

# 令和2年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

企画題目	リグニンおよび植物ポリフェノールを利用する公衆衛生用品の開発
研究者所属・氏名	研究代表者：産業理工学部・教授 藤井政幸 共同研究者：産業理工学部・教授 大貫宏一郎

## 1. 研究、開発・改良、提案目的・内容

植物由来のリグニンおよびそれらを豊富に含む天然資源、未利用資源を利用して、SARS-CoV-2 に対する汎用性感染予防薬、治療薬および消毒薬、ミストシャワー、マスク、エアフィルターなどの公衆衛生用品を開発する。

1. パルプ由来リグニンの抗ウイルス活性評価 - 消毒薬としての機能評価
2. リグニン等を塗布した不織布の抗ウイルス活性評価
3. マウスでの安全性試験
4. マウスでのウイルス感染予防効果評価
5. ヒトでの感染予防効果評価

## 2. 研究、開発・改良、提案経過及び成果

### 進捗状況の要約

1. パルプ由来リグニンの抗ウイルス活性評価 - 消毒薬としての機能評価

リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)を調製し、ウイルス液にリグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)を混和して、マウス肺炎ウイルス (MHV-1) に対するウイルス力価を評価する。現在までにリグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)を調製し、それらの抗ウイルス活性評価の条件の細部を確定した。現在、抗ウイルス効果評価試験を実施中である。: 進捗度 100%

2. リグニン等を塗布した不織布の抗ウイルス活性評価

リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)塗布不織布でろ過したマウス肺炎ウイルス (MHV-1) ウイルス液を用いて、ウイルス力価を評価する。現在までにリグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)塗布不織布を調製し、評価試験の条件の細部を確定した。現在、抗ウイルス効果評価試験を実施中である。: 進捗度 100%

3. マウスでの安全性試験

マウスにリグニン水 (1%, 0.1%, 0.01%) を投与して、毒性試験を実施する予定であったが、家畜の毒性試験の経験が豊富な共同研究者と検討した結果、実験系の整っているニワトリを用いて毒性評価をすることとした。その結果、リグニンを 1%, 0.1%, 0.01% 配合した飼料のいずれも、ニワトリの健康状態に影響しないという結論を得た。また、リグニン 10% 配合飼料はほとんど摂食しなかった。: 進捗度 100%

4. マウスでのウイルス感染予防効果評価

マウスを用いて、感染予防効果、感染治療効果を評価する。現在までに抗ウイルス活性を評価の条件の概要を確定した。本評価試験は研究予算内で実施できるかを検討した結果、時間的にも研究予算的にも本年度中の実施は困難であるとの結論に達した。(見積額 385 万円)

本プロジェクトの結果に基づいて、平成 3 年度農林水産省国際共同研究事業に申請中であるので、採択されれば本プロジェクトをさらに発展させて、抗ウイルスマスク、抗ウイルスフィルター等への応用開発を進めたい。: 進捗度 30%

## 5. 植物由来生理活性物質のヒトでの感染予防効果評価

約 1,000 名のモニターバンク（被験者となる候補の個人情報）を有しており、その方々への定期的な風邪症状と PCR 検査を実施する。植物由来生理活性物質として被験者に摂取してもらい、その風邪症状や罹患状況を確認する。：進捗度 100%

### 進捗状況の詳細

#### 1. パルプ由来リグニンの抗ウイルス活性評価 — 消毒薬としての機能評価

リグニンは植物性ポリフェノール高分子化合物であり（図 1）、そのマイナス電荷によりウイルス粒子を吸着してウイルスの細胞への侵入を妨げる感染予防効果と一旦細胞内に侵入しても増殖サイクルの中で細胞外に放出されたウイルスを補足する増殖抑制効果の両方があると考えられる。

