

第55回 日本ウイルス学会学術集会

ダチョウ卵黄を用いた高病原性鳥インフルエンザウイルス
不活化抗体の工業的大量作製の試み

大阪府立大学 大学院 生命環境科学 研究科 獣医学専攻
塚本 康浩 准教授

ダチョウ卵黄を用いた高病原性鳥インフルエンザウイルス不活化抗体の工業的大量作製の試み

私たちはダチョウを用いて、有用抗体の低コスト・大量作製法の開発に成功しました。

塚本康浩¹、高間健太郎¹、並木秀男²、横田恭子³、足立和英¹
 (1大阪府立大学・獣医学専攻、2早稲田大学・教育総合科学学術院、3国立感染症・免疫部)

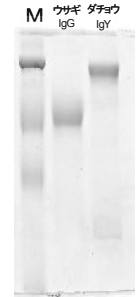
背景と目的



ダチョウ抗体のメリット

- ◆ これまで開発不可能であった抗体が作製可能！
- ◆ 卵黄から大量の抗体が採取可能
- ◆ 高感度
- ◆ 生産コストが低い。
- ◆ 1羽から大量に抗体が採取出来るため、ロット間差が少ない。

1羽のダチョウから年間400gの卵黄抗体 (IgY) の精製が可能です。
 抗体の工業的な使用に適する。



卵黄抽出IgYのSDS-PAGE

本研究では、ダチョウの抗体作製法により高病原性鳥インフルエンザ中和抗体の大量作製を行う。

表1. インフルエンザウイルスHA抗原に対するダチョウIgY力価

ダチョウIgY抗体 (下記の抗原を免疫)	抗体原液濃度	各抗原に対するIgY抗体価(ELISA)			
		H1N1	H3N2	B	H5N1
免疫前 IgY	2mg/mL	< 400	< 400	< 400	< 400
3種混合HA(H1,H3,B)	2mg/mL	102400	204800	102400	3200
3種混合HA(H1,H3,B)+rH5	2mg/mL	102400	204800	102400	51200
rH5	2mg/mL	800	1600	800	51200

方法と結果

インフルエンザウイルスHA抗原

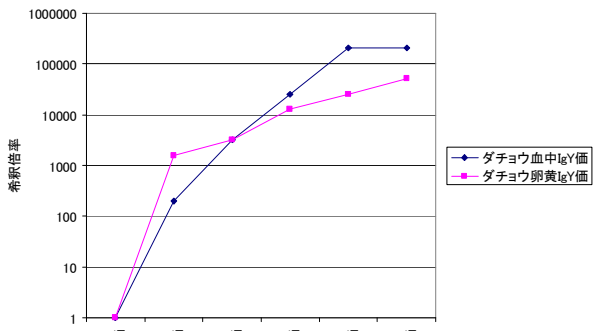
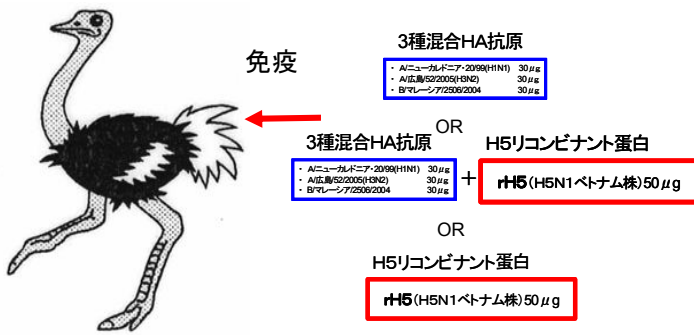
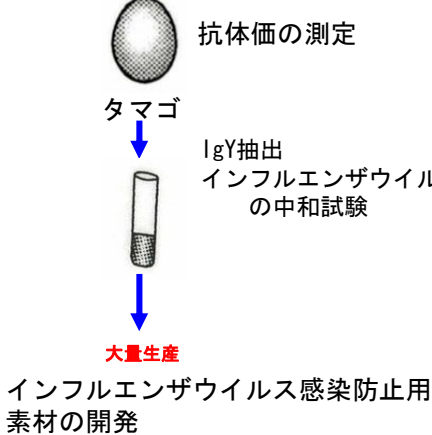


図1. 血中IgY及び卵黄IgY価

3種混合HAに対するダチョウIgY(3種混合HAを免疫)の抗体価の変化(ELISA)。免疫前IgYの2倍以上のOD値を示す最高倍率で表示。



	ダチョウ抗体			
	免疫前 IgY	3種HA	3種HA+rH5	rH5
MDCK細胞				
H5N1感染MDCK細胞				

図2. 各抗体を用いたH5N1感染細胞の免疫蛍光抗体法

表2. インフルエンザウイルス野外株に対する中和試験

インフルエンザウイルス野外株	中和活性価 (50%感染抑制値)
A型 (H1N1)	2.0 μ g/mL
A型 (H3N2)	6.7 μ g/mL
B型	24.4 μ g/mL

3種HA抗原を免疫したダチョウIgYの中和活性能をインフルエンザ患者より分離したA型H1N1、A型H3N2、B型の野外株を用いて検証した。

(協力機関:大阪府立公衆衛生研究所)

表3. 高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1に対する中和活性

MDCK		発育鶏胚	
抗体	H5N1に対する中和活性価 (MDCK細胞)	抗体	H5N1に対する中和活性価 (発育鶏胚)
免疫前IgY	測定不能 (>514 μ g/mL)	免疫前IgY	測定不能 (>768 μ g/mL)
3種HA+rH5	58.1 μ g/mL	rH5	63.4 μ g/mL
rH5	6.7 μ g/mL		

100TCID₅₀に対する50%感染抑制値として表示

H5N1感染ヒナをフィルターボックス内で飼育



BSL3施設での実験風景
H5N1感染鶏から非感染鶏への感染実験

表4. ダチョウ抗体のH5N1感染防止効果(応用例)
抗体担持不織布

	周囲ヒナの死亡率
不織布のみ	50 %
ダチョウ抗体担持 不織布 (3種HA+rH5)	0 %

図3. 高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1の鳥～鳥の感染実験

ダチョウ抗体(3種HA+rH5)を担持した不織布で作製したケージにH5N1感染ヒナを入れ、その周りに正常ヒナを多数飼育した。
3日後の周囲ヒナの死亡率を算出した。H5N1感染ヒナ:鼻腔内に10^{7.9}TCID₅₀のウイルス液を接種。
鶏の感染実験はインドネシア国内のBSL3施設にて実施した。
(協力機関:インドネシアボゴール農業大学(Dr. Ekowatti))

ダチョウ抗体の担持により鶏～鶏の感染が防止された。

現在、莫大な量のH5N1に対する中和抗体の作製に成功し、新型インフルエンザウイルス対応の感染・拡散防止用素材(マスクやフィルター)の開発などの工業的実用化をはかっている。