



平成17年2月8日

京都府立医科大学・医学研究科  
感染免疫病態制御学

職名 教授

氏名 今西二郎 印

「光触媒コート剤（ウェルコート）のインフルエンザウイルス増殖抑制効果」  
- 受託研究報告書 -

- ・市販、汎用タイプ、高抗菌タイプのウェルコートをコーティングすることによりヒトインフルエンザウイルスの増殖は特異的に抑制された。
- ・抑制効果はUV照射により増強された。
- ・市販、汎用タイプで最も高いウイルス増殖抑制効果が認められた。この増殖抑制効果は液状のウェルコートをウイルスと反応させても見られないことから、コーティングしたウェルコートより産生されるヒドロキシルラジカル等がウイルスの増殖性を阻害していることが示唆された。
- ・マルチパワー混合品では溶液中に強い抗ウイルス物質が含まれることが明らかとなった。即ち、ウェルコートの酸化チタン（光触媒）より発生するヒドロキシルラジカル以外の抗ウイルス効果が含まれることが示唆された。
- ・UV未処理の試験においても汎用タイプではUV処理区とほぼ同程度の増殖抑制効果を認めたことから、ウェルコートによる抗ウイルス効果は通常の室内照明下でも有効であることが示唆された。

表 ウェルコートによるウイルス増殖抑制効果

	UV未照射	UV照射(1分)	UV照射(1分)
ウェルコート		ウイルス添加前にUV照射	ウイルス添加後にUV照射
市販タイプ	5.6%	3.5%	1%
汎用タイプ	2.5%	1%	1%
高抗菌タイプ	11.1%		
マルチパワー	1%未満※		

数字はウェルコート未処理区におけるウイルス増殖を100としたときの相対値(%)を表す。  
※ただしマルチパワー溶液をウイルスと混合しても同様の増殖抑制効果が見られる。

平成 17 年 1 月 31 日

## 「光触媒コート剤（ウェルコート）のインフルエンザウイルス増殖抑制効果」

・ 受託研究報告書 ・

### I 方法：

#### 1. ウェルコートのコーティング

35mm ディッシュ内にウェルコート（0.5ml）を加え、20 分静置する。その後ウェルコート液を除き、ディッシュ内に残った液を完全に乾燥させる（20 分程度）。次にこのディッシュに UV ランプ（Toshiba FL10BLB / 1500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ）を照射した。（図 1）

ウェルコートは①市販、②汎用タイプ、③高抗菌タイプおよび④マルチパワー混合品の 4 種類を用いた。

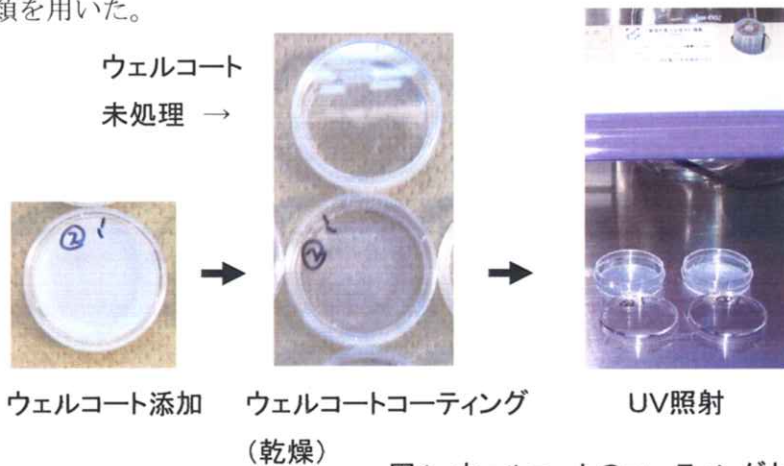


図1 ウェルコートのコーティングとUV照射

#### 2. ウイルス乾燥処理

ヒトインフルエンザウイルス (A 型 H1N1 ウイルス: PR8 株) ウイルス液 5・10 $\mu\text{l}$  (約 5x10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub> #1) を上述した 35mm ディッシュに滴下し、バイオセーフティーキャビネット内において乾燥させた。通常 20 分程度でウイルス液は乾燥状態となる。この (乾燥ウイルス) ディッシュにリン酸緩衝液 (PBS) を 500 $\mu\text{l}$  加えピペッティングによりウイルス液を再調整した。

