

遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の
承認申請に係る審査報告書

SLAM blind 変異導入麻疹ウイルス HL 株
SLAM blind 変異及び *EGFP* 遺伝子導入麻疹
ウイルス HL 株

平成 30 年 1 月 11 日

農林水産省 消費・安全局 農産安全管理課

目 次

1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論	1
2. 審査の概要	2

〈審査参考資料〉

資料 1. 第一種使用規程承認申請書	7
資料 2. モニタリング計画書	12
資料 3. 緊急措置計画書	15
資料 4. 審査データの概要	18

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. A registration authority outside of Japan should not grant a registration on the basis of an evaluation unless it has first received authorization for such use from the owner of the data submitted to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan or has received the data on which the summaries are based, either from the owner of the data or from a second party that has obtained permission from the owner of the data for this purpose.

1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論

国立大学法人東京農工大学より、平成 28 年 8 月 10 日付けで第一種使用規程の承認申請のあった「SLAM blind 変異導入麻疹ウイルス HL 株並びに SLAM blind 変異及び EGFP 遺伝子導入麻疹ウイルス HL 株」（以下「本組換えウイルス」という。）に関し生物多様性影響評価を行った。

麻疹ウイルス野外株は、ヒトの細胞膜上に存在する糖蛋白質である SLAM または PVRL4 に結合することでヒト細胞内への侵入が可能となる。特に、SLAM を介してリンパ系組織へ侵入し増殖することが、全身に感染を拡大するために不可欠な過程であることが明らかにされている。本組換えウイルスは、改変によって SLAM への結合能を欠くため、ヒトへの感染力が弱い。

一般に、乳がん細胞は PVRL4 を過剰に発現することが知られている。本組換えウイルスは PVRL4 への結合能を維持するため、乳がん細胞への侵入・増殖を繰り返し、乳がん細胞を細胞死させることが期待できる。これまでの研究から、本組換えウイルスはイヌの乳がん組織で増殖し、当該効果を示すことが明らかにされている。本申請では、イヌの乳がん治療を目的に使用する。

申請者は、治療施設内で本組換えウイルスを乳がんのイヌへ接種し、体内での増殖及び体外への排出がみられなくなるまで管理する。接種された本組換えウイルスは、がん組織の縮小に伴い接種イヌの免疫系の働きによって体内から排除されるため、再び体内で増殖するような事態は想定されない。管理解除後は、飼育主が接種イヌを管理し、一定期間の通院によって術後の状態を確かめる。

審査の概要は本報告書の 2. のとおりである。学識経験者からは、本組換えウイルスを、申請された第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価の結論は妥当であるとの意見を得ている。

これらの結果に基づいて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

（参考）これまでの審議経緯

日 付	事 項	備 考
平成 28 年 8 月 10 日	第一種使用規程承認申請受理	
平成 28 年 9 月 5 日	薬事・食品衛生審議会薬事分科会 再生医療等製品・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における審査	非公開 ※
平成 29 年 2 月 27 日	薬事・食品衛生審議会薬事分科会 再生医療等製品・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へ修正箇所への報告	非公開 ※
平成 29 年 3 月 29 日	学識経験者からの意見提出	
平成 30 年 1 月 11 日	審査報告書とりまとめ	

※ 申請者の知的財産等が開示され、特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるため。

2. 審査の概要

麻疹ウイルスは、非分節型¹の RNA をゲノムとし、ゲノムは蛋白質に被覆されたヌクレオカプシド構造²をとる。これがエンベロープ（外套）で被われ、ウイルス粒子を形成している。エンベロープ表面に存在する H 蛋白質³が、ヒトの細胞膜上の 2 種類の糖蛋白質、すなわち、リンパ系細胞に局在する SLAM⁴又は極性上皮細胞⁵に局在する PVRL4⁶に結合することで細胞表面に吸着し、その後細胞内へ侵入する。ウイルス粒子の安定性は低く、空気中や物体表面では約 2 時間で不活化する。

麻疹ウイルスは、ヒトの気管に達すると、SLAM を介してリンパ系細胞へ侵入・増殖した後、全身に感染を拡大する。感染終期には、体内から PVRL4 を介して気管の上皮細胞へ侵入・増殖した後、呼気中へウイルス粒子を放出する。ヒトからヒトへ飛沫感染を起こすが、持続感染⁷はまれで垂直感染⁸は起こさない。

本組換えウイルスの宿主は、麻疹ウイルス野外株 HL 株⁹（以下「MV-HL 株」という。）である。本組換えウイルスは、MV-HL 株の H 蛋白質をコードする H 遺伝子に加えた改変により SLAM への結合能を欠いた株（以下「SLAM blind 株」という。）及び当該改変のほかゲノム上の別の位置に EGFP（緑色蛍光蛋白質）遺伝子を挿入した株（以下「SLAM blind-EGFP 株」という。）である。いずれも、作出時に使用した増殖欠損型ワクシニアウイルス MVA-T7 を含まない。

