

カテキンEGCg水溶液による ウイルス不活化効果

黒川 昌彦

副学長
薬学部長・薬学科長
大学院医療薬学研究科 教授
薬学部薬学科生化学講座 主任教授

あなたの学びを あなたのカタチに
九州保健福祉大学
Kyushu University of Health and Welfare
宮崎県延岡市の協力を得た「公私協力方式」で設置された大学



背景・目的

緑茶に含まれるカテキン類の一種である epigallocatechin gallate(EGCg:エピガロカテキン ガレード)は、抗ウイルス効果を示すことが知られています。

しかし、抗酸化作用の強いカテキンEGCgは、酸化劣化が激しく保存安定性に欠ける点が大きな難点でした。

このため、株式会社HPGは、特殊な方法(特許申請中)で EGCgを水溶液中で安定化する技術を開発。
水中で高濃度のままカテキンEGCgを安定化させることに成功。

水溶液化したEGCgが、今までのEGCgと同様に 抗ウイルス効果を示すことをインフルエンザウイルスを用いて 検証した。

EGC_gの抗ウイルス効果

1. 水溶液中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
2. 飲食物中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
3. 水溶液中EGC_gの抗コロナウイルス効果

EGCgの抗ウイルス効果

1. 水溶液中EGCgの抗インフルエンザウイルス効果
2. 飲食物中EGCgの抗インフルエンザウイルス効果
3. 水溶液中EGCgの抗コロナウイルス効果

インフルエンザウイルスの増殖サイクル

核酸合成阻害
(RNA合成阻害剤:ファビピラビル)

出芽阻害
(ノイラミニダーゼ阻害薬:
オセルタミビル等)

