

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

第 114 回会合議事録

1. 日時 平成 21 年 8 月 18 日（火） 14:55～15:55

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 動物用医薬品（ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス 1 型）凍結生ワクチン）に係る食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

三森座長、青木専門委員、今井専門委員、今田専門委員、江馬専門委員、小川専門委員、下位専門委員、津田専門委員、寺本専門委員、戸塚専門委員、中村専門委員

(専門参考人)

神田専門参考人、澤田専門参考人、下地専門参考人

(食品安全委員会委員)

小泉委員長、見上委員、長尾委員、廣瀬委員、野村委員、畑江委員、村田委員

(事務局)

栗本事務局長、大谷事務局次長、北條評価課長、前田評価調整官、関谷課長補佐、田中評価専門官、福永評価専門官、井上係長

5. 配布資料

資料 1 (案) 動物用医薬品評価書 ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス 1 型）

凍結生ワクチン（セルミューン N）

参考資料

6. 議事内容

○三森座長 ただいまから、第 114 回「動物用医薬品専門調査会」を開催いたします。

本日は、井上専門委員、寺岡専門委員、頭金専門委員、能美専門委員、山崎専門委員、吉田専門委員が御欠席でございます、11 名の専門委員が御出席です。

本日は専門参考人といたしまして、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター長でいらっしゃいます神田先生。

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会の座長であります、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の澤田先生。

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所の下地先生に御出席いただいております。

それでは、議事に入りたいと思います。本日の会議全体のスケジュールにつきましては、お手元に「第 114 回動物用医薬品専門調査会議事次第」が配付されておりますので、御覧いただきたいと思います。

議題に入ります前に、事務局より議事、資料などの確認をお願いいたします。

○事務局 本日の議事は、動物用医薬品の 1 品目の食品健康影響評価とその他となります。

次に資料の確認ですが、本日の議事次第、委員名簿、座席表、資料 1 の評価書（案）、そのほかに参考資料の束が 1 つあります。資料 1 は、動物用医薬品評価書（案）ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス 1 型）凍結生ワクチン（セルミューン N）になっております。

資料の確認については以上です。不足の資料等はございますか。

○三森座長 それでは、議題 1 に入らせていただきます。ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス 1 型）凍結生ワクチンについてです。

まず、事務局から説明をお願いいたします。

○事務局 資料の動物用医薬品評価書（案）をお願いいたします。

2 ページを御覧いただければと思います。「審議の経緯」としまして書かせていただいておりますが、2009 年 7 月 3 日付けで農林水産大臣より製造販売の承認に係る食品健康影響評価について要請がありました。同日付けで厚生労働大臣からは残留基準設定に係る要請があったもので

ございます。

その後、7月9日の第293回食品安全委員会において要請事項の説明がなされました。その委員会の場で食品安全委員長から、遺伝子組換え技術を用いた製剤であるということから、遺伝子組換えの御専門の先生方に御意見を伺いながら審議をしてくださいという御発言がございまして、本日、専門参考人として先ほど御紹介いただいた3名の先生方にお越しいただいたという経緯でございます。本日、当専門調査会において御審議いただくということになっております。

4ページに移ります。「I. 評価対象動物医薬品の概要」ということで、まずこの製剤がどういふものかということに記載しております。

2行目から注意書きですが、申請書には下線部「発現組み換えマレック病ウイルス」となっておりますが、ここは「遺伝子導入」と差し替えをするということでございますので、この評価書でも遺伝子の導入ということで書かせていただいております。

「F蛋白質」についても申請書で「F蛋白」という表記で統一されていますので「F蛋白」。

また「組み換え」の送り仮名に関しましても、これはカルタヘナ法などの法令的なものも含めて「組換え」という形ですので、「組換え」に統一したということにさせていただきます。

「1. 主剤」は、鶏胚細胞培養ニューカッスル病ウイルス由来F蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス1型207株ということで、本製剤にこの株が 10^6 PFU以上含まれているという生ワクチンでございます。

「2. 効能・効果」としては、鶏のマレック病及びニューカッスル病の予防ということになっています。

「3. 用法・用量」としましては、溶解用液に懸濁をしまして、初生ひなの頸部皮下に1羽分(0.2 mL)を1回接種するというものです。

「4. 添加剤等」に関しましては、ここに記載のものが入っております。これについては、後ほど詳しく御説明いたします。

25行目から「5. 開発の経緯及び使用状況等」ということで、まずマレック病に関しましては、マレック病ウイルスMDVを病原とします鶏に対して伝染性が強い、末梢神経の腫大や種々の臓器組織におけるリンパ腫の形成を特徴とするという感染症でございます。