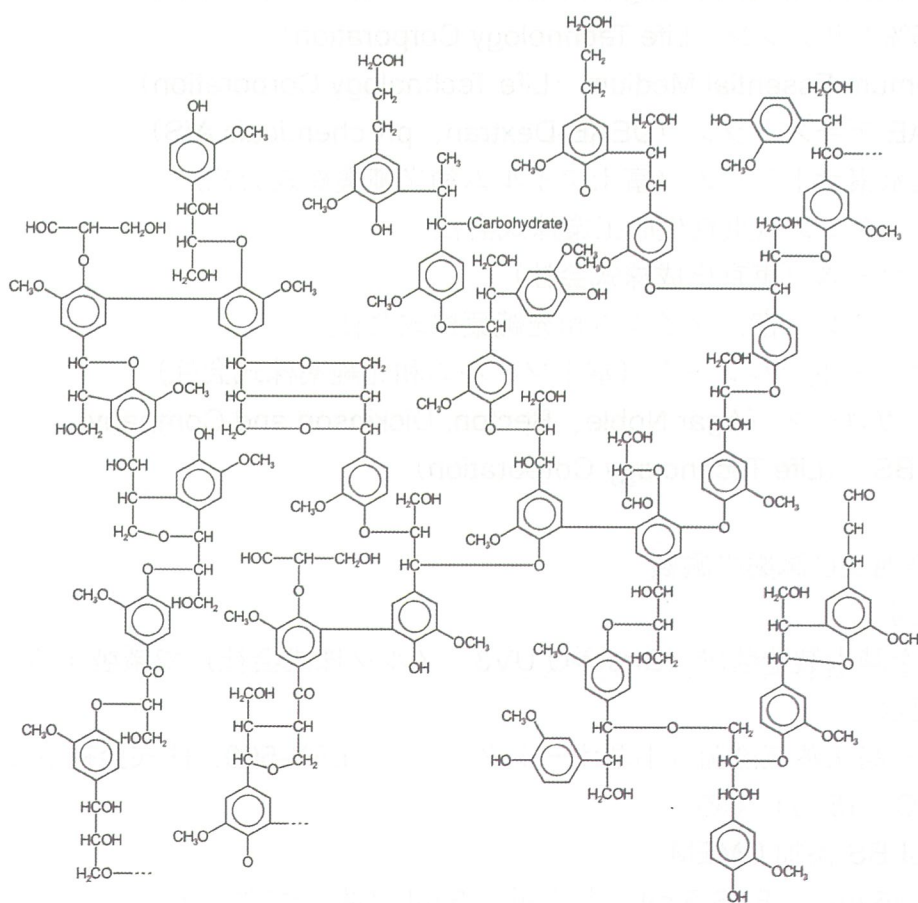


図 1. リグニンの化学構造

藤井らはパルプ由来リグニンがインフルエンザウイルス H3N2 の感染、増殖を極めて強力(検出限界以下)に抑制し、市販インフルエンザ薬ゾフルーザの 100 倍以上の効果を示すことを見出している。SARS-CoV-2 はインフルエンザウイルスと同様にエンベロープを有する RNA ウイルスであり、そのウイルス粒子表面の構造は類似しており、同様の効果を期待している。本プロジェクトでは SARS-CoV-2 とゲノム構造やウイルス粒子の性状が類似しているマウス肺炎ウイルス（murine hepatitis virus strain 1, MHV-1）を用いて、リグニンの抗ウイルス活性評価を行う。



(1) リグニン水溶液+ウイルス液によるウイルス増殖抑制効果  
リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)とウイルス液を混和して、マウス脳腫瘍細胞由来 SR-CDF1 DBT (JCRB1580) 細胞を宿主としてウイルスの感染及び増殖抑制効果をウイルス力価測定により評価する。

現在までにリグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)を調製し、それらの抗ウイルス活性を評価の条件の細部を下記の通り確定した。間もなく抗ウイルス効果評価試験を実施する予定である。評価試験の詳細は以下のとおりである。

ウイルス : Murine hepatitis virus (MHV, ATCC VR-261)

宿主細胞 : SR-CDF1 DBT (JCRB1580)

