

学識経験者意見

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に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等に係る第一種使用規程について、これに従って当該遺伝子組換え生物等を使用した際の生物多様性影響について、専門の学識経験者により検討が行われました。とりまとめられた意見は別紙のとおりです。

名称：*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株（ポールバック *E.coli*）(*Escherichia coli*)

(別紙)

薬事・食品衛生審議会薬事分科会生物由来技術部会及び同部会動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会での検討の結果

(1) 第一種使用規程の概要

名称：*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株（ポールバック *E. coli*）
（*Escherichia coli*）

遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容：

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。）

薬事法（昭和35年法律第145号）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「試験」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年農林水産省令第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

薬事法第14条第1項に基づく承認申請書に従った使用（に該当する行為は除く。）

接種（鶏への接種）

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

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を伴う場合を含む。）

～ に付随する行為

申請者：ゾエティス・ジャパン株式会社

(2) 生物多様性影響評価の結果について

検討の結果、以下の各項目についての申請者による生物多様性影響評価の結果は妥当であると判断した。

ア 他の微生物を減少させる性質

*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は、宿主大腸菌EC34195株と異なり、細菌では生合成可能な芳香族アミノ酸やPABAといった必須の栄養素を自ら生合成できず、動物体内及び環境中で増殖できず、また、一定の期間しか生存できない。したがって、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株の競合能力は、宿主大腸菌EC34195株と比べて低い。

*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株の親株である宿主大腸菌EC34195株は、微生物に対して殺傷能力を持つコリシンを産生する。操作した*aroA*遺伝子はコリシン産生とは直接

的な関連がないため、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株も宿主同様のコリシン産生性を有すると考えられる。しかし、*aroA*遺伝子欠損大腸菌EC34195株は動物体内及び環境中において増殖せず、生存期間が限定されているため、コリシンの産生量及び期間は宿主大腸菌EC34195株よりも限定され、微生物群への影響は、宿主大腸菌EC34195株と比べて低い。以上から、他の微生物を減少させる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なかった。

また、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ものと判断した。

イ 病原性

鶏大腸菌の宿主域は極めて広く、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株において欠損させた*aroA*遺伝子は、大腸菌が動物の体内で付着及び侵入するための機能とは関連がないことを考慮すると、野生動物、とりわけ鳥類に感染する可能性は否定できない。しかし、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は宿主大腸菌EC34195株とは異なり芳香族アミノ酸及びPABA要求性であることから、これらの栄養素が生合成されていない動物体内では増殖せず、生存期間は限定され、長期保菌され新たな感染源となる可能性は低い。このことは、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株を接種した鶏と接種していない鶏を同居させた場合に、経時的に同居感染がおこりにくくなることから確認できる。以上のことから、野生動物に感染したとしても、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株の伝播は、一過的で空間的な広がりも限定的なものになると考えられ、宿主大腸菌EC34195株と比べて伝播力は低いと考えられる。

病原性については、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は、鶏に散霧又は点眼接種した場合、鶏大腸菌症を発症する可能性が生じる心臓及び肝臓に感染するが、宿主大腸菌EC34195株とは異なり、これらの器官から遅くとも接種後7日で消失し、当該菌株の感染に起因する臨床症状を示さず、感染組織に病変を形成しなかった。モロッコで実施された多施設臨床試験において、ポールバック *E. coli*の接種に起因する有害事象は認められていないことから、室内実験と比べて鶏大腸菌症を発症しやすい野外環境下においても鶏に対して病原性を示さないことが確認されている。また、非適用対象動物であるマウス及び豚に接種した場合も病原性を示さず、ポールバック *E. coli*が供給されている各国において、鶏及びその他の動物に関して本剤の使用に起因した有害事象は報告されていない。以上を考慮すると、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株の病原性は、宿主大腸菌EC34195株と比べて低いと考えられる。

また、*aroA*遺伝子欠損大腸菌EC34195株の栄養要求性から、ヒトの体内において長期保菌される可能性は低いこと、ポールバック *E. coli*が供給されている各国においてヒトに対する有害事象が報告されていないこと等より、ヒトへの暴露により安全上の懸念が生じる可能性も低い。

以上のことから、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なかった。

また、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じるおそれはないものと判断した。

ウ 有害物質の産生性

*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は、操作した*aroA*遺伝子が内毒素及び外毒素の産生に関連していないことから、宿主大腸菌EC34195株と同様に内毒素及び外毒素であるコリシンを産生する。しかし、*aroA*遺伝子を欠損させたことにより増殖せず、生体内及び環境中で一定期間しか生存できないため、これらの有害物質が産生される量及び期間は宿主大腸菌EC34195株よりも限定されている。また、供与核酸は機能を有するタンパク質を発現しない。したがって、有害物質の産生性は宿主大腸菌EC34195株と比べて低下している。

以上のことから、有害物質の産生性によっ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。

また、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が生じるおそれはないものと判断した。

エ 核酸を水平伝達する性質

大腸菌は鳥類及び哺乳類に属する野生動物に感染する。しかし、大腸菌の核酸が鳥類及び哺乳類の核酸に組み込まれたという報告はない。また、主にヒトの遺伝子を対象とした系統解析からも細菌の核酸が脊椎動物の核酸に組み込まれる可能性は支持されていない。

