

様式第1（第7条関係）

第一種使用規程承認申請書

令和 3年 7月 21日

厚生労働大臣 殿

環境大臣 殿

氏名 公益財団法人がん研究会 有明病院

申請者 院長 佐野 武 (印)

住所 東京都江東区有明 3-8-31

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（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	SLAM blind 変異導入麻疹ウイルス (rMV-SLAMblind)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	ヒトの遺伝子治療を目的とした投与、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為。
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>本遺伝子組換え生物等の原液の保管</p> <p>(1) 本遺伝子組換え生物等の原液は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、治療施設内の適切に管理された冷凍庫において保管する。</p> <p>本遺伝子組換え生物等の投与</p> <p>(2) 本遺伝子組換え生物等の原液の注入機器への充填は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内で、エアロゾルの飛散を最小限に留める方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を防止する。</p> <p>運搬</p> <p>(3) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、漏出させない措置を執って行う。</p> <p>患者への投与</p> <p>(4) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の腫瘍内に直接注入することにより行う。投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。</p> <p>投与後の患者からの排出等の管理</p> <p>(5) 投与後、患者の投与部位を消毒し、投与部位から排出される本遺伝</p>

子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。

(6) 投与を受けた患者を他の区画と明確に区別された個室に入室させ、投与後排出等の管理が不要となるまでの期間、当該患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるとともに、伝播リスクを低減化するための管理（以下「個室管理」という。）を行う。個室管理解除後に患者から本遺伝子組換え生物等の排出が認められた場合は、再度個室管理を行う。

(7) 個室管理の期間中、患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるよう当該患者に適切な指導を行う。

(8) 個室管理の期間中に患者がやむを得ず一時的に個室外に出る場合は、当該患者からの本遺伝子組換え生物等の排出が最小限となるよう対策を講じるとともに、第三者との不要な接触を避けるよう当該患者に適切な指導を行う。

(9) 投与を受けた患者が個室管理の期間中に当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された患者であることが情報提供されるよう、当該患者に適切な指導を行う。

(10) 投与された本遺伝子組換え生物等の排出等の挙動が明らかになるまで、血液、尿、唾液等について、本遺伝子組換え生物等の排出等の検査を経時的に実施する。

(11) 遺伝子組換え生物等の予期しない増殖又は伝播が疑われた場合には、血液、体液、分泌物又は排泄物等に対する本遺伝子組換え生物等の有無を確認するために必要な検査を行う。

患者検体の取扱い

(12) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設及びその他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規程に従って取り扱う。

(13) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、本遺伝子組換え生物等が漏出しない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された患者の検体である旨を情報提供して行う。検体は検査機関の規程に従って取り扱う。

(14) 検体の廃棄は、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）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従って行う。

(15) 検査機関での検体の検査は、他と区別された検査室内でエアロゾル

の飛散を防止する方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留めて行う。

感染性廃棄物等の処理

(16) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。

(17) 本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあつては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。

生物多様性影響評価書

I 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

① 分類学上の位置・学名

麻疹ウイルス (measles virus) (以下「MV」という。) はヒトの麻疹の原因ウイルスで、一本鎖マイナス鎖RNAをウイルスゲノムにもち (モノネガウイルス目) パラミクソウイルス科・モービリウイルス属に属する。

② 宿主の株名

SLAMblind変異導入MV (rMV-SLAMblind、以下「本遺伝子組換え生物等」という。) は野外株HL株を宿主とした。

③ 自然環境における分布状況

麻疹は弱毒生ワクチンの接種による感染防御が有効であり、1960年代から導入された世界的なワクチンプログラムによって劇的な減少を示している (2000年から2013年で死亡者75%減少)。自然感染動物はヒト及び霊長類であり、ヒトではWHOの排除計画の対象とされている。日本においては2015年にWHOが麻疹排除状態であると認定した (参考情報1)。一方、発展途上国ではワクチン接種率の低さから未だに野外株の流行が起きており (参考情報2)、感染によって引き起こされる免疫抑制による二次感染のため、アフリカやアジアを中心に現在でも年間10万人以上 (主に小児) が死亡している。

MVは系統樹解析で8つ (A~H) の分岐群に分類され、流行年や地域ごとに流行の特色がある (参考情報3)。

宿主MV-HL株は、B95a細胞 (マーモセットBリンパ球由来細胞株) を用いて、1988年に日本の麻疹患者の末梢血リンパ球から分離された野外株である (参考文献1)。HL株はD分岐群に属する。D分岐群は世界中 (南北アメリカ、アジア、アフリカ、ヨーロッパ、オセアニア) で分離された野外株を含む。

2 使用等の歴史及び現状

産業利用の実績はない。

3 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

① ウイルスの構造 (ゲノム、粒子)

MV-HL株は15,894塩基の一本鎖マイナス鎖RNAをゲノムとして有する (GenBank accession number: LC336599.1)。ウイルスゲノムはnucleo (N) タンパク質にコートされてヌクレオカプシド構造をとる。large (L) タンパク質とphospho (P) タンパク質複合体で構成されるRNA依存RNAポリメラーゼ (RdRp) がヌクレオカプシドに結合し、リボヌクレオタンパク質複合体 (RNP) を形成する。

RNPは直径100-300nmのエンベロープに包まれており、エンベロープの外側には受容体への結合を担うhemagglutinin (H) タンパク質と細胞膜への融合を誘導するfusion (F) タンパク質が突き出し、それらをエンベロープの内側からmatrix (M) タンパク質が裏打ちすることでウイルス粒子が形成されている (別紙1図1)。

② ウイルスゲノムの構造とウイルスタンパク質の機能

ウイルスゲノム上には、N-P-M-F-H-Lの順でウイルス遺伝子が配列する (別紙1図2)。細胞に感染後、細胞質にRNPが放出され、RdRpがヌクレオカプシド内のゲノムRNAを鋳型として各遺伝子を転写し、生じたmRNAから細胞の翻訳系によって各ウイルスタンパク質が合成される。さらにRdRpはゲノムRNA全長およびアンチゲノムRNAを合成する。これらは合成の進行と共に直ちにNタンパク質によってコートされヌクレオカプシドを形成する (別紙1図3)。パラミクソウイルス科のウイルス共通の特徴として、P遺伝子からはPタンパク質に加えV、C 2種の非必須アクセサリタンパク質が産生される。

