

動物用医薬品専門調査会における審議状況について

1. 審議状況

農林水産省及び厚生労働省から食品安全委員会に意見を求められた牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢－粘膜病2価・牛パラインフルエンザ・牛RSウイルス感染症・牛アデノウイルス感染症混合ワクチン(“京都微研,,キャトルウイン-6)に係る食品健康影響評価(平成16年7月2日付 16消安第2629号 及び 厚生労働省発食安第0702001号)及び鶏サルモネラ症(油性アジュバント加)不活化ワクチン(オイルボックスSET)に係る食品健康影響評価(平成16年7月2日付 16消安第2629号 及び 厚生労働省発食安第0702002号)については、平成16年7月22日に開催された第14回動物用医薬品専門調査会(座長:三森国敏)において、審議結果(案)がとりまとめられた。

また、審議結果(案)については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. 牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢－粘膜病2価・牛パラインフルエンザ・牛RSウイルス感染症・牛アデノウイルス感染症混合ワクチン(“京都微研,,キャトルウイン-6)及び鶏サルモネラ症(油性アジュバント加)不活化ワクチン(オイルボックスSET)に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

第14回動物用医薬品専門調査会における審議結果(案)を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成16年7月29日(木)開催の食品安全委員会(第56回会合)終了後、平成16年8月25日(水)までの4週間。

2) 受付体制

電子メール(ホームページ上)、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、動物用医薬品専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(別添)

牛伝染性鼻気管炎 牛ウイルス性下痢－粘膜病2価 牛パラインフルエンザ 牛RSウイルス感染症 牛アデノウイルス感染症混合ワクチン(「京都微研」キャトルウイン-6)の食品健康影響評価について 案)

1. 牛伝染性鼻気管炎 牛ウイルス性下痢－粘膜病2価 牛パラインフルエンザ 牛RSウイルス感染症 牛アデノウイルス感染症混合ワクチンについて

牛伝染性鼻気管炎 牛ウイルス性下痢－粘膜病2価 牛パラインフルエンザ 牛RSウイルス感染症 牛アデノウイルス感染症混合ワクチン(以下キャトルウイン-6)は、それぞれ弱毒化された牛ヘルペスウイルス(BHV-1)、牛パラインフルエンザ3型ウイルス(BPIV-3)、牛RSウイルス(BRSV)、牛アデノウイルス7(BAdV-7)の4種の乾燥生ワクチンと、紫外線で不活化した牛ウイルス性下痢ウイルス1及び2(BVDV-1,BVDV-2)を混合した、6種混合ワクチンである¹⁾。

BHV-1は豚精巣培養細胞、BPIV-3は鶏胚培養細胞、BRSVはハムスター肺由来培養細胞をそれぞれ用いた継代培養により弱毒化され、限界希釈法によるクローニングにより純化されている。BAdV-7は牛腎培養細胞を用いて継代培養し限界希釈法によりクローニングしたものをさらに山羊精巣培養細胞を用いて継代培養し弱毒化されている。また、BVDVは紫外線照射により不活化されている。キャトルウイン-6は弱毒化された生ウイルス株を乾燥させたものを、不活化されたBVDV培養液を限外濾過で濃縮したもので溶解後、筋肉中に注射して使用される。これらのウイルス株は全て過去に国内で分離されたものに由来している¹⁾。

なお、本ワクチンと同じウイルス株のBHV-1、BPIV-3、BRSV、BAdV-7とウイルス株が異なる弱毒BVDVを混合した5種混合生ワクチンがすでに我が国で承認され市販されている²⁾。

なお、本生物学的製剤にはアジュバントは添加されていない。

2. ワクチンの対象疾病について

①牛伝染性鼻気管炎(infectious bovine rhinotracheitis)について^{3,4,5)}

原因ウイルスは牛伝染性鼻気管炎ウイルス(infectious bovine rhinotracheitis virus ;IBRV)と通称される牛ヘルペスウイルス1(bovine herpesvirus 1;BHV-1)の感染によって起こる伝染病である。ヘルペスウイルスは全ての脊椎動物や、昆虫からも分離され、糖蛋白質と脂質のエンベロップ^{a)}、テグメント^{b)}、キャプシドを持ち、直鎖2本鎖DNAをゲノムに有する。BHV-1はアルファヘルペスウイルス亜科に属し、感染によって高熱、元気消失、食欲不振、流涙、流涎等を示し、妊娠牛では流産が見られることがある。病態は呼吸器型その他、生殖器型等多様にわたり、上部気道に感染した場合本病となるが、外陰腔部に感染すれば牛伝染性膿疱性外陰腔炎となる。ヘルペスウイルスの特徴として潜伏感染を起こすので清浄化は非常に困難であるとされる。日本でも全国的に発生が見られ、届出伝染病に指定されている。

