

## 超高感度検査のススメ!座談会

#### インフルエンザの流行を防ぐためにできること、 と、 一緒に考えませんか?

話し手:永友 真未

(株)スティックスバイオテック研究員 (鹿児島大学工学部 隅田研究室)



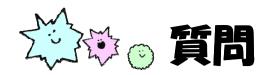


# 超高感度検査のススメ! 座談会 スケジュール

- 1. インフルエンザの基礎知識
- 2. 超高感度検査のお話

3. 流行を防ぐためにできること



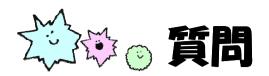


# インフルエンザと普通のかぜは 何がちがう??

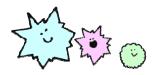


# **冷かっインフルエンザとかぜとのちがい**

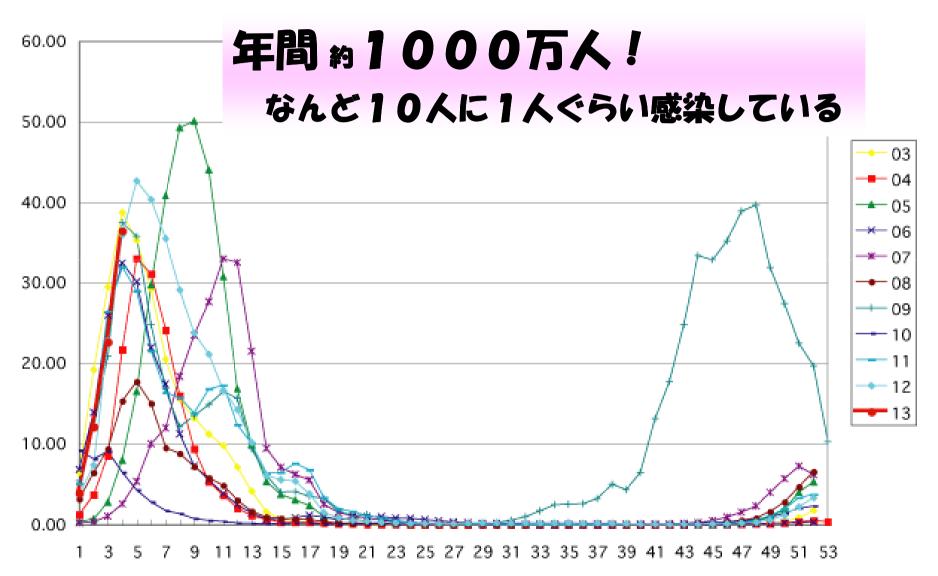
	インフルエンザ	かぜ
症状	発熱、悪寒、頭痛、筋肉痛、 関節痛、けんたい感など	のどの痛み、鼻水、鼻づまり、 くしゃみ、 せきなど
発熱	38~40℃	<b>あっても37</b> ℃
発症	急激に悪化	徐々に進行
合併症	気管支炎、肺炎、中耳炎、脳症 など	あまりない
原因	インフルエンザウイルス	ライノウイルス、 アデノウイルスほか
流行シーズン	冬期	とくになし



