

ヒトインフルエンザのコントロール

インフルエンザ:重要ファクター

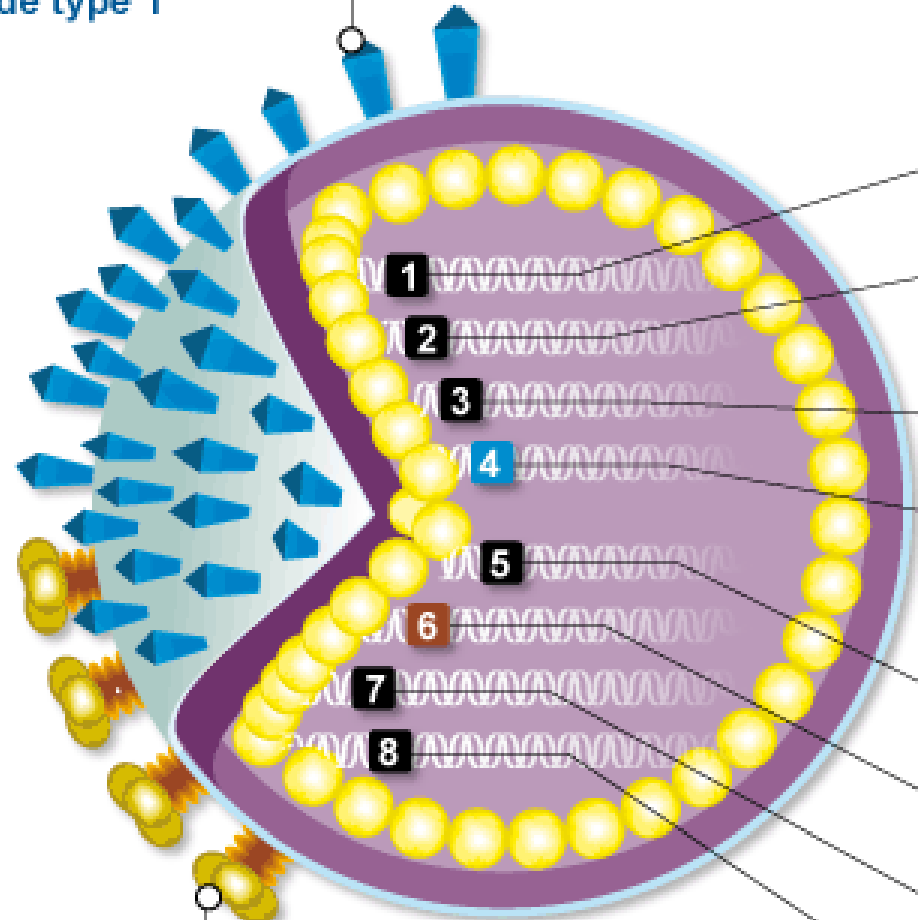
- 人から人へ容易に広がる急性ウイルス感染症。
- 世界中で流通しており、あらゆる年齢層の誰にでも影響を与える可能性があります。
- 温帯地域やパンデミックで冬の間にはピークを迎える毎年の流行を引き起こします。
- リスクの高い集団に重篤な病気や死亡を引き起こす深刻な公衆衛生問題。

Ses **huit gènes** proviennent de virus apparus à des époques différentes, dans des zones géographiques variées, qui s'épanouissent chez le porc, les oiseaux et l'homme.

HA :

Hemagglutinine de type 1

(se lie aux récepteurs
des cellules hôtes)



Patrimoine génétique

(fragments d'acide ribonucléique)

ORIGINE

PB2 :

Aviaire nord-américaine

PB1 :

Humaine (déjà présent
dans un virus H3-N2 de 1993)

PA :

Aviaire nord-américaine

HA :

Porcine (présent dans la souche
du virus de la « grippe espagnole »
de 1918)

NP :

Porcine nord-américaine

NA :

Porcine eurasienne

M :

Porcine eurasienne

NS :

Porcine nord-américaine

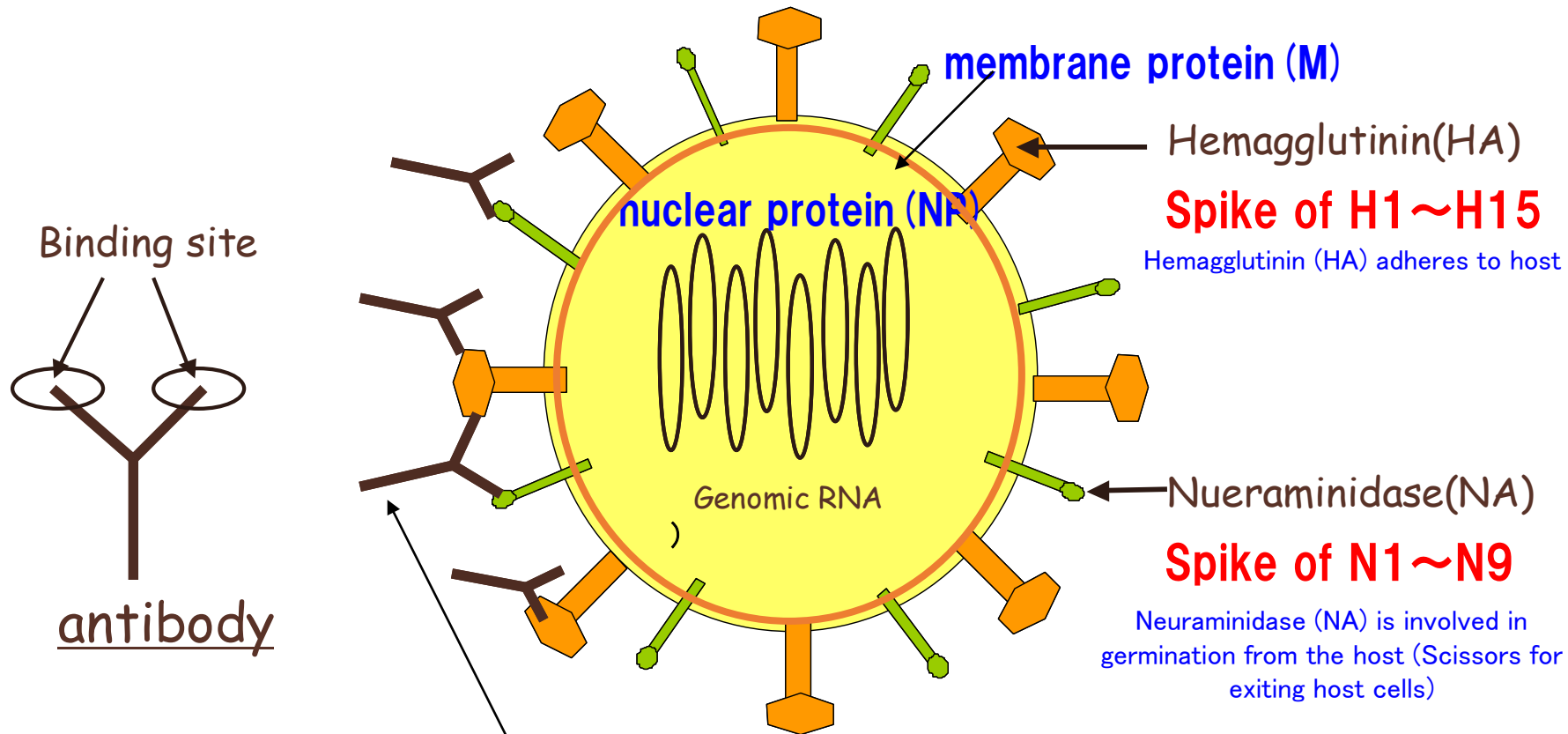
NA :

Neuraminidase de type 1

(aide à enclencher l'infection)

インフルエンザウイルスとは何ですか？

- 直径90~110nmの球形。
- 表面は2種類(HとN)のスパイクで覆われています。
- 内部には、ウイルスの性質を決定する8つのRNA遺伝子があります。



抗体はHAおよびNAを認識して結合する

インフルエンザ疫学:血清型の変化

1889-1892	? A/H2N2
1900	? A/H3N8, 軽度のパンデミック
1918	A/H1N1, スペイン風邪
1957	A/H2N2, アジアインフルエンザ
1968	A/H3N2, 香港
1976	A/H1N1, 豚様ウイルス, Fort Dix, NJ, USA
1977*	A/H1N1, ソビエト、世界再導入(再登場)
1997	A/H5N1, 鳥インフルエンザ、香港
1999	A/H9N2, ヒト症例、香港
2003/04	A/H7N7, ヒト症例、オランダおよびブリティッシュコロンビア州
2003/04	A/H5N1, その他のヒト症例(タイ、韓国、ベトナム)
2009* ~	A/H1N1

