

### 3. 鶏に対する安全性

#### (1) 鶏に対する安全性試験 (参照 5、32)

鶏 (初生ひな、雌雄各 5 羽/群) を用いて、試作ワクチンの単回皮下接種試験 (常用量、100 倍量、対照：生理食塩水) を表 6 の要領で実施し、本製剤の安全性について検討した。供試鶏は接種後 10 週間臨床観察を行い、接種 10 週後に採血、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

表 6 試作ワクチンの皮下接種による安全性試験設定

群	動物数	投与物質	投与量
対照	雌雄各 5 羽	生理食塩液	0.2 mL/羽
常用量		試作ワクチン	
100 倍量		試作ワクチン	

10 週間の観察期間中、いずれの個体にも異常は観察されず、接種 10 週後の体重、血液検査、剖検及び臓器重量において各群間の有意差は認められなかった。

病理組織学的検査では、試作ワクチン接種群において脳にごく軽度又は軽度の単核細胞の血管性細胞浸潤が認められた。また、常用量群ではごく軽度又は軽度のグリア細胞の集簇が、100 倍量群の 1 例においては坐骨神経にごく軽度の単核細胞の浸潤が観察された。これらの所見は対照群には見られないことから、試作ワクチンの接種により生じた変化と考えられた。また、全群において肺、腎臓及び脾臓にリンパ球浸潤/集簇が、肺にリンパ濾胞増生があり、試作ワクチン接種群で程度が強い又は出現頻度が高かったが、これらの変化は、ウイルス性炎及び免疫反応の結果と考えられた。

脳及び坐骨神経の所見は、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であり、程度も同程度であった。

#### (2) 鶏に対する臨床試験 (参照 5、33)

野外の飼育環境を模し外部と画した国内 2 施設において、計 1,820 羽の鶏 (雌、投与群：初生ひな 220 又は 230 羽、対照群：初生ひな～10 週齢鶏 220 又は 230 羽) に試作ワクチンを接種し、安全性について検討した。安全性は、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した。試験系の設定は表 7 のとおりであった。

表 7 臨床試験における試験設定

	試験番号	農場	鶏種	動物数 (羽)	投与時期及び供試薬
投与群	1	A	肉用鶏 (コブ)	230	初生：試作ワクチン
	2		採卵用鶏 (ジュリア)	230	
	3	B	肉用鶏 (チャンキー)	220	
	4		採卵用鶏 (ジュリア)	230	

対照群	1	A	肉用鶏 (コブ)	230	初生：市販薬 A*1
	2		採卵用鶏 (ジュリア)	230	2 週齢：市販薬 B*2
	3	B	肉用鶏 (チャンキー)	220	4 週齢：市販薬 B
	4		採卵用鶏 (ジュリア)	230	10 週齢：市販薬 C*3

\*1：七面鳥ヘルペスウイルス

\*2：ニューカッスル病、鶏伝染性気管支炎混合不活化ワクチン

\*3：ニューカッスル病、鶏伝染性気管支炎 2 価、産卵低下症候群-1976、鶏伝染性コリーザ (A・C 型)、マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合不活化ワクチン (試験 2 及び 4 のみ)

臨床症状として下痢、元気消失及び脚弱が認められたものの、いずれも通常認められる程度であり、投与群と対照群に有意差は認められず、全期間を通じ、試作ワクチンに起因する臨床症状及び投与局所の異常は認められなかった。

体重では一過性の有意差が認められたが、被験薬に起因する増加抑制は見られず、育成率についても各群間に有意差はなかった。

産卵率については、試験 4 で産卵開始 2 及び 3 ヶ月において投与群の方が有意に低かった (投与群：95.7 及び 95.3 %、対照群：98.0 及び 96.7 %、 $p < 0.05$ ) が、投与群の産卵率でも、本試験に使用した鶏種 (ジュリア) の標準的なピーク時産卵率 (92~95 %) を上回っており、試験 2 において、ピーク時産卵率は投与群 (94.7 %) の方が対照群 (91.0 %) よりも高い値であった。また、投与群及び対照群の 50 % 産卵率到達日齢は、試験 2 においてそれぞれ 136 及び 135 日齢、試験 4 においてそれぞれ 138 及び 142 日齢であった。

正常卵産出率については、試験 4 の産卵開始 4 ヶ月後において投与群の方が有意に低かった (投与群：99.6 %、対照群：100 %、 $p < 0.05$ ) もの、全般的に高い水準で推移した。

#### 4. その他

##### (1) 挿入 DNA の安定性 (参照 5、6、34)

rMDV1 のゲノムに挿入された遺伝子 (図参照) の完全性及び安定性を確認するため、rMDV1 及び rMDV1 の原株から 20 代継代したウイルス (rMDV1-20) の挿入遺伝子領域について塩基配列を決定し、発現ベクターの配列と比較した。

その結果、rMDV1 及び rMDV1-20 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された。(参照 5、6)

また、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'側配列にプライマーを設計し、rMDV1 の原株からの継代数 2、8、15 及び 21 代の各ウイルス感染細胞について PCR 分析を行った。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。(参照 5、6、34)