MDVに関しましては、羽包上皮で増殖、フケ及び羽毛とともに拡散し鶏舎を汚染することが知られております。また、血清型によって腫瘍原性を持つ血清型1、腫瘍原性を持たない血清型2の2種類がございまして、更に抗原的に類似しているのですが、非病原性の七面鳥ヘルペスウイルスが血清型3に分類されております。

この血清型2及び3あるいは弱毒化の血清型1は強毒株のリンパ腫形成に防御効果を有すると

いうこととございます。本感染症に関しましては、慢性経過をとる古典型と急性で諸臓器にリンパ腫形成が認められる急性型というもので致死率が異なるということで、1964年ごろから局地的に若齢鶏で発生し全国に拡大したということが知られています。

ニューカッスル病は、NDV、ニューカッスル病ウイルスを病原とするもので、世界中に広く分布するということが、症状は型によって分類されておりますが、強毒神経型の致死率は1ヶ月齢未満の鶏で50～90%ということです。鶏への病原性にはウイルスの表面糖タンパク質であります Fusion 蛋白が関連しているということが明らかになっております。国内では過去に大流行もあったということで、生ワクチンが普及しまして発生数は激変したということですが、まだワクチン未接種の愛玩鶏などで散発が認められ、常在していると考えられております。

これら2つの疾病の予防に関しましては、ほとんどの鶏がワクチン接種を受けている現状でございます。特にニューカッスル病に関しましては、移行抗体の影響を受けるということで不活化ワクチンを追加接種する80日齢までに生ワクチンを2～5回、繰り返し接種する必要があるということで、非常に手間というか、養鶏業者にとっては大きな負担となっております。一方、マレック病に関しましては、初生ひなへの1回接種で終生免疫が得られるということでございます。

そういった背景をもとに今回の製剤が開発されたということで、弱毒のMDV1型のA4断片に、NDVの感染防御抗原である先ほどのF蛋白をコードする遺伝子を導入しまして、鶏胚細胞培養NDV由来のF蛋白遺伝子導入MDV1型207株というものを継代したウイルス、これが以下rMDV1と言いますが、これを主剤としております生ワクチンということになります。

このワクチンによりますと、先ほどの移行抗体存在下においても孵化直後のひなに1回接種するだけでマレック病とニューカッスル病に対して、終生免疫ができるということで、省力化あるいは二次感染として起こり得る細菌感染症の抑制、あるいはそのときに使う抗生物質の使用低減といったものも期待できるという開発の経緯が書かれております。

23行目から「Ⅱ. 安全性に係る知見の概要」ということで、まずこの製剤のウイルスですが、26行目からは組換えの宿主のウイルスの病原性ということで、CVI988株は、オランダにおいて健康な鶏から分離された野外株でございますが、これに関しましては39行目からございますように、生ワクチンでも世界中で使用されている株でございます。

6ページの3行目「(2) 挿入遺伝子の供与体の病原性」。こちらはrMDV1に導入したF蛋白遺伝子の供与体ということで、NDVのD26株。これに関しましては、やはり発育鶏卵に接種した場合でも胎児を死亡させないということで、NDVの中でも病原性が低いグループに入っている。これまでにワクチンで使用されていますB1株がありますが、これに関しましては、受精卵平均致死時間が120時間ということで、これに比べても今回の供与体であるD26株は、更に病

原性が低いと考えられたとしております。

また、F 蛋白遺伝子の導入に際しまして、A4 断片を用いた相同性組換えが行われておりますが、このときに A4 断片の供与体として、K554 株という MDV1 型が使われておりますが、これも腫瘍原性がなくて弱毒株と考えられるとされています。

14 行目から「(3) 分布」ということで、この rMDV1 及び宿主ウイルスを頸部皮下に接種した試験が行われております。この試験結果ですが、各組織からウイルスを分離しておりますが、気管を除きまして、rMDV1 と宿主ウイルスではほぼ同様だったということですが、気管においては宿主ウイルスでは 1 及び 4 週齢時にウイルスが回収されているが、この組換え体では全く回収されなかったということでした。

「(4) 排泄」の「①糞便への排泄」で、糞便については、いずれの時点でも糞便を接種した細胞で CPE を観察しておりますが、ウイルスは分離されていないということです。

