

学会発表のご案内

**「インフルエンザウイルスに対する低濃度二酸化塩素ガスの効果」及び
「濃度保持型二酸化塩素溶液の抗ウイルス活性及び抗菌活性の検討」について**

『第8回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会（大阪府豊中市）』にて発表

『正露丸』を製造販売する“ラッパのマーク”でおなじみの大幸薬品株式会社（本社：大阪府吹田市内本町三丁目34番14号、代表取締役社長：柴田 仁）は、2008年12月11日～12日に大阪府豊中市で開催された『第8回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会』にて、「インフルエンザウイルスに対する低濃度二酸化塩素ガスの効果」及び「濃度保持型二酸化塩素溶液の抗ウイルス活性及び抗菌活性の検討」という2つの演題で研究成果の発表を行いました。

「インフルエンザウイルスに対する低濃度二酸化塩素ガスの効果」と題する発表は、閉鎖空間におけるウイルス感染予防の方法として、“低濃度二酸化塩素ガス”が安全かつ有効であることを確認したマウス実験の結果についてまとめたものです。質量分析器等を用いた生化学実験による、“二酸化塩素”のウイルスに対する不活性化メカニズムを解明した研究成果等と併せて検討し、“低濃度二酸化塩素ガス”が空間中のウイルス除去に極めて有効であることを示す結果を得ました。

一方、「濃度保持型二酸化塩素溶液の抗ウイルス活性及び抗菌活性の検討」と題する発表は、濃度保持型二酸化塩素溶液（以下、二酸化塩素溶液）の感染症対策における有効性検証のために、各種ウイルス（A型インフルエンザウイルス/H1N1、麻疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型と2型、ネコカリシウイルス）及び各種細菌（大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、緑膿菌）に対する抗微生物活性を検討したものです。これらの検討により、二酸化塩素溶液がウイルスや細菌を幅広く不活化することが示されました。また、二酸化塩素ラジカルが特定のアミノ酸及びタンパク質と反応する結果も報告し、先に報告した二酸化塩素によるタンパク質中のトリプトファン残基とチロシン残基の特異的な酸化反応の研究結果（Ogata N., Biochemistry, 2007）と合わせ、ウイルスや細菌の不活性化メカニズムが二酸化塩素ラジカルのタンパク質への酸化反応であると考えました。この幅広いウイルス種及び細菌種への二酸化塩素ラジカルの反応性と不活性化メカニズムを考え合わせると、二酸化塩素溶液が新型インフルエンザウイルス等の新興感染症に対しても同様の働きをすることが期待されます。

当社研究所では、自然界に存在する様々なウイルスや菌を不活性化し、消臭作用もある二酸化塩素の働きに着目し、これを主要な研究テーマの一つとしています。インフルエンザウイルスやネコカリシウイルス等を用いた二酸化塩素の安全性・有効性に関する研究をはじめ、物性の基礎的研究等、様々な研究を続けています。今回発表した内容も、その研究成果の一つです。

- | | |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 【学会名】 | 第8回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会 http://www.nih.go.jp/niid/meetings/jbsa/meeting/index.html |
| 【会期】 | 2008年12月11日～12日 |
| 【演題1】 | インフルエンザウイルスに対する低濃度二酸化塩素ガスの効果 緒方 規男 ¹ （演者）、柴田 高 ¹ 1 大幸薬品株式会社 |
| 【演題2】 | 濃度保持型二酸化塩素溶液の抗ウイルス活性及び抗菌活性の検討 福田 俊昭 ¹ 、實方 剛 ² 、三浦 孝典 ¹ （演者）、森野 博文 ¹ 、李 哲成 ¹ 、緒方 規男 ¹ 、柴田 高 ¹ 1 大幸薬品株式会社、2 鳥取大学 農学部 獣医学科 |

要旨

インフルエンザウイルスに対する低濃度二酸化塩素ガスの効果

緒方 規男¹、柴田 高¹

¹ 大幸薬品株式会社

[目的] H5N1 等で知られる高病原性インフルエンザウイルスには変異した場合にパンデミックを生ずる危惧、あるいは生物兵器やバイオテロに用いられる可能性があるが、このようなウイルスのバイオハザードに対する有効な対応策は未だかつてない。例えば航空機内においてヒトを退去させることなくウイルスを不活化する手段はない。今回、我々はヒトを退去させることなくインフルエンザウイルスを不活化することを目的として、低濃度二酸化塩素ガスのインフルエンザウイルスに対する予防効果を調べた。低濃度とはヒトが常時居住できる安全な濃度のことである。