③ 感受性動物、感染経路及び感染様式

MV野外株 (HL株を含む。以下同) では、自然環境下ではヒトで増殖を伴う感染が起こる (参考文献2)。飛沫および飛沫核によって感染し、垂直感染の報告はない (参考文献3)。

サルについては、動物実験において、旧世界ザル (狭鼻猿類) のアカゲザルやカニクイザルへ静脈、経鼻、皮下接種することで感染・増殖し、ヒトの麻疹同様の症状を呈するが、症状の程度はヒトよりも軽度である (参考文献1, 4)。新世界ザル (広鼻猿類) のマーモセットでも実験下での感染例はあるが、ヒトの麻疹の特徴と異なる点が多い (参考文献5)。

サルに係る疫学調査では、ヒトの生活圏から隔離したエリアに生息するサルはMV抗体陰性であるが (参考文献6)、捕獲された群内での感染報告 (参考文献6) や、実験動物のサルのコロニー内でMV抗体陽性のサルが複数検出される例が知られており、ヒトとの接触によってMVが伝染すると考えられている。

その他の野生動物への感染例は知られていない。

MV野外株のレセプターは2種同定されており、リンパ系細胞レセプターSLAM (signaling lymphocyte activation molecule) (参考文献7) 及び極性上皮細胞レセプターPVRL4 (poliovirus receptor-like 4) (参考文献8) である。共にウイルス膜表面のHタンパク質と結合する (参考文献9, 10)。SLAMは生体内の胸腺細胞、活性化リ

ンパ球、成熟樹状細胞、活性化マクロファージの表面に発現し、PVRL4はヒトでは気道上皮や胎盤での発現が確認されている。他の正常細胞では発現しない（参考文献11, 12）。またPVRL4は多くの腫瘍組織で発現の上昇がみられる分子の一つである。

MV-Hタンパク質高次構造上の各レセプター結合領域は同定されており、SLAMのVドメイン及びPVRL4のVドメインと相互作用する（別紙2-1, 2-2・参考文献13, 14）。

（2） 生育又は生育可能な環境の条件

増殖可能な環境条件

MV野外株は、SLAMまたはPVRL4を発現する細胞に感染し、増殖して細胞融合を引き起こす。

（3） 捕食性又は寄生性

-

（4） 繁殖又は増殖の様式

① 生存能力又は増殖能力

「体内動態」

MV野外株は、飛沫によって個体の気道に侵入した後、気道上の樹状細胞やマクロファージへSLAMを介して感染する。感染した樹状細胞がリンパ節へ移動することでリンパ系細胞へ感染・増殖し、ウイルス血症によって全身に感染が拡大する。その後、極性気道上皮細胞の細胞間密着結合構造に発現するPVRL4を介して気道上皮細胞へ感染し、増殖したウイルス粒子が上部気道から管腔側へ放出され、再び飛沫感染により次の個体へ伝播する（別紙2-3・参考文献15, 16）。体内でのウイルス増殖期では、発熱や咳などに加え、発疹や舌のコプリック斑など特徴的な症状を呈す。最終的に個体の免疫系の働きによりウイルスは排除される。ごく稀に、乳幼児期に麻疹に感染した患者で7-10年後に致死性の亜急性硬化性汎脳炎を起こす事が知られており（10万人に1人の割合）、脳内での持続感染のためと考えられている。感染個体の病理組織所見では、細胞融合による多核巨細胞と封入体が観察される。

「感染・増殖の様式」

細胞への感染は、まずウイルス粒子上のHタンパク質とレセプターが結合後にウイルスエンベロープと細胞膜がFタンパク質の活性により融合し、RNPが細胞質へ放出される。その後RdRpによってウイルス遺伝子の転写およびウイルスゲノムの複製が細胞質内で行われ、合成された各タンパク質とヌクレオカプシドが細胞膜上でパッケージングされ、出芽して次の細胞へ感染する。

② 複製の様式及び交雑性

「複製様式」

MVの複製はすべて細胞質で行われる（別紙1図3）。

「感染動物のゲノムの組み込みの可能性」

複製においてDNAフォームを形成する過程がない。そのため、感染個体のゲノムへの挿入は起こらないと考えられている。ヒトゲノム解析によってMV由来の遺伝子はヒトゲノム内に存在しないことが報告されている（参考文献17）。

「交雑と核酸の水平伝達の可能性」

複製の過程において、ウイルスRNAゲノムは常にNタンパク質によってコーティングされ、ヌクレオカプシド構造をとる。そのため裸のRNAゲノムが他の核酸と塩基対を形成して組換えが起こることは原理的に考えにくく、これまでにそのような報告はない（参考文献18）。また、MVの一本鎖RNAゲノムは非分節型であるため、他のウイルスとの交雑性は考えにくい。

「ウイルスゲノムの変異導入率と変異復帰の可能性」

in vitroにおけるMV複製時のRNAゲノム内への自然発生的変異導入率は、複製1回あたり 1.8×10^{-6} /塩基と算出されており、全ゲノム内に計算上0.03塩基の変異が生じる（参考文献19）。1塩基変異の復帰はこの変異導入率の確率で生じると考えられる。また、当該文献内の試験では2塩基変異の復帰は確認されなかった。

(5) 病原性

① 病原性

MV野外株は、自然環境下ではヒトで増殖を伴う感染を起こす（参考文献2, P. 1567）。不顕性感染はほとんどなく、感染した90%以上のヒトが発症する。

② 他の病原体の病原性への影響

MV野外株は感染後に激しい免疫抑制（白血球数減少やリンパ球の機能不全など）を引き起こし、その結果他の病原体に対する感受性が著しく上昇する。この二次感染が麻疹による小児の死亡の主な原因の一つとなっている。

