

●抗ウイルス加工剤「ノバロン® IV」 Antiviral processing agent 「NOVARON® IV」

飯田 恵、山田 喜直
Megumi Iida, Yoshinao Yamada

Keywords : Antivirus, Influenza virus, Feline Calicivirus, Inactivation, Inorganic material

1 はじめに

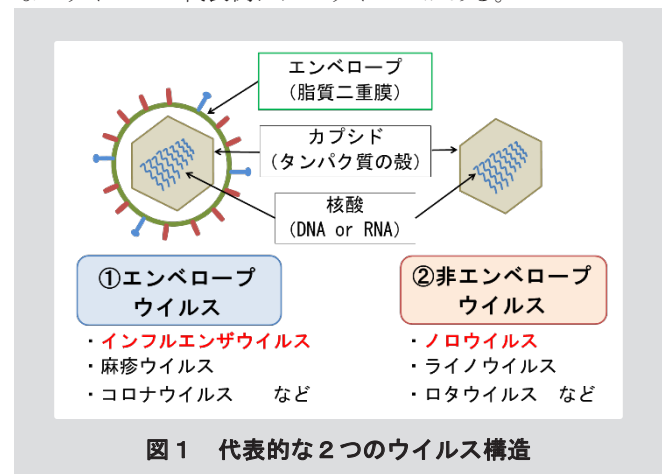
新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的流行は、人々の健康や経済へ多大なる影響を及ぼしている。我々はCOVID-19から身を守るため、マスクの着用や、3密（密閉・密集・密接）を回避する行動を必要とされているが、今後は、感染から身を守りつつも、ウイルスと共存しながら生活するウィズコロナの時代が到来するとも言われている。これらの背景から、人々の安全・安心な環境に対する意識はますます向上し、抗ウイルス加工製品への関心が集まっている。実際に、鉄道車両内装や公共施設、医療機関への抗菌・抗ウイルス加工の施工が広まりつつあり、抗ウイルス加工剤への需要はかつてないほどの高まりを見せている。また、一般社団法人繊維評価技術協議会（SEK）や一般社団法人抗菌製品技術協議会（SIAA）では抗ウイルス加工製品の認証マーク制度を設けている。これらの認証マーク制度は、ある一定の抗ウイルス効果（ウイルス数の減少）を発現し、かつ安全性のある製品に認証を付与するものであり、このマーク制度を利用した抗ウイルス加工製品も急速に増加している。

市場の抗ウイルス加工剤は従来の抗菌剤の転用が多く、安全性が高い無機系抗菌剤で抗ウイルス効果が高いものは少ない。無機系抗菌剤は金属系化合物が主流となっており、その有効成分である銀や銅などは、細菌の代謝を抑制することで抗菌性を発現すると言われている¹⁾。これらの抗菌性金属はウイルスを不活化する効果があることも知られているが²⁾、抗菌効果と抗ウイルス効果とに相関が必ずしもあるわけではない。生物と分類される定義は、“個体”であり、“増殖”、“進化”、“代謝”を行うことなどがあるが、ウイルスは“代謝”をしないことから生物の定義から外れている。抗菌性金属の作用機構が、細菌の代謝を抑制することであれば、代謝をしないウイルスに対しては効果に違いがでて不思議ではない。当社銀系抗菌剤ノバロンの既存グレードも抗ウイルス性を示すものの、その効果は低い。そこで、当社では抗菌剤に次ぐ次世代のアメニティ材料として、抗ウイルス性に特化した従来にない高性能な新規抗ウイルス加工剤「ノバロン

IV」を開発した。ここでは既に報告した³⁾「ノバロンIV1000」に併せ、新たに開発した「IV2000」および「IV3000」を紹介する。

2 ウイルスの種類

ウイルスはごく単純な構造をしており、基本的には核酸（DNAかRNA）とタンパク質からできている。構造的には一般的に大きく2種類に分類され、核酸よりなるコアとそれを取り囲むカプシド（カプソメアというタンパク質のサブユニットから成る）が、①エンベロープ（内側の膜タンパク質と外側のリポタンパク質複合体から成る）とよばれる膜に包まれているものと、②エンベロープを持たないものがある⁴⁾（図1）。①のエンベロープを持つウイルスの代表例にインフルエンザウイルスがあり、また、②のエンベロープを持たないウイルスの代表例にノロウイルスがある。



3 新規抗インフルエンザウイルス加工剤 「ノバロン® IV」の特長

「ノバロン® IV」は無機成分のみから成り、高い抗インフルエンザウイルス効果に加え、耐熱性があり、変色しにくいという長所を併せ持った安全性の高い新規抗ウイルス加工剤

東亜合成株式会社 R&D総合センター 製品研究所

New Products Research Laboratory, General Center of R&D, TOAGOSEI CO., LTD.