## 1. 接種ウイルス液の精製及び調製

### 1.1. 接種ウイルス液の精製及び調製の使用試薬

- 1) Fetal Bovine Serum (以下 FBS、GE Healthcare Life Sciences)
- 2) Dulbecco's Modified Eagle Medium (以下 DMEM、SIGMA)
- 3) 0.05%トリプシン (Life Technology Corporation)
- 4) Minimum Essential Medium (Life Technology Corporation)
- 5) DEAE デキストラン (DEAE-Dextran、pK chemicals A/S)
- 6) 炭酸水素ナトリウム (富士フィルム和光純薬株式会社)
- 7) L-グルタミン (東京化成工業株式会社)
- 8) グルコース (東京化成株式会社)
- 9) アルブミン (富士フィルム和光純薬株式会社)
- 10) ニュートラルレッド (富士フィルム和光純薬株式会社)
- 11) アガロース (Agar Noble、Becton, Dickinson and Company)
- 12) PBS (Life Technology Corporation)

### 1.2. 培地及び試薬の調製

#### (1) 超純水

水道水を純水製造装置 (Direct-Q UV3、メルク株式会社) で精製する。

#### (2) 滅菌水

超純水を高圧蒸気滅菌 (小型オートクレーブ、LSX-500、株式会社トミー精工、滅菌条件 : 121°C、15 分) する。

#### (3) 10%FBS 添加 DMEM

DMEM 45 mL に FBS 5 mL、抗菌薬 0.5 mL の割合で加える。

#### (4) 10×MEM

Minimum Essential Medium (autoclavable) 9.39 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、高圧蒸気滅菌 (滅菌条件 : 121°C、15 分) する。

#### (5) 7.5% NaHCO<sub>3</sub>

炭酸水素ナトリウム 7.5 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルター (0.22 µm、MILLEX® GS、MILLIPORE) で濾過する。

#### (6) 200 mmol/L L-グルタミン

L-グルタミン 1.46 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルターで濾過する。

(7) 1%DEAE デキストラン

DEAE デキストラン 1 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルターで濾過する。

(8) 15%グルコース

グルコース 15 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルターで濾過する。

(9) 10% BSA

アルブミン 10 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルターで濾過する。

(10) 1%ニュートラルレッド

ニュートラルレッド 1 g に超純水 100 mL の割合で加え溶解後、メンブレンフィルターで濾過する。

### 1. 3 宿主細胞の培養方法

#### 1. 3. 1. 継代方法

(1)凍結保管中の宿主細胞を約 37°C に設定した恒温槽で融解後、15 mL 遠心管に培養液 10 mL を入れ、融解した細胞液 1 mL を添加し懸濁する。

(2)5 分間遠心分離 (1000 rpm、190 × g、24°C) して上清を除去する。

(3)15 mL 遠心管に培養液 1 mL を加えて再懸濁する。10%FBS 添加 DMEM 5 mL を加えた 25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコに細胞懸濁液 0.5 mL を添加し、炭酸ガス培養装置 (設定温度: 37°C、CO<sub>2</sub> 濃度: 5%、型式: MCO-170AICUV-PJ、パナソニックヘルスケア株式会社) で数日間培養する。

(4)細胞が 25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコの底に単層シート状になっていることを確認する。培養液を除去し、PBS で細胞を 2 回洗浄後に 0.05%トリプシン 1 mL を加えて細胞を剥離し、回収液を 15 mL 遠心管に移す。

(5)回収液と等量の 10%FBS 添加 DMEM を混合し、5 分間遠心分離 (1000 rpm、190 × g、24°C) して上清を除去する。

(6)15 mL 遠心管に培養液 1 mL を加えて再懸濁する。10%FBS 添加 DMEM 5 mL を加えた 25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコに懸濁液 0.1 mL を添加し、炭酸ガス培養装置で数日間培養する。

(7)単層シート状になったら(4)~(6)を繰り返し、細胞を継代する。

#### 1. 3. 2. 75 cm<sup>2</sup> 培養フラスコ作製方法

(1)継代培養し、25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコの底で単層シート状になった宿主細胞の培養液を除去し、PBS で細胞を 2 回洗浄後、0.05%トリプシンを 25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコ 1 本に対して 1 mL を加えて細胞を剥離し、回収液を 15 mL 遠心管に移す。