③ 予防・治療法

MV野外株がヒトに感染すると、10-14日の潜伏期間後に体内で増殖複製し、発熱、咳、結膜炎などを引き起こし、その後麻疹に特徴的な症状（コプリック斑や全身性発疹）を示す。さらに、著しい白血球減少や刺激に対するリンパ球の無応答化などによる激しい免疫抑制が引き起こされ、数週間にわたって免疫抑制状態が持続する。一方で、一連の症状の後に感染個体の免疫応答によって回復した個体は終生免疫が付与されることもMVの大きな特徴の一つである（参考文献2, P. 1558, 1562, 1563）。MVは血清学的に単一型（monotypic）で、通常一回のワクチン接種もしくは自然感染によって、中和抗体が産生され、終生免疫が付与される。

予防法はワクチン接種が有効である。診断方法は血中の中和抗体価の測定が一般的である。ワクチン接種率は日本では現在91%以上である（参考情報4）。麻疹に対する特効薬は現在までに存在せず、対処療法が中心になる。

(6) 有害物質の産生性

MVが産生する各ウイルスタンパク質およびウイルスRNAに毒性はなく、有害物質を産生するという報告もない（参考情報5）。

(7) その他の情報

麻疹は飛沫や飛沫核によって伝播する。MVはウイルスの中で最も感染力が高いものの一つであり、免疫のない集団内に一人の発症者がいると、15-17人が感染する（参考文献20）。これまで感染個体における垂直感染の報告はない（参考文献3）。

また、MVは腫瘍溶解活性を持つことが報告されており（参考文献21-25）、様々な腫瘍に感染して腫瘍の増大を抑制することから、近年ウイルス療法の候補として研究が進められている。主にMVワクチン株を用いた研究が進められており、ワクチン株レセプターであるCD46が多くの癌種で正常細胞と比べて過剰発現しているため、効率良く感染することを利用する。その後、感染細胞間で細胞融合を引き起こして多核巨細胞を形成し、最終的に細胞を死に至らしめる。

MVは細胞随伴性であるため、細胞外の環境では増殖および生存することはできない。他のエンベロープウイルス同様耐久性は低く、熱、紫外線、pH5以下の酸、pH10以上のアルカリ、エーテル、クロロホルムによって速やかに不活化される。空気中や物体表面での生存時間は2時間以下である（参考情報6）。ウイルスの不活化処理は、厚生労働省「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」（参考情報7）の5類感染症の項に従い0.1~0.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液（以下「消毒薬」という。）による消毒又は高圧蒸気滅菌処理（121℃、20分間）を行う。

II 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

(1) 構成及び構成要素の由来

① 本遺伝子組換え生物等のRNAゲノムの全長cDNAを別紙3に示した。全長cDNA内の各遺伝子間の非翻訳領域内には3箇所の8塩基置換、1箇所の6塩基置換、2箇所の6塩基挿入による特異的制限部位が人為的に導入されている。さらにHタンパク質の1アミノ酸改変のための3塩基置換1箇所が導入されている。導入した制限部位には下線を付し、挿入した塩基配列はハイライトで示した。1アミノ酸改変のための3塩基置換は赤字で示した。各遺伝子領域、変異導入部位、塩基挿入部位の情報を別紙3に示した。

制限酵素地図は別紙4-1に示した。制限部位は、各遺伝子カセットのPCR増幅時に用いるプライマー内に設計して導入した（別紙4-2）。

② H遺伝子カセットは ██████████ であり、H遺伝子翻訳領域 (open reading frame; ORF)

は██████████である（別紙5-1）。H遺伝子の変異体として、Hタンパク質上のSLAM結合部位に1アミノ酸変異を導入した変異体（H SLAM blind）を作製した。変異導入部位は別紙5-2に示した。変異導入には通常のsite-directed mutagenesis法を用い、目的部位以外に変異がないことをシーケンシングで確認した（別紙5-1）。

（2） 構成要素の機能

本遺伝子組換え生物等のSLAM blind Hタンパク質の全アミノ酸配列を別紙5-2に示した。産生されるSLAM blind Hタンパク質は、SLAM結合領域内██████████置換されており、本遺伝子組換え生物等の改変体の一つ（rMV-SLAMblind-EGFP、別紙9-1参照）はPVRL4陽性細胞には感染するがSLAM陽性細胞へは感染できないことを確認している（別紙6-1・参考文献25, 26）。本遺伝子組換え生物等の宿主とは異なるMV野外株においても、プラスミドトランスフェクションによるMV-Fタンパク質とMV-Hタンパク質の共発現によってSLAM陽性細胞で細胞融合が起きるが、Hタンパク質にSLAMblind変異を導入すると細胞融合が生じなくなる（参考文献13, 27, 28）。これらのことからSLAMblind変異によってSLAMへの相互作用が失われると考えられる。

2 ベクターに関する情報

（1） 名称及び由来

該当なし

（2） 特性

該当なし

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

（1） 宿主内に移入された核酸全体の構成

別紙5-1に示すように、H遺伝子カセットは、ウイルスゲノム上の遺伝子間介在配列、非翻訳領域（untranslated region; UTR）およびORFを含み、両端にそれぞれ特異的制限配列を導入している。本遺伝子組換え生物等の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来および機能は別紙5-3に記した。

（2） 宿主内に移入された核酸の移入方法

① 別紙4-1に示す方法でMV-HLゲノム全長cDNAの各遺伝子間に制限配列を導入したcDNAを構築し、研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令第二条第十三号の文部科学大臣が定める認定宿主ベクター系EK1██████████を元にして作製した██████████（別紙4-3）██████████に挿入した。これを組換えウイルス作出用のプラスミド██████████として用いた（別

紙4-1・参考文献29)。

②H遺伝子カセットを市販のクローニングプラスミドpBluescriptSK-(Stratagene社)に挿入したものに、SLAMblind変異を導入した(別紙5-1)

③ 供与核酸の移入方法は、H SLAMblind遺伝子カセットを特異的制限酵素で切り出し、同じ制限酵素で処理したへ遺伝子カセットを挿入する、通常の遺伝子組換え法を用いた(別紙5-4)。この方法で、本遺伝子組換え生物等を作製するためのプラスミドpMV-SLAMblindを作出した。pMV-SLAMblind内の供与核酸の位置、方向、制限配列は元のH遺伝子と同じである。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