インフルエンザウイルス流行血清型

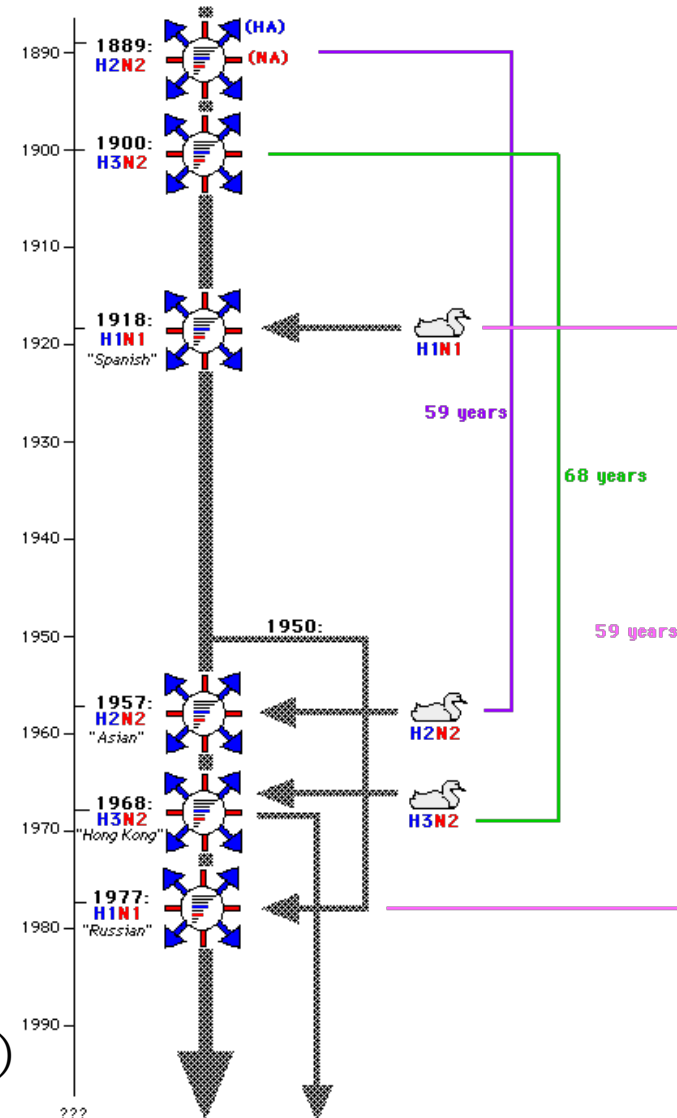
■ スペイン風邪 血清タイプA H1N1 (1918)

59 年間

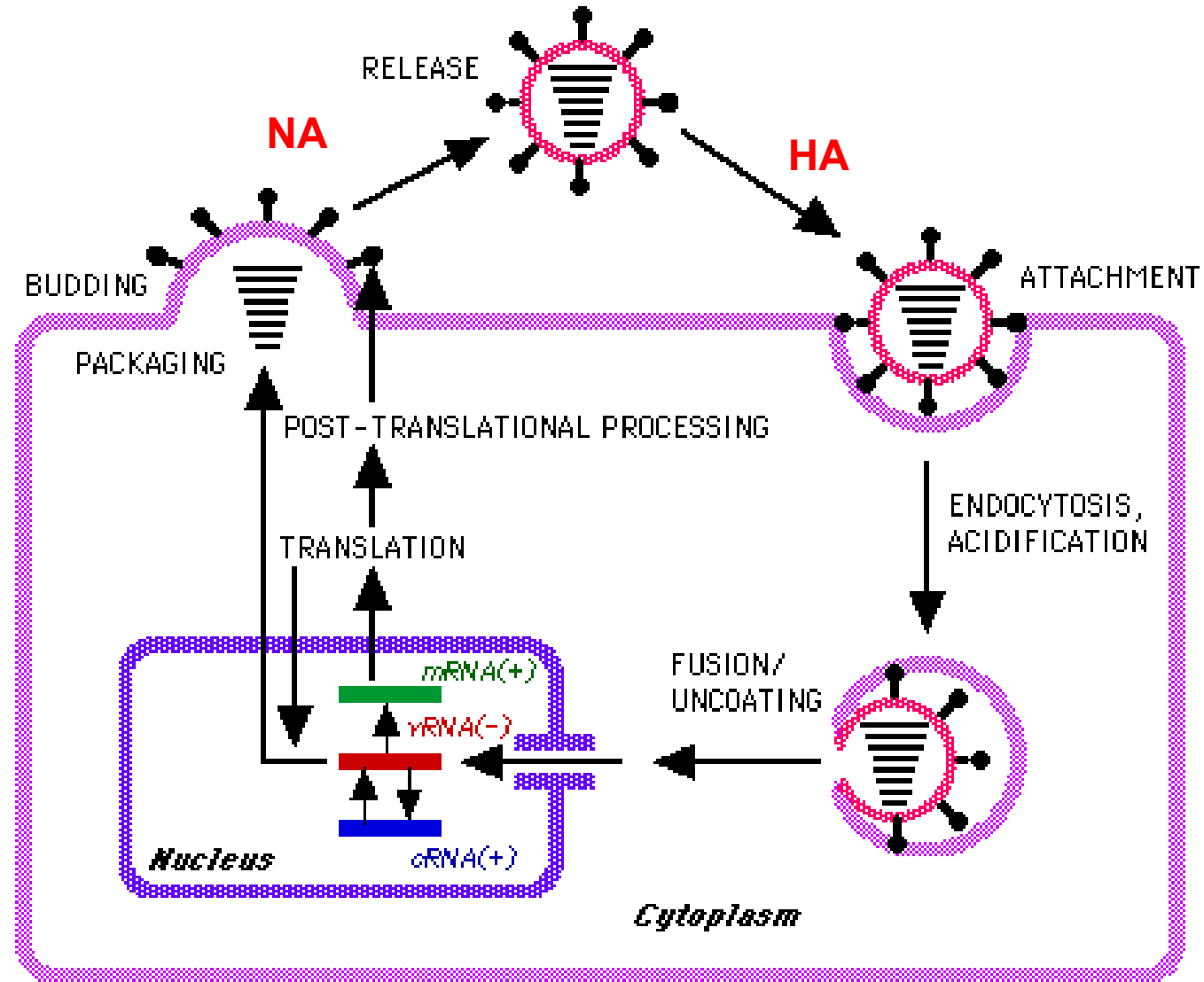
■ ソビエト血清タイプA H1N1 (1977)

32 年間

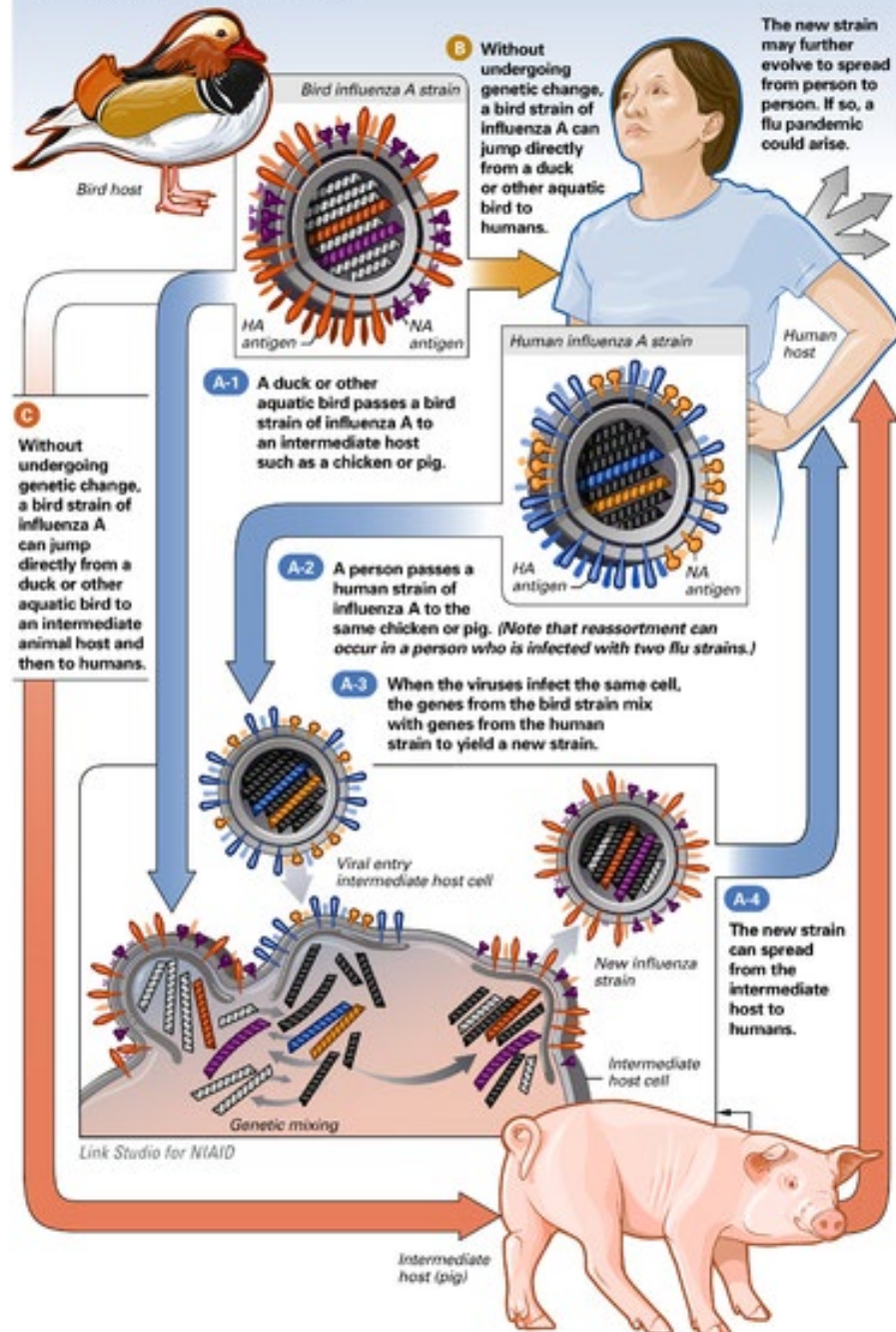
新型インフルエンザ血清タイプA H1N1 (2009)