# インフルエンザ どれくらいの人がかかっているの??



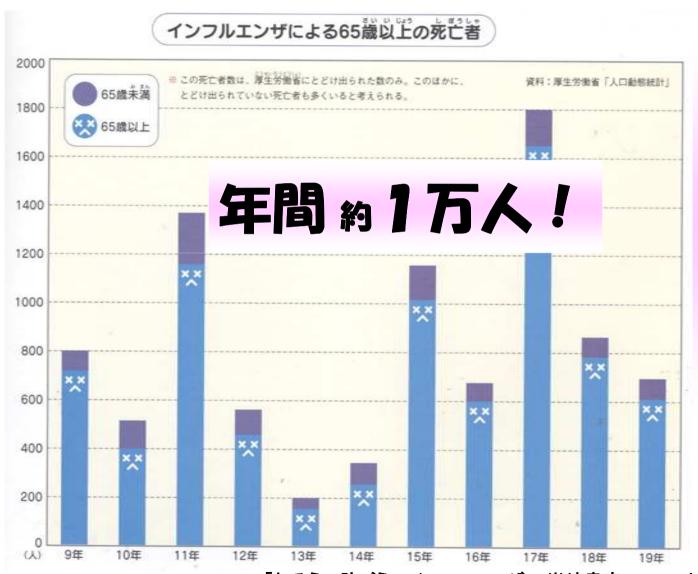
# ☆☆。インフルエンザの感染者数



インフルエンザ 定点あたり報告数 国立感染症研究所HPより



# (グラッインフルエンザによる死亡者数)



高齢者 慢性疾患患者 幼児、妊婦は 重症化する傾向 があり合併症の リスクも高い

(直接の死因とされ るのは年間200~ 1800人程度)

「知ろう! 防ごう! インフルエンザ | 岩崎書店 2009 より



# (本) ロップルエンザによる社会的損害?

インフルエンザにかかると、

しんどいだけでなくお金もかかります・・・

診察費・治療費で1人あたり約1万円の医療費!

さらに、「学校保健安全法」によって

「発症後5日、かつ解熱後2日間は休まなければならない」

本人+保護者が5日間も社会活動ができない!





# グラインフルエンザにどうやって感染する?



飛沫感染

くしゃみやせきで飛ぶ飛沫含まれる ウイルスによって感染する





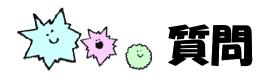




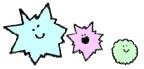






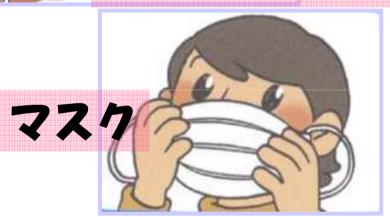


# インフルエンザ 予防法は??



# ☆☆。インフルエンザの予防法

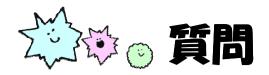




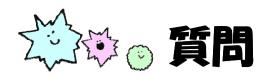








こんなに 予防していても どうして毎年毎年流行するの??



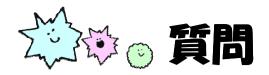
予防していてもどうして毎年毎年流行するの??

それは・・・

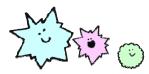
かかっているのに

気づかない 気づくのが遅い

のです。たぶん。



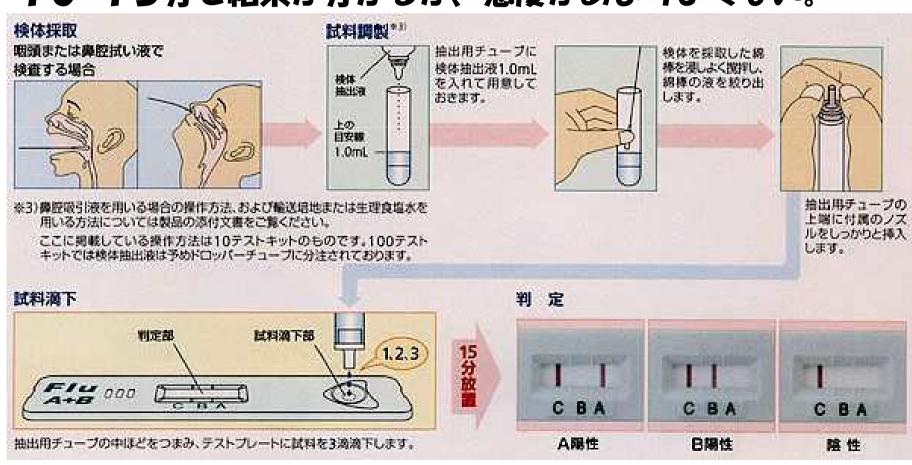
### インフルエンザの検査方法は?

