

(別紙) 栽培実験計画書

栽培実験名	スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネの生物多様性影響評価
実施独立行政法人・研究所名	独立行政法人 農業生物資源研究所
公表年月日	平成16年4月5日

1. 栽培実験の目的、概要

(1) 目的

組換え作物の開発の目的

スギ花粉症は、国民病といつてよいほど日本では最も良く知られたアレルギー疾患であり、その患者は現在国民の約20%にも及んでいる。スギ花粉症は2月から4月までの短期間であるにも係わらず、医療保険などに出費される医療費は少なくとも2800億円にも及び、さらに作業効率の低下や外出が出来ないなど生活の質の低下を招くことから、スギ花粉症の根治的治療法の開発が国家的に急務な課題となっている。

現在の花粉症の一般的な治療法には、ヒスタミンなど抗アレルギー剤やステロイドホルモンの使用といった対症療法が中心である。唯一の根治的治療法は、減感作療法と呼ばれる免疫療法のみである。しかしこの方法ではアレルギーを引き起こす物質(アレルゲン)そのものを注射で用いるため、2~3年の長期間の治療を要することや、副作用のおそれなどといった問題点が指摘されている。

これらの欠点を克服する治療方法として、T細胞により認識されるアレルゲンの一部分のペプチド(T細胞エピトープ)を経口投与するペプチド免疫療法が開発されている。この方法はIgEと結合能のないT細胞ペプチドを用いるため副作用が極めて少なく、多量のペプチドを投与できることから短期間に治療ができるという利点がある。そこで、このペプチドワクチンの原理を用い、スギ花粉症の予防・治療に活用するため、約90%以上の患者に対応できるようスギ花粉症患者のスギアレルゲンT細胞エピトープを7個連結(7Crpエピトープ)したペプチドを高濃度でコメに蓄積するイネの開発を進めている。

なお、マウスを用いた経口投与実験では、花粉症を引き起こすIgE抗体産生が1/3程度に低下することが明らかになっている。また炊飯してもその効果(IgE産生低下機能)は維持されていた。

本栽培実験の目的

本組換えイネ(宿主品種 キタアケ)については、遺伝子を導入することによるイネの形態や生育特性、有害物質の産生性、形質発現の安定性、花粉稔性や種子特性(発芽性や休眠性など)について、実験室、閉鎖系温室等で解析を行っており、上記の特性について非組換えイネと差異のないことを確認している。今後、さらに通常的环境条件下で組換えイネを栽培し、生物多様性への影響評価に資するデータの蓄積を行う。

マウスを用いた経口投与実験により、IgE抗体産性が低下することが示されたことから、今後、ヒトに対する有効性や安全性、炊飯米として加工品にした場合の有効性などを調べる必要があり、これらの試験には多量のコメが必要となる。しかし、温室での栽培では多量のコメの確保が困難であることから、隔離圃場で本組換えイネを栽培し、実験用の種子の生産も行う必要がある。

(2) 概要

本栽培実験では、平成16年6月上旬より9月上旬まで、全国農業組合連合会の隔離圃場で、組換えイネの栽培を行う予定。

本研究は、生物系特定産業技術研究支援センターの新事業創出研究プロジェクトで行っている農業生物資源研究所と全農の共同研究である。農業生物資源研究所は、7crpペプチド発現用ベクターの構築及び組換えイネの作出を担当し、全農が中心になって生物多様性影響評価を担当している。

2. 栽培実験に使用する第1種使用規程承認作物

(1) 作物の名称

スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ(7Crp、*Oryza sativa* L.)(7Crp#1)
スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ(7Crp、*Oryza sativa* L.)(7Crp#10)
以下、7Crp#1、7Crp#10という。(この2系統の違いは7crpペプチドの発現量が異なる)

(2) 第一種使用規程の承認取得年月日等

栽培実験に用いる7Crp#1、7Crp#10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)の規定に基づき申請中である。認可が得られた後に栽培試験を開始する。