②牛ウイルス性下痢－粘膜病(bovine viral diarrhea-mucosal disease)について^{3,4,5)}

原因ウイルスは牛ウイルス性下痢ウイルス(bovine viral diarrhea virus ; BVDV)である。ペスチウイルス属に属し、同属に豚コレラウイルスがある。糖蛋白質から成るエンベロップとキャプシドを持ち、プラス1本鎖RNAをゲノムに有する。細胞変性効果(CPE)を示すウイルスと示さない(NCPE)ウイルスの存在が知られている。感染によって軽度の発熱や下痢等の症状を示すこ

^{a)} ウイルス粒子の最も外側に存在する構造。脂質二重膜でウイルスに特異的な蛋白質がその上に存在している。エンベロップのないウイルスもある。

^{b)} エンベロップとキャプシドの間に存在する構造をいう。

^{c)} ウイルスゲノムを包み保護している蛋白質の殻。

ともあるが不顕感染で終わることが多い。感染牛からは NCPE ウイルスが検出される。一方、妊娠牛に感染すると妊娠の時期によって胎児奇形や流産を起こすことがあり、中には免疫寛容^dとなった牛が出産される場合がある。免疫寛容となった牛はウイルスを保持し、継続的に排泄することからウイルスの伝播に重要視されており、粘膜病の発生リスク群としても知られている。粘膜病は6ヶ月～2歳の牛でよく発生し、致死性である。粘膜病感染牛からは CPE ウィルスも分離される。1990年頃、北米で流行した出血性で、致死性の高い疾病の原因ウイルスとして同定された BVDV は従前のウイルスと血清学、遺伝学的に異なっていたことから BVDV-2 と呼ばれている。日本では全国的に分布しており、届出伝染病に指定されている。

③牛パラインフルエンザ(bovine parainfluenza)について^{3,4,5)}

原因ウイルスは牛パラインフルエンザウイルス3(bovine parainfluenza virus 3 ;BPIV-3)である。パラミクソウイルス科のレスピロウイルス属に属し、ヒトパラインフルエンザウイルス1及び3は同属である。赤血球凝集活性及びノイラミニダーゼ活性を有する(HN)蛋白質と膜融合(F)蛋白質を有するエンベロープを持ち、マイナス1本鎖RNAをゲノムに有する。感染によって発熱、発咳、鼻汁等の呼吸器症状を示すが、多くは軽症である。通常、BRSV、BAdV、BHV-1、BVDV 等との混合感染が多く、さらに細菌等の二次感染により重症化する場合もある。長距離輸送等が誘引となることから輸送熱とも呼ばれる。日本では全国的に年間を通して発生が見られる。

④牛RSウイルス感染症(bovine respiratory syncytial virus infection)について^{3,4,5)}

原因ウイルスは牛RSウイルス(bovine respiratory syncytial virus ;BRSV)である。パラミクソウイルス科のニューモウイルス属に属し、ヒトRSウイルスと抗原的に関連がある。レスピロウイルス属と異なり、エンベロープを構成する糖蛋白質にパラインフルエンザウイルスと同様にF蛋白質を持つが、HN 蛋白質に相当するものとしては、赤血球凝集やノイラミニダーゼ活性のないG蛋白質を持ち、ゲノムはマイナス1本鎖RNAである。感染によって発熱、発咳、鼻汁等の呼吸器症状を示す。通常、BPIV や BAdV 等との混合感染が多く、細菌等の二次感染を受けることもある。日本では年間を通して散発的に発生が見られる。

⑤牛アデノウイルス7 感染症(bovine adenovirus infection)について^{3,4,5)}

原因ウイルスは牛アデノウイルス(bovine adenovirus 7 ;BAdV-7)である。11の型に分類されており、アデノウイルス科のマストアデノウイルス属に属するが、一部(4-8型)をアトアデノウイルス属に分類することも提唱されている。正20面体粒子でエンベロープはなく、キャプシドは252個のキャプソメア^eから成る。ゲノムは直鎖状2本鎖DNAである。感染によって、症状や程度は型によって多少異なるが、発熱、発咳、鼻漏、下痢等の呼吸器症状、消化器症状のいずれかまたは合併症を呈する。日本で分離された7型(袋井株)は最も強い症状を示す。アデノウイルスの特徴として、症状が消失しても長期間にわたって糞便中にウイルスが排泄され感染源となる。我が国では全国的に年間を通して発生している。