モノネガウイルスの人工作出技術であるリバーシジェネティクスがMV-HL株で樹立しており(参考文献29)、本遺伝子組換え生物等の作出はそれを用いた。原理としては、感染細胞に、pMV-SLAMblindを用いて導入することで、組換えウイルスが得られる。概要は別紙6-2に示した。リバーシジェネティクスに用いるは、からの譲渡を受けた。

得られた本遺伝子組換え生物等は、PVRL4陽性の感受性細胞株(ヒト乳癌由来MCF7細胞)で感染・増殖させ、通常MVと同様にウイルス液を調製した(参考文献25)。本遺伝子組換え生物等への変異導入は、SLAM発現細胞への感染能の消失により確認した。さらに、一部を逆転写(RT)-PCR法によりシーケンシングを行い(別紙6-3)、塩基置換及び遺伝子挿入が正しく導入されていることを確認した。

リバーシジェネティクスで用いたは哺乳類細胞複製欠損型であり、調製したウイルス液に含まれないことをPCR法で確認してある(別紙6-4)。

ワクチン製造等の原材料としてVero細胞にPVRL4を恒常発現させた細胞株(Vero/N4細胞)を東京大学医科学研究所の治験薬GMP準拠施設において樹立し、工程内管理試験の後、外部委託(イギリス・バイオリアランス社)による品質管理試験を経て治験薬GMP準拠マスターセルバンクとした。試験項目とその設定理由は別紙7-1に記した。セルバンク作製時の記録は管理保存されている。この細胞を元にワーキングセルバンクを作製し、本遺伝子組換え生物等を感染させてマスターウイルスシードストックを作製した。同様に外部委託による品質管理試験(別紙7-2)終了後、それを元に臨床用ウイルス製剤製造のためのワーキングウイルスストックを作製した。上記ストック作製過程での工程内管理試験の一覧は別紙7-3

に記した。

臨床用ウイルス製剤の製造手順としては、██████細胞にワーキングウイルスを感染させ、██████の細胞培養上清を遠心回収した。その後██████による細胞由来成分除去の後に超遠心によってウイルス粒子をペレットとして回収し、██████で懸濁し、それを別紙8に記した容量でバイアルに分注して最終製剤とした。製剤は治療ベクター開発センター内の超低温フリーザーで保存している。製剤作製時の記録は管理保存されている。ウイルス製剤製造過程のロットの一部および最終ウイルス製剤は外部委託による品質管理試験に供し、すべて合格した（別紙7-2）。

4 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

① 本遺伝子組換え生物等において、H SLAM blind遺伝子は、ウイルスゲノム上の元の遺伝子と同じ位置に移入されている（別紙5-4）。

② 移入された遺伝子は、ウイルス複製時に一本鎖RNAゲノムとして複製され、もしくは各遺伝子mRNAとして転写される。複製の過程で、変異導入遺伝子の変異（3塩基置換）の復元の起きる確率は、前述のウイルスゲノム変異率から推察して著しく低いと考えられる。実際に、██████細胞増殖時の導入した変異部位の安定性は、本遺伝子組換え生物等の改変体の一つ██████の██████継代までウイルスゲノムのシーケンシングにより確認された（別紙9-1）。また、癌組織内での安定性も、ヒト膵臓癌細胞移植マウスへrMV-SLAMblind-EGFPを接種した実験およびヒト乳癌細胞移植マウスへ本遺伝子組換え生物等の改変体の一つ（rMV-SLAMblind-luc）を接種した実験において██████癌組織から回収されたウイルスの塩基配列を調べたところ、導入した変異が保持されていることにより確認された（別紙9-2）。

ウイルス複製時に生じるウイルスゲノムの変異は、RdRpを構成するLタンパク質が有するRNA polymerase活性によるものであり、移入した核酸により変異率が変化することはないと考えられる。

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

本遺伝子組換え生物等は、宿主同様RT-PCR法を用いることで、高感度に感染の有無を検出できる。検出方法の設定は別紙10-1による。具体的には、ウイルス液から回収したRNAを逆転写し、感染性ウイルス1粒子に相当する量をPCRしてバンドが検出できる感度に条件を設定した。また導入した変異の確認は、変異部位のRT-PCR産物の通常のシーケンシングにより簡易に同定できる（別紙6-3）。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

① 増殖様式

前述のように、本遺伝子組換え生物等の宿主であるMV-HL株を含むMV野外株は、気道上皮内に存在するSLAM陽性の樹状細胞やマクロファージに感染後、リンパ節に運ばれてそこで増殖する。本遺伝子組換え生物等はSLAM結合能を欠失しているため、SLAM陽性リンパ系細胞では感染することができず増殖できない。

近年の論文において、麻疹ウイルスがアカゲサルの初代培養呼吸上皮細胞の基底側のみならず、SLAMもNectin-4も存在しない頂端側からも感染することが報告された（参考文献33）ことから、気道局所で本遺伝子組換え生物等が感染・増殖する可能性を完全に否定することはできない。しかし後述のように本遺伝子組換え生物等はSLAMblind変異導入によって病原性が著しく減弱しており、rMV-SLAMblind類似のウイルスをアカゲサルに経気道感染させた実験（参考文献28、Table 1）においても一頭は無症状かつ一過性の軽度のウイルス血症を生じたのみであったことから（別紙10-2）、rMV-SLAMblindがヒトに対して症状を呈するような経気道感染を起こす可能性は低いと考えられた。

一方、本遺伝子組換え生物等がレセプターとして使用するPVRL4を高発現する腫瘍部位では宿主と同様の様式で感染・増殖し腫瘍の増大を抑制すると考えられる。しかしPVRL4は正常個体においては極性上皮細胞の細胞間アドヘレンスジャンクションに局在しており、気道の管腔側には発現していない（別紙2-3・参考文献34。文献内ではPVRL4はnectin-4と表記）。よって本遺伝子組換え生物等が気道に暴露した場合も、感染が成立する場がないため速やかに排除され病原性発現には至らないと考えられる。