EGCgのターゲット

吸着 侵入

MDCK細胞

脱殻

核酸合成

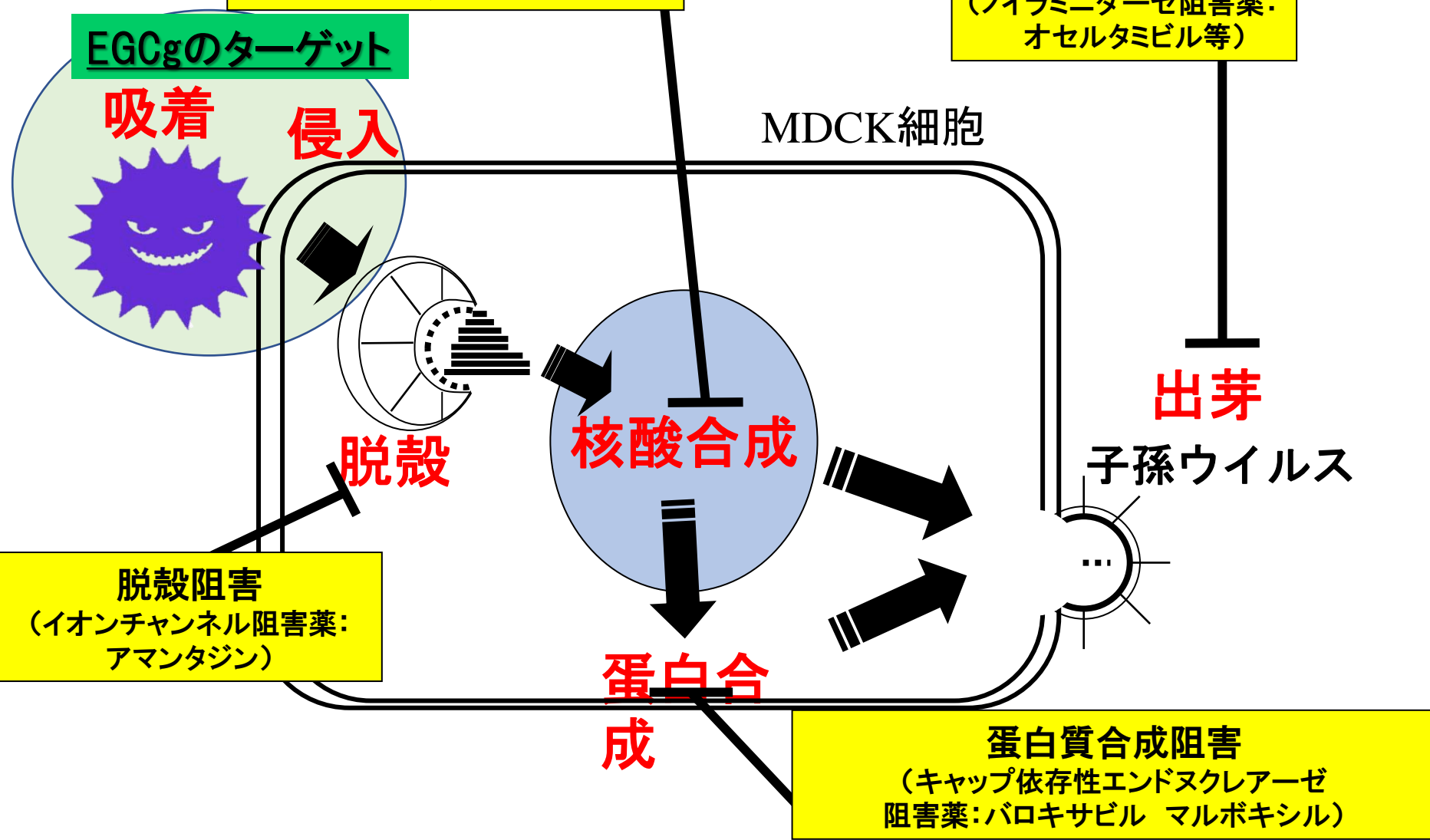
出芽

子孫ウイルス

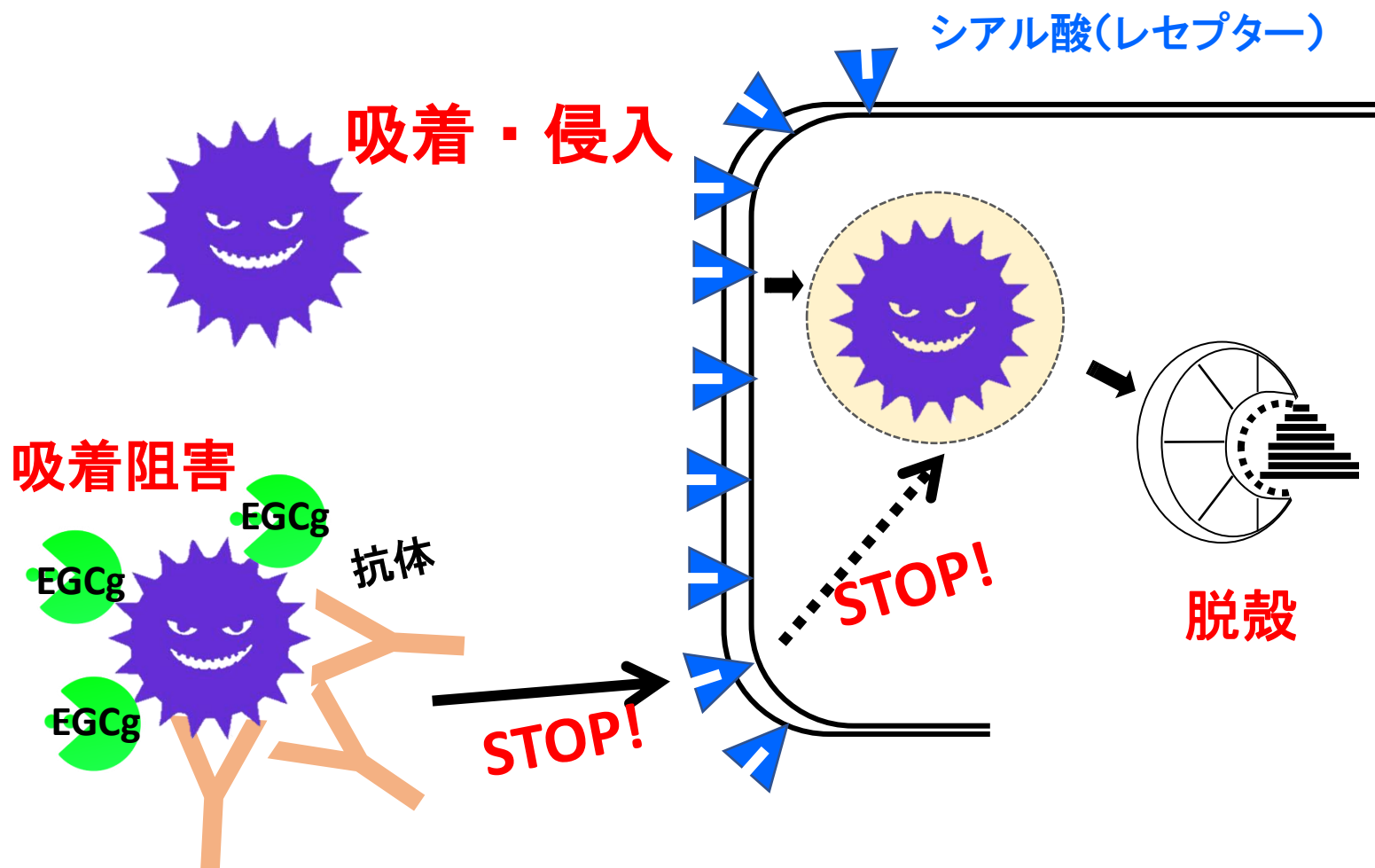
脱殻阻害
(イオンチャンネル阻害薬:
アマンタジン)

