

作成 2021年9月20日 (第1版)  
更新

# 抗菌・抗ウイルス活性を発揮する ポリ酸化合物 (PM) の実用化に向けた 機能性評価 (要約)

## [学会情報]

フォーラム2021 衛生薬学・環境トキシコロジー (2021/9/10・11)

『生命を衛る衛生薬学の知』

藤波 克之<sup>1</sup>、 団 克昭<sup>2</sup>、 香川(田中) 聡子<sup>1</sup>、 河村 伊久雄<sup>1</sup>

1: 横浜薬科大学

2: 生物活性研究機構

## 要旨

金属酸化物の一種で、多彩な構造体を形成するポリ酸化合物 (Polyoxometalates; PM) はこれまでに数百種類が合成されており、抗腫瘍活性や、抗ウイルス活性、あるいは抗菌活性を有するものが見出されている。我々はこれらPMの中から、抗菌・抗ウイルス活性を有する2種類のPM (VB2, VB3)を同定し、これらPMがウイルス粒子に結合してウイルスの細胞への吸着侵入過程を阻害することを明らかにした。現在、これらPMを含む衛生製品や化粧品の開発に取り組んでおり、安定な性質と、抗微生物活性を持つPMを素材に取り入れることで、衛生面で優れた製品の開発が可能になると考えている。本研究では、VB2とVB3の汎用性を確認する目的で、日和見感染の原因微生物に対する抗菌活性と、ウイルス構成タンパク質に対する結合親和性について解析した。

VBは、MRSAおよびセレウス菌に対して明らかな抗菌活性を示した。特に、芽胞形成菌であるセレウス菌に対して効果が認められたことから、VBは芽胞に対しても殺菌作用を有することが示された。また、BIACOREによる結合親和性の解析では、VB2、VB3ともにインフルエンザウイルスのM2タンパク質、ノロウイルスのVP1 VLPsタンパク質およびSARS-CoV-2のS1タンパク質に対して高い親和性を示した。

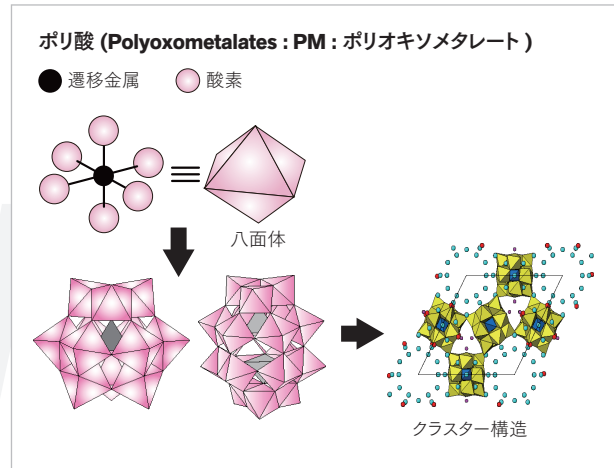
これらの結果から、VB2およびVB3は主要な日和見感染原因菌に対しても有効な広い抗菌スペクトルを持ち、これらVBのウイルスタンパク質に対する親和性は極めて高いことが示された。

## [VBの機能性評価]

### ポリ酸の最小単位及び立体的クラスター構造

ポリ酸は、ポリオキシメタレート、または略してPMと称される金属酸化物クラスターの化合物です。且つて、東工大資源化学研究所の山瀬博士が基礎研究を進められてきました。