[方法] 各群 15 匹のマウスを二酸化塩素投与群と二酸化塩素非投与群の 2 群用意する。これらを半閉鎖のケージに入れ 15 分間インフルエンザウイルスのエアロゾルに暴露する。この時、同時に 0 ppm または 0.03 ppm の二酸化塩素ガスをケージに導入する。その後各群のマウスはそれぞれ個別のケージに移し飼育する。ウイルス暴露後 3 日目に各群から 5 匹のマウスを選びこれらの肺組織のウイルス力価(TCID₅₀, log10)を測る。各群の残り 10 匹に関してはさらに 13 日間観察する。

[結果] ウイルス暴露後 3 日目の肺組織内のウイルス力価 (TCID₅₀, log10) は二酸化塩素投与群では 2.6 ± 1.5, 非投与群では 6.7 ± 0.2 であった (p=0.003)。ウイルス暴露後 16 日間において二酸化塩素投与群では 10 匹中 0 匹のマウスの死亡が確認されたが、非投与群では 10 匹中 7 匹の死亡が確認された (p=0.002)。後日、同様に行った実験における投与群と非投与群のマウスの死亡率はそれぞれ 0/10, 5/10 (p=0.02) であり、やはり二酸化塩素投与群の死亡率は有意に低かった。

[考察] 0.03 ppm の低濃度二酸化塩素ガス存在下ではヒトは長期間居住しても安全である。例えば、米国の労働安全保健局 (OSHA) はヒトにおける二酸化塩素ガスの長期暴露安全レベルを 0.1 ppm 以下としている。ヒトに対して安全な 0.03 ppm という低濃度の二酸化塩素ガスがインフルエンザウイルスの感染を劇的に防ぐことより、これは航空機内のように閉鎖された空間のウイルス除去やバイオテロ等のバイオハザードに対する手段として安全かつ有効に使用できるであろう。二酸化塩素溶液は多くのウイルスに対して抗ウイルス活性を持つことより、ガスはこれらの空間除ウイルスの手段としても有効であると考えられる。

要旨

濃度保持型二酸化塩素溶液の抗ウイルス活性及び抗菌活性の検討

福田 俊昭¹、實方 剛²、三浦 孝典¹、森野 博文¹、李 哲成¹、緒方 規男¹、柴田 高¹

1 大幸薬品株式会社、2 鳥取大学 農学部 獣医学科

[目的] 近年、新型インフルエンザウイルス等の新興感染症の発生及び広範囲の伝播が懸念されており、バイオセーフティ面でその対策が重要となっている。今回、濃度保持型二酸化塩素溶液（以下、二酸化塩素溶液）の感染症対策における有効性検証のために、各種ウイルス（A型インフルエンザウイルス/H1N1、麻疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型と2型、ネコカリシウイルス）及び各種細菌（大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、緑膿菌）に対する抗微生物活性を検討した。

[方法] ウイルス懸濁液及び細菌懸濁液と所定の濃度の二酸化塩素溶液を一定時間接触させて中和後、常法によりウイルス力価（TCID₅₀, log10）及び生菌数（CFU, log10）を求め、抗ウイルス活性及び抗菌活性を求めた。

[結果] A型インフルエンザウイルス/H1N1、麻疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型と2型、ネコカリシウイルスを10 ppmの二酸化塩素溶液で15秒間処理するとウイルス力価（TCID₅₀, log10）は、それぞれ、6, 3.5, 3.5, 3.75, 5.25低下した。大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、緑膿菌を3 ppmの二酸化塩素溶液で20秒間処理すると生菌数（CFU, log10）は、5.76, 5.36, 5.34, 5.64低下した。この結果より、二酸化塩素溶液はウイルスや細菌に対して低濃度、短時間で3 log10以上の高い不活化活性を示すことが分かった。

[考察] 二酸化塩素溶液は、ウイルスや細菌に対して特異性をもたず、幅広く不活化することがわかった。二酸化塩素はタンパク質のチロシン残基とトリプトファン残基を酸化修飾し、それぞれ3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)と*N*-formylkynurenineに変化させることが知られている。また二酸化塩素はインフルエンザウイルスの表面タンパク質であるhaemagglutininとneuraminidaseを失活させることも確認されている。二酸化塩素ラジカルがタンパク質に対して濃度依存的に消失することも観察されている。これらの知見から、二酸化塩素はラジカル反応によりタンパク質の特定アミノ酸残基を酸化修飾し、ウイルスや細菌の主要なタンパク質を変性させることで微生物を不活化すると考えた。新型インフルエンザウイルス（H5N1）等の新興感染症に対しても二酸化塩素溶液の有効性が強く示唆される。