である。「ノバロン IV1000」はインフルエンザウイルスなどのエンベロープウイルスに対して高い抗ウイルス効果を発揮し、「ノバロン IV2000」はノロウイルスなどの非エンベロープウイルスに対して高い抗ウイルス効果を発揮する。「ノバロン IV3000」はエンベロープウイルスおよび非エンベロープウイルスの双方に高い抗ウイルス効果を発揮する（表1）。

表1 「ノバロン IV」の特徴

グレード	特長	外観	平均粒径 (μm)
IV1000	エンベロープウイルス向け	白色	1
IV2000	非エンベロープウイルス向け	白色	6
IV3000	エンベロープウイルス・非エンベロープウイルス双方向け	白色	5

3.1 「ノバロン IV1000」の物性値

「ノバロン IV1000」は外観が白色であるため、色調を重要視する製品へも外観を損なわず加工することができる（図2）。また、平均粒径約1μmの微粉末であり、無機成分のみから成るので耐熱性が高く、含有水分量は1wt%以下で、水や溶剤に不溶性であることから、様々な材質や形状の製品に対して加工が可能である（表2）。



図2 「ノバロン IV1000」

表2 ノバロン IV1000 の代表物性

項目	物性
外観	白色
平均粒径	1 μm
耐熱温度	600°C
水分量	< 1 wt%

3.2 抗ウイルス効果

3.2.1 「ノバロン IV1000」の抗ウイルス効果

まず、「ノバロン IV1000」の水分散液を用いて、エンベロープウイルスである A 型インフルエンザウイルス (ATCC VR-1679) に対する抗ウイルス性を評価した。試験方法は、ISO18184 を参考に図3に示す方法で実施した。「ノバロン

IV1000」水分散液 900μL にインフルエンザウイルス懸濁液 100μL を混合し、25°Cで2時間作用後、プラーク測定法で感染性を持つウイルス数（感染価）を測定した。「ノバロン IV1000」水分散液の対照として、リン酸緩衝液を用いて同様の手順で操作した。プラーク測定法はウイルスに感染した細胞が変性することを利用したウイルス量の測定方法である。単層培養した宿主細胞へ段階希釈したウイルス液を接種し、寒天培地を入れて培養後、形成したプラークを計数し、希釈倍率をかけてプラーク形成単位（PFU：Plaque Formation Unit）を算出するものである。

結果を図4に示す。「ノバロン IV1000」の 0.1wt%水分散液は、「ノバロン IV1000」を含まないリン酸緩衝液のみと比較してインフルエンザウイルスを 99.99%低減させており、「ノバロン IV1000」が高い抗ウイルス効果を有することがわかった。

