -GTPの上昇要因として、肝障害による機能が低下があげられる。しかし、本項目以外に肝機能障害を裏付ける他の検査データはなく、測定値も正常値の上限に近いことから、高めに推移した原因は肝疾患以外と思われた。

Mgは若干低めであり、飼料中のMgの不足が原因のひとつに考えられたが、測定値は正常値の下限に近く、試験牛にも臨床的な異常は認められなかった。

CKは大きく正常値を上回る個体があったが持続せず、概ね正常値の範囲内で推移した。CKは筋疾患で上昇する¹⁾ことから、本試験牛の管理において1日1度放牧場で運動させる際の打撲、外傷等が原因として考えられた。これらの疾病

で長期治療を行った個体はなく、測定値は短期間に正常値に復帰していることから、軽度の打撲等が測定値の上昇に関与した可能性が考えられた。

以上の結果より、体細胞クローン牛およびその後代牛の発育・血液・血清生化学的検査の測定値は、通常に授精し産まれた一般牛と差はないことが確認された。

稿を終えるに当たり、体細胞クローン胚を作成し、「のと」「かが」の誕生にご指導いただいた近畿大学角田幸雄教授ならびに関係各位に深謝する。また、長年にわたり血液・血清生化学的検査にご協力いただいた石川県南部家畜保健衛生所の諸先生方に深謝する。

引用文献

- 1) Willadsen SM (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, 320, 63-65.
- 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) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 高度繁殖技術研究チーム (2008) 体細胞クローン牛・後代牛の健全性ならびに生産物性状に関する国内調査報告書
- 4) 全国農業共済協会 (2005) 家畜共済における臨床病理検査要領. 平成17年改正
- 5) 長谷川清寿、安田康明、山田彰司、佐々木恵美、安部茂樹 (2003) ウシ生体由来の卵丘細胞-卵子複合体を用いた体細胞核移植. *島根畜試研報*, 36, 33-37.
- 6) 谷口俊仁、柏木敏孝、野口浩和、山本喜彦 (2002) 体細胞クローン牛の作出および相似性の検討. *和歌山県農林水技セ研報*, 4, 57-61.
- 7) 加藤誠二、林登、林尚徳、平尾一平、傍島英雄、小林直彦、大谷健 (2003) 体細胞クローン牛の正常性について (第1報) ~体細胞クローン雌牛の発育性・繁殖性とその産子の発育性について~. *岐阜畜研研報*, 3, 27-36.
- 8) 笠井幸治、佐野文彦、斎藤美英、大庭芳和 (2005) クローン牛の遺伝的相似性及び繁殖に関する検討. *静岡畜試研報*, 31, 27-30
- 9) 山口大輔、根本聡美、渡辺晃行、葦澤圭二郎、足立憲隆、赤木悟史、高橋清也、久保正法 (2003) クローン家畜生産技術利用による優良家畜作出試験 (第4報) -体細胞クローン牛の発育および繁殖能力に関する調査-. *茨城畜セ研報*, 35, 55-60.
- 10) 山口大輔、戸塚豊、渡辺晃行、足立憲隆、赤木悟史、高橋清也、久保正法 (2005) クローン家畜生産技術利用による優良家畜作出試験. *茨城畜セ研報*, 38, 5-12.
- 11) 中里敏、井上哲郎、谷山敦、清松邦章 (2001) 2ウシ体細胞クローン胚の体外発生と移植成績. *長崎畜試研報*, 10, 4-6.
- 12) 沖村朋子、清水雅代、四ッ島賢二 (2005) 体細胞クローン牛の発育と繁殖成績、及び免疫機能. *北信越畜会報*, 90, 49-52.
- 13) (社)畜産技術協会 (2002) クローン牛の産物性状調査事業報告書.
- 14) (独)農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所・(財)畜産生物科学安全研究所 (2008). 体細胞クローン後代牛の生産物性状に関する調査報告書.
- 15) 窪田力、岡本光司、轟木淳一、溝下和則、山口浩、田原則雄 (2001) 体細胞クローン牛雄牛の血液成分 (生後1ヶ月令までの生化学成分). *鹿児島県肉改研研報*, 6, 32-34.
- 16) 谷山敦、中里敏、廣川順太、小笠原俊介、松尾信明 (2006) 2体細胞クローン子牛の生時体重および血液性状. *長崎畜試研報*, 12, 4-5.