3 キャトルウイン-6の安全性に関する知見等について

(1) ヒトに対する安全性について

本生物学的製剤について、ヒトに対する直接的な病原性等の検討は行われていない。

本生物学的製剤は弱毒生ワクチンと不活化ワクチンの混合ワクチンであり、生ワクチンは牛に対して感染力を有している。しかしながら、いずれのウイルスについても人獣共通感染症と

^d 免疫系が、ある生体を攻撃しない状態。この場合BVDVを攻撃しなくなった状態となった牛。

^e キャプシドのサブユニットが複数個重合した単位構造を称する。

する報告はない。なお、各ウイルスのヒトへの影響に関しては、次のような知見が得られている。

①BHV-1

牛が自然宿主であるが、生殖器炎を呈したブタ、ブタの死産胎児、呼吸器症状を呈したヤギ、消化器症状を呈したミンクなどからもウイルスの分離例がある。また、ブタ、ヒツジ、ヤギ、シカ等から抗体が検出されたとする報告がある。一方、ウマ、ヒツジ、ブタ、イヌ、サル、モルモット、ラット、マウス、鶏胚での感染試験は不成功であったとする報告がある⁶⁾。なお、OIE ではヒトに対する病原性はないとしている⁷⁾。

ヒトヘルペスウイルス1(HSV-1)と BHV-1 にはいくつかの違いが認められている。ヘルペスウイルスの細胞への侵入にはウイルス側の Glycoprotein D(gD)と細胞側の受容体が必要とされており、ヒト細胞の受容体としては HveA、HveB、HveC が同定されている。BHV-1 は HveC に結合することが確認されたが、これは HSV と比較して弱いものであったとする報告がある⁸⁾。ただし、別の報告では結合力に差はなく検出可能な相互作用と細胞への侵入は別の事象であるとするものもある⁹⁾。また、微小管認識、核内移行、細胞間輸送等に関与する HSV-1 のテグメント蛋白質である VP22 とその BHV-1 における homolog^fである BVP22 の各種細胞内における挙動及び局在性には差が認められている¹⁰⁾。また、潜伏時に発現する転写物 LAT(HSV-1)と LR(BHV-1)を比較すると、LAT にはインターフェロンの抗ウイルス作用を阻害する RNAが含まれているのに対し、LR はそれを欠いている。HSV-1 はマウスに対し病原性であるのに対し BHV-1 は病原性を示さないが、これにインターフェロンが関与しているとする報告がある^{11,12)}。これらの各事象が BHV-1 のヒトに対する種特異性に関与している可能性はあるが、ヒトに対して病原性を示さない理由は明確にされていない。

②BPIV-3

BPIV-3 については、ヒトパラインフルエンザ 3 ウイルス(HPIV-3)の生ワクチン開発の一環で、成人ボランティア 18 名に対する感染試験が実施されたが、いずれも明確な症状を示さなかったと報告されている¹³⁾。また、幼児、子供についても同様の報告がある¹⁴⁾。種特異性の決定要因については HPIV-3 と BPIV-3 の核蛋白質やエンベロップ蛋白質の遺伝子を組み換えた組み換えウイルスをアカゲザルに感染させ、病原性を比較した報告がある。HPIV-3 の核蛋白質(N)もしくはリン酸化蛋白質(P)の ORF^gを BPIV-3 のもので組み換えたウイルスでは上部および下部気道におけるウイルスの増殖が BPIV-3 と同様に抑制されたのに対し、ポリメラーゼ蛋白質、マトリクス蛋白質、F 蛋白質、HN の ORF を組み換えたウイルスの増殖の抑制度合いは低かった。このことから、霊長類における BPIV-3 の増殖抑制には複数の要素が関与するものの、N、P が主要な因子であることが示唆されている^{15,16)}。

