

平成 25 年度動物用医薬品の承認申請資料作成のための
ガイドライン作成事業
報告書

－ 動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案） －

平成 26 年 3 月
動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会

平成 25 年度動物用医薬品の承認申請資料作成のためのガイドライン作成事業報告書
動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案） 目次

平成 25 年度動物用医薬品の承認申請資料作成のためのガイドライン作成事業 事業報告書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	1
--	---

別添 動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）・・・・・・・・	4
---	---

動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン解説書（案）・・・・	10
--------------------------------------	----

平成 25 年度動物用医薬品の承認申請資料作成のためのガイドライン作成事業 事業報告書

動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会
会長 小沼 操

1. 事業目的

動物用ワクチンは、動物の感染症対策に最も有効な医薬品である。これまで急性感染症に対するワクチンは、ほとんどが実用化されたが、慢性で難治な感染症に対するワクチン開発が進んでおらず、このような開発困難なワクチンに対して、遺伝子組換え技術を応用した組換え生ワクチンが注目されている。海外では既に急性感染症に対する組換え生ワクチンが多く実用化されており、現在では日本でも 2 種類の組換え生ワクチンが承認され、今後開発が活発に行われるものと思われる。

しかし、これらのワクチン開発は、適切な安全性や有効性に関する試験法のガイドラインがないため、申請者が独自の考え方にに基づき試験を実施せざるを得ない状況である。その安全性に対する評価は、遺伝子組換え体であることから、より厳密に行う必要があるが、投与された動物での安全性の評価法、投与動物から排泄される場合の環境中での生存性に関する評価法等が明確化されたものがない。このことにより承認審査において、それらの試験方法そのものが問題となるなど、迅速な審査に支障をきたしている。

そこで、遺伝子組換え生ワクチンの開発に必要な試験方法とその評価法を明示したガイドラインを作成することにより、試験実施方法の定型化、審査基準の明確化を図り、動物用医薬品の申請者の負担軽減及び審査の迅速化に資することとする。

2. 事業内容

1) 遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン案検討委員会の設置及び開催

大学・研究機関等の学識経験者及びワクチン開発専門家等から 14 名を選任し、遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン案検討委員会を設置する。また、当該検討委員会において事業方針を決定し、国内外での組換え生ワクチンの開発試験成績、ガイドライン等を参考にしてガイドライン（案）の検討を行う。

2) 動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）及び解説書（案）の作成

前項で検討した結果をもとに、動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）及び当該ガイドライン（案）の解説書（案）を作成する。

3. 事業成果

遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン案検討委員会を開催し、動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）及び当該ガイドライン（案）の解説書（案）について、別添のとおり取りまとめた。

・検討委員会の開催

（動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）及び解説書案の作成）

大学・研究機関等の学識経験者及びワクチン開発専門家等から14名を選任し、「動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）」及び当該ガイドライン解説書（案）作成のため、検討委員会を7回（第1回：平成25年8月26日、第2回：平成25年10月2日、第3回：平成25年11月5日、第4回：平成25年12月4日、第5回：平成26年1月17日、第6回：平成26年2月17日、第7回：平成26年3月11日）開催し、当該ガイドライン（案）及び解説書（案）を作成した。なお、検討事項並びに検討委員については以下のとおりである。

[検討事項]

第1回：事業方針等の検討

第2回：ガイドライン（案）の物理・化学的試験法とその評価法の項目の検討

第3回：ガイドライン（案）のその他の項目の検討

第4回：ガイドライン（案）の全項目の検討

第5回：解説書（案）の検討

第6回：ガイドライン（案）及び解説書（案）の作成及び検討

第7回：ガイドライン（案）及び解説書（案）の最終取りまとめ

[検討委員]

犬丸 茂樹

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 専門員

小沼 操

国立大学法人北海道大学大学院 名誉教授

川口 寧	東京大学医科学研究所 感染免疫部門 ウイルス病態制御分野 教授
桐澤 力雄 (座長)	酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医ウイルス学ユニット 教授
齊藤 修治	セバ・ジャパン株式会社 上席研究員
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
杉山 美樹	メリアル・ジャパン株式会社 研究開発部 開発グループ 生物学製剤チーム マネージャー
堤 信幸	一般財団法人日本生物科学研究所 研究員
野呂 太一	株式会社微生物化学研究所 研究開発部 部長
濱岡 隆文	一般財団法人生物科学安全研究所 事業統括部 部長
平山 紀夫	麻布大学 客員教授
水谷 哲也	国立大学法人東京農工大学 農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター 教授
村上 保人	共立製薬株式会社 先端技術開発センター 薬事監査室 課長
横川 顕治	一般財団法人化学及血清療法研究所 菊池研究所 ワクチン製造三部 主任部員