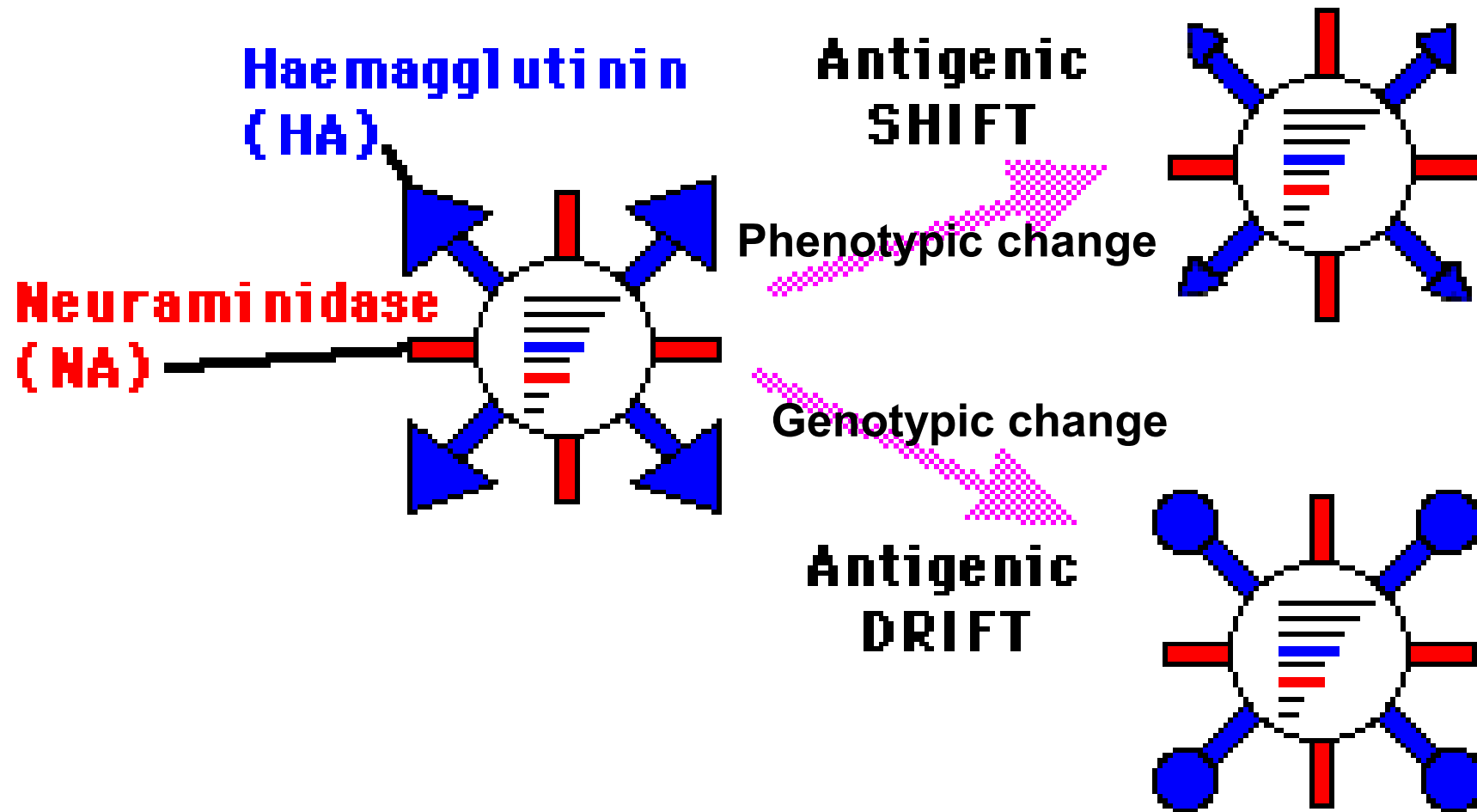
インフルエンザウイルスの複製



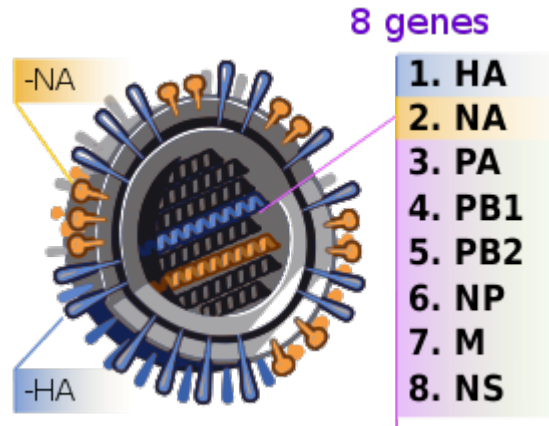
The genetic change that enables a flu strain to jump from one animal species to another, including humans, is called "ANTIGENIC SHIFT."
Antigenic shift can happen in three ways:



インフルエンザウイルス血清型変化のメカニズム



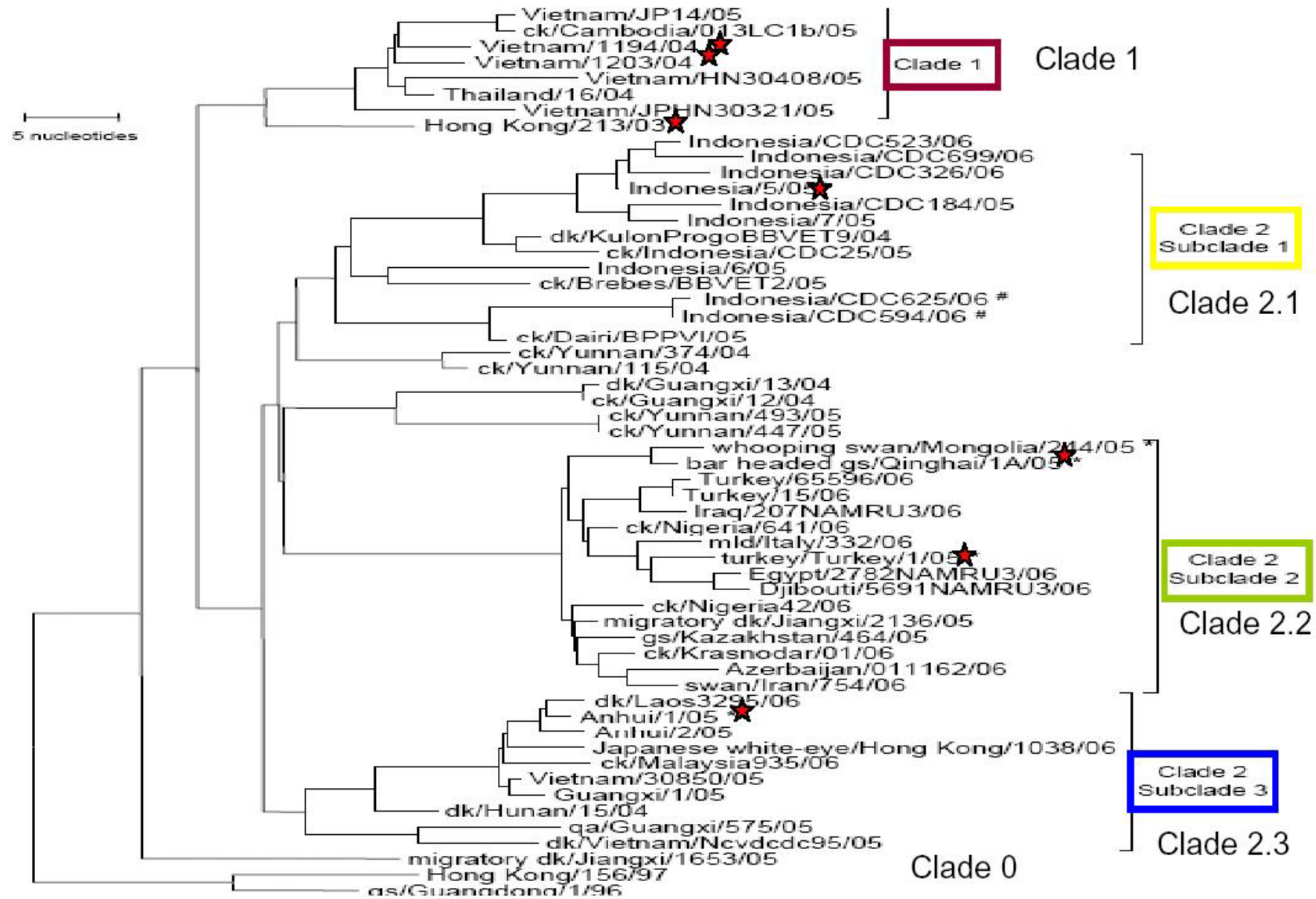
パンデミック新型H1N1/09ウイルスの遺伝学



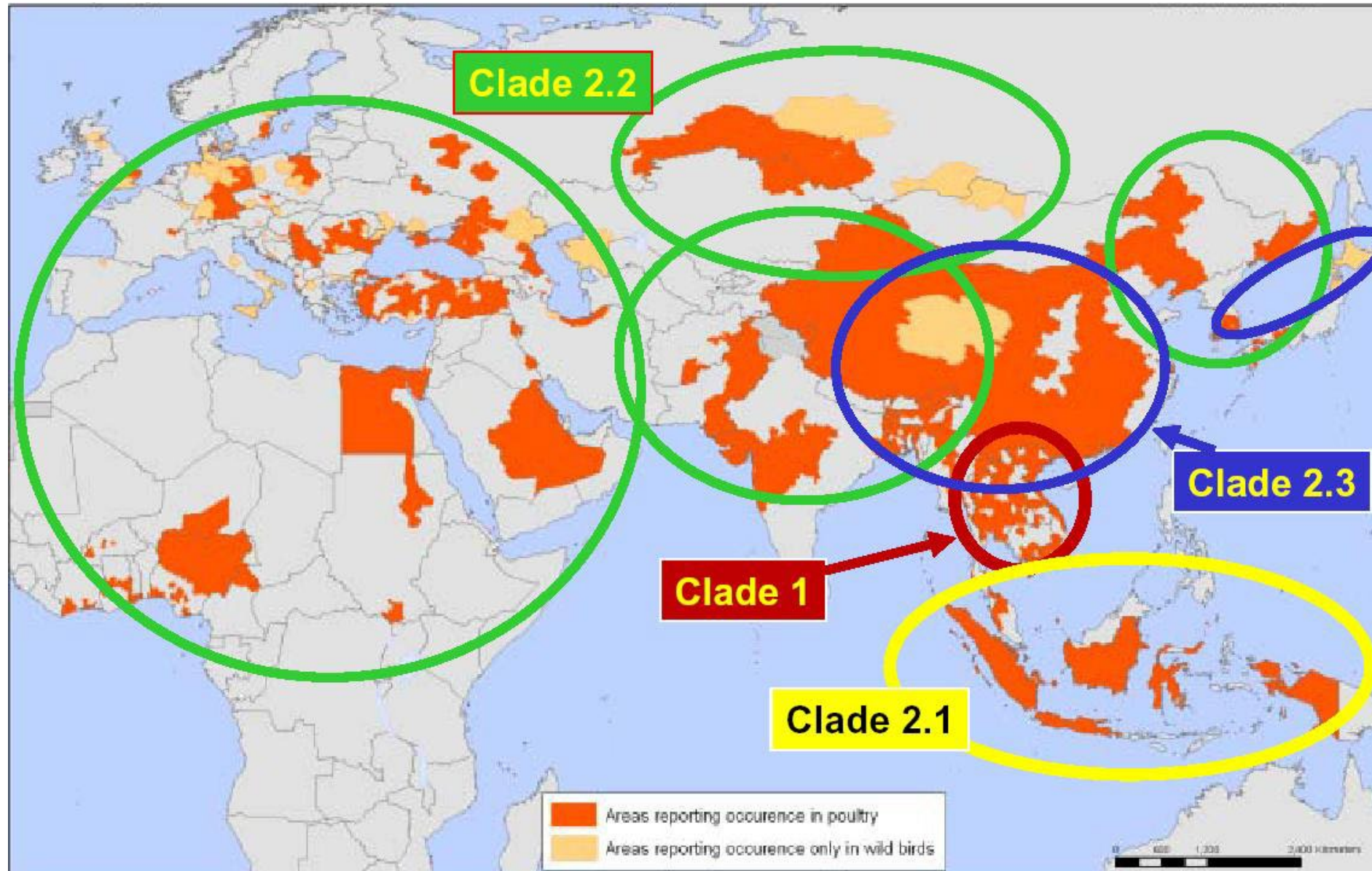
HA	<u>Hemagglutinin</u>	Swine (H1)	North America
NA	<u>Neuraminidase</u>	Swine (N1)	Europe
PA	<u>RNA polymerase subunit</u> PA	Avian	North America
PB1	<u>RNA polymerase subunit</u> PB1	Human	1993 H3N2 strain
PB2	<u>RNA polymerase subunit</u> PB2	Avian	North America
NP	<u>Nucleoprotein</u>	Swine	North America
M	<u>Matrix protein</u> M1, M2	Swine	Eurasia
NS/NEP	<u>Non-structural proteins</u> NS1, NEP	Swine	North America

出典: "[The identity card of a composite virus](#)" (フランス). [Le Monde](#). 2009/04/29.
http://www.lemonde.fr/planete/infographie/2009/04/30/la-fiche-d-identite-d-un-virus-inedit_1187597_3244.html#ens_id=1185166.

鳥インフルエンザウイルス株



鳥インフルエンザウイルス株の固有地域



H5N1パンデミックの脅威

- 2003年現在までに – 15カ国で602件のH5N1ヒト感染例、死亡率 >50%(355人)。
- 2012年:ヒトH5N1症例24例、うち15例が死亡。
- 発生率の高い国は、カンボジア、中国、エジプト、インドネシア、タイ、ベトナムです。

現在のアプローチ

能動免疫:

- 不活化された全体または分割ウイルスの筋肉内(IM)注射。
- アジュバント化インフルエンザビロソームまたは生弱毒化低温適応インフルエンザウイルス(CAIV)ワクチンの鼻腔内(IN)スプレー。
- *すべてのワクチン接種者がワクチンに反応するわけではありません。*

抗ウイルス薬:タミフル[®](オセルタミビル)とレレンザ[®](ザナミビル)。

薬剤耐性株の出現に関する問題。

受動免疫: (特異的抗体の転移):

- H5N1に感染した患者から分離されたB細胞のエプスタイン・バーウイルス(EBV)不活化を用いたヒトmAbs。
- ファージディスプレイ。
- ヒト化モノクローナル抗体。
- ヒト組換え抗体。

費用がかかり、開発中です。

生産する抗原として用いられるインフルエンザウイルス株

- ヒトA型 H1N1
- ヒトA型 H3N2
- ヒトB型
- ブタ A 型 H1N1
- ブタ A 型 H3N2
- 鳥 A 型 H5N1クレード 1
- 鳥 A 型 H5N1クレード2.1

抗インフルエンザウイルスIgYを組み込んだ エアフィルターの評価のためのin vitro試験

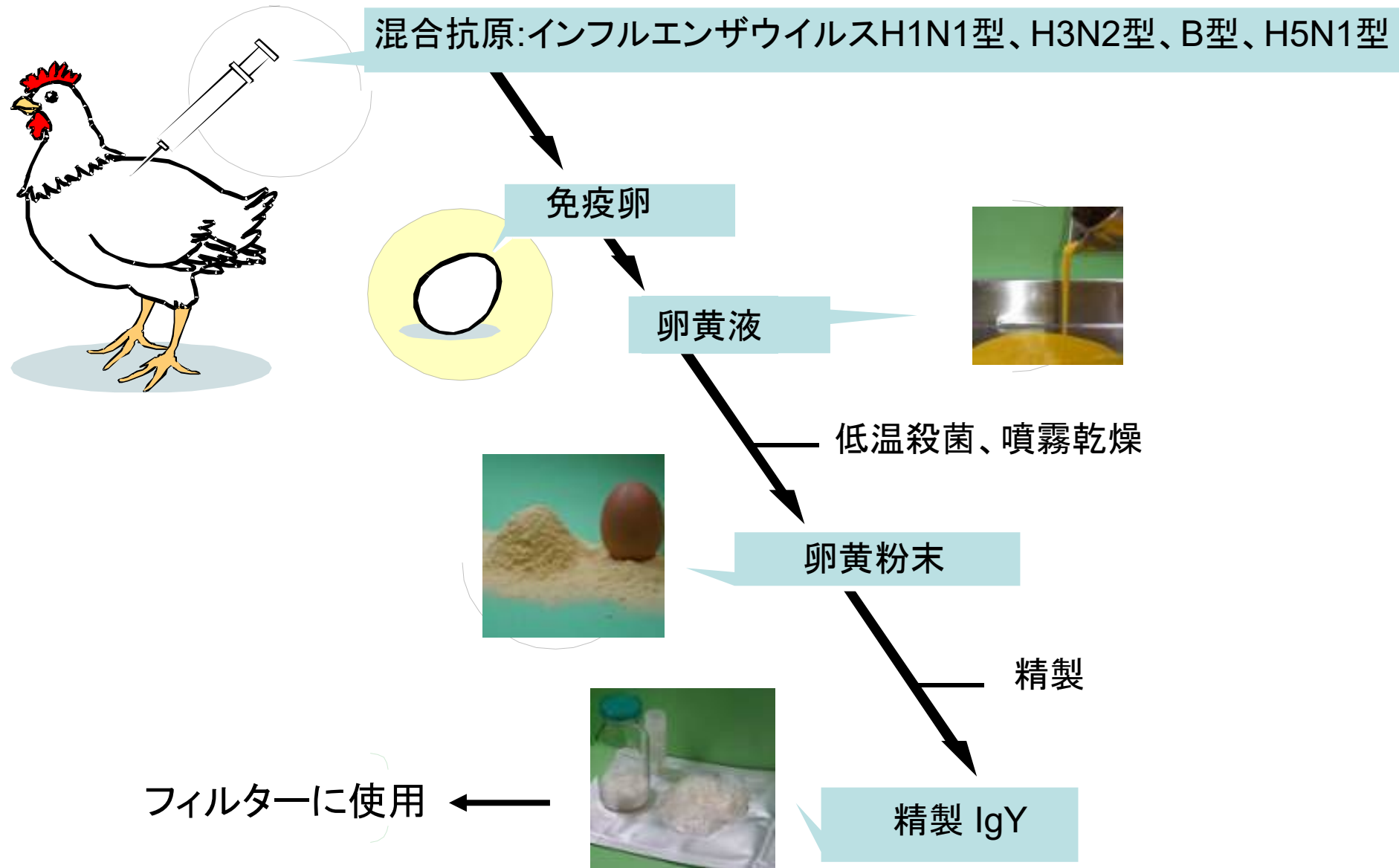
共同:

早稲田大学

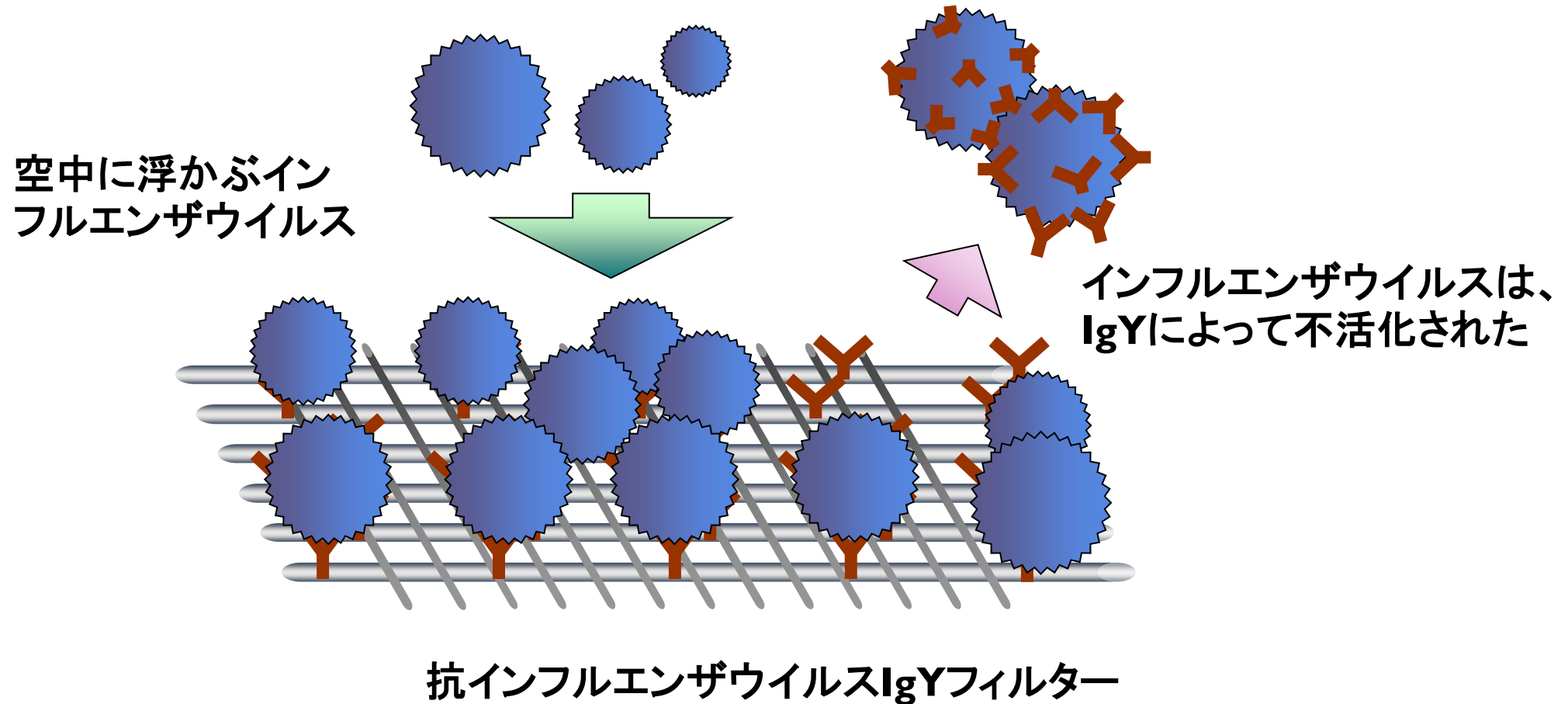
ダイキン工業株式会社

EWニュートリション・ジャパン

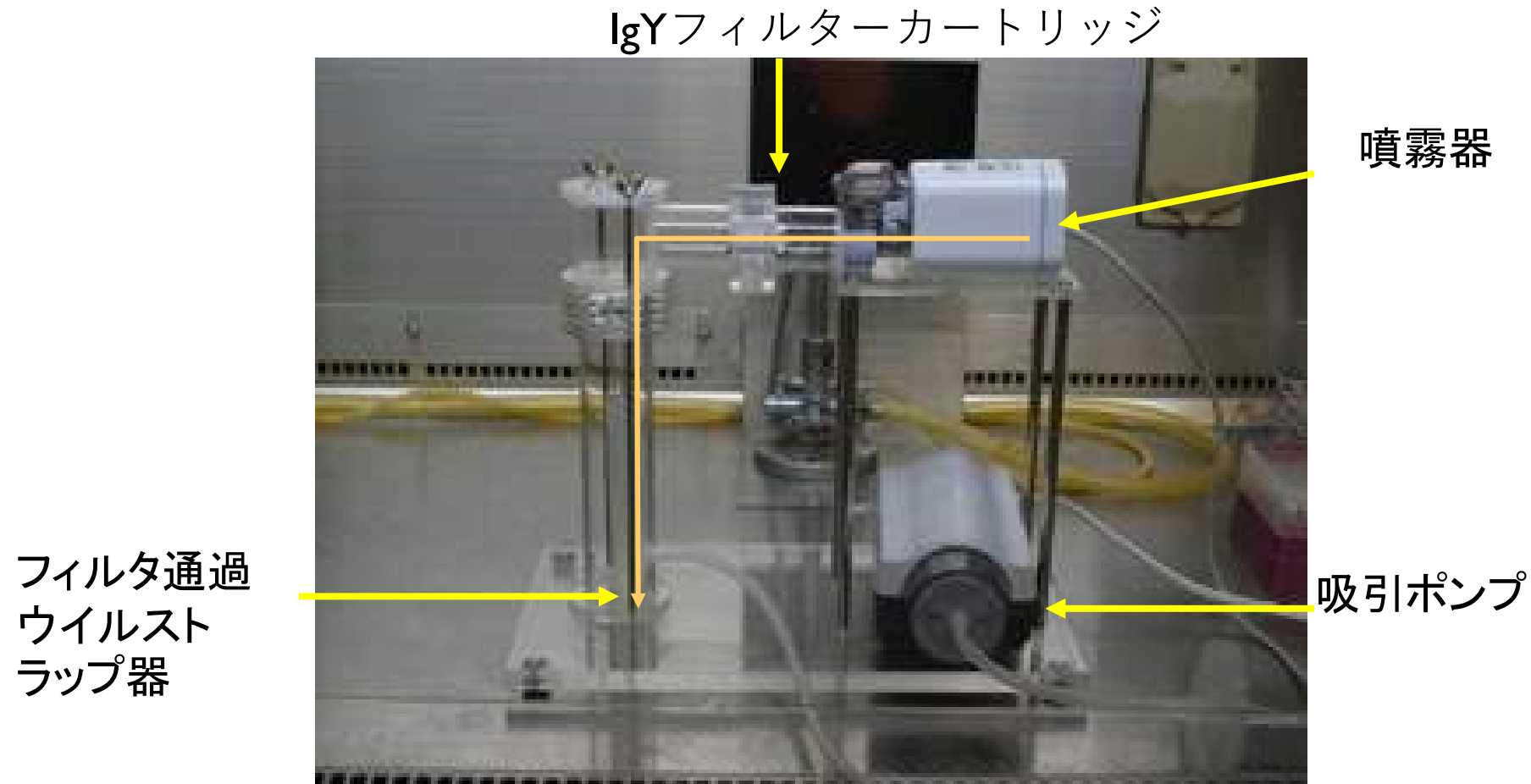
抗インフルエンザIgY製剤



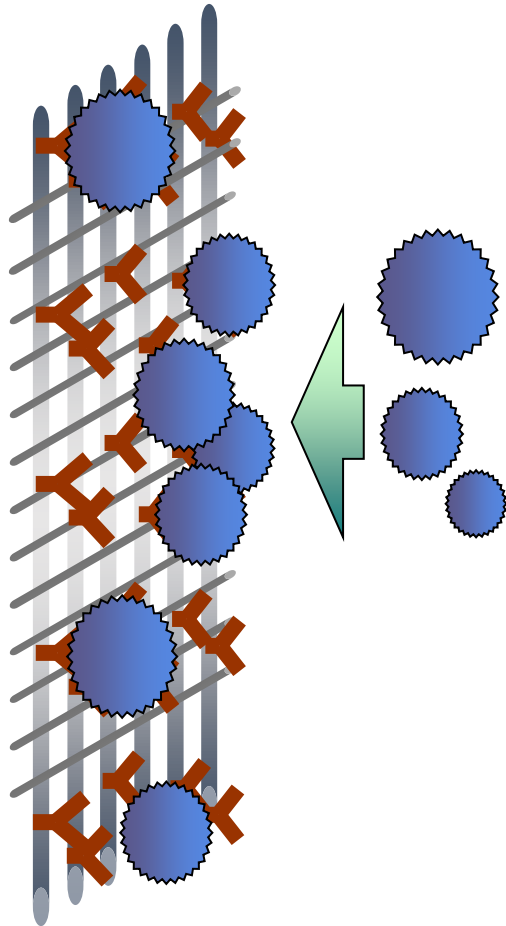
抗インフルエンザウイルスIgY内蔵フィルターの特徴



風洞装置による抗インフルエンザIgYフィルター評価



抗インフルエンザIgYコーティングフィルター でのインフルエンザウイルスストラップ



抗インフルエンザウイルスIgYフィルター 評価実験

方法

- IgYコーティングフィルターの種類

抗インフルエンザウイルスIgYおよびコントロールIgY塗布フィルター

- フィルターへのインフルエンザウイルスの取り込み

インフルエンザウイルス溶液(1.2×10^9 EID₅₀/50 μ L)を各フィルター(1cm²)にネブライザーで3分間噴霧し、室温で10分間培養します。

抗インフルエンザウイルスIgYフィルター 評価実験

- ウイルスの洗い流し

付着したウイルスを室温で500 μ LのPBS(-)により各フィルターから10分間洗い流す。

- ウイルス検出のための卵への接種

各希釈液(洗い流したウイルスの10⁻¹~10⁻⁸希釈液)から100 μ Lを4個の卵に接種し、37 $^{\circ}$ Cで48時間培養する。

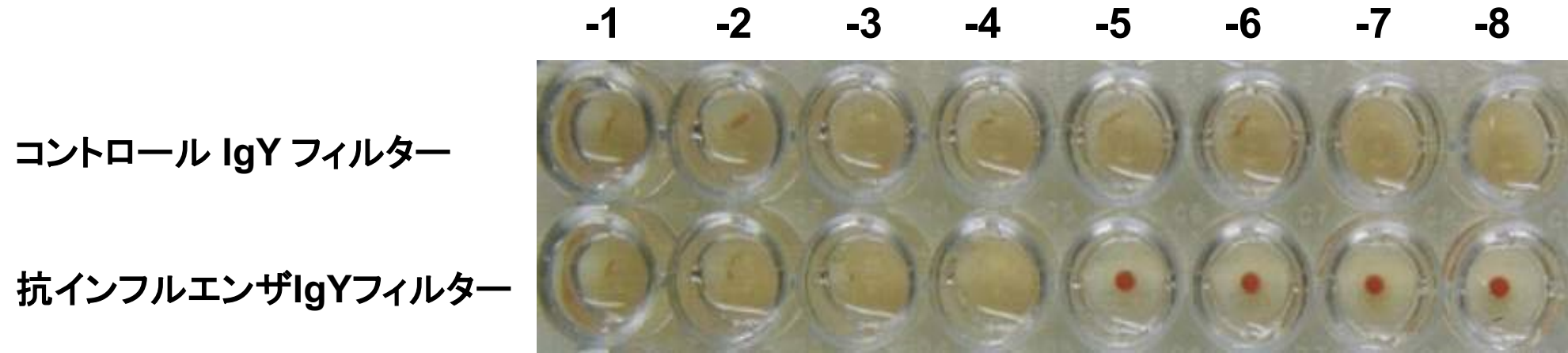
- 接種卵をパッセージ

接種卵100 μ Lを1000倍に希釈した後に卵に再接種し、37 $^{\circ}$ Cで48時間培養する。

- ウイルスカ価測定

HAはニワトリ赤血球を用いて試験され、ウイルスカ価はカルバー法により算出される。