(3) 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物の該当性

7Crp#1、7Crp#10は、食品安全性承認作物、飼料安全性承認作物に該当しない。

3. 栽培実験の全体実施予定期間、各年度ごとの栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期

(1) 全体実施予定期間

平成16年6月1日～平成19年3月31日

(2) 各年度ごとの栽培開始予定時期および栽培終了予定時期等

平成16年度	6月上旬	隔離ほ場に移植。
	7月中～下旬	出穂期
	9月上旬	収穫(その後、品質、収量性、有効性に関する解析)
平成17～18年度	5月上旬	隔離ほ場に移植
	7月上旬	出穂期
	8月下旬	収穫(その後、品質、収量性、有効性に関する解析)

(参考) 予定期間以降の予定

今後、本組換えイネのヒトでの経口投与による有効性やラットを用いた毒性試験、癌原性、アレルギー性また生殖試験など食品安全性について調査し、実用化を目指したいと考えている。7Crp#1、7Crp#10は、研究所内の一般ほ場での使用は予定していない。

4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置(研究所等内等の区画配置関係)

(1) 第1種使用規程承認作物の栽培規模：最大2a

(2) 栽培実験区画の位置：〒254-0016 神奈川県平塚市東八幡5-5-1(別紙図参照)

5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項

(1) 交雑防止措置の内容

(1) 交雑防止措置の内容

スギ花粉症アレルギーの原因となっている2種類の蛋白質(アレルゲン)の主要なヒトT細胞エプトープ7種類を連結した人工ペプチドをイネの胚乳中で発現させた。

7Crp#1、7Crp#10の非閉鎖系温室における実験から、花粉稔性、花粉直径について、非組換えイネとの相違は認められなかった。

隔離ほ場の20m以内に試験圃場があるため、次の措置を講じる。

組換えイネと隣接する試験水田イネとの交雑を防止するために、開花期前に隔離水田ほ場のフェンスを不織布等で囲う。

本組換えイネから20m以内に、他のイネを栽培しない。

開花時間帯は隔離水田ほ場に入らない。ただし、その時間帯に隔離水田ほ場に入る必要が生じた場合は、白衣等の実験着を着用し、花粉を外部へ持ち出さないようにする。

隣接試験ほ場の収穫に使用したコンバインは、収穫後に内部の掃除を行い、発生した残渣は試験ほ場内に鋤き込む。

野鳥等による食害を防止するため、開花期までに隣接試験ほ場を含むほ場を防雀網で囲む。

本組換えイネは食品安全性承認作物・飼料安全性承認作物に該当しないため、研究所と外部の境界にモチ米をポット栽培し、研究所外部に組換えイネの花粉が飛散していないことを確認する。組換えイネとモチ米が交雑しているかの確認は、モチ米に実った種子を収穫し、1万粒についてキセニア現象が生じているかを確認する。キセニアが見いだされた際には、PCRにより組換えイネに導入された遺伝子の検出を行う。

6. 研究所等の中での収穫物、実験材料への混入防止措置

組換えイネの運搬及び保管

a. 組換えイネを隔離水田ほ場内外に運搬する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納めてから運搬する。

b. 組換えイネを保管する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納める。

作業機器等の取扱

隔離水田ほ場で使用した機械、器具又は隔離水田ほ場で作業した者の靴等は、作業終了後隔離水田ほ場内で洗浄し、隔離水田ほ場内の植物残渣、種子、土等を外に持ち出さない。

隣接試験ほ場の収穫に使用したコンバインは、収穫後に内部の掃除を行い、発生した残渣は試験ほ場内に鋤き込む。

7. 栽培実験終了後の第1種使用規程承認作物の処理方法

隔離水田ほ場内で栽培したイネの残渣及び発生した植物は、試験終了後速やかに隔離ほ場内に鋤き込む。

8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項

説明会等の計画

平成16年4月5日：計画書の公表

平成16年4月18日：栽培実験に係る説明会

場所：(独)農業生物資源研究所大会議室(第2本館)

時間：13時から15時

その他、栽培実験実施中に、見学会を開催することも検討中であるが、詳細については当

研究所ホームページに掲載するほか、プレスリリース等によりお知らせする。

その他の情報提供

栽培実験の実施状況については、当研究所ホームページ(<http://www.nias.affrc.go.jp/>)で情報提供を行う。

本栽培実験に係る連絡先

(独)農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究推進室

電話番号 029-838-8367,7927

メールアドレス NIAS-GMO@nias.affrc.go.jp

9. その他必要な事項

全国農業協同組合連合会 (JA全農) 広報室

100-0004 東京都千代田区大手町1-8-3 TEL 03-3245-7040 (広報室)