動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン（案）

I. 目的

本ガイドラインは、動物を対象とした遺伝子組換え微生物を有効成分とする生ワクチン（以下「遺伝子組換え生ワクチン」という。）の製造販売承認の取得を目的として実施される物理的・化学的試験や安全性試験等について、現時点で妥当と思われる方法とその運用の一般的指針をとりまとめたものである。

なお、動物用生ワクチンとしての安全性等を評価するための十分な試験成績が得られるならば、本ガイドライン以外の方法によることもできる。その場合は、十分な科学的根拠をもって、その試験の妥当性を主張することが必要である。

II. 本ガイドラインの適用範囲

本ガイドラインは、動物を対象とした遺伝子組換え生ワクチンの物理的・化学的試験、製造方法、安全性に関する試験、環境影響・公衆衛生に関する試験及び薬理試験に適用する。

なお、遺伝子組換え生ワクチン製造用株については、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（以下、「カルタヘナ法」という。）の規則に適合しているものでなければならない。

III. 定義

本ガイドラインにおいて使用される用語の定義は、以下のとおりである。

1. 「遺伝子組換え生ワクチン」とは、遺伝子組換え技術を用い、病原性因子を欠損あるいは不活性化させたウイルス、細菌、原虫等の微生物を有効成分とする生ワクチン及び外来遺伝子を組み込んだ弱毒の微生物を有効成分とする生ワクチンをいう。ただし、カルタヘナ法施行規則第 2 条で規定されているセルフクローニング及びナチュラルオカレンスに該当する微生物を有効成分とするものは除外する。

2. 「遺伝子組換え生ワクチン製造用株」とは、遺伝子組換え生ワクチンの主剤となる微生物株で、遺伝子組換え生ワクチンの製造に用いる微生物株をいう。

3. 「親株」とは、遺伝子組換え生ワクチン製造用株を作出するに当たって用い

た遺伝子組換えを行う前の微生物株、またはそれと同等の株をいう。

4. 「微生物量」とは、ウイルスの場合には力価（測定できない場合にはゲノムの分子数）、細菌の場合には細菌数、原虫の場合には個体数をいう。

IV. 物理的・化学的試験 試験法とその評価法

1. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の作出過程

（１）遺伝子組換え生ワクチン製造用株の作出に用いた微生物の由来・性状等
遺伝子組換え生ワクチン製造用株の作出に用いた微生物の名称（株名を含む）、一般的な物理的・化学的性状、塩基配列情報、分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況、使用等の歴史及び現状について記載する。また、微生物の宿主動物や培養細胞等、培養方法、増殖能等を記載する。用いる微生物に病原性がある場合は、その詳細（宿主名、病原性）を記載する。ただし既に論文・報告等がある微生物で病原性・安全性の詳細が判明している株については、当該論文等を提示することで差し支えない。用いる微生物の産業的な利用の歴史及び現状(実験室レベルのものを含む)についても記載することが望ましい。

（２）遺伝子組換え生ワクチン製造用株の構成等

遺伝子組換えの種類（挿入、変異導入等）及び遺伝子組換えの標的部位等を含めて、遺伝子組換え生ワクチン製造用株の遺伝子構成を記載する。遺伝子組換え生ワクチン製造用株の作出方法を詳細に記載し、微生物株の培養（増幅）方法、及び精製方法を示す。細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸、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について記載する。

2. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の生物学的性状

増殖性のある遺伝子組換え生ワクチン製造用株については、その宿主（動物種、培養細胞）を記載するとともに、増殖能を評価するため経時的に微生物量を測定し、その成績を示す。遺伝子組換え生ワクチン製造用株が、ある条件下で増殖性を示す場合にはその条件等を記載する。遺伝子組換え生ワクチン製造用株が動物（使用対象動物を含む）の体内において増殖性がある場合は、感染実験により、体内存続期間や体外排出微生物量の経時的変化、体外排出された遺伝子組換え生ワクチン製造用株の感染性等を示す。具体的には次の項目を示すことが望ましい。

