

静岡県新成長戦略研究 (H23~27)

ノロウイルス不活化剤の探索と その実用化に関する研究 (1) ～紅茶由来成分 テアフラビン類～

環境衛生科学研究所 ○大場舞、安藤隆幸、
荒畑沙織(現 中部健康福祉センター)、
池ヶ谷朝香、小和田和宏、川森文彦
国立感染症研究所 岡智一郎、高木弘隆
静岡県立大学大学院 小郷尚久、浅井章良

ファルマバレープロジェクト創薬探索研究



写真提供：長泉町

静岡県産業振興財団
ファルマバレーセンター
(研究コーディネート)



環境衛生科学研究所
(化合物管理・構造最適化)



静岡県立大学創薬探索センター
(活性評価・構造最適化)

◆がん、感染症、生活習慣病等、様々な疾患の治療薬のリード化合物創出を目指す

静岡化合物ライブラリー

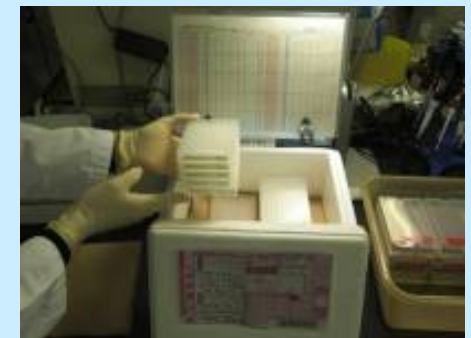
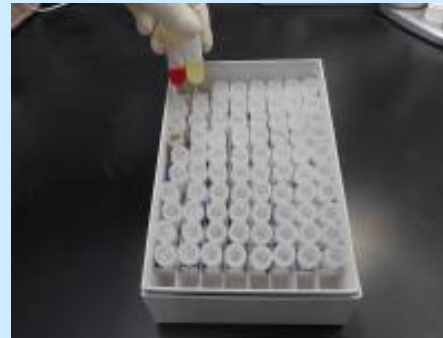
◆保管化合物数：**約12万種**（H28.3.31現在）

◆化合物提供：75回/年（H27年度実績）



大学・企業から収集、
独自に合成、市販品

サンプル整理
DB作成
秤量
溶解
ピッキング
分注
残量管理



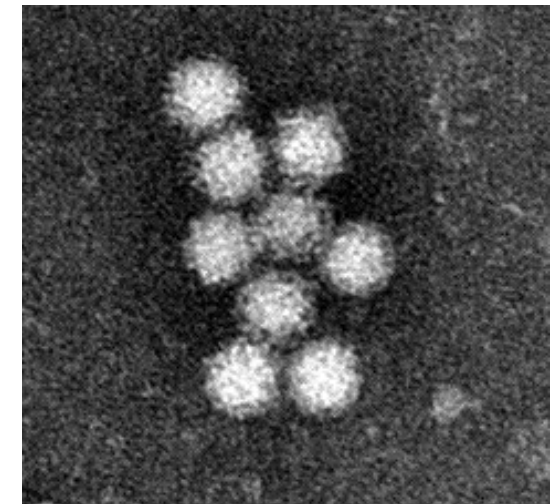
スクリーニングプレート化
静岡県立大、がんセンター等にて評価

ヒトノロウイルス (hNoV)