③BRSV

BRSV はヒト RS ウイルス(HRSV)に対して感受性であるチンパンジーにおいてウイルスの増殖が抑制されたとする報告がある。また、BRSV のゲノムを HRSV のエンベロップ蛋白質(G 及び F 蛋白質)をコードする RNA で組み換えた組み換えウイルスは、ヒト培養細胞において中程度の増殖を示し、ウシ培養細胞において BRSV と同様の増殖を示し、チンパンジーの気道においても BRSV と比較してやや増殖がよいが、HRSV と比べると著しく劣るという報告がある¹⁷⁾。したがって F と G 蛋白は、BRSV の宿主域の決定に係わるが、それだけでは十分ではないと考えられる。一方、BRSV を HRSV の Nonstructural Protein(NS 蛋白質)をコードする RNA で組み換えた組み換えウイルス(rBRSV)はウシ IFN 産生能を持つ MDBK 細胞や Klu 細胞で増

^f 相同物。

^g オープンリーディングフレーム。塩基配列の並びにおいて、遺伝暗号の開始コドンと終止コドンに挟まれている部分を言う。長い ORF は通常蛋白質をコードしていると考えられる。

殖が抑制されたのに対し、IFN 産生能を持たない Vero 細胞やヒト IFN 産生能を有する HEp-2 細胞では BRSV と rBRSV は同様に増殖し、さらにこれらの細胞に IFN- α を細胞外から与えると Vero 細胞では BRSV と rBRSV は同様に増殖したのに対し、MDBK 細胞では rBRSV の増殖は BRSV に比べて抑制され、HEp-2 細胞では BRSV の増殖が rBRSV と比べて抑制されたとする報告がある。これらのことから、NS 蛋白質が宿主域の決定に関与していることが示唆されている⁽¹⁸⁾。

④BApV-7

アデノウイルスはほ乳類や鳥類において広範に存在が確認されているが、一般に 1 あるいは 2~3 のごく近縁の種に特異的に感染するとされる⁽¹⁹⁾。動物のアデノウイルスはヒト細胞に侵入はするが増殖はせず、そのため病原性を示さない。この性質を利用して、一過的に目的遺伝子を細胞内で発現させることができる遺伝子治療のベクターとして動物のアデノウイルスを利用しようとする研究が行われている。ウシでは BApV-3 等で研究が進んでいる⁽²⁰⁾。

⑤BVDV

BVDV はウシの他、ヒツジやシカ等の野生の反すう動物に感染するが、ヒトには病原性を示さないとされている^(21,22)。また、本ワクチンに含有される BVDV は紫外線照射により不活化されており、感染力を有していない⁽¹⁾。

(2)ウシにおける安全性試験⁽²³⁾

キャトルウイン-6 は既存の 5 種混合生ワクチンをベースとしている。異なる点は、5 種混合が BVDV についても弱毒ウイルス株を用いているのに対し、キャトルウイン-6 は 2 種の BVDV 株(いずれも 5 種混合とは異なる株)を用い、かつこれが不活化されている点である。他の 4 種の弱毒ウイルスについては同一のものが使用されている。

キャトルウイン-6 のウシにおける安全性試験としては、妊娠牛及び子牛への投与試験が実施されており、臨床症状や血液検査などの各種パラメータの他、注射部位の局所反応についても観察されている。

①妊娠牛における安全性試験

妊娠 6 ヶ月のウシに 2 ヶ月間隔で 2 回(対照群、常用量、10 倍用量 ;各 3 頭)接種を行った。2 回目注射後に自然分娩させ、母ウシ及び胎児に対する安全性を検討した。母ウシに対しては臨床症状(注射部位を含む)、体重、飼料摂取量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、抗体測定、妊娠期間及び分娩状況、泌乳量の観察を実施した。新生子牛については臨床症状(注射部位を含む)、体重、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、抗体価の観察を実施した。

臨床症状では 10 倍用量群の注射後 2 日に体温の上昇が認められた。10 倍用量群の 1 頭で 2 回目注射 24 日以後に食欲低下、発熱、呼吸速迫等が認められ、この個体では同時に貧血、白血球減少、リンパ球増加、血小板数の増加も認められた。これは発症時期から分娩の負荷に起因するもので、ワクチン接種に関与するものではないと考えられた。他に特に異常は認められなかった。また、注射部位にも熱感、腫脹、硬結等の変化は認められなかった。

分娩状況について、10 倍用量群の 1 頭で胎児の異常胎勢による難産に伴う胎児の死亡が認められたが、これは難産となりやすい胎勢として一般的に認められる変化であり、偶発的なものと考えられた。

体重、飼料摂取量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、抗体測定、妊娠期間、泌乳量、体重については、特にワクチン接種に起因する異常は認められなかった。

