PRESS RELEASE

国立大学法人 徳島大学

日本フネン株式会社

京都府公立大学法人 京都府立医科大学 KYOTO PREFECTURAL UNIVERSITY OF MEDICINE

平成３０年１１月 XX 日

紫外線発光ダイオード（UV-LED）照射による A 型インフルエンザウイルス不活化機構を解明 － 高病原性鳥インフルエンザウイルス不活化にも効果

徳島大学大学院医歯薬学研究部・予防環境栄養学分野の高橋章教授、馬渡一諭講師、野中（西坂）理沙大学院生ら７人と同大学院社会産業理工学研究部、京都府立医科大学感染病態学教室、日本フネン株式会社の共同研究グループは、紫外線発光ダイオード（UV-LED）照射が高病原性鳥インフルエンザを含めた A 型インフルエンザウイルスの不活化に効果的であることを発見しました。また、UV-LED 照射は感染細胞内でのウイルス RNA の転写と複製を抑制することで、インフルエンザウイルスの増幅を抑えていることを証明しました。この成果は１０月２９日に欧州光生物学会（European Society of Photobiology）発行の学術雑誌 Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology にオンライン掲載されました。

【研究グループ】

徳島大学 大学院医歯薬学研究部 予防環境栄養学分野
高橋章教授、馬渡一諭講師、上番増喬助教、下畑隆明助教、
野中（西坂）理沙大学院生、山本智美大学院生、児島瑞基大学院生
徳島大学 大学院社会産業理工学研究部
芥川正武講師、榎本崇宏講師、
中橋睦美助教（現・徳島県立農林水産総合技術支援センター主任）
木内陽介顧問（現・徳島大学名誉教授、研究支援・産官学連携センター客員教授）
日本フネン株式会社 研究開発部
和田敬宏、岡本雅之、伊藤浩、吉田健一
京都府立医科大学 感染病態学教室
中屋隆明教授、大道寺智講師

【学術誌への掲載状況】

『Irradiation by ultraviolet light-emitting diodes inactivates influenza A viruses by inhibiting replication and transcription of viral RNA in host cells』
Risa Nishisaka-Nonaka, Kazuaki Mawatari, Tomomi Yamamoto, Mizuki Kojima, Takaaki Shimohata, Takashi Uebanso, Mutsumi Nakahashi, Takahiro Emoto, Masatake Akutagawa, Yohsuke Kinouchi, Takahiro Wada, Masayuki Okamoto, Hiroshi Ito, Ken-ichi Yoshida, Tomo Daidoji, Takaaki Nakaya, Akira Takahashi
Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology 第 189 巻 193-200 ページ（2018 年 12 月発行）
https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.017

770-8501
徳島市新蔵町2丁目24番地
Phone.088-656-7021
Fax.088-656-7012
http://www.tokushima-u.ac.jp

【本研究の背景】

A 型インフルエンザウイルス influenza A virus (IAV) はオルトミクソウイルス科に分類されるウイルスです。近年、A 型インフルエンザウイルスの中でも鳥類に対して致死性が高い H5N1 亜型や H7N9 亜型などの高病原性鳥インフルエンザウイルス（Highly Pathogenic avian influenza, HPAI）は野鳥や家禽への感染がアジアを中心に世界的に感染が広まっており、養鶏産業に大きな被害をもたらしています。また近年では H5N1、H7N9 亜型の鳥インフルエンザウイルスは鳥のみならずヒトへの感染事例も多く報告され、ヒトへの感染能力はまだ低いものの感染後は 50%近い致死性を示すことから、有効な感染対策が必要とされています（図１）。そこで本研究では紫外線発光ダイオード（UV-LED）照射による A 型インフルエンザウイルス感染予防策に着目しました。近年、世界的に深紫外線 LED の開発も進められており、様々な病原性微生物への効果が報告させています。しかし、インフルエンザウイルスへの効果はほとんど報告がありませんでした。当研究グループは近紫外線（UVA）-LED 照射による病原性細菌への殺菌効果と機構を明らかにしてきましたが、A 型インフルエンザウイルスに対する効果は不明でした。そこで本研究では H1N1 亜型（A/Puerto Rico/8/1934）に種々のピーク波長の UV-LED を照射し，不活化効果の評価とその機構を明らかにすることを目的としました 。さらに、高病原性鳥インフルエンザ（H5N1 亜型）への不活化効果を評価しました。