- ◆ 冬季の胃腸炎集団感染・食中毒の主要な原因ウイルス
- ◆ 不活化に有効な方法は、次亜塩素酸ナトリウムまたは加熱*
- ◆ 治療は対症療法のみ

⇒手の消毒に使用できる薬剤や、
予防薬・治療薬などの抗ノロウイルス薬の開発が望まれている

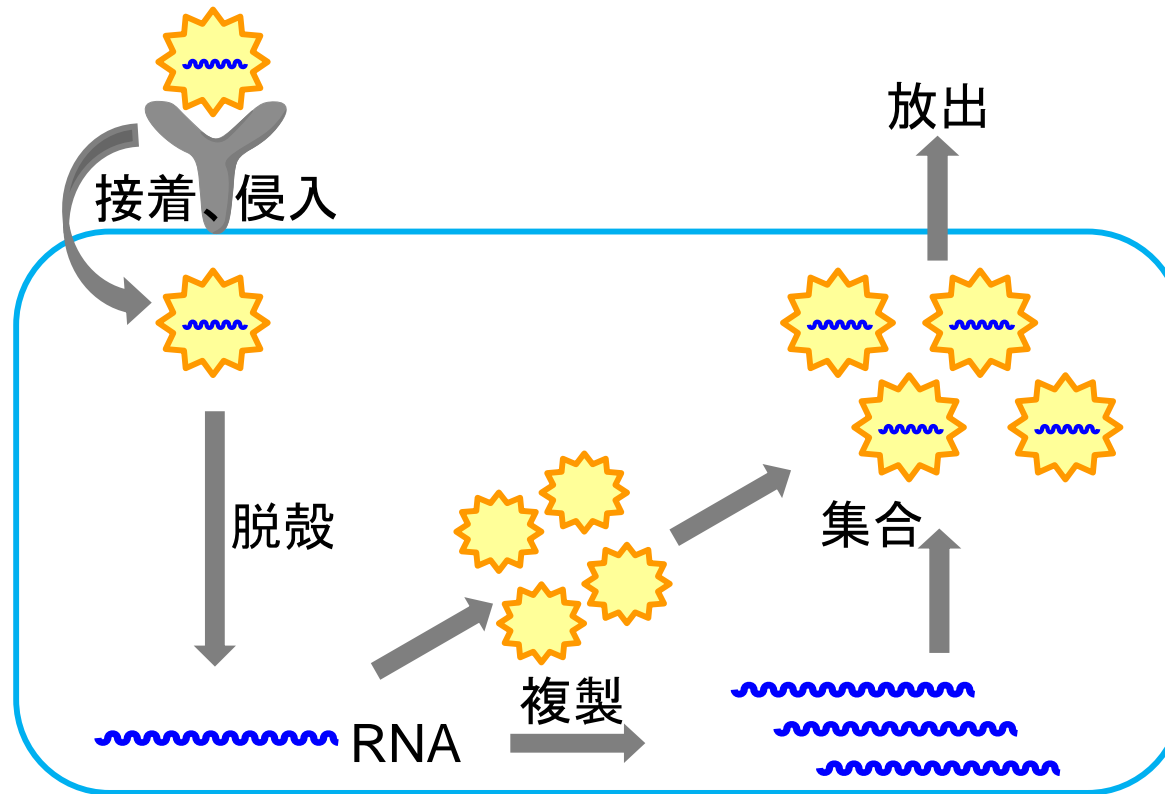
- ◆ 効率的な培養法がない
 - 治療方法の開発が遅れている
 - 近縁の代替ウイルスによる実験が行われている
- 1990s～ネコカリシウイルス(ベシウイルス属)
2004～マウスノロウイルス(ノロウイルス属)



* 厚生労働省「ノロウイルスに関するQ&A」

抗ノロウイルス化合物の探索（1）

ウイルスのライフサイクル

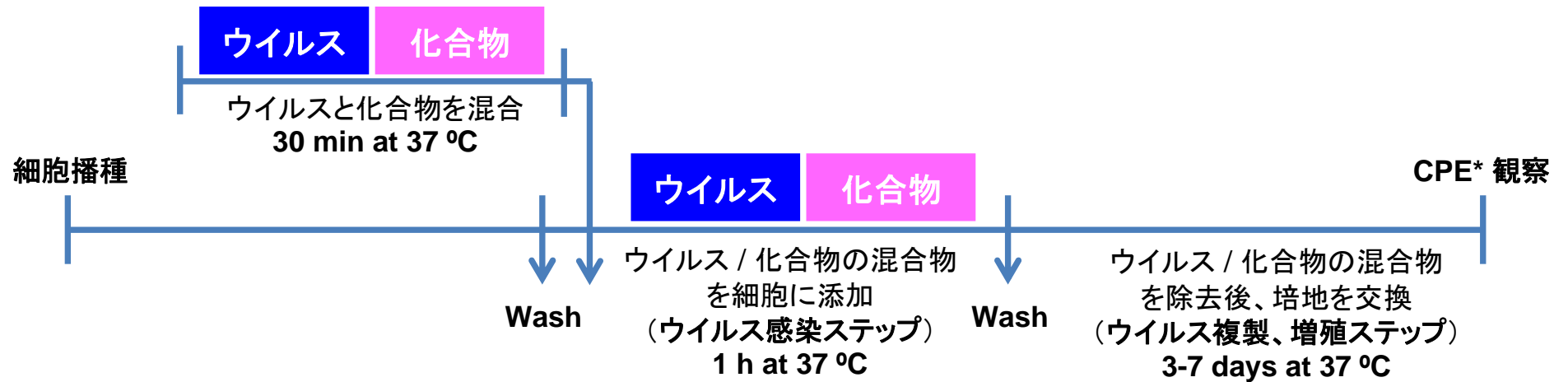


阻害ターゲットと応用例

- ウイルス粒子に直接作用するもの(→消毒薬)
- ウイルスの侵入・複製・放出過程に作用するもの(→治療・予防薬)