(2)回収液と等量の 10%FBS 添加 DMEM を混合し、5 分間遠心分離 (1000 rpm、190 × g、24°C) して上清を除去する。

(3)15 mL 遠心管に 10%FBS 添加 DMEM を 1 mL 加え再懸濁する。再懸濁した全量を滅菌済みメディウム瓶に入れ、さらに 10%FBS 添加 DMEM を加えて、75 cm<sup>2</sup> 培養フラスコに 15 mL ずつを播種し、炭酸ガス培養装置で培養する。

(4)宿主細胞が 75 cm<sup>2</sup> 培養フラスコの底に単層シート状になっていることを確認し、接



種ウイルス液の精製に用いる。

### 1. 3. 3. 6 ウェルプレート作製方法

(1) 継代培養し、25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコの底で単層シート状になった宿主細胞の培養液を除去し、PBS で細胞を 2 回洗浄後、0.05% トリプシンを 25 cm<sup>2</sup> 培養フラスコ 1 本に対して 1 mL を加えて細胞を剥離し、回収液を 15 mL 遠心管に移す。

(2) 回収液と等量の 10% FBS 添加 DMEM を混合し、5 分間遠心分離 (1000 rpm、190 × g、24°C) して上清を除去する。

(3) 15 mL 遠心管に培養液 1 mL を加えて再懸濁する。再懸濁した全量を滅菌済みメディアウム瓶に入れ、10% FBS 添加 DMEM を加え、6 ウェルプレートに 2 mL ずつを播種し、炭酸ガス培養装置で培養する。

(4) 宿主細胞が 6 ウェルプレートの底に単層シート状になっていることを確認し、接種ウイルス液の濃度測定及びウイルス増殖抑制試験に用いる。

## 1. 4. 接種ウイルス原液の精製方法

凍結保存のコロナウイルスを解凍し、RPMI1640 で適宜希釈し、HCT-8 細胞を培養した 75 cm<sup>2</sup> 培養フラスコに添加し、炭酸ガス培養装置で、細胞にウイルスを 1 時間吸着させる。

その後、ウイルス液を除去し、RPMI1640 を加え、炭酸ガス培養装置 (設定温度: 33°C、CO<sub>2</sub> 濃度: 5%、型式: BAA-111、エスベック株式会社) で培養する。培養は、細胞変性効果 (CPE) が出現するまで実施し、ウイルス液を含む上清を採取する。

採取後、遠心分離 (2000 rpm、780×g、4°C、5 分間) し、上清を接種ウイルス原液とする。接種ウイルス原液は 1 mL ずつセラムチューブに分注し、超低温フリーザーに使用時まで凍結 (-80°C) 保存する。

## 1. 5. 接種ウイルス液の濃度測定

接種ウイルス原液を MEM で段階希釈液 (10<sup>1</sup>~10<sup>6</sup>) を調製する。HCT-8 細胞を培養した 6 ウェルプレートに各ウイルス希釈液を 1 ウェルに 0.5 mL ずつ添加し、15 分毎に 6 ウェルプレートを振盪し、細胞にウイルスを 1 時間吸着させる。

その後、培地 A と培地 B を等量混ぜ合わせ、速やかに 2 mL ずつ吸着の終わったシャーレに加える。アガロースが固まるまで室温に放置し、炭酸ガス培養装置で数日間培養し、ニュートラルレッドを加えた培地 (培地 A+培地 B) を 2 mL 重層し、一晚炭酸ガス培養装置で培養後、プラーク数を算定する。各濃度の例数は 4 とする。

培地 A : 10 × MEM 10 mL、7.5% 炭酸水素ナトリウム 3 mL、200 mmol/L L-グルタミン 2 mL、1% DEAE デキストラン 1 mL、15% グルコース 1 mL、10% BSA 1 mL、抗菌薬 1 mL、滅菌蒸留水 31 mL

培地 B : アガロース 0.8 g、蒸留水 50 mL

## 1. 6. 接種ウイルス液の調製

凍結保存してある接種ウイルス原液を用時に融解して、そのまま接種ウイルス液として用いる。

使用後の残余接種ウイルス原液は、オートクレーブ (LSX-500、株式会社トミー精工)