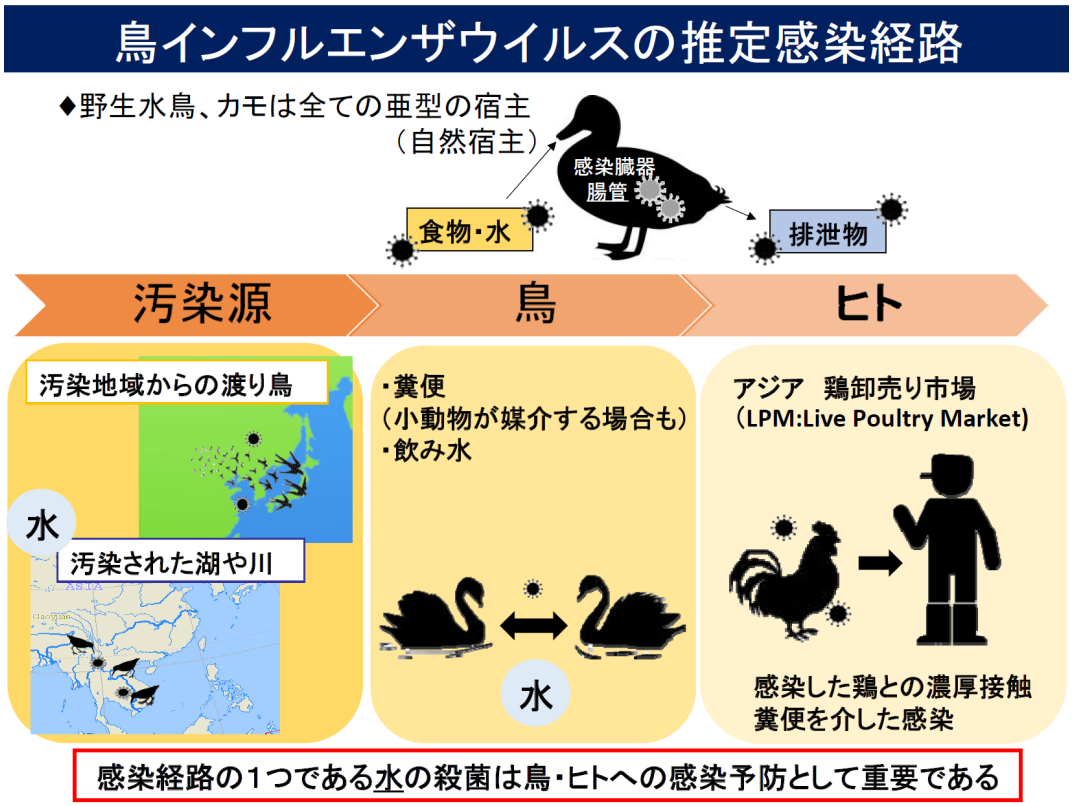

図１．鳥インフルエンザウイルスの推定感染経路

鳥インフルエンザウイルスの感染経路は不明な点も多いが、水を介した感染経路も考えられている。

【結果の概要】

本研究ではピーク波長がそれぞれ 365nm（UVA-LED）、310nm（UVB-LED） 及び 280nm（UVC-LED）の LED（すべて日亜化学工業製） を使用し、許容最大の順電流で照射を行いました(**図２**)。まず，ウイルス溶液に UV-LED を照射し MDCK 細胞に感染したあと、プラーク法により不活化効果の評価を行うと、UVC-LED（280nm）、UVB-LED（310nm）、UVA-LED（365nm）の順に不活化効果が高かったが、すべての UV-LED で H1N1 亜型の感染力を 1/100~1/1000 以上まで不活化することができました（**図３**）。次に、UV-LED 照射による不活化機構を調べるためにヘマグルチニン（HA）力価測定によりウイルスの細胞接着能を評価しました。すると、MDCK 細胞への感染力を十分に減らす照射量（照射エネルギー）であっても HA 力価は変化しなかったことから、UV 照射による不活化効果は宿主細胞への接着能力の変化によるものではないと考えられました。さらに, UV-LED 照射後の宿主細胞内の 3 種のウイルス RNA （vRNA, cRNA, mRNA）の動態を定量的 RT-PCR 解析によって調べると，いずれの波長の UV-LED 照射でも宿主細胞内の vRNA, cRNA, mRNA の増殖を抑制したことから、UV-LED 照射は宿主細胞内でのウイルス RNA の複製と転写の両方を抑制したと考えられました（**図４**）。