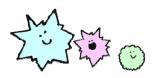


## 一〇〇 インフルエンザの検査方法

### 迅速診断キット

ウイルス表面のタンパク質を検出する方法 10~15分で結果が分かるが、感度があまりよくない。

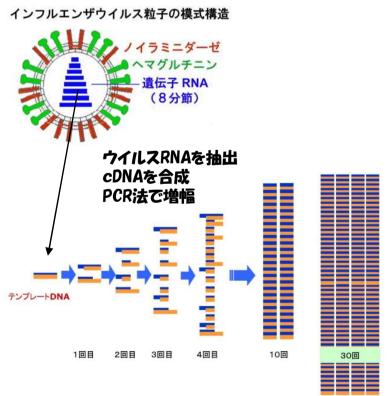




# ☆☆。インフルエンザの検査方法

### PCR検査

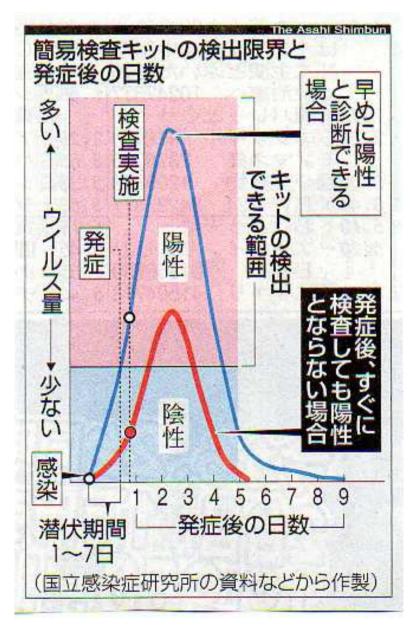
ウイルスの遺伝子を増幅させて検出する方法 感度はよいが特殊な装置が必要、時間がかかる 現在は一部の医療機関や保健所でのみ実施されており一般的でない







# 一〇〇 インフルエンザの検査の感度



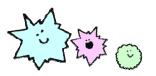
### 迅速検査 ⇔ PCR検査 感度は約5000倍

さらに 約100倍 超高感度な検査法を開発

超高感度検査法によって 症状のない患者 (感染初期や不顕性感染)でも 診断可能!