処理（121°C、15 分間）した後、廃棄する。

### 1. 7. リグニン水溶液のウイルス増殖抑制効果

接種ウイルス液と被験物質を等量混合し、5 分間反応させる。陰性対照として被験物質の代わりに MEM と接種ウイルス液を等量混合する。反応後、混合液を MEM で適宜希釈する。その後、6 ウェルプレートで培養した宿主細胞にそれぞれ 1 ウェルに 0.5 mL ずつ添加する。細胞にウイルスを 1 時間吸着させる。

接種ウイルス原液の濃度測定時に用いた培地 A と培地 B を等量混ぜ合わせ、速やかに 1 ウェルに 2 mL ずつ細胞に重層し、アガロースが固まったら炭酸ガス培養装置で約 24 時間培養する。

その後、培地 A と培地 B を混ぜ合わせた培地にニュートラルレッドを加えた培地を重層し、翌日、ウイルスプラーク数を測定する。例数は 3 とする。

プラーク数からウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL) 及び Log reduction を算出する。

Log reduction の計算方法は次式とする。

$$\text{Log reduction} = A - B$$

A : 陰性対照のウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL)

B : 被験物質のウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL)

結果を Table 1 に示した。

Table 1. リグニンによる MHV 増殖抑制効果

Test substances	Viral infectivity ( $\log_{10}$ PFU/mL)	Log reduction
Control	5.8	-
1% Lignin solution	2.9	2.9
0.1% Lignin solution	4.7	1.1
0.01% Lignin solution	5.7	0.1

Table 1 の結果より、ウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL) は、対照で 5.8、リグニン 1% で 2.9、リグニン 0.1% で 4.7、リグニン 0.01% で 5.7 であった。Log reduction はリグニン 1% で 2.9、リグニン 0.1% で 1.1、リグニン 0.01% で 0.1 であった。これらの結果は、リグニン 1% 水溶液の添加により 794 分の 1、リグニン 0.1% 水溶液の添加により 13 分の 1、リグニン 0.01% 水溶液の添加により 1.6 分の 1 にそれぞれウイルス増殖が抑制されたことを示している。すなわち、ウイルス増殖抑制効果はリグニン 1% 水溶液の添加により 99.9%、リグニン 0.1% 水溶液の添加により 92.2%、リグニン 0.01% 水溶液の添加により 37.5% であった。

### 2. リグニン等を塗布した不織布の抗ウイルス活性評価

接種ウイルス液の精製及び調製はすべて上記と同様に行う。

#### 2. 1. リグニン塗布不織布のウイルス除去効果

リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)を不織布に塗布し、そこに接種ウイルス液を通し、



ウイルス液を回収する。回収したウイルス液を原液とし、MEM で適宜希釈する。陰性対照として被験物質の代わりに MEM を用いる。その後、6 ウェルプレートで培養したマウス脳腫瘍細胞由来 SR-CDF1 DBT (JCRB1580) 細胞にそれぞれ 1 ウェルに 0.5 mL ずつ添加する。細胞にウイルスを 1 時間吸着させる。

接種ウイルス原液の濃度測定時に用いた培地 A と培地 B を等量混ぜ合わせ、速やかに 1 ウェルに 2 mL ずつ細胞に重層し、アガロースが固まったら炭酸ガス培養装置で約 24 時間培養する。

その後、培地 A と培地 B を混ぜ合わせた培地にニュートラルレッドを加えた培地を重層し、翌日、ウイルスプラーク数を測定する。例数は 3 とする。

プラーク数からウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL) 及び Log reduction を算出する。

Log reduction の計算方法は次式とする。

$$\text{Log reduction} = A - B$$

A : 陰性対照のウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL)

B : 被験物質のウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL)

結果をエラー! 参照元が見つかりません。に示した。

Table 2. リグニン塗布不織布による MHV 増殖抑制効果 (除去効果)

