

猫白血ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルスALVAC
(vCP97株)(FeLV-*env,gag,pol*, Canarypox virus)生物多様性影響評価書の概要

目 次

第一種使用規程承認申請	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	5
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	5
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	5
(2) 使用等の歴史及び現状	5
(3) 生理学的及び生態学（生物学）的特性	5
イ 基本的特性	5
ロ 生息又は生育（増殖）可能な環境の条件	6
ハ 捕食性又は寄生性	6
ニ 繁殖又は増殖の様式	6
ホ 病原性	7
ヘ 有害物質の産生性	8
ト その他の情報	8
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
イ 構成及び構成要素の由来	8
ロ 構成要素の機能	9
(2) ベクターに関する情報	11
イ 名称及び由来	11
ロ 特性	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	13
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	13
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	13
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	14
(4) 細胞内（宿主体内）に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による 形質発現の安定性	14
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び 信頼性	15
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	15
イ 遺伝子組換え微生物と、その調製に利用した宿主又はこれらの属する 生物種との特性の違い	15
ロ 遺伝子組換え微生物の宿主との識別を可能とするコロニー形成 性、発色性等の特徴	17
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	17
(1) 使用等の内容	17
(2) 使用等の方法	17
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報 収集の方法	18
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響 を防止するための措置	18
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似 の環境での使用等の結果	18
(6) 国外における使用等に関する情報	18
(7) 接種動物の体内における挙動に関する情報	18
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	20
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	20

(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	20
(2)	影響の具体的内容の評価	20
(3)	影響の生じやすさの評価	21
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無	21
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）	21
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	21
(2)	影響の具体的内容の評価	21
(3)	影響の生じやすさの評価	21
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断	21
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）	21
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	21
(2)	影響の具体的内容の評価	22
(3)	影響の生じやすさの評価	22
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断	22
4	核酸を水平伝播する性質（法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動植物に伝播する性質）	22
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	22
(2)	影響の具体的内容の評価	22
(3)	影響の生じやすさの評価	22
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無	22
5	その他の性質（生態系の基盤を変化させることを通じて間接的に野生動植物等に影響を与える性質等生物多様性影響評価を行うことが適切であると考えられるもの）	23
第三	生物多様性影響の総合的評価	24
	引用文献リスト	25
	緊急措置計画書	26

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 12 月 28 日

農林水産大臣 島村 宜伸 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

氏名 メリアル・ジャパン株式会社
申請者 代表取締役 ミシェル・ラショセ 印
住 所 東京都千代田区永田町2丁目14番2号
山王グランドビル8階

第一種使用規程について承認を受けたいので、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第4条第2項の規程により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>猫白血病ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス ALVAC (vCP97株) (FeLV-<i>env,gag,pol</i>,Canarypox virus)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>① 運搬及び保管（生活力を有する遺伝子組換え生ワクチンを保有する接種動物の運搬及び保管を含む。） ② 薬事法第14条第3項の規定により提出すべき資料のうち臨床試験の試験成績に関する資料の収集を目的とする試験（以下「治験」という。）に該当する場合は、同法第80条の2第2項に基づき届け出る治験計画届出書及び動物用医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年農林水産省令75号）第7条に基づき作成する治験実施計画書に従った使用 ③ 薬事法第14条第1項に基づく承認申請書に従った使用（④に該当する行為は除く。） ④ 接種（食用に供される場合を除く。） ⑤ 廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和45年法律第137号）第12条の2に基づき定める感染性産業廃棄物の処理基準に従った接種後の器具及び使用残さの廃棄 ⑥ ⑤以外の廃棄（生活力を有する遺伝子組換え生ワクチンを保</p>

	有する接種動物の廃棄に伴う場合を含む。)) ⑦ ①～⑥に付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

**猫白血病ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス
ALVAC (vCP97株) (FeLV-*env*, *gag*, *pol*, Canarypox virus)
生物多様性影響評価書の概要**

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

宿主：

イ 株名（製品名）：ALVAC〔別称：CPpp（Canary Pox plaque purified）〕

ロ 公的微生物保存機関からの分与の場合、当該機関の名称及び株番号並びに受領年月日：
—

ハ 宿主の入手先及び系統樹（申請書別紙1）。

ポックスウイルス科（*Poxviridae*）

コルドポックスウイルス亜科（*Chordopoxvirinae*）

アビポックスウイルス属（*Avipoxvirus*）

カナリア痘ウイルス（*Canarypox virus*）（申請書別紙2）。

弱毒化前の株名 Rentschler株 系統図（二 繁殖又は増殖の様式）を参照

ニ 自然界における分布状況：カナリア痘ウイルス野生株は世界的に存在すると思われる（申請書別紙3）。

動物培養細胞：

イ 名称：鶏胚線維芽(CEF)細胞

ロ 公的微生物保存機関からの分与の場合、当該機関の名称及び株番号並びに受領年月日：
—

ハ 由来動物：ニワトリ（*Gallus gallus domesticus*）の SPF 発育鶏卵（申請書別紙4）を酵素消化して得られた培養細胞である。

(2) 使用等の歴史及び現状

宿主：

宿主 ALVAC は狂犬病ウイルスやウエストナイルウイルスの抗原遺伝子を挿入した組換えワクチンとして欧米で既に市販されている。当該猫白血病（FeLV）組換えワクチンも29か国で承認、市販されている（申請書別紙5）。人においても狂犬病、麻疹ウイルス融合及び血球凝集タンパク、HIV エンベロープ糖タンパクなどを導入した組換えワクチンとして開発段階にある（申請書別紙6）。

培養細胞：

世界中の大学、研究機関、ワクチンメーカーなどでウイルス研究用、ワクチン製造用などに使用されている。

(3) 生理学的及び生態学（生物学）的特性

イ 基本的特性

「感受性」：細胞又は体内に入って感染し、次の世代のウイルスが複製されること。

「病原性」：動物に感染し、それらの生育に支障をきたすこと。

カナリア痘ウイルス野生株はカナリアに感染し増殖する。細胞では一般的な培養条件

(37±1℃、5%CO₂)において鶏胚線維芽細胞や鶏胚腎臓細胞でよく増殖し、また、鶏胚をはじめ、家鴨、七面鳥、その他の鳥類の胚でもよく増殖する。カナリア痘ウイルスは遺伝学的に近縁な他のアビポックスウイルス属との間で組換えの報告はない。

宿主 ALVAC（開発時の名称 CPpp）の系統図はニ 繁殖または増殖の項に記載した。ゲノムは線状2本鎖 DNA で塩基数は約325kb である（申請書別紙7）。

ポックスウイルスはウイルス種ごとに、感染性ウイルスが産生される増殖性感染（productive infection）をおこす動物種（宿主特異性）がある（回答書別紙2、申請書別紙8）。哺乳動物の細胞内では感染後の初期の段階で複製が停止し、感染性ウイルス粒子が産生されない不全感染（abortive infection）の様式をとる（申請書別紙8）。ALVAC の特性を申請書別紙6に示した。

ALVAC の病原性は感受性動物であるカナリアでは接種部位における軽微な炎症反応があり、皮膚に接種後その部位と臓器から16日目までウイルスが分離され、未接種の同居カナリアへ伝播する。人及びその他哺乳動物（マウス、モルモット、ウサギ、サル、猫）に対しては病原性のないことが報告されている（申請書別紙10）。

ロ 生息又は生育（増殖）可能な環境の条件

カナリア痘ウイルスはある種の鳥類由来の培養細胞、鶏胚をはじめ、家鴨、七面鳥、その他の鳥類の胚でよく増殖する。鶏胚漿尿膜の感染では、大型で隆起した白色のポックが発現する。培養細胞では著明な CPE、細胞質封入体や基本小体が検出される。アビポックスウイルス属は鶏痘、鳩痘、七面鳥痘、カナリア痘を始め10種類の主要なウイルス種に分類される。ウイルスは単独で自然界に存在できず、感受性培養細胞が鳥類由来細胞に限られ、また、アビポックスウイルスの自然及び実験的感染に関する研究結果から、宿主特異性があることが確認されている（申請書別紙8）。