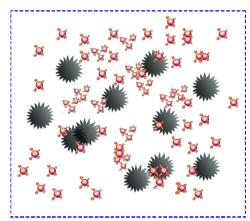


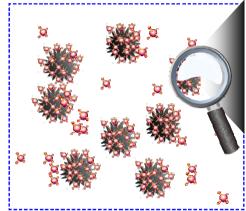
# インフルエンザの 超高感度検査について ご紹介します

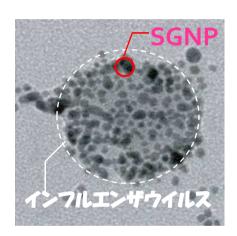


# ☆☆。超高感度検査のしくみ1

### ウイルスにおもりをつけて集めてくる







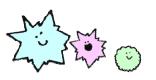








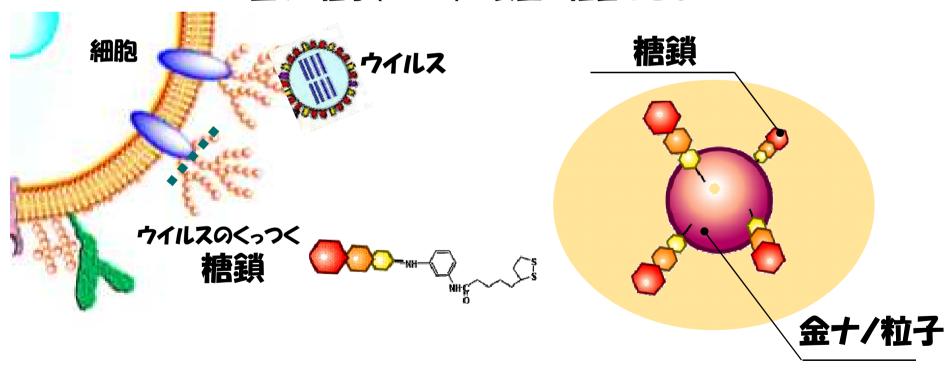


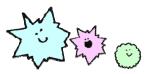


# 超高感度検査のしくみ2

### ウイルスにくっつくおもりの作り方

ウイルスが最初にくっつく細胞表層の糖鎖を 金ナノ粒子(SGNP)の表面に結合させる

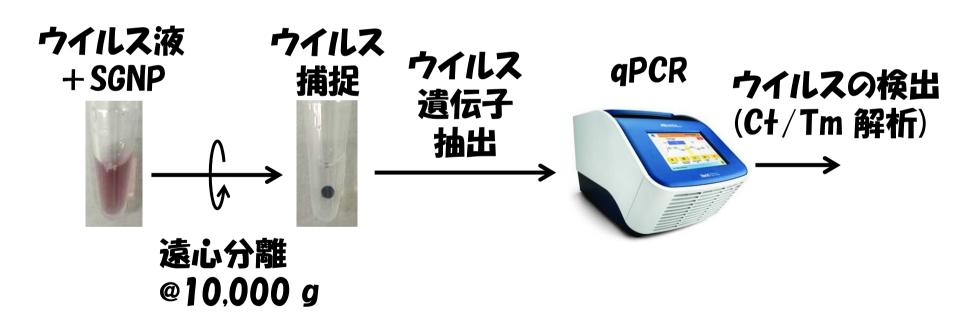




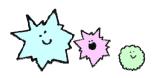
# 迎 超高感度検査のしくみ3

### ウイルスの検出方法

ウイルスに金ナノ粒子(SGNP)を結合させて遠心分離し、 ウイルス遺伝子を抽出、定量PCR法によって検出する

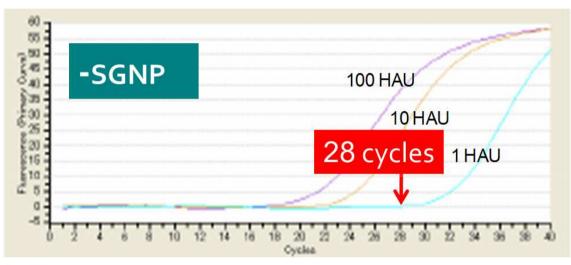


約2.5時間

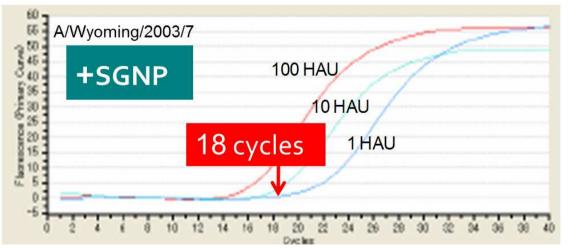


### 道域の 超高感度検査のしくみ4

### ウイルスの検出結果



SGNPによって ウイルスを集める = 濃縮することで 10サイクル 早く検出できる!!



感度は 210 倍 = 1024倍



### 超高感度検査によって・・・

# 鼻腔ぬぐい液ではなく



唾液(ツバ)でも

十分な感度で検査が可能に!!



の試験運用を進めてい

### 超高感度検査法の紹介



産経新聞 2010.1.25

日本経済新聞 2010.1.25

隅田教授によると、ウイルスが

新型インフル 発症前に判定

鹿児島大など検査法開発

新型インフルエンザの を決初期に、唾液(だえ 感染初期に、唾液(だえ が開発、兵庫医大(兵 で物化学)らのグルー で物化学)らのグルー で対開発、兵庫医大(兵 で換査機器のウ

器 イルスがヒトの細胞の表 で感染することに着目。 を イルスに、人工的に作った を イルスに、人工的に作っ を イルスに、人工的に作っ を オルスに、人工的に作っ を 持鎖をつけた微小な粒 で する方法を開発した。

