

研究成果報告書

平成20年12月26日

喜多薬品工業株式会社

代表取締役

喜多 三朗 様

学校法人京都産業大学

理事長

廣岡 正



受託研究題目 「ヒノキチオールを配合した製剤等を用いての鳥インフルエンザに対する効果検証」

研究期間 平成20年10月 1日 ~ 平成21年 9月 30日

上記の受託研究について、受託研究契約書第10条の規定により、下記の書類を添えて報告いたします。

記

1. 受託研究成果報告書 (別添) 1部

以上

喜多薬品工業株式会社報告書

京都産業大学鳥インフルエンザ研究センター

常國良太、高桑弘樹、大槻公一

喜多薬品工業株式会社の開発した消毒剤 2 サンプルの鳥インフルエンザウイルスに対する作用の評価

以下の 7 回の実験を行い、2 種類の抗鳥インフルエンザウイルスに対する効果を調べた。実験に供した鳥インフルエンザウイルス株は、大槻らが分離した弱毒のウイルスの A/whistling swan/Shimane/499/83 (H5N3) である。なお、本ウイルス株はヒナからヒナへ実験的に継代することにより強毒化することを証明している。

実験 1

実験方法

最初にサイプレスクリア（アルコール製剤）の抗ウイルス作用を検討した。アルコールが 77%含有されている本剤原液及び本剤を希釈してアルコール濃度が 50%になるように希釈したものについて調べた。また、77%及び 50%希釈アルコール液を別に用意した。これらの試料にそれぞれ等量の PBS 溶液で 100 倍希釈したウイルス液を加え、室温で 10 分間感作させた。その後、これら混合溶液を素早く希釈して、各希釈宛 4 個の SPF10 日齢発育鶏卵の漿尿膜腔に 0.2 ml 宛接種した。35°C 2 日間孵卵を続行した。一夜 4°C においた後、尿膜腔液を採取して、0.5%鶏赤血球浮遊液と反応させ、鶏赤血球の凝集の有無を観察することにより、生残ウイルス力価を測定した。

結果

表 1 に示すようにいずれの濃度でサイプレスクリアを作用させても生残ウイルスは認められなかった。対照として 77%及び 50%アルコールを調整して同様の実験を行った場合、前者では生残ウイルスは認められなかった。後者では顕著

なウイルス力価の低下はなかった。以上から、サイプレスクリアには明らかな抗鳥インフルエンザウイルス作用のあることが判明した。

表 1	生残ウイルス力価
サイプレスクリア原液	—
希釈サイプレス (アルコール濃度 50%)	—
77%アルコール	—
50%アルコール	$10^{6.7}$ EID ₅₀ /0.2 ml
対照	$10^{6.3}$ EID ₅₀ /0.2 ml

実験 2

実験方法

実験 1 と同じサイプレスクリアを× 2 から× 16 まで倍数希釈を行って、どの希釈まで抗インフルエンザウイルス作用を示すか検討を行った。前回同様の実験方法により実施した。

結果

4 倍希釈まで完全にウイルスを殺滅した。しかし、表 2 に示すように 8 倍希釈以降では顕著な抗ウイルス作用は認められなかった。したがって、4 倍希釈までは強力な抗ウイルス作用を示すと思われる。

表 2	生残ウイルス力価
資料の希釈倍数	
× 2	—
× 4	—
× 8	$10^{0.85}$ EID ₅₀ /0.2 ml
× 16	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml

実験3

実験方法

新しいサンプルを用いて実験2と同じ実験を行った。

結果

前回と同じ結果が得られた。以上の結果、サイプレスクリアは4倍希釈まで強力な抗鳥インフルエンザウイルス作用を示すことが明らかになった。

表3

資料の希釈倍数	生残ウイルス力価
×2	—
×4	—
×8	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml
×16	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml

実験4

実験方法

実験3と同じサンプルを用いて実験3と同じ実験を行った。

結果

前回と同じ結果が得られた。以上の結果、サイプレスクリアは4倍希釈まで強力な抗鳥インフルエンザウイルス作用を示すことが確認された。

表4

資料の希釈倍数	生残ウイルス力価
×2	—
×4	—
×8	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml
×16	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml

対照	$10^{6.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml
----	--------------------------------------

実験5

実験方法

ハンドソープ型のサンプルを用いてこれまでと同じ実験を行った。

結果

ハンドソープ型の資料は250倍希釈近くまで強力な抗鳥インフルエンザウイルス作用を示すものと考えられる結果が得られた。

表5

資料の希釈倍数	生残ウイルス力価
×50	—
×250	$10^{0.85}$ EID ₅₀ /0.2 ml
×1250	$>10^{2.5}$ EID ₅₀ /0.2 ml
対照	$10^{6.75}$ EID ₅₀ /0.2 ml

実験6

実験方法

ハンドソープ型のサンプルを用いて前回とほぼ同じ実験を行った。

結果

ハンドソープ型の試料は前回同様200倍希釈近くまで明らかな抗鳥インフルエンザウイルス作用を示した。

表6

資料の希釈倍数	生残ウイルス力価
×100	—
×200	$10^{0.85}$ EID ₅₀ /0.2 ml
×400	$10^{1.75}$ EID ₅₀ /0.2 ml

× 8 0 0	>10 ^{2.5} EID ₅₀ /0.2 ml
対照	10 ^{6.75} EID ₅₀ /0.2 ml

実験7

実験方法

ハンドソープ型のサンプルを用いて前回と同じ実験を行った。

結果

ハンドソープ型の資料は前回同様200倍希釈近辺まで明らかかな抗鳥インフルエンザウイルス作用を示した

表7

資料の希釈倍数	生残ウイルス力価
× 1 0 0	—
× 2 0 0	10 ^{0.85} EID ₅₀ /0.2 ml
× 4 0 0	10 ^{12.25} EID ₅₀ /0.2 ml
× 8 0 0	>10 ^{2.75} EID ₅₀ /0.2 ml
対照	10 ^{6.75} EID ₅₀ /0.2 ml

結論

サイプレスクリア（アルコール含有型）はあきらかな抗鳥インフルエンザウイルス作用を持つことが明らかになった。その効力は4倍希釈まで本実験では認められた。

また。ハンドソープ（ヒノキチオール配合）は200倍程度の希釈まで抗ウイルス効果のあることが認められた。