最後に、UV-LED 照射は高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 亜型（A/Crow/Kyoto/53/2004）を不活化できるか評価を行いました。H5N1 亜型は H1N1 亜型よりも UVB-LED と UVC-LED 照射で不活化されやすいことがわかりました（**図５**）。UV-LED 照射が季節性インフルエンザウイルスだけでなく、鳥インフルエンザウイルスへの予防にも応用できる可能性が示唆されました。

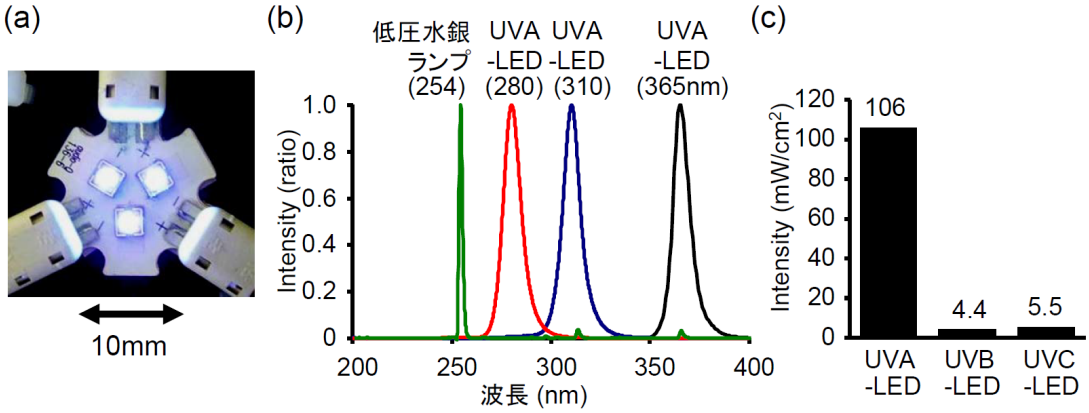

図２．本研究で用いた紫外線発光ダイオード（UV-LED）

(a) 本研究で用いた UV-LED（日亜化学工業製）