いる。

今春の実用化を目指してタを積み重ね、早ければと想定されており、デーと想定されており、デートを表示する。

染が分かれば周囲にウィ

隅田教授は「早期に感

動を取ることもできる」

隅田教授によると、ウ

今回の方法はこうした

待できる」としている。 なるケースがある。 おのウイルス量で検出可 症状が出た後、簡易検査100分の1から千分の 日よ 新 性 100分の1から千分の 日よ 新 性 100分の1から 100分の1から

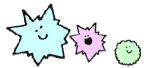
新了 \* 5 \* E \* http://allatanys.jp

歴児島大教授ら開発 新型インフルエンザの感染初期に、唾液に含まれる微量のウイルスを検出する方法を鹿児島大の隅スを検出する方法を鹿児島大の隅田泰生教授(生物化学)らのケループが開発、兵庫医大(兵庫県西宮市)で検査機器の試験運用を進宮市)で検査機器の試験運用を進宮市)で検査機器の試験運用を進宮市)でを高りとしている。

### 新型インフル 発症前に診断

と下の細胞の表面を覆う糖鎖にくているなな子を付着させ濃縮、検出する方法を開発した。 新型インフルエンザの感染は通常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出た後、簡常、高熱などの症状が出たるが、一定量以上のウイルスがないと結果が「陰性」となるケースがある。 今回の方法はこうした。見逃れている。 付動を取ることもできる」と話な行動を取ることもできる」と話な行動を取ることもできる」と話な行動を取ることもできる」と話ない。

NHK 情報WAVEかごしま 朝日新聞 日刊工業新聞 他



### 新型インフルエンザの早期発見

某国立大学の体育会系クラブで合宿中に新型インフルエンザ罹患者が出た。 大学は学長命令で、その日のうちに合宿を中止させ、1週間の自宅待機を命じ た。

希望者に対して、唾を各人がチューブにとり、超高感度検査によって、インフルエ ンザウイルス量を調べる自主検査を行った。

8/19 新型インフルエンザ罹患者の報告。合宿中止命令(夜)。

8/20 大学に帰還(昼前)。 唾液採取、 超高感度検査(28名)

8/21 結果 5名陽性(#1.#6.#12.#17.#24 1名は持病持 ち)、3名陽性の疑い(#2.#14.#25) 検出率:8/28=29%



# 道(\*) 超高感度検査の実施例

●:陽性:; ○:擬陽性(Tm4以降にピークあり)