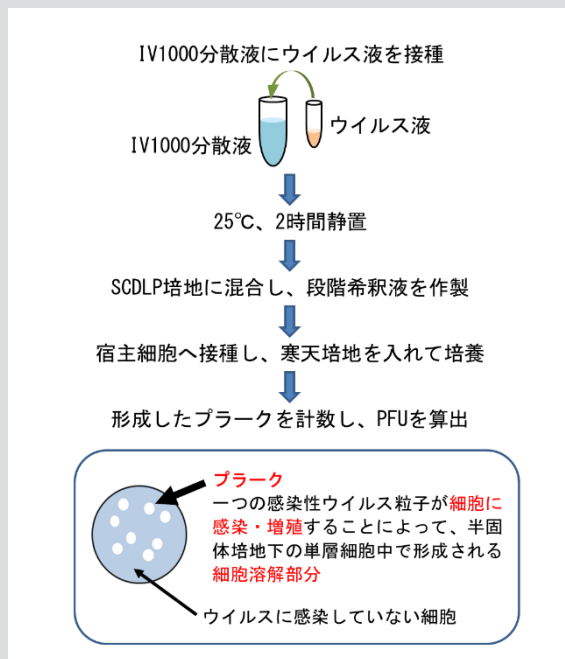


図3 抗ウイルス性試験方法

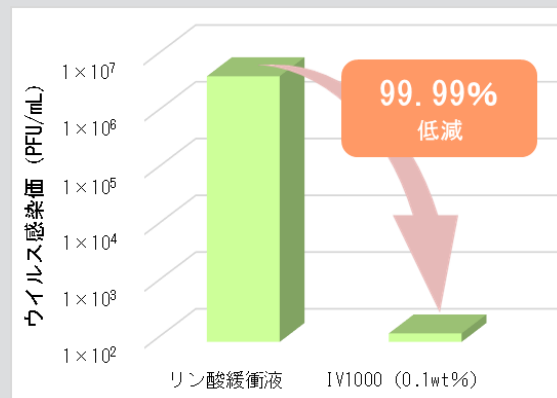


図4 「ノバロン IV1000」の抗ウイルス性

3. 2. 2 「ノバロン IV1000」加工布の抗ウイルス性と即効性

「ノバロン IV1000」を繊維へ加工し、繊維上のインフルエンザウイルス数の変化を評価した。「ノバロンIV1000」を樹脂バインダーと固形分比で1：1に配合し、ポリエステル織物に「ノバロン IV1000」が1.0 g/m² 付着するように浸漬加工後、120℃で乾燥することで、抗ウイルス加工布を作製した。この加工布に対して、JIS L 1922：繊維製品の抗ウイルス性試験方法に従って抗ウイルス性試験を実施した。本方法は、抗ウイルス加工品上に付着した感染性のあるウイルスの活性抑制効果を定量的に測定する試験方法である。2 cm×2 cm に切断した「ノバロン IV1000」加工布 0.4 g に1×10⁷～5×10⁷ PFU/mL のインフルエンザウイルス（H3N2）（ATCC VR-1679）懸濁液を0.2 mL 接種し、所定時間後のウイルス感染価をプラーク測定法で測定した。繊維上の試験ウイルスの安定性を確認するため、対照試料に標準綿布を用いて同様の手順により対照試験を行った。なお、JIS L 1922では抗ウイルス加工品とウイルス懸濁液との接触時間は2時間を基本としているが、「ノバロン IV1000」加工布の短時間における抗ウイルス性を確認するため、接触時間を3分とした試験も実施した。

結果を図5に示す。標準綿布上のウイルス懸濁液接触後2時間のウイルス感染価は10⁶であったのに対して、「ノバロン IV1000」加工布は10²まで低減しており、加工布上のウイルス感染価を99.99%低減させることがわかった。また、加工布とウイルス懸濁液との接触3分後には、既に2時間後と同程度のウイルス感染価となっており、「ノバロン IV1000」加工布は非常に短時間で抗ウイルス効果を発現していると言える。「ノバロン IV1000」の抗ウイルス効果には即効性があるため、人が手で触れる製品など即効性が求められる用途にも有効に適用できる可能性がある。

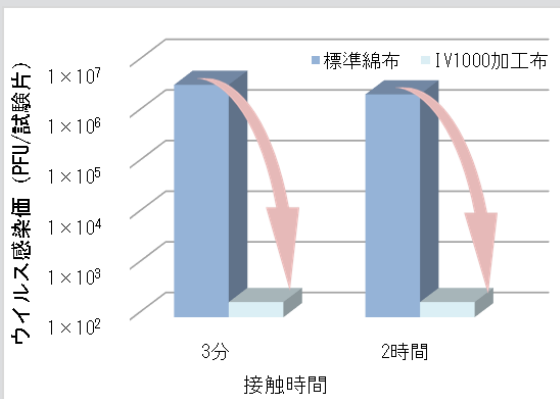


図5 「ノバロン IV1000」加工布の抗ウイルス性と即効性

3. 2. 3 「ノバロン IV2000」加工布の抗ウイルス性

次に、「ノバロン IV2000」を、3. 2. 2と同様の方法で3.0 g/m² 付着するようポリエステル織物に加工し、JIS L 1922 に従って加工布の抗ウイルス性を評価した。JIS L 1922 では非エンベロープウイルスの代表例であるノロウイルスの代替ウイルスとしてネコカリシウイルスを使用することとしており、本試験でもネコカリシウイルス（ATCC VR-782）を使用した。使用するウイルス株や宿主細胞、培地等以外の試験方法は、3. 2. 2で示した試験方法とほぼ同じである。

結果を図6に示す。ウイルス懸濁液との接触2時間後に、標準綿布上のウイルス感染価が10⁷であったのに対し、「ノバロン IV2000」加工布では10²となり、加工布上のウイルス感染価が99.99%以上低減した。「ノバロン IV2000」加工布は、非エンベロープウイルスであるネコカリシウイルスに対して、高い抗ウイルス効果を発揮することがわかった。