蛋白合成

蛋白質合成阻害
(キャップ依存性エンドヌクレアーゼ
阻害薬:バロキサビル マルボキシル)



インフルエンザウイルスの細胞への吸着・侵入過程



EGCgは抗体と同様に
ウイルスの細胞への吸着・侵入を阻害することを明らかにする。

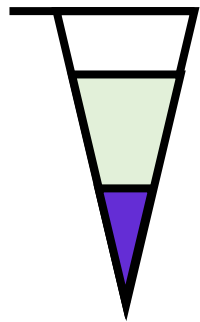
EGCgによる吸着・侵入阻害の検討

*1：MDCK細胞＝イヌ腎臓尿管上皮細胞由来の細胞株

*2：PBS＝リン酸緩衝食水

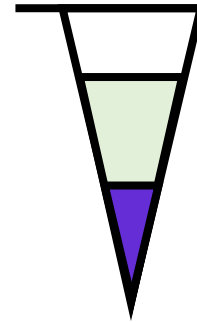
①ウイルス＋EGCg溶液→MDCK細胞*1

②ウイルス＋溶媒→MDCK細胞*1



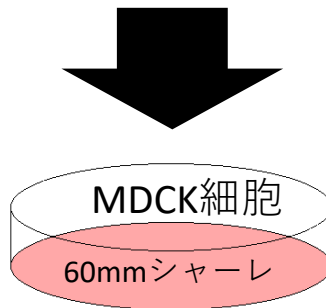
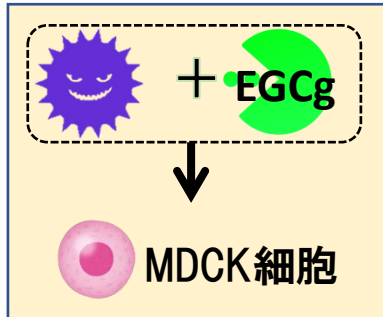
水溶性EGCgをPBS*で希釈
(EGCg 0,0.1,0.3,1,3,10,30ppm)