33 行目から「②フケへの排泄」ということで、こちらもこの rMDV1、市販ワクチンを接種したものを使用しておりますが、体表からフケを回収してきて、ウイルス分離を行っております。MDV は 2 本鎖 DNA ウイルスであるということ、フケから DNA を抽出しまして、MDV の DNA 上の *gA* 遺伝子配列にプライマーを設計して、PCR 分析を行ったということ、結果が表 1 にございます。

rMDV1 群ではウイルス分離はすべてマイナスということで、分離がされておられません。一方、市販ワクチンは分離されております。ただ、PCR では rMDV1 でも DNA の検出がされております。市販ワクチンでは PCR についても DNA の検出がされているということでございます。

ここに関しまして、澤田専門参考人から遺伝子のコピー数を定量しているかという御質問をいただきました。これについて農林水産省に確認したところ、定量はしていないということで回答をいただいております。

「(5) 鶏における感染試験」ということで、今度は「①同居感染試験 (SPF 鶏)」ということで、まず SPF の鶏を使いまして、接種した鶏と非接種の初生ひなを同居させて、感染するかという試験が行われております。これに関しまして、抗 MDV1 抗体及び抗 F 蛋白抗体を検出しておりますが、いずれも陰性であるといったような結果から、同居感染性はないだろうと結論しております。

8 ページの 4 行目「②同居感染試験 (市販鶏)」で、市販鶏 (デカルブ) で行っておりますが、こちらも接種鶏につきましては勿論、高い抗 F 蛋白抗体価を保持していたということですが、同居させた鶏について同居感染は認められなかったという結果となっております。

「③同居感染試験 (卵内接種)」もされております。こちらに関しましても、同居感染が認め

られなかったという結果になっています。

25 行目から「④垂直感染試験」ということで、初生ひなにこの rMDV1 を頸部皮下に接種しまして、自然交配させて、受精卵を採取した上で、採卵直後の卵あるいは孵卵 11 日の鶏胚及び孵化 10 日後のひなへの垂直感染について検討がされておりますが、いずれも介卵性の垂直感染は認められなかったという結果になっています。

35 行目からは「(6) 非接種対象動物への影響」ということで、この F 蛋白遺伝子を挿入した rMDV1 の宿主域が広がるなど、新たな宿主域を獲得しているかどうかを推定する目的で、マウスとネコに対する感染試験、哺乳動物由来細胞での感染試験を実施しております。

まず「①感染試験 (マウス)」です。これは rMDV1 または宿主ウイルスを経口及び皮下で接種ということですが、こちらはいずれの時点においても陰性。これも抗 F 蛋白抗体あるいは抗 MDV1 抗体を測っておりますが、いずれも陰性で感染は認められなかった。

「②感染試験 (ネコ)」ですが、こちらについても同様にネコは rMDV1 に感染しなかったものと判断されたという結果になっています。

「③感染試験 (*in vitro*: 哺乳動物由来細胞)」は、表 2 に書いてあります細胞に感染をさせております。これについては PCR 分析あるいは MDV1-pp38 という発現量が最も多いタンパク質あるいは F 蛋白に対するモノクローナル抗体を用いて蛍光抗体法を実施しております。

10 ページに移らせていただきます。これらの細胞におきまして、PCR 分析では最大 5 代目まで *gA* 遺伝子に該当するバンドが検出される細胞があったということですが、宿主ウイルスとは、ほぼ同様の結果ということでありました。

また、6 代目以降は陰性化したということで、蛍光抗体法において先ほどの MDV1-pp38 及び F 蛋白発現はいずれも見られなかったということで、PCR 分析で検出された先ほどのバンドは、継代の期間中には除去されなかった接種ウイルスまたは残存したウイルスの DNA によるものであって、感染の結果ではないと考えられたとしております。

したがって、結論としましては、これらの哺乳動物由来細胞には感染しないと考えられたとしております。

次に「(7) 抗体調査 (ヒト)」をしておりまして、実験従事者あるいは飼育担当者の血清中の rMDV1 に対する抗体について、これも蛍光抗体法によって調べた結果ですが、いずれも陰性ということで、ヒトの実験従事者等にも感染性は認められなかったという結果が出ております。

11 ページの 3 行目「2. ヒトに対する安全性」。

まず「(1) 主剤について」に関しまして、先ほども御説明しましたが、マレック病は鶏を主要な宿主とする感染症ということですが、OIE の報告及び文献からもヒトの健康に対する影響は

