

(案)

動物用医薬品評価書

豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン
(フォステラ PRRS)

2016年12月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目 次

	頁
○審議の経緯	2
○食品安全委員会委員名簿	2
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	2
○要 約	3
I. 評価対象動物用医薬品の概要	4
1. 主剤	4
2. 効能・効果	4
3. 用法・用量	4
4. 添加剤等	4
5. 開発の経緯及び使用状況	4
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. ヒトに対する安全性	6
(1) 主剤	6
(2) 添加剤	6
2. 豚に対する安全性	7
(1) 豚における安全性試験	7
(2) 豚における臨床試験	8
3. その他	8
III. 食品健康影響評価	9
・別紙1：検査値等略称	10
・参照	11

<審議の経緯>

- 2016年 9月 27日 農林水産大臣から製造販売の承認に係る食品健康影響評価について要請（28 消安第 2482 号）、関係資料の接受
- 2016年 10月 4日 第 624 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016年 10月 27日 第 196 回動物用医薬品専門調査会
- 2016年 12月 20日 第 633 回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

（2015年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

（2016年4月1日から）

青山 博昭（座長）	島田 美樹	宮田 昌明
小川 久美子（座長代理）	須永 藤子	吉田 和生
青木 博史	辻 尚利	吉田 敏則
石川 さと子	寺岡 宏樹	渡邊 敏明
石塚 真由美	能美 健彦	
島田 章則	舞田 正志	

<第 196 回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

澤田 純一

要 約

豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン（フォステラ PRRS）の製造販売の承認に係る食品健康影響評価について、動物用医薬品製造販売承認申請書等を用いて実施した。

本製剤の主剤である製造用株は、親株を培養細胞で一定数継代した後、ウイルスゲノムの分子クローニング及びトランスフェクションによる感染性ウイルスの産生を実施し、更に培養細胞での連続したウイルス継代によって作出された弱毒株である。今般のウイルスゲノムの分子クローニングは、遺伝的均一性の確保のために、同一ウイルス由来の核酸のみを用いており、また、製造用株は弱毒化していることから、ウイルスゲノムの分子クローニング及び cDNA クローンからのウイルス産生に起因する安全上の新たな懸念は生じないと考えられた。また、PRRS ウイルスは豚とイノシシのみに感染するウイルスとして知られており、ヒトへの感染に関する報告は見当たらないことから、PRRS は人獣共通感染症ではないと考えられた。以上のことから、製造用株は人に対する病原性はないと考えられた。更に、少なくとも豚を用いた 5 回のウイルス継代では製造用株の病原性復帰は認められていない。

本製剤に使用されている添加剤は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できると考えられた。

安全性試験及び臨床試験において、1 日齢の豚に有害事象は認められなかった。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 主剤

主剤は、豚 CD163 遺伝子発現ハムスター腎臓株化細胞培養弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) ウイルス P129-PKC12-FL 株である。1 頭分中に当該ウイルス株が $10^{2.5}$ TCID₅₀ 以上含まれている。(参照 1)

2. 効能・効果

効能・効果は、PRRS ウイルス感染による呼吸器症状の軽減、肺病変の軽減及びウイルス血症の予防である。(参照 1)

3. 用法・用量

用法・用量は、本製剤 (乾燥ワクチン) に溶解用液を加えて溶解し、その 2 mL を 1 日齢以上の豚の筋肉内に投与する。(参照 1)

4. 添加剤等

本製剤には、安定剤としてデキストラン 40、カゼイン酵素分解物、乳糖水和物及びソルビトール液 (結晶)¹が、保存剤としてゲンタマイシン硫酸塩が、溶剤として滅菌注射用水が含まれている。(参照 1)

5. 開発の経緯

PRRS は、アルテリウイルス科アルテリウイルス属の RNA ウイルスである PRRS ウイルスへの感染により、本ウイルスに感受性を有する豚及びイノシシにのみ引き起こされ、妊娠豚の流死産、虚弱児分娩等の繁殖障害と、離乳豚の腹式呼吸が特徴的である慢性肺炎等の呼吸器障害の異なる病態から成る症候群疾病であり、世界の主要な養豚国で発生している。(参照 2、3、4)

PRRS の発症・病態軽減を目的として、生ワクチン及び不活化ワクチンが使用されている。日本では、生ワクチンが使用されている。(参照 2、3)

