

ブタ・アラカルト（最終回） ノトバイオート・SPF ブタそして 21 世紀へ

波 岡 茂 郎

ブタのノトバイオート・SPF 化

ブタの実験動物化の条件として、これのノトバイオート化と SPF 化とがあげられます。私どもがこれらを確立してからすでに 40 年が経過しました。

動物を無菌的に生産維持したという報告は 100 年ほど昔のこと (Nuttall and Thierfelder, 1895) ですが、その後の技術的、機械発達と生物学との進歩によって、現在では多くの無菌あるいは SPF マウス、ラットなどが生産され、日常の研究に使用されています。現在ではこれらのための飼料をはじめ一切の装置が市販されています。

ブタの移行抗体は初乳を介して行われるので出産直後母体から隔離し、これを人口哺乳によって普通環境で飼育するのは難しい。この目的を遂行するためには、いきおい胎子が無菌的に取り出しこれに初乳を与えることなく、規制された清潔な環境で飼育することになります。これは他方、生まれながらに移行抗体をもたないため、いろいろな感染実験にも好都合な実験動物となります。このように、初生ブタを無抗体の状態で行いたいという理由が、SPF ブタの最初の生産を促しました。

ところで、いまひとつの SPF ブタの作出理由は後述するように SPF ブタによる集団変換計画計画 (swine repopulation program) であります。すなわち、現在のブタ集団 (conventional swine herd)

を SPF ブタ集団によって置換させようとする計画です。畜産目的における SPF ブタ生産に関する最初の報告は Young (1952) によって行われています。そして、これに関する精力的な研究は主として Young and Underdahl によって展開されております。現在の SPF ブタに関する作出飼育技術およびこれらに関する感染実験の基礎は彼らに負うところが大きかったです。

復習になりますが、わが国では、1963 年末農水省家畜衛生試験場（現在は動物衛生研究所）で、これが中心になって 1965 年からその生産を開始しております。そしてこれによって実験目的としてのノトバイオートおよび SPF ブタが作出され、今日ではそれが日常化しており、種々の研究に欠かすことが出来ない実験動物となっております。子宮切断または帝王切開によって得られた SPF ブタは初乳を与えることなく人工乳で飼育されるので、これを特に HPCD ブタ (hysterectomy produced colostrums deprived piglet) とよびます。

SPF ブタの畜産界における応用はすでに日本を含む 2, 3 の先進国で実用段階に入っています。現在養豚産業は専門化し、多数のブタを密飼いにする傾向にあり、結果的に例えばマイコプラズマによるブタ流行性肺炎 (SEP) や萎縮性鼻炎 (AR)、オーエスキー病などが発生すると、一見健康に見える豚群全体にこれらが高率に浸潤していくことは、養豚産業に大きな脅威となっています。すな

わち、その集団の飼料効率や、増体の低下、死亡率の上昇で、これが市場出荷や計画生産に大きな影響を与え、その経済的損失は計りしれません。さきほどの SEP や AR 罹患ブタを例にとりますと、健康なものに比べて市場出荷が約 1 ヶ月おくれます。したがってこれを SPF ブタに置換することによって生産性を向上しかつ消費者に安全・安心なブタ肉を提供することが出来ます。現在わが国ではブタ生産総数の約 10% が SPF ブタによって占められており、この率を年々増加させるための努力がなされております。これらの遂行に当たって日本 SPF 協会（法）が設立されており、それを支援する SPF 豚研究会が存在することは周知のところ です。

21 世紀に向けて

ブタにおける遺伝子工学：1985 年に T. E. Wagner が「畜産業とバイオテクノロジー」という論文を *Can. J. Anim. Sci.* (65, 539-552) に発表したことは記憶に新しいところです。この論文では、畜産学と畜産産業のあらゆる分野にわたって主要な影響を与える遺伝子組み換えについてのべ、いまや家畜・家きんの遺伝子導入を主な手法とする分子生物学が主流になるであろうことが強調されています。とりもなおさず遺伝子組み換えによって乳量の増加や成長の増進などが期待されています。

これを裏付けるよかのように 1989 年のサイエンス誌の特集として「畜産産業における遺伝子工学」が発表されました (V.G. Pursel ら, *Science*, 244: 1281-1288)。この特集では先の wagner の総説の内容がより具体的かつ鮮明に紹介されております。すなわち、豚の肉質および増体量の改善が、ヒト由来成長ホルモン MTb GH のコピーを