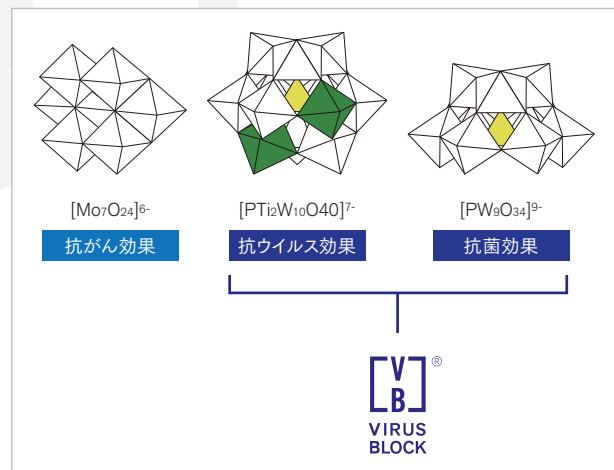
ポリ酸は、遷移金属に酸素元素が6個配位した八面体を基本骨格とし、それらの頂点の酸素が共有結合する事で、図に示すような、特徴的な立体構造をとり、さらにそれらが金属酸化物クラスター構造になる事が知られています。



### ポリ酸の生物活性 構造活性相関

数百種類に及ぶ合成が重ねられたポリ酸は、3種類の活性相関が明確であり、抗がん効果、抗ウイルス効果、抗菌効果に分類されることが示されています。

これらポリ酸の基礎研究をベースとし、抗ウイルス効果、抗菌効果に強いポリ酸に注目し、実用化に向けて機能性評価をしています。

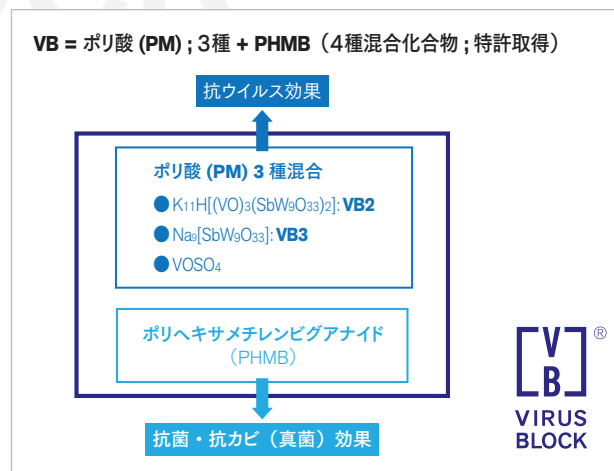


### 抗菌・抗ウイルス素材 VB(Virus Block) の組成

幅広い用途での実用化に向け、抗菌・抗ウイルス素材組成の検討を重ねました。スクリーニングの結果、安全であり高い抗ウイルス活性のポリ酸を3種混合として組成し、そのうち2つの新規化合物をトレードネームとしてVB2、VB3と名付けました。そして、ポリ酸の抗ウイルス効果を主成分とし、副成分として抗菌・抗カビ効果の広域スペクトルを有するPHMBを加え、4種混合化合物として組成をしました。

ポリ酸とPHMBのそれぞれの効果を阻害しない様な配合比率の検討を重ね、さらに相乗効果も認められ、特許を取得しました。

また、これらのポリ酸を主成分とした4種混合化合物をVirusBlockの略でVBと命名し、商標権を取得しました。

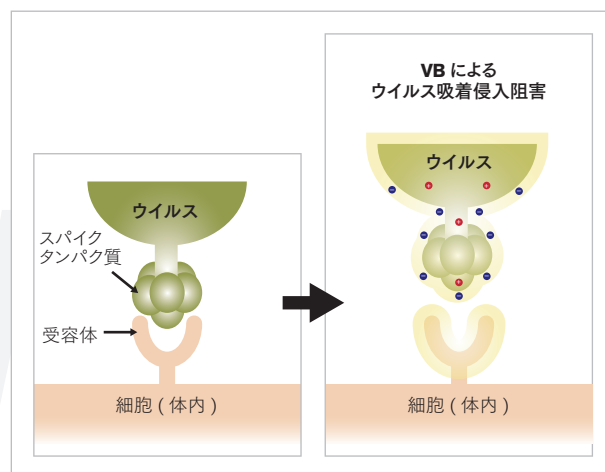


## VB (Virus Block)の抗ウイルス作用メカニズム

左の図は、通常のウイルス感染時のメカニズムを表しております。細胞表面の受容体に、ウイルス粒子のスパイクタンパク質が吸着結合をし、細胞内に侵入しウイルス感染をします。

