

学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 植物由来抗ウイルス成分の同定と作用機序に関する研究

広島大学大学院生物圏科学研究科

生物機能開発学 専攻

学生番号 D111201

氏 名 神本 真紀

ノロウイルス食中毒の発生防止策の構築は、日本のみならず世界においても重要な課題である。これまでに、植物由来成分である柿抽出物が強い抗ノロウイルス作用および 12 種の病原ウイルスに対して不活化作用を有することが判明している。しかし、柿抽出物に含まれる抗ウイルス成分やその作用機序についてはほとんど分かっていない。抗ノロウイルス物質として柿抽出物を利用するためには、これらの点を理解することが必要である。本論文は、ノロウイルス食中毒の発生を防止するため、天然由来成分によるノロウイルス制御法を確立することを目的とし、抗ウイルス成分の同定および作用機序の解明を含む以下の 4 つの研究を実施したものである。

1. 柿抽出物に含まれる抗ウイルス物質の同定

柿抽出物に含まれる柿タンニンが抗ウイルス物質である可能性が示唆されている。本項では、柿抽出物に含まれる抗ウイルス成分を同定することを目的とした。柿抽出物に含まれる縮合型タンニンの性質である収斂作用（タンパク質変性作用）に着目し、縮合型タンニン（柿タンニン）量と抗ウイルス効果の関係性について検証した。抗ウイルス効果はノロウイルスのゲノム測定および代替ウイルスである MS2 フェージの感染価測定により評価した。その結果、柿タンニン量依存的にノロウイルスゲノムおよび MS2 フェージの感染価が有意に減少することが判明した。以上の結果より、柿抽出物に含まれる主な抗ウイルス成分は柿タンニンであることが判明した。

2. 柿抽出物によるウイルスに対する作用機序の解明

タンニンの性質である収斂作用がノロウイルスゲノムおよび MS2 フェージの感染価を減少させている可能性が示唆されている。本項では、柿タンニンの収斂作用と抗ウイルス効果の関係を検証し、作用機序を解明することを目的とした。MS2 フェージに対する柿抽出物の不活化効果およびゲノム評価を検証し、透過型電子顕微鏡による形態観察およびドッキングシミュレーション解析結果を合わせて考察した。柿抽出物処理による MS2 フェージの感染価減少とゲノム量の減少は相関関係にあり、ゲノム量の減少は、感染価の減少を意味することが判明した。ノロウイルスの柿抽出物処理によるゲノム減少も MS2 フェージでの結果と類似しており、柿タンニンは同様のメカニズムでノロウイルスを不活化すると推察された。これらの抗ウイルス作用は、柿タンニンによる収斂作用によるものと考えられ、そのメカニズムは、柿タンニンがウイルス表面に作用してウイルス表面タンパク質の変性させることで、ウイルスの不活化、ウイルスゲノムの減少を引き起こしていると推察された。以上より、柿タンニンによる収斂作用が抗ウイルス作用であることを明らかにし、その推定される作用機序を示した。

3. 柿抽出物を含む消毒剤の効果の検証

本項では、開発した消毒剤の抗ウイルス効果を証明することを目的とし、感染価の異なる MS2 フ

フェージのゲノム評価や感染価測定、透過型電子顕微鏡による形態観察による検証を行った。開発した消毒剤は、ノロウイルスおよび MS2 フェージのゲノム量、そして MS2 フェージの感染価を有意に減少させる効果を示すことが明らかとなった。さらに、柿抽出物以外のその他の成分の作用により、抗ウイルス効果が高まることが判明した。形態観察から、本消毒剤に添加された柿抽出物に含まれる柿タンニンの収斂作用によりウイルスの不活化・ゲノムの減少が引き起こされることが判明した。以上より、開発した消毒剤のウイルスに対する作用機序を明らかにし、ノロウイルスに対しても不活化作用を示している可能性を示した。

4. 新たな抗ウイルス物質の探索と効果の検証

本項では、天然由来の新たな抗ウイルス物質を探索することを目的とし、化学構造の観点から効果を検証することとした。市販ポリフェノール類 11 種および 7 種類の植物抽出液の抗ウイルス効果を、ノロウイルスのゲノム測定および MS2 フェージの感染価測定にて評価した。その結果、ノロウイルスのゲノムおよび MS2 フェージの感染価を有意に減少させたのは、高分子の縮合型タンニンを有する柿、バナナ、カリンの抽出液のみであることが判明した。一方、縮合型タンニンの基本骨格をなすフラバン-3-オール類では効果が認められなかった。このことは、フラバン-3-オール類のような単量体では効果がなく、重合体であることが抗ウイルス作用を示すには重要であることを示している。本研究より、ポリフェノール類の中で強力な抗ウイルス活性を示すのは高分子の縮合型タンニンを有する植物抽出液のみであることを明らかにし、新たにバナナおよびカリンの抽出液が抗ウイルス活性を有することを発見した。

本研究より、柿抽出物に含まれる柿タンニンの収斂作用が抗ウイルス作用であることを明らかにした。さらに、柿タンニンと同じく、高分子の縮合型タンニンを含むバナナ、カリンが抗ウイルス作用を示すことを明らかにした。本研究結果は、食品加工場で使用可能な新たな消毒剤の開発や、衛生管理用品への応用に繋がり、ノロウイルス制御法の確立に貢献するものと考えられる。