インフルエンザウイルスA/B
(5000PFU/ml)



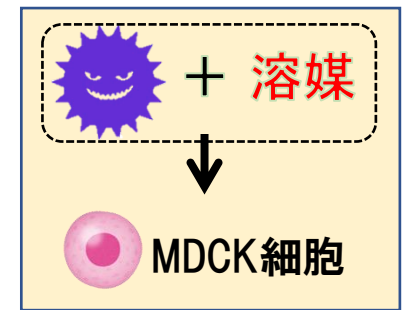
溶媒（通常のEGCgを溶かしたただけ
の水溶液）をPBS*で希釈
(EGCg0,0.1,0.3,1,3,10,30ppm相当)

インフルエンザウイルスA/B
(5000PFU/ml)

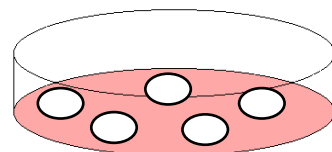


500PFU/ml を200μl加える。

吸着 1時間。



ウイルスを除去し、PBSでリンス後寒天を重層



プラック数を測定

0 ppmのプラック数を100%として表示

EGCgの抗インフルエンザウイルス効果

EC50 (ppm) プラーク数を50%減少させる濃度

	①ウイルス+EGCg溶液 →細胞	②ウイルス+溶媒 →細胞	③EGCg処理細胞 →ウイルス	④ウイルス感染細胞 →EGCg処理
A型 インフルエンザウイルス				
Bangkok/93/03 (H1N1)	1.41 ± 0.17	>30	>30	19.3 ± 1.8
PR8/8/34(H1N1)	2.19 ± 0.09	>30	>30	>30
Aichi/2/68(H3N2)	2.76 ± 0.23	>30	>30	22.9 ± 1.4
B型 インフルエンザウイルス				
Singapore	0.93 ± 0.35	>30	>30	11.1 ± 1.6

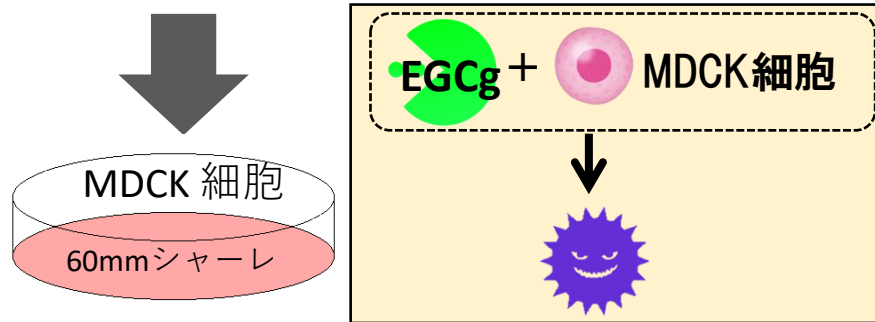
EGCgのMDCK細胞に対する細胞毒性(CC50): 85.6 ppm (国立大学大学院 感染学研究チームのデータ)

- ①インフルエンザウイルスA及びBに対して、EGCgの細胞毒性を示す(濃度が高すぎて細胞を害する)濃度より**31~92倍低い濃度でウイルスの細胞への吸着・侵入を阻害することが明らかとなった。**
- ②水溶液中のEGCg以外の成分には、抗ウイルス作用が認められなかった。