一方、過去の基礎研究からも、ポリ酸は細胞表面の受容体タンパク質と強く結合をし、ウイルスの吸着、侵入過程を阻害すること、また、ウイルス粒子の表面タンパク質との結合性が高いことからComplexを形成し、感染機能を阻害する事が示されてきました。

そのため、ポリ酸を主成分とするVBのウイルス吸着侵入阻害も、同じ抗ウイルス作用メカニズムをとることが考えられます。



## 抗菌効果検証のためのボランティアによる実証研究

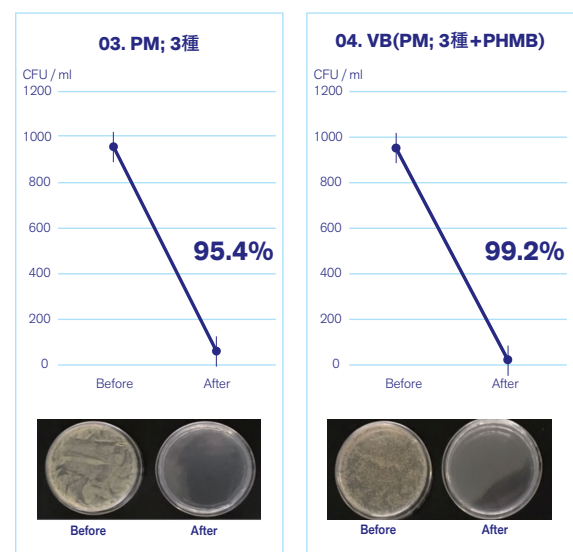
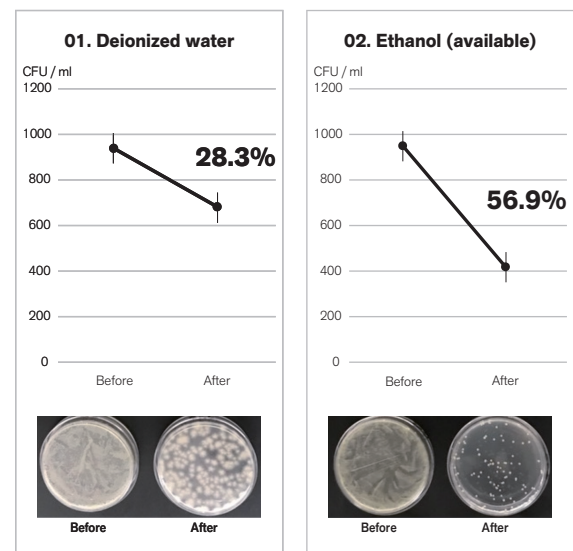
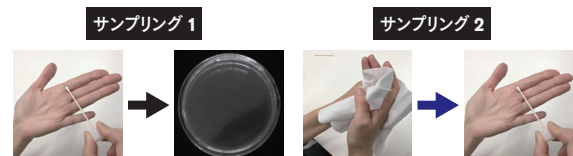
120人のボランティアに協力をいただき、おしぼりを検体として用意し、おしぼりの使用前(サンプリング1)、使用後(サンプリング2)における手指の常在菌の測定を行いました。

グラフは、コントロール群として01.精製水で浸したおしぼり、02.市販のアルコールおしぼり、そして、03.PMと示されているのがポリ酸3種を配合したおしぼり、そして、04.4種混合化合物のVBとして組成したおしぼりについて、それぞれ使用前、使用後の抗菌効果を評価しています。

コントロール群と比較し、03・04の2つのグラフは高い抗菌活性を示しており、VB及びその主成分である3種ポリ酸化合物において、手指に付着する一般細菌を極めて高い効率で除去できることが実証されました。