宿主 ALVAC はカナリア痘ウイルスの一般的な性質を保持しており、培養に鶏胚線維芽細胞を用いる。

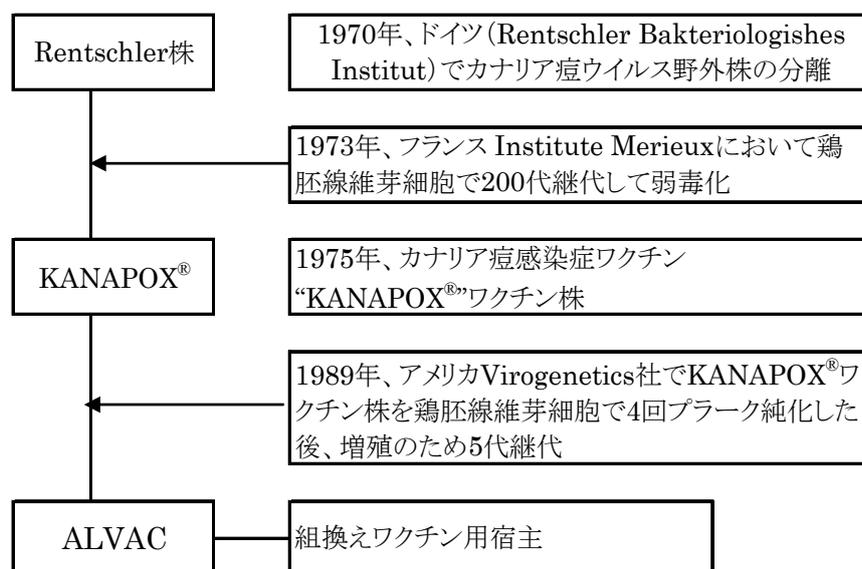
ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式（申請書別紙1）

KANAPOX®及びALVAC：1970年にドイツで分離されたカナリア痘ウイルス野生株である Rentschler株を鶏胚線維芽細胞で200代継代して十分に弱毒化されたカナリア痘感染症ワクチン製造用株CP1株（商品名KANAPOX®、フランス・メリアル社）を作製した。この株を4回プラーク純化した後、さらに5代継代・増殖培養したものがALVAC（開発時の名称CPpp）である。ALVACの特性はカナリア痘ウイルス野生株の持つ病原性が十分に弱められていることであり、このことから継代前のRentschler株の病原性に関連する遺伝子が改変されていることが予想される。

ALVACの系統図



栄養要求性：ALVAC はウイルスの特性として他の生物の細胞を利用し自己を複製させることで生存し、単独では自然界に生存できない。従って、宿主の栄養要求性は、*in vitro* では鳥類由来培養細胞、*in vivo* ではカナリア等の鳥類及び胚の生細胞を必要とする。

薬剤感受性：ALVAC はホルマリン、フェノール及びクロロフォルムに感受性である。一般的な消毒剤に対しても感受性であり、ALVAC 及び vCP97を用いた消毒剤の比較試験ではカチオン系、グルタルアルデヒド系、次亜塩素酸ナトリウムの順に感受性であることが確認された（申請書別紙32）。

生殖の様式：ALVAC は感受性鳥類であるカナリアにおいて同居感染性は認められるが、野外感染のような全身の発痘や接種局所における浮腫、水泡、膿胞は形成されず、病原性は認められない。これら鳥類由来細胞では感染性ウイルスが複製される増殖性感染 (**productive infection**) を示すが、哺乳動物細胞では感染は起こるが成熟・感染性ウイルスは複製されない不全感染 (**abortive infection**) となり、ウイルス排泄や同居感染は成立しない（回答書別紙22）。

交雑性：自然界ではカナリアにおける野生カナリア痘ウイルスとの共感染による組換えの可能性が考えられるため、強毒カナリア痘ウイルスと ALVAC との感染試験により、共感染は検出されなかった（回答書別紙6）。また、猫に内在するレトロウイルスとして FeLV が考えられるがレトロウイルスの増殖部位が核内であること（回答書別紙11）及び ALVAC は内在性ウイルスの補完に必要な LTR 配列を持たないことから、共感染による交雑性の可能性はないと考えられる。

ホ 病原性

カナリア痘ウイルス野生株はカナリアが自然宿主で、それらの局所または全身に発痘を引き起こし死に至しめる。また、肺炎を誘発し、致死率は90%以上に達する。1日齢の鶏、成鶏、七面鳥及び家鴨においては局所に発痘を引き起こすが、全身性の感染や致死性はない（申請書別紙8）。カナリア以外に本ウイルスに感受性のある宿主として、今までの野外流行事例、実験感染等から、スズメ目に分類されるスズメ類（イエスズメ (*Passer domesticus*)、ミヤマシトド (*Zonotrichia leucophrys*) 等)、鳩、鶏、七面鳥などが挙げられる。カナリア痘ウイルスを含むアビポックスウイルスはそれぞれ分離された特定の鳥類にしか感染できない宿

主特異性が強いいため、分離された鳥類の種類により10種に分類されている。申請書別紙14でハシボソキツツキ由来アビポックスウイルスは16種類の野鳥と鶏、鳩、七面鳥の鳥類には感受性が認められず、また、申請書別紙15ではカナリア痘ウイルスの2株による鶏、鳩、野生鳥類での感受性について調査し、その1株は、2種のスズメに病原性を示したが、他の株では鶏、鳩及び11種類の野鳥全てにおいて感受性が認められなかった。鳥における伝播は主に皮膚病変との接触やかさぶたの吸引などである。

宿主 ALVAC は、カナリア痘感染症生ワクチン株に由来するため、自然宿主であるカナリアに接種しても致死性がなく、接種局所の反応として、毛包壊死等の限局性の病変のみで、病原性のカナリア痘に特徴的な全身性の発痘などは観察されていない（申請書別紙10）。更に、vCP97を経皮接種によりカナリアに5代連続継代させ、病原性復帰が起こらないことを確認している（申請書別紙9）。これらから、宿主 ALVAC は、弱毒カナリアポックスウイルス CP1株と同等、最も感受性の高いカナリアにおいてほとんど病原性を示さないことから、カナリアより低い感受性の野生鳥類に対しては伝播する可能性はきわめて低いと考えられる。

マウス（申請書別紙11）、モルモット（申請書別紙11及び12）、ウサギ（申請書別紙12）、猫（申請書別紙13）及び人（申請書別紙12）に対しては、接種部位における軽微な炎症反応のみでウイルスの複製はされず、病原性についての報告はない。

予防法、治療法：

前述したように ALVAC は、病原性を有しない。よって、予防及び治療法も存在しない。野生株によるカナリア痘の予防は、KANAPOX®のようなワクチンが有効である。効果的な治療法は特にない。

へ 有害物質の産生性

ALVAC：カナリア痘ウイルスの全遺伝子配列（回答書別紙7）から予想される発現蛋白について、アレルゲンデータベース（Allergy Database for Food Safety）を用いてアレルゲン性について、また、生活関連物質の変異原性データベース（Genotoxicity Database on Chemicals）をもとに変異原性の検索を行ったところ、アレルゲン性及び変異原性を示す物質は認められなかった。その他の有害物質については検索できなかったが、海外では2000年に承認後2006年までに約700万ドーズの組換え vCP97ワクチンが使用されており、本ワクチンによる有害物質が産生されたという報告はないため、有害物質の産生による影響はないものと推察される。

ト その他の情報

ALVAC 接種対象動物である猫、その他の哺乳動物では排泄及び同居感染の情報はない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