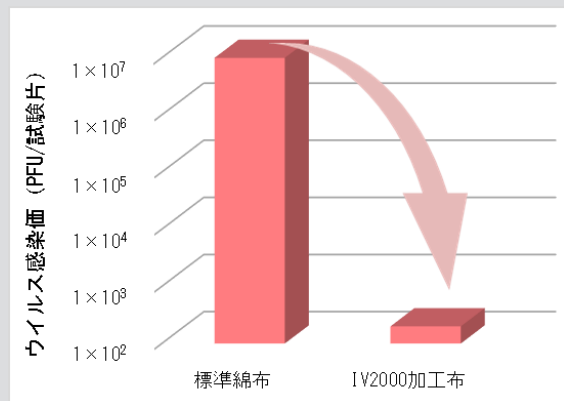


図6 「ノバロン IV2000」加工布の抗ウイルス性

3. 2. 4 「ノバロン IV3000」加工布の抗ウイルス性

次に、「ノバロン IV3000」加工布を用いて、インフルエンザウイルスとネコカリシウイルスの各々に対する抗ウイルス性試験をJIS L 1922に従って実施した。加工布は3. 2. 2と同様の方法で「ノバロン IV3000」が6.0 g/m² 付着するよう作製した。

結果を図7に示す。ウイルス懸濁液との接触2時間後に、標準綿布上のウイルス感染価が10⁶以上であったのに対し、「ノバロン IV3000」加工布では、インフルエンザウイルスは10²、ネコカリシウイルスは10³となり、加工布上のウイルス感染価がそれぞれ99.99%以上および99.97%低減した。上記の結果から、「ノバロン IV3000」加工布はインフルエンザウイルスおよびネコカリシウイルスの双方に対して高い抗ウイルス効果を発揮することがわかった。

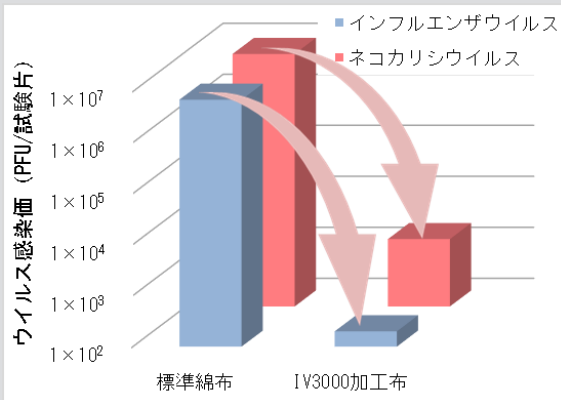


図7 「ノバロン IV3000」加工布の抗ウイルス性

3.3 「ノバロン IV1000」加工布の耐水性(洗濯耐久性)

一般社団法人繊維評価技術協議会の抗ウイルス性の認証基準は、式1で示す抗ウイルス活性値が3.0以上である。抗ウイルス活性値はJIS L 1922で抗ウイルス性試験を実施し、標準布の試験ウイルス懸濁液接種直後の3検体の感染価常用対数の平均値と抗ウイルス加工布の2時間作用後の3検体の感染価常用対数の平均値の差で計算する。活性値3.0はウイルス減少率99.9%を意味し、活性値の数値が大きいほど効果が高い。なお、製品用途に合わせて1～10回の洗濯処理を施した後に抗ウイルス性試験を実施し、洗濯耐久性を確認する必要がある。

抗ウイルス活性値： $Mv = \text{Log}(Va) - \text{Log}(Vb) \dots (式1)$

Log(Va):標準布の試験ウイルス懸濁液接種直後の3検体の感染価常用対数の平均値

Log(Vb):抗ウイルス加工布の2時間作用後の3検体の感染価常用対数の平均値

「ノバロン IV1000」を1.0 g/m²付着するように加工布を作製し、「SEK マーク繊維製品の洗濯方法」に従って洗濯処理を10回行い、洗濯前後の加工布の抗インフルエンザウイルス性を評価した。結果を図8に示す。標準綿布のウイルス懸濁液接種直後のウイルス感染価は洗濯前と洗濯後ともに10⁶であったのに対し、「ノバロン IV1000」加工布の2時間作用後のウイルス感染価は洗濯前で10²、洗濯10回後では10³に低減した(それぞれ99.99%、99.96%減少)。これらのウイルス感染価から抗ウイルス活性値を算出した結果、洗濯前で活性値4.4、洗濯10回後でも活性値3.4となり、SEK抗ウイルスマーク認証基準の3.0以上を満たす。図8で示した感染価を活性値で表したものを図9に示す。「ノバロン IV1000」加工布は高い抗ウイルス効果に加え、洗濯耐久性も備えていることが確認でき、水に触れるものや、洗濯が必要な用途への展開も可能である。

