

# One World One Health勉強会 報告書

2016年7月



RAKUNO GAKUEN UNIVERSITY

酪農学園大学

# One World One Health 研究会

## 第3回研究会 報告書編集にあたって

第3回 One World One Health 研究会も無事盛会に終えることができ、参加していただいた先生ならびに関係各位に感謝申し上げます。

本年度は、OIE 食の安全ジョイントコラボレーティングセンターとの共催で開催され、全国 11 機関から合計 35 名と、多くの参加者のなかで充実した討論が交わされました。このように、各機関の情報を多角的に議論できたことは本会としても喜ばしい事でした。

今回の基調講演は、酪農学園大学の蒔田准教授による「国際社会における乳と衛生」でした。アフリカでの実例をもとに、疫学的アプローチによる疾病コントロールの要点を解りやすく興味深く講演されました。参加機関からは6演題の発表があり、バイオ医薬品産業における動物由来原料管理の規制動向に関する最新情報をはじめ、医薬品の製造やそれら関わる原材料の実際と応用について、各機関における取り組みや現状をお話しいただきました。質疑応答では、各機関が抱える疑問点等について活発に議論されました。

このような異分野機関の参加者による研究会は、ひとつのテーマを多角的な視野の元で議論できる利点があり、今後もこのような取り組みを進め発展させていきたいと考えております。本研究会の記録を兼ね、本誌をまとめさせていただきました。各発表内容のスライドも組み入れましたので、今後の皆様の創造と発展にお役立ていただければと思います。

2016年7月

One World One Health 研究会 世話人代表  
酪農学園大学 獣医学研究科  
萩原克郎



# One World One Health 研究会 報告書

## Contents

開催プログラム	1
基調講演	
「国際社会における乳と衛生」 酪農学園大学 蒔田浩平	2
機関トピックス	
「医薬品における動物由来原料管理の規制動向」 一般社団法人日本血液製剤機構 柚木幹弘	12
「養鶏農場の現状について」 株式会社科学飼料研究所 瀧野祥司	16
「ウサギの E 型肝炎」 日本臓器製薬株式会社 田口宣久	20
「霊長類プリオンモデル」 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 柴田宏昭	25
「プラノバの利用に関するワークショップのご紹介、および新しい利用方法の一例」 旭化成メディカル株式会社 井上雅晴	29
「PM2.5 における非生物と生物由来成分の相互関係について」 酪農学園大学 能田 淳	33
研究会議事録	37
意見交換会議事録	39
総合討論会議事録	40
総会議事録	41

One World One Health 第3回 研究会  
プログラム  
2016年7月8日～7月9日  
酪農学園大学 研修館

7月8日(金)

13:00～17:00 研究発表会 (敬称略)  
場所：酪農学園大学 研修館  
司会：酪農学園大学 萩原克郎

13:10～14:10 基調講演「国際社会における乳と衛生」  
酪農学園大学 蒔田浩平

14:10～14:20 休憩

14:20～15:20 機関トピックス第一部

- ① 一般社団法人日本血液製剤機構 柚木幹弘  
「医薬品における動物由来原料管理の規制動向」
- ② 株式会社科学飼料研究所 瀧野祥司  
「養鶏農場の現状について」
- ③ 日本臓器製薬株式会社 田口宣久  
「ウサギのE型肝炎」

15:20～15:30 休憩

15:30～16:30 機関トピックス第二部

- ④ 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 柴田宏昭  
「霊長類プリオンモデル」
- ⑤ 旭化成メディカル株式会社 井上雅晴  
「プラノバの利用に関するワークショップのご紹介、および新しい利用方法の一例」
- ⑥ 酪農学園大学 能田 淳  
「PM2.5における非生物と生物由来成分の相互関係について」

18:30～21:00 意見交換会 (ホテルエミシア札幌・31F ラ・ステラ)

7月9日(土)

9:30～10:30 総合討論  
10:30～11:00 総会および次年度打合せ

## 国際社会における乳と衛生

蒔田 浩平

酪農学園大学 獣疫学准教授

牛乳を初めとする家畜の乳は、人類の動物家畜化達成以降、絶えることなく利用されてきた。最近の国際社会における大きな牛乳問題としては、これまで急速に発展してきた中国経済が失速したため牛乳の国際的需要が低下し、特に欧州における乳価が下がったことから起因する一連の国際的影響が挙げられる。ここではこのような短期間でグローバル社会に影響を与える話題ではなく、演者が取り組んできた発展途上国におけるワンヘルス活動について二例紹介する。

世界では毎年 20 億症例もの下痢症が発生し、5 歳以下の子供 150 万人がこれにより死亡している。動物由来感染症は汚染飲用水に次いで重要な感染源であり、牛乳や山羊乳の衛生も大変重要である。国際家畜研究所 (ILRI) では 2008 年以降、サハラ以南アフリカおよび東南アジア、南アジア地域における動物由来食品衛生の向上と、同時に小規模生産者の衛生的な畜産物生産による貧困削減を目指し、非正規流通 (いわゆる闇市) へのリスク分析の応用と普及を行ってきた。エチオピアの事例では、牛乳または乳製品の喫食による黄色ブドウ球菌性食中毒のリスクアセスメントを実施した。バリューチェーンには正規・非正規流通が交錯し、消費者による非加熱生乳の購入が盛んであった。また生乳から直接発酵乳・ヨーグルトを作る調理を酪農家ならびに一般家庭の約 3 割が行っていた。推計学的リスクアセスメントでは、伝統的乳発酵により黄色ブドウ球菌性食中毒リスクが 9 割以上抑制されていることが分かり、衛生の改善には伝統的文化を妨げず却ってこれを用いるような方法が効果的であると考えられた。様々なステークホルダーとの参加型会議では、非正規流通を対象とした取り組みの重要性が認識された。

もう一つの事例は下痢症以外の牛乳由来人獣共通感染症であるブルセラ病についてである。ウガンダの首都カンパラでは非正規流通による生乳販売が盛んであり、販売牛乳の 12% がブルセラ菌に汚染されている。リスクアセスメントでは、効果的に住民のリスクを下げる方策をシミュレーションにより比較している。またタンザニアでの事例からは、モロゴロ州モロゴロ市都市部の酪農家の牛におけるブルセラ病有病率は非常に低く、一方農業放牧混合地域では約半分の牛群に少なくとも一頭のブルセラ病罹患牛がいることが分かった。リスク因子分析から、放牧中の感染と、ブルセラ病は流産を経験した牛の他農場への売却が疾病維持の原因となっていることが分かった。本年度経済分析を用いながら効果的の制御方法を検討していく。



第3回One World One Health研究会  
2016年7月8日(金) 酪農学園大学

## 国際社会における 乳と衛生

酪農学園大学  
獣医学部 准教授  
OIEジョイントコラボレーションセンター長  
蒔田 浩平



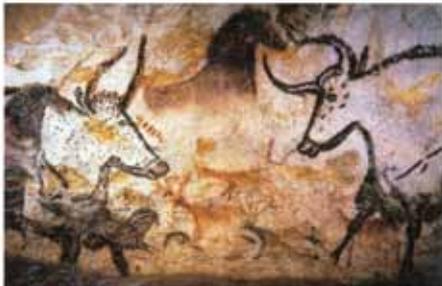

## アウトライン

- 自己紹介
- 国際社会と乳
- 発展途上国における食品衛生の重要性
- 参加型リスクアナリシス
  - 特にエチオピアでの事例から
- アフリカでのブルセラ病コントロール
  - ウガンダとタンザニアの事例から

## 自己紹介

- 略歴
  - 埼玉県川越家畜保健衛生所(1995-2001)
  - 青年海外協力隊ネパール(1998-2000)
  - 埼玉県秩父高原牧場(2001-2004)
  - エディンバラ大学獣医学博士課程(2004-2008)
  - 国際家畜研究所(ILRI)ポスドク(2008-2010)
  - 酪農学園大学(2010-現在)

## 国際社会と乳



家畜と人との長く深い関係-ラスコー洞窟、1万5千年前のクロマニヨン人の壁画(フランス)

## 国際社会と乳

- 乳流通のグローバル化
  - バター、チーズの重要性(本学の歴史の始まりにも関係)
  - 流通がもたらすグローバルな価格変動
- 乳は人が生きるための貴重な栄養
  - 遊牧民の存在
- 一方、乳は人獣共通感染症の源
  - 文明の進化によるリスクの克服
  - 伝統的な乳との付き合い方にも価値がある

## 発展途上国における食品衛生の重要性

- 世界では、毎年20億例の下痢症が発生、これにより5歳以下の子供150万人が死亡している
  - 汚染水による下痢症が最多、次いで動物由来食品媒介感染症
- 貧困層、幼少者、高齢者、妊娠中の女性、免疫不全症感染者で最も被害が多い
- 動物由来食品媒介性感染症には、下痢症のほかにも重要な人獣共通感染症が含まれる

### 動物由来食品の重要性



- 人に感染する病原体の60%以上が人獣共通感染性  
- このうち多くが動物由来食品から感染する
- 動物由来食品は食品媒介性疾病の中で最も重要
- 多くの動物由来食品媒介性疾病は動物に顕著な症状を見せないことが多い  
- 不十分な知識による病死動物食習慣も広く残っている
- 動物への抗生物質使用管理の問題
- 多くの人獣共通感染症は、感染動物のコントロールで制御が可能

### 発展途上国で占める「非正規流通」

(「非正規流通」: 衛生監視の行き届かない流通)




### 非正規 ≠ 違法



### コーデックス委員会食品衛生リスクアナリシス

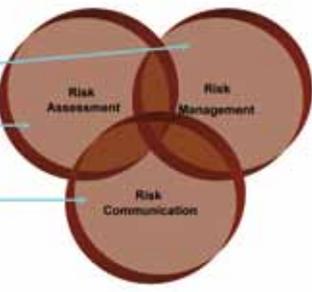
-不確かさの中での意思決定ツール-



\*リスクとは、あるシナリオが起こる確率と、それによるインパクトの大きさ (Vose, 2008)

### 非正規流通におけるリスクアナリシス

-参加型リスクアナリシス-

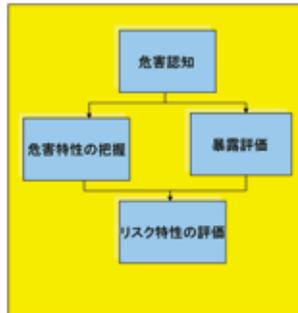



### 参加型手法とは?



- 基本的に、参加者が問題について話し合う
- 主な形式:
  - 迅速村落調査
  - 参加型村落調査
  - キー・インフォーマント・インタビュー

コーデックス委員会  
リスクアセスメントの枠組み (CAC/GL-30 (1999))



リスクアセスメントの種類と  
結果の表示方法

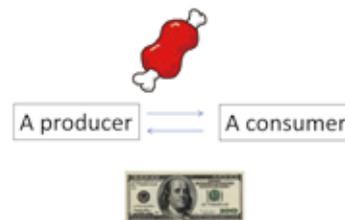
- 質的評価
  - 高い、中程度、低い、無視できる程度、など
- 量的評価
  - 決定論的 (ポイント推定)
  - 推計学的 (確率分布)

逆さ木分析の応用

- 感染・発症が起こる経路の把握



バリュー・チェーン



バリュー・チェーン



参加型リスクアセスメントの応用例  
エチオピアの事例から  
(ILRI, Safe food, fair food project)

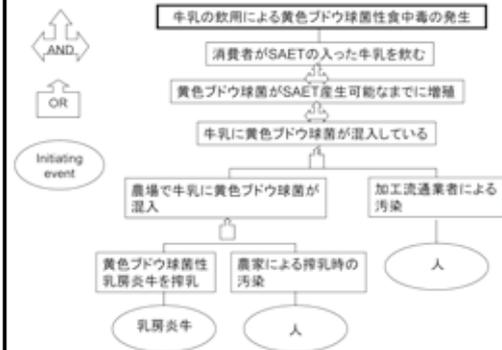


Risk assessment of staphylococcal poisoning due to consumption of informally-marketed milk and home-made yoghurt in Debre Zeit, Ethiopia. (Makita et al. (2012) Int. J. Food Microbiol. 155: 135-141.)