② 遺伝的特性

宿主同様、複製においてDNAフォームを形成しないことから感染個体のゲノムへの挿入は起こらないと考えられる。

③ 病原性

導入した変異はSLAMへの結合能の欠損であり、この変異によって感受性動物の範囲を変えないと考えられる。

これまでの知見から、SLAM陽性のリンパ球での感染・増殖がMVの病原性発現に重要と考えられている。本遺伝子組換え生物等を接種したカニクイザル、アカゲザルは麻疹病態の特徴である発疹や下痢、食欲不振、体重減少、ウイルス血症、白血球減少等の臨床症状を全く示さず、いずれの臓器からもRT-PCRによりウイルスゲノムは検出されなかった（別紙10-2・参考文献25）。他のアカゲザル感染モデル系の報告でも、野外株MV（本遺伝子組換え生物等とは異なる株）の鼻腔内接種によりウイルスはリンパ組織で増殖しウイルス血症を起こすのに対し、SLAM結合能を欠損した組換え生物等は6頭中1頭で接種後初期に低いウイルス力価のウイルス血症を起こしたのみで、全ての個体で臨床症状は示さなかった（別紙10-2・参考文献28）。このことから、SLAMへの結合能を欠失したMVは正常個体においてリンパ球での増殖がないため病原性発現に

至らないと考えられる。

④ 有害物質の産生性

導入した変異はSLAMへの結合能の欠損であり、これらの変異によって有害物質の産生性が変化することはないと考えられる。

⑤ 環境中への放散量

正常サルでは感染が成立せず、体内での増殖・体外排出は起こらないことを確認しており、健常なヒトでも同様と考えられる。癌患者においては腫瘍内で本遺伝子組換え生物等の増殖が起これると考えられるため、増殖中は尿や患部からの滲出液などからの排出が考えられる。腫瘍の縮小に伴いウイルス増殖も減少するため、排出は収束すると考えられる。

⑥ 自然界での生存能力

SLAMへの結合能の欠損により感染個体内での増殖が減少するため、自然界での生存能力は低下すると考えられる。

⑦ その他の生理学的性質

これまでに、MVが産生するウイルスタンパク質およびウイルスRNAが野生動植物の生息又は生育に支障を及ぼす報告はない。本遺伝子組換え生物等の性状は、SLAMへの結合能の欠損であり、免疫抑制を誘導しないことから、宿主と比較して他の微生物や野生生物に対して影響はないと考えられる。

⑧ 内在性ウイルスの活性化等

前述のように、MVの複製はすべて細胞質で行われ、DNAフォームを形成する過程がないため、感染個体ゲノムへの挿入は起こらないと考えられている（参考文献18）。また、MVを含むモノネガウイルス目共通の複製機序として、ウイルスRNAゲノムは常にNタンパク質によってコーティングされたヌクレオカプシド構造をとるため、裸のRNAゲノムが露出するステップがなく他の核酸と塩基対を形成し組換えが起こることは原理的に考えにくく、これまでにそのような報告はない（参考文献18）。

MVの一本鎖RNAゲノムは非分節型であるため、インフルエンザウイルスのように他のウイルスとの交雑が起こることは考えにくい。そのため、宿主、本遺伝子組換え生物等共に内在性ウイルスとの組換え体が出現することは考えにくい。

⑩ 検出方法及び識別方法

本遺伝子組換え生物等と宿主は、ウイルスゲノムの変異導入部位をRT-PCRし、PCR産物のシーケンシングによって容易に識別が可能である。方法を別紙6-3に示した。

Ⅲ 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

ヒトの遺伝子治療を目的とした投与、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為。

2 使用等の方法

本遺伝子組換え生物等の原液の保管

(1) 本遺伝子組換え生物等の原液は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、治療施設内の適切に管理された冷凍庫において保管する。

本遺伝子組換え生物等の投与

(2) 本遺伝子組換え生物等の原液の注入機器への充填は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内で、エアロゾルの飛散を最小限に留める方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を防止する。

運搬

(3) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、漏出させない措置を執って行う。

患者への投与

(4) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の腫瘍内に直接注入することにより行う。投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。

投与後の患者からの排出等の管理

(5) 投与後、患者の投与部位を消毒し、投与部位から排出される本遺伝子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。

(6) 投与を受けた患者を他の区画と明確に区別された個室に入室させ、投与後排出等の管理が不要となるまでの期間、当該患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるとともに、伝播リスクを低減化するための管理（以下「個室管理」という。）を行う。個室管理解除後に患者から本遺伝子組換え生物等の排出が認められた場合は、再度個室管理を行う。

(7) 個室管理の期間中、患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるよう当該患者に適切な指導を行う。

(8) 個室管理の期間中に患者がやむを得ず一時的に個室外に出る場合は、当該患者からの本遺伝子組換え生物等の排出が最小限となるよう対策を講じるとともに、第三者

との不要な接触を避けるよう当該患者に適切な指導を行う。

(9) 投与を受けた患者が個室管理の期間中に当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された患者であることが情報提供されるよう、当該患者に適切な指導を行う。

(10) 投与された本遺伝子組換え生物等の排出等の挙動が明らかになるまで、血液、尿、唾液等について、本遺伝子組換え生物等の排出等の検査を経時的に実施する。

(11) 遺伝子組換え生物等の予期しない増殖又は伝播が疑われた場合には、血液、体液、分泌物又は排泄物等に対する本遺伝子組換え生物等の有無を確認するために必要な検査を行う。

患者検体の取扱い

(12) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設及びその他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規程に従って取り扱う。

(13) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、本遺伝子組換え生物等が漏出しない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された患者の検体である旨を情報提供して行う。検体は検査機関の規程に従って取り扱う。

(14) 検体の廃棄は、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）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従って行う。

(15) 検査機関での検体の検査は、他と区別された検査室内でエアロゾルの飛散を防止する方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留めて行う。

感染性廃棄物等の処理

(16) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。

(17) 本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあっては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。

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

投与後の患者は個室管理し、管理が不要となるまで排出モニタリングをする。腫瘍が自壊する等した結果、滲出液を出すケースがあった場合は、これも検査対象とする。その詳細を別紙11に記載する。