(b) UV-LED の波長スペクトル。今回用いた UV-LED は一般的に殺菌紫外線として用いられている低圧水銀ランプとは異なる波長帯を照射する。

(c) UV-LED の放射照度。今回は定格上限の順電流で照射した。UVA-LED は他の 2 つより放射照度が 20 倍程度高かった。

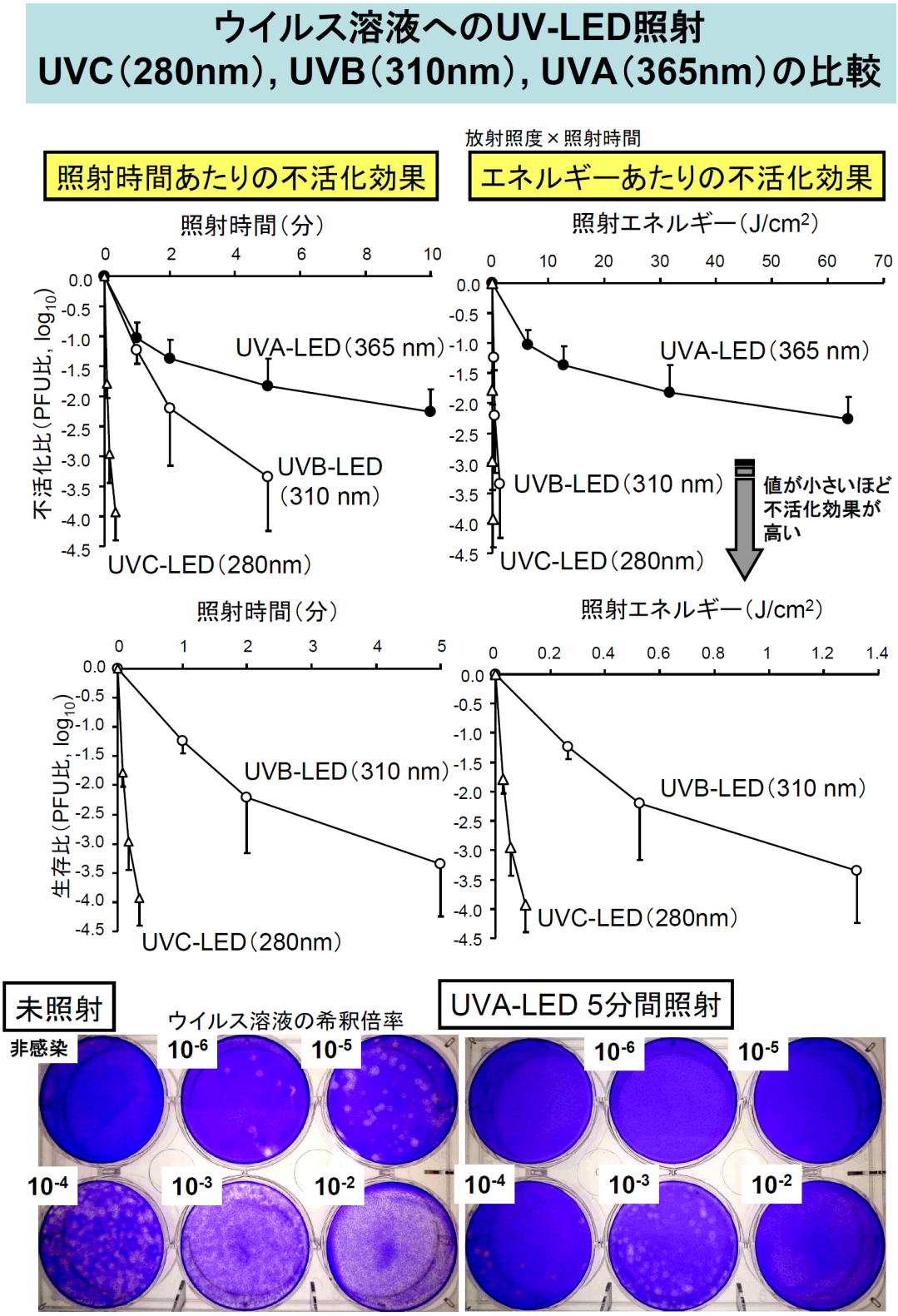

図３．UV-LED 照射による A 型インフルエンザウイルス（H1N1 亜型）不活化の評価

ウイルス溶液に UV-LED を照射後、MDCK 細胞に感染させプラーク法にて不活化効果を評価した。下図はウイルス感染細胞をクリスタルバイオレットに染色した写真。透明の箇所がウイルスに感染して細胞が変性した箇所を示す。UVA-LED、UVB-LED、UVA-LED の順で不活化効果が高かった。