#### 3. ウイルス感染試験

前日に MDCK 細胞 (2.5x10<sup>5</sup> 細胞 / 0.5ml) を 24 ウェルプレートに加え、一晚培養する。培養液を除き、調整したウイルス液 (100 $\mu\text{l}$ ) を 10 倍ずつ階段希釈し、各希釈液をウェルに加え 1 時間静置する。感染試験は 1 サンプルあたり 4 ウェル (4 反復) とする。静置後ウイルス液を取り除き、トリプシンを加えた細胞培養液を添加して 2・3 日間 37 $^{\circ}\text{C}$  で培養する。

### 3. ウイルス増殖定量 (HA アッセイ)

細胞培養液 50 $\mu$ l を 96 ウェル (丸底) プレートに移し、2 倍ずつ階段希釈した後、0.5% ニワトリ赤血球液と混合し、赤血球凝集を観察した。HA 価 (増殖ウイルス量) を Reed and Munch 法を用いて算出した後、各試験区におけるウイルス増殖量をウェルコート未処理の対照試験区におけるウイルス量を 100 とした相対値 (%) で計算した。

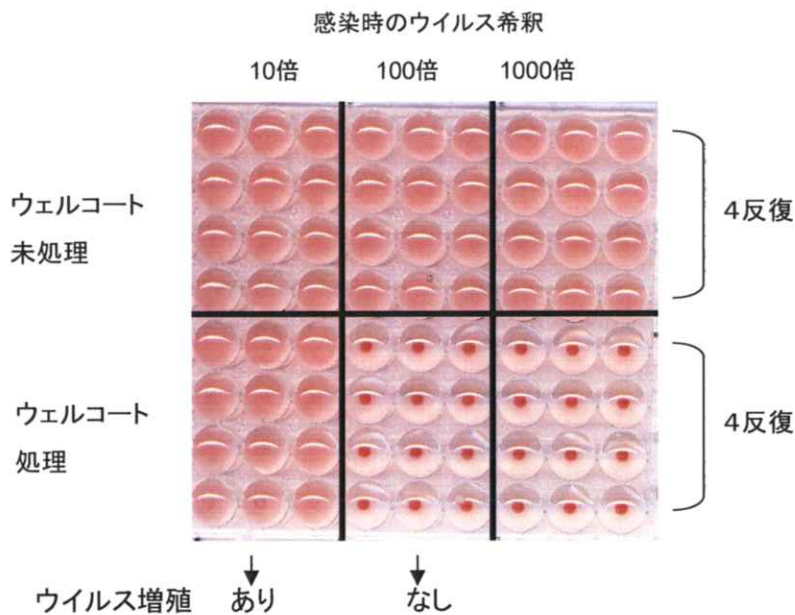
## II 結果：

### 1. UV 未照射時におけるウイルス増殖抑制効果

各ウェルコートをコーティングしたディッシュ上における乾燥ウイルスの増殖量 (UV 未照射時) を図 3 に示した。ウイルス増殖量は①市販、②汎用タイプ、③高抗菌タイプおよび④マルチパワー混合品においてそれぞれ 5.6%、2.5%、11.1%および 1%未満となった。

ウェルコートの成分が直接ウイルス増殖を抑制するかについて検討するために各ウェルコートを PBS で 10%、1%および 0.1%に希釈し、ウイルス液 5-10 $\mu$ l (約  $5 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>) と 1 時間反応させた後 MDCK 細胞に感染させ、ウイルスの増殖量を HA アッセイ (図 2) にて計測した。

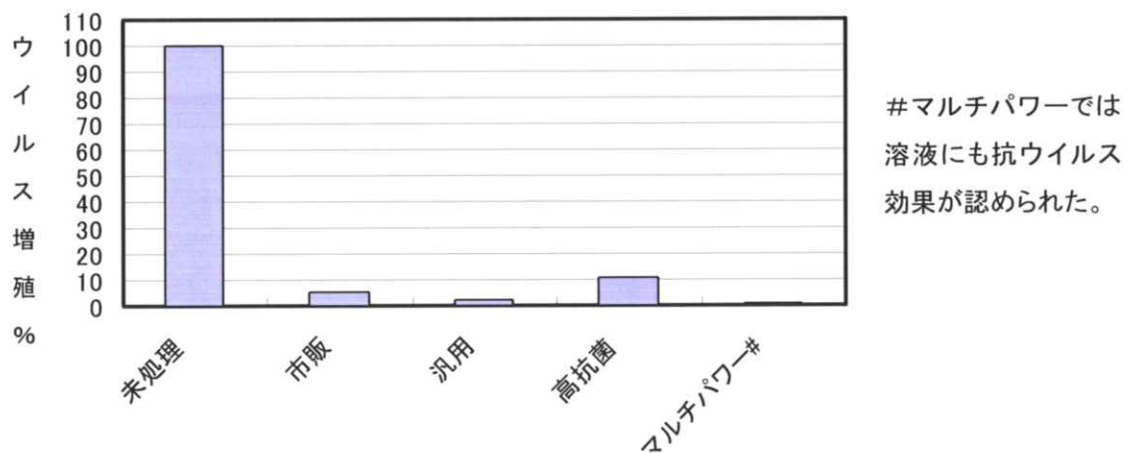
図2 ウイルス増殖の定量 (HAアッセイ)