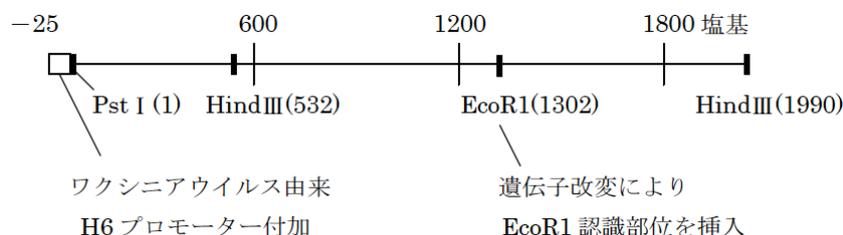
イ 構成及び構成要素の由来

- ① 目的遺伝子として猫白血病ウイルス（FeLV、レトロウイルス科 C型オンコウイルス属）タイプ A に属する Glasgow-1株に由来する *env* 遺伝子（1,930bp）、*gag* 遺伝子（1,683bp）、*pol* 遺伝子の一部（1,272bp）がウイルス防御抗原として用いられている。なお、これらの遺伝子は FeLV-A/ Glasgow-1株感染細胞においてプロウイルスの状態にあるウイルス

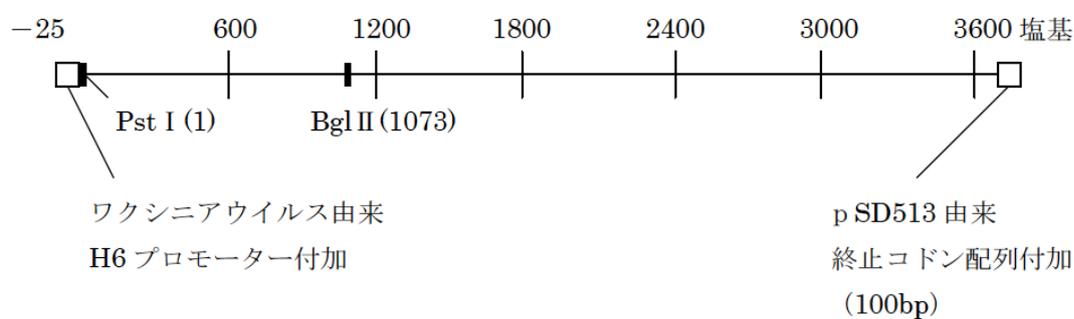
DNA をサブクローニングしたプラスミドから調製した（申請書別紙17）。調節系としてワクシニアウイルス（ポックスウイルス科 オルソポックスウイルス属）の H6 プロモーター（94bp）が用いられ、FeLV の遺伝子の上流に挿入されている。制限酵素 *Hind*III-*Eco*R I で消化したゲノム DNA 断片から調製した（申請書別紙18）。

② 制限酵素切断地図は、以下の通りである（申請書別紙19）。

1) *env* 遺伝子



2) *gag* 遺伝子及び *pol* 遺伝子（一部）



ロ 構成要素の機能

開発の目的：

現在、ウイルス性疾患の予防用に利用されているワクチンは不活化ワクチンと弱毒生ワクチンがあり、不活化ワクチンは病原体を不活化させたもので、病原性を示すことはないが、アジュバントによる接種局所反応や免疫持続期間が比較的短い短所をもっている。弱毒生ワクチンは弱毒化させた病原体を用い、液性免疫のほか細胞性免疫も誘導し、免疫持続が比較的長い、病原性の復帰やウイルス伝播などの危険性を持っている。FeLV に対するワクチンは現在不活化ワクチンのみであり、上記のとおり短所を抱えており、それらの改良のために組換えワクチンの開発を行った。本ワクチンの開発に用いられたポックスウイルスは、種痘ワクチンとしての長い使用実績から安全性についての情報は十分であり、また液性免疫だけでなく細胞性免疫を誘導できること、対象動物に対する病原性ウイルスではないので病原性の復帰の可能性がないこと、アジュバントを含まず安全性が高いこと及び移行抗体の影響を受けにくいこと等が優位点である（回答書別紙16、回答書別紙32）。

ALVAC の哺乳動物細胞内での動態及び免疫学的特性：

・哺乳動物細胞内での動態

ALVAC はカナリアを宿主とするため、宿主以外の哺乳動物に感染する場合、ウイルスと細胞との適合性が低く、ウイルスの核酸あるいは蛋白の合成・成熟による感染性ウイルスを複製しない不全感染 (abortive infection) となる（回答書別紙30、回答書別紙31）。ALVAC の細胞内における動態観察として、組換えウイルス vCP97を犬・猫由来細胞に

感染後の電子顕微鏡観察でウイルスの複製がないこと（回答書別紙10）、哺乳動物由来細胞で継代がされないこと（申請書別紙25）及び狂犬病G蛋白組換え ALVAC の感染人由来細胞で ALVAC の複製が起こらないこと（回答書別紙26）等の報告がされている。これらの各報告から回答書別紙30、回答書別紙31に要約したとおりウイルス増殖の停止の段階はウイルス構成タンパクが検出されないことからウイルスタンパクをコードする後期遺伝子発現以前と考えられる。このような宿主特異性に基づく不全感染の機序は、一部のポックスウイルスにおいて宿主域特定遺伝子の関与が示唆されているがまだは解明されていない（回答書別紙2）。

・ALVAC の免疫学的特性

ALVAC の免疫学的機序の解明には不明な点が多く、報告もほとんどされていないが、近年の一部の研究から ALVAC の免疫成立の機構にはリンパ球への抗原提示に重要な働きを持つ樹状細胞の関与が示唆されている（回答書別紙24）

当該組換えワクチンでは接種猫において中和抗体は産生されないが攻撃に防御を示したことから細胞性免疫の関与が示唆された。また、攻撃後に中和抗体応答の増強が認められたことから液性免疫の priming の可能性も示唆されている（申請書別紙 27、回答書別紙 32）。ALVAC の猫以外の哺乳動物における免疫学的特性は in vivo において、本申請の猫白血病遺伝子組換えワクチンの他にも数種の組換え体ワクチンによる蛋白発現として確認されている（回答書別紙 25～29）。ALVAC 組換えワクチンの試験は猫、犬、豚、馬の動物の他に及び霊長類としてサル、チンパンジー、ボランティアの人で行われ、哺乳動物における免疫応答は液性免疫及び細胞性免疫のいずれもが確認されている。

組換え体の構成要素：

① 挿入遺伝子発現カセットについては、以下の通りである。

1) *env* 遺伝子発現カセット

ワクシニアウイルス H6 プロモーター — ウイルス感染初期及び後期に遺伝子の転写調節を行う。

FeLV *env* 遺伝子 — ウイルスのエンベロープ糖タンパクの前駆体 p85 をコードする。p85 はプロテアーゼの作用で gp70 と p15E に分解される。gp70 は外被膜の外側に突きだし、ウイルスが細胞に感染する際に細胞側のウイルスレセプターと特異的に結合する。p15E は外被膜に入り込み、gp70 と結合している。*env* タンパクに対する特異抗体は FeLV を中和することから、感染防御に役割を果たしている。

2) *gag/pol* 遺伝子発現カセット

ワクシニアウイルス H6 プロモーター — ウイルス感染初期及び後期に遺伝子の転写調節を行う。

FeLV *gag* 遺伝子 — ウイルスの基本骨格をなすコアタンパク質の前駆体をコードする。これはプロテアーゼの作用で p27（メジャーコアタンパク）、p10（ヌクレオプロテイン）、p15C（コアプロテイン）、p12（インナーコート）に分解される。