本製剤の製造用株である PRRS ウイルス P129-PKC12-FL 株は、1995 年に米国中西部で分離された PRRS ウイルス P129 株を親株とする培養細胞継代弱毒株である。P129 株感染豚血清の分与を受けた後、豚での 2 代継代後に、その血清中のウイルスを豚肺胞マクロファージに 1 代継代した。次に、PRRS ウイルスレセプターである豚 CD163 の遺伝子を発現させた豚腎細胞株 (PK-9 細胞) で 29 代、豚 CD163 遺伝子を発現させたハムスター腎細胞株 (BHK21-C12 細胞) で 17 代、BHK21-C12 細胞の派生クローンである BHK21-C12-26 細胞で 5 代継代したものをワクチン製造用原株とした。なお、遺伝的均一性を確保することを目的に、継代 17 代目のウイルスについて、ウイルスゲノムの分子クローニングを行い、作製した cDNA を PK-9 細胞へトランスフェクトすることにより、継代 18 代目のウイルスを得ている。(参照 1、2、3、5、6)

¹ 欧州薬局方では、“SORBITOL, LIQUID (CRYSTALLISING)” と記載されている。本評価書では、参照 1 の記載とした。

海外では、本製剤を含めて計 6 種類の PRRS 生ワクチンが使用されており、本製剤は、PRRS ウイルス感染による呼吸器疾患の予防を効能・効果としてアメリカ、カナダ、メキシコ、タイ、マレーシア及び韓国で承認・使用されている。(参照 2、3)

今般、ゾエティス・ジャパン株式会社から本製剤の製造販売承認申請がなされたことに伴い、農林水産大臣から本製剤を承認することについて食品健康影響評価が要請された。

II. 安全性に係る知見の概要

1. ヒトに対する安全性

(1) 主剤

主剤の製造用株は、1995年に分離された PRRS ウイルスを PK-9 細胞及び BHK21-C12 細胞での連続継代により弱毒化したものである。この過程で、遺伝的均一性の確保のために継代 17 代目のウイルスについて、ウイルスゲノムの分子クローニングがなされ、その PK-9 細胞へのトランスフェクションにより、18 代目のウイルスが得られている。(参照 1、2、7)

分子クローニングにおいては、RT-PCR により得られた 4 つの cDNA 領域のクローニング及び塩基配列の解析が行われ、最終的に共通配列を有するウイルスゲノム全長を含むプラスミドが構築された。PK-9 細胞にトランスフェクトすることによりウイルス粒子が産生された。この過程により得られたウイルスゲノムの配列は、従来手法により得られた 17 代のウイルス配列に相当するため、ナチュラルオカレンス²に該当することと判断されている³。

PRRS ウイルスは、ウイルス自ら有するゲノム複製に用いる RNA ポリメラーゼの忠実性が低く、塩基置換が起こることが知られており、製造用株とその親株である P129 株のウイルスゲノム⁴の全塩基配列を比較すると、相同性は 99.4%であった。また継代による変異の出現率は、野生株とほぼ同様であった。これらの結果から、製造用株に認められる変異の集積は、RNA ポリメラーゼの忠実性が低いことで説明される。(参照 2、9、10、11)

今般のウイルスゲノムのクローニングは、遺伝的均一性の確保のために、同一ウイルス由来の核酸のみを用いている。また、製造用株は弱毒化していることから、ウイルスゲノムの分子クローニングと cDNA クローンからのウイルス産生に起因する安全性上の新たな懸念は生じないと考えられた。

また、PRRS ウイルスは、豚及びイノシシのみに感染するウイルスとして知られており、ヒトへの感染に関する報告も見当たらないことから、PRRS は人獣共通感染症ではないと考えられた。(参照 2、3、4)

以上のことから、製造用株はヒトに対する病原性はないと考えられた。

(2) 添加剤

本製剤に使用されている添加剤のうち、安定剤として用いられているデキストラン 40 及び乳糖水和物は、医薬品や医薬品添加物として使用されている。安定剤として用いられるカゼイン酵素分解物は、乳タンパク質の主成分であり、酵素等で分解させたもので

² 自然条件下で核酸を交換することが知られているウイルスの核酸のみを用いて加工する技術。用いる遺伝子組換え技術がナチュラルオカレンスに相当する場合、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成 15 年法律第 97 号）の規制対象外となる。(参照 5)

³ 薬事・食品衛生審議会薬事分科会生物由来技術部会動物用組換え DNA 技術応用医薬品調査会の意見を踏まえ、農林水産省ではナチュラルオカレンスであると判断されている。(参照 6)