新生子牛については各検査項目に投与に起因した異常は認められなかった。

②子牛における安全性試験

3 ヶ月齢の子牛に2 ヶ月間隔で2 回(対照群、常用量、10 倍用量 ;各 3 頭)接種を行った。臨床症状(注射部位を含む)、体重、飼料摂取量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、病理組織学検査を観察した。観察は2 回注射後14 日まで実施した。

臨床症状では10 倍用量群で1 頭に1 回目注射後3~6 日に軟便が認められ、10 倍用量群の2 回目注射15 分後から1 頭に起立不安定、元気消失、流涎、呼吸速迫が認められたが、これは4 時間後までには回復した。また、10 倍用量群で2 回とも注射後2~4 日に軽度の体温上昇が認められた。

体重、飼料摂取量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、諸器官の剖検では投与に起因した異常は認められなかった。

注射部位における変化については、2 回目の注射において常用量群の1 頭で注射後2 日に、10 倍用量群の3 頭で注射後2~5 日の間で1 ないし3 頭で軽度の腫脹が認められた。剖検では、10 倍用量群の1 頭で2 回目の注射部位に淡黄色部が認められ、この部位の病理組織学的検査では中程度の肉芽腫が認められた。その他、常用量群の1 頭で2 回目注射部位に、10 倍用量群の1 頭で1 回目注射部位に軽度の細胞浸潤が認められた。

なお、試験期間中に常用量群の1 頭が膀胱炎で死亡したが、これはワクチン接種に起因するものではないとされている。

③臨床試験²⁴⁾

国内2カ所の農場でウシに対する臨床試験が行われている。いずれも臨床試験実施中に対象疾病の流行は認められず、対照群の抗体の陽転あるいは上昇も認められなかった。また、特にワクチンの接種に起因する臨床異常や肉眼的に確認できる局所反応は認められなかった。なお、この試験はGCP 対応で実施されている。

④その他^{1,25)}

なお、各弱毒ウイルスの性状、細菌、マイコプラズマ、他のウイルス等の混入否定試験、安全試験等が、規格として設定されており、試作ワクチンにつき、それぞれ試験が行われ問題のないことが確認された。さらに、これらについては製造方法の中に規定されている。

4. 食品健康影響評価について

上記のように、当ワクチンの主剤は日本国内で分離されたウイルス株を弱毒化あるいは不活化したものである。弱毒化ウイルスはウシへの感染性を有する生ウイルスであるが、これらはすべて人獣共通感染症の病原体とはみなされていない。これまでヒトで発病した事例も報告されておらず、ヒトへの病原性はないと判断される。また、製剤はアジュバントを含有していない。

これらのことから、当生物学的製剤が適切に使用される限りにおいて、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ものと考えられる。

<出 典>

- (1) キャトルウイン-6 製造承認申請書 本文 朱公表)
- (2) キャトルウイン-6 製造承認申請書添付資料：起源又は開発の経緯 朱公表)
- (3) 獣医感染症カラーアトラス 文永堂出版(1999)
- (4) 獣医微生物学 文永堂出版(1995)
- (5) 獣医学大事典 チクサン出版社(1989)
- (6) 新編 獣医微生物学 (株)養賢堂 (1989)
- (7) INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS/INFECIOUS PUSTULAR VULVOVAGINITIS
Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 5th edition, 2004 (OIE)
- (8) Connolly S.A., et. al.
Glycoprotein D Homologs in herpes simplex virus type 1, pseudorabies virus, and bovine herpes virus type 1 bind directly to human HveC(nectin-1) with different affinities
Virology, Vol.280, Issue 1, 7-18(2001)
- (9) Campadelli-Fiume G, et. al
The novel receptors that mediate the entry of herpes simplex viruses and animal alpha herpesviruses into cells
Rev. Med. Virol., Vol.10, Issue 5, 305-319(2000)
- (10) Jerome S. H., et. al.
Distinction between Bovine Herpesvirus 1 and Herpes Simplex Virus Type 1 VP22 Tegument Protein Subcellular Associations
J. Virol., Vol.74, No. 7, 3301-3312(2000)
- (11) Clinton J.
Herpes Simplex Virus Type 1 and Bovine Herpesvirus 1 Latency
Clin. Microbiol. Rev., Vol.16, No.1, 79-95(2003)
- (12) Carlos A., et. al.
Both Viral and Host Factors Contribute to Neurovirulence of Bovine Herpesviruses 1 and 5 in Interferon Receptor-Deficient Mice
J. Virol., Vol.78, No.7, 3644-3653(2004)
- (13) Maly L. C., et. al
Evaluation of Bovine, Cold-Adapted Human, and Wild-Type Human Parainfluenza Type 3 Virus in Adult Volunteers and in Chimpanzees,
J. Clin. Microbiol., Vol.29, No.6, 1175-1182(1991)
- (14) Min-Shi L., et. al.
Antibody Responses to Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (PIV3) Vaccination and Human PIV3 Infection in Young Infants
J. Infect. Dis., 184, 909-913(2001)
- (15) Jane E. B. et. al.
A Recombinant Human Parainfluenza Virus Type 3 (PIV3) in Which the Nucleocapsid N Protein Has Been Replaced by That of Bovine PIV3 Is Attenuated in Primates
J. Virol., Vol.74, No.7, 3188-3195(2000)
- (16) Mario H. S., et. al
Determinants of the Host Range Restriction of Replication of Bovine Parainfluenza Virus Type 3 in Rhesus Monkeys Are Polygenic
J. Virol., Vol.77, No.2, 1141-1148(2003)