FeLV *pol* 遺伝子（一部） — ポリメラーゼ遺伝子の一部が使用されており、14 kDa のプロテアーゼを発現し、*gag* 前駆体を分解する。

② 目的遺伝子の発現により産生されるのは、FeLV のエンベロープ糖タンパク gp70 と p15E 及びコアタンパク質 p27（メジャーコアタンパク）、p10（ヌクレオプロテイン）、p15C

(コアプロテイン)、p12(インナーコート)である。これらの発現蛋白の機能をみると gp70 は FeLV の型特異抗原性を示し、ウイルス感染に対する防御抗原の機能を持ち、再感染に対する免疫に関与する。p15E は宿主の免疫応答に干渉し、ウイルスの持続感染を促すと考えられる。p27、p10、p15c 及び p12はいずれもウイルス粒子の内殻構造の形成に関与する。p27はウイルス粒子の構築にかかわり、感染細胞の他、血液、涙及び唾液にも検出される。これら発現蛋白はアレルゲンデータベースの検索によりアレルギー性を認めない。また、2000年以降、本組換えワクチンは約700万ドースが使用されており、その間、有害物質が産生されたという報告はない。

③ 目的遺伝子は ALVAC のオープンリーディングフレームの C3、C5部位に挿入した。外来遺伝子を C3、C5部位に挿入することにより感受性細胞である鶏胚線維芽細胞での増殖に影響を及ぼさないことは確認されおり（申請書別紙20）、宿主の持つ代謝系を変化させないと考えられる。

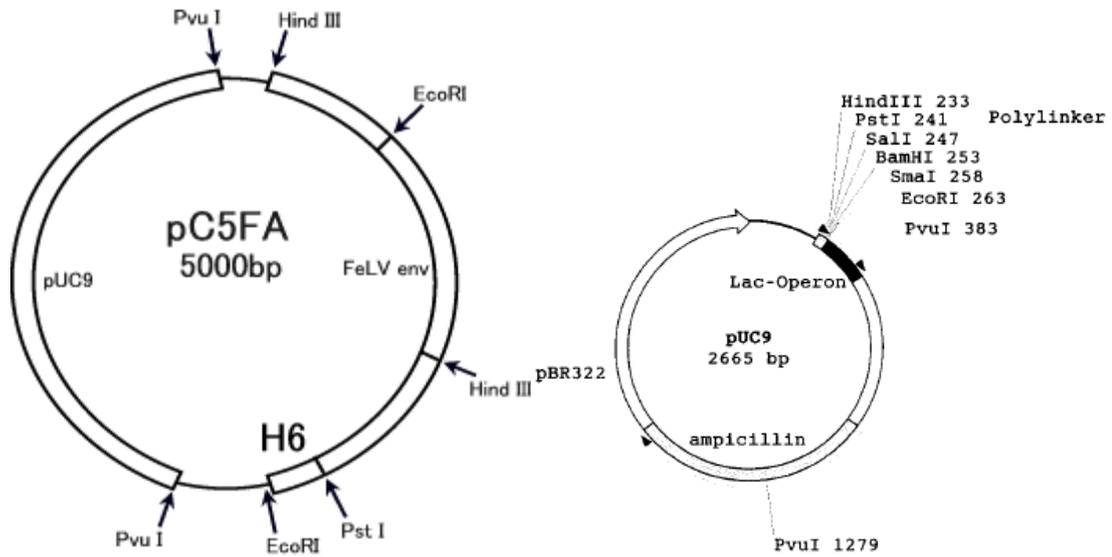
(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

vCP97の作製に用いられたベクターの名称はpC5FA及びpC3DOFGAGVQである。pC5FAは、pRW831にFeLV *env*発現カセットを挿入し作製、pC3DOFGAGVQはpC3IにFeLV *gag/pol*発現カセットを挿入して作製したものである。pRW831はpUC9にALVACのC5部位に挿入するためのフランキング領域を含み、pC3IはpBS-SK (pBluescriptSK+) にALVACのC3部位に挿入するためのフランキング領域を含む。それぞれのフランキング領域の一次配列は申請書別紙22の図1、2においてH6プロモーターの開始位置から挿入遺伝子の終始までの配列を除いた部分である。pUC9及びpBS-SKは大腸菌系のプラスミドベクターであり、これらベクターの塩基配列は申請書別紙19に示されている。pUC9はGenbankアクセスNo.L09128、pBS-SKはStratagene社のWeb siteにおいて公開されている。

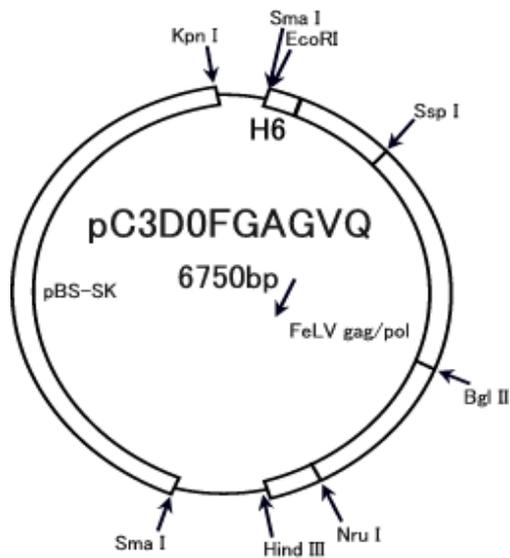
ロ 特性

① pC5FA について



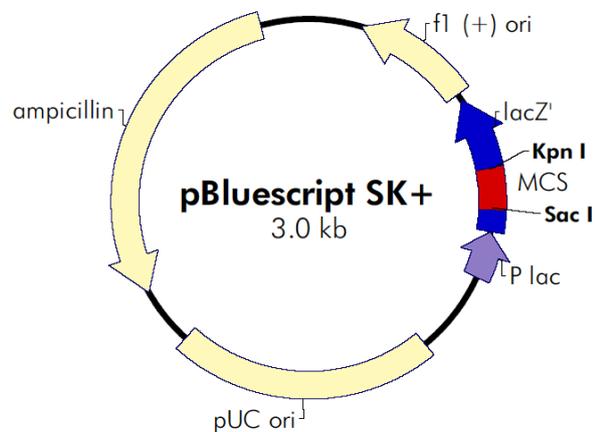
ベクター中の pUC9 についての情報は右図の通りである（申請書別紙19）。

② pC3DOFGAGVQ について



ベクター中の pBS-SK についての情報は以下の通りである（申請書別紙19）。

fl (+) origin 138-444
 β-galactosidase α-fragment 463-816
 multiple cloning site 653-760
 lac promoter 817-938
 pUC origin 1158-1825
 ampicillin resistance (*bla*) ORF 1976-2833

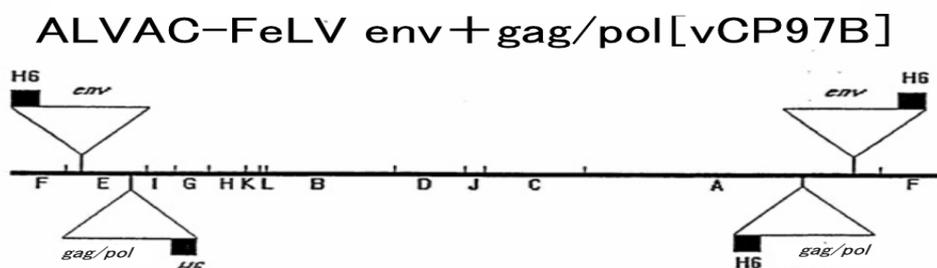


③ ベクターの感染性の有無及び感染性・病原性を有する場合はその宿主域に関する情報：
 pC5FA では pUC9、pC3DOFGAGVQ では pBS-SK で、いずれも大腸菌系のプラスミドベクターが主要な部分を構成していることから、それぞれの伝染性、病原性及び伝達性はそれぞれのプラスミドベクターと相同であると考えられる。pUC9及び pBS-SK は大腸菌 K12株における実験用プラスミドベクターとして汎用されているもので、全遺伝子配列が決定されており、病原性、伝染性は知られておらず、接合伝達性は低い種類として一般的に認識されている。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