EGCgによる吸着・侵入阻害の検討

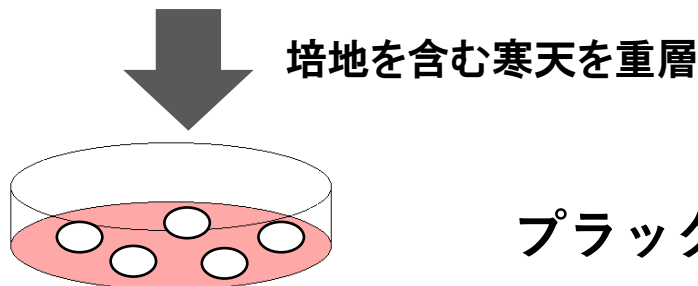
③ EGCg処理MDCK細胞＋ウイルス感染

EGCg水溶液をPBSで希釈。
(EGCg 0,0.1,0.3,1,3,10,30ppm)



EGCgを除去し、
PBSで細胞を洗浄

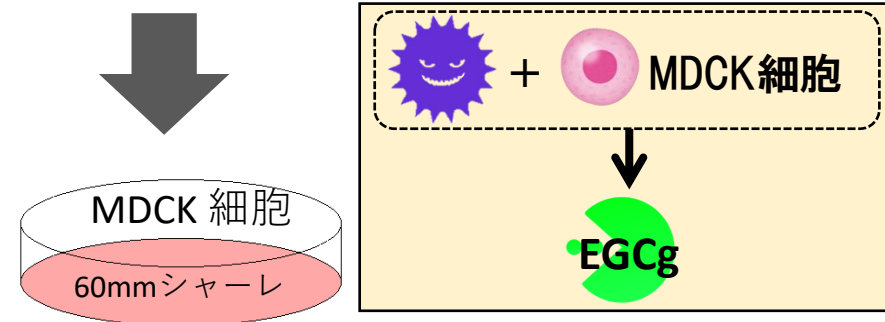
インフルエンザウイルス A/Bを感染
吸着 1時間。



0 ppmのプラック数を100%として表示

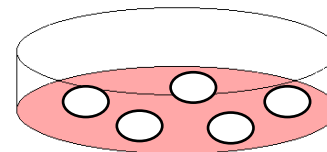
④ MDCK細胞にウイルス感染後＋EGCg処理

インフルエンザウイルスA/Bを感染。
吸着 1時間。



ウイルスを除去し、
PBSで細胞を洗浄

EGCg 0,0.1,0.3,1,3,10,30ppm
を含む寒天培地を重層



EGCgの抗インフルエンザウイルス効果

EC50 (ppm)			
①ウイルス+EGCg溶液 →細胞	②ウイルス+溶媒 →細胞	③EGCg処理細胞 →ウイルス	④ウイルス感染細胞 →EGCg処理
A型 インフルエンザウイルス			
Bangkok/93/03 (H1N1)	1.41 ± 0.17	>30	>30
PR8/8/34(H1N1)	2.19 ± 0.09	>30	>30
Aichi/2/68(H3N2)	2.76 ± 0.23	>30	22.9 ± 1.4
B型 インフルエンザウイルス			
Singapore	0.93 ± 0.35	>30	11.1 ± 1.6

③EGCgをウイルス感染前に細胞に処理しても、ウイルスの増殖を阻害できなかった。
すなわち、EGCgは細胞表面でウイルスの吸着・侵入に影響を与えなかった。

④感染細胞から放出された子孫ウイルスの細胞への再感染が、EGCgにより阻害された可能性が考えられた。

EGCgの抗インフルエンザウイルス効果

EC50 (ppm)				
	①ウイルス+EGCg溶液 →細胞	②ウイルス+溶媒 →細胞	③EGCg処理細胞 →ウイルス	④ウイルス感染細胞 →EGCg処理
A型インフルエンザウイルス				
Bangkok/93/03 (H1N1)	1.41 ± 0.17	>30	>30	19.3 ± 1.8
PR8/8/34(H1N1)	2.19 ± 0.09	>30	>30	>30
Aichi/2/68(H3N2)	2.76 ± 0.23	>30	>30	22.9 ± 1.4
B型インフルエンザウイルス				
Singapore	0.93 ± 0.35	>30	>30	11.1 ± 1.6