(感染細胞の培養液を原液(左)2倍(中)および4倍(右)希釈し、0.5%ニワトリ赤血球液と混合した)

その結果、①市販、②汎用タイプ、③高抗菌タイプではウェルコート濃度1%以下ではウイルス増殖抑制効果は認められなかった。ウェルコート濃度10%ではウェルコートによる細胞傷害性が見られ、ウイルス増殖試験は不可能であった。また、乾燥させた①・③タイプのウェルコートにPBSを加えて再調整した液では細胞傷害性は見られなかった。

図3. ウェルコート処理によるインフルエンザウイルス増殖抑制効果(UV未照射)



以上のことから①・③タイプのウェルコートはコーティング・乾燥させることにより抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。

一方、④マルチパワー混合品をコーティングしたディッシュ上における乾燥ウイルスの増殖量 (UV未照射時) は未処理の1%未満であったが、マルチパワーの溶液をウイルスと混合しても同様の増殖抑制効果が見られた。マルチパワー混合品の抗ウイルス効果はウェルコートの酸化チタン (光触媒) より発生するヒドロキシルラジカル以外の要因も含まれる可能性が示唆された。

そこで効果の高かった①市販および②汎用タイプのウェルコートを用いて UV 照射後のウイルス増殖抑制効果を定量した。

## 2. UV 照射時におけるウイルス増殖抑制効果

予備試験として乾燥ウイルス液に UV (ブラックライト・1500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) を1分、3分、5分および10分間照射し、ウイルス増殖を定量したところ、照射3分以上では UV による著明なウイルス増殖阻害効果が認められた。そこで①市販および②汎用タイプのウェルコートをコーティングしたディッシュにウイルスを添加して乾燥させ、UV照射を1分間行った後、ウイルス増殖を定量した。その結果、両試験区 (①および②) においてウイルス増殖は未処理区の1%に抑制された。また、ウェルコートをコーティングしたディッシュをあらかじめ UV 照射し、その後ウイルスを加えて乾燥させた試験では、②汎用タイプにお

るウイルス増殖抑制は1%であったが、①市販タイプにおけるウイルス増殖抑制は3.5%であった。

以上の結果を表1にまとめた。

表1. ウェルコートによるウイルス増殖抑制効果

	UV 未照射	UV 照射 (1分)	UV 照射 (1分)
ウェルコート		ウイルス添加前に UV 照射	ウイルスも併せて UV 照射
市販タイプ	5.6 %	3.5 %	1 %
汎用タイプ	2.5 %	1 %	1 %
高抗菌タイプ	11.1 %		
マルチパワー※	1 % 未満※		

数字はウェルコート未処理区におけるウイルス増殖を100としたときの相対値(%)を表す。※ ただしマルチパワー溶液をウイルスと混合しても同様の増殖抑制効果が見られる。

以上の結果をまとめた。

- ・ ①市販、②汎用タイプ、③高抗菌タイプのウェルコートをコーティングすることによりヒトインフルエンザウイルスの増殖は特異的に抑制された。
- ・ 抑制効果はUV照射により増強された。
- ・ ①市販、②汎用タイプで最も高いウイルス増殖抑制効果が認められた。この増殖抑制効果は液状のウェルコートをウイルスと反応させても見られないことから、コーティングしたウェルコートより産生されるヒドロキシルラジカル等がウイルスの増殖性を阻害していることが示唆された。
- ・ ④マルチパワー混合品では溶液中に強い抗ウイルス物質が含まれることが明らかとなった。即ち、ウェルコートの酸化チタン(光触媒)より発生するヒドロキシルラジカル以外の抗ウイルス効果が含まれることが示唆された。
- ・ UV未処理の試験においても汎用タイプではUV処理区とほぼ同程度の増殖抑制効果を認めたことから、ウェルコートによる抗ウイルス効果は通常の室内照明下でも有効であることが示唆された。