（１）遺伝子組換え生ワクチン製造用株の安定性等

遺伝子組換え生ワクチン製造用株の安定性（病原性復帰、変異体の出現、遺伝子の再構成や変異の有無等）を明らかにする。遺伝子組換え生ワクチン製造用株は弱毒化したものを使用することが原則であるが、もし許容範囲内の病原性がある場合は、製造時に予定されている最高継代数の遺伝子組換え生ワクチン製造用株について、宿主（動物種、培養細胞）に対する病原性の変化について評価する（親株との比較試験の実施等）。また、遺伝子組換え生ワクチン製造用株が発現する抗原（組換えた領域）について、生化学的、分子生物学的、免疫学的手法等によって確認する。遺伝子組換え生ワクチン製造用株が有害物質を産生する場合は、その物質の名称、性状を示す。遺伝子組換え生ワクチン製造用株のマーカーについては、名称及びその由来・性状を記載する。

（２）遺伝子組換え生ワクチン製造用株の対象動物での体内分布・体内での消長

遺伝子組換え生ワクチン製造用株を接種した対象動物において、移行性の高いと考えられる臓器・投与部位組織について、遺伝子検査方法によって遺伝子組換え生ワクチン製造用株の遺伝子検出を実施する。また、臓器のホモジネートを作製し、分離・検出を行う。遺伝子組換え生ワクチン製造用株が親株になり組織指向性を獲得した場合は記載する。

（３）排泄の有無

遺伝子組換え生ワクチン製造用株を接種した対象動物の排泄物及び分泌物（尿、便、唾液、口腔スワブ等）について、遺伝子検査法と微生物量の測定により排泄の有無を評価する。

（４）水平感染の有無

被験動物と同じ種の動物、もしくは同居する可能性のある動物を共飼いして、上記（２）（遺伝子組換え生ワクチン製造用株の対象動物での体内分布・体内での消長）や（３）（排泄の有無）についての検査を行う。しかし、上記（３）（排泄の有無）において被験動物から遺伝子組換え生ワクチン製造用株が排出されないという結果が得られた場合、同居感染実験は必要ではない。水平感染が認められた場合には、遺伝子組換え生ワクチン製造用株の性状等に基づく環境中での生存性を考察する。

（５）環境への影響

遺伝子組換え生ワクチン製造用株と親株について、病原性の変化や排泄物中

に含まれる微生物量の変化について明らかにし、環境への影響を考察する。

（６）染色体への組み込み

遺伝子組換え生ワクチン製造用株がレトロウイルスのように染色体に組み込まれる性質がある場合には、宿主動物細胞の染色体への組み込みを検討する。また、組換えた遺伝子が体細胞や生殖細胞の染色体に組み込まれているかを適切な方法で検討する。

（７）垂直感染の有無

親株が垂直感染する性質をもつ微生物か否かについては、できる限り文献を用いて明らかにするべきである。ただし、遺伝子組換え生ワクチンを妊娠動物に使用する場合には、垂直感染するか否かについてあらかじめ明らかにしなければならない。

３．規格設定に関する試験

（１）遺伝子組換え生ワクチン製造用株

遺伝子組換え生ワクチン製造用株の規格及び検査方法については、一般的な生ワクチンに準じて定める。外来遺伝子が挿入された遺伝子組換え生ワクチンに関しては、挿入された遺伝子産物の発現あるいは活性を確認する方法を定めるものとする。

培養細胞（株化細胞、初代細胞）や発育卵等を使用する場合の規格及び検査方法については、一般的な生ワクチンで使用される製造用材料に準じて定める。

（２）遺伝子組換え生ワクチン製造用材料及び小分け製品

遺伝子組換え生ワクチンの製造用材料及び小分け製品に必要な規格及び検査方法については、一般的な生ワクチンに準じて定める。ただし、安全試験については原則として対象動物に臨床で予定される投与量の最大量を投与する試験を行う。代替としてマウス等を用いた異常毒性否定試験又は毒性限度確認試験を実施することもできる。