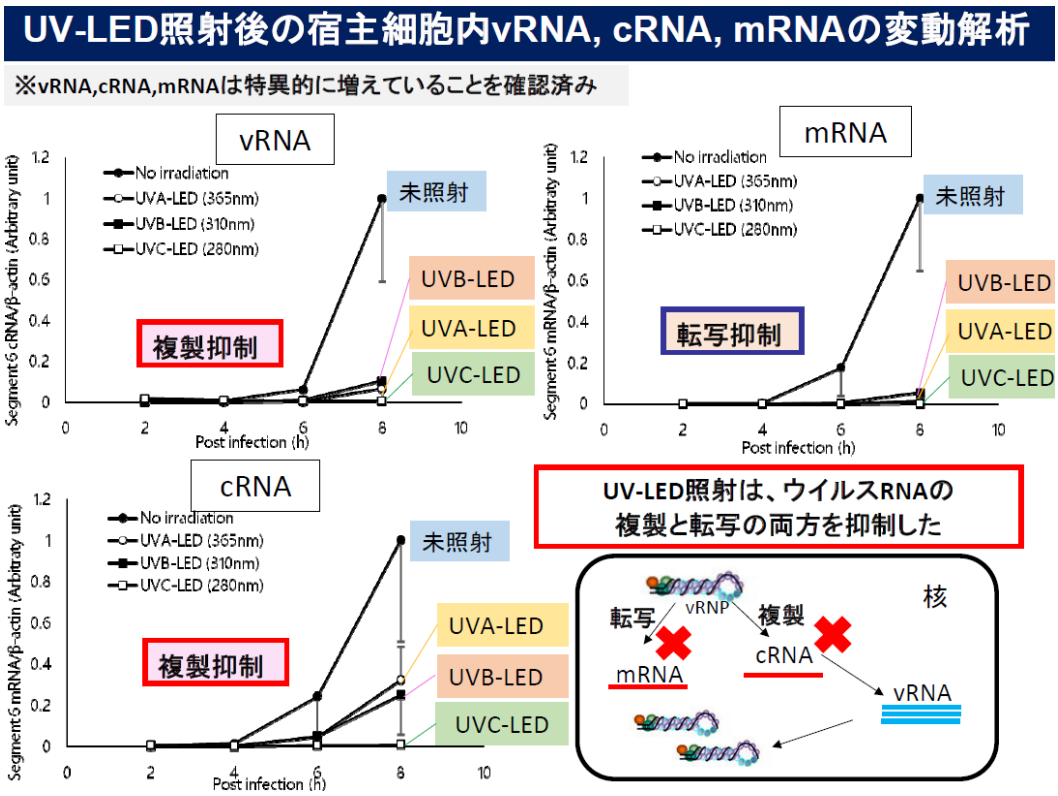

図４．UV-LED 照射は細胞内でのウイルス RNA の複製と転写を抑制した

インフルエンザウイルスは感染細胞の中でウイルス RNA の転写と複製を繰り返して子孫ウイルスを増やしていく。1/10 程度不活化できる照射量の UV-LED 照射により、顕著に細胞内でのウイルス RNA の転写と複製を抑制した。

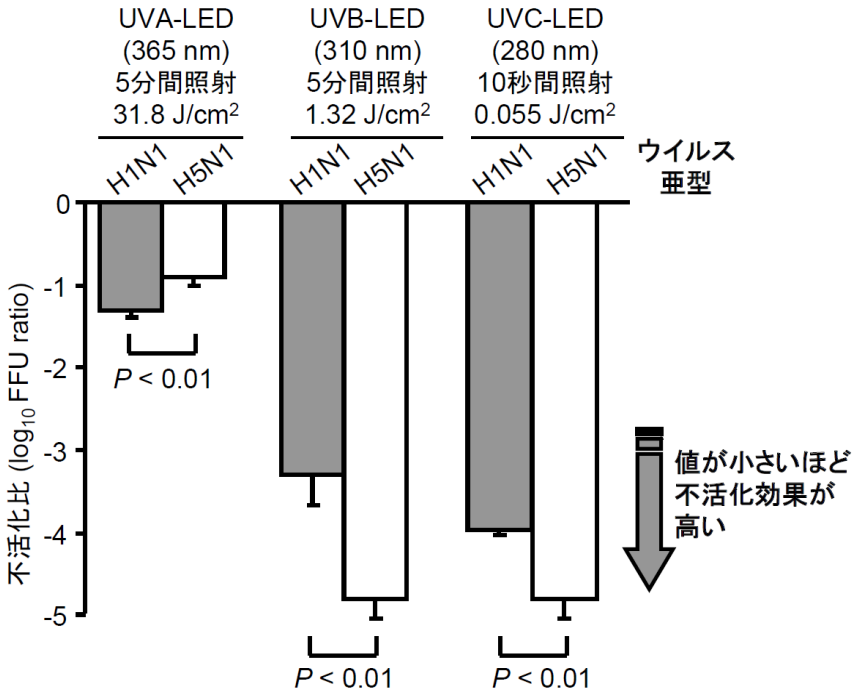

図５．UV-LED 照射による高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 の不活化効果

ウイルス溶液に UV-LED を照射後、MDCK 細胞に感染させフォーカス法にて不活化効果を評価した。H5N1 亜型は H1N1 亜型よりも UVB-LED と UVC-LED 照射で不活化されやすかった。