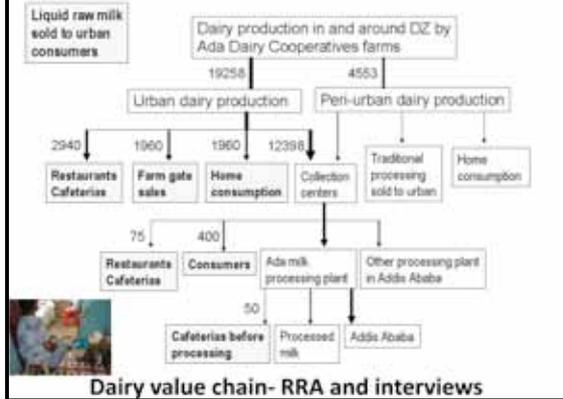
## 危害の認知

- 危害
  - *Staphylococcus aureus* enterotoxin
  - 牛乳では、*S. aureus* (黄色ブドウ球菌)の濃度が  $10^{6.5}$  CFU/mlを越えると産生
- *S. aureus*は先行研究でエチオピアの牛乳に存在することは報告済み

## 逆さ木分析: 疾病発生ロジックの把握



## 基盤評価



## 基盤評価

**汚染調査**

	<i>S. aureus</i> の検出	販売前の煮沸
集乳所 (n=25)	18 (70.4%)	0
酪農場 (n=170)	74 (43.6%)	0

**消費者自身によるリスク低減  
-参加型調査とインタビュー-**

	消費前の牛乳煮沸	Percentage
酪農家世帯 (n=170)	116	68.2
消費者 (n=25)	16	64.0

## 基盤評価

**家庭での飲用前の生乳保存  
(発酵によるリスク低減)**

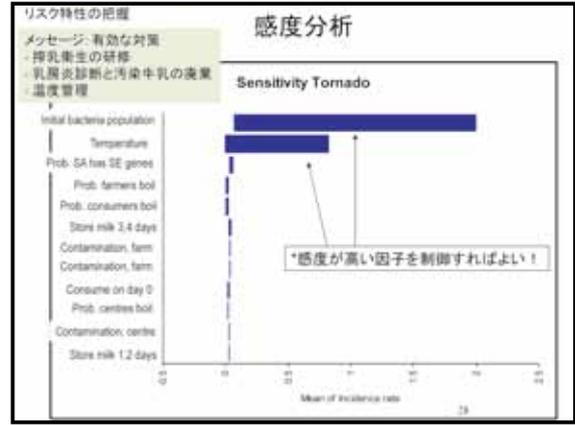
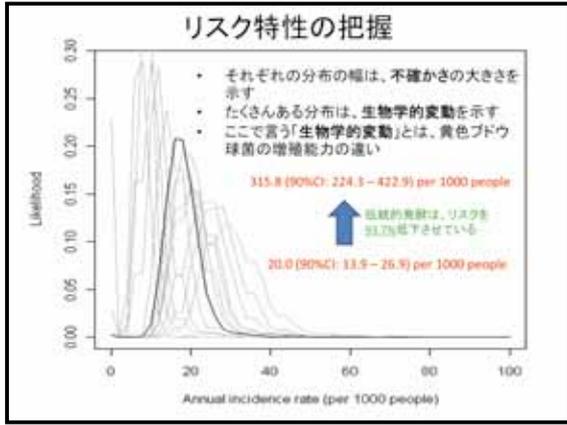
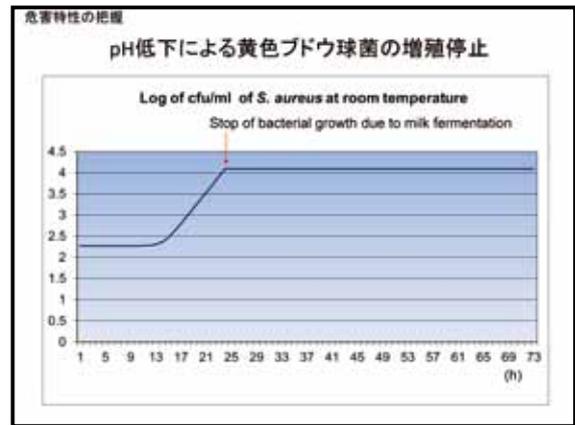
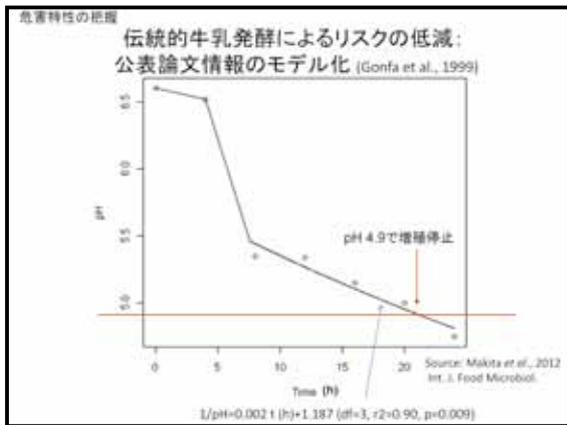
Length of raw milk storage (the numbers of respondents)  
-Interviews with dairy households consuming raw milk-

保存方法	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Total
室温	9	8	29	4	50
冷蔵庫	0	4	0	0	4
合計	9	12	29	4	54

Ergo (traditional fermented milk)

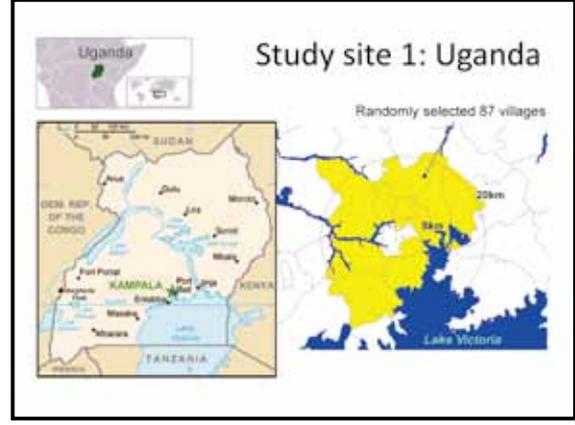
## 危害特性の把握

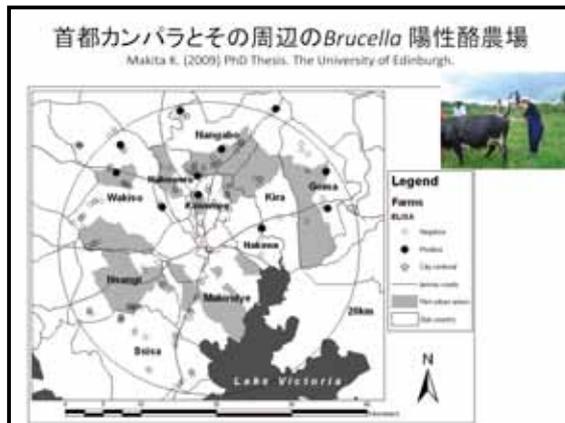




ブルセラ病

- Brucella* species
- 家畜のブルセラ病
  - 流産・関節炎を起こす
  - 流産胎仔、胎盤等に多量の菌
- 人のブルセラ症
  - 波状熱、関節炎、心筋炎、各種臓器の腫瘍形成
- 世界で最も蔓延する顕みられない人獣共通感染症の一つ
- 日本では撲滅





### リスク因子

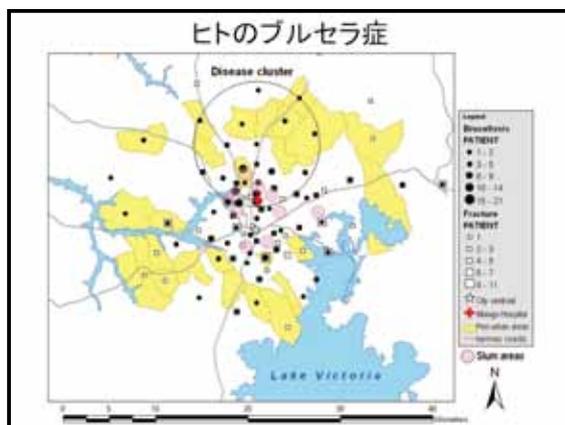
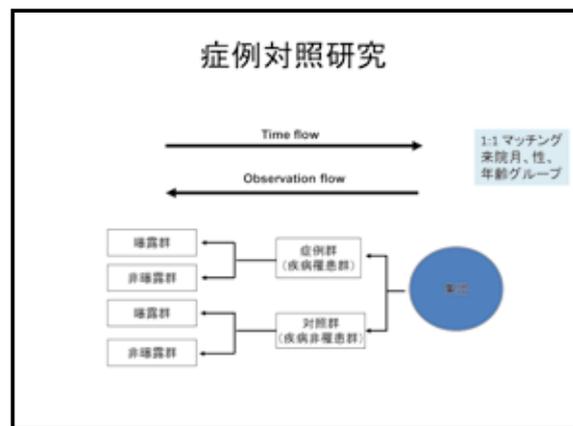
- 飼育頭数の大きさ(農場サイズ)
  - OR 1.3 (95%CI: 1.1-1.5),  $p < 0.001$
- 農場における流産経験牛の有無
  - OR 4.1 (95%CI: 1.0-17.6),  $p = 0.059$
- 放牧 (OR=2.7,  $p=0.2$ ) は最終モデルに残らないが、放牧と農場サイズに交絡あり

↓

放牧できるような大型農場でブルセラ病が発生し、流産を起こしている。

### ヒトのブルセラ症

- ムラゴ国立病院の診断記録から調査
- 女性に多発
  - 外来患者年間総数に占める女性の割合: 60%
  - ブルセラ症年間患者数(血清学的診断)に占める女性の割合: 69.1%
  - 有意差あり ( $\chi^2=11.5$ ,  $df=1$ ,  $p=0.001$ )
  - 調理に関係か



### クラスター形成の原因1: 骨折患者が遠方より搬送されるため

Numbers of all cases and controls and those live within 20km distance from city centroid in each level of urbanicity

	Case				Control			
	Urban	PU	Rural	Total	Urban	PU	Rural	Total
All	208	18	25	249	172	11	65	249
Within 20km	208	18	8	230	172	11	5	188

Exposure odds ratios and 95% confidence intervals from living in each level of urbanicity

	Urban	Peri-urban	Rural
All	2.27 (1.48-3.49)	1.49 (0.88-3.27)	0.31 (0.18-0.51)
Within 20km	0.88 (0.45-1.73)	1.20 (0.54-2.66)	0.98 (0.29-3.28)

Confounding factor: health seeking behaviour for fracture + catchment area

### クラスター形成の原因2: 病院近くに多いスラム街の影響

**Table 3 Examination for the association between living in slum areas and brucellosis by the odds ratio and 95% confidence interval**

	Case	Control	Odds ratio
Slum areas	41 (19.7%)	19 (11.0%)	1.97 (1.10-3.61)
The other zones	167 (80.3%)	153 (89.0%)	
Total	208	172	



### なぜ牛のいない都市部にブルセラ症患者が多いのか?

酪農地帯から流通する汚染牛乳か? ...



Cattle prevalence in Mbarara (Denard et al., 2005)  
Herd level: 55.6% (50, 61.2)  
Animal level: 15.8% (14.8, 16.7)

Exotic cattle / 1000 households

• ウガンダでは牛乳は主にミルクティーとして消費。発酵乳についてよく分かっていない。

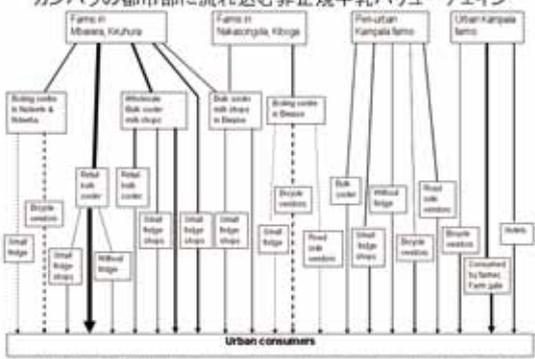
### カンパラにおける非正規牛乳流通のアクター達



- Shop with a bulk cooler
- Shop with a small refrigerator
- Boiling centre
- Trader with cans on a bicycle
- Roadside vendor
- Roadside vendor

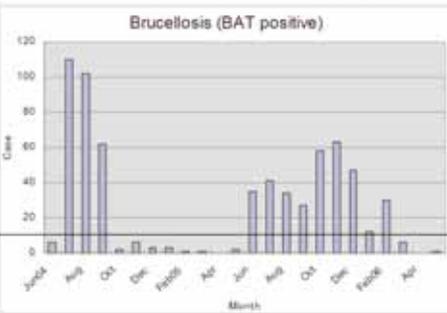
• Plus milk retail shop without refrigerator and dairy farmers selling at farms

### カンパラの都市部に流れ込む非正規牛乳バリューチェーン



Source: Makita K. et al. (2010). How human brucellosis incidence in urban Kampala can be reduced most efficiently? A stochastic risk assessment of informally-marketed milk. *PLoS ONE* 5 (12): e14188.