- (17) Ursula J. B., et. al
Chimeric Bovine Respiratory Syncytial Virus with Glycoprotein Gene Substitutions from Human Respiratory Syncytial Virus (HRSV) : Effects on Host Range and Evaluation as a Live-Attenuated HRSV Vaccine
J. Virol., Vol.74, No.3, 1187-1199(2000)
- (18) Birgit B. and Karl-Klaus C.
Respiratory Syncytial Virus (RSV) Nonstructural (NS) Proteins as Host Range Determinants: a Chimeric Bovine RSV with NS Genes from Human RSV Is Attenuated in Interferon-Competent Bovine Cells.
J. Virol., Vol.76, No.9, 4287-4293(2002)
- (19) 微生物学・分子生物学辞典 朝倉書店 (1997)
- (20) Reddy P. S. et. al.
Replication-Defective Bovine Adenovirus Type 3 as an Expression Vector
J. Virol., Vol.73, No.11, 9137-9144(1999)
- (21) Bovine Viral Diarrhea (Ministry Agriculture and Food ; CANADA)
- (22) BOVINE VIRAL DIARRHOEA
Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 5th edition, 2004 (OIE)
- (23) キャトルウイン-6 製造承認申請書添付資料：安全性に関する試験 (朱公表)
- (24) キャトルウイン-6 製造承認申請書添付資料：臨床試験 (朱公表)
- (25) キャトルウイン-6 製造承認申請書添付資料：物理的、化学的試験 (朱公表)

(別添)

鶏サルモネラ症 (油性アジュバント加)不活化ワクチン (オイルバックスSET) の食品健康影響評価について 案)

1. サルモネラ及びサルモネラ症について ^{1,2,3,4)}

サルモネラ(*Salmonella*)属菌はグラム陰性、通性嫌気性の桿菌である。分布は世界各国に広がっており、また、ほ乳類、鳥類、は虫類、両生類等に広く保菌され、土壌や河川水からも分離される。古くからヒト及び家畜の病原体として知られており、現在は分類学的には *S. enterica* と *S. bongori* の2種にまとめられている。*S. enterica* はさらに6亜種に分類されているが、ヒトあるいは家畜から分離される菌株はほとんどが *S. enterica* subsp. *enterica* に分類される。

サルモネラにはまた、抗原性の違いによる血清型が2500型以上存在しており、その型ごとに宿主域と病原性の程度が異なることから、この血清型で呼ばれることが多い。例えば、ヒトの食中毒原因菌として近年日本で分離例が急増している *S. Enteritidis* (SE)は、種、亜種を含めて標記すると *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis*^a となる。

鶏のサルモネラ感染症にはひな白痢、家きんチフス、鶏パラチフスが知られている。ひな白痢と家きんチフスの原因菌は *S. Gallinarum* biovar^b *Pullorum* 及び *Gallinarum* であり、これ以外のサルモネラ属菌による消化器系感染症を鶏パラチフスと呼んでいる。ひな白痢と家きんチフスは鶏の感染症であるのに対し、鶏パラチフスはほ乳動物にも感染し、ヒトに食中毒を起こす。

鶏パラチフスは中大雛や成鶏では不顕性感染が多く、菌は腸管内に滞留し糞便に混じって排泄される。この糞便が産卵時に付着すると鶏卵表面が汚染される(on egg)。さらに、SE と *S. Typhimurium* (ST) は腸管外の臓器にも侵入し、卵巣、脾臓に保菌されて産卵時に鶏卵内が菌で汚染される(in egg)可能性がある。これは畜産面では介卵感染による菌のまん延、食品の安全面からは洗卵による殺菌が無効であるという問題を生じさせる。この2つの血清型は家畜伝染病予防法の届出伝染病に指定されている。