⁴ P129 株を MARK-145 細胞で 10 代継代（継代の過程で 2 回のプラーククローニングが実施）後にゲノムクローニングで配列が読まれたもの

ある。安定剤として用いられるソルビトール液（結晶）は、その主成分である D-ソルビトールが食品添加物、医薬品及び医薬品添加物として使用されている。上記の安定剤は全て、食品又は食品から通常摂取されている成分である。保存剤として用いられるゲンタマイシン硫酸塩は、医薬品として使用され、JECFA において、ADI が 0.02 mg/kg 体重と設定されている。（参照 12～17）

本製剤に含まれている添加剤は、食品安全委員会において、動物用ワクチンの添加剤として使用される限りにおいて、ヒトへの健康影響は無視できると考えられると評価されている。（参照 18、19）

以上のことから、本製剤に含まれている添加剤は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できると考えられた。

2. 豚に対する安全性

(1) 安全性試験

豚（種不明、1 日齢（対照群の雄 2 頭のみ 2 日齢）、雌雄各 4 頭/群）を用いて、本製剤を 1 回筋肉内接種し（常用量⁵及び 10 倍量⁶、対照群には生理食塩水を投与）、安全性試験が実施された。

その結果、いずれの試験群においても、臨床症状に異常は認められなかった。また、常用量群及び 10 倍量群で肉眼的な接種部位反応（硬結、紅斑、浸出、発熱及び腫脹）は認められなかった。

体温は、常用量群の 2 頭及び 10 倍量群の 1 頭に一過性の発熱（40.1～40.3℃）が認められた。

体重及び体重増加量にワクチン接種に起因すると考えられる影響は認められなかった。

血液学的所見として、常用量群及び 10 倍量群で白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数及び好塩基球数の増加、常用量群で血小板数の軽度の減少がみられたが、全て正常値の範囲内であった。

血清生化学的所見として、常用量群及び 10 倍量群で ALP の減少、ALT の減少、Ca の増加、Cl の減少、LDH の増加及び Na の減少がみられたが、正常値の範囲内又は経時的には大きな変動は認められなかった。

ワクチン接種に起因すると考えられる肉眼病変はみられなかった。

臓器重量比では、常用量群で副腎、肝臓及び脾臓重量の体重比の増加が認められたが、10 倍量群では認められなかった。

病理組織学的検査では、軽微又は軽度であるが、接種群で観察されたリンパ節におけるリンパ球増加及び心臓のリンパ組織球性炎は、ワクチン株である PRRS ウイルスの感染によって引き起こされた可能性及び脾臓における髄外造血の亢進は、投与に関係する

⁵ 常用量：10 頭分の乾燥ワクチンを 20 mL の溶解用液で溶解し、1 頭当たり 2 mL を接種した。ウイルス含量は 10^{4.7} TCID₅₀。

⁶ 10 倍量：10 頭分の乾燥ワクチンを 2 mL の溶解用液で溶解し、1 頭当たり 2 mL を接種した。ウイルス含量は 10^{5.6} TCID₅₀。

可能性が考えられたが、用量の増加で明らかな症状の悪化が認められなかったことから、組織学的レベルに限局し、本製剤の安全性への影響はほとんどないと考えられた。

以上のことから、本製剤の1日齢時接種における豚の安全性に問題はないと考えられた。(参照2、20)

(2) 臨床試験

2施設において、計120頭(60頭/被験薬群、60頭/対照薬群)の豚(ランドレース、大ヨークシャー及びデュロックの3元交雑種、雌及び雄(去勢)、1日齢)を用いて本製剤ワクチンの臨床試験が実施された。

1日齢の豚に対して、被験薬群には本製剤ワクチンの1用量(2mL)を、対照薬群には生理食塩液(2mL)を単回筋肉内接種し、と畜場出荷時まで観察した。

表1 豚の臨床試験における試験群の設定

施設	群	供試例数	安全性評価例数
施設1	被験薬	30	30
	対照薬	30	30
施設2	被験薬	30	30
	対照薬	30	30
合計	被験薬	60	60
	対照薬	60	60

体温、体重及び体重増加量並びに接種部位反応について、被験薬摂取による影響はみられなかった。更に、被験薬摂取に起因する有害事象もみられなかったことから、本製剤の1日齢時接種における豚の安全性に問題はないと考えられた。(参照2、21)

3. その他

本製剤では、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、迷入ウイルス否定試験等が規格として設定され、それぞれの試験が実施され問題のないことが確認されている。更に、これらの試験は製造方法にも規定されている。(参照1)