### 報告に上がらないブルセラ症患者数の実態

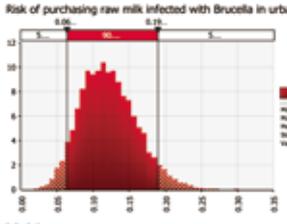


Brucellosis (BAT positive)

Incidence model: bootstrap-Monte Carlo Simulation in @Risk for 10,000 iterations

### 暴露評価

Risk of purchasing raw milk infected with Brucella in urban Kamp... 12.2%



Brucella infection risk

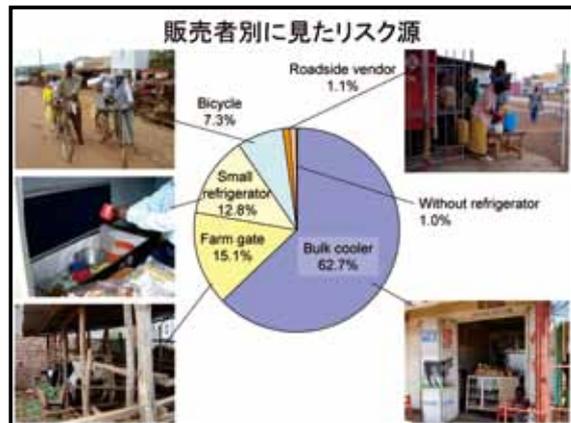
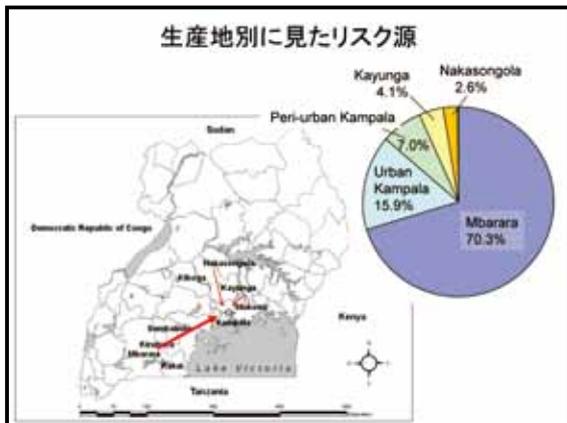
Minimum	0.00%
Maximum	0.20%
Mean	0.12%
Std Dev	0.08%
Value	10000

### 危害特性

ブルセラ症の危害特性: harmful (in 6 point scale: negligible-very harmful)

### リスク特性

年間ブルセラ症患者数: 3.5 (90% CI: 3.9 – 6.7) per 10,000 people



### 疾病制御のシナリオ・アナリシス

(90% of enforcement)

Control options	Reduction	Inputs	Feasibility	Negative impact	Assessment
Not to take any option	0.0	None	High	Risk remains	Not recommendable
Construct a boiling centre in Mbarara	62.3	A boiling centre, vegetation, fuel	Middle-high	Price up	<b>Recommendable</b>
Construct boiling centres in peri-urban Kampala	75.4	Boiling centres, vegetation, fuel	Middle	Price up	<b>Recommendable</b>
Enforce milk shops to boil milk or to buy boiled milk	88.8	Legislation, fuel, facilities, enforce	Very low	Price up, many shops cannot afford	Not recommendable
Ban of farm gate milk sales	12.3	Legislation, enforcement	Low	Alternative sales may not boil	Single measure does not change the risk
Ban of urban dairy farming	14.8	Legislation, enforcement	Middle	Livelihood of urban farmers, milk supply	Not recommendable
Ban of milk sales by traders with a bicycle in urban areas	6.0	Legislation, enforcement	High	Livelihood of traders, alternative transport may not boil	Single measure does not change the risk
Ban of roadside milk sales	0.9	Legislation, enforcement	High	Livelihood of traders, alternative transport may not boil	Single measure does not change the risk
Ban of milk sales at shops without a refrigerator	0.8	Legislation, enforcement	High	Livelihood of traders, alternative transport may not boil	Single measure does not change the risk



- ### 有病率
- 都市部
    - 農場レベル: 0.9% (1/106)
    - 牛個体レベル (1/667): 0.1% (95% CI: 0 - 0.4, Bayesian)
  - 農業放牧混合地域
    - 農場レベル: 52.9% (9/17)
    - 牛個体レベル (28/673): 7.4% (95% CI: 4.8 - 10.8, Bayesian)

- ### リスク因子
- 農場レベル: 放牧、流産
  - 牛個体レベル:
    - 年齢、流産、外部導入牛
    - 流産経験牛を売却するモラルハザードか?
-

## まとめ

- 開発途上地域で、乳は貴重な栄養源
- リスクの考え方の重要性と有用性
- 伝統的食品加工を用いた受け入れ可能なリスク低減
- 社会経済学とのOne Healthの重要性

## 謝辞

- 国際家畜研究所 (ILRI)
- ドイツGIZ
- エディンバラ大学熱帯獣医学センター・感染症センター
- JICA海外長期研修
- 文科省私立大学戦略的研究基盤形成事業
- JICA青年海外協力隊
- 農学知的支援ネットワーク (JISNAS)
- アジスアババ大学獣医学部
- ソコイネ農業大学獣医学部

ご清聴ありがとうございました。



## 医薬品における動物由来原料管理の規制動向

柚木 幹弘

一般社団法人 日本血液製剤機構 研究開発本部  
酪農学園大学大学院 獣医学研究科

日本における医薬品の動物由来原料管理は厚生労働省が発出した生物由来原料基準で規定されている。この基準は血液製剤総則、人由来製品原料総則、動物由来製品原料総則からなっている。一方、近年の科学技術の進展に伴って、新しい技術を応用した医療及び医薬品の実用化のスピードに規制が追いついていない場面も見受けられるようになってきた。

これまでのバイオ医薬品は遺伝子組換え細胞を大量培養して目的産物を得ていた。この場合は原料管理と精製工程でのウイルス不活化・除去の組合せで安全性を担保していた。この医薬品でもウイルスの混入事例が散発的に報告されている。一方、新しい技術を応用した医薬品や医療として、再生医療、細胞治療、遺伝子導入などがあるが、これらをまとめた言葉として **Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs)** という。この ATMPs については製造工程でのウイルス不活化・除去が非常に困難であることから、その安全性の担保は原料管理に依存する形になっている。

2016年6月にこの ATMPs のウイルス安全に関する国際学会がベルリンで開催された。様々なトピックが発表されたが、技術が先行してリスク管理が追いついておらず、議論はこれから始まるという印象を受けた。

本報告では、この国際学会で議論されたトピックの一部を紹介し、今後の動向を議論したい。



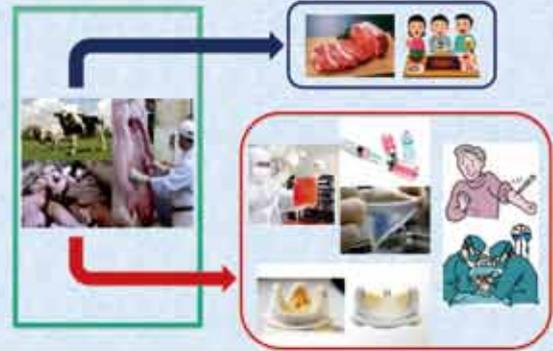
## 医薬品における動物由来原料管理の規制動向

OWOH研究会  
2016.7.8

柚木 幹弘

日本血液製剤機構 研究開発本部  
群馬大学大学院獣医学研究科 病原体リスク管理学講座「産学連携講座」

## 私たちは原料の最上流である動物の実態を知らない



## 動物由来原料の問題点

- 現在の家畜動物の衛生管理は食料としての管理のみ
- 医薬品・医療用具としての飼育管理はルール化されていない
- One healthとの関連性はまだ言及されていない

- 医薬品・医療用具のドナーとしての動物を熟知している専門家がいない
- 人医薬品業界は動物製メーカーとのチャンネルが細い
- バイオ医薬品業界は獣畜産産領域とのチャンネルが細い

### 現在の状況

- Raw material controlとしてルール化の動き
- Virus barrierという概念の確立
- 国内では第6次産業との関係性

今後は動物由来原料管理が安全対策のトピックになっていくものと思われる

Genentechは少なくとも2007年に原料管理体制を構築している

## これまでの主要なルール

生物由来原料基準の運用について 平成26年10月2日

### ICH ガイドライン(特にQシリーズ)

- ICH-Q1 安定性
- ICH-Q2 分析バリデーション
- ICH-Q3 不純物
- ICH-Q4 薬局方
- ICH-Q5 生物製品の品質
- ICH-Q6 規格および試験方法
- ICH-Q7 GMP(医薬品の製造管理および品質管理に関する基準)
- ICH-Q8 製剤開発
- ICH-Q9 品質リスクマネジメント
- ICH-Q10 品質システム
- ICH-Q11 原料の開発と製造
- ICH-Q12 ライフサイクル管理

その他、各国・個別の行政・規制文書

## 相談事業「再生医療等製品材料適格性相談(仮称)」の設置

医薬品医療機器総合機構YakujiNews Net 2016/6/28

医薬品医療機器総合機構(PMDA)は6月27日、新たな相談事業「再生医療等製品材料適格性相談(仮称)」を立ち上げると発表しました。開発初期段階から治験計画の届出を行う前までの再生医療等製品の製造に使用される、ヒト・動物由来成分を含む材料の適格性について、材料の供給者を対象に相談に応じるもの、1相談につき1材料の範囲で指導・助言し、適格性が確認された場合は確認書を発行する。なお、材料の具体例としては、地帯等のように最終製品の構成成分としないものを提示している。また、相談料の新設に当たりPMDAでは、同日から手数料案に関する意見募集を開始。手数料は1相談当たり47万3200円を想定している。募集期間は7月26日まで。

## 再生医療等製品(ヒト細胞加工製品)の品質、非臨床試験及び臨床試験の実施に関する技術的ガイダンスについて

2.1. 原料等の適格性

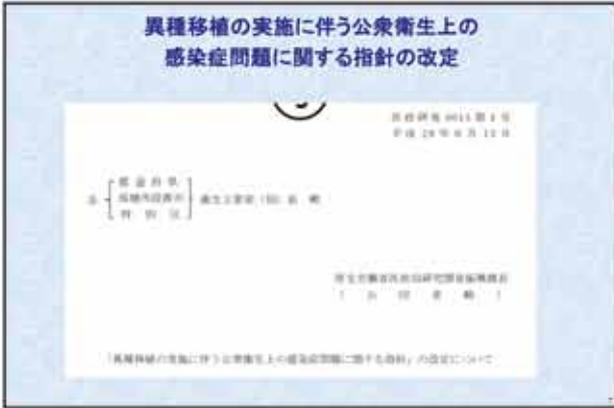
2.1.1. 原則

2.1.2. 生物由来原料基準の対象となる原料等の範囲

2.1.3. 原料及び材料となる細胞・組織のウイルス安全性管理

2.1.4. 材料となるヒト又は動物由来成分のウイルス安全性管理

2.1.5. 製造販売業者が把握すべき原料等に関する情報



**Key Topic**

- ヒト血漿成分を培地添加物として使用 (Xenofree SCC)
- 原材料管理
- 異種移植
- 製造工程での品質確保 (validation, GMP / PIC/s)

**Key words**

- ATMPs: Advanced Therapy Medicinal Products
- CBMPs: Cell based medicinal products
- SCC: Supplement for Cell Culture
- Xenofree: Materials free from non-human origin
- GMP: Good manufacturing practice
- PIC(s): Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (医薬品査察協定および医薬品査察協同スキーム)

**Points of discussion**

ATMPs are produced using **complex cell culture** systems involving a variety of **biological raw materials**.

It is **difficult to perform conventional tests** for adventitious virus contamination on cell based medicinal products **or to apply virus inactivation methods on living cells**.

Therefore, the **use of carefully selected and well-controlled raw materials** is a crucial factor for the production of ATMPs.

Efforts are being made to **replace bovine sera**, however, providing for adequate **viral safety margins of human-derived and other biological materials** remains similar a challenge.

**Managing Raw Material Risk for Cell and Gene Therapies**

PDA ATMP Viral Safety Workshop  
Karen Walker, VP Quality, Cell and Gene Therapies, Novartis  
Berlin, 06 June, 2016

In Summary,...

- Materials provide a significant risk of transmission of Adventitious Agents into ATMPs.
- The nature of ATMPs make it difficult to ensure freedom from Adventitious Agent contamination.
- Application of some of the "tried and true" principles for viral clearance/removal, and control of other AAs at appropriate points in the process, including prior to receipt of the materials, will increase the assurance of safety of these products in a significant way.