認められていないということで、人獣共通感染症とはみなされていない。

また、ニューカッスル病は勿論、鶏を宿主とするということですが、ヒトが感染鶏に濃厚接触した場合に、まれに急性結膜炎を起こすということから、人獣共通感染症とはされているようですが、この挿入遺伝子の供与体であります NDV D26 株はこれまでにワクチンに広く使用されてきている弱毒株の B1 よりも更に病原性が低いということ、また、NDV の F 蛋白遺伝子を挿入した rMDV1 の鶏以外の動物種への感染試験結果でも宿主域に変化が認められていない、あるいは先ほどの実験従事者の抗体調査の結果からも、ヒトに感染しないものと考えられたという考察がされております。

15 行目からは「rMDV1 の鶏肉中での生存性確認試験」。これは rMDV1 を頸部皮下接種した鶏をと殺しまして、肝臓、筋胃、筋肉及び末梢血単核球 (PBMC) からウイルスを分離したということです。結果としては、この PBMC 及び筋胃については保存 7 日後までウイルスが回収されたということで、7 日程度ウイルスは生存しているものだと考えられたということになっております。

27 行目から、こちらは冷凍保存した場合ですが、 -20°C で 24 時間保存した場合、解凍したものについては、いずれの組織からも rMDV1 は回収されておられません。

更に 31 行目からは「(3) 人工胃液中生存試験」が行われております。12 ページにかけて、結果が出ておりますが、rMDV1 を感染させた細胞を人工胃液、これは原液が pH 1.4、10 倍希釈のものが pH 2.4 ということですが表 5 にありますように、いずれも人工胃液で 30 分以内に不活化されたという結果が出ております。

10 行目からは「②rMDV1 感染 PBMC」ということで、これも人工胃液、これは 10 倍希釈あるいは 50 倍希釈ということで、50 倍希釈のものが pH 3 になっておりますが、それで処理をした試験がされております。これに関しましても、30 分以内に 50 倍に希釈した人工胃液においても不活化されたという結果が出ております。

一方、本製剤に含有されます添加剤等ということで 19 行目からありますが、安定剤としてジメチルスルホキシド、保存剤としてはここに書いてある抗菌剤で、これらは過去に動物用医薬品の添加剤として、当委員会で評価済みのものであること。また、安定剤として使用されている牛血清が含有されていますが、牛胎児の血液由来ということで、ヒト用の医薬品の製造工程にも使用されているもので、欄外に脚注で 9 とありますが、BSE 非発生国であるオーストラリア、ニュージーランドを原産国とするものが使用されていること。

また、溶剤としてトリプトース・ホスフェイト・ブロスがあります。これは牛の乳成分及びブタの臓器、脾臓等が入っております。あるいはブタの胃について加水分解後、調製したもの。更

に塩化ナトリウム、デキストロース等を加えたものということでございます。また、イーグル M EM につきましては、無機塩類あるいはビタミン、アミノ酸で合成されているものということでございます。

これらの成分のうち、塩化ナトリウム、ブドウ糖、〇〇、重酒石酸コリン、カナマイシン及びフェノールレッド以外は食品添加物としての使用が認められている物質であります。

塩化ナトリウム、ブドウ糖としては通常食品として摂取されるということ。あるいは〇〇の原料は〇〇ということで、重酒石酸コリンはヒト用医薬品でも使用されているというようなことでございます。

カナマイシンに関しては、過去に食品安全委員会で評価されているものです。フェノールレッドに関しましても pH 指示薬として使用され、過去に当委員会で評価をされているものでございます。

以上より、既存のこれらの毒性評価あるいは本製剤の摂取量を考慮しますと、これらがヒトの健康に影響を与えるものとは考えられない。そのような結論にしております。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。ただいま事務局より、ヒトに対する安全性までの説明がございました。ここまでについて、御質問、コメントなどがありましたら、お願いしたいと思います。

今田先生、何かございますか。

○今田専門委員 特にありません。

○三森座長 中村先生、どうぞ。

○中村専門委員 見上先生の御意見もお聞きした方がよろしいかと思うのですが、マレック病ウイルス血清型 1 型が腫瘍原性で、2 型が非腫瘍原性で、3 型はヘルペスで、CVI は 1 型の腫瘍原性株の弱毒株ですね。そういう話が 5 ページで CVI のときにコメント的に入った方がよいのでは。用いた株は 1 型の弱毒だということをはっきりさせた方がよいと思うのです。