V．製造方法

１．一般的な注意

遺伝子組換え生ワクチンの製造等（製造方法及びその設定根拠、検査項目）の記載にあたっては、遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の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（平成 16 年 1 月 29 日財務

省・厚生労働省・農林水産省・経済産業省・環境省令第1号、一部改正 平成18年6月6日財務省・厚生労働省・農林水産省・経済産業省・環境省令第2号)に従い、拡散防止措置に留意する。

2. 製造方法

通常が生ワクチン等の場合の記載に準じて、製造方法とそれぞれの工程における検査項目を記載する。ただし、遺伝子組換え生ワクチン特有の事項があれば併せて記載する。

VI. 安全性に関する試験法とその評価法

ここでは、遺伝子組換え生ワクチンを投与する対象動物に対する安全性をいい、安全性試験の試験法と評価法は、原則として動物用医薬品のための安全性試験法ガイドラインに従う。ただし、副作用が現れる量としては臨床適用する出荷時最大量の10倍量とする。

VII. 環境影響に関する試験法とその評価法

1. 環境中での生存性（環境への拡散有無）

遺伝子組換え生ワクチンが投与した動物から排出されることが確認される場合においては、以下の試験を行う。

(1) 水道水又は蒸留水等における遺伝子組換え生ワクチン製造用株の生存性を経時的に確認する。

(2) 糞便等、動物の飼育環境中における遺伝子組換え生ワクチン製造用株の生存性の確認を行う。

VIII. 人への安全性に関する試験方法とその評価法

人への安全性に関する試験は、遺伝子組換え生ワクチン製造用株が対象動物内で増殖し、当該部位が人の食料となる場合及び遺伝子組換え生ワクチン製造用株が体外に排泄され、環境への拡散が想定される場合にのみ実施する。

1. 人への暴露の可能性と予測病原性

(1) 遺伝子組換え生ワクチン製造用株が可食部位中に生存する場合

遺伝子組換え生ワクチン製造用株の肉・卵・牛乳等（以下「肉等」という。）での生存性を検査する。肉等での生存性が認められる場合は、その期間等に応じて適切な対応を検討する。

人への感染性の可能性が高い遺伝子組換え生ワクチン製造用株の場合は、胃液での消化試験等を実施して人への感染性を評価する。

肉等での生存性が長期間（例えば、通常のルートで消費者までに届く期間以上）に認められる場合でも、人への感染性が認められない遺伝子組換え生ワクチン製造用株であれば、当該食品の摂取による遺伝子組換え生ワクチンによる人への感染の可能性はないものとする。

（２）遺伝子組換え生ワクチン製造用株が環境へ拡散され人に感染する場合

人への感染性の可能性が高い遺伝子組換え生ワクチン製造用株の場合には、人への感染性を検討する。感染性が認められた場合、その程度に応じて対処（回避）方法を記載する。既承認の弱毒生ワクチン株を親株とする場合は、既に人に対する安全性が認知されていることから、特段試験を実施する必要はない。

IX. 薬理試験

遺伝子組換え生ワクチンにおける薬理試験は、通常の生ワクチンにおける薬理試験と同様に、効力を裏付ける試験を実施する。

動物用遺伝子組換え生ワクチン安全性評価等ガイドライン案の解説書（案）

IV. 物理的・化学的試験 試験法とその評価法

Q1. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の塩基配列情報として何を記載するか。

[ガイドライン：IV.1 (1)]

A. GenBank 等に全塩基配列情報がある場合には登録番号を記載する。もし、用いた株の全塩基配列の情報がない場合には、外来遺伝子を組み込む前後の微生物の遺伝子配列（組換えの相同領域等を指す）の情報を記載する。

Q2. 挿入する遺伝子について記載すべき情報とは。[ガイドライン：IV.1 (2)]

A. 外来あるいは天然には存在しない合成遺伝子配列等を挿入する場合は、その挿入配列の名称や由来、性状の詳細（塩基配列情報等）を記載し、病原性についても言及する。挿入した遺伝子の発現が何らかの調節を受けるように設計されている場合には、その調節機構及び実験的根拠を明らかにする。また、供与核酸のすべての翻訳可能領域を明らかにする。

Q3. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の病原性復帰の評価法とは。

[ガイドライン：IV.2 (1)]