(参考)

これまでの開発・安全性評価の経緯

用語解説

遺伝子の働き

当研究所ホームページで、当研究所における研究の概要を紹介しているので参照頂きたい。
農林水産省ホームページで遺伝子組換えに関する情報を提供している。

(<http://www.s.affrc.go.jp/docs/genome/genome.htm>)

(参考)

【これまでの開発・安全性評価の経緯】

平成13年 7月 アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験開始
平成13年 9月 再分化個体の検定・栽培
平成13年10月 閉鎖系における安全性評価試験
平成15年 5月 非閉鎖系温室における環境に対する安全性試験
平成16年 2月 隔離ほ場での試験について、農林水産省、環境省に申請

【用語解説】

ヒスタミン

肥満細胞や好塩素球の細胞内顆粒に貯蔵されて存在する。脱顆粒とともに細胞外へ遊離し、最小血管拡張作用および血管透過性亢進作用を示す。ヒスタミンは遊離量も多く、即時反応にかかわる化合物で、ヒスタミンのレセプターを介してその作用を示す。

抗アレルギー剤

肥満細胞内の Ca^{2+} 制御によって、ケミカルメディエーター（ヒスタミンやロイコトリエンなど）遊離を抑制する作用を示すことで、アレルギー反応の進行や症状発現を抑制する薬剤。

ステロイドホルモン

副腎皮質から分泌される糖質コルチコイドは、種々の疾患あるいは異常にたいして生体を守るホルモンとして重要な役割を演じている。アレルギー性疾患においても、種々の炎症性メディエーターの生産を抑制することにより、局所の浮腫、細胞浸潤、血管透過性亢進作用などを抑制し、症状の改善に結びついている。