○見上委員 最初に型別を定義すると、腫瘍原性があるものが 1 型で、2 型が非腫瘍原性で、3 型が七面鳥から来たウイルスだと言われて、スタートしているものだから、その後 5 年とか何年か経って野外で調べたら、実は腫瘍原性のない 1 型もあったということです。CVI 988 株というのは当初は少し弱いながら腫瘍原性はあると言われていたのだが、ラボラトリーで継代しているうちになくなってしまったので、私もこの書き方が悩ましいなと思っていたのだが、これを書き出すと切りがないから、この辺でよいのではないかという感じです。

○中村専門委員 わかりました。私が習った話では、1 型の弱毒株つまり弱腫瘍原性株という話

で習ったのですが、お話だと、これ自体が継代か何かでどんどん腫瘍原性がなくなったという話なら、あえて言う必要はないです。

○三森座長 中村先生、よろしいですか。

○中村専門委員 はい。

○三森座長 その記述は 5 ページの 27 行目辺りにも書いてありますね。

○中村専門委員 これで全く病原性を示さなかったという話で書いて、見上先生のお話もあったので、これでよろしいかと思います。

○三森座長 ほかにございますか。ないようですので、ヒトに対する安全性が終わりましたので、13 ページの 11 行目「3. 鶏に対する安全性」から事務局、説明をお願いいたします。

○事務局 13 ページの 11 行目から「3. 鶏に対する安全性」ということで、本製剤の鶏に対する安全性試験が行われております。これは初生ひなに試作ワクチンを単回皮下接種、常用量と 100 倍用量、対照は生理食塩水を投与しまして、安全性について検討したということでございます。

観察期間中にいずれの個体にも異常は観察されなかったということで、体重、血液検査、剖検等については各群間の有意差は認められなかったとされています。病理組織学的検査では、これは試作ワクチン接種群ですが、脳にごく軽度から軽度の単核細胞の囲管性の細胞浸潤が認められたとされています。

また、常用量群ではグリア細胞の集簇及び 100 倍量群の 1 例では坐骨神経にごく軽度の単核細胞の浸潤が観察されたとされています。これらの所見は対照群には見られないということで、試作ワクチンの接種により生じた変化とされております。これらの変化はウイルス性炎、あるいは免疫反応の結果というようなことが書かれておりますが、これらの脳及び坐骨神経への所見というのは、既承認のマレック病生ワクチン接種において観察される所見ということで、程度も同程度であったとしています。

また「(2) 鶏に対する臨床試験」が 34 行目から。これは組換え体生ワクチンということで、野外の飼育環境を模して外部と画した国内 2 施設において行われたということですが、これに関しましては 14 ページで安全性について検討したということで、臨床症状、投与局所反応、体重、育成率、産卵率及び正常卵産出率により判定をしたということでございます。

こちらの 11 行目以降に結果が書いてありますが、臨床症状、投与局所の異常等は認められなかったということで、被験薬に起因する体重の増加抑制、育成率等についても各群間に有意差はなかったとしています。産卵率等についても若干の差があったものもあったということですが、特段の問題となるようなものはなかったというような結論になっております。

27 行目からがその他としておりますが、この組換えにかかる挿入 DNA の安定性、あるいは遺

伝子産物の安全性についての記載が書かれております。

まず「(1) 挿入 DNA の安定性」ということで、先生方に様々と修文をいただいております。下線が引いてあったりして読みづらく、申し訳ございません。

この挿入された遺伝子の完全性、安定性を確認するために、これは rMDV1 及び rMDV1 の原株から 20 代継代したウイルスの挿入遺伝子領域について塩基配列を決定して、発現ベクターの配列と比較しています。模式図が下に図として出ております。

この継代したものとワクチンの主剤のもの、これらの F 蛋白遺伝子発現カセット (*gB* 遺伝子プロモーター、F 蛋白遺伝子及び Simian virus 40 ターミネーター) の塩基配列に変異が生じていないことが確認がされたということで、5'末端側の A4 断片において 2 か所の塩基については置換が認められたということですが、アミノ酸の置換は認められなかったということで、ウイルス性状に何らかの影響を与える可能性は低いと推定したということです。

7 行目からが下地先生からの修文でございます。F 蛋白遺伝子発現カセットは、宿主の A4 断片内にある *US10* 遺伝子に挿入されていることから、*US10* 遺伝子の 5'側及び 3'配列にプライマーを設計し、rMDV1 の原株からの各継代数のウイルス感染細胞について PCR 分析を行ったということで、*US10* 遺伝子についての説明を加える内容の修文をいただいております。その結果、いずれの継代細胞においても同じサイズのバンドが検出されたということでございます。

