

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	Lawal-Ayinde Basirat Mojisola
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Virus purification highlights the high susceptibility of SARS-CoV-2 to a chlorine-based disinfectant, chlorous acid (SARS-CoV-2のウイルス精製により、塩素系消毒剤である亜塩素酸に対する高い感受性が明らかになった)			
論文審査担当者			
主査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	保田 朋波流	
審査委員	准教授	Nelson Hayes	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の出現は、その高い感染率と重篤な肺炎および死亡リスクにより、世界的な公衆衛生における重大な課題となっている。ウイルス粒子は滑らかな物質表面上で長時間安定しており、これが人から人への容易な感染を助長している。公共施設や医療施設におけるウイルス拡散を抑えるためには、効果的な消毒剤の使用が不可欠である。塩素系消毒剤は、その強力な酸化作用により、多様な微生物に対して強力な効果を持つ一方、有機物に曝されるとその効果が不安定になることがある。塩素系消毒剤として広く用いられているのは次亜塩素酸ナトリウム水(NaOCl)であるが、より塩素臭の少ない亜塩素酸水(HClO₂)も存在する。本研究では、亜塩素酸水のSARS-CoV-2に対する抗ウイルス効果を調査し、異なる変異株に対する効果や、さまざまなタンパク質負荷条件下での安定性を評価し、次亜塩素酸ナトリウム水の抗ウイルス効果および安定性と比較した。</p> <p>本研究では、SARS-CoV-2に対するウイルス不活化効果を検証するため、亜塩素酸水および次亜塩素酸ナトリウム水を比較した。実験直前に、それぞれの遊離有効塩素(FAC)濃度をジエチル-p-フェニレンジアミン(DPD)法を用いて測定し、FAC濃度を揃えて実験を行った。SARS-CoV-2は、主としてD614G(B.1.1)を用い、他にデルタ(A.Y.29)およびオミクロン(BA.1)変異株を使用した。ウイルスはVeroE6/TMPRSS2細胞で培養し、その感染細胞培養液（無血清）を試験ウイルスとして用いた。また、一部のウイルスはポリエチレングリコール(PEG)沈殿法および超遠心法を用いて精製し、余分なタンパク質やその他の物質を除去した。SARS-CoV-2を異なる有機物負荷の有無の条件下で消毒剤に暴露し、インキュベーションを行った。その反応物のウイルス力価を、TCID₅₀法を用いて評価し、不活化の程度をチック-ワトソン方程式を用いてモデル化した。有機物負荷として、米国あるいは欧州の公定法、または過去の報告書で用いられた以下のものを使用した。0.03%ウシ血清アルブミン(BSA)、[0.3%羊赤血球+0.3%BSA]、0.5%ポリペプトン、5%ウシ胎児血清(FBS)、人工唾液である。</p> <p>亜塩素酸水はSARS-CoV-2の不活化に顕著な効果を示し、FACレベルがウイルス感染性の低下と相関していた。D614G変異株に対する99%阻害濃度(IC99)値は9.9 ppmであった。デルタおよびオミクロン変異株では、それぞれ12 ppmおよび5.3 ppmであり、ほぼ同様の感受性を示した。精製されたウイルスは亜塩素酸水に対してはるかに高い感受性を示し、PEG精製および超遠心精製されたウイルスのIC99値</p>			

はそれぞれ0.41 ppmおよび0.74 ppmであった。PEG精製されたウイルスは次亜塩素酸ナトリウム水に対しても高い感受性を示し、IC99値は0.54 ppmであり、同等のウイルス不活化効果を示した。

未精製ウイルス（細胞培養液：ダルベッコ変法最少必須培地 DMEM [無血清]を含む）を用いた場合には、亜塩素酸水の効果は減弱し（IC99値 11 ppm）、次亜塩素酸ナトリウム水ではさらに減弱していた（97 ppm）。これは培養液中のおそらくアミノ酸によって、これらの塩素系消毒剤の効果が弱められたためであると考えられる。

有機物負荷においては、血液汚染を模した0.03% BSA、[0.3%羊赤血球+0.3%BSA]では、亜塩素酸水のIC99値はそれぞれ0.22 ppm, 4.7 ppmとウイルス不活化効果が逆に増加していた。一方、次亜塩素酸ナトリウム水では、それぞれ74 ppm, 302 ppmであり、効果が低下していた。嘔吐物を模した0.5%ポリペプトン、および唾液を模した5% FBSおよび人工唾液では、亜塩素酸水および次亜塩素酸ナトリウム水の両方でウイルス不活化効果が低下した。上記の有機物負荷のいずれにおいても、亜塩素酸水は次亜塩素酸ナトリウム水に比べて、1.4倍から336倍（IC99値の比）有機物耐性が高かった。

本研究は、SARS-CoV-2およびその変異株に対する塩素系消毒剤の強力な抗ウイルス活性を明確に示している。精製ウイルスの使用とさまざまな有機物質における負荷実験から、亜塩素酸水および次亜塩素酸ナトリウム水のいずれも有機物、おそらくタンパク質によってウイルス不活化能が低減することが明らかになったが、いずれの結果でも、亜塩素酸水が次亜塩素酸ナトリウム水よりも有機物耐性が高かった。

亜塩素酸水の有機物による微生物不活化効果低減については、アミノ酸添加で試験した場合にアミノ酸特異性があることが報告されている。BSAのタンパク質表面に露出しているアミノ酸に対しては、亜塩素酸水はあまり影響を受けないと推測される。これらの結果は、特に血液汚染が考えられる医療現場でのウイルス対策において、塩素系消毒剤として亜塩素酸水を選択する可能性を示唆する。

亜塩素酸水は SARS-CoV-2 およびその変異株を不活化する非常に効果的な消毒剤であり、次亜塩素酸ナトリウム水よりも有機物耐性が高い。本研究は、さまざまな環境における SARS-CoV-2 の拡散を抑制するための塩素系消毒剤の使用に関する貴重な知見を提供している。今後、実際の環境における亜塩素酸水の安定性と長期的な効果をさらに研究する必要がある。また、亜塩素酸水を他の消毒戦略と組み合わせる研究も、包括的なウイルス対策アプローチとして重要であると考えられる。

以上の結果から、本論文は、亜塩素酸水が次亜塩素酸ナトリウム水よりも SARS-CoV-2 に対して高い有機物耐性を持つ効果的な消毒剤であることを示し、塩素系消毒剤の選択と使用を最適化するための重要な情報を提供した。よって審査委員会委員全員は、本論文が Lawal-Ayinde Basirat Mojisola に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。