4 生物多様性影響が生じ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

被験者及びその同居家族に妊婦が含まれる場合は治療の対象としない。またその同居家族の中に、被験者が麻疹ウイルス治療を受けたのちに妊娠する可能性のある者がいる場合には、麻疹ワクチンの接種歴を確認するとともに、接種歴が無い場合には医療機関で麻疹ワクチンの接種を受けてもらうこととする。本申請に携わる試験従事者はあらかじめ血清中の中和抗体価を測定し、免疫のない者は同様に医療機関で麻疹ワクチンの接種を受けた後に試験に従事することとする。

5 実験室等での使用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

これまでにP2A実験室内で、本遺伝子組換え生物等をカニクイザル・アカゲザルに1頭あたり 1×10^6 TCID₅₀を皮下接種したが臨床症状を示さず、血液からウイルスは検出されなかった(別紙10-2)。また、動物試験専門機関において健康なビーグル犬に[] []を静脈内接種し、血液、尿、糞便、唾液、涙液中への排出を28日間RT-PCR法にて検出したが、ウイルスの排出は確認されなかった(別紙10-3;本資料内「MV-HL-dSLAM」は本遺伝子組換え生物等と同じである)。同様に動物試験専門機関においてビーグル犬に[] [] [] [] []を皮下接種し、尿中への排出をRT-PCR法にて検出したがウイルスの排出は検出されなかった(別紙10-4)。

一方、担癌マウスに本遺伝子組換え生物等の改変体の一つ(rMV-SLAMblind-luc)を腫瘍内接種し、継時的に尿中ウイルス検出試験を行った結果、ウイルスの増殖極期においてごく微量のウイルスの排出が検出された(別紙10-5)。

これらの非臨床試験の結果を元に、第一相臨床試験におけるウイルス排出モニタリングの全体計画を作成した(別紙11)。

6 国外における使用等により得られた情報

国外での使用実績は無い。

IV 生物多様性影響評価

1 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微生物の特定

宿主MV-HL株を含むMV野外株では、これまでに他の微生物を減少させる性質を持つ報告はなされていない。本遺伝子組換え生物等の感染性は野外型MV-HL株以下と考え

られるので、微生物に感染せず、また、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ほとんどないと考えられる。

このことから、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。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当しない)

(3) 影響の生じやすさの評価

(該当しない)

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、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ずるおそれはないものと判断した。

2 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

MV野外株は自然環境下でヒトで増殖を伴う感染が起こる。MV感受性動物であるカニクイザル、アカゲザル等では自然環境下で感染が成立することが知られている。サルは麻疹の病態を再現する唯一の動物モデルである。

本遺伝子組換え生物等は、H SLAM blind変異によってSLAMへの結合能を欠くことから、宿主に比べ病原性が低下している。本遺伝子組換え生物等および他の野外株を元に作られたH SLAMblind変異MVを用いたカニクイザル、アカゲザルの感染実験においても皮下および鼻腔内接種のいずれでも臨床症状はみられなかった(別紙10-2・参考文献25, 28)。

他の動物はMV接種によって臨床症状を示さない。そのため、感受性動物のサルで病原性が減弱している本遺伝子組換え生物等が他の動物に感染して環境に拡散することは考えにくく、生物多様性へ影響を与える可能性は著しく低いと考える。

これらのことから、病原性に起因して影響を受ける可能性のある野生生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等は感染性が減弱されているもののヒトに感染する可能性が否定できないことから、使用に当たっては治療従事者等ヒトへの悪影響の排除に十分留意する。

(3) 影響の生じやすさの評価

ヒトは麻疹ワクチン接種によって終生免疫が付与される。麻疹ワクチン接種は本遺伝子組換え生物等に対しても宿主同様有効と考えられる。治療に従事する者は麻疹ワクチン接種歴を有するか、無い時はあらかじめ麻疹ワクチンを接種するものとする。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、使用方法が限定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

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主であるMV野外株が産生するウイルスタンパク質およびウイルスRNA自体が毒性を持つ報告はこれまでにない。また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も報告されていない。本遺伝子組換え生物等に導入された変異によって新たに有害物質の産生能が付与されることは起こらないと予測される。

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。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当しない)

(3) 影響の生じやすさの評価

(該当しない)

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、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

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物又は他の微生物の特定

MV複製の過程において、MVのRNAゲノムは常にNタンパク質によってコーティングされ、ヌクレオカプシド構造をとる。そのため裸のRNAゲノムが他の核酸と塩基対を形成して組換えが起こることは原理的に考えにくく、これまでにそのような報告はない(参考文献18)。また、MVは非分節型の鎖RNAウイルスであるため、他のウイルスと交雑種ができることは考えられない。本遺伝子組換え生物等に導入した変異によってこれらの性質が変化するとは考えにくく、核酸の水平伝達による野生動植物への影響が生ずる可能性はないと評価できる。

以上のことから、使用方法が限定された第一種使用規程に基づく使用の範囲内では、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。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当しない)

(3) 影響の生じやすさの評価

(該当しない)

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、使用方法が限定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。

5 その他の性質

上記の他に、本遺伝子組換え生物等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。

V 総合的評価

他の微生物を減少させる性質については、宿主を含むMV野外株でそのような性質の報告がなく、本遺伝子組換え生物等に導入した変異および挿入した制限酵素認識配列によってその性質が変化することはないと考えられることから、第一種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、本遺伝子組換え生物等は宿主に比べて病原性が減弱していることから、使用方法が限定された第一種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。なお、使用に当たっては、ヒトへの悪影響の排除に十分留意することとし、治療に従事する者に対し、必要に応じてあらかじめ麻疹ワクチンを接種する。

有害物質の産生性については、宿主を含むMV野外株でそのような性質の報告がなく、本遺伝子組換え生物等に導入した変異および挿入した制限酵素認識配列によってその性質が変化することはないと考えられることから、第一種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、本遺伝子組換え生物等に導入した変異および挿入した制限酵素認識配列によってその性質が変化することはないと考えられること、宿主を含むMV野外株が自然界で感染する生物はヒトとサルのみであり、ヒトとサルがSLAM結合能を失った本遺伝子組換え生物等を吸入しても感染が成立する可能性は極めて低く、自然環境下においては、増殖せずに消滅すると考えられることから、使用方法が限定された第一種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、本遺伝子組換え生物等を使用する方法が限定された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。