ALVAC の3'末端、5'末端の C3、C5部位にそれぞれ *env* 遺伝子、*gag/pol* 遺伝子が挿入された状態を示した（申請書別紙21）。



env 遺伝子の制限酵素切断地図及 *gag/pol* 遺伝子の制限酵素切断地図を申請書別紙19に示した。それぞれの挿入遺伝子の塩基配列については申請書別紙22として添付した。なお、宿主 ALVAC について、目的遺伝子が挿入された C3及び C5部位の塩基配列とアミノ酸配列を示した（回答書別紙3）。また、カナリア痘ウイルスの全塩基配列及びタンパク質の機能については回答書別紙7に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

A. FeLV-*env* 導入ベクター作製

FeLV *env* 遺伝子を3つに分割し、増幅させた後、その3つの核酸を1つのプラスミドに挿入して pH6FA-3 を作製した。さらに、pH6FA-3 と pRW831 を Hind III と EcoRI で消化し、FeLV *env* 遺伝子を ALVAC に挿入するためのベクター pC5FA を作製した（申請書別紙23）。

B. FeLV-*gag/pol* 導入ベクター作製

FeLV *gag/pol* 遺伝子を2つに分割し、増幅させ、その2つの核酸を1つのプラスミドに挿入して pC3FGAG を作製した。そこから再び *gag/pol* 遺伝子を切り出し、終止コドンを加えて pC3FGAGVQ を作製した。pC3FGAGVQ と pC3I を Hind III と EcoRI で消化し、FeLV *gag/pol* 遺伝子を ALVAC に挿入するためのベクター pC3DOFGAGVQ を作製した（申請書別紙23）。目的遺伝子、プロモーターを挿入した発現カセットプラスミドをリン酸カルシウム法で鶏胚線維芽細胞にトランスフェクトするとともに、レスキューウイルス（ALVAC）を感染させ、細胞質内で相同組換えをおこさせることで ALVAC に目的遺伝子を挿入した（申請書別紙23）

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

相同組換えにより作製した vCP97についてプラーク純化を3回繰り返し、クローニングした。60mm dish から徐々にスケールアップし、ローラーボトルで増殖させた組換えウイルスを Stock 183として保存した。同系統の Stock 349をさらにプラーク純化し、徐々にスケールアップ、ローラーボトルで増殖させた組換えウイルスを Stock 477として保存した。そのウイルスをさらにローラーボトルで増殖させ、マスターシードウイルス (MSV) を作製した (申請書別紙23)。

製造においてはシードロットシステムに則って管理され、vCP97は製造用株として、MSV (X) から5代継代した株 (X+5) における製造が規定されている。MSV 及びワーキングシードウイルス (WSV) で実施している検査項目、ならびに MSV から WSV を作出し、原液を製造する工程が規定されている (申請書別紙24)。

(4) 細胞内(宿主体内)に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

目的遺伝子は宿主であるカナリア痘ウイルスのゲノム DNA 内に組み込まれている。挿入場所はゲノム DNA のオープンリーディングフレーム C3 及び C5 領域で、FeLV-A 由来の *env* 遺伝子、*gag* 遺伝子と *pol* 遺伝子の一部及び調節領域としてワクシニアウイルス由来の H6 プロモーターが挿入されている。申請書別紙 22 には、ALVAC ウイルスの遺伝子に目的遺伝子の *env* を挿入した C3 部位及び *gag/pol* 遺伝子を挿入した C5 部位を含む領域の全塩基配列とアミノ酸配列を示している。

このゲノム配列の中で C3 部位は回答書別紙 7 (p355 Table 1 CNPV ORFs) の CNPV 004 Ankyrin repeat protein に相当し、C5 は同様に CNPV 009 Ankyrin repeat protein に相当すると考えられる。これらの Ankyrin repeat protein は供与した FeLV 挿入遺伝子に置き換わることによって破壊されていると考えられる。その他の調べられていない性状に関する影響は不明である。このように、目的遺伝子を宿主の C3、C5 部位に挿入しても感受性細胞である鶏胚線維芽細胞での増殖には影響は認められずに目的遺伝子産物を発現していることから (申請書別紙 25)、目的遺伝子は挿入後も宿主の持つ代謝系を変化させないと考えられる。

また、当社で行った試験で遺伝子挿入前 (ALVAC) と挿入後 (vCP97) の両ウイルス間で水中における生存性 (申請書別紙 31)、浮遊状態における 37°C 及び 60°C における耐熱性試験 (回答書別紙 23) において抵抗性に差が認められなかった。

これらの成績から、目的遺伝子の挿入後も挿入前の宿主の ALVAC と同等であり、FeLV 遺伝子の挿入による性状の変化をきたさないことが確認された。

また、哺乳動物細胞で目的遺伝子産物の gp70、p15E (申請書別紙27) 及び p85、p63の前駆体 (回答書別紙14) が発現されていることから、目的遺伝子は挿入後も宿主の持つ代謝系を変化させないと考えられる。

鶏胚線維芽細胞で 5 代継代における発現の安定性について確認している (申請書別紙 26)。希釈継代においては *env* 遺伝子の発現が *gag* 遺伝子の発現に比べてやや低下したが、これは過酷な実験条件によるものであり、通常の継代条件では十分な安定性を有していると考えら

れる（回答書別紙1）。Vero 細胞及び CRFK 細胞では目的遺伝子の発現を確認し、接種した猫は FeLV の攻撃に対し防御効果を示すことが確認されている（申請書別紙27）。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

組換えウイルスの識別は、Fluorescein-iodothiocyanate (FITC) 標識抗カナリア痘ウイルスモノクローナル抗体と Indocarbocyanine (Cy3) 標識抗 gp70糖タンパク質モノクローナル抗体を用いた免疫蛍光抗体法により行う（申請書別紙28、回答書別紙19）。検出限界は6 TCID₅₀である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 遺伝子組換え微生物と、その調製に利用した宿主又はこれらの属する生物種との特性の違い

増殖様式：カナリア痘ウイルス野生株は鳥類由来細胞において一般的な細胞培養条件（37±1℃、5%CO₂）で増殖する。組換えウイルス vCP97は C3及び C5を欠失させているが、その部分は増殖に関与する部分ではないので野生株と同等の増殖性を示すと考えられ、それが確認されている（申請書別紙25）。

接種猫の体内における vCP97の増殖様式は、接種局所において2日（4日未満）の残存が示唆されたが（回答書別紙9）、体内のウイルス血症及び鼻汁・便への排泄および感受性猫への同居感染性は認められなかった（申請書別紙16）。カナリア痘ウイルスはカナリアおよび一部の鳥類に感受性があり、感染・増殖するが哺乳動物では感染しても増殖せず、感受性がないという特徴（宿主特異性）がある。このように、鳥類及びその培養細胞では感染性ウイルスが複製される増殖性感染（productive infection）の様式であるが、哺乳動物細胞では感染性ウイルスは複製されない不全感染（abortive infection）となり、ウイルス排泄を認めず、同居感染も成立しない。哺乳動物細胞における組換えウイルス vCP97及びカナリア痘ウイルスの不全感染の様式を回答書別紙21及び22に示した（回答書別紙2原図より修正）。本組換え体のウイルス増殖停止段階は、各資料の成績（申請書別紙16、27及び回答書別紙10、14及び回答書別紙26）から要約すると、ウイルス接種後およそ40時間、遺伝子発現ではウイルス構成タンパクをコードする後期遺伝子発現以前と考えられた（回答書別紙30、31、32）。