また、微生物同士の核酸の水平伝播について大腸菌は、接合、形質転換及び形質導入によって核酸を水平伝達する性質を持つ。*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は*aroA*遺伝子を欠損させたことにより増殖せず、一定期間しか生存できないため、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株が核酸を水平伝達する機会は宿主大腸菌と比べて低下している。また、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株が消失するまでの期間、供与核酸が安定的に*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株に配置されていることも確認している。したがって、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株から供与核酸が水平伝達する可能性は低い。これに加えて、供与核酸はプラスミドではなく染色体上に位置し、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株の作出過程でトランスポゾンを使用していないことから、接合によって供与核酸が水平伝達する可能性はさらに低い。さらに、仮に供与核酸が水平伝達することがあったとしても、供与核酸から機能を有するタンパク質は発現しない。以上のことから、核酸を水平伝達する性質によって影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

また、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起因する生物多様性影響が生じるおそれはないものと判断した。

オ その他の性質

上記の他に、当該組換え大腸菌に関して生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる性質はないと判断された。

(3) 生物多様性影響評価書を踏まえた総合的評価及び結論

検討の結果、申請者による以下の総合的評価及び結論は、妥当であると判断した。

他の微生物を減少させる性質については、*aroA*遺伝子欠損鶏大腸菌EC34195株は宿主大

腸菌EC34195株と比べて他の微生物との競合能力が低く、コリシンの産生量及び期間が限られていることから、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ものと判断した。

病原性については、*aroA* 遺伝子欠損鶏大腸菌 EC34195 株の伝播力及び病原性は宿主大腸菌 EC34195 株と比べて低いことから、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ものと判断した。

有害物質の産生性については、*aroA* 遺伝子欠損鶏大腸菌 EC34195 株の有害物質の産生性は宿主大腸菌 EC34195 株と比べて低下していること、*aroA* 欠損遺伝子から機能のあるタンパク質が発現しないことから、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ものと判断した。

核酸を水平伝達する性質については、供与核酸が感染動物の染色体に組み込まれる可能性が低いこと、*aroA* 遺伝子欠損鶏大腸菌 EC34195 株が他の微生物に核酸を水平伝達する機会は宿主大腸菌 EC34195 株と比べて低下していること、供与核酸から機能のあるタンパク質が発現しないこと等から、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起因する生物多様性影響が生じるおそれはないものと判断した。

以上を総合的に評価し、当該遺伝子組換え微生物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じるおそれはないものと判断した。

意見を聞いた学識経験者

(五十音順)

氏名	現職	専門分野
おおの やすお 大野 泰雄	公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団 理事長	薬理学・薬物 代謝
おかだ のぶひこ 岡田 信彦	北里大学薬学部教授	獣医学・薬学・微生物学・食品微生物学
おかの ひでゆき 岡野 栄之	慶應義塾大学医学部生理学教室教授	神経生物学・ 幹細胞(基礎)
おぐら あつお 小倉 淳郎	独立行政法人理化学研究所 バイオリソースセンター遺伝工学基盤技術室長	獣医学・解剖学・発生工学
かんだ ただひと 神田 忠仁	独立行政法人理化学研究所 新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター業務展開チーム・チームリーダー	ウイルス学・分子生物学
きむら ようこ 木村 洋子	国立大学法人静岡大学 大学院農学研究科 応用生物化学専攻教授	細胞生物学・ 分子生物学
ごか こういち 五箇 公一	独立行政法人国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター主席研究員	昆虫生態学
さいとう いずむ 斎藤 泉	国立大学法人東京大学 医科学研究所 遺伝子解析施設教授	医学・ウイルス学
しおた くにお 塩田 邦郎	国立大学法人東京大学 大学院農学生命科学研究科 教授	獣医学・生理学・ 細胞生化学
しまだ とおる 嶋田 透	国立大学法人東京大学 大学院農学生命科学研究科 教授	昆虫遺伝学
しまだ たかし 島田 隆	日本医科大学特任教授	生化学・遺伝子 治療
しもし よしひろ 下地 善弘	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 細菌・寄生虫研究領域 領域長補佐	獣医病原細菌学
すずき くにひこ 鈴木 邦彦	公益社団法人日本医師会常任理事	医学・内科学 (消化器)
たに けんざぶろう 谷 憲三郎	国立大学法人九州大学生体防御医学研究所 ゲノム機能制御学部門ゲノム病態学分野教授	血液腫瘍内科学・遺伝子治療学・腫瘍免疫学
つだ ともゆき 津田 知幸	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 所長	獣医学・ウイルス学・感染症学
てしま れいこ 手島 玲子	国立医薬品食品衛生研究所 食品部長	薬学・免疫学

氏名	現職	専門分野
なかじま としあき 中島 敏明	国立大学法人筑波大学 生命環境系教授	環境微生物学
にいみ しんご 新見 伸吾	国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 部長	薬学・薬物学・ 生物薬品化学
またの てつろう 俣野 哲朗	国立感染症研究所 エイズ研究センター長	医学・ウイルス学
もりかわ ゆうこ 森川 裕子	北里大学北里生命科学研究所 ウイルス感染制御学研究室2 教授	獣医学・ウイルス学・分子生物学
よこた やすこ 横田 恭子	東京工科大学医療保健学部 臨床検査学科 教授	感染免疫学・ウイルス学