さらに、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、全てのプラークでF蛋白の発現が確認された。(参照5、6)

以上のことから、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。

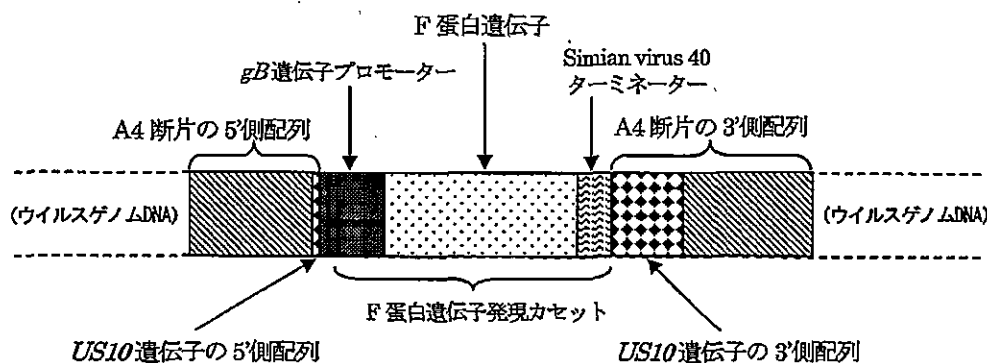


図 rMDV1に挿入されたDNA (模式図)

### (2) 遺伝子産物の安全性 (参照35、36)

F蛋白遺伝子と既知の有害物質の遺伝子との相同性について確認するために、DNA Data Bank of Japan (DDBJ)のデータベースを用いてblastn検索 (version 2.2.18) を行った結果、既知の有害物質 (アレルゲンを含む。) と相同性を示す配列は見出されなかった。(参照35)

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) を用いて、ORFの検索を行った結果、4個のORFが検出された。

4個のORFがコードするアミノ酸配列について、DDBJのデータベースを用いてblastp検索 (version 2.2.18) を行った。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きわめて低いと考えられた。仮に発現したとしても、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。(参照35、36)

### (3) その他 (参照1)

本製剤は、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、1~4日齢の鶏を用いた安全性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。(参照1)

### Ⅲ. 食品健康影響評価

上記のように、マレック病は鶏を主要な宿主とするが、人獣共通感染症とはみなされていない。ニューカッスル病は、鶏を主要な宿主とする感染症で、ヒトが感染鶏に濃厚接触した場合まれに急性結膜炎を起こすことがある人獣共通感染症である。しかしながら、本製剤の主剤の組換えに用いられた F 蛋白遺伝子の供与体である NDV D26 株は、これまでにワクチンに使用されてきている弱毒株の B1 株よりも病原性は弱いとされている。

rMDV1 は接種鶏の糞やフケから分離されず、また、各種感染試験から、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かった。

添加剤については、本製剤の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。

また、F 蛋白遺伝子の塩基配列は既知の有害物質（アレルゲンを含む。）の塩基配列との相同性は認められていない。F 蛋白遺伝子発現カセットの挿入にともない、挿入領域内外の接合部に意図しない 4 個の ORF が検出されたが、これらの ORF からタンパク質が発現する可能性は低いと考えられた。なお、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た。

rMDV1 接種鶏に由来する肉及び内臓等からは 4℃ で保存した場合、最長接種 7 日後までウイルスが回収された。しかしながら、rMDV1 は各種感染試験から、通常の MDV 同様、ヒトを含む他の動物に対する感染性は認められないこと、人工胃液中生存試験の結果からヒトの消化管内でウイルスは不活性化されると考えられることから、食品の摂取により当該ウイルスに感染する可能性はないものと考えられる。

鶏の安全性試験及び臨床試験も実施され、安全性試験で見られた脳及び坐骨神経の所見は、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であり、程度も同程度であった。

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ものと考えられる。

〈別紙 検査値等略称〉

略称	名称
CPE	細胞変性効果
ELISA 法	酵素免疫測定法
MDV	マレック病ウイルス
MDV1	マレック病ウイルス血清型 1
MDV2	マレック病ウイルス血清型 2
NDV	ニューカッスル病ウイルス
OIE	国際獣疫事務局
ORF	オープンリーディングフレーム
PBMC	末梢血単核球
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
PFU	プラーク形成単位

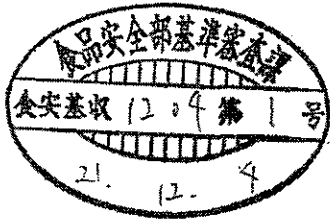
〈参照〉

- 1 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書：セルミューン N (未公表)
- 2 大橋和彦. “マレック病”、動物の感染症. 小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓士、杉本千尋、宝達勉編. 第二版、近代出版、2006, p205
- 3 真瀬昌司. “ニューカッスル病”、動物の感染症. 小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓士、杉本千尋、宝達勉編. 第二版、近代出版、2006, p202
- 4 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 添付資料：起源又は開発の経緯 (未公表)
- 5 (財) 化学及び血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 添付資料：概要 (未公表)
- 6 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 添付資料：物理的、化学的試験 (未公表)
- 7 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 4 (未公表)
- 8 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 12 (未公表)
- 9 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 17 (未公表)
- 10 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 15 (未公表)
- 11 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 20 (未公表)
- 12 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 19 (未公表)
- 13 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 23 (未公表)
- 14 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 18 (未公表)
- 15 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 2 (未公表)
- 16 OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008 Volume 1 CHAPTER 2. 3. 13. MAREK'S DISEASE  
[http://www.oie.int/Eng/Normes/Mmanual/A\\_summary.htm](http://www.oie.int/Eng/Normes/Mmanual/A_summary.htm)
- 17 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 4 (未公表)
- 18 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 29 (未公表)
- 19 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規程承認申請書 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、別紙 28 (未公表)