本組換えウイルスは SLAM への結合能を欠くため、宿主に比べて感染力が弱いですが、PVRL4 への結合能を維持しているため、がん組織に直接注入すれば、PVRL4 を過剰に発現するがん細胞への侵入・増殖を繰り返す。これまでの研究から、実験動物に移植したイヌの乳がん組織でも効率的に増殖し、がん細胞の細胞死によりがんの増大を著しく抑制した成果が得られている。

申請者は、イヌの乳がん治療を目的に、本組換えウイルスを東京農工大学に設置した治療施設内で増殖・調製し、乳がんのイヌのがん組織、静脈内又は皮下に繰り返し接種する予定である。同じイヌに対しては SLAM blind 株又は SLAM blind-EGFP 株のいずれかを接種し、両者を混合して接種することや治療途中で株を変更する予定はない。

¹ 「分節型ゲノム」とは、ウイルスゲノムが複数の断片に分かれて存在すること。類似のウイルスが同じ細胞に存在する場合、分節どうしを交換し変異が生じやすい。断片に分かれていない非分節型ゲノムのウイルスではこのような現象はみられない。

² ウイルスゲノムとそれを取り囲む蛋白質の殻からなる構造。

³ ヘマグルチニン。ヒト細胞膜上に存在する特定の糖蛋白質に結合し、細胞侵入に重要な役割を果たす。

⁴ signaling lymphocyte activation molecule の略。CD150 ともいう。

⁵ 上皮（管腔や臓器の粘膜）を構成する細胞のうち、細胞内の成分が均一に存在せず偏り（極性）があるもの。麻疹ウイルス野外株は、感染終期に気管の極性上皮細胞に PVRL4 を介して侵入・増殖した後、子孫粒子を気管内に放出する。

⁶ poliovirus receptor-like 4 の略。Nectin 4 ともいう。

⁷ 特定の病原体に慢性的に感染している状態。

⁸ 病原体が親から直接その子に伝播される感染様式。

⁹ 1989 年に我が国の麻疹患者の末梢血リンパ球から分離された麻疹ウイルス株。

申請者は、接種イヌの皮下に個体識別用のマイクロチップを埋め込むとともに、本組換えウイルスの体内増殖及び体外排出がないことを確認するまで、接種イヌを治療施設内で管理する。管理解除後、飼い主は接種イヌを適切に飼養し、一定期間、定期検査を受診して体液及び排泄物中に本組換えウイルスがないことを確かめる。万一、本組換えウイルスが検出された場合、申請者は接種イヌを治療施設における管理下に置く。

本組換えウイルスに関し、生物多様性影響を生じさせる可能性のある性質である、(1) 他の微生物を減少させる性質、(2) 病原性、(3) 有害物質の産生性、(4) 核酸を水平伝達する性質の 4 項目から評価を行った。

(1) 他の微生物を減少させる性質（競合、有害物質の産生等により他の微生物を減少させる性質）

宿主である MV-HL 株を含む麻疹ウイルス野外株に関して、他の微生物を減少させる性質があるとする報告はない。

また、本組換えウイルスは SLAM への結合能を欠くほか、EGFP 遺伝子及びその産物である蛍光蛋白質 EGFP を発現するが、これらは有害物質等ではなく、有害物質等の産生性にも関与しない。このことから、本性質が変化する可能性は極めて低いと考えられた。

以上より、本性質に起因して影響を受ける可能性のある微生物は特定されず、申請された第一種使用規程に従った使用等を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

(2) 病原性（野生動植物に感染し、それらの野生動植物の生息又は生育に支障を及ぼす性質）

宿主である MV-HL 株を含む麻疹ウイルス野外株は、自然環境下でヒトにおいて増殖を伴う感染を起こす。サルに関しては、自然環境下での感染例はないが、動物実験でアカゲザル及びカニクイザルに静注、経鼻接種、皮下接種等を行うことで感染し麻疹症状を呈するほか、ヒトとの接触を介してアカゲザル及びカニクイザルへ感染した報告例がある。他の野生動植物への感染の報告はない。

一方、本組換えウイルスは、ゲノム上の H 遺伝子に加えた改変によって SLAM への結合能を欠くことから、リンパ系組織で増殖せず感染拡大には至らないため、宿主に比べ病原性が低いと考えられた。また、EGFP 遺伝子は蛍光蛋白質 EGFP をコードするものの、これらは病原性に影響を与える機能を持たないことから、SLAM blind-EGFP 株の病原性は SLAM blind 株と同等と考えられた。実際、アカゲザル及びカニクイザルに本組換えウイルスを接種した実験では臨床症状を示さないことが確かめられている。