インフルエンザウイルスA及びBに対して、EGCgは、細胞毒性を示す濃度より有意に低い濃度でインフルエンザウイルスの細胞への吸着・侵入を阻害した。

ウイルス粒子とEGCgの直接コンタクトがウイルス感染阻害に有効。

EGC_gの抗ウイルス効果

1. 水溶液中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
2. 飲食物中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
3. 水溶液中EGC_gの抗コロナウイルス効果

白酒中EGCgの抗インフルエンザウイルス効果

EC50 (ppm)		
	ウイルス+EGCg含有白酒 →細胞	ウイルス+白酒 →細胞
A型 インフルエンザウイルス		
Bangkok/93/03 (H1N1)	0.40 ± 0.05	>30
PR8/8/34(H1N1)	0.80 ± 0.07	>30
Aichi/2/68(H3N2)	0.77 ± 0.05	>30
B型 インフルエンザウイルス		
Singapore	0.54 ± 0.01	>30

インフルエンザウイルスA及びBに対して、水溶液EGCgと同様に、白酒中EGCgはインフルエンザウイルスの細胞への吸着・侵入を阻害した。

飲食物中EGCgの抗インフルエンザウイルス効果

A/Bangkok/ 93/03(H1N1)	EC50 (ppm)	
	①ウイルス+EGCg含有飲食物 →細胞	②ウイルス+飲食物 →細胞
微炭酸レモン飲料	1.45±0.08	>30
コーラ飲料	0.51±0.94	14.0±2.0
牛乳	>30	>30

インフルエンザウイルスに対して、一部の飲食物中EGCgはインフルエンザウイルスの細胞への吸着・侵入を阻害。おそらく、飲食物によっては蛋白質成分等によりEGCgの抗ウイルス効果が軽減させる可能性がある。

EGC_gの抗ウイルス効果

1. 水溶液中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
2. 飲食物中EGC_gの抗インフルエンザウイルス効果
3. 水溶液中EGC_gの抗コロナウイルス効果

HCoV-229EのEGCgによる不活化のまとめ

表1 EGCgの抗ウイルス活性と細胞毒性

EC ₅₀ (HCoV-229E)	10ppmでの感染性の減少	CC ₅₀
0.54 ppm (試験①)	55% (試験①)	67.53 ppm (Vero細胞)
1.66 ppm (試験②)	82% (試験②)	65.34 ppm (MRC-5細胞)
1.11 ppm (試験③)	88% (試験③)	85.61 ppm (MDCK細胞)

国立大学大学院 感染学研究チームのデータ

EGCgは**直接不活化効果**と**吸着阻害効果**の二つの作用により、**HCoV-229Eの感染性を減少させることが明らかとなった。**

また、そのEC₅₀は約0.5 ppm～2 ppmであり、**非常に低濃度で抗ウイルス効果を示すことが示唆された。**

まとめ

1. 株式会社HPGが開発したEGCg水溶液は、インフルエンザウイルスの宿主細胞への吸着・侵入を阻害して抗インフルエンザウイルス作用を示す。
この場合、EGCgとウイルス粒子との直接コンタクトが重要である。
2. 株式会社HPGが開発したEGCgを水溶液中で安定させる技術を利用して、抗インフルエンザウイルス作用のある飲食物を開発することができる。
3. 株式会社HPGが開発したEGCg水溶液は、コロナウイルスの不活化に対しても有効である。

EGCg水溶液の構成成分はすべて厚生労働省が許認可する食品添加成分であるため、体内での副反応のリスクがない。

子供から高齢者まで安心して口腔ケアなどによる服用も可能。

手が荒れない手指消毒液、安全なウイルス除去の掃除液としても活用可能。

豚や鶏などの家畜のインフルエンザ予防対策として、

足マットやスプレー状にした成分を飼育場の床や上部から散布するなどの感染予防対策にも活用可能である。