T細胞

免疫応答に関与するリンパ球のうち、胸腺に由来する細胞をT細胞またはTリンパ球と呼ぶ。

ペプチド

アミノ酸がある種の結合（ペプチド結合）を介してできた化合物の総称。

エピトープ

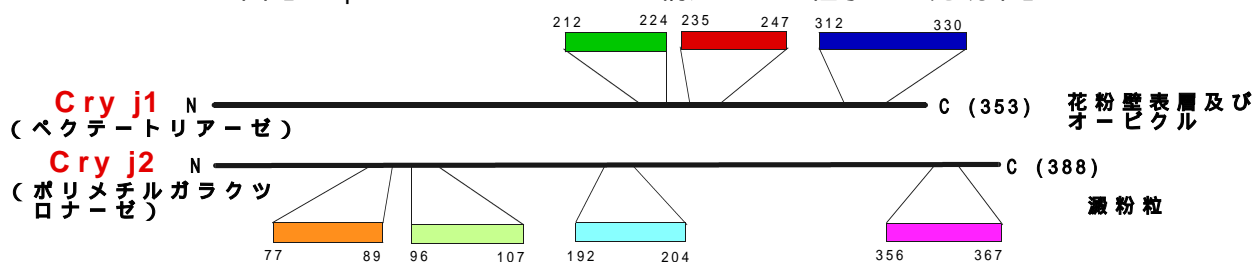
構造の明らかな（アミノ酸配列が決定されている）抗原決定基のこと。

IgE

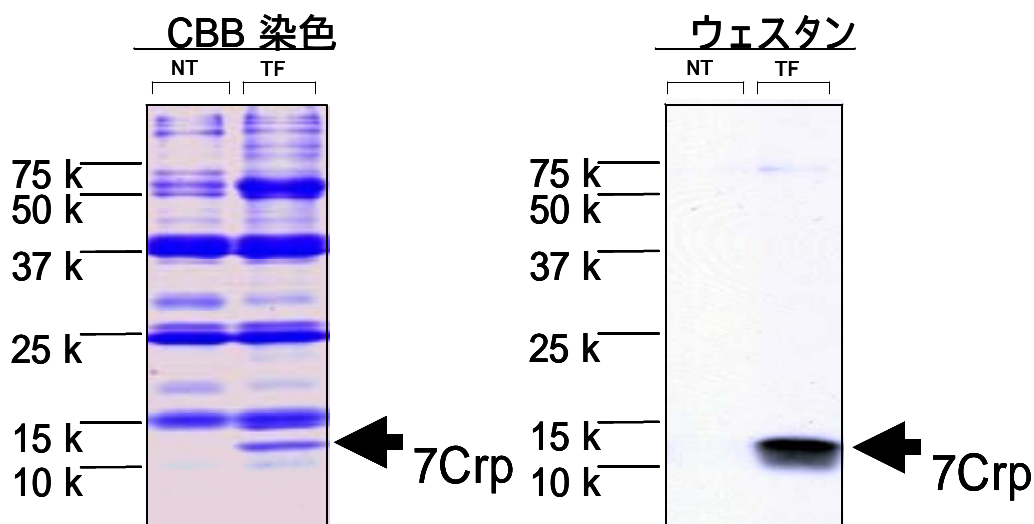
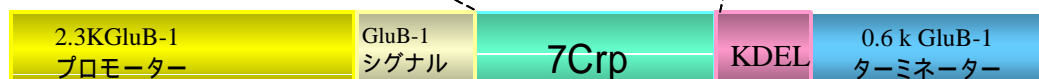
免疫グロブリンは構造から（抗原に結合しないしっぽの部分の形から）5つのクラスに分けられる。健常人の血液の濃度が極めて微量に存在する分子量約20万の免疫グロブリン。

IgE抗体は気管支喘息や花粉症といったI型アレルギーをひき起こすタイプの抗体。

図【7Crpエピトープペプチドの構造とイネ種子での発現米】



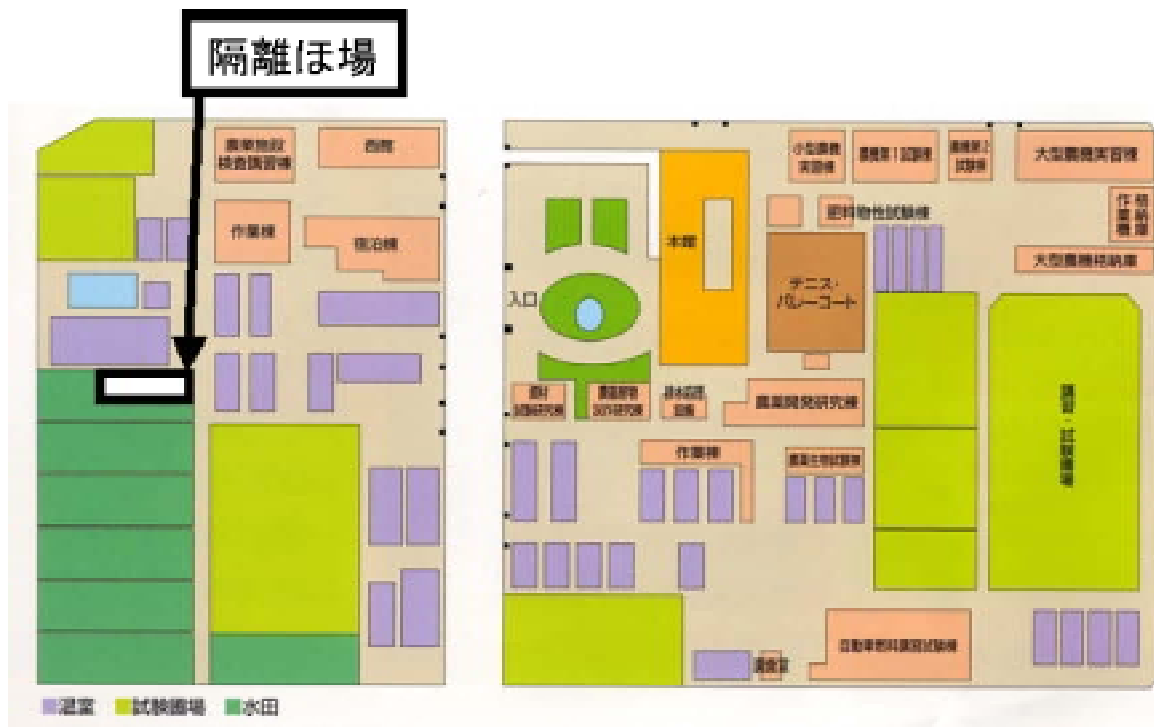
7crp (ヒト 7 連結 T 細胞エピトープ)