さらに、EGFP 遺伝子を除いて同じ構造である SLAM blind-EGFP 株と SLAM

blind 株が、仮に接種イヌ体内に同時に存在し相同組み換え等が生じたとしても、改変箇所が復元し病原性が高まるとは考えられないことから、相互作用等による影響も無視できると考えられた。

以上より、病原性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されず、申請された第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

(3) 有害物質の産生性（野生動植物の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生する性質）

宿主である MV-HL 株を含む麻疹ウイルス野外株に関して、野生動植物の生息又は生育に支障を及ぼす有害物質の産生性があるとする報告はない。

また、本組換えウイルスは SLAM への結合能を欠くほか、蛍光蛋白質を発現するが、EGFP 遺伝子及びその産物である蛍光蛋白質 EGFP に毒性はなく、既知の有害蛋白質やアレルゲンと類似のアミノ酸配列を有さない。このことから、これらによって本性質が変化する可能性は極めて低いと考えられた。

以上より、有害物質の産生性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されず、申請された第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

(4) 核酸を水平伝達する性質（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）が対象とする技術により移入された核酸を野生動植物又は他の微生物に伝播する性質）

宿主である MV-HL 株を含む麻疹ウイルス野外株は、ゲノムが非分節型の RNA であること、侵入した細胞の細胞質において複製すること、複製過程でもヌクレオカプシド構造を維持し DNA の形態をとらないことから、他のウイルス等との交雑や組み換え等が生ずる可能性や、核酸の一部が偶発的に侵入細胞の染色体に組み込まれる可能性は極めて低い。

また、本組換えウイルスは SLAM への結合能を欠くほか、蛍光蛋白質 EGFP を発現するが、これらの改変は、上述の交雑や組み込み等の可能性に影響を与えないと考えられた。このため、接種イヌ自体の生物多様性影響評価を行う必要はないものと判断した。

以上より、核酸を水平伝達する性質に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物及び微生物は特定されず、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

(5) その他の留意点

元来、麻疹はヒトの疾病である。本組換えウイルスは感染力が弱められているものの、曝露の程度によっては治療従事者や飼い主等に感染する可能性を完全に否定することはできない。このため、万が一に備え、使用に先だって感染を予防する措置を執る。具体的には、飼い主及びその家族に本組換えウイルスの特性等について十分な情報提供を行い、妊婦が含まれる場合には当該患者を治療の対象としない。また、治療従事者並びに飼い主及びその家族の麻疹ワクチン接種歴や抗体価を確認した上で、必要に応じワクチンを接種し、抗体価の上昇を確認した後で、本組換えウイルスの使用等に当たる。

また、これまでの研究から、本組換えウイルスは、がん細胞で効率的に増殖し、がん組織の消滅又は縮小に伴って、接種した実験動物の体液及び排泄物中の量は検出限界以下となることが確かめられており、その後再び増殖して体外に排出されるといった現象は認められていない。このような特性は、自然発生の乳がんのイヌにおいても同様と考えられるものの、これまで実証された例がないことから、飼い主は、治療施設での管理解除後の一定期間、通院による検査を受診し、接種イヌからの本組換えウイルスの排出が見られないことを確かめる。

(6) 結論

他の微生物を減少させる性質について、宿主である MV-HL 株が本性質を有するとの報告はない。さらに、本組換えウイルスに加えた改変によって本性質が変化する可能性は極めて低いと考えられる。

このため、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

病原性について、宿主である MV-HL 株は、自然環境下でヒトにおいて増殖を伴う感染を起こし、実験環境下ではサルにも感染しうる。しかし、本組換えウイルスは改変によって SLAM への結合能を欠くことから感染力が弱く、MV-HL 株が実験動物のサルに感染し発症する条件で本組換えウイルスを接種しても、病原性の発現に至らない。

このため、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。なお、使用に当たっては、治療従事者、飼い主等への感染を防止するための措置（十分な情報提供、ワクチンの事前接種等）を執る。

有害物質の産生性について、宿主である MV-HL 株が本性質を有するとの報告はない。さらに、本組換えウイルスに加えた改変によって本性質が変化する可能性は極めて低いと考えられる。

このため、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

核酸を水平伝達する性質について、宿主である MV-HL 株は、非分節型のゲノムであり、複製過程でもヌクレオカプシド構造を維持し DNA の形態をとらないこと等から、他のウイルス等との交雑や組み換え、感染細胞の染色体への組み込み等が起きる可能性は極めて低い。さらに、本組換えウイルスに加えた改変によって本性質が変化する可能性は極めて低いと考えられる。

このため、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。

以上を総括し、本組換えウイルスを、申請された第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないものと判断した。