抗ノロウイルス化合物の探索 (2)

スクリーニングのプロトコール



使用したモデルウイルス

マウスノロ (MNV)

(ノロウイルス属)

Murine norovirus / RAW264.7 細胞

ブタサポ (PoSaV)

(サポウイルス属)

Porcine sapovirus / LLC-PK 細胞

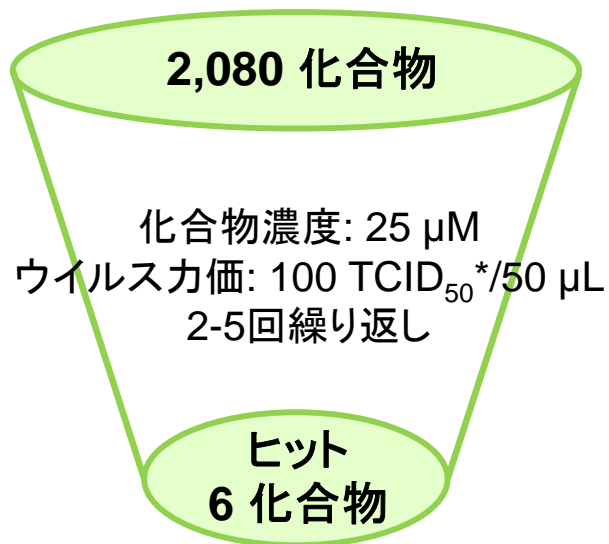
ネコカリシ (FCV)

(ベシウイルス属)

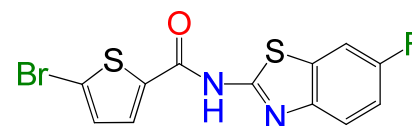
Feline calicivirus / CRFK 細胞

* CPE: cytopathic effect (細胞変性効果)

スクリーニングの結果

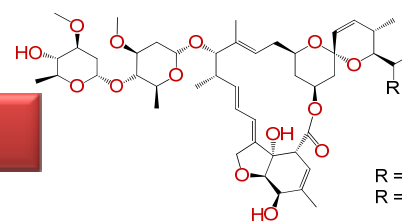


MNV



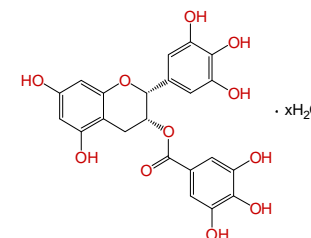
BFTC

PoSav



R = CH₂CH₃ (Avermectin B1a)
R = CH₃ (Avermectin B1b)

Avermectin B1a
Abamectin (avermectin B1a & B1b)

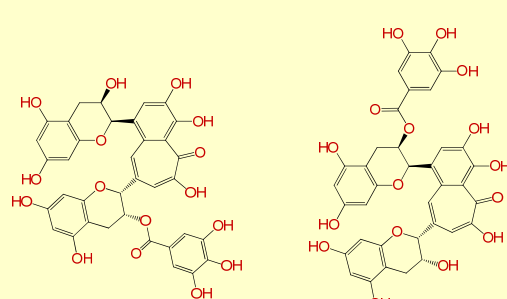


(-)-Epigallocatechin
Gallate·Hydrate

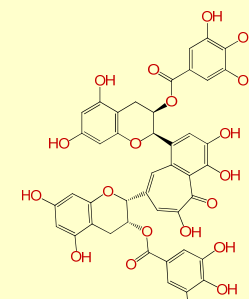
MNV

PoSav

FCV



Theaflavin monogallates
(mixture)



Theaflavin digallate

3つのウイルスに有効⇒テアフラビン類の活性評価とメカニズムの解析を行った

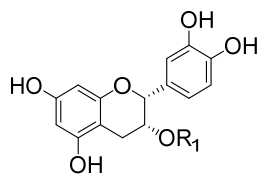
* TCID₅₀ : 50% tissue-culture infectious dose (50%組織培養感染価)

テアフラビン類とは



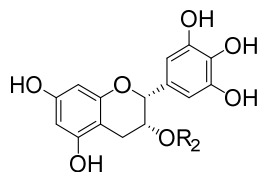
- 紅茶に含まれるポリフェノール的一种
- 茶葉の発酵の過程で生成する
- 抗菌、抗酸化作用が知られている