画像はシャーレ内で繁殖した菌の様子を、それぞれ画像で示しています。

おしぼりの使用前、使用後における手指の常在菌を測定する。



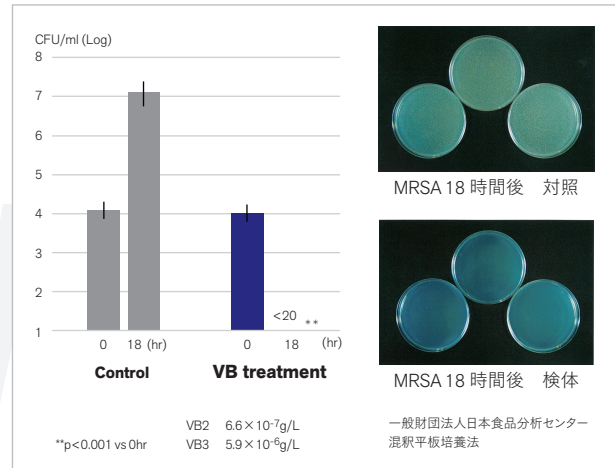
Dan K, Fujinami K, et al : Pharmacology 2019;104:98-112

## VBの抗MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) 活性

第三者評価としてVBの抗MRSA活性を示しています。

コントロール群とVBを比較しており、スタート時と37°C18時間インキュベーション後の評価；発現コロニー数をグラフで示しています。また、VBの主成分となるポリ酸のVB2,VB3のファイナル濃度は、グラフ下記に示しています。

VBはMRSAに対し強力な活性を示し、検出限界以下にまで抑制しました。

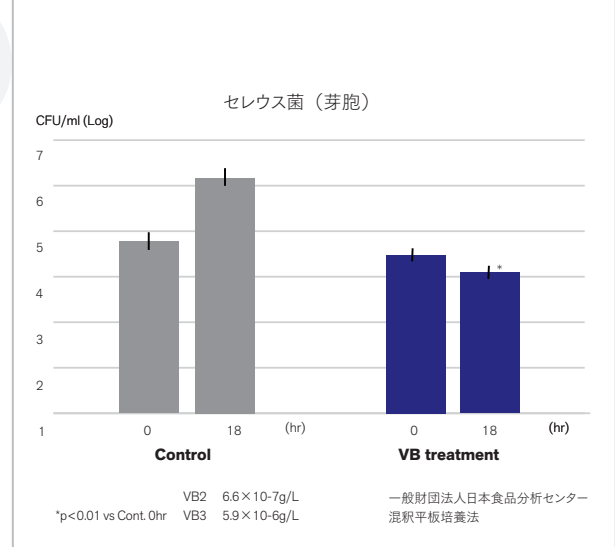
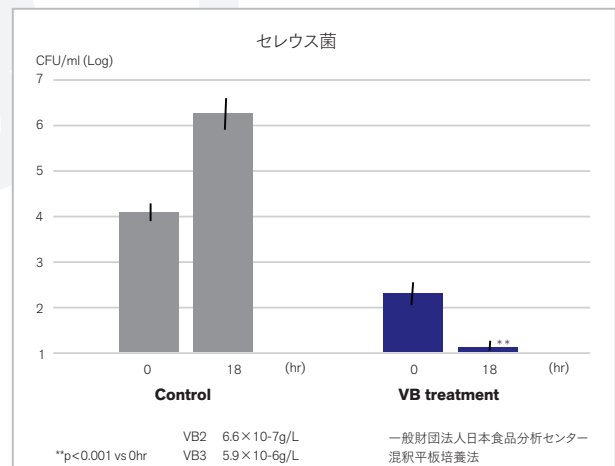