遺伝的特性：組換えウイルス vCP97は遺伝学的特性としてカナリア痘ウイルスゲノムに FeLV の *env*遺伝子、*gag*遺伝子及び *pol*遺伝子の一部をそれぞれ2コピーずつ持つとともに、ワクシニアウイルス H6プロモーターを4コピー持っている。さらに、上記の遺伝子はカナリア痘ウイルスのオープンリーディングフレーム C3及び C5を欠失させて挿入されているので、組換えウイルスのゲノムにはそれらが存在しない（申請書別紙19及び別紙21）。

接種動物の遺伝子に組み込まれる可能性：ポックスウイルスの生活環（回答書別紙2）では通常の DNA ウイルスの核酸は細胞の核内で複製されるが、ポックスウイルスは例外的に、遺伝子発現、DNA 複製およびウイルス粒子形成が細胞質内で行われる。このようにウイルスゲノムからの転写に宿主細胞の核内の遺伝子複製機構に依存しないことから、ALVAC 及

び組換えウイルス vCP97 は相同組換えによって宿主細胞の遺伝子に組み込まれる可能性はないと考えられる。

病原性:組換えウイルス vCP97及びその宿主 ALVAC は哺乳動物体内で複製できないので、猫における病原性はない。カナリアでは組換えウイルス感染による全身性の発症は認められず、接種局所に一過性の軽度な炎症であることが確認された（申請書別紙8）。

有毒物質の産生性及びにその他の主要な生理学的性質：回答書別紙7のカナリア痘ウイルスの全遺伝子配列から予想される発現蛋白について、アレルギーデータベース（Allergy Database for Food Safety）を用いてアレルギー性について、また、生活関連物質の変異原性データベース（Genotoxicity Database on Chemicals）をもとに変異原性の検索を行ったところ、上記の遺伝子配列から予想される発現蛋白からはアレルギー性及び変異原性の物質は認められなかった。その他の有害物質については検索できなかったが、海外では2000年承認以後本ワクチンの多数の使用例から有害物質が産生されたという報告はないため、ALVAC 及び組換えウイルス vCP97による有害物質産生による影響はないものと推察される。

感染性：組換えウイルス vCP97及びその宿主 ALVAC は哺乳動物のネコに対しては感染するが複製できず（申請書別紙13）感受性はない。組換えウイルス vCP97の接種局所での生残性は、接種後2日（4日未満）であると考えられる（回答書別紙9）。

内在性ウイルスの活性化及び病原性付与の可能性：内在性レトロウイルスとの間で組換えが起こるのは相同性の高い FeLV が考えられる。レトロウイルスの増殖様式は回答書別紙11に示したとおり、プロウイルスの複製が核内で行われ、細胞質において mRNA からタンパク合成が始まる。このように両ウイルスの細胞における増殖部位の違いにより、共感染による遺伝子レベルの組換えの可能性は極めて低いと考えられる。また、内在性 FeLV は *env* 遺伝子と LTR(Long terminal repeat)の一部を欠損しているため、感染性粒子を作ることができない。なお、さらに外来性の FeLV ゲノムとの組換えにより、欠損分が補完されて感染性ウイルスを生産する現象がある。しかし、本組換え vCP97ウイルスは LTR 配列を持たず、欠損部の補完ができないため、感染性 FeLV を作ることが不可能と考えられる。

鳥類においては、回答書別紙 12 及び 13 に示すとおり、一部のレトロウイルスの遺伝子配列が鶏痘ウイルスの遺伝子内で検出される報告がされているが、猫におけるポックスウイルス感染例ではこのような事例はない。これらのことから、猫に内在性するレトロウイルスの遺伝子と間で ALVAC 及び組換えウイルス vCP97 の組換えが起こる可能性は極めて低いと考えられる。

組換えウイルス vCP97 の強毒カナリア痘ウイルスとの共感染による組換えの可能性：カナリアにおいて野生カナリア痘ウイルスと組換え体宿主（ALVAC-Luc）との共感染を実験的に行い、共感染による組換えウイルスが出現する可能性は認められなかった（回答書別紙6）。

猫における強毒カナリア痘ウイルスとの共感染の可能性では猫では野外のカナリア痘ウイルスは感染性ウイルスの増殖がないことから、ALVAC 及び組換えウイルス vCP97 の強毒カ

ナリア痘ウイルスとの共感染による組換えの可能性について、リスクとしては極めて低いと想定されるため、モニタリングの必要性はないと考えられる。

体外への排泄及び同居感染性：ワクチンの規格値の約60倍の高用量のvCP97及びALVACを8週齢の猫に接種したところいずれも接種ウイルスは分離されなかった（申請書別紙13）。また、同居対照猫からも分離されなかった。この試験から、本組換えウイルスvCP97は接種猫から排泄されず、他の猫への伝達が起こらないことが確認された。

自然界での生存能力：組換えウイルスvCP97は自然界での生存能力についてもALVACと同等であると考えられる。つまり、ウイルスは単独で自然界に存在できず、且つ感受性培養細胞が鳥類由来細胞に限られること、アピポックスウイルスの中でも宿主特異性があることから、自然条件下で感受性細胞及び感受性動物と接触し長期に亘って生存する可能性は極めて低い（申請書別紙8）。宿主ALVAC及び組換えウイルスvCP97の22℃蒸留水中における生存性（申請書別紙31）、37℃及び60℃における耐熱性（回答書別紙23）ならびに消毒剤による不活化（申請書別紙32）を比較した場合、本組換えウイルスvCP97は宿主ウイルスALVACと同等であることが確認された。

ロ 遺伝子組換え微生物の宿主との識別を可能とするコロニー形成性、発色性等の特徴なし。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

- ① 運搬及び保管（生活力を有する遺伝子組換え生ワクチンを保有する接種動物の運搬及び保管を含む。）
- ② 薬事法第14条第3項の規定により提出すべき資料のうち臨床試験の試験成績に関する資料の収集を目的とする試験（以下「治験」という。）に該当する場合は、同法第80条の2第2項に基づき届け出る治験計画届出書及び動物用医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年農林水産省令75号）第7条に基づき作成する治験実施計画書に従った使用
- ③ 薬事法第14条第1項に基づく承認申請書に従った使用（④に該当する行為は除く。）
- ④ 接種（食用に供される場合を除く。）
- ⑤ 廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和45年法律第137号）第12条の2に基づき定める感染性産業廃棄物の処理基準に従った接種後の器具及び使用残さの廃棄
- ⑥ ⑤以外の廃棄（生活力を有する遺伝子組換え生ワクチンを保有する接種動物の廃棄に伴う場合を含む。）
- ⑦ ①～⑥に付随する行為

(2) 使用等の方法

—

(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

緊急措置計画書 申請書別紙29参照（業務安全委員会 申請書別紙30参照）。

(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果：特になし。

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えウイルスの宿主 ALVAC は狂犬病ウイルスやウエストナイルウイルスの抗原遺伝子を挿入した組換えワクチンが欧米で既に市販されているが、当該 FeLV 組換えワクチンは2000年4月に EU15カ国で承認されて依頼、その後米国を始め29か国で承認、市販されており（申請書別紙5）、特に問題の発生を疑うような報告はない。

本ワクチンの総供給量はヨーロッパでの承認以降、確認できる供給数量は6,731,860ドーズにのぼり、その総供給量に対して現在までに確認された副作用の報告件数は0.003%である。また、2006年の供給量は組換え FeLV ワクチンを含む製剤は8カ国で約550,000ドーズであり（回答書別紙17）、組換えウイルス vCP97以外の ALVAC を宿主とする4種類のワクチンでも約3、900,000ドーズ供給されている（回答書別紙18）。

野外での使用に際して、感受性動物や組換えを起こす可能性のあるウイルスなど、環境への影響について評価は、ヨーロッパにおける承認の取得要件として調査は設定されていない。カルタヘナ条約施行前の承認であるが、カルタヘナ条約施行後においても追加措置等についての対応は要求されていない。文献検索上、本組換えワクチンの使用に伴って生物多様性について影響を及ぼしたと考えられるような報告はない。