抗インフルエンザウイルスIgYフィルター 評価結果



インフルエンザウイルスカ価

コントロール IgY フィルター $>0.5 \times 10^{8.5} \text{EID}_{50}/\text{cm}^2$

抗インフルエンザIgYフィルター $0.5 \times 10^{4.75} \text{EID}_{50}/\text{cm}^2$

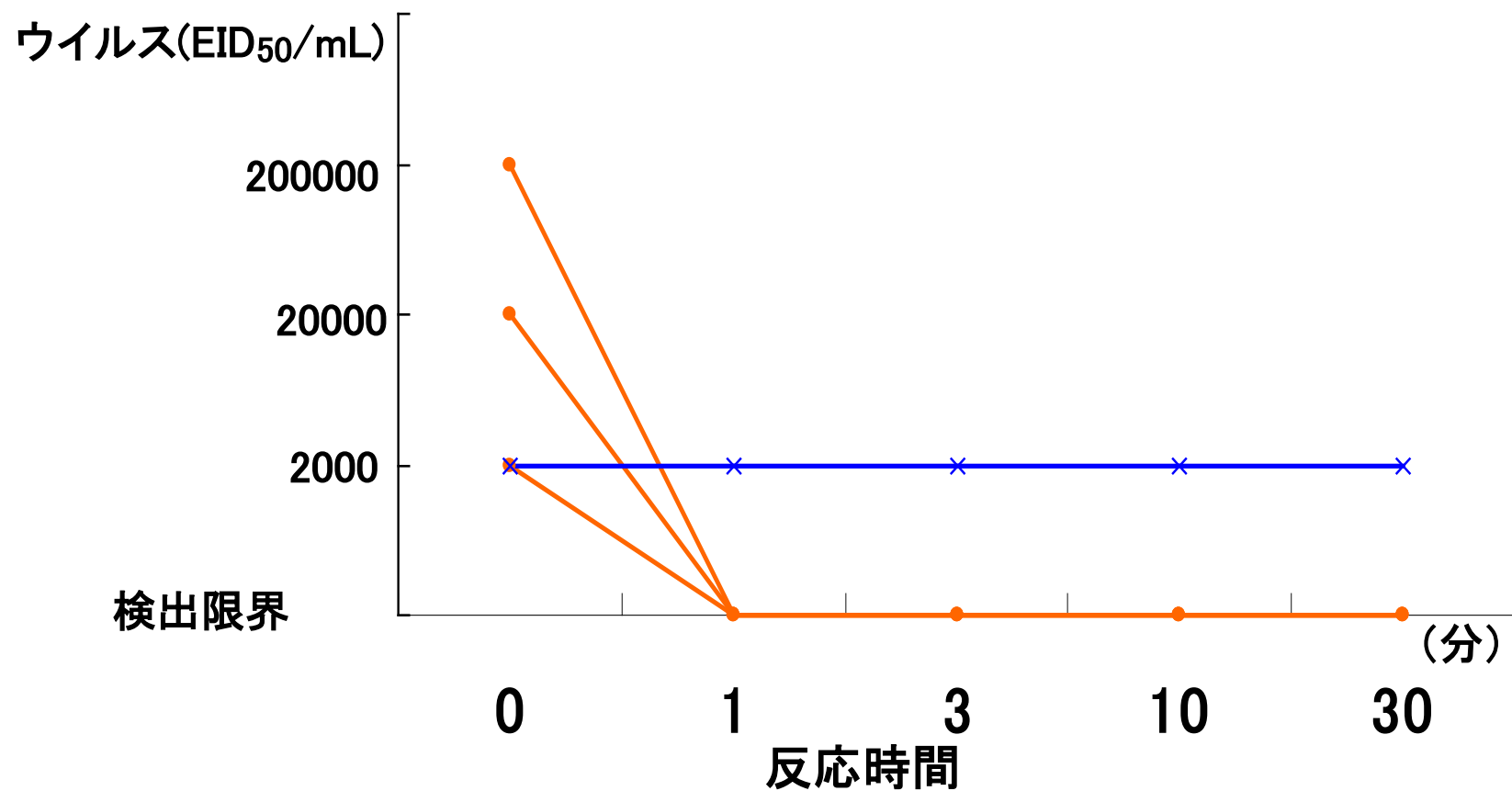
99.99%ウイルス不活化(中和)

バイオ抗体フィルターの迅速な不活化効果

n=10

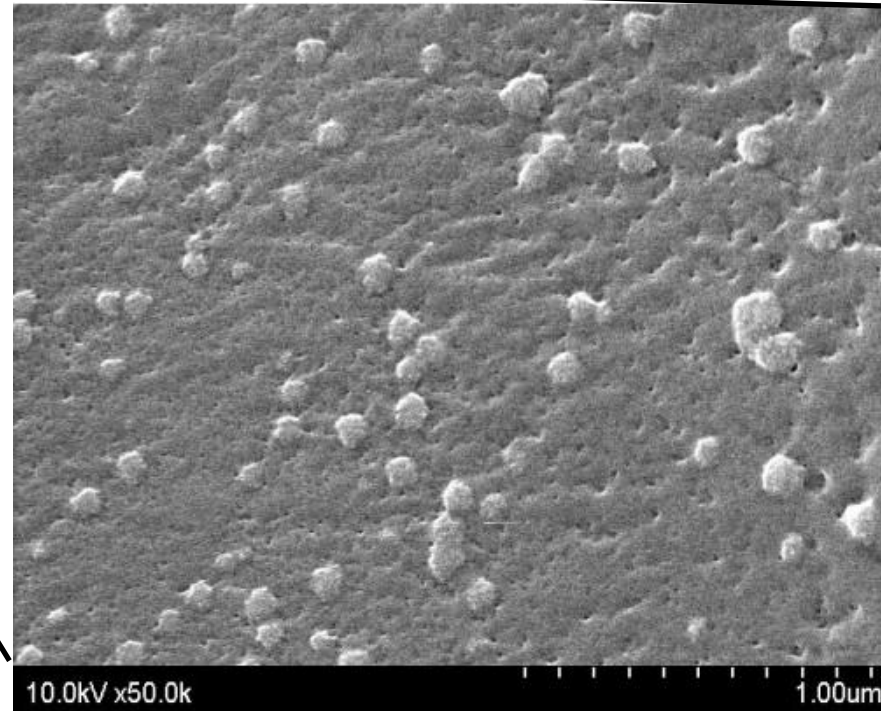
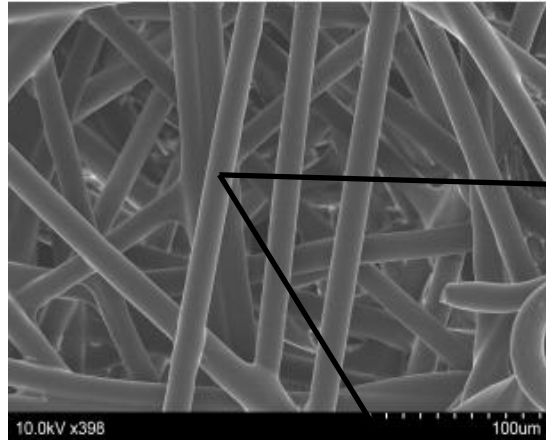
— : 抗インフルエンザ抗体

— : コントロール抗体



バイオ抗体フィルターに吸着した インフルエンザウイルス

山形大学医学部白沢准教授の協力を得て撮影



血清学的検査による鳥インフルエンザA/H5N1 ウイルスに対するエコローゲンIgYの評価

監修: Dr. Le thi Quynh Mai
試験: 特殊ウイルス病原体研究室
ウイルス学専攻
ベトナム国立衛生疫学研究所

ベトナム国立衛生疫学研究所



ウイルス学専攻ウイルス特別病原体研究室:Dr. Le thi Quynh Mai



国立インフルエンザセンター



研究室BSL1エリア



セーフティキャビネット



BSL3エリア



BSL3エリア監視

H5N1ウイルスのクレード

- HA抗原に応じて10種類のクレードが利用可能.
- ヒトに病気を引き起こすクレードは、0、1、2.1、2.2、および2.3です。
- クレード1は東南アジアで最も一般的です(トリとヒト)。
- クレード2(2.1、2.2、2.3、および2.3.2など)は、日本、韓国、および中国でトリから単離されています。

