

学位論文題名

Development of kits for rapid diagnosis of influenza

(インフルエンザの迅速診断のためのキットの開発)

学位論文内容の要旨

A 型および B 型インフルエンザウイルスを特異的に検出する迅速診断キットの感度を向上させるため、A 型ウイルス NP 蛋白の 59-130 番アミノ酸領域および B 型ウイルス NP 蛋白の 72-191 番アミノ酸領域を認識するモノクローン抗体を用いたエスプライン[®]インフルエンザ A&B-N を開発した。本キットの検出限界は $10^{2.0}$ - $10^{2.7}$ pfu/テストであり、従来キットに比べ、4~1000 倍感度が改善された。また本キットは近年アジア地域でヒトや家禽から分離された高病原性 H5N1 ウイルスを含むすべての HA 亜型の A 型ウイルスならびに調べた 15 株すべての B 型ウイルス株と反応した。以上の成績から、今回開発したエスプライン[®]インフルエンザ A&B-N は A 型および B 型ウイルスを迅速かつ高感度に検出することが判明した。

エスプライン[®]インフルエンザ A&B-N 診断キットが鶏および豚インフルエンザを迅速に診断できるか否かを評価した。このキットにより高病原性鳥インフルエンザウイルス A/chicken/Yamaguchi/7/04(H5N1)株に実験感染 48 時間後の鶏の気管スワブ、気管乳剤、肝臓、脾臓、結腸から特異的にウイルス抗原を検出し、また斃死鶏からも気管スワブ、クロアカスワブと臓器乳剤からウイルス抗原を検出することができた。また、ニワトリに対して病原性が低いインフルエンザウイルス A/chicken/aq-Y-55/01 (H9N2)の実験感染鶏では、感染早期に気管スワブと気管乳剤からウイルス抗原を検出することができた。同様に豚インフルエンザおよび鳥

インフルエンザウイルスに感染したミニ豚の鼻腔内スワブからもウイルス抗原を検出した。以上の結果から、このキットを鶏および豚インフルエンザの高感度、特異的診断に活用できるものと結論した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜 田 宏
副 査 助 教 授 迫 田 義 博
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 助 教 授 前 田 秋 彦

学 位 論 文 題 名

Development of kits for rapid diagnosis of influenza

(インフルエンザの迅速診断のためのキットの開発)

インフルエンザは地球上に広く分布する人獣共通感染症である。ヒトの新型ウイルスは、自然界の鳥の間に存続するウイルスから遺伝子を獲得して出現する。ヒトに出現したウイルスはインフルエンザの世界流行（パンデミック）を起こし、ヒト集団に定着する。新型インフルエンザウイルスは、その後ヒトからヒトに伝播する間に抗体の圧力に曝され、抗原変異を起こす。抗原変異株は、年々インフルエンザの流行を引き起こす。したがって、ヒトおよび家禽・家畜のインフルエンザの的確な予防・治療には、迅速かつ精度に優れた、型と亜型の診断法の確立が必須である。本研究は、ヒトおよび家禽、家畜さらには野鳥のインフルエンザを臨床および疫学調査に活用し得る迅速診断キットを開発し、これを実用化するために実施されたものである。

まず、A 型および B 型インフルエンザウイルスを特異的に検出する迅速診断キットの感度を向上させるため、A 型ウイルス NP 蛋白の 59-130 番アミノ酸領域および B 型ウイルス NP 蛋白の 72-191 番アミノ酸領域を認識するモノクローン抗体を用いたエスプライン[®]インフルエンザ A&B-N を開発した。本キットの検出限界は $10^{2.0}$ - $10^{2.7}$ pfu/テストであり、従来キットに比べ、4~1000 倍感度が改善された。また本キットは近年アジア地域でヒトや家禽から分離された高病原性 H5N1 ウイルスを含むすべての HA 亜型の A 型ウイルスならびに調べた 15 株すべての B 型ウイルス株と反応した。以上の成績から、今回開発したエスプライン[®]インフルエンザ A&B-N は A 型および B 型ウイルスを迅速かつ高感度に検出することが判明した。

次に、エスプライン[®]インフルエンザ A&B-N 診断キットが鶏および豚インフルエンザを迅速に診断できるか否かを評価した。このキットにより高病原性鳥インフルエンザウイルス A/chicken/Yamaguchi/7/04 (H5N1) 株に実験感染 48 時間後の鶏の気管スワブ、気管乳剤、肝臓、脾臓、結腸から特異的にウイルス抗原を検出し、また斃死鶏からも気管スワブ、クロアカスワブと臓器乳剤からウイルス抗原を検出することができた。また、ニワトリに対して病原性が低いインフルエンザウイルス A/chicken/aq-Y-55/01 (H9N2) の実験感染鶏では、感染早期に気管スワブと気管乳剤からウイルス抗原を検出することができた。同様に豚インフルエンザおよび鳥インフルエンザウイル

スに感染したミニ豚の鼻腔内スワブからもウイルス抗原を検出した。以上の結果から、このキットを鶏および豚インフルエンザの高感度、特異的診断に活用できるものと結論した。

本研究成果がインフルエンザの予防・治療と疫学調査に資するところが大きいので、審査員一同は白 貴蓉氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。