(7) 接種動物の体内における挙動に関する情報

① 接種動物の体内における遺伝子組換え生ワクチンの消長に関する情報

接種動物のイエネコ (*Felis catus*) における接種局所の残留期間は、組織反応の強いオイルアジュバント添加時には7日(14日未満)、反応の少ない水性アジュバントの場合2日(4日未満)であった。申請対象製剤はアジュバントを含まないため、2日程度と考えられる。また、接種した猫の体内ではウイルス血症による拡散は起こらない（申請書別紙16）。

② 接種動物体及び接種動物の排泄物、血液・体液等からの遺伝子組換えワクチンの環境への拡散の有無に関する情報

本組換え生ワクチンはネコでの実験感染において、組換えウイルスの増殖、ウイルス血症及び唾液、尿、便への排泄は認められないことから、環境への拡散の可能性はないと考えられる（申請書別紙16）。

③ 接種動物において当該遺伝子組換え生ワクチンが垂直感染の可能性の有無に関する情報

本組換え生ワクチンはネコでの実験感染において、組換えウイルスの増殖、ウイルス血症及び排泄は認められないことから、胎児への垂直伝播の可能性はないと考えられる（申請書別紙16）。

④ 野生動植物への伝播の可能性の有無に関する情報

本組換え生ワクチンは、接種ネコにおいて増殖及び排泄は認められないため、環境中への拡散の可能性は極めて低く、野生動植物への伝播の可能性はないと考えられる（申請書別紙16）。

⑤ その他必要な情報

—

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

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）

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主 ALVAC はカナリア痘感染症ワクチン株に由来するもので、市販以来多数のカナリアに接種されその安全性が確認されている。実験的にもカナリアに経皮接種した場合、接種部位における軽微な炎症反応のみで病原性を示さない（申請書別紙 10）。

当該組換えウイルスのイヌ、ネコ、ニワトリ胚由来細胞における増殖性、有害物質の産生性、その他の主要な生理学的性質については宿主である ALVAC と同等である。ALVAC は、哺乳動物の細胞内では感染はするが、初期段階で複製は停止し、感染性ウイルス粒子が産生されない不全感染様式をとるため、環境中への拡散は極めて低い。

野生ネコ科動物についての試験報告はないが、ネコにおける実験感染において組換えウイルス vCP97 はネコでの増殖、ウイルス血症および排泄はされず、同居ネコに対する伝播も認められなかった。これは哺乳動物がカナリア痘ウイルスに対する宿主動物でないため、感染性ウイルスが複製されないことによる。

これらから本組換えウイルス vCP97 は、ワクチン接種されたネコが、野生ネコ科動物及び鳥類と接触しても感染、拡散の可能性はないと考えられる。

また、当該組換えウイルスのカナリアにおける強毒カナリア痘ウイルスとの共感染による組換えの可能性は、野生カナリア痘ウイルスと当該組換えウイルスとの共感染の実験を行い、5代継代して当該組換えウイルスの変化を観察したが、組換えウイルスは継代とともに消失し、かつ野生カナリア痘ウイルスも検出されないことから、可能性はないと考えられる。

ネコにおいては野生カナリア痘ウイルスは増殖しないことから、ネコの体内における当該組換えウイルスの強毒カナリア痘ウイルスとの共感染の可能性はない。

さらに、ネコにおける内在性 FeLV と当該組換えウイルスとの共感染による組換えの可能性は、本組換えウイルスが LTR 配列を持たず、LTR の一部が欠損している内在性 FeLV を補完できないため増殖性を有する FeLV を作ることができず、組換えが起きる可能性はない。

ネコにおける内在性レトロウイルスと当該組換えウイルスとの共感染による組換えの可能性は、両ウイルスの細胞内における増殖部位の違いから極めて低い。

以上から、当該組換えウイルスは増殖性有害物質の産生性において、宿主の ALVAC と同等であり、環境中への拡散の可能性及び新たな組換えウイルスの出現の可能性もないことから、他の微生物を減少させる性質に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無

以上から、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、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じるおそれはないと判断した。

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）

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

当該組換えウイルスが感染し、それらが野生動植物に病原性を示すと考えられる野生動物等の範囲は、鳥類（カナリア、スズメ類（イエスズメ、ミヤマシトド）、鳩、鶏、七面鳥）及び野生ネコ科動物（イリオモテヤマネコ、ツシマヤマネコ）である。野生鳥類等ではカナリア及び上記の一部の鳥類において感染すると想定されるが、ワクチン株由来であり、病原性を示さず、また拡散した報告もないことが確認されている。野生ネコ科動物については、哺乳動物がカナリア痘ウイルスに対する宿主動物でないことから、実験的にも増殖と排泄はされず、同居猫に対する伝播も起こらないことが確認されている。

以上から、当該組換えウイルスが感染すると想定される野生動物は存在するが、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、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じるおそれはないと判断した。

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）

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

組換えウイルス vCP97はカナリア痘ウイルス弱毒株である ALVAC のオープンリーディングフレームである C3及び C5領域に FeLV の遺伝子を挿入したものであり、FeLV 遺伝子の挿入により組換えウイルスの増殖性や蛋白発現に影響を及ぼさないことが確認された。また、公表されたデータに関して、カナリア痘ウイルスの全遺伝子配列から予想される発現蛋白について、アレルゲンデータベース及び生活関連物質の変異原性データベース

を用いてアレルギー性及び変異原性の検索を行ったところ、予想される発現蛋白はアレルギー性及び発がん性は認められていない。また、本組換え vCP97 ワクチンは、既に海外では承認後2006年までに約700万ドーズ使用されており、本ワクチンによる有害物質が産生されたという報告はないため、有害物質産生による影響はないものと推察される。

以上から、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等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、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じるおそれはないと判断した。

4 核酸を水平伝達する性質（法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動植物に伝達する性質）

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

組換えウイルス vCP97はポックスウイルスの特性として他の動物種や鳥類に病原性を示さない宿主特異性を有していると考えられる。この生物学的特性から、自然界において野生株と組換えウイルスの核酸相同組換えが起きると想定されるのは、カナリア痘ウイルス野生株と組換えウイルスが同時にカナリアや感受性のある一部のスズメに共感染する場合の組換えのリスクである。この点について、カナリアにおける強毒カナリア痘ウイルスとの実験感染において共感染が起きないこと、及びわが国では40年以上カナリア痘の野外発生がないことなどから組換えの起こるリスクはないものと考えられる。

以上から、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等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無

以上から、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に関して起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

- 5 その他の性質（生態系の基盤を変化させることを通じて間接的に野生動植物等に影響を与える性質等生物多様性影響評価を行うことが適切であると考えられるもの）

上記の他に、本組換えウイルスに関して生物多様性影響の評価を行うことが適切であると考えられる性質はないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

他の微生物を減少させる性質については、当該組換えウイルスのイヌ、ネコ、ニワトリ胚由来細胞における増殖性、有害物質の産生性、その他の主要な生理学的性質については宿主である ALVAC と同等である。宿主 ALVAC は、市販以来多数のカナリアに接種されその安全性が確認されている。本組換えウイルス vCP97は、ワクチン接種されたネコが、野生ネコ科動物及び鳥類と接触しても感染、拡散の可能性はないと考えられる。

当該組換えウイルスのカナリアにおける強毒カナリア痘ウイルスとの共感染による組換えの可能性及びネコの体内における当該組換えウイルスの強毒カナリア痘ウイルスとの共感染の可能性はなく、さらに、ネコにおける内在性 FeLV と当該組換えウイルスとの共感染による組換えの可能性及びネコにおける内在性レトロウイルスと当該組換えウイルスとの共感染による組換えの可能性は極めて低く、新たな組換えウイルスの出現の可能性もないと考えられる。