材料および方法

- **IgY抗体**
 1. 抗インフルエンザサンプル(4サンプル)
 2. 模擬感染した IgY

- **ウイルス中和試験**

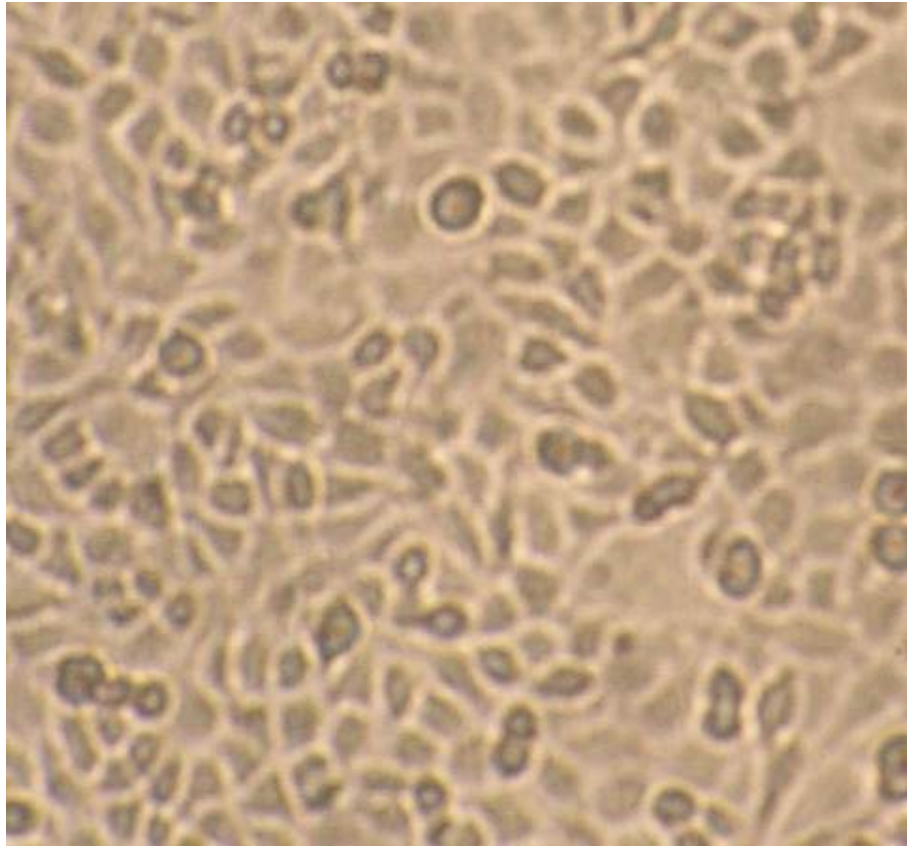
方法

1. HI(ヘマグルチン化阻害試験)
2. マイクロプレート中和試験

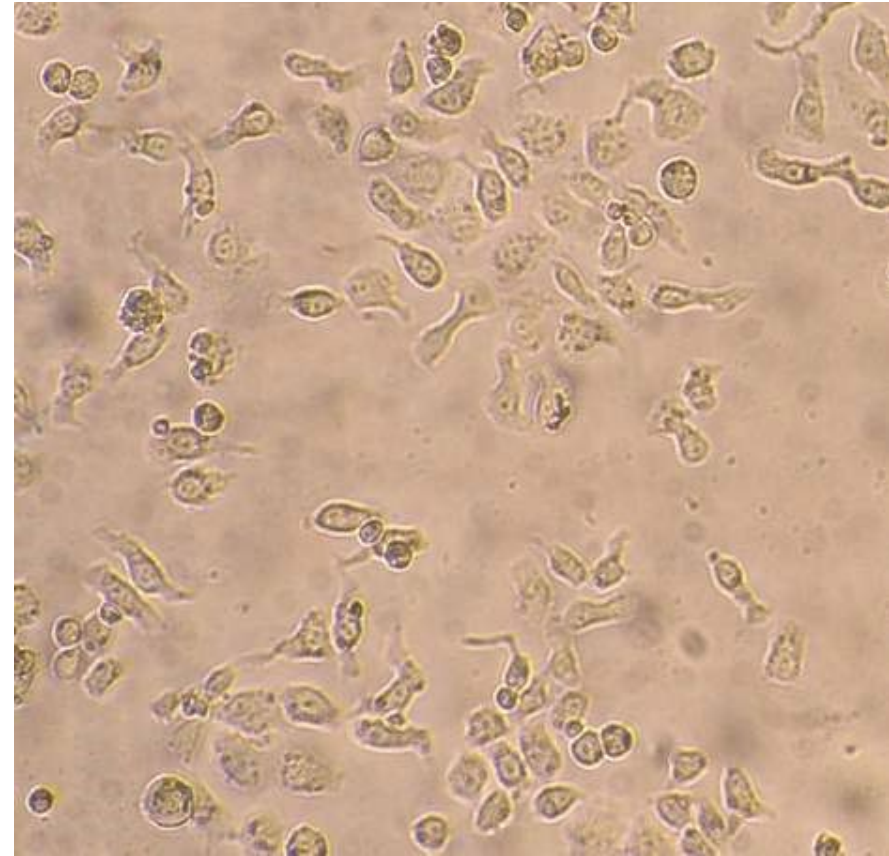
H5N1ウイルス株

1. A/Hanoi 30408/2004 (クレード 1)
2. A/Hanoi 31461/2007 (クレード2.3.4)

インビトロウイルス中和試験



抗インフルエンザIgY処理MDCK細胞



コントロール IgY 処理 MDCK 細胞

結論

- エコローゲンFL IgYはH5N1ウイルスのクレード1とクレード2の両方を中和

血清学的検査による新型パンデミックH1N1/09 ウイルス(新型H1N1)に対する抗インフルエンザ IgYの評価

監修: Dr. Le thi Quynh Mai
試験: 特殊ウイルス病原体研究室
ウイルス学専攻
ベトナム国立衛生疫学研究所

新型パンデミックH1N1/09ウイルスに対する インビトロ中和試験

- 使用したIgYの種類:

1. コントロールIgY(非免疫卵)
2. 抗ヒトインフルエンザH1N1 IgY
3. エコロゲン(ヒトおよびブタH1N1インフルエンザIgY)

方法:

マイクロプレート中和試験

使用したウイルス株: HN31868 (新しいパンデミックH1N1株)

マイクロプレート中和試験結果

IgY sample	Neutralizing antibody titer
Control IgY	-
Anti-Human influenza IgY	-
Ecologen (Human and Pig H1N1 influenza IgY)	80

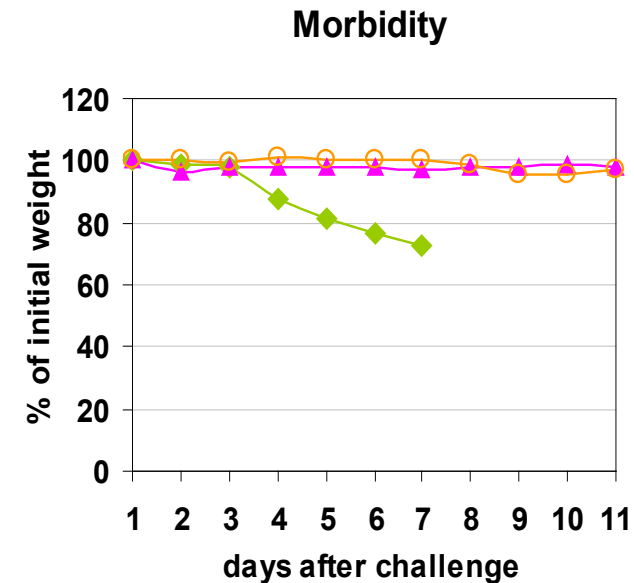
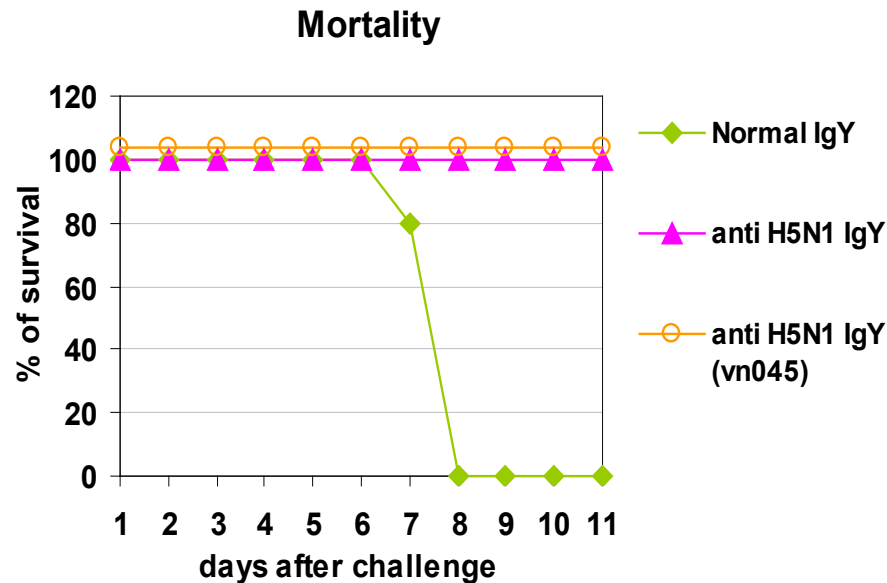
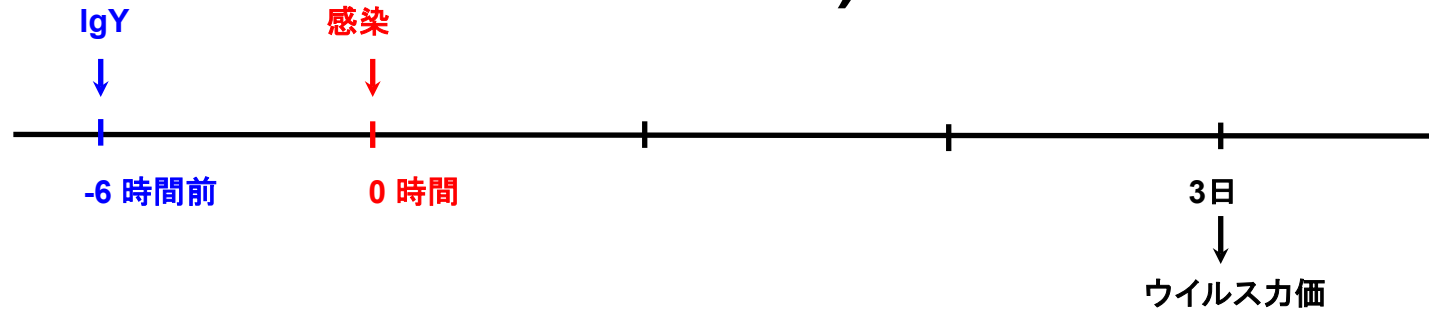
結論