ヒトのサルモネラ食中毒の主な原因食品は食肉、鶏卵等の畜産物であり、中でも鶏卵・鶏肉の頻度が高い。原因となる血清型は複数存在するが、近年日本におけるサルモネラ症の血清型で主要となっているものは SE であり、その他は年によって変動しているが、比較的上位を占めているものに ST や *S. Infantis* 等がある。SE や ST は前述のように in egg で伝播される可能性があるため、公衆衛生上の問題が大きい。症状は下痢、腹痛、嘔吐等の急性胃腸炎で、悪寒、発熱、頭痛も伴う。通常1-4日で回復するが、まれに内毒素^cによるショック死を起こす例もある。小児や高齢者は感受性が高く、成人より少ない菌数でも発症するとされる。また、死亡例も小児や高齢者に多い。

2. 鶏サルモネラ症 (油性アジュバント加)不活化ワクチン (オイルバックスSET) について ⁵⁾

鶏サルモネラ症 (油性アジュバント加)不活化ワクチン (オイルバックスSET)は、国内の食中毒患者より分離された *S. Enteritidis* 菌株2種、*S. Typhimurium* 菌株1種の培養液をホルムアルデヒドで不活化したものを主剤とし、アジュバント等が添加された不活化ワクチンであり、種鶏もしくは採卵鶏の頸部中央部の皮下に注射して使用される。効能・効果は鶏の腸管における *S. Enteritidis*及び *S. Typhimurium* の定着軽減である。当ワクチンの類似品としては、主剤の菌株が異なるものが国内及び国外で承認され市販されている。

^a 通常学名はイタリック体で、血清型はローマン体で記述される。

^b 生物型。血清型が抗原の違いによる分類であるのに対し、生物型は生化学的性状の違いによる分類。

^c グラム陰性菌の細胞壁外膜を構成するリポ多糖を言う。エンテロトキシンやベロ毒素のような外毒素と比較すると毒性は弱い。発熱、下痢・血圧低下・腸粘膜出血を伴うショック等を起こす。

アジュバントとして流動パラフィン、不活化剤としてホルムアルデヒド、乳化剤としてポリソルベート80、モノオレイン酸ソルビタンが使用されているが、これらの添加剤については、過去に動物用医薬品専門調査会においてこれらの成分の食品添加物やヒト医薬品としての使用実績を踏まえて評価されているが⁶⁾、本ワクチンについてもその含有量等から、**摂取による健康影響は無視できる範囲であると考えられる。**

3. オイルバックスSETの安全性に関する知見等について

(1) ヒトに対する安全性について

本ワクチンについて、ヒトに対する直接的な病原性等の検討は行われていない。S. Enteritidis 及び S. Typhimurium はいずれも食中毒菌であり、その主症状は急性胃腸炎である。これは生菌の回腸粘膜への接着・侵入及び細胞内での増殖に伴い、菌の内毒素により活性化された補体系^{d)}が炎症細胞^{e)}を誘導し、これが腸粘膜を傷害することにより発症すると考えられている⁽¹⁾。

このように、食中毒症状等の発症には生菌が関与するが、本ワクチンに含有される主剤は不活化されており、いずれも感染力を有していない。

(2) 鶏における皮下投与による安全性試験⁷⁾

鶏における安全性試験として、アジュバント消長確認試験を含めたオイルバックスSETの鶏への接種試験が実施された。接種は5週齢の鶏の頸部皮下に常用量及び3倍用量を実施し、56週間観察した。

観察期間中、いずれの投与群にも一般症状に投与に起因する異常は認められなかった。なお、対照群及び3倍用量群の各1羽が試験期間中に死亡したが、死因は卵墜、肝破裂であり、いずれも偶発的なものと考えられた。体重変化では観察期間中に異常は認められなかった。また、血液学的検査^{f)}、臓器重量測定^{g)}、投与部位以外の剖検及び病理組織学的検査が投与後4週目に実施された。血液学的検査では、投与に起因した異常は認められなかった。臓器重量では、すべての投与群で左右胸腺の絶対及び相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では常用量群で胸腺表面に被験物質に由来する空胞及びリンパ球または単核細胞を主体とする細胞浸潤が認められた(5/10)が、胸腺実質の傷害は認められなかった。3倍用量群では同様の所見が認められた(6/10)他、脳の空胞形成が1例認められたが、これは対照群でも1例認められた。