別紙

- 1 麻疹ウイルスの分類・構造・複製様式 . . . P 1
- 2 麻疹ウイルス H タンパク質、レセプター相同性、麻疹ウイルス体内動態 . . . P 2
 - 2-1 MV-H タンパク質上のレセプター相互作用領域
 - 2-2 SLAM, PVRL4 の動物間でのアミノ酸配列比較
 - 2-3 麻疹ウイルスの体内動態モデル
- 3 rMV-SLAMblind RNA ゲノム情報 . . . P 5
 - 3-1 rMV-SLAMblind ゲノム cDNA 塩基配列
 - 3-2 rMV-SLAMblind RNA ゲノム構造
- 4 ████████ の構築 . . . P 18
 - 4-1 ████████ 構築図
 - 4-2 ████████ 構築 primer 配列
 - 4-3 ████████ プラスミドマップ
- 5 pMV-SLAMblind の構築 . . . P 21
 - 5-1 pMV-SLAMblind 作出用遺伝子カセット構築図
 - 5-2 SLAMblind H タンパク質アミノ酸配列
 - 5-3 pMV-SLAMblind の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能
 - 5-4 pMV-SLAMblind 構築図
- 6 rMV-SLAMblind の作出と性状解析 . . . P 25
 - 6-1 SLAMblind H 遺伝子をもつ遺伝子組換え MV の各種細胞株への感染性
 - 6-2 Reverse Genetics の概要
 - 6-3 シーケンシングによる接種ウイルス内の導入変異部位の配列確認
 - 6-4 PCR 法によるワクチニアウイルス ████████ 検出試験
- 7 品質管理試験 . . . P 29
 - 7-1 Vero/N4 細胞マスターセルバンク品質管理試験 Bioreliance 社
 - 7-2 rMV-SLAMblind マスターウイルスシードストック、重要中間体、臨床用製剤 品質管理試験 Bioreliance 社
 - 7-3 工程内管理試験の一覧表
- 8 rMV-SLAMblind ウイルス製剤製造手順 . . . P 33
- 9 rMV-SLAMblind の変異復帰の有無の確認試験 . . . P 34
 - 9-1 rMV-SLAMblind-EGFP の細胞継代による変異復帰の有無の確認、次世代シーケンサー(NGS)による本遺伝子組換え生物等のゲノム配列解析の概要
 - 9-2 rMV-SLAMblind 改変体のヒト膵臓癌及び乳癌細胞移植マウス接種後のウイルス H 遺伝子配列解析
- 10 rMV-SLAMblind の非臨床試験 . . . P 38
 - 10-1 rMV-SLAMblind 接種動物からのウイルス排出検出試験法

- 10-2 SLAMblind 変異導入 H 遺伝子をもつ麻疹ウイルスの霊長類サルに対する病原性試験
- 10-3 rMV-SLAMblind のビーグル犬への静脈内■■■■投与に対する安全性試験
- 10-4 rMV-SLAMblind のビーグル犬への皮下■■■■投与後の尿中ウイルス検出試験
- 10-5 rMV-SLAMblind-luc の腫瘍移植マウス接種後の尿中ウイルス排出試験
- 11 第一相臨床試験におけるウイルス排出モニタリング全体計画および個室管理患者に対する教育内容

参考文献

1. Kobune F, Takahashi H, Terao K, Ohkawa T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Sakata H, Yamanouchi K, Kai C. Nonhuman primate models of measles. *Lab Anim Sci.* 1996 46(3):315-20.
2. Griffin DE. Measles Virus; in *Fields Virology, Fifth Edition Volume 2.* p1558-1567. 2006. Editor-in-chief: David M. Knipe and Peter M. Howley. Lippincott Williams & Wilkins. ISBN-13: 978-0-7817-6060-7
3. 医科ウイルス学 改訂第2版 第11章 ウイルスの生態と伝播 著者: 浦澤正三 p.205-206. 2000年 大里外誉郎編集 南江堂 ISBN 4524214488
4. Kobune F, Sakata H, Sugiura A. Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus. *J Virol.* 1990 64(2):700-5.
5. van Binnendijk RS, van der Heijden RW, Osterhaus AD. Monkeys in measles research. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1995;191:135-48.
6. Meyer HM Jr, Brooks BE, Douglas RD, Rogers NG. Ecology of measles in monkeys. *Am J Dis Child.* 1962 103:307-13.
7. Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y. SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature.* 2000 406(6798):893-7.
8. Noyce RS, Bondre DG, Ha MN, Lin LT, Sisson G, Tsao MS, Richardson CD. Tumor cell marker PVRL4 (nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog.* 2011 7(8):e1002240.
9. Cocks BG, Chang CC, Carballido JM, Yssel H, de Vries JE, Aversa G. A novel receptor involved in T-cell activation. *Nature.* 1995 376(6537):260-3.
10. Bleharski JR1, Niazi KR, Sieling PA, Cheng G, Modlin RL. Signaling lymphocytic activation molecule is expressed on CD40 ligand-activated dendritic cells and directly augments production of inflammatory cytokines. *J Immunol.* 2001 167(6):3174-81.
11. Delpeut S, Noyce RS, Richardson CD. The tumor-associated marker, PVRL4 (nectin-4), is the epithelial receptor for morbilliviruses. *Viruses.* 2014 6(6):2268-86.
12. Pratakpiriya W, Seki F, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in neurovirulence. *J Virol.* 2012 86(18):10207-10.
13. Mateo M, Navaratnarajah CK, Syed S, Cattaneo R. The measles virus hemagglutinin β -propeller head β 4- β 5 hydrophobic groove governs functional interactions with nectin-4 and CD46 but not those with the signaling lymphocytic activation molecule. *J Virol.* 2013 87(16):9208-16.
14. Ono N, Tatsuo H, Tanaka K, Minagawa H, Yanagi Y. V domain of human SLAM (CDw150) is essential for its function as a measles virus receptor. *J Virol.* 2001 75(4):1594-600.
15. Sato H, Yoneda M, Honda T, Kai C. Morbillivirus receptors and tropism: multiple pathways for infection. *Front. Virol.* 2012 3: 75.