82009		サンプル 番号	SGNP + RT-qPCR					RT-qPCR				
			Ct	Tm1	Tm2	Tm3	●陽性	Ct	Tm	Tm2	Tm3	●陽性
		1	36.8	75.93	84.15	67.43		34.69	76.09	77.03	69.75	
		2	39.15	75.39	79.42	67.45	0	35.19	78.95	77.2	67.48	
		3	36.96	80.12	77.4	76.25		36.27	79.14	76.16	66.77	
		4	38.63	80.19	76.2	67.36		35.98	77.1	69.8	67.74	
		5	35.83	76.96	69.98	69.56		34.86	79.58	70.04	76.12	
		6	37.9	79.19	76.96	67.32		35.25	83.46	79.65	77.2	
		7	32.02	69.91	72.13	67.87		35.04	76.06	76.95	69.88	
		8	37.77	76.36	79.55	69.78		33.23	69.84	77.3	79.68	
		9	34.01	69.88	76.45	79.91		34.73	69.86	75.89	77.49	
		10	36.63	79.01	67.16	69.76		33.95	69.83	75.63	72.78	
		11	32.23	69.98	76.24	76.97		34.73	79.1	67.58	75.67	
	※全唾液	12	38.31	78.66	83.86	61.9	•	32.21	69.7	72.68	75.35	
	サンプル	13	33.23	69.85	72.61	77.71		36.53	75.74	79.66	67.79	
	にMEM培	14	36.95	76.4	69.86	72.57	0	34.5	69.74	76.33	72.41	
	地で500 <sub>川</sub>	15	36.69	75.71	80.09	67.64		33.56	69.67	79.29	67.26	
samples	添加、 500µを実験に用い た	16	35.36	77.41	69.74	67.81		35.75	79.75	76.2	69.7	
		17	39.39	76.3	83.78	65.15		34.93	79.81	77.59	69.77	
		18	33.39	69.62	76.1	67.54		35.69	79.49	67.35	69.84	
		19		65.98	62.68	63.75		35.19	76.02	70	67.37	
		20	34.56	79.35	69.67	77.48		31.59	70.01	67.46	77.34	
		21	35.04	76.84	69.94	67.74		37.08	79.98	77.37	76.16	
		22	30.46	69.98	67.54	72.85		35.41	76.19	69.85	79.82	
		23	38.83	75.46	69.9	67.21		36.83	76.43	67.69	69.14	
		24	38.57	77.2	83.62	69.95		35.19	77.14	76.2	69.94	
		25	37.92	77.82	75.67	67.44	0	35.71	76.46	79.94	67.82	
		26	37.74	77.05	67.53	62.15		34.57	79.73	69.27	67.71	
		27	36.52	80.05	76.37	67.43		36.53	78.15	69.61	66.94	
		28	35.54	79.51	67.54	69.35		35.4	77.34	79.72	67.66	
		健常人29	34.5	76.12	69.7	79.84		35.2	76.16	69.86	67.7	
		健常人30	38.14	79.23	75.52	67.13		34.93	69.99	76.28	77.03	
	P.C.	培養上清	21.23	83.33	79.71	69.75	•	35.07	77.49	75.78	83.66	•
control	N.				miiliQ	-1		36.97	78.91	61.79	67.23	

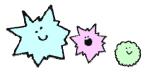


### 新型インフルエンザの早期発見

超高感度検査によって、

発症前の早期に発見することができ、

感染拡大を防ぐことができた! (早めに休んだので、病気にならな



## 道徳の 超高感度検査の実施例

### 迅速診断キットとの比較



インフルエンザ様症状の患者に対して、

鼻腔ぬぐい液を用いた迅速診断キットによる検査と、

唾液を用いた超高感度検査の結果を比較した。

@ 鹿児島大学病院、村上こどもケリニック

2011-12 シーズン(2012-13シーズンも継続中)



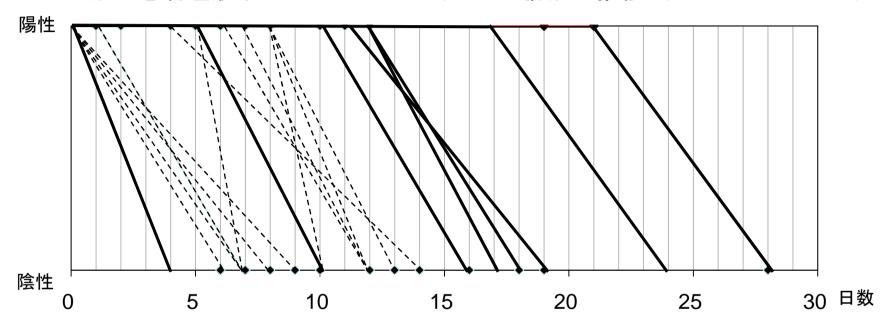
	簡易キット	我々の方法(唾液)				
患者	(鼻腔粘膜拭い液)	Α	В	1		
_	A+	25	0	0		
大人 (N = 74)	B+	1	2	0		
(11 ) 1)	_	24	0	22		
 子供	A+	54	0	2		
(15才以下)	B+	1	5	1		
(N = 109)		23	3	20		

大人の患者の52%(24/46)、子供患者(15才以下)の 57%(26/46) は簡易キットで陰性と診断されたが、唾液 中にインフルエンザウイルスが存在した。



# 道徳 超高感度検査の実施例

成人患者唾液中のインフルエンザウイルス排泄の推移 (2010-11 シーズン)