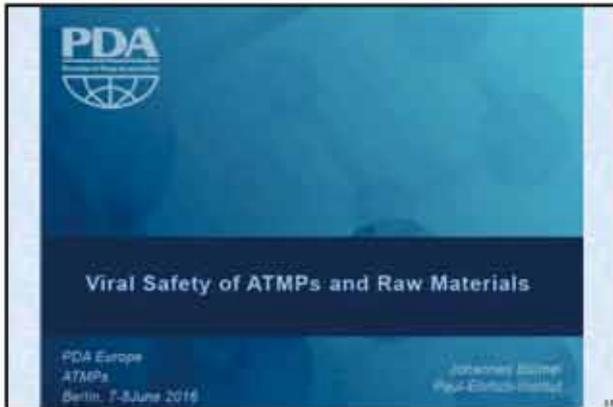
125

AMBERT VONDER HANDELST

**Viral Safety Issues with Xenotransplantation of Porcine Pancreatic Cells**

Joachim Denries  
Robert Koch Institute

Viral Safety of ATMPs  
Berlin, 6 June 2016



### Viral Safety of ATMPs & Raw Materials

感染性物質混入阻止のために3つの原則が必要である。すなわち、①原料及びドナーの選択、②検査、③不活化・除去、である。

FBSは原料としてよく使用されるが、混入リスクのあるウイルスは多数存在する。代替物として人血漿や血小板を使用するアイデアが浮上しているが、FBSと比べても一長一短である。

ATMPsの製造業者は血液製剤で導入されている不活化・除去法を応用し、リスクアセスメントを強化すべきである。

ATMPsの製造工程をGMPでコントロールするにはまだまだ課題がある。

### Managing Raw Material Risk for Cell and Gene Therapies.

ガイドラインは現状のバイオ医薬品に対するものをベースに考えるべきであり、ウイルスに対する検査、不活化除去も血漿分画製剤と同等の対応が必要である。TSEリスクアセスメントも同様である。

血漿分画製剤と同様、TraceabilityやLook back制度のみならず、記録を30年以上保持することが必要である(医薬品の有効期限を起点)。

原材料はその由来等を踏まえて、安全性を4つにカテゴリー化している(Material categorization 1 to 4)。

### Virus-inactivation (Pathogen-reduced) Platelet Preparations as Enhanced Supplement for ATMPs

ヒト血小板、血小板Lysateを細胞培養のサプリメントとして使用する事ができる。

実際にこれまで発表施設で2013年から2016年までに250Lの血小板を使用した。これは増地2,500L分に相当する(10%添加)。

不活化方法として光不活化 (Intercept, Riboflavin, Mircinol, Theraflex), SD処理, ガンマ線照射 (30 kGy)等を想定している (Pathogen-reduced Platelet Preparations)。

Pathogen-reduced Platelet Preparationsは原料(増地添加物)との位置付けである。原材料管理の考えが適用されるが、標準化や均一性などの問題を解決させる必要がある。

報告者注: 血小板の使用量が多く、増地添加物とするにはまだハードルが高いと考えられる。小型ウイルスに対する考え方が明確でないとの指摘がフロアーからあった。また、アルブミンにおいても、HAVやHEVに対する安全性を考慮すべきであるとの意見がフロアーから提議された(ウイルス除去膜を導入する?)。

### 全体を通しての印象:

ATMPs, CBMPsのウイルス安全性は議論の途に就いたばかりであり、合意形成はまだできていない。現時点のウイルス安全性は、治験や申請段階でCase by cases baseの議論を行っているようであった。

議論や質疑を通じて、ウイルス安全対策について明確な考え方を示した参加機関は少なく、まだ触れてほしくないと思っている印象であった。

米国の当局サイドや参加企業側は規制を緩めたい方向(何も問題が起こっていないので起こってから対処)であるのに対して、欧州サイドは分画なみの規制をかけたい方向(予防保全の考え方)である印象を持った。

### 将来構築すべきコンソーシアム像

国際競争力を有する産業育成を目的とした産学官連携コンソーシアム  
動物飼育から医薬品・医療機器製造まで全てをカバーする組織

<b>大学等研究機関</b> 医学部 獣医学部 薬学部 工学部 など	<b>動物飼育企業</b> 試験製造企業 材料製造企業 増地等製造企業 製薬企業	<b>行政機関・研究機関</b> AMED 厚生労働省 経済産業省 農林水産省 国立研究所など
---	--	--

- ・ プラットフォームはアカデミア。出口戦略は産業化(国力の増強)。行政はその支援と環境整備
- ・ 海外では既に実働しているが、リーダーシップを取ろうとするグループとフォロワーになろうとするグループに分かれる傾向。日本も選れるわけにいかない。
- ・ ヨーロッパは予防安全の考え方が強く、アメリカは事後対処の考えが強い。予防安全にエフォートをかけすぎると、事後対処型ビジネスに負けてしまう。戦略的バランスが肝要。

## 養鶏農場の現状について

株式会社 科学飼料研究所

瀧野 祥司

養鶏農場において、飼料添加物としての抗生物質の添加を行わない無薬とする農場が肉用鶏農家で増加している。肉用鶏では、比内鶏などの地鶏を除いた一般鶏では増体が早くなる育種改良に伴い飼養日数が短くなってきており、獣医師指示のもと抗生物質の使用できる期間が短くなってきている。採卵鶏についても、育成の時期以外は産卵しているため基本的には抗生物質の使用が難しい。さらに平成 26 年 8 月に「鶏用フルオロキノロン剤の慎重使用と有効性の確保」を農林水産省から通達されたことにより抗生物質の使用が難しい環境となっている。一方で、種鶏においては肉用鶏および採卵鶏ともに、廃用までは肉として食べるわけではなく、また卵も食するわけではないため抗生物質使用の期間に制限はなく、比較的使用が容易である。

抗生物質の使用法については、1 鶏舎での飼養羽数が 5 万羽程度の鶏舎がみられるなど大きくなるに伴い、餌タンクも大きくなり、均一に餌と抗生物質を混和することが難しくなっている。そこで、飲水に混ぜて給与する方法がとられる。飲水にて使用する薬剤の種類が少なく、大腸菌症などフルオロキノロン剤を使用しなければならない場面にしばしば直面する。

抗生物質の使用に制限が多いこと、また飼養羽数が多く個体治療を行うことができないことから、疾病から守るためにはワクチンによる発症予防が主な対応となる。ワクチンについては、ニューカッスル病 (ND)、マレック病 (MD)、鶏伝染性気管支炎 (IB)、鶏伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) などに対するワクチンの接種が広く行われている。これらの多くが生ワクチンであり、注射ではなく、点眼・噴霧・飲水といった他の畜種ではあまり見られない方法で実施されていることが、鶏の大きな特徴と言える。

同一環境で多数飼養しているのが養鶏場の現状であり、今後海外で実施されつつあるアニマルウェルフェア対応が国内に適応されると、採卵鶏ではケージ飼育が禁止され、肉用鶏・産卵鶏問わず、羽あたりの最低飼養面積の大幅な増加が必要となり、飼養形態が大変革される可能性がある。



## 養鶏農場の現状について



株式会社 科学飼料研究所  
瀬野 祥司

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

1

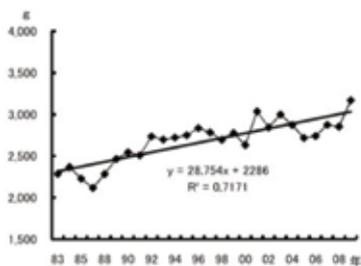
## 肉用鶏

- 無薬体系が増加している。
  - 全く抗生物質を使用しないのではなく、飼料添加物としての抗生物質を投与しない体系が多い。
- 飼養日数が短くなってきている。
  - 現在、国内で飼養されている大半がROSS系(チャンキー)である。育種改良が進み、近年では当然のように出荷日齢が50日を切る状況となっている。

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

1

## 肉用鶏7週齢時の体重の推移



徳島畜研報2011 No.10より抜粋

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

1

## 採卵鶏

- 農場の大型化
  - 近年では5万羽を超える鶏舎が増加してきている。
- 鶏舎の構造の変化
  - 解放鶏舎で高床式の鶏舎からウインドウレスなどへと構造が変化し、鶏舎全体の衛生レベルが上がっている。

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

1

## 抗生物質使用について

- 個体治療を行うことはないため抗生物質は餌への混和あるいは飲水添加の2種類が行われる。
- 肉用鶏では、飼養日数の減少に伴い、薬剤の使用できる期間が短くなっている。
- 採卵鶏では、休業期間のない一部の薬剤を除いて、卵を産み始める前の期間に使用は限局される。
- 農林水産省からの鶏用フルオロキノロン剤の慎重使用と有効性の確保を通達され、抗生物質の使用が難しくなっている。

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

1

## 抗生物質について

- 現行、使用している薬剤の一例
  - アンピシリン(飼料添加、飲水添加)
  - アモキシシリン(飲水添加)
  - オキシテトラサイクリン(飲水添加、飼料添加)
  - エンフロキサシン(飲水添加)
  - フロルフェニコール(飲水添加)

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

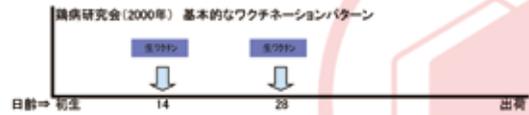
1

## 鶏のワクチン

- 抗生物質の使用に対して制約が多く、個体治療を行うことがないため、主にワクチンにより疾病から守る。
- 主に使用されるのは、ニューカッスル病 (ND)、マレック病、鶏伝染性気管支炎 (IB)、鶏伝染性ファブリキウス囊病 (IBD) など
- 多くのワクチンは生ワクチンであり、接種方法は点眼、噴霧、飲水が主流
- 培養細胞を使うのではなく、現在も製造は発育鶏卵を利用したワクチンが主流

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

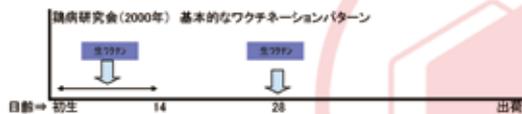
## ワクチネーションプログラム (プロイラーND)



- 【実際は...】
- 初回接種は、移行抗体が消失する頃が適期、定期的に抗体検査を用いてワクチネーションが適切か確認することも重要
  - 2回目の追加接種を3週齢で行う農場も多い

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

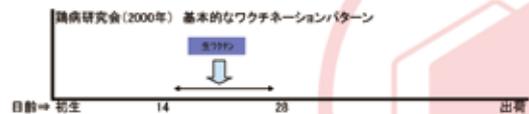
## ワクチネーションプログラム (プロイラーIB)



- 【実際は...】
- 初生の散霧投与のみ実施農場が多い
  - 必要に応じ、2~3週齢で追加接種を行う農場も少なくない
  - IBワクチンを接種しない農場もある

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## ワクチネーションプログラム (プロイラーIBD)



- 【実際は...】
- 抗体検査により移行抗体の消失時期を確認しワクチネーションを決めている。
  - 2回接種の農場が多い

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## ワクチネーションの一例 (プロイラー)

日齢	接種ワクチン	接種法
孵化前	マレック病	卵内接種
雛生	ニューカッスル病、コクシジウム、伝染性気管支炎	噴霧
7	伝染性気管支炎	飲水
14	ニューカッスル病、伝染性気管支炎	飲水
21	伝染性ファブリキウス囊病	飲水
28	伝染性ファブリキウス囊病	飲水

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## ワクチネーションの一例 (採卵鶏)

日齢	接種ワクチン	接種法
雛生	伝染性気管支炎、鶏痘、マレック病	点眼、皮下
15	ニューカッスル病、伝染性気管支炎	点眼
18	伝染性ファブリキウス囊病	飲水
28	伝染性ファブリキウス囊病	飲水
30	ニューカッスル病、伝染性気管支炎	噴霧
40	伝染性気管支炎	噴霧
55	マイコプラズマ・ガリセプチカム	点眼
60	鶏痘	穿刺
60	腸脳脊髄炎	飲水
65	ニューカッスル病、伝染性気管支炎	噴霧
75	伝染性喉頭気管支炎	点眼
85	8種混合、サルモネラ	皮下
90	伝染性気管支炎	噴霧

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## 現場での噴霧



SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## 鶏伝染性気管支炎による腎臓の退色と腫大



SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## 養鶏の今後について

- 欧米でアニマルウェルフェアが問題となっている。
  - アメリカではマクドナルドや大手スーパーでケージ飼育の鶏から採った卵の取り扱い、利用を中止するとの決定がなされている。
  - ヨーロッパでは、卵は飼養形態(ケージ、平飼い)により差別化され販売している。

- 
- 日本に導入されると、
    - 使用可能となる羽数が大幅に減少する。
    - ワクチンの接種に大きな労力が必要となる。

SFL Scientific Feed Laboratory Co., Ltd.