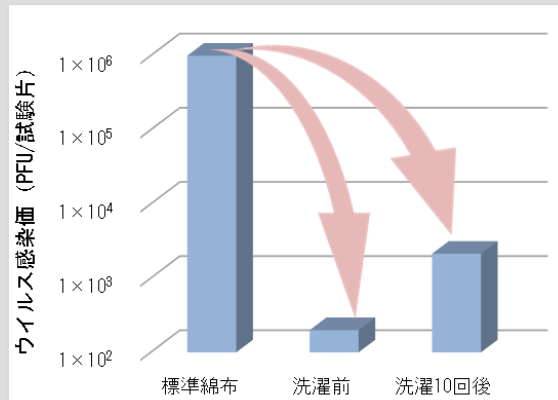


図8 「ノバロン IV1000」加工布の洗濯耐久性(感染価)

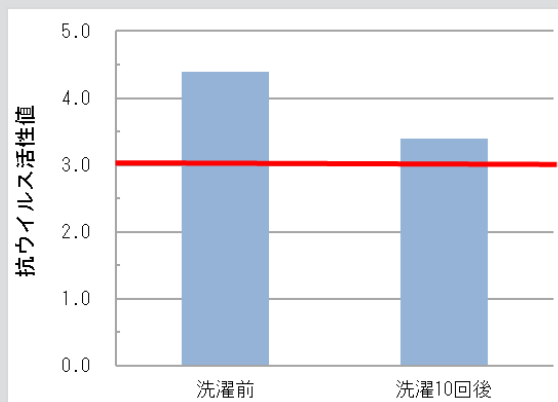


図9 「ノバロン IV1000」加工布の洗濯耐久性(活性値)

3.4 安全性

「ノバロン IV1000」の安全性データを表3に示す。急性経口毒性、皮膚一次刺激性、皮膚感作性、変異原性(Ames試験)のいずれの試験項目に対しても高い安全性を示す。

表3 「ノバロン IV1000」の安全性

試験項目	結果
急性経口毒性	LD50>2000 mg/kg
皮膚一次刺激性	P. I. I.=0(無刺激性)
皮膚感作性	陰性
変異原性(Ames試験)	陰性

4 抗ウイルス作用メカニズム

一般に、インフルエンザウイルスのヒト細胞への感染は、ウイルスの外膜に存在するヘマグルチニン(HA)タンパク質が、細胞表面のシアロ糖鎖を認識して引き起こされる(図10⁵⁾)。このウイルスが持つHAの機能を阻害すれば抗ウイルス効果を発現することになる。そこで「ノバロン IV1000」の抗ウイルス作用メカニズムを解明するために、「ノバロン

IV1000」がインフルエンザウイルスの HA 活性を阻害するかどうかを調べた。具体的には、ウイルスにはインフルエンザウイルス A/Hong Kong/1/1968 (H3N2)を用い、赤血球凝集試験により HA 活性阻害の有無を確認した。試験は静岡県立大学大学院薬学研究生化学教室で実施した。その結果、「ノバロン IV1000」は HA 活性阻害効果が高いことが判明した。このことから、「ノバロン IV1000」の抗インフルエンザウイルス作用メカニズムは、HA 活性が阻害されることによる細胞へのウイルスの感染阻害であるとわかった。「ノバロン IV2000」や「ノバロン IV3000」に関しては、実験的な検証はしていないものの、ウイルスのもつタンパク質の不活化により、細胞への感染を阻害すると推測している。