更に、同継代細胞について、モノクローナル抗体を用いて F 蛋白の発現を確認した結果、いずれの継代細胞においても、すべてのプラークで F 蛋白の発現が確認されたということでございます。

以上のことから、結論として、F 蛋白遺伝子発現カセット及び F 蛋白遺伝子発現カセットから発現するタンパク質は安定していることが確認されたという結論になります。

22 行目から「(2) 遺伝子産物の安全性」ということで、F 蛋白遺伝子と既知の有害物質の遺伝子との相同性を確認するというので、この DNA Data Bank of Japan (DDBJ) のデータベースを用いまして、blastn 検索を行った結果、既知の有害物質、これはアレルゲンを含むということですが、相同性を示す配列は見出されなかった。

また、遺伝子挿入領域内外の接合部に意図しないオープンリーディングフレーム (ORF) が生じていないことを確認するために、遺伝子解析ソフト GENETYX (version 6.0.1) を用いまして、ORF の検索を行った結果、4 個の ORF が検出されております。

4 個の ORF がコードするアミノ酸配列について、先ほどの DDBJ のデータベースを用いまして、今度は blastp 検索を行ったということです。ここにつきましては、澤田先生から大分修文いただきました。

その結果、1 個の ORF において Simian virus 40 ターミネーターの相補鎖にある large T 抗原 C 末端ペプチドとの相同性が認められたが、これらの塩基配列等から、この ORF からタンパク質を発現する可能性は極めて低いと考えられた。仮にタンパク質が発現したとしても、核移行シグナル及び形質転換活性が存在しないことから、発現したタンパク質が核に移行して DNA の複製等に影響する可能性はないと考えられるとしております。

「(3) その他」としましては、これは通常のワクチンで試験が規定されておりますが、無菌試験あるいはマイコプラズマ否定試験、迷入ウイルス否定試験及び安全性試験等が規格として設定をされて、それぞれ問題ないことが確認され、製造方法にも規定されているということを書いております。

以上の安全性に係る知見から、15 行目から「Ⅲ. 食品健康影響評価」でまとめてございます。先ほどから出てきていますように、マレック病は人獣共通感染症ではない。ニューカッスル病については、急性結膜炎ということで人獣共通感染症ではあるが、この製剤に用いられている ND V D26 株は、ワクチンに使用されてきているものよりも更に弱毒株であるということで病原性が弱い。

21 行目からですが、本剤の主剤の rMDV1 は接種鶏の糞やフケから分離されず、各種感染試験からも通常の MDV 同様、ヒトを含む他の哺乳動物に対する感染性は認められないと考えられる。

添加剤につきましては、先ほど御説明したとおり、健康影響は無視できると考えられる。

F 蛋白遺伝子については、先ほど出ましたように既知の有害物質の相同性は認められていない。また、F 蛋白遺伝子発現カセットの挿入に伴いまして、先ほど 4 個の ORF が検出されておりますが、タンパク質が発現する可能性は低い。また、挿入遺伝子は継代培養後においても安定していることが確認されている。

更に最初に出てきましたウイルスは鶏肉等から、最長 7 日後にウイルスが回収されるということですが、ヒトを含む他の動物に対する感染性は認められない。あるいは人工胃液中の生存試験からヒトの消化管内で不活化されると考えられるということで、このウイルスに感染する可能性はないものと考えられると考察しております。

また、鶏の安全性試験、臨床試験からも通常の既承認のマレック病生ワクチン接種において観察される所見の範囲及び程度ということ。

結論としまして 39 行目から、以上のことから、本生物学的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ものと考えられる。そのような結論としております。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。ただいま事務局から説明がございましたように、13 ページの 11 行目から「3. 鶏に対する安全性」、更にはその他の挿入 DNA の安定性、遺伝子産物の安定性、そして食品健康影響評価についての概略の説明がございました。

まず 13 ページの 11 行目からの「3. 鶏に対する安全性」ですが、ここについて何かコメントあるいは御質問などがありましたら、お願いしたいと思います。

御専門の中村先生、今田先生、いかがでしょうか。

○中村専門委員 これは組換えでの話ではないですが、もともと CVI が 25 年くらい前に動薬検に申請があったときに、動薬検側でも 1 型ということで結構、病的に実施した話で、私もそれを手伝って、それで安全だという話で、見上先生のお話を引っ張ってはあれですが、それ以後、継代も重ねているということで、組換え体は別として、宿主としては非常に安全であると。