Test substances	Viral infectivity ( $\log_{10}$ PFU/mL)	Log reduction
Control	4.7	-
Non-woven fabric coated with 1% Lignin solution	2.6	2.1
Non-woven fabric coated with 0.1% Lignin solution	3.8	0.9
Non-woven fabric coated with 0.01% Lignin solution	3.8	0.9

ウイルス感染価 ( $\log_{10}$  PFU/mL) は、対照で 4.7、リグニン 1% で 2.6、リグニン 0.1% で 3.8、リグニン 0.01% で 3.8 であった。Log reduction はリグニン 1% で 2.1、リグニン 0.1% で 0.9、リグニン 0.01% で 0.9 であった。対照とした未処理不織布でろ過した場合と比較して、リグニン 1% 塗布不織布ろ過により 126 分の 1、リグニン 0.1% 塗布不織布ろ過により 8 分の 1、リグニン 0.01% 塗布不織布ろ過により 8 分の 1 にウイルス増殖を抑制する効果が観察された。これはリグニン 1% 塗布不織布ろ過によりウイルスが 99.2%、リグニン 0.1% 塗布不織布ろ過により 87.5%、リグニン 0.01% 塗布不織布ろ過により 87.5% のウイルスがそれぞれ除去されたことを示す。

### 3. マウスでの安全性試験

マウスにリグニン水 (1%, 0.1%, 0.01%) を投与して、毒性試験を実施する。現在までに抗ウイルス活性を評価の条件の概要を確定した。家畜の毒性試験の経験が豊富な共同研究者と検討した結果、実験系の整っているニワトリを用いて毒性評価をすることとした。その詳細は事項に記述する。

### 3. ニワトリでの安全性試験 (マウスでの安全性試験に替えて)

当初、マウスを用いてリグニン水溶液の安全性試験 (単回投与毒性試験) を実施する予

定であったが、ニワトリを用いる毒性試験の経験が豊富な弘前大学農学生命科学部川端二功准教授の協力を受けて、対象をニワトリに変更して実施した。リグニン 10%配合飼料およびリグニン 1%配合飼料を用いてロードアイランドレッド種のヒナに対する摂食試験および急性毒性試験を実施した。

パワーチック ZK 前期 C (JA 全農北日本くみあい飼料株式会社) を基本飼料とし、基本飼料、10%リグニン飼料、1%リグニン飼料の摂食量を比較した。

4羽のニワトリヒナを2時間絶食、絶水にした。体重の平均値±標準誤差は  $228.75 \pm 17.27\text{g}$  であった。通常飼料、10%リグニン飼料、1%リグニン飼料、及び水を設置した。1時間毎に各飼料の摂取量を測定した。



その結果、リグニン 10%配合飼料はほとんど摂食せず (図 2)、リグニン 1%配合飼料はほぼ標準飼料と有意差なく摂食した (図 3)。この際、目視による観察ではニワトリに健康上の変化は認められなかった。したがって 1%リグニン配合飼料には経口急性毒性はないものと考えられる。