豚受精卵の前核に挿入することによって実現しています。この実験は非常に大がかりなもので、オハイオ州立大学婦人科医、オーストラリアの畜産試験場、テキサス大の細胞工学および解剖学者、その他繁殖学、生理学、生化学など多岐にわたる分野の多くの人々が共同研究者として名を連ねております。Pursel らの研究では約 7,000 個のブタ受精卵に、4 系統のヒト由来成長ホルモン遺伝子が挿入され、これによって多くの表現系が得られていますが、中には奇形を呈するものや、後駆麻痺などがみられるものもあります。したがってそのうち成長促進、飼料要求率および脂肪厚の減少、ロース芯面積の拡大などの好成績の系はわずかに数例に過ぎません (表 1)。しかし結果的にはこれらは成功例であってリコンビナント系として固定されています。ちなみに平均 1 日増体重でみた場合、対照が 815 ~ 867g に対してリコンビナント・ブタでは 1,273g、飼料要求率は対照 2.99 ~ 3.12 でリコンビナント系では 2.46 ~ 2.62 というすばらしいものです。これらの成績の一部を表 1 に示しました。

ブタのゲノム解析：前回にも述べたように、現在国際的にミニブタの実験動物化がすすみ、近い将来これらがマウスやラットと並んで実験動物の主流になると考えられています。このような背景から、ブタのゲノム解析が農水省畜産試験場、動物衛生研究所、STAFF、農水省先端技術研究所などで 1991 年から開始されています。

ゲノム解析についてはマウスでいち早く行われ、すでにその遺伝子地図 (ジーンマップ) が各染色体ごとにかなり明らかにされております。一方ヒトのゲノム解析も世界的規模で共同研究がなされほとんど全ゲノムが明らかにされています。

表1 ヒト成長ホルモン遺伝子を導入したトランスジェニック・ブタの生育と血漿中の成長ホルモン濃度

トランスジェニック ブタ個体番号	性別	細胞当たりの トランスジーン のコピー数	血漿中の成長ホルモン濃度 (mIU/ml)		1日当たりの 体重増加 (g)
			出生直後	生後 50 日	
177	F	3	2.5	10.4	758
180	M	6	4.2	15.3	845
295	F	15	27.8	27.8	1273
375	F	0.5	6.3	ND	680
736	M	6	1.1	11.1	646
739	F	0.5	0.5	6.9	700
野生型同腹子	F + M	—	6.4 ± 5.2	11.3 ± 2.7	781 ± 44

F：雌，M：雄，ND：未測定

(Pursel らを一部修正)

ゲノムの解析によって目的とする遺伝子を他の個体に導入することによって遺伝子組み換えを行い、新たな特性を有する品種の作出が可能になってきました。先にあげたヒト成長ホルモン遺伝子のトランスジェニック・ブタもその好例といえましょう。しかし、ブタの遺伝子地図を作成し、そのゲノムについての解読には極めて膨大な作業が必要となり、ゲノムの総数は4～5万にのぼると考えられていますが、1979年には遺伝子地図にわずか5個が、また1989年には37個が、1992年には137個と急増しました。しかし最近では2002年にモンサント・ブタ・ゲノム・プロジェクトですでに37,357のゲノムを明らかにしています。

拒絶反応を抑えたクローン豚：最近の Science (295: 25-27, 2002) に異種移植の大きなハードルを越えたミニブタの作製についての記事が話題を呼んでいます。すなわち英企業 PPL セラピューティックス社と米ミズーリ，コロンビア大や韓国 の国立家畜研究所などの共同研究チームが相次い

でトランスジェニックやノックアウトの技法によって超急速拒絶反応を抑えた4頭のクローン豚の作製に成功しています。

豚の諸臓器のサイズおよび生理機能がヒトのそれに類似すると共に他の霊長類に比べて多数供給できるという利点があり今後期待されます。

一方ブタにはヒトや他の霊長類，ほ乳類にみられない2分子のガラクトース結合分子が血管内皮細胞に含まれ，これが超急速拒絶反応の要素となっており，これらの関連遺伝子のノックアウトブタの作製が鍵となっていました。今後益々異種移植や胚性幹細胞 (ES 細胞) またクローン技術による臓器の再生に関する研究が活発になるでしょう。ただ問題は万一異種移植が可能になってもブタに未知のウイルスが保有されていた場合の対応が困難なため，これが実用化の障害となっています。いずれにせよブタの実験動物としての有用性が今後ますます高められるものと思われま