カテキン類

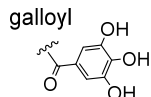


Epicatechin; $R_1 = H$
Epicatechin gallate; $R_1 = \text{galloyl}$

+

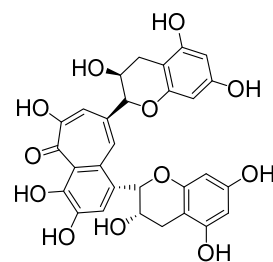


Epigallocatechin; $R_1 = H$
Epigallocatechin gallate; $R_1 = \text{galloyl}$

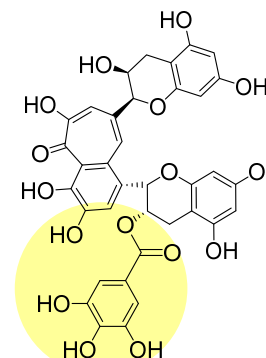


酸化

O_2 , polyphenol oxidase
or polyphenol peroxidase

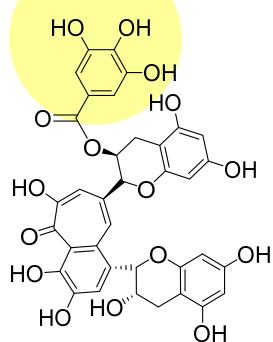


TF1 (Theaflavin)

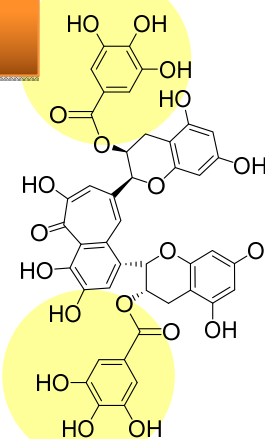


TF2B (Theaflavin-3'-O-gallate)

テアフラビン類



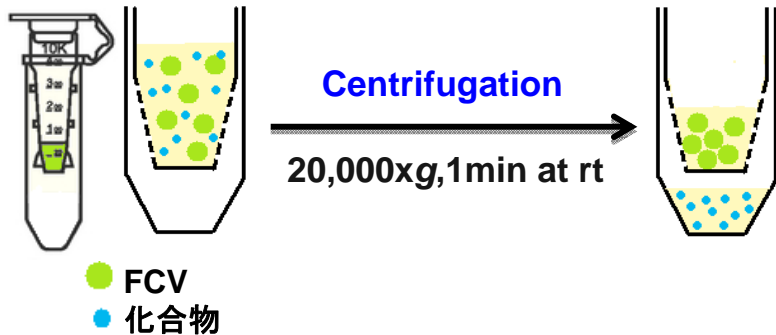
TF2A (Theaflavin-3-O-gallate)



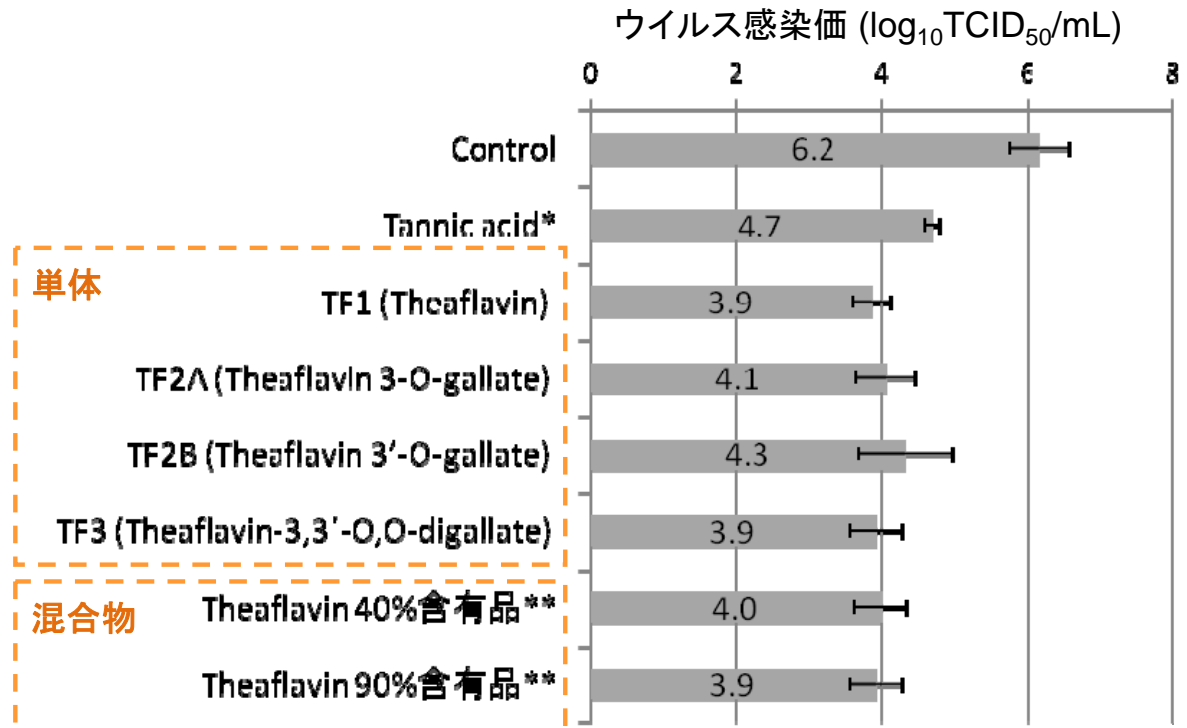
TF3 (Theaflavin-3,3'-O,O-digallate)