以上から、競合、有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられることから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

病原性については、野生鳥類等ではカナリア及び上記の一部の鳥類において感染すると想定されるが、当該組換えウイルスはカナリア痘感染症ワクチン株由来であり病原性がないことが確認されている。また、野生ネコ科動物については、実験的に感染性ウイルスの複製が起こらないことを確認していること等から、当該組換えウイルスが感染すると想定される野生動物は存在するが、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

有害物質の産生性については、宿主遺伝子の C3及び C5領域に FeLV 遺伝子の挿入によりカナリア痘ウイルスの増殖性に影響を及ぼさないこと、及び公表された有害物質の検索から第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

核酸を水平伝達する性質についてはカナリアにおける強毒カナリア痘ウイルスとの実験感染において共感染による組換えが起こらないこと、及びわが国では40年以上カナリア痘の野外発生がないこと、猫では宿主及び組換えの両ウイルスとも増殖しないことなどから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

以上を総合的に評価し、当該遺伝子組換えウイルスを第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

引用文献リスト

- 1 FeLV の遺伝子構成 (Stewart et al, J.Virol, 58:825-834, 1968) (申請書別紙17)
- 2 カナリアポックスウイルスをベースとした組換え体 ALVAC-FL をワクチン接種した猫における猫白血病ウイルスに対する防御 (Tartaglia et al, J.Virol, 67:2370-2375, 1993) (申請書別紙27)
- 3 畑中正一 (1997) ウイルス学、ポックスウイルス、朝倉書店、東京 (回答書別紙 2)
- 4 The Genome of Canarypox Virus (J Virol, Jan, 78(1) p353-366, 2004) (回答書別紙 7)
- 5 クロアチアにおける鶏、七面鳥及び鳩からの鶏痘ウイルスの分離と分子生物学的研究 (Avian disease 440-444, 2006) (回答書別紙 13)
- 6 大里外誉郎 (1992) 医科ウイルス学、LD₅₀と TCID₅₀、南江堂、東京 (回答書別紙 20)
- 7 樹状細胞のカナリア痘ウイルスによる成熟は細胞のアポトーシス死滅と TNF (腫瘍細胞壊死因子) - α の分泌に調節される。(J Virol, Dec, 74(3) p11329-11338, 2000) (回答書別紙 24)
- 8 カナリア痘-狂犬病組換えワクチン、ALVAC-RG(vCP65)の非鳥類における生物学的、免疫学的研究 (Vaccine, 13(6) p539-549, 1995) (回答書別紙 26)
- 9 ウエストナイルウイルス prM/E 遺伝子を挿入した組換えカナリア痘ウイルスの馬におけるウエストナイルウイルス-蚊攻撃の防御 (ArchVirol Suppl, 18, p221-230, 2004) (回答書別紙 27)
- 10 組換えニパウイルスワクチンは豚の攻撃を防御する。(J. Virol, Aug, 80(16) p7929-7938, 2006) (回答書別紙 28)
- 11 HIV-1MNGp120、HIV_{SF2}組換え gp120又は両ワクチンを接種された抗体陰性の人におけるカナリア痘によって産生された人免疫不全ウイルス1型に対する免疫応答(J.Inf Disease, 177 p1230-1246, 1998) (回答書別紙 29)

別紙・参考資料

個人情報及び社外秘情報につき非公開

緊急措置計画書

平成 17 年 8 月 6 日

氏名 メリアル・ジャパン株式会社
代表取締役 ミシェル・ラショセ
住所 東京都千代田区 2 丁目 14 番 2 号
山王グランドビル 8 階

第一種使用規程の承認を申請している猫白血病ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス ALVAC (vCP97 株) (FeLV-*env,gag,pol*,Canarypox virus) の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合に当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者
実施体制 (実施体制フロー図を別添として添付)
実施責任者 (メリアル・ジャパン株式会社)
個人名は個人情報につき非開示

実施責任者はフランス国で生産されて日本に輸出される本猫白血病ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス ALVAC (vCP97 株) (FeLV-*env,gag,pol*,Canarypox virus) (以下、本組換え微生物という) が生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合には、フランス国の本組換え微生物開発法人 (以下、開発法人という) に連絡するとともに、日本国内業務安全委員会に報告し、同業務安全委員会は緊急措置対応のための所内体制及び連絡窓口を通じて、実施責任者とともに緊急措置を講じる。

- 2 申請に係る第一種使用等の状況の把握の方法
 - (1) フランス国の開発法人から日本向けに輸出する本組換え微生物の製造状況、輸出業者等の情報提供を依頼するとともに、本組換え微生物の治験実施機関、又は販売先の使用者、国内販売代理店等に関する情報を把握し、その情報を整理して記録する。
 - (2) さらに、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合には、(1) により把握している販売先、販売実績のある販売代理店等に対して、販売先の情報提供を依頼し、本組換え微生物を保有している者の把握に努め、得られた情報を整理し記録する。

- 3 申請に係る第一種使用等をしている者に具体的な内容を周知するための方法
フランス国の開発法人へ本組換え微生物が日本において生物多様性影響を生じるおそれがあると認められたことを連絡する。また、フランス国の開発法人のホームページにおいても、本件についてのお知らせを掲載するとともに、問い合わせ専用窓口を設置することを協議する。

日本国内においては、新聞に本件についてのお知らせのための記事を掲載するとともに、2 で把握した関係者に対して、電話や文書などにより連絡を取る。また、当社のホームページにおいても、本件についてのお知らせを掲載するとともに、問い合わせ専用窓口を設置する。

4 申請に係る遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容

- (1) フランス国の開発法人に対し、日本向けの輸出の自粛及び日本向けの輸出業者等への販売を自粛してもらうよう要請する。
- (2) 日本国内において治験に使用されている場合は、本組換え微生物を含む使用残の被験薬を治験実施機関より当社へ速やかに回収し、高圧滅菌等の不活化措置を実施する。
- (3) 日本国内において販売流通されている場合には、本組換え微生物の販売中止及び回収を行い、回収した本組換え微生物は密閉容器に保管の上、高圧滅菌等の不活化措置を実施する。
- (4) 本組換え微生物がワクチンとして使用されている場合は、獣医関係者に対して、密閉容器に保管の上、高圧滅菌等の不活化措置を要請する。
- (5) 本組換え微生物を接種された動物の体内に生存していることが明らかな場合には、当該動物の隔離又は安楽死等の措置を実施することを関係者に要請する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への速やかな連絡体制

生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、速やかに、農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。

6 その他必要な事項

別添 実施体制

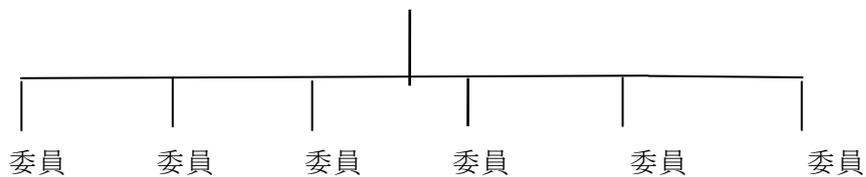
・ 業務安全委員会

・

委員長	メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部長
委員	日本全薬工業株式会社 中央研究所所長
委員	メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部
委員	メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部
委員	日本全薬工業株式会社 中央研究所
委員	日本全薬工業株式会社 中央研究所
委員	日本全薬工業株式会社 開発部

・ 実施体制図

業務安全委員会委員長



	氏名	職名
委員長		メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部長
委員		日本全薬工業株式会社 中央研究所所長
委員		メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部
委員		メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部
委員		日本全薬工業株式会社 中央研究所
委員		日本全薬工業株式会社 中央研究所
委員		日本全薬工業株式会社 開発部