## 「ウサギの E 型肝炎」

日本臓器製薬株式会社 ノイロトロピン再開発統括部

田口 宣久

E型肝炎はE型肝炎ウイルス(HEV)によって引き起こされる急性あるいは劇症の肝炎である。E型肝炎ウイルスは1型から4型の遺伝子型に分類されており、糞口経路により感染し、1型と2型はヒトのみから分離され、衛生環境の劣悪な新興地域で大規模な流行を引き起こしているのに対し、3型と4型は主に家畜や野生動物から分離され、先進地域において散発的にヒトに発生するE型肝炎の原因となっていることから人獣共通感染症として注目されている。

日本臓器製薬が製造販売しているノイロトロピン（一般名：ワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液）は、ワクシニアウイルスをウサギの皮膚に接種して惹起した炎症皮膚組織から抽出した生理活性物質を有効成分とする鎮痛薬であり、ウサギの炎症皮膚組織は日本および中国で製造されている。

HEVはブタやイノシシ、シカなど幅広い動物種に感染していることが知られているが、ウサギにもHEVが感染していることが報告されており、特に中国での報告件数が多いことから、ノイロトロピンの原料として使用しているウサギへのHEV感染と製品の品質へ及ぼす影響を調べるため、現在、萩原教授らの協力のもとウサギのHEVの分離を試みている。

ヒトやブタと比較してウサギのE型肝炎に関する知見は少なく、今回、文献情報からウサギのE型肝炎研究の現状について報告する。



## ウサギのE型肝炎

日本臓器製薬株式会社  
ノイロトロピン再開発統括部  
田口 宣久

One World One Health勉強会  
2016年7月8日

### ワクシニアウイルス



- 天然痘ワクチン
- ポックスウイルス科
- 180~190kbのdsDNA
- エンベロープを有する

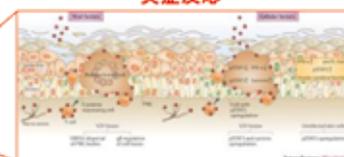
### ノイロトロピン®



低分子化合物を抽出

皮膚感染

炎症反応



日本臓器製薬

2

## ノイロトロピン®

効果・効能	注射剤	錠剤
腰痛症	○	○
頸肩腕症候群	○	○
症状性神経痛	○	
帯状疱疹後神経痛 (PHN) 1999		○
SMON後遺症の冷感・異常知覚・痛み 1993	○	
変形性関節症		○
肩関節周囲炎		○
皮膚疾患に伴う掻痒	○	
アレルギー性鼻炎	○	



日本臓器製薬

3

### ワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚製造工場



日本臓器製薬

4

## E型肝炎

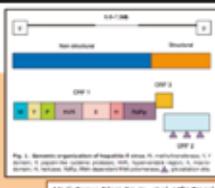
- E型肝炎ウイルス(HEV)が原因ウイルス
- ヘペウイルス科
- 直径30nmのノンエンベロープウイルス
- ssRNA、約7.2kb
- 3つのORFからなる(ORF1~3)

### ・人獣共通感染症

- ヒトで肝炎を発症(多くは不顕性感染、妊婦で重篤化)
- 潜伏期間2~9週(平均6週間)
- ブタ、イノシシ、シカ、マングース、ヒツジ、ウサギ等
- 糞口感染

### ・ウサギからヒトへの感染報告あり

- (2012年、フランス、免疫抑制剤使用者)
- 原料ウサギのリスク評価のため2014年より萩原教授らと共同研究を開始



Marie Teresa Pinheiro Garcia et al. J Clin Transl Res 2013; 3(2):117-26.

日本臓器製薬

5

## ウサギへのHEV感染状況報告(中国)

国	感染状況	文献
中国(甘肅省)	抗体: 57% (191/335) PCR(血清): 7.5% (25/335)	Zhao C. et al. J Med Virol. 83(8):1371-9 (2009)
中国(北京)	抗体: 54.62% (65/119) PCR(糞便): 6.96% (8/119)	Geng J. et al. J Viral Hepat. 18(9):661-7 (2011)
中国(10ヶ所)	抗体: 15.4% (109/7094)(湖南省: 53.4%, 55/103) 抗原: 3.7% (41/1094) PCR(血清): 2.61% (22/7094)	Geng Y. et al. Infect Genet Evol. 11(2):476-82 (2011)
中国(内モンゴル)	抗体: 57.3% (121/211) PCR(肝臓): 71.6% (151/211)	Jirintai S. et al. Virus Res. 170(1-2):126-37(2012)
中国(河北省)	抗体: 23.2% (67/289) PCR(血清): 10% (29/289)	Geng Y. et al. Infect Genet Evol. 11(9):94-9 (2011)
中国(江蘇省)	PCR(胆汁): 6.4% (42/661)	Wang S. et al. J Med Virol. 85(4):627-35 (2013)
中国(江蘇省連雲港市)	PCR(糞便): 3% (6/199)	Han J. et al. J Med Virol. 86(11):1898-904 (2014)
中国(北京)	PCR(糞便): 5% (6/402) 河南省と山東省は陰性	Xia J. et al. Arch Virol. 160(11):2791-8 (2015)

日本臓器製薬

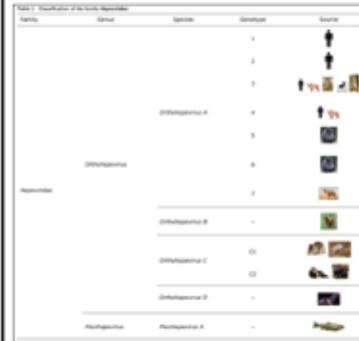
6

## ウサギへのHEV感染状況報告(欧米)

国	感染状況	文献
アメリカ (バーミングハム)	抗体: 34% (31/85) PCR(糞便): 15% (13/85) PCR(血清): 16% (14/85)	Cossaboom CM, et al. Emerg Infect Dis. 17(11):2043-9 (2011)
フランス	PCR(胆汁・糞便): 7% (14/200) PCR(肝臓・野生): 23% (47/205)	Isopet I, et al. Emerg Infect Dis. 18(8):1274-81 (2012)
アメリカ (東部動物施設)	抗体: 40% (28/70), 50% (5/10)	Birke L, et al. Emerg Infect Dis. 20(4):693-6 (2014)
ドイツ (Greifswald)	野生(1989年) 抗体: 31% (4/13) PCR(血清): 7.7% (1/13)	Eiden M, et al. Food Environ Virol. 8(1):105-7 (2016)
イタリア	抗体(糞便): 3.40% (9/266) 抗体(ペレット): 6.50% (6/92)	Di Bartolo L, et al. Arch Virol. 161(5):1343-6 (2016)
オランダ	PCR(糞便・糞便場): 23% (6/25) PCR(糞便・野生): 6% (6/10) PCR(糞便・ペレット): 18% (5/27) PCR(肝臓・野生): 66% (18/28)	Bart SA, et al. Food Environ Virol. (2016)

日本機器製薬 7

## HEVの遺伝子型



- HEVはその遺伝子配列から1~4型の遺伝子型に分類されていたが、近年、様々な動物種からそれらとは遺伝子型の異なるウイルスも分離されている。
- 1型と2型はヒトからしか分離されず、遑上国における大規模なe型肝炎流行の原因となっている。
- 3型と4型はブタや野生のイノシシ、シカなどから分離され、先進国においてヒトに突発的に発症するe型肝炎の原因となっており、人獣共通感染症として注目されている。

Maria Teresa Pérez-García, et al. J Clin Transl Hepatol. 2013; 3(2):117-26.

日本機器製薬 8

## HEVの世界分布



Fig. 2. Geographical distribution of hepatitis E virus genotypes.

Maria Teresa Pérez-García, et al. J Clin Transl Hepatol. 2013; 3(2):117-26.

日本機器製薬 9

## ウサギのHEVのフルゲノム系統樹



- : ウサギHEV
- △: ヒトHEV(フランス)
- ◇: リファレンス配列

ウサギのHEV遺伝子は3型と類似しているが、それとは明らかに異なるクラスターを形成している。

Fig. 3. Phylogenetic tree based on full genome sequences of HEV. The rabbit HEV strains are clustered together, indicating a distinct lineage. The tree also shows various other HEV strains from different sources and locations.

Uchome S, et al. J Clin Virol. 2013; Oct; 56(2):107-10.

日本機器製薬 10

## ウサギのHEV遺伝子の特徴



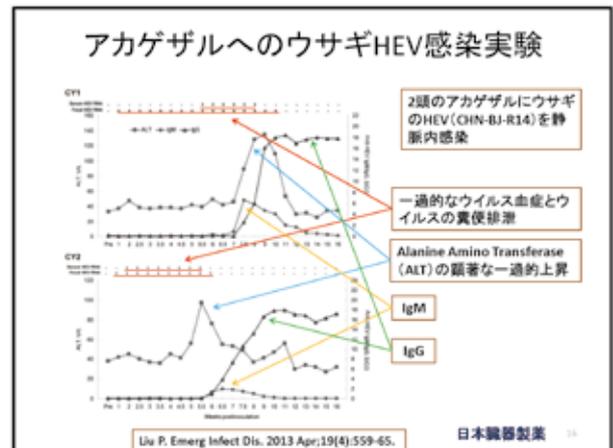
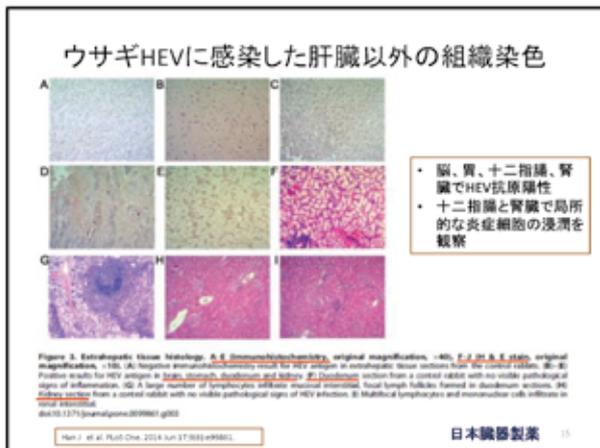
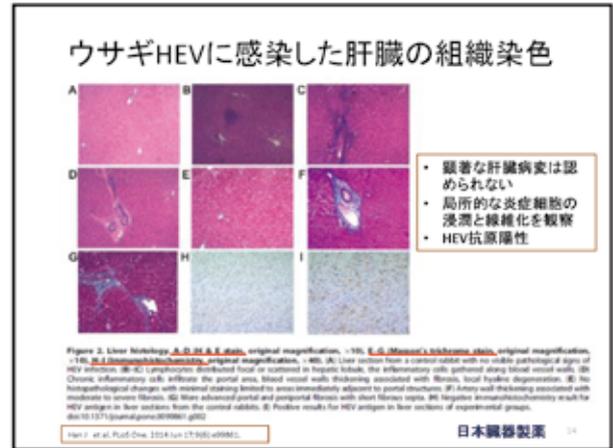
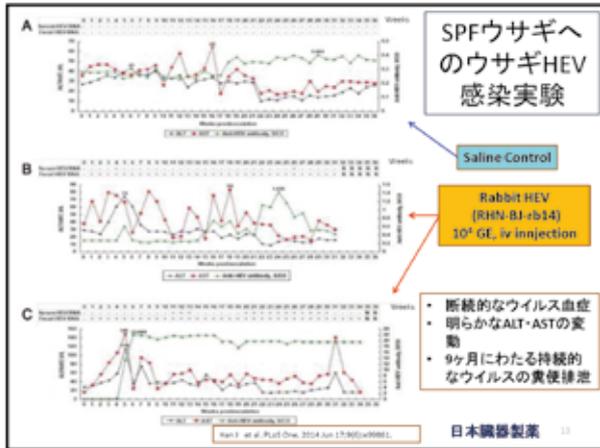
Fig. 3. Multiple alignment of rabbit HEV to HEV1. The rabbit HEV strain shows a 93-nucleotide insertion in the ORF1XD domain in comparison with other strains. A frameshift (718-1817) is also present in the rabbit HEV strain, suggesting the potential genetic relationship between rabbit HEV and HEV1.

Uchome S, et al. J Clin Virol. 2013; Oct; 56(2):107-10.

ウサギのHEV遺伝子のORF1XDドメインには93塩基の挿入がある。

日本機器製薬 11

## ウサギHEVの病原性



### ウサギHEVの感染実験

**SPFウサギ**

- 持続的な感染
- 局所的な肝臓の炎症と断続的な肝臓障害マーカー酵素の上昇

**アカゲザル**

- 一過的な感染
- 一過的な肝臓の炎症と肝臓障害マーカー酵素の上昇

症例がほとんどないため、ヒトに対する病原性は不明

日本臓器製薬 17

### ウサギのHEVの種間交差感染性

- ウサギのHEVを静脈内接種した半数のブタに軽度のウイルス血症とウイルスの糞便排泄が認められ、その糞便からウサギへの感染を確認したが、ラットのHEVはブタに感染しなかった (Cossaboom CM, et al. J Gen Virol. 2012 Aug;93(Pt 8):1687-95.)
- 免疫不全の患者1名の血清からウサギのHEVと類似したウイルスが分離された (Izopet J, et al. Emerg Infect Dis. 2012 Aug;18(8):1274-81.)
- ウサギから分離したHEVは効率よくヒト由来の樹立細胞 (A549, PLC/RRF/5) で増殖した (Jirintai S, et al. Virus Res. 2012 Dec;170(1-2):126-37.)
- 近接した養豚場のブタと養豚場のウサギでは異なる型のHEVが流行していた (Geng Y et al. Infect Genet Evol. 2013 Jan;13:304-9.)
- 静脈内投与によりウサギのHEVに感染させたアカゲザルはウイルスの増殖が認められ、肝炎を発症した (Liu P. Emerg Infect Dis. 2013 Apr;19(4):559-65.)
- 中国遼寧省のE型肝炎患者(41例)から分離されたHEVのウイルス型はブタもしくはヒト由来であり、ウサギよりブタへの感染源として重要であることが示唆された (Geng Y. Infect Genet Evol. 2013 Dec;20:413-7.)
- 江蘇省連雲港市のウサギとブタの糞便からHEVを分離して遺伝子配列を比較したが、交差感染の証拠は認められなかった (Han J. J Med Virol. 2014 Nov;86(11):1898-904.)
- SPFウサギをHEVに感染したブタと一緒に飼育したところ半数 (5/10) で抗体陽性が認められたがウイルスは検出されなかった (Liu L. J Med Virol. 2016 Apr;88(4):681-5.)