A. 既存のガイドライン（「ワクチン接種対象動物における動物用生ワクチンの病原性復帰否定試験について」及び動物用生物学的製剤基準の一般試験法に規定する「病原性復帰確認試験法」）に従って行う。「病原性復帰確認試験法」で実施する判定に加えて、5代継代後、回収した検体の外来遺伝子挿入領域の遺伝子構造の解析も併せて実施し、遺伝子構造に変化がないことを確かめる。

Q4. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株における遺伝子の再構成や変異の有無の評価法とは。

[ガイドライン：IV.2 (1)]

A. 遺伝子組換え領域において遺伝子配列を決定することが望ましい。

Q5. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の体内分布について親株と比較する必要があるか。

[ガイドライン：IV.2 (2)]

A. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株と親株をそれぞれ対象動物に接種して体内分布を比較した結果を記載することが望ましい。しかし、親株の体内分布について記載された文献があれば、これを引用して遺伝子組換え生ワクチン製造用株との比較を記載することで差し支えない。

Q6. 病原性の変化や排泄物中に含まれる微生物量の増加がある場合でもワクチンとして安全に使用できるか。 [ガイドライン：IV.2 (5)]

A. そのような遺伝子組換え生ワクチンでも使用方法を制限すること等により安全性を確保できる可能性があるので、これらの情報についても詳しく記載する。

Q7. 安全試験における投与量の最大量とは。 [ガイドライン：IV.3 (2)]

A. 原則 1 用量とする。動物種、母子で投与量が異なる場合はその最大量を指す。

VI. 安全性に関する試験法とその評価法

Q1. 安全性試験の中の高用量試験において、出荷時最大量の 10 倍量を調製できない場合は、どうすれば良いか。 [ガイドライン：VI]

A. その場合は、調製可能な最も高い投与量で試験を実施する。

VII. 環境影響に関する試験法とその評価法

Q1. 環境中における遺伝子組換え生ワクチン製造用株の生存性の確認試験はどのように設定するのか。 [ガイドライン：VII.1 (1)、(2)]

A. 1) 遺伝子組換え生ワクチン製造用株を水道水又は蒸留水等に添加し、4℃及び 37℃で経時的に生存性を確認する。この場合、生存性が親株以上にならないことを確認する。

2) 接種対象動物が飼育される環境を想定し、糞便、稲ワラ等にしみ込ませた遺伝子組換え生ワクチン製造用株の生存性を 4℃及び 37℃で経時的に確認する。この場合、生存性が親株以上にならないことを確認する。

VIII. 人への安全性に関する試験方法とその評価法

Q1. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の肉・卵・牛乳等での生存性を検査する場合、どのような条件下で行うのか。 [ガイドライン：VIII.1 (1)]

A. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株と親株を用いた比較試験が望ましい。両株を添加した食品から経時的に含有量を測定する。温度条件は、当該食品の流通过程での保存温度あるいは調理方法を考慮して選定する。

Q2. 人への感染性の可能性が高い遺伝子組換え生ワクチン製造用株とは。

[ガイドライン：Ⅷ. 1 (1)]

A. 親株が人獣共通感染症の原因微生物であるもの及び遺伝子組換えにより遺伝子組換え生ワクチン製造用株が人への感染性を獲得する可能性が高いものをいう。

Q3. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の人への感染性を検討する方法とは。

[ガイドライン：Ⅷ. 1 (2)]

A. 遺伝子組換え生ワクチン製造用株の分離同定が最も確実な証明方法であるが、適切な分離時期を特定することが困難であるので、当該ワクチン接種動物と接触する人の抗体検査が実用的である。

IX. 薬理試験

Q1. 通常生ワクチンで求められる薬理試験に関する資料にはどのようなものがあるのか。

[ガイドライン：Ⅸ]

A. 通常以下の資料が求められる。

- ①製造用株の最小有効抗原量
- ②対象疾病に対する最小有効（防御）抗体価
- ③免疫持続期間
- ④抗原量及び抗体価と発症及び感染防御との関係
- ⑤年齢、品種、接種ルート等による感受性の比較
- ⑥防御メカニズムの解析
- ⑦移行抗体の有無と効力（免疫適期）等
- ⑧類似時期に接種されることが想定される他種ワクチンの効力に及ぼす影響
- ⑨免疫成立の時期
- ⑩一生に 2 回以上接種するワクチンについては免疫増強効果