## VBの抗セレウス菌活性、 抗セレウス菌（芽胞）活性

第三者評価としてVBの抗セレウス菌、抗セレウス菌（芽胞）活性を示しています。

グラフの通り、VBはセレウス菌に対してもほぼ検出限界以下となり強力な活性を示しました。

また、セレウス菌（芽胞）に対しても、有意な効果を示す事が出来ました。



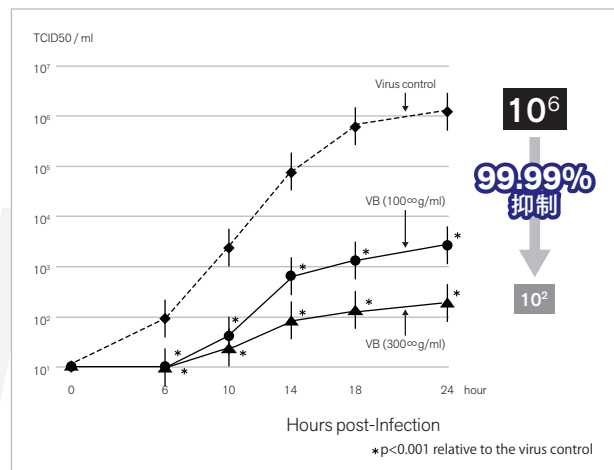
## VBの抗インフルエンザウイルス活性 (H1N1株)

VBの抗インフルエンザウイルス活性について示しています。

インフルエンザウイルスH1N1株を、感受性細胞のMDCK細胞に感染させた直後にVBを添加し、その際のウイルスワンステップ増殖に対する抗ウイルス活性について結果を示しています。

100及び300  $\mu$ g/mLのそれぞれのVBの効果を、ウイルス感染力価であるTCID50で評価しました。

VBは濃度依存的にウイルス増殖を10の6乗から10の2乗にまで4桁99.99%抑制しました。



## BIACOREを用いた2分子間の親和性の解析 VBとウイルス構成タンパク質

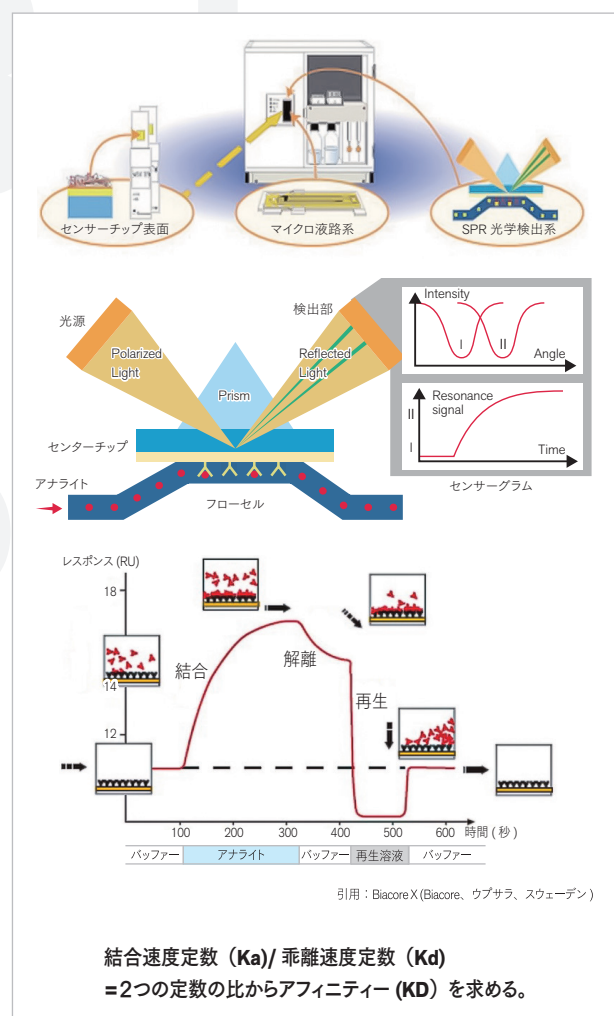
実際的に生のウイルスを用いた実証だけでは、限定されたウイルスだけしか評価出来ません。