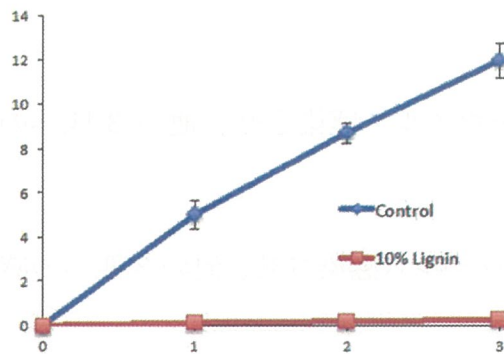


図 2. 10%リグニン飼料摂食量

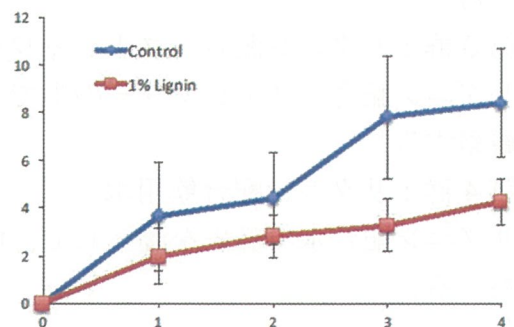


図 3. 1%リグニン飼料摂食量

ニワトリの嗜好性にはリグニンの苦みが影響していると考えられ、苦み受容体アンタゴニスト (メトキシフラボノン) を配合することにより苦みをマスキングすることでニワトリの摂食を促進できると期待できる。さらには、川端二功准教授らの研究により、ニワトリはトウガラシ成分であるカプサイシンの辛みを感じないという味覚特性を有していることが知られており、野生の水鳥への餌付けのためにはカプサイシンを飼料に配合して、ネズミ、イタチ、イノシシなどの鳥以外の野生生物に摂食されない方策が有効であると予測できる。

尚、ニワトリを対象とするリグニンによるインフルエンザウイルス感染予防対策法としては、飼料への配合と合わせて飲用水への配合、鶏舎全体および個体への噴霧も考えられる。

また、リグニンは木材中に含まれるポリフェノールであるため、茶カテキンや植物由来フラボノイドなどの植物由来ポリフェノール類も同様のウイルス増殖抑制効果が期待できることが強く示唆され、未利用資源である間伐材、廃材、茶、果実、サツマイモ、大豆、麦などの搾り粕などの有効利用につながることを期待される。



#### 4. マウスでのウイルス感染予防効果評価

3の安全性試験をクリアした後、マウスを用いて、感染予防効果、感染治療効果を評価する。現在までに抗ウイルス活性を評価の条件の概要を確定した。

##### (1)リグニン水溶液+ウイルス液によるウイルス感染抑制効果

リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)+ウイルス液混和液をマウスの鼻先に塗布してウイルス感染抑制効果を評価する。

##### (2)リグニン塗布不織布のウイルス除去効果

リグニン水溶液(1%, 0.1%, 0.01%)塗布不織布を通した(ろ過した)ウイルス液をマウスの鼻先に塗布してウイルス感染抑制効果を評価する。

ウイルスにはコロナウイルス科のマウス肝炎ウイルス(MHV-1)を用いて実施する。試験では4匹を1群として、各群の中の1匹の鼻先にウイルス液を塗布して感染させ、他の3匹にどの程度感染するか、どの程度重症化するかなどを観察する。

##### 第1群：コントロール系

1匹をウイルス感染させ、他の3匹への感染状況を観察する。

##### 第2群：ミストシャワー

蒸留水のミストシャワーの中で1匹をウイルス感染させ、他の3匹への感染状況を観察する。

##### 第3群：リグニン配合ミストシャワー

リグニン配合ミストシャワーの中で1匹をウイルス感染させ、他の3匹への感染状況を観察する。

##### 第4群：リグニン配合飲用水

リグニン配合水で鼻先を濡らして、1匹をウイルス感染させ、他の3匹への感染状況を観察する。

本評価試験は研究予算内で実施できるかを検討した結果、時間的にも研究予算的にも本年度中の実施は困難であるとの結論に達した。(委託試験見積額 3,850,000円)

本プロジェクトの結果に基づいて、平成3年度農林水産省国際共同研究事業に申請する予定であるので、採択されれば本プロジェクトをさらに発展させて、抗ウイルスマスク、抗ウイルスフィルター等への応用開発を進めたい。