ウサギのHEVが種を超えて感染する可能性は高いが、ヒトに感染するリスクは否定できない。

日本臓器製薬 18

## ウサギからヒトへのHEV感染

1912

**First description of human infection due to a rabbit hepatitis E virus strain**

Didaktik (Didaktik), Hôpital Pasteur, 100 Boulevard Pasteur, 69635  
Lyon Cedex 07, France; Institut Pasteur, 25 Avenue Docteur  
Roux, 75732 Paris Cedex 12, France; Institut Pasteur, 25  
Avenue Docteur Roux, 75732 Paris Cedex 12, France; Institut  
Pasteur, 25 Avenue Docteur Roux, 75732 Paris Cedex 12, France

A 47-year-old transplant patient developed an acute hepatitis in June 2011. Acute hepatitis E virus (HEV) infection was diagnosed on the basis of positive anti-HEV IgM and detectable HEV RNA. Initial sequencing revealed a high homology with strains isolated from Chinese rabbits. To date, no human infections due to rabbit strains have been described. Full-length sequences were obtained and experimental infection of 2 rabbits and 2 subjects was performed by intravenous administration of patient's sera. A third animal of each species was used as a negative control. Infection was confirmed by serology and real-time PCR. HEV RNA was up to day 21 for mice and day 101 for rabbits. The full-length sequences presented a mean of 81% homology with rabbit strains and a mean of 77% homology with human and animal genotype 3 strains. Rabbits remained uninfected as assessed by undetectable HEV RNA and negative serology. Inoculated rabbits presented a transitory elevation of anti-HEV antibodies between day 7 and 14 post-infection, but HEV RNA remained undetectable in all samples. Sequence homology and serological detection of antibodies in rabbits are arguments for its rabbit origin. Absence of any selective barrier confirms original characteristics since these animals are usually selected by human genotypes 3 and 4 strains. The patient did not travel abroad. He works as a chef in a restaurant and is in contact with several other animals, including rabbits. His data are consistent with HEV infection of French rabbits. However, it is noteworthy that China is the first supplier of fresh and frozen rabbits used in catering in France. Rabbit to human transmission is certainly a new route since no similar strains have been reported in humans. Virus transmission may have been favoured by immunosuppression.

The following article has nothing to do with the present article. It is a review of the literature on HEV infection in humans and animals. The following article has nothing to do with the present article. It is a review of the literature on HEV infection in humans and animals.

63<sup>rd</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, The Liver Meeting 2012

フランスの肝臓移植を受けた患者(47才)が2011年に急性肝炎を発症。検査の結果 anti-HEV IgM と HEV RNA を検出。遺伝子配列を部分的に解読したところ、中国で分離されたウサギの HEV に類似。その後、全長のゲノムを分離し遺伝子配列を比較したところ、ウサギ型の HEV とは 81% のホモロジー、人畜共通の genotype 3 とは 77% のホモロジーがあった。患者血清をブタとウサギに i.v. 投与したところ、ウサギでは投与後 7~14 日まで抗 HEV 抗体の上昇が認められた (HEV RNA は分離されなかった)。患者の HEV はウサギ由来である可能性があるものの、ブタに感染する可能性も否定できていない。患者は海外渡航歴がなく、レストランのチーフとして働いていたことから、ウサギを含む死んだ動物に接する機会があった。ウサギ HEV のヒトへの感染は稀であり、免疫抑制によって起こった可能性あり。日本調剤製薬

19

## 終わりに

- ウサギへの HEV 感染は中国、欧州及び米国で報告されているが、世界的にウサギの間で蔓延していると思われる。
- ウサギの HEV の遺伝子型は 3 型に類似しているが、ブタやヒトから分離された 3 型とは異なるクラスターを形成する。
- SPF ウサギに対する実験的な感染実験において、ウサギの HEV は持続的な感染病態を呈した。
- 実験的にはウサギの HEV はブタ、サル等に感染するが、自然界で種を超えて感染する可能性は高くないと考えられる。
- ウサギの HEV に関する研究事例は少なく、ウサギの HEV に特異的な検出系が確立されていないことから報告例の単純な比較は困難であり、ヒトに対する病原性は不明。

20

## 霊長類プリオン病モデル

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所

霊長類医科学研究センター

柴田 宏昭、保富 康宏

プリオン病は脳に異常なプリオン蛋白が沈着し、脳神経細胞の機能が傷害される致死的な神経変性疾患の一群である。クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）はその代表的なもので、急速に進行する認知症を呈する。この病気の原因は、プリオンと呼ばれる感染因子と考えられており、宿主の細胞蛋白であるプリオン蛋白の異性体によるものとするプリオン病発病機序（プリオン仮説）が多くの研究によって裏付けられてきている。そして、多くの治療研究もなされているが、未だ有効な治療法は確立されていない。また、輸血や血液製剤の投与により感染発症した例（医原性CJD）もあり、血液等から異常プリオンを取り除く技術開発も必要となってきた。そこで、プリオン病の発症機序や感染リスク評価などの基礎研究や開発中のプリオン病治療薬及びワクチン並びに血液からの異常プリオンの除去法などの有効性・安全性を評価する応用研究をおこなう上で、霊長類を用いたプリオン感染モデルは必要不可欠になってきている。変異型CJD（vCJD）は、牛海綿状脳症（BSE：狂牛病）プリオンとの関連が動物実験等により裏付けられている。BSEは、ウエスタンブロット検査において異常プリオン蛋白のバンドパターンの違いにより、定型BSEと非定型BSEに大別される。そこで、当センターでは、定型、非定型BSE感染牛の脳乳剤をカニクイザルに接種し、種の壁を越えて、サルで感染、発症することを確認している。感染ザルの脳組織プリオン沈着像や脳波測定の結果などにより、定型BSEプリオンを接種し発症したサルはvCJD患者に、非定型BSEプリオンを接種し発症したサルは全CJD患者の7～8割を占める孤発性CJD患者に近いモデルであることが分かった。また、脳乳剤と云う不安定な感染源ではなく、vCJD由来の異常プリオン持続感染の安定した細胞株を用いたサル感染実験においてもvCJD患者様モデルが作出出来ることを確認した。この確立したサルプリオン病モデルを用いて、発症前の唾液や尿から極微量な異常プリオンの検出が可能となり、プリオン病の発症前診断法への応用が示唆された。さらに、抗プリオン治療候補薬の評価実験では、発症前投薬群のサルでは、非投薬群に比べ明らかな発症遅延、延命効果を示した。発症直後からの投与群のサルでも延命効果を示した。プリオン病克服への一步にサル感染モデルが大きく貢献しており、今後も寄与していく。



# 霊長類プリオン病モデル

第3回One World One Health研究会

酪農学園大学  
2016年7月8日

NIBIOHN 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所  
霊長類医学研究センター

柴田 宏昭

保富 康宏

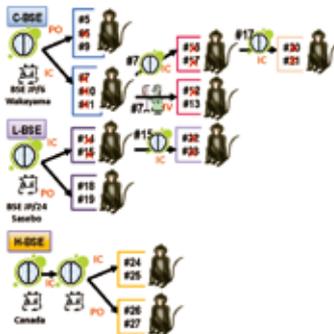


自治医科大学  
先端医療技術開発センター  
共同利用コーディネータ部門

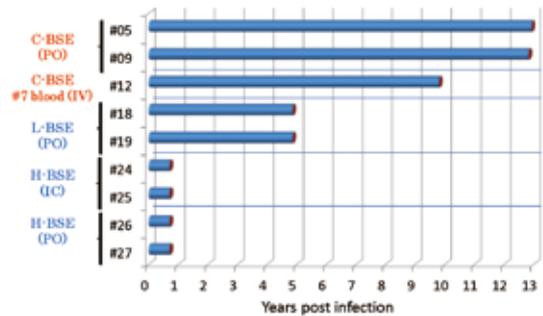
## 目的

プリオン病の発症機序や感染リスク評価などの基礎研究や開発中のプリオン病治療薬及びワクチン並びに血液などからの異常プリオンの除去法の有効性・安全性を評価するために、霊長類を用いたプリオン感染モデルを作出する。

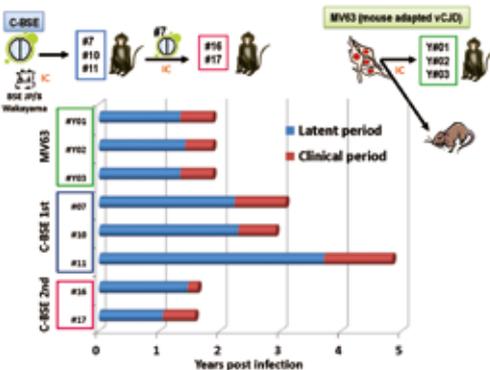
## サル感染実験 (BSE)



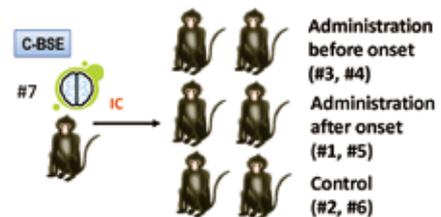
## サル感染経過



## サル感染実験



## Clinical Trial of Medical Chaperone for Prion Diseases



## 結 語

- ✓ プリオン感染カニクイザルが発症する前の尿や唾液から異常プリオンが検出された。
- ✓ L-BSEプリオン感染ザルでは、大脳に比して小脳、橋、延髄のPrP<sup>Sc</sup>蓄積レベルが、かなり低く、継代を経てもこの特徴が維持され、C-BSEとL-BSEプリオンのトロピズムに明らかな違いがあった。
- ✓ プリオン感染ザルモデルを用い、新規抗プリオン治療薬を投与した結果、発症前から投与した群で明らかな延命効果を示した。

## 謝 辞

酪農学園大学 萩原 克郎  
岡本 実  
森 ゆうこ

千葉科学大学 小野 文子

動物衛生研究所 村山 裕一

感染症研究所 萩原 健一  
飛梅 実

岐阜大学 桑田 一夫

旭化成メディカル 井上 雅晴

### 先端医療技術開発センター(ピッグセンター) Center for Development of Advanced Medical Technology (CDAMTec) > Animal species: swine (miniature pigs)



### 手術室 Operation Room



- ・手術室内の空調はHEPAフィルターユニットを装備
- ・クリーン度はクラス10000
- ・3台の手術台と吸入麻酔装置を完備
- ・X線透視装置C-armを配備

### 画像検査



C-arm X線撮影装置を用いた血管造影、レントゲン透視

※ 放射線技師チームによる撮影・解析支援体制



MRI (磁場強度1.5T, MAGNETOM ESSENZ)



CT (SOMATOM Sensation 16)

### 集中治療室 Intensive Care Unit (ICU)



ブタを用いる慢性実験が可能



テレモニターシステムによる術後管理

監視用カメラ

人工呼吸

給水ボトル

輸液

テレモニター

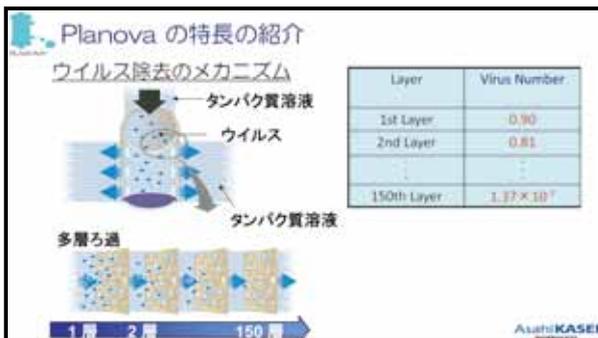
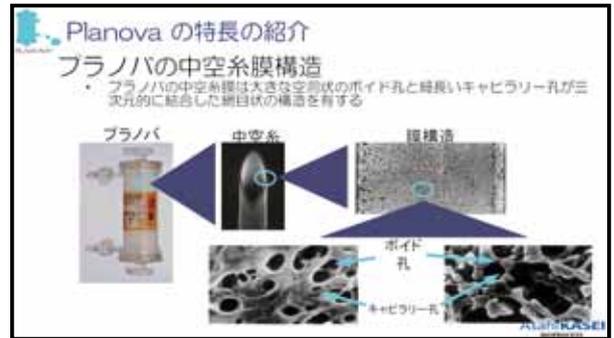
心電図