そのため、二分子間の親和性解析によって、幅広いウイルスに対する抗ウイルス活性の可能性を検討しました。

二分子間の親和性、すなわち結合のしやすさを数値で示せる解析装置「BIACORE X」を用いて、アフィニティーアッセイを行いました。

今回の解析では、センサーチップ上に3種ウイルス構成タンパク質をLigandとして固定化しました。そのLigand表面を流れていくAnalyteとしてコントロール群とVBをマイクロ流路から流して相互作用を解析しました。

そして、結合速度定数と乖離速度定数を割った比からアフィニティー (K D値) を求めました。



## VB とウイルス構成タンパク質との親和性

エンベロープウイルスとしてインフルエンザA型のMatrix2タンパク質と、新型コロナウイルスのS1タンパク質、そしてノンエンベロープウイルスとして、ノロウイルスの表面タンパク質に対して、それぞれKD値を示しています。また、VBと比較するコントロールとして、抗インフルエンザ薬のアシクロビルを用いました。

表に示した通り、VBはそれぞれ10のマイナス9乗モルと高い親和性を示しました。VBの抗インフルエンザウイルス活性から考察すると、この実証からは、新型コロナウイルス、ノロウイルスへの抗ウイルス効果としても高い可能性があることが示唆されます。

また、アシクロビルについては結合はKD値を算出する事はできませんでしたが、これは細胞表面の受容体には結合をせず、感染細胞内に侵入をしてターミネーター作用をする為だと推測されます。

本実証において、ウイルス粒子の表面タンパク質に、VBは高い親和性を示す事が出来ました。そのため、VBは広域スペクトルを持った抗ウイルス素材として作用する可能性がある事が示唆されました。

Ligands	Analytes	KD(M)
Influenza A Virus Matrix 2 protein	VB	$3.6 \times 10^{-9}$
	Acyclovir	Not detected
SARS-CoV-2 S1 protein	VB	$8.1 \times 10^{-9}$
Norovirus G II.4 VP1 VLP s	VB	$6.4 \times 10^{-9}$

## 結論

VBは衛生品おしぼりに用いた実証研究により、高い抗菌活性を示しました。

VBはMRSA、セレウス菌を強く抑制しました。

VBはインフルエンザウイルス感染培養細胞系において極めて有効であることが実証されました。(最大99.99%の阻害)。

VBはBIACOREによる二分子間の親和性解析により、インフルエンザウイルス、SARS-CoV-2、ノロウイルスの表面タンパク質に対して高い親和性が示された。

よって、抗ウイルス性ポリオキシメタレート的生活環境への応用を目的として抗菌、抗ウイルス活性を検討した結果、高い適応性と汎用性を期待できる事が示唆された。

---

**[要約(英訳)]****Characteristics of anti-microbial polyoxometalates, VB2 and VB3**

○Katsuyuki Fujinami 1, Katsuaki Dan2, Toshiko Tanaka-Kagawa1, Ikuo Kawamura1 (1Yokohama Univ of Pharm, 2Research Organization of Biological Activity)

Polyoxometalates (PMs) are metal oxides that possess a 3-dimensional cluster structure and have excellent long-term stability. Several hundreds of PMs have been synthesized thus far, and numerous studies on their physiological activities demonstrated their structure – activity relationships. We have previously found that two PMs, VB2 and VB3, exhibited anti-viral and anti-bacterial activities, and that these PMs bound to viral particles, resulting in an interference of viral adsorption to the host cells. To provide an insight into characteristics of VB2 and VB3, in this study, we determined the anti-bacterial activity to *Bacillus cereus* and MRSA. We further measured a binding affinity of the PMs to major structural proteins of several viruses using BIACORE. Results showed that treatment with VB2 and VB3 significantly inhibited the growth of both *Bacillus cereus* and MRSA. We further found that VB2 was capable of binding to influenza A virus M2, norovirus GII.4 VP1 VLPs and SARS-CoV-2 S1 with a high affinity. It was likely that VB3 had the similar activity as VB2. These results indicate that the PMs may act as a wide spectrum of anti-bacterial agents and the anti-viral activity probably depends on the high affinity for the major structural proteins of these viruses.

LB  
VIRUS  
BLOCK