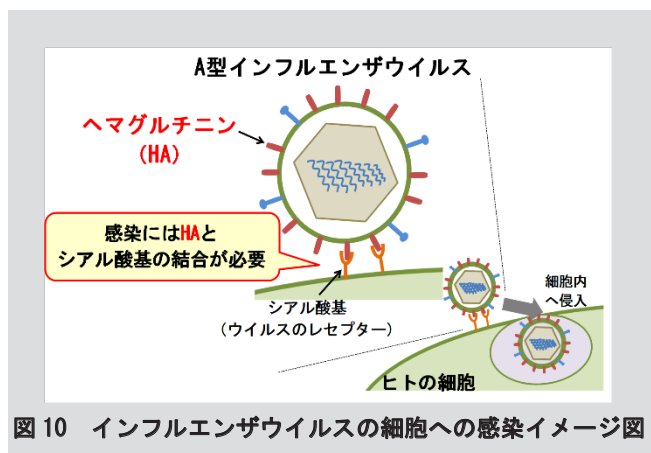


図10 インフルエンザウイルスの細胞への感染イメージ図

5 他のウイルスに対する抗ウイルス効果

「ノバロン IV1000」の有効成分の一部を用いてコロナウイルスに対する抗ウイルス性を評価した。ただし、コロナウイルスはネコ腸コロナウイルス (WSN 79-1683) を使用した (試験機関：一般財団法人北里環境科学センター⁶⁾)。本試験は 1.8×10^6 TCID₅₀/mL のウイルス懸濁液 5 mL に 1 w/v% になるよう「ノバロン IV1000」の有効成分の一部を加えて懸濁した後、25℃で2時間作用させ、作用後のウイルス感染価を TCID₅₀ 法により測定した。対照試験は、ウイルス懸濁液のみを用いて同様の手順で操作した。その結果、図11に示すようにウイルス懸濁液のみの2時間後の感染価は 1.3×10^6 TCID₅₀/mL であったのに対し、「ノバロン IV1000」の有効成分の一部を作用させると、感染価は 2.8×10^2 TCID₅₀/mL となり、ウイルス懸濁液のみに比較して感染価が 99.97% 低減した。

また、同様の方法で「ノバロン IV1000」を用いて麻疹ウイルス (ATCC VR-24) に対する抗ウイルス性を評価した (試験機関：一般財団法人北里環境科学センター⁷⁾)。その結果、ウイルス懸濁液のみでは感染価 9.8×10^5 TCID₅₀/mL が2時間後に 1.3×10^5 TCID₅₀/mL になったのに対し、「ノ

バロン IV1000」を添加した場合は、2時間後に 1.3×10^1 TCID₅₀/mL 未満 (検出限界値未満) となった。ウイルス懸濁液のみに比較して、「ノバロン IV1000」添加ではウイルス感染価が 99.99% 以上低減し、高い抗ウイルス効果を示した (図12)。

上記の結果から、「ノバロン IV1000」はインフルエンザウイルスのみならず、他のエンベロープウイルスにも有効であることを確認した。

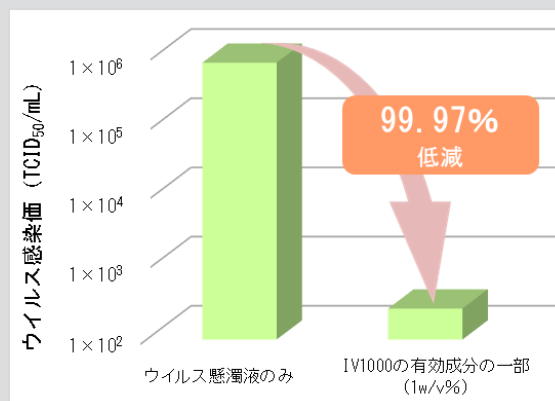


図11 ネコ腸コロナウイルスに対する抗ウイルス性

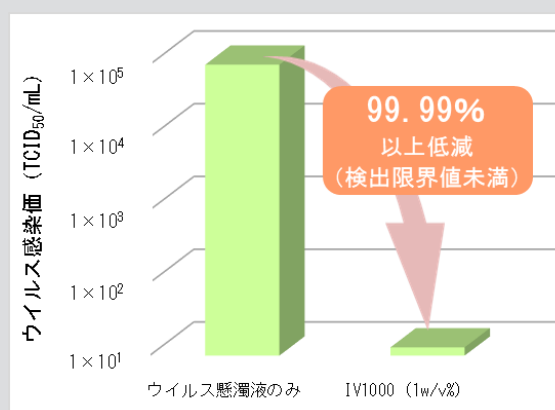


図12 麻疹ウイルスに対する抗ウイルス性

6 用途例

「ノバロン IV1000」の加工用途は、空気清浄機等のフィルター類、カーペットやマットなどの室内用品、カーシートやカーマットなどの車内用品、シーツ、枕や布団綿などの寝具類、マスク、帽子、衣類などの繊維製品、壁材や床材などの住宅建材製品、ビニル袋、ビニル手袋、液晶保護フィルム、リモコンカバーなどの日用雑貨など、各種多様である。「ノバロン IV2000」は非エンベロープウイルスに効果があるため、「ノバロン IV1000」の用途例に加え、ウイルス感染者