投与部位の剖検及び病理組織学的検査については、さらに詳細に検討されている。常用量群については、接種後4,12,20,28,32,36,40,44,48,52,56週後の各週に剖検し、投与部位の観察を行った。3倍用量群については4,48,56週後に同様の観察を実施した。観察は4週後は10羽、他は5羽を用いて実施した。

投与後4週後の剖検では、黄色顆粒状物が認められた。また、病理組織学的観察では軽度～重度の主に被験物質の残留と考えられる空胞が認められ、これを取り巻いて肉芽組織、繊維増生、リンパ球又は単核細胞を主体とする細胞浸潤が認められた。この変化は経時的に軽減し、常用量群では、黄色顆粒状物質については投与後36週後にごく軽度以下、44週後には消失となった。また、病理組織学的検査では、44週後には肉芽組織、繊維増生は消失し、空胞、細胞浸潤は軽度以下となった。

^{d)} 補体は脊椎動物の正常血漿成分であり、細胞上のレセプターや制御蛋白質を含めて補体系という。活性化によって、異物の標識、異種細胞の破壊、炎症反応の誘導、抗原抗体複合体の沈降阻止等の生物活性を示す⁽⁸⁾

^{e)} 炎症反応の場集積・活性化される細胞群を総称して言う。マスト細胞、組織球、マクロファージ、白血球、形質細胞、血小板等⁽⁸⁾

^{f)} 赤血球数、白血球数、白血球百分比、ヘマトクリット

^{g)} 肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、ファブリキウス嚢、卵巣、胸腺、脳

なお、同ワクチンを胸部筋肉内に接種した場合は、56週後においても剖検で黄色顆粒状物質の残留が認められ、アジュバントの消失が確認できなかったため、同ワクチンの用法は頸部皮下への接種に限定されている⁹⁾。

③ 臨床試験

3種の採卵用鶏に対する臨床試験が実施された¹⁰⁾。臨床症状、局所部位、体重、育成率、産卵率、正常卵出産率のいずれにも異常値は認められなかった。また、SE 及び ST による攻撃試験において、脾臓及び盲腸からの菌の回収数を有意に低下させた。

④ その他

主剤の不活化の確認、他の細菌等の混入否定、鶏を用いた安全試験等が、規格として設定されており、試作ワクチンにつき、それぞれ試験が行われ問題のないことが確認された⁹⁾。さらに、これらについては製造方法の中に規定されている。

4. 食品健康影響評価について

上記のように、当ワクチンの主剤は SE 及び ST の培養液をホルムアルデヒドで不活化させたものである。SE 及び ST は共に食中毒菌であるが、発症には生菌の感染を要することから、生菌体を含まない主剤のヒトへの病原性は無視できると考えられる。

また、製剤に使用されているアジュバント等の添加剤については、いずれも国内もしくは国外において医薬品や食品添加物としての使用実績があり、既存の毒性評価とワクチンの接種量を考慮すると、含有成分の摂取による健康影響は無視できると考えられる。

接種部位の局所反応については、接種44週後には、剖検で黄色顆粒状物質が消失、病理組織学的検査で、肉芽組織、繊維増生が消失、空胞、細胞浸潤が軽度以下となった。

このことから、当生物学的製剤が適切に使用される限りにおいて、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ものと考えられる。

<出 典>

- (1) 食中毒予防必携： 社団法人日本食品衛生協会
- (2) 獣医微生物学 第2版： 文永堂出版株式会社
- (3) オイルバックスSET製造承認申請書添付資料： 起源または開発の経緯等に関する資料 朱公表)
- (4) 病原性微生物検出情報 2004 年 5 月 24 日現在 国立感染症研究所
- (5) オイルバックスSET製造承認申請書 朱公表)
- (6) 鳥インフルエンザ不活化ワクチンを接種した鳥類に由来する食品の食品健康影響評価について;
平成16年3月25日 府食358号の1, 2)
- (7) オイルバックスSET製造承認申請書添付資料： 安全性に関する資料 朱公表)
- (8) 免疫学事典 第2版： 東京化学同人
- (9) オイルバックスSET製造承認申請書添付資料： 物理的、化学的試験に関する資料 朱公表)
- (10) オイルバックスSET製造承認申請書添付資料： 臨床試験に関する資料 朱公表)