

平成28年2月

井東朗子 学位論文審査要旨

主査 千 酌 浩 樹
副主査 領 家 和 男
同 景 山 誠 二

主論文

In vitro inhibition of cytopathic effect of influenza virus and human immunodeficiency virus by bamboo leaf extract solution and sodium copper chlorophyllin

(クマザサ抽出液と銅クロロフィリンナトリウムによるIn vitroでのインフルエンザウイルスおよびヒト免疫不全ウイルスの細胞変性効果の抑制)

(著者：井東朗子、常城朱乃、吉田優、領家和男、海藤俊行、景山誠二)

平成28年 Yonago Acta medica 掲載予定

参考論文

1. 小児の口咽頭および咽頭部穿通性外傷の3例

(著者：奈良井節、小谷勇、土井理恵子、横木智、小川修史、谷尾俊輔、井東朗子、領家和男)

平成25年 口腔顎顔面外傷 12巻 44頁～48頁

学 位 論 文 要 旨

In vitro inhibition of cytopathic effect of influenza virus and human immunodeficiency virus by bamboo leaf extract solution and sodium copper chlorophyllin

(クマザサ抽出液と銅クロロフィリンナトリウムによるIn vitroでのインフルエンザウイルスおよびヒト免疫不全ウイルスの細胞変性効果の抑制)

口腔および咽頭の健康状態と感染症に対する感受性との関連は、十分に認識されてきたが、口腔ケア用の消毒薬の種類は限られており、開発の必要性は高い。

方 法

Madin-Darbyイヌ腎細胞 (MDCK細胞) を、インフルエンザウイルスに暴露させるのと同時にクマザサ抽出液と銅クロロフィリンナトリウムの存在下または非存在下で培養した。また、阻害活性を評価するため試験物質をMDCK細胞に吸着させたのちにウイルスに暴露させ阻害物質のない状態で培養を行った。同様に、抗ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 活性および阻害機構はMT-2細胞培養系によって評価した。加えてHIVとクマザサ抽出液の混合物をグルタルアルデヒドで固定したのち、ウイルス粒子を電子顕微鏡で観察した。

結 果

インフルエンザウイルスはMDCK細胞死を起こすが、クマザサ抽出液はこの細胞死を阻害した。3.3~3.9 mM銅クロロフィリンナトリウムを含有するクマザサ抽出液を100%とした場合、ウイルスによる細胞死を50%する阻害濃度 (IC_{50}) と50%細胞毒性濃度 (CC_{50}) は、それぞれ0.0313%~0.0625%と0.5%~1.0%の間であった。また、0.5%の濃度でインフルエンザウイルスの細胞への吸着を阻害した ($P<0.05$)。銅クロロフィリンナトリウムの IC_{50} と CC_{50} の値は、それぞれ、50 μM ~100 μM と200 μM ~400 μM との間だった。加えて、200 μM でウイルス吸着を阻害した ($P<0.05$)。HIVに対するクマザサ抽出液のMT-2細胞における IC_{50} と CC_{50} は、それぞれ、0.0313%付近と0.25%~0.5%の間だった。この溶液は、1.25%でHIVの吸着阻害を示した ($P<0.05$)。銅クロロフィリンナトリウムの IC_{50} と CC_{50} はそれぞれ、50 μM ~100 μM と200 μM ~400 μM 間だった。2.5 mMの銅クロロフィリンナトリウムがHIVの吸着を阻害した ($P<0.05$)。0.5%クマザサ抽出液への曝露後にもHIV粒子の形態が

観察された。

考 察

クマザサ抽出液は、他の天然成分で多数報告されているのと同様に、細胞へのインフルエンザウイルスやHIVの吸着を阻害することにより抗ウイルス活性を示した。その主成分の銅クロロフィリンナトリウムも、同じ機構を介して抗ウイルス活性を有すると考えられた。クマザサ抽出液の IC_{50} は、0.0313%~0.0625%の間で、換算すると銅クロロフィリンナトリウムが116 μM ~230 μM 含まれていることになる。銅クロロフィリンナトリウムの IC_{50} は50 μM ~100 μM の間であり、これらの2つの IC_{50} 値は、ほぼ同じ濃度範囲に入る。これらの結果は、銅クロロフィリンナトリウムが、クマザサ抽出液の主要成分として、ウイルスと細胞との相互作用（吸着過程）をブロックし、結果的にウイルスの複製を妨害することによって、抗ウイルス活性を発揮していることを示唆した。一方、ポビドンヨードは毒性濃度付近でさえ細胞変性効果を阻害しなかった。また、HIV粒子はクマザサ抽出液の毒性水準下の濃度に5分~10分間曝露した後、破壊されず、消毒薬のような化学的破壊機構を持たないことが示唆された。以上のように、クマザサ抽出液の主要成分として、銅クロロフィリンナトリウムはインフルエンザウイルスおよびHIVに対する抗ウイルス活性を有し、その作用機序は、ポビドンヨードのそれとは全く異なることが明らかとなった。

結 論

銅クロロフィリンナトリウムは、クマザサ抽出液の主要成分として、吸着をブロックすることによりインフルエンザウイルスおよびHIVに対する抗ウイルス活性を発揮した。この作用機序は、ポビドンヨードとは全く異なるものであった。