カメラ画像

血圧・脈拍・体温







# UniQure

- MISSION**
  - Delivering on the Promise of Gene Therapy
  - Maximize Patient Benefit Through Single Treatment Interventions
- STRATEGY**
  - Modular Technology Platform for rapid solutions
  - Multiple Partnerships
- STRUCTURE**
  - ~200 Employees
  - 3 sites: Amsterdam (NL), Lexington (US), Heidelberg (DE)

Confidential **uniQure**

## Baculovirus Expression Vector System (BEVS)

Enables industrial production of rAAV

**Co-infection** → **SF+ insect cells** → **Therapeutic gene packaged in an AAV delivery shell**

- Bac-Vec delivers a therapeutic gene
- Bac-Cap delivers capsid protein
- Bac-Rep delivers replication protein

**ADVANTAGES OF THE SF+ BEVS**

- Modular
- Superior safety, immunogenicity and quality
- Highly scalable and cost efficient
- Proven

Confidential **uniQure**

## Modularity

Building blocks in the rAAV Manufacturing

Gene Blueprint	Vector	Manufacturing	Administration
LPLD	LPL	AAV1	IM
HemB	FIX	AAV5	IV
SanFilippo B	NAGLU	AAV5	Locally in brain

Confidential **uniQure**

## USP

SOL MANUFACTURING PROCESS

**HCB separation** → **Pre-culture** → **Cap Culture** → **Therapeutic Production** → **Harvesting** → **Lysis** → **Purification of Recombinant** → **DSP**

Confidential **uniQure**

## DSP

THE SOL MANUFACTURING

Confidential **uniQure**

## The Challenge of (Baculo)Virus Clearance

- VIRAL CLEARANCE STEPS IN DEFAULT MANUFACTURING PROCESS**
  - Detergent Treatment (for lipid enveloped virus)
    - Not enough capacity in downstream clearance
  - Affinity Chromatography
  - IC
- IMPROVE BACULOVIRUS CLEARANCE**
  - Virus filtration

Best Material	Log <sub>10</sub> TCDID <sub>50</sub>
Depth filter	0.000
Phosor gel	0.001
Cleargent	4.4
Affinity chromatography	2.0
<b>Total</b>	<b>7.4</b>

Confidential **uniQure**

### Virus Filtration

THE SOLUTION

#### PLANOVA 35N

20 nm      260 nm

18-26 nm

Baculovirus      AAV

uniQure

### DSP

THE SOL MANUFACTURING

2x 25 L Harvest

Depth filtration      Affinity chromatography      Virus filtration      UF/DF      0.2µm filter      Drug Substance

uniQure

### Baculovirus Clearance with Planova 35N

BUILD SCALE DOWN MODEL

Operational settings Viral Filtration step

Parameter / Test Item	Units	Value
Filter Type	-	Planova 35N (Asahi Kasei)
Filter load	L/m <sup>2</sup>	>10
Flow rate	L/min/m <sup>2</sup>	1.25
Differential pressure	bar	≤0.8 bar

uniQure

### Baculovirus Clearance with Planova 35N

RESULTS OF SPIKE STUDIES

Virus Reduction factors by Viral Filtration with Planova 35N

SPL	Sample description	Baculovirus titre		LRV <sub>99.9%</sub> Reduction factor	Product Recovery (%)
		Before (10 <sup>8</sup> TCID <sub>50</sub> /mL)	After (10 <sup>8</sup> TCID <sub>50</sub> /mL)		
1	(Spiked) Item sample 1	7.1		2.0.1	90
	Phase 1	>1.0E	>0.0		
2	(Spiked) Item sample 2	7.0		2.0.2	76
	Phase 2	>1.0E	>0.0		
3	(Spiked) Item sample 3	7.0		2.0.3	90
	Phase 3	>1.0E	>0.0		

Pressure Profiles during Viral Filtration

uniQure

### Clearance of Baculovirus

Start Material	Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> Baculovirus
Crude Bulk	8.5-9.5
Process step	LRV (Baculovirus)
Detergent	> 4.5
Affinity-chromatography	> 3
Virus Filtration (Planova 35N)	> 6
<b>Total</b>	<b>&gt; 13.5</b>

uniQure

### Conclusion

- PLANOVA 35N IS EFFICIENT IN CLEARING BACULOVIRUS (IMPURITIES) FROM AAV VIRUS (PRODUCT)
- AAV RECOVERY IS > 75%
- > 6 LRV OF BACULOVIRUS
- PLANOVA 35N ADDS ROBUSTNESS TO THE AAV MANUFACTURING PROCESS

uniQure

## PM2.5における非生物と生物由来成分の相互関係について

酪農学園大学 獣医学群

能田 淳

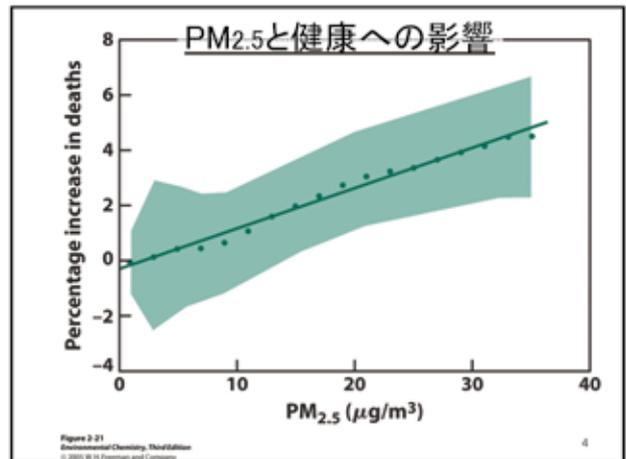
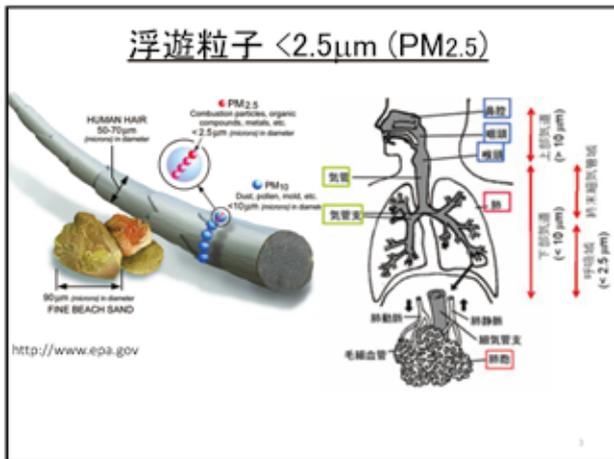
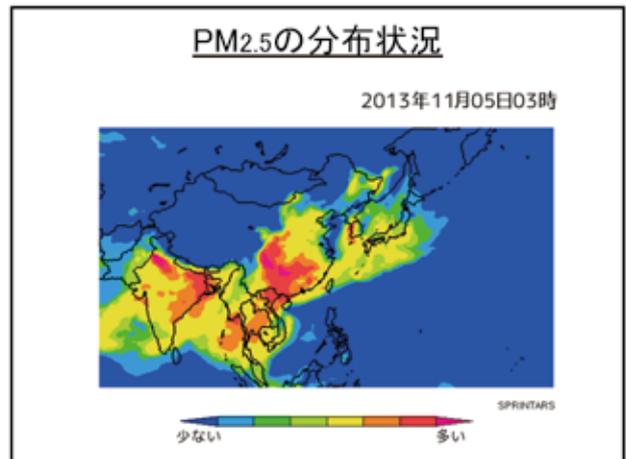
日本では中国大陸から飛来する PM<sub>2.5</sub> などの大気汚染物質による健康被害が危惧されている。大気汚染物質と考えられている物質には、煤・硫黄酸化物 (SO<sub>x</sub>) ・窒素酸化物 (NO<sub>x</sub>) 等の人為的な活動を主に由来とする成分や、黄砂・火山活動・森林などの自然界を発生由来とする成分も含まれる。また、大気中の微生物相を含むエアロゾル (バイオエアロゾル) も健康被害を与える可能性があり、これらも大気汚染物質の一つと考えられる。大気中では、これらの様々な物質が複雑に混在し、紫外線や様々な酸化ストレスを受けながら浮遊している。これまでに大気汚染からの健康影響を少なくするための取り組みは、汚染物質の特定、その原因物質の削減であり、SO<sub>x</sub>、NO<sub>x</sub> 等は基準値を設けて規制をかけることによって健康被害の低減が試みられている。しかし、バイオエアロゾルに含まれる微生物等の病原体を考えた場合、基準値の設定などが難しくこれらをどう取り扱うかは今後の課題である。大気中に浮遊する病原体の生存がどれだけ保持されるかは移動先の環境下における増殖の可能性を左右するので、特に長距離の移動が可能な PM2.5 中における病原体の生物活性度の把握は感染リスク管理のために重要な要素である。本発表では、畜舎内環境微粒子中に存在しうる非生物由来 PM2.5 (敷料や飼料由来) と生物由来成分 (*Mycoplasma bovis*) の相互関係について、これまでの検証結果を紹介させていただく。



## PM<sub>2.5</sub>における非生物と生物由来成分の相互関係について

能田 淳<sup>1)</sup>, 豊田綾乃<sup>1)</sup>, 井上裕美<sup>1)</sup>, 齋藤亜美<sup>1)</sup>,  
樋口豪紀<sup>1)</sup>, 永幡 肇<sup>1)</sup>, 星野仏方<sup>2)</sup>, 横田 博<sup>1)</sup>, 萩原克郎<sup>1)</sup>

1) 酪農学園大学 獣医学群 獣医学類  
2) 酪農学園大学 農食環境学群 環境共生学類



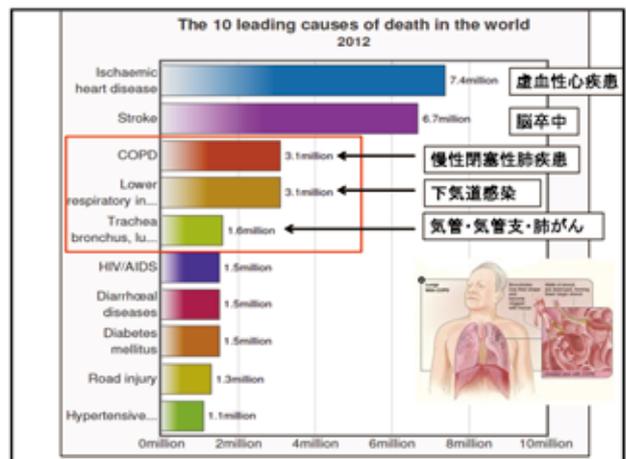
## 環境省による基準・指針

1年平均値: 15μg/m<sup>3</sup>以下かつ  
1日平均値: 35μg/m<sup>3</sup>以下  
(2009年9月設定)

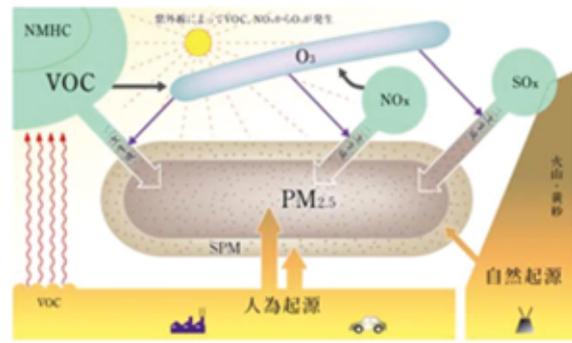
注意喚起のための暫定的な指針 (2013年2月設定)