マレック病ワクチンは世界中でほとんどの鶏が打っているので、1 型の CVI も何十億ドーズくらいは毎年打たれている話だと思います。それで、それなりの報告がないので、宿主としては安全ではないかと。

○三森座長 ありがとうございます。今田先生、いかがでしょうか。

○今田専門委員 特にありません。

○三森座長 ほかはよろしいでしょうか。

なければ 14 ページの「4. その他」でございませう。本製剤は遺伝子組換え技術を利用しておりまして、問題となるようなタンパク質が生成されていないかどうかということが一番の重要なところかと思いますが、本日、専門参考人の 3 名の先生方においでいただいておりますので、14 ページの 28 行目以降、挿入 DNA 安定性と、次のページの 22 行目の遺伝子産物、ここについて御意見をいただけたら助かります。

神田先生、いかがでしょうか。

○神田専門参考人 組換えウイルスですから、宿主とどこが違うのかということが一番の問題になります。組換えに使った導入遺伝子が宿主のどの部分を壊したのかということと、導入された挿入遺伝子が何を発現するかというところで、宿主の性質が変わるわけで、それを丹念に見ることになります。

宿主に関しては、今、中村先生がおっしゃったように、非常に安全が確認されているものから、何が変わったかという、NDV の F 蛋白の発現カセットが入って、US10 という遺伝子が壊れたことを整理すればよいのだらうと思います。

F 蛋白の発現で、まず一番気になるのは、F 蛋白に何か病原性があるかということだと思います。既知の毒素とかアレルゲン、発がん性物質等に F タンパク質のアミノ酸配列と相同性のある

ものはないという試験がされているので、まずそういう問題はない。

パラミクソウイルスの F 蛋白は HN という細胞表面に結合するスパイクと共同して、膜融合を起こす機能を持っているタンパク質です。ヒトに感染するパラミクソウイルスは沢山存在しますから、NDV の F 蛋白の機能を持ったタンパク質を、我々は摂取していると思われませんが、病気の原因には成りません。これらのことを考えると、F 蛋白がこのマレックのワクチン株に新たな病原性を付与するとは、思われません。

F 蛋白遺伝子の導入によるワクチン株の宿主域の拡大が少し気になるのですが、これもネコとマウスに関しては *in vivo*、つまり実際の個体レベルで調べられていて、感染しない。培養細胞ではかなり広範宿主、ヒト、牛、サル、イヌ、ネコ、ハムスター、ラットへの感染がないということですから、要するに F 蛋白遺伝子が挿入されたことでこのワクチン株の宿主域が大きく変わったということはないと思われま

す。もう一つ、失われた *US10* 遺伝子で何か起きるかということですが、もともと培養細胞等での増殖に関係ないと言われている遺伝子で、ただ機能はわかっていません。でも、この組換え体の鶏への接種実験で、従来のワクチン株よりも、むしろウイルス増殖が悪くなっているという成績があるので、病原性が上がったとか増殖能が上がったということは考えられない。もともとのウイルスの遺伝子が壊れて病原性が上がるということは基本的にあまりないので、ここでも、問題はないと思います。

最後に、これは自然界での進化と淘汰を受けていない組換えウイルスなので、安定性が問題になると思います。継代して行って、当初、意図しない新たな組換えウイルスが出るかどうかということが問題になります。20 代の継代を実施した後、2 代目と 20 代目のウイルスの F 蛋白遺伝子発現カセット周辺の塩基配列を調べて、変化がないことを確認しています。1 回の継代でウイルスは 1,000 倍くらいに増えるそうですから、1,000 倍を 20 代で、 10^{60} くらい、計算の仕方によってはもう少し少ないかもしれませんが、複製しています。しかし、20 代継代しても遺伝子的に安定であるということは、これは極めて安定なウイルスと考えられます。

しかもワクチンに使うときには、8 代の継代で使うということですから、詳細に調べられたデータがそのまま、この後の実際の使用においても適用できるであろうと思います。継代によって大きく性質が変わった妙なものが出現して、それをワクチンとして使うことは恐らくないと考えられます。組換え生物である新規ワクチン株の性質は、基本的に安定かつおもとの宿主のワクチン株に比べて、悪い性質を持つものはないと考えております。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。

澤田先生、いかがでしょうか。特に ORF4 個、意図しないものが出ておりますが、その辺のことについても。

○澤田専門参考人 ほとんど神田先生がうまくまとめていただいたとおりでと思いますが、Simian virus 40 の ORF に関しましては、非常に短いペプチドを相補鎖側にコードしているものがある。それは最初からわかっていることでありまして、それプラス α で A4 断片側のペプチドだと思いますが、それがくっついたものができる可能性があるということでもあります。ただ、非常に短いペプチドで、発現する可能性はあまり考えられないと思いますので、安全性の上で、問題にはならないと思います。