【今後の展望（研究者からのコメント）】

近年、病原性細菌（バクテリア）やバクテリオファージを用いて UV-LED 照射の不活化効果を評価した研究報告が増えてきましたが、A 型インフルエンザウイルスに対する効果を評価した報告はほとんどありませんでした。今回の研究は、一般的に広く利用されている殺菌紫外線ランプ（低圧水銀ランプ）とは全く異なる発光波長帯の UV-LED を照射しましたが（図２参照）、低圧水銀ランプよりも長い波長領域でも十分に照射を行えば、A 型インフルエンザウイルスの不活化できることがわかりました。さらに、UV-LED は感染細胞内でウイルス RNA の転写と複製を抑制することでウイルスを不活化している可能性が示唆されました（図６）。また、H1N1 亜型だけでなく、高病原性鳥インフルエンザウイルスの H5N1 亜型も不活化できることがわかりました。今回の論文では発表しておりませんが、今回用いた UVC-LED（280nm）照射のインフルエンザウイルスに対する不活化効果は低圧水銀ランプと同程度であることもわかってきました。本研究はまだ基礎的なスモールスケールでの研究でしたので、今後はインフルエンザウイルス感染予防の実用化に向けて、スケールアップや用途に応じた改良を進めていきたいと考えています。

また、UV-LED 照射はウイルス表面のスパイクタンパク質･ヘマグルチニン（HA）の活性には影響を及ぼしませんでしたので、殺菌・不活化以外にもウイルスワクチンなどの他への応用も可能ではないかと考えられました。今後はさらに他種のウイルスへの効果や不活化のメカニズムを解明して、本技術の用途拡大を目指していきたいと考えています。

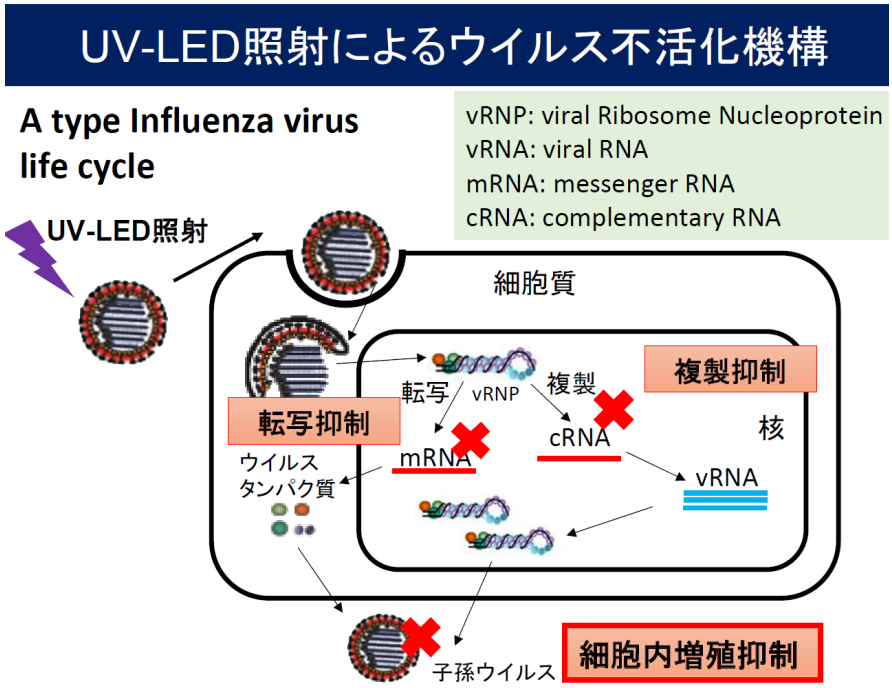

図６．本研究で明らかにした UV-LED 照射による A 型インフルエンザウイルス不活化機構の概要図

【特記事項】

本研究は、地方大学を活用した地域の「稼ぐ力」創出事業、科学研究費補助金、徳島大学若手研究者学長表彰研究支援経費の支援を受けて行いました。

【問い合わせ先】

＜徳島大学＞
部局名　大学院医歯薬学研究部
予防環境栄養学分野
責任者　高橋 章（タカハシ アキラ）
電話番号 088-633-9598
FAX 088-633-7092
ﾒｰﾙｱﾄﾞﾚｽ akiratak@tokushima-u.ac.jp

＜日本フネン株式会社＞
部局名　研究開発部
責任者　伊藤 浩（イトウ ヒロシ）
電話番号 0883-25-2445
FAX 0883-25-4683
ﾒｰﾙｱﾄﾞﾚｽ ito@nihonfunen.co.jp