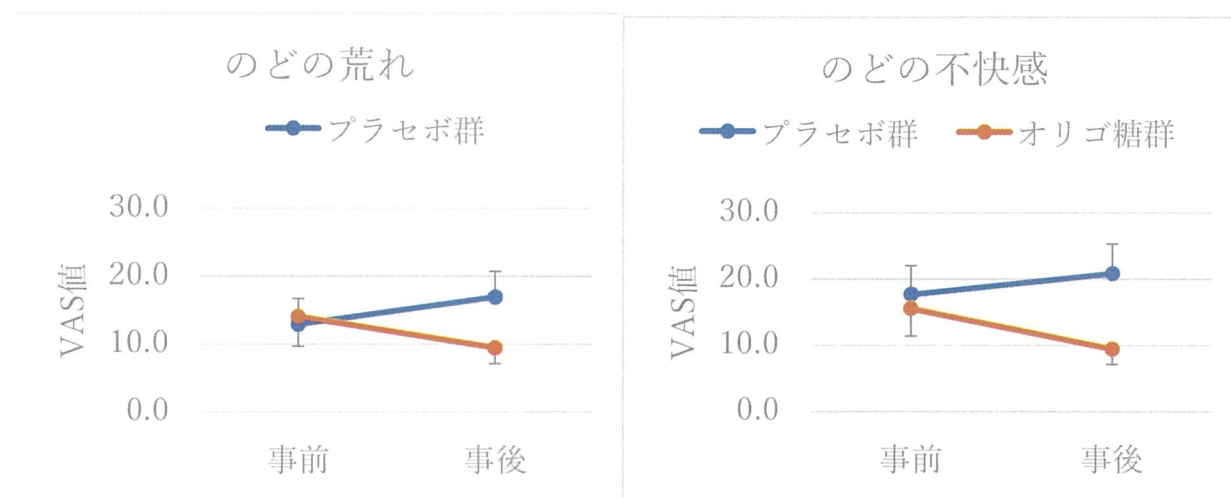
#### 5. ヒトでの感染予防効果評価

今年度実施された複数の臨床試験で風邪症状や免疫機能の評価を実施した。具体的には、高麗人参、サジー果汁、オリゴ糖、ハーブ成分を含むタブレット等の臨床試験を実施する中で、風邪症状の質問紙および免疫機能の評価を実施した。

風邪症状の質問紙については、医薬品および医薬部外品として承認されている感冒薬の評価方法を網羅的に調査したところ、質問紙や症状による評価がされていることが分かり、それを日誌およびVAS(Visual Analog Scale: 視覚的アナログ尺度)にて評価する質問紙を構築した。免疫機能については唾液免疫グロブリンAおよびリアルタイムPCR法で新型コロナウイルスの陽性者数を評価した。

臨床試験の実施は、有効成分の配合されている試験食品と有効成分が含まれていないプラセボを4週間摂取してもらい、その前後に質問紙や免疫機能評価を実施した。各群 15～20名の被験者を募り、ヘルシンキ宣言に則って同意を得て、産業理工学部生命倫理委員会で承認されている内容で実施した。

風邪症状を評価した様々な食品の中で、オリゴ糖について、顕著な風邪症状軽減の効果が確認された。唾液免疫グロブリン A については、高麗人参やオリゴ糖が分泌を上昇さ



せる傾向が見られた。新型コロナウイルスの PCR 検査では陽性率が低く (15～20 例中 0～2 例)、試験物の評価をすることができなかった。

以上の研究により、特に質問紙が鋭敏に食品等の効果を評価できること、また免疫グロブリン A がその効果と同様な傾向を示すことが分かった。今後、感染症予防対策の評価に利用されることが期待される。

### 3. 本研究と関連した今後の研究、開発・改良、提案計画

#### 今後の予定と課題

上記 1、2、3 のウイルス増殖抑制効果の評価及び安全性試験の結果を踏まえて、4. マウスでのウイルス感染予防効果評価を実施する。その後、開発が見込まれる公衆衛生用品として消毒薬、抗ウイルスマスク、抗ウイルス防御服、空気清浄機・エアコン用フィルターなど実用製品の開発を目指す。製品実用化のための試験を行える研究機関、企業との共同研究を模索し、令和 3 年度農林水産省二国間国際共同研究事業へ申請する(申請中)。

### 4. 研究成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
Applied Sciences, 2021, 11, 1174-1188.	雑誌	2021 年 1 月
Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids 2020, 39, 1-3, 407-425.	雑誌	2020 年 4 月 20 日



核酸科学ハンドブック(分担執筆)、 (株)講談社サイエンティフィック、監 修 杉本直己、 藤井政幸 第II部 核酸科学の最前線、41. 核酸-ペプチ ドコンジュゲート p.541-545.	著書	2020年12月22日

5. 開発・改良、提案課題の成果発表等