16. 田原舞乃、竹田誠 野生型麻疹ウイルスの二つのレセプター ウイルス第 61 巻第 2 号 249-256, 2011
17. Katzourakis A, Gifford RJ. Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genet.* 2010 6(11):e1001191.
18. Iida, A. et al. Concept and Technology Underlying Sendai Virus (SeV) Vector Development; in *Sendai Virus Vector: Advantages and Applications.* p. 71. 2014. Editor: Yoshiyuki Nagai, Springer, ISBN 978-4-431-54555-2
19. Zhang X, Rennick LJ, Duprex WP, Rima BK. Determination of spontaneous mutation frequencies in measles virus under nonselective conditions. *J Virol.* 2013 87(5):2686-92.
20. Monto AS. Interrupting the transmission of respiratory tract infections: theory and practice. *Clin Infect Dis.* 1999 28(2):200-4.
21. Msaouel P, Iankov ID, Allen C, Morris JC, von Messling V, Cattaneo R, Koutsilieris M, Russell SJ, Galanis E. Prostate. Engineered measles virus as a novel oncolytic therapy against prostate cancer. 2009 69(1):82-91
22. Allen C, Paraskevakou G, Liu C, Iankov ID, Msaouel P, Zollman P, Myers R, Peng KW, Russell SJ, Galanis E. Oncolytic measles virus strains in the treatment of gliomas. *Expert Opin Biol Ther.* 2008 8(2):213-20.
23. McDonald CJ, Erlichman C, Ingle JN, Rosales GA, Allen C, Greiner SM, Harvey ME, Zollman PJ, Russell SJ, Galanis E. A measles virus vaccine strain derivative as a novel oncolytic agent against breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2006 99(2):177-84.
24. Blechacz B, Splinter PL, Greiner S, Myers R, Peng KW, Federspiel MJ, Russell SJ, LaRusso NF. Engineered measles virus as a novel oncolytic viral therapy system for hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2006 44(6):1465-77.
25. Sugiyama T, Yoneda M, Kuraishi T, Hattori S, Inoue Y, Sato H, Kai C. Measles virus selectively blind to signaling lymphocyte activation molecule as a novel oncolytic virus for breast cancer treatment. *Gene Ther.* 2013 20(3):338-47.
26. Shoji K, Yoneda M, Fujiyuki T, Amagai Y, Tanaka A, Matsuda A, Ogihara K, Naya Y, Ikeda F, Matsuda H, Sato H, Kai C. Development of new therapy for canine mammary cancer with recombinant measles virus. *Mol Ther Oncolytics.* 2016 3:15022.
27. Vongpunsawad S, Oezgun N, Braun W, Cattaneo R. Selectively receptor-blind measles viruses: Identification of residues necessary for SLAM- or CD46-induced fusion and their localization on a new hemagglutinin structural model. *J Virol.* 2004 78(1):302-13.
28. Leonard VH, Hodge G, Reyes-Del Valle J, McChesney MB, Cattaneo R. Measles virus selectively blind to signaling lymphocytic activation molecule (SLAM; CD150) is attenuated and induces strong adaptive immune responses in rhesus monkeys. *J Virol.* 2010 84(7):3413-20.
29. Terao-Muto Y, Yoneda M, Seki T, Watanabe A, Tsukiyama-Kohara K, Fujita K, Kai C. Heparin-like glycosaminoglycans prevent the infection of measles virus in SLAM-negative

- cell lines. *Antiviral Res.* 2008 80(3):370-6.
30. Wyatt LS1, Moss B, Rozenblatt S. Replication-deficient vaccinia virus encoding bacteriophage T7 RNA polymerase for transient gene expression in mammalian cells. *Virology.* 1995 210(1):202-5.
 31. Baron MD, Barrett T. Sequencing and analysis of the nucleocapsid (N) and polymerase (L) genes and the terminal extragenic domains of the vaccine strain of rinderpest virus. *J Gen Virol.* 1995 76 (Pt 3):593-602.
 32. Baron MD, Shaila MS, Barrett T. Cloning and sequence analysis of the phosphoprotein gene of rinderpest virus. *J Gen Virol.* 1993 74 (Pt 2):299-304.
 33. Lin WW, Tsay AJ, Lalime EN, Pekosz A, Griffin DE. Primary differentiated respiratory epithelial cells respond to apical measles virus infection by shedding multinucleated giant cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 118(11):e2013264118.
 34. Miyoshi F, Takai Y. Molecular perspective on tight-junction assembly and epithelial polarity. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2005 57:815-855.
 35. Wilm A. et al. LoFreq: a sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets. *Nucleic Acids Res.* 2012 40, 11189-1120.
 36. Davidson CJ et al. Improving the limit of detection for Sanger sequencing: A comparison of methodologies for KRAS variant detection. *Biotechniques.* 2012 Sep;53(3):182-8
 37. Dong L et al. Evaluation of droplet digital PCR and next generation sequencing for characterizing DNA reference material for KRAS mutation detection. *Scientific Reports* volume 8, Article number: 9650 (2018)
 38. Rohlin A et al. Parallel Sequencing Used in Detection of Mosaic Mutations: Comparison With Four Diagnostic DNA Screening Techniques. *Hum Mutat.* 2009 Jun;30(6):1012-20.

参考情報

1. 厚生労働省：日本の麻疹排除状態認定 Press Release 平成 27 年 3 月 27 日
2. WHO: Measles. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/>
3. WHO 発表による過去 5 年の麻疹 genotype 流行図
4. 国立感染症研究所：平成 25 年度 麻疹風疹ワクチン接種状況
5. PubMed による麻疹ウイルスタンパク質の毒性に関する文献検索結果
6. 国立感染症研究所：麻疹 http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k03/k03_03/k03_03.html
7. 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き