- 20 最新 医学大辞典 第2版 医歯薬出版株式会社
- 21 食品安全委員会. 食品健康影響評価の結果の通知について (平成19年1月18日付け 府食第00050号): 動物用医薬品評価書 鶏マレック病 (マレック病ウイルス1型・七面鳥ヘルペスウイルス)凍結生ワクチン(クリオマレック(RISPENS+HVT))の再審査に係る食品健康影響評価について、2007年
- 22 食品安全委員会. 15 消安第6562号に係る食品健康影響評価の結果の通知について (平成16年3月25日付け 府食第358号の1(別添)): 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健康影響評価について、2004年
- 23 食品安全委員会. 16 消安第31号に係る食品健康影響評価の結果の通知について (平成16年6月17日付け 府食第669号の1(別添)): 鶏伝染性気管支炎生ワクチン(“京都微研” ポールセーバーIB)の食品健康影響評価について、2004年
- 24 遺伝子組換え分泌型ヒト成長ホルモン製剤セロスティム注5mg 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 医療用医薬品の添付文書情報  
[http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/2412402D7027\\_1\\_09/](http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/2412402D7027_1_09/)
- 25 Glucose. THE MERCK INDEX Fourteenth Edition. 2006: 4459~4460
- 26 イーグルMEM培地「ニッスイ」①
- 27 L-アルギニン、L-イソロイシン、myo-イノシトール、塩化カリウム、塩化カルシウム、コハク酸、コハク酸二ナトリウム、L-システイン塩酸塩、チアミン塩酸塩、L-チロシン、L-トリプトファン、L-トレオニン、ニコチン酸アミド、L-バリン、パントテン酸カルシウム、ビオチン、L-ヒスチジン塩酸塩、ピリドキシン塩酸塩、L-フェニルアラニン、L-メチオニン、葉酸、リボフラビン、硫酸マグネシウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、L-ロイシン. 第8版 食品添加物公定書解説書 廣川書店, 2007, D-112~114, 197~200, 201~203, 262~265, 266~268, 604~606, 608~610, 725~730, 1109~1114, 1128~1130, 1207~1210, 1216~1219, 1241~1243, 1310~1313, 1313~1317, 1319~1322, 1332~1335, 1385~1390, 1416~1419, 1618~1621, 1655~1660, 1687~1692, 1715~1721, 1757~1759, 1799~1802, 1802~1805, 1814~1815
- 28 Inositol. THE MERCK INDEX Fourteenth Edition. 2006: 4976
- 29 肝臓加水分解物製剤プロヘパール錠 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 医療用医薬品の添付文書情報  
[http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/3919101F1023\\_1\\_06/](http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/3919101F1023_1_06/)
- 30 食品安全委員会. 食品健康影響評価の結果の通知について (平成19年5月31日付け 府食第536号): 動物用医薬品評価書 カナマイシンの食品健康影響評価について、2007年
- 31 食品安全委員会. 食品健康影響評価の結果の通知について (平成17年2月10日付け 府食第146号(別添1)): 牛伝染性気管支炎・牛ウイルス性下痢-粘膜病・牛パラインフルエンザ・牛アデノウイルス感染症混合生ワクチン(日生研牛呼吸器4種混合生ワクチン)の再審査に係る食品健康影響評価について、2005年
- 32 (財)化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューンN 添付資料: 安全性に関する試験(未公表)

- 33 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 添付資料: 臨床試験 (未公表)
- 34 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 10 (未公表)
- 35 (財) 化学及血清療法研究所. 第一種使用規定承認申請書 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、生物由来技術部会指摘事項回答書 資料 5: 参考資料 2 (未公表)
- 36 (財) 化学及血清療法研究所. 動物用医薬品製造承認申請書 セルミューン N 参考文献 16 (未公表)

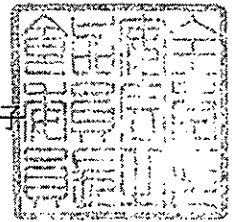




府食第1132号  
平成21年12月3日

厚生労働大臣  
長妻 昭 殿

食品安全委員会  
委員長 小泉 直子



### 食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年7月3日付け厚生労働省発食安0703第1号をもって貴省から当委員会に意見を求められたニューカッスル病・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の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添1のとおりです。

また、本件に関して行なった国民からの意見・情報の募集において、貴省に関する意見・情報が別添2のとおり寄せられましたので、お伝えします。

### 記

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。