- 抗インフルエンザIgYフィルターは、ウイルスを捕まえるだけでなく、最大99.99%までウイルスを中和しました。
- エコローゲンは、H5N1インフルエンザウイルス(Clade 1 & 2)を中和しました。
- エコローゲンは、新しいパンデミックH1N1インフルエンザを中和しました。
- エコローゲンは、H1N1、H3N2、およびB型、ニワトリインフルエンザウイルス、および新パンデミックH1N1インフルエンザウイルスに対して広範囲の中和効果を示した。

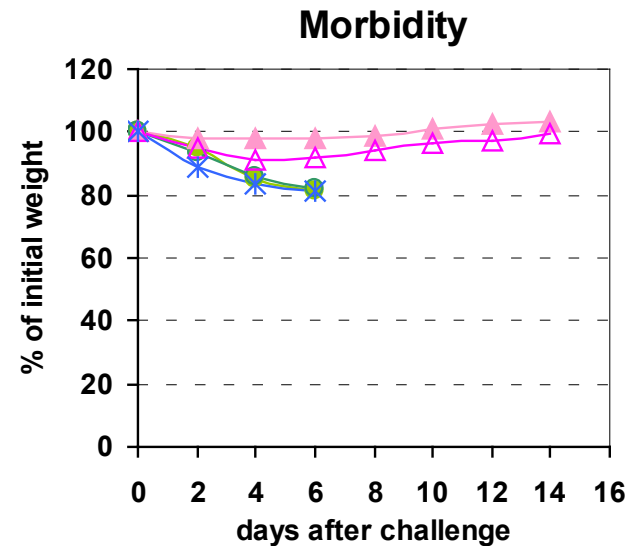
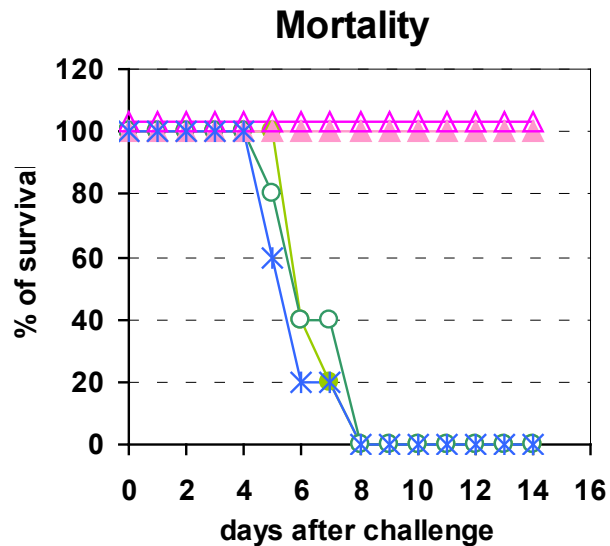
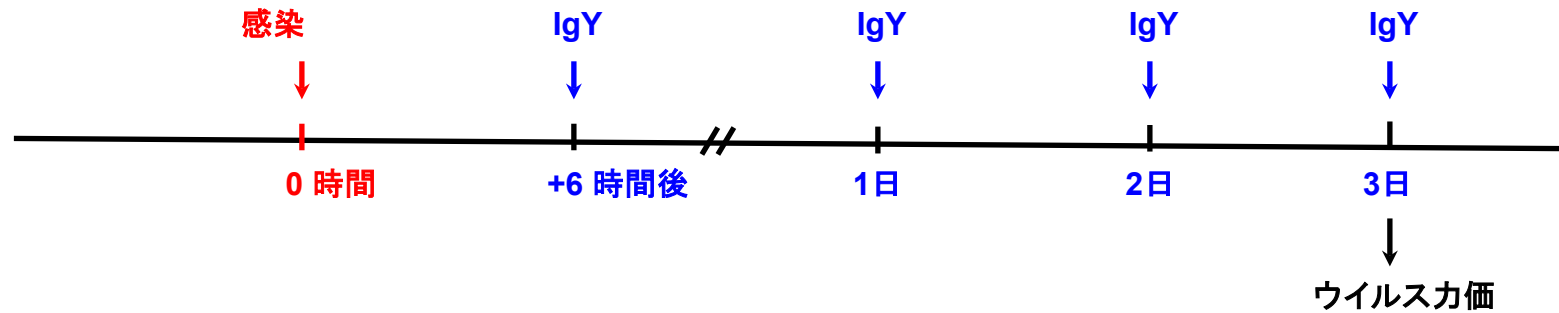
マウスモデルにおける抗インフルエンザIgY の効果

By Dr. Nguyen Huu Huan
ソウル国際ワクチン研究所

試験1:抗体の単回鼻腔内投与により、HPAIV H5N1による感染からマウスを防御した (A/Vietnam/1203/2004)

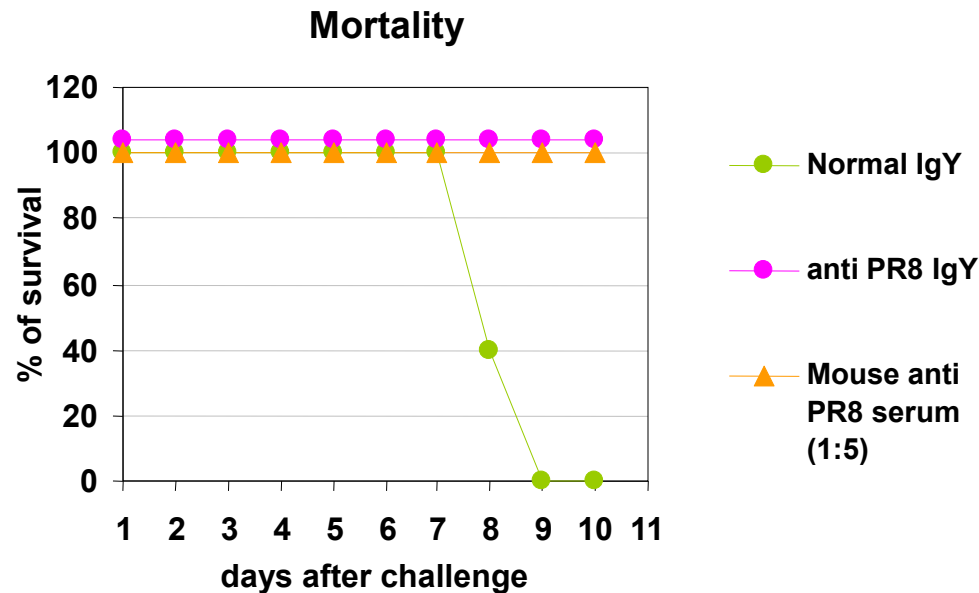


試験 2: 複数の感染後の鼻腔内治療

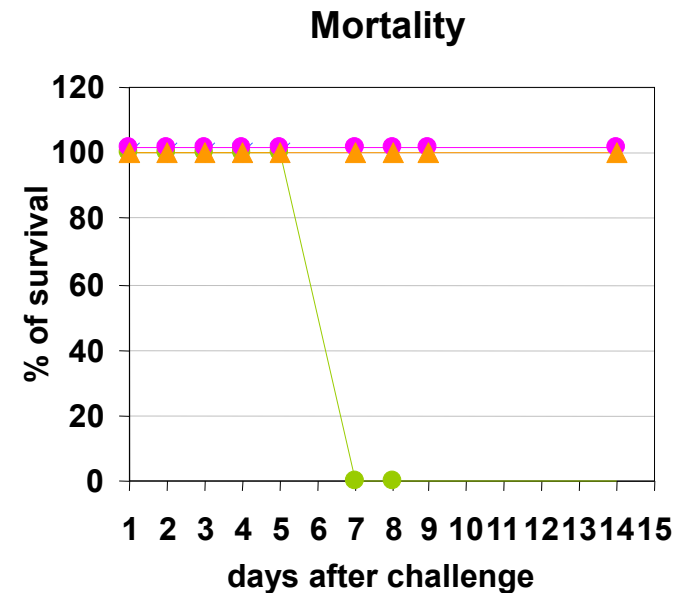


試験 3: H1N1特異的IgYはマウスをH1N1による感染から保護した(A/PR8/34)

Single pre-infection treatment



Multiple post-infection treatments



結論

- 家禽の集団予防接種に使用される混合インフルエンザ抗原は、潜在的なH5N1パンデミックインフルエンザに対する予防と保護のための、貴重で手頃な価格の生物学的製剤の膨大な供給源を提供します。
- このアプローチは、季節性インフルエンザの制御にも使用できます。

ビジョン

- 潜在的なH5N1パンデミックに対するH5N1-IgYの備蓄。
- 季節性インフルエンザのIgY:
 - 特定のウイルス標的に対するIgYの開発と生産は、ヒトワクチンよりも迅速です
 - IgYによる予防と治療は即時の効果をもたらす可能性があります
 - 免疫不全の個人および/または高齢者に適しています。