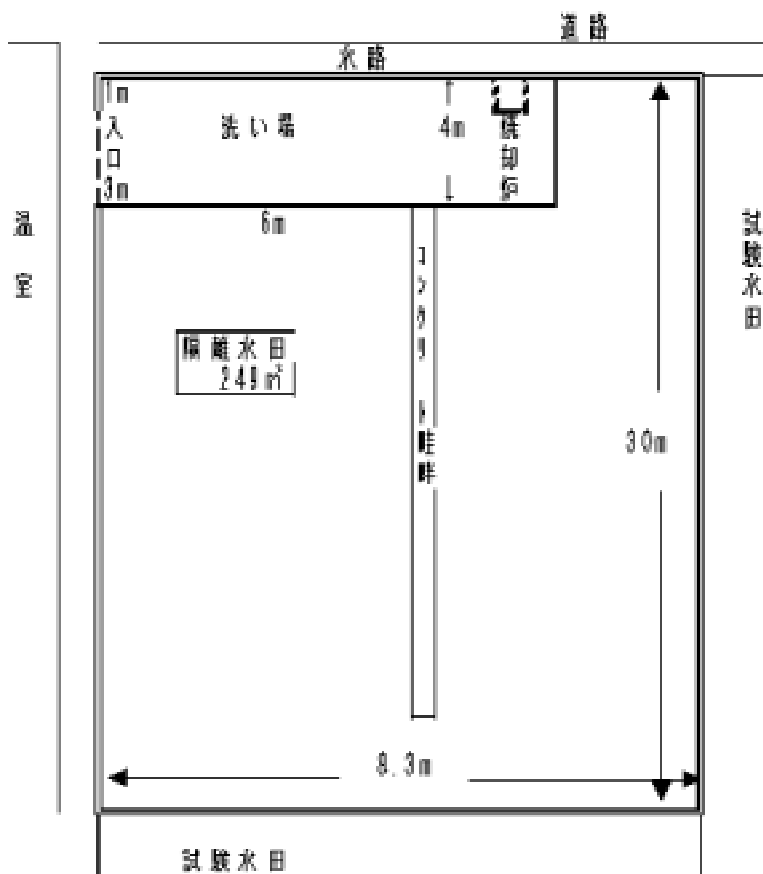
(参考文献)

高岩文雄(2004) 食の科学 312、32-38 スギ花粉症緩和米の開発
 高岩文雄、高木英典、楊麗軍 (2003) 第21回日本植物細胞分子生物学会、196
 スギ花粉アレルゲンヒトT細胞エピトープをコメ胚乳中に集積させたスギ花粉症緩和米の開発
 原理と導入遺伝子の構築
 高木英典、楊麗軍、高岩文雄 (2003) 第21回日本植物細胞分子生物学会、197
 スギ花粉アレルゲンヒトT細胞エピトープをコメ胚乳中に集積させたスギ花粉症緩和米の開発
 形質転換イネの作出と解析
 Fumio Takaiwa (2003) NIAS-COE International Symposium.
 New immunotherapy using T-cell epitope peptide expressed in seed.
 高木英典、高岩文雄 (2003) ブレインテクノニュース、99、6-9
 スギ花粉症に効果のあるペプチド含有米の開発

栽培実験区画の位置（全農：平塚市東八幡5 - 5 - 1）



隔離ほ場配置図



生物 研 究 内 図

高速バス
 東京駅八重洲南口から
 つくばセンター行き、
 つくばバスセンター下車、
 市内バスまたはタクシー利用
 (筑波山行きは農研団地中央下車)



自動車
 常盤自動車道
 谷田部ICから
 つくば・土浦
 方面へ左折
 筑波学園線路を
 目標に走行

各地区の所属は、次のとおりとなっています。
 ご来訪時、研究棟窓口でおたずね下さい。

- 動物研地区** 動物生命科学研究部門の一部
- 農研地区** 昆虫・動物生命科学研究部門の主要部
- 池の台地区** 昆虫・動物生命科学研究部門の一部
- 大わし地区** 昆虫・動物生命科学研究部門の一部

NIAS

電車
 筑波線
 牛久駅下車
 西口から、関東鉄道バス
 谷田部下車
 筑波大学中央 行きを利用
 筑波大学病院