テアフラビン類の抗ウイルス活性

FCV



ウイルスと化合物を60分感作させた後、遠心フィルターで化合物を除去、回収したウイルスを細胞に接種した

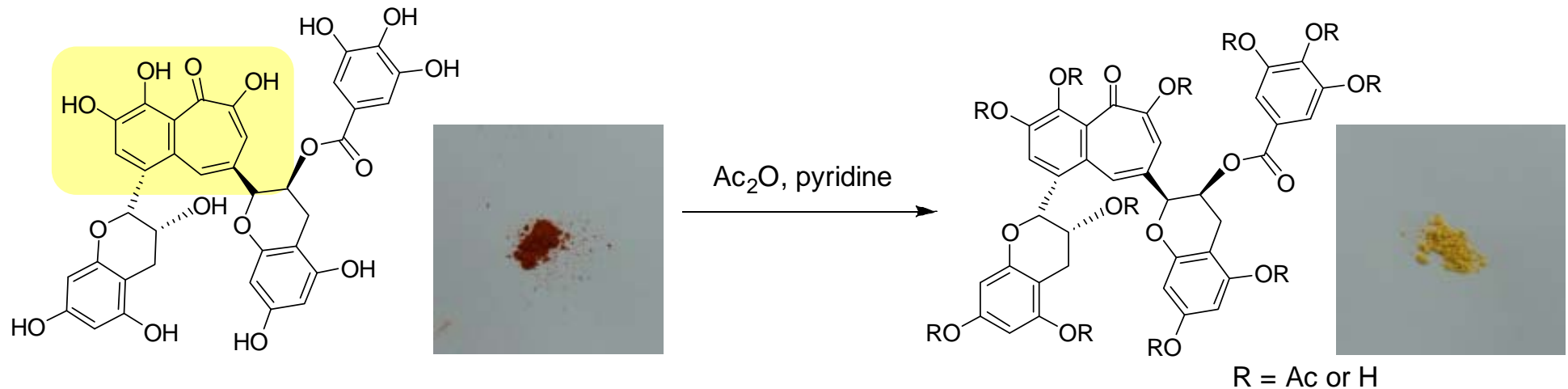


Final concentration of compounds was 225 μM ** and reaction time was 60 min. Values represent mean \pm S.D. n=3

◆テアフラビン類4種及び混合物は同程度の活性を有する

◆細胞への侵入過程(接着・侵入)以前に作用

アセチル化テアフラビン類の抗ウイルス活性



FCV
MNV

Inactive (final 0.16%)

- ◆水酸基(OH)が抗ウイルス活性に関与している可能性
- ◆各種ポリフェノールの評価
→ベンゾシクロヘプテノン環上の水酸基が特に重要?

まとめ

- 紅茶に含まれる「**テアフラビン類**」が、カリシウイルス科に属する3種のウイルス（マウスノロ、ブタサポ、ネコカリシ）に**抗ウイルス活性**を示した
- テアフラビン類の作用メカニズムについての考察
 - ・ウイルスの宿主細胞への侵入過程以前に作用
 - ・ベンゾシクロヘプテノン環上のフリーの水酸基が活性に関与
- ヒトノロウイルスに対する活性は未評価であるが、**広域スペクトルを有する消毒薬等への活用**が期待される



謝 辞

The Ohio State University
Department of Veterinary Preventive Medicine
Prof. Linda J. Saif
Dr. Qihong Wang

公益財団法人静岡県産業振興財団ファルマバレーセンター
佐々木康夫コーディネーター
大坪昌広主査

日本大学
生物資源科学部 獣医学科 獣医微生物学研究室
教授 遠矢幸伸 先生