本製剤の主剤(製造用株)について、病原性復帰確認試験では、豚への接種による5代継代(初代は筋肉内接種、2代目以降は経鼻接種)において病原性の復帰は認められていない。(参照2、22)

III. 食品健康影響評価

本製剤の主剤である製造用株は、親株を培養細胞で一定数継代した後、ウイルスゲノムの分子クローニング及びトランスフェクションによる感染性ウイルスの産生を実施し、更に培養細胞での連続したウイルス継代によって作出された弱毒株である。今般のウイルスゲノムの分子クローニングは、遺伝的均一性の確保のために、同一ウイルス由来の核酸のみを用いており、また、製造用株は弱毒化していることから、ウイルスゲノムの分子クローニング及び cDNA クローンからのウイルス産生に起因する安全上の新たな懸念は生じないと考えられた。また、PRRS ウイルスは豚とイノシシのみに感染するウイルスとして知られており、ヒトへの感染に関する報告は見当たらないことから、PRRS は人獣共通感染症ではないと考えられた。以上のことから、製造用株は人に対する病原性はないと考えられた。更に、少なくとも豚を用いた 5 回のウイルス継代では製造用株の病原性復帰は認められていない。

本製剤に使用されている添加剤は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できると考えられた。

安全性試験及び臨床試験において、1 日齢の豚に有害事象は認められなかった。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称等	名称
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
BHK21-C12 細胞	豚 CD163 遺伝子発現ハムスター腎臓由来株化細胞
BHK21-C12-26 細胞	豚 CD163 遺伝子発現ハムスター腎臓由来株化細胞サブクローン
CD163	白血球分化抗原 163 ; ヘモグロビンスカベンジャー受容体
MARC-145	アフリカミドリザル腎由来株化細胞 (MA104) サブクローン
LDH	乳酸脱水素酵素
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
PK-9 細胞	豚 CD163 遺伝子発現豚腎臓由来株化細胞
TCID ₅₀	50%組織培養感染量

<参照>

1. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS (非公表)
2. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料概要 (非公表)
3. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 1 起源又は開発の経緯等に関する資料 (非公表)
4. 恒光裕: “豚繁殖・呼吸障害症候群”. 動物の感染症 第3版. 明石博臣、大橋和彦、小沼操、菊池直哉、後藤義孝、高井伸二、宝達勉編. 近代出版、2011年、p.178-179
5. 環境省 HP: 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律の解説. (平成19年4月1日修正)
6. 農林水産省消費・安全局. 「セルフクロニング及びナチュラルオカレンスに該当すると判断された大腸菌株、ウイルス株について」(平成25年1月7日)
7. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 2 物理的、化学的試験に関する資料 1 製造用株の由来および作出過程 (非公表)
8. ファイザー株式会社. 「豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) ウイルス P129-PKC-12-FL 株の取扱いについて」(非公表)
9. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 2 物理的、化学的試験に関する資料 5 系統発生的分類および他株との相同性 (非公表)
10. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 2 物理的、化学的試験に関する資料 6 野生株との組換えの可能性 (非公表)
11. Murtaugh MP, Stadejek T, Abrahante JE, Lam TTY, Leung FC-C: The ever-expanding diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Research*, 2010; 154: 18-30
12. 第十七改正日本薬局方. 2016年
13. 医薬品添加物規格 2013. 薬事日報社、2013年
14. 丸善総合食品辞典. 五十嵐脩、小林彰夫、田村真八郎編. 丸善株式会社、1998年
15. 食品衛生法施行規則 (昭和23年7月13日厚生省令第23号) 別表1 (指定添加物リスト)
16. 食品添加物公定書解説書 第8版. 谷村顕雄及び棚元憲一監修、廣川書店、2007年
17. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series No. 41, 2012, nos 918 on INCHEM.
18. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価について (回答)」(平成26年10月14日付け府食第793号)
19. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価について (回答)」(平成27年2月17日付け府食第121号)
20. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ

PRRS 添付資料 9 安全性に関する資料 1 Target Animal Safety of Modified Live PRRS Virus Vaccine Administered as a 1 X Dose or 10 X Overdose to 1—Day Old Piglets (未公表)

21. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 14 臨床試験に関する資料 1 国内野外条件下における 1 日齢豚の豚繁殖・呼吸障害症候群に対する PC-1205 投与の有効性及び安全性 (非公表)
22. ゴエティス・ジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 フォステラ PRRS 添付資料 2 物理的、化学的試験に関する資料 12 Reversion to Virulence of PRRS (P129-PKC12-FL) Master Seed Virus Administered to Three Week Old Pigs (非公表)