レベル	暫定的な指針となる値		備考
	日平均値 (μg/m <sup>3</sup> )	行動のめやす	
II	70超	不要不急の外出や屋外での長時間の激しい運動をできるだけ減らします。 (高感受性者等立においては、体調に応じて、より慎重に行動することが望まれます。)	85超
I	70以下	特に行動を制約する必要はないが、高感受性者は、健康への影響がみられることがあるため、体調の変化に注意する。	85以下
(環境基準)	35以下 表1		

http://www.env.go.jp/air/osen/pm/info.html

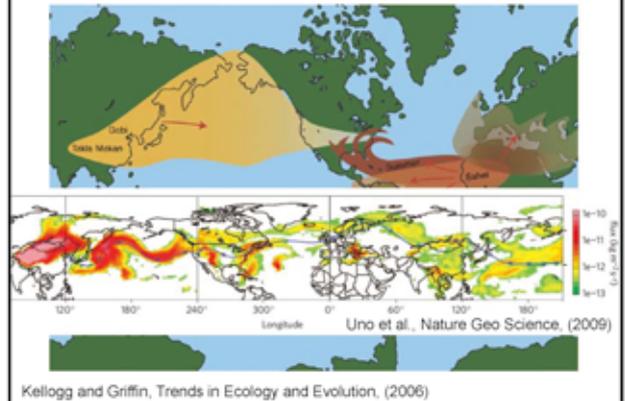


### 微小粒子状物質(PM2.5)の生成

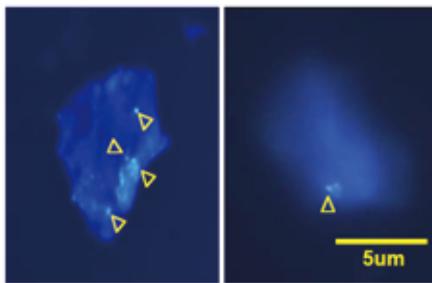


<http://www.env.go.jp/air/osen/pm/info.html>

### 地球規模のダスト移動状況



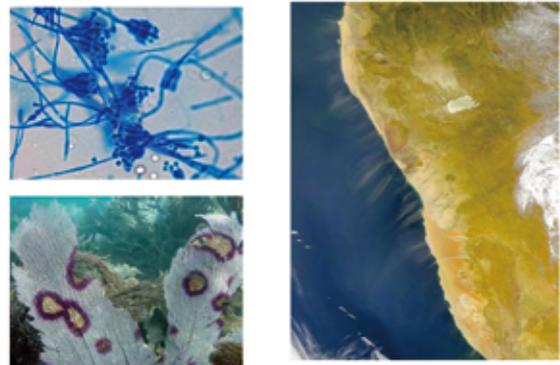
### タクラマカン由来ダストの蛍光顕微鏡画像



(岩坂、牧ら, Air Qual. Atmos. Health, 2009)

敦煌上空: 地上から約700 m の地点で採取  
DAPIにより染色された核酸が白色になって

### ダスト輸送による珊瑚への被害



*Aspergillus sydowii*

<http://visibleearth.nasa.gov/>

10

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Association of Kawasaki disease with tropospheric wind patterns

SUBJECT AREAS: CLIMATE SCIENCE

Xavier Rodó<sup>1,2,3</sup>, Joan Ballester<sup>4,5</sup>, Dan Cayan<sup>6</sup>, Marian E. Malvar<sup>7</sup>, Yoshikazu Nakamura<sup>8</sup>, Ritei Uehara<sup>9</sup>, & Jose C. Burns<sup>10</sup>

Tropospheric winds from northeastern China carry the etiologic agent of Kawasaki disease from its source to Japan

Xavier Rodó<sup>1,2,3</sup>, Roger Cervera<sup>4</sup>, Marguerite Robinson<sup>5</sup>, Joan Ballester<sup>6,7</sup>, Jose C. Burns<sup>8</sup>, Daniel R. Cayan<sup>9</sup>, W. Ian Lipkin<sup>10</sup>, Brent L. Williams<sup>11</sup>, Mara Couto-Rodriguez<sup>12</sup>, Yoshikazu Nakamura<sup>13</sup>, Ritei Uehara<sup>14</sup>, Hiroshi Tanimoto<sup>15</sup>, and Josep Anton Mergulha<sup>16</sup>

<sup>1</sup>Instituto Català de Recerca i Innovació Tecnològica, 08035 Barcelona, Catalonia, Spain; <sup>2</sup>Institut de Dinàmica i Impacte Climàtic (IDIC); Institut Català de Ciències del Clima, 08035 Barcelona, Catalonia, Spain; <sup>3</sup>Ecological and Planetary Systems, California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125; <sup>4</sup>Department of Pediatrics, Rady Children's Hospital San Diego and University of California, San Diego, La Jolla, CA 92037; <sup>5</sup>Surgeon-in-Chief, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92037; <sup>6</sup>US Geological Survey, La Jolla, CA 92037; <sup>7</sup>Center for Infection and Immunity, University of Cambridge, Cambridge, UK

PNAS

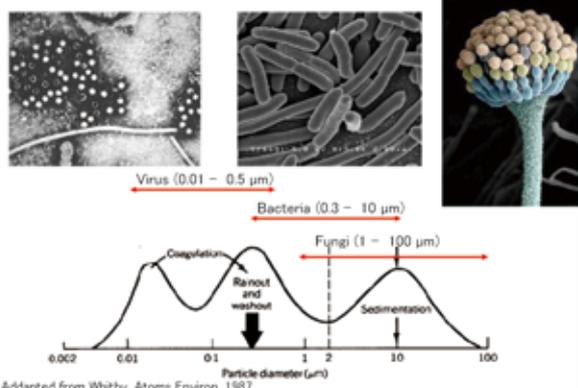
CrossMark

### バイオエアロゾル (Biological-Aerosol)

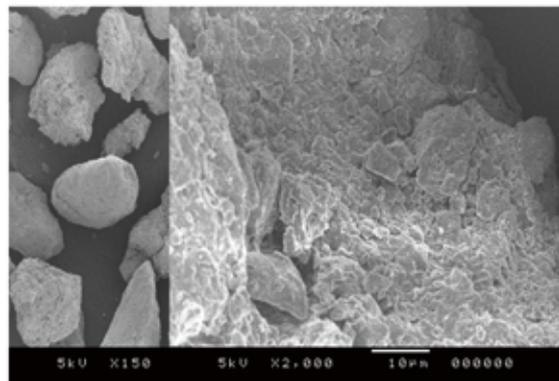
- 「生物由来の物質を含んでいるエアロゾル粒子」
- 由来: 自然、人、動物
- ウィルス、バクテリア、カビ胞子、花粉など
- サイズ: 10 nm ~ 100 μm
- >1,800 種のバクテリアがエアロゾル中に(北米の例)
- 長距離移動の可能性
- 氷核、雲核としての働き

12

### 微生物のサイズレンジ

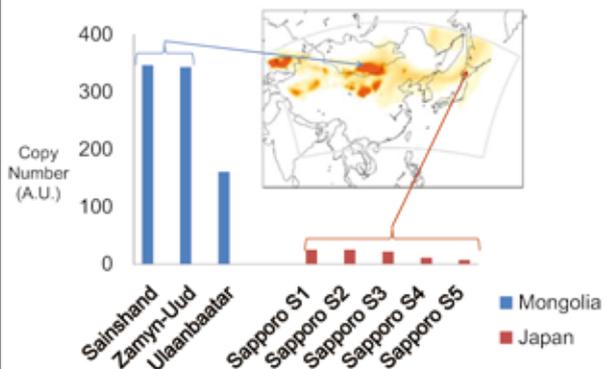


### ゴビ砂漠由来ダストの電子顕微鏡画像



提供: 竹花 一成 氏

### Results: 16S-rRNA Analysis



### バイオエアロゾル研究

発生源 (Source)    降下地 (Destination)

野外・実験室レベルでの検証

- 移動経路の把握
- 混在物質の影響
- 物理化学的な修飾の検証

ワン・ヘルス



### 謝辞

本研究の遂行にご協力いただきました、北海道総合研究機構環境科学研究センター、野口 泉 研究主幹、山口高志 主査と研究グループの皆様にご感謝いたします。本研究は、JSPS科 研費、挑戦的萌芽研究:24651028、及び文部科学省私立大学 戦略的研究基盤形成支援事業の助成にて推進されました。

ご清聴ありがとうございました。

## One World One Health 研究会 第3回研究会・議事録

日時：2016年7月8日（金）13:00～17:00

場所：酪農学園大学 研修館

参加者：11 機関 20 名（順不同・敬称略）＋ 酪農学園大学・学生 10 名、大学院生 4 名

井上雅晴	旭化成メディカル株式会社
田口宣久、西江英明	日本臓器製薬株式会社
吉松美佳	第一三共株式会社
松田博行	藤森工業株式会社
瀧野祥司	科学飼料研究所
高橋栄二	田辺三菱製薬株式会社
平岡陽介、田口あみ	新田ゼラチン株式会社
門脇修一郎	日本全薬工業
柚木幹弘	一般社団法人日本血液製剤機構
保富康宏、柴田宏昭	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
萩原克郎、蒔田浩平、岡本実、能田淳 内田玲麻、石原智明	酪農学園大学
森ゆうこ	神戸大学大学院

別紙スケジュール通り、7月8日（金）13:00 より、研究会代表・萩原克郎氏司会の下に研究会が開始された。別紙スケジュール通りに発表進行し、最後に研究会副代表・保富康宏氏より総評が述べられ、本会の今後の可能性について語られた。質疑応答も活発に行われ、有意義な研究会となった。

以上





# One World One Health 研究会 第3回研究会 意見交換会・議事録

日時：2016年7月8日（金）18:00～21:00

場所：ホテルエミシア

参加者：20名（順不同・敬称略）

井上雅晴	旭化成メディカル株式会社
田口宣久、西江英明	日本臓器製薬株式会社
吉松美佳	第一三共株式会社
松田博行	藤森工業株式会社
瀧野祥司	科学飼料研究所
平岡陽介、田口あみ	新田ゼラチン株式会社
門脇修一郎	日本全薬工業
柚木幹弘	一般社団法人日本血液製剤機構
保富康宏、柴田宏昭	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
萩原克郎、蒔田浩平、岡本実、能田淳 内田玲麻、田村豊、石原智明	酪農学園大学
森ゆうこ	神戸大学大学院

意見交換会は、本研究会に新規に参加された研究者も迎えた。会の冒頭に、酪農学園大学副学長・石原智明氏より開会挨拶・研究会感想が述べられた。その後、各参加者の自己紹介後、各テーブルで活発な意見交換が行われた。最後に酪農学園大学獣医学類長・田村豊氏により、今後の動物医薬品に関する動向の話題提供と閉会の挨拶があり、終了した。また、研究会副代表・保富康宏氏より、研究会ホームページ作成の提案があり、一同同意した。異業種研究者間の活発な意見交換会が行われ、参加者各自が問題認識を新たにする会となった。

以上

# One World One Health 研究会 第3回研究会総合討論会・議事録

日時：2016年7月9日（金）9:30～10:30

場所：酪農学園大学 附属動物病院2階 大会議室

参加者：16名（順不同・敬称略）

井上雅晴	旭化成メディカル株式会社
田口宣久、西江英明	日本臓器製薬株式会社
吉松美佳	第一三共株式会社
松田博行	藤森工業株式会社
高橋栄二	田辺三菱製薬株式会社
平岡陽介、田口あみ	新田ゼラチン株式会社
門脇修一郎	日本全薬工業
柚木幹弘	一般社団法人日本血液製剤機構
保富康宏、柴田宏昭	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
萩原克郎、岡本実、能田淳	酪農学園大学
森ゆうこ	神戸大学大学院

総合討論会では、医薬品製造における動物由来原料の安全管理について意見交換が行われた。以下、主な項目を列挙する。

- ・Xeno-free が謳われているが、同種としたがゆえにリスクが増加する可能性がある。
- ・Animal-free 原料の使用では、原料の検査および不活化・除去工程により安全性の向上を図っているが、ゼロリスクはない。説得力を持つのは「感染性がない」という指標。
- ・バイオ医薬品の精製工程では不活化・除去の導入が可能である。しかしながら、移植医療、再生医療、細胞製剤、ウイルス製剤などではそれが困難であるため、原材料管理が重要ポイントの一つになり得る。
- ・ATMPs (Advanced Therapy Medicinal Products)に関して。

他

以上、活発な総合討論会となった。

以上

# One World One Health 研究会

## 第 2 回 総会・議事録

日時：2016 年 7 月 9 日（土）10:30～11:00

場所：酪農学園大学 附属動物病院 2 階 大会議室

参加者：16 名（順不同・敬称略）

井上雅晴	旭化成メディカル株式会社
田口宣久、西江英明	日本臓器製薬株式会社
吉松美佳	第一三共株式会社
松田博行	藤森工業株式会社
高橋栄二	田辺三菱製薬株式会社
平岡陽介、田口あみ	新田ゼラチン株式会社
門脇修一郎	日本全薬工業
柚木幹弘	一般社団法人日本血液製剤機構
保富康宏、柴田宏昭	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
萩原克郎、岡本実、能田淳	酪農学園大学
森ゆうこ	神戸大学大学院

研究会総会は会開挨拶のあと、議長・柚木氏が選任され進行した。議案書に基づき、第 1 号議案・総会議決権の決定が行われ、参加者 16 名のうち、入会保留の 2 名および議長 1 名を除く 13 名の議決が有効であることを決定した。その後、第 2 号議案・世話人再任、第 3 号議案・会計報告、第 4 号議案・学内公開、第 5 号議案・学外公開、第 6 号議案・研究会参加費、について決議が行われ、議決権保有者全員の賛成により（賛成 13 名、反対 0 名、棄権 1 名；議長）承認された。なお、学外公開の件については多数の意見交換がなされた。議案決議後、次年度研究会開催の件について検討が行われ、次年度は 2017 年 7 月 7 日（金）～7 月 8 日（土）で開催することで決定した。また、次年度は、今回新規会員となった会員各位も話題提供を行うことが、一同同意のもとに決定された。

以上





酪農学園大学は、2014年度（公財）  
日本高等教育評価機構による大学機関  
別認証評価において大学評価基準に満  
合していると認定されました。