上段を陽性、下段を陰性として、同一患者の検体を線で示した(n=23)。 破線はH1N1pdm09、実線はH3N2が検出された患者。

23 名中8名で発症7 日以後もウイルスが検出されており、 10 日以上陽性が続いた患者が4名みられた。 長期排泄者は、H3N2 に多い傾向があった。



### 迅速診断キットとの比較



高感度検査は、検体採取が簡単で感度も良好であり インフルエンザの早期診断に有用。

回復後も長期間唾液中にウイルスが検出されてお

り、伝播予防に注意が必要

基礎疾患のある患者の早期診断や院内感染対策に 応用可能



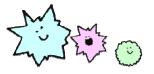
### 試験前の受験生モニター検査

2012年1月のセンター試験直前期に、

鹿児島市内の高校の受験生12名と先生1名に対し、

インフルエンザ超高感度検査を2度にわたって実施。

一度目の検査では陽性はなかったが、2度目の検査で 5名が陽性となった。



### 試験前の受験生モニター検査

		年齢 性別		検査1回目結果		検査2回目結果		
				A型	B型	A型	B型	
1	Y.I.	17	男	_	_	+	_	
2	M.K.	18	男	_	_	_	_	
3	K.K.	18	男	_	_	+	_	
4	S.H.	18	女	_			_	
5	Y.S.	18	女	_	_	+	_	
6	S.B.	18	女	_		ND	ND	
7	M.K.	18	男	_	_		_	
8	Y.O.	18	男	_				
9	Y.Y.	18	男	_	_	_	_	
10	D.N.	18	男	_		+		
11	Y.Y.	18	男	_	_	+	_	
12	S.Y.	18	男	_		_	_	
13	K.K.		女	_		_		



# 道徳 超高感度検査の実施例

### 試験前の受験生モニター

#### モニターアンケート集計結果

- ■検査を利用した理由 大事な用事の前に万全を期すために 12票 検査が超高感度だから 1票
- ■検査の手間について 簡単である 13票 面倒である 0票
- ■検査でインフルエンザ陽性だった方 5名について 検査結果を受けて、どのように対処したか 市販のインフルエンザ薬を服用した 自宅で療養した 2票 何もしなかった 1票
- ■検査は役に立ったと思うか? 思う 12票 わからない 0票 思わない O票
- ■今後も機会があればこの検査を利用したいと思うか? 思う 10票 わからない 2票 思わない 0票

- ■検査を利用されたご感想やご意見など
- たくさんの人がこの検査を利用できるようになればい いと思う。
- ・思った以上に簡単にインフルエンザの検査ができた。
- •センター試験の前の大事な時期にこのような検査を 実施してもらえて助かりました。
- •すごいなと思いました。
- 手軽で時間もかからず最高でした。
- ・よくわからず困っていたが教わった通いに出来たよう でよかったです。
- 手軽にできるのでもっと普及するべきだと思いまし た。
- 手軽にできてとてもよかった。



### 試験前の受験生モニター検査

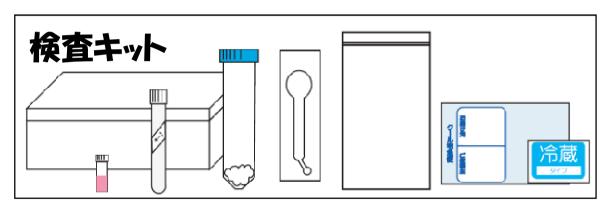
幸い、どの生徒さんも自覚症状はなく不顕性感 染でしたが、予防的に漢方薬を飲むなど、試験 に向けて養生なさったそうです。