あと US10 遺伝子の機能であります。これはマレック病ウイルスの場合は全くわかっておりませんが、類似のウイルスで HSV-1 というのがありまして、これに関する文献によると、キャプシドにあるタンパク質であるらしいです。それから、感染した細胞の中ではリン酸化されて、核の中にあるという文献がございました。

もう一点は、宿主に比しまして、この組換え体ウイルスではフケから排出される量が非常に減っているということで、水平感染する可能性が更に低くなっているため、利点が更に増しているということがございます。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。下地先生、いかがでしょうか。

○下地専門参考人 15 ページの書き方が気になったのですが、この分厚い資料を読めば問題はないのですが、4 行目の「5'末端側の A4 断片において 2 箇所の塩基配列に置換が認められた」というのは、この株が継代することによって置換されたのではなくて、ホモロガス・リコンビネーションするために使った遺伝子が最初から、ここは 2 か所違っていましたという話で、何ら遺伝子の変化は起こっていない。

神田先生のおっしゃられたように、20 代の継代によっても、ここには PCR の結果しか書いてありませんが、塩基配列を決定して、20 代後も何ら 1 塩基の変化も起こっていないということが確認されているので、安全であると私も考えております。

F 蛋白に対する抗体を使って、継代後のプラークを 20 個とか 50 個など、継代数によって、すべてのプラークを確認していますが、それも 100 % の発現率で遺伝子のアミノ酸の発現にも影響を及ぼさないということが資料では確認されております。

以上です。

○三森座長 そうすると、15 ページの 4 行目の書きぶりですが、「なお」というところからですね。ここをどのように修文したらよろしいでしょうか。「認められたが」は要らないですね。

○神田専門参考人 これは全部要らないのではないですか。組換え体で起きた変化ではなくて、これはもともとの株と何代か継代した宿主との間で A4 断片の配列が異なるだけです。

○下地専門参考人 6 ページにありまして、9 行目の「F 蛋白遺伝子の導入は、A4 断片を用いた」と書いてありますが、A4 断片の配列そのものであって、何ら継代によって変化がないと。15 ページの書き方だと、置換があったのかなという印象を受けますが、そうではないので。

○三森座長 「なお」の 4 行目から削除しますか。

○下地専門参考人 必要ないと思います。

○三森座長 事務局、よろしいですか。

○事務局 「なお」以下の一文は全部削除してしまってよろしいですか。

○下地専門参考人 はい。

○事務局 わかりました。「なお」から「推定された。」まで。

○三森座長 ありがとうございます。ほかにございますか。

以上の御議論から、16 ページの 15 行目からの「Ⅲ. 食品健康影響評価」というところになります。既に修文されておりますが、ここにつきまして、何か御質問あるいはコメントがありましたら、お願いいたします。よろしいでしょうか。

それでは、ないようでございますので、これまでの議論をもとにいたしまして、本生ワクチンに関わる評価をまとめたいと思います。いくつか評価書の文言に修正がございますが、ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス 1 型）凍結生ワクチンに係る食品健康影響評価については、動物用医薬品専門調査会において審議を行った結果、本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ということで、資料 1 をもとにいたしまして、評価書（案）をとりまとめたいと思います。

各専門委員におかれましては、必要に応じまして御意見を伺いたいと思いますので、そのときには、よろしくお願いいたします。事務局は作業をよろしくお願いいたします。

○事務局 わかりました。それでは、今日御意見をいただいた内容につきまして、修正をした上で、先生方に御確認をいただきたいと思います。本案につきましては、委員会に報告後、意見・情報の募集の手続をいたします。意見・情報の募集で寄せられました意見への対応につきましては、事務局で内容を取りまとめさせていただいて、必要に応じて改めて調査会にお諮りしたいと考えておりますので、よろしくお願いいたします。

○三森座長 事務局から、何かそのほかにございませんか。

○事務局 特にございませんが、次回の調査会は、9 月 29 日火曜日の午後を予定しております。

また改めて御連絡をさせていただきますので、よろしくお願いいたします。

○三森座長　これで本日の議事はすべて終了いたしました。最後に特に御発言などはありませんか。

ないようですので、以上をもちまして、閉会いたします。本日はどうもありがとうございました。