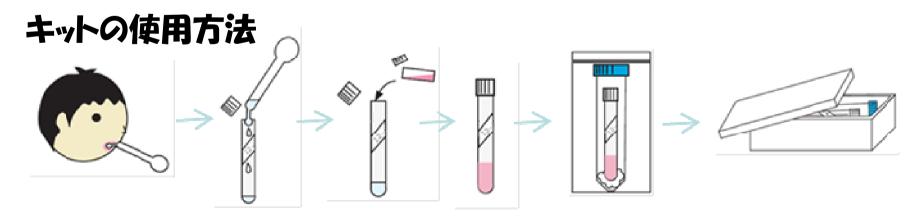
結果、みなさん体調を崩すことなく試験に臨ま れました。

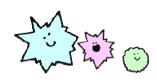


# ☆☆☆ 超高感度検査サービス

検査キットを販売しています 唾液を専用チュースに採取し宅急便で送るだけ 結果は唾液が届いた日か翌日にメールで報告します。



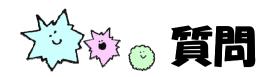




# 目には見えないウイルスですが、 このような超高感度検査によって ごくごく少量のウイルスでも検出可能になっています

この検査技術が

もっと手軽になり、一般に普及すれば、 インフルエンザの流行がない時代がくるかも?



### この検査を役立てるために

実際のところ・・・

どのくらいの時間で結果がわかればよいと思いますか?

どのくらいの価格であればやってもよいと思いますか?

結果が分かった後、どのような対応があればよいと思い

ますか?



# ☆☆。感染のしくみ1. 飛沫感染





#### 冷心の感染のしくみ2. 接触 感染





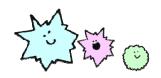


インフルエンザ ウイルスは

ステンレスなどの 硬い表面で 約1~2日

布などの 柔らかい表面で 約8時間

生存しつづける!



## 迎し 超高感度検査の実施例

### 薬局での不顕性感染モニタリング



調剤薬局のスタッフ11名に対して、4月から2月まで10か月間、週に一回、 唾を採取して鹿児島へ送付し、採取翌日に超高感度検査を実施した。

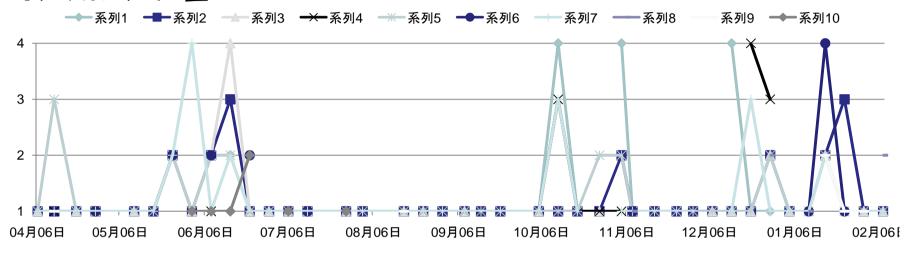
その結果、インフルエンザA型、B型の不顕性感染が確認された。

週毎のアセトアミ/フェン製剤の処方を指標とした発熱患者数と比較すると、 処方の頻度の高いときにスタッフが感染していた。

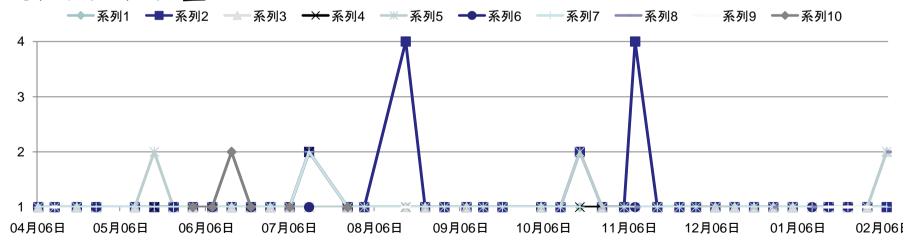


# ☆☆。超高感度検査の実施例

#### インフルエンザA型



#### インフルエンザB型





# 薬局での不顕性感染モニタリング



超高感度検査によって、

症状がなくとも感染している

不顕性感染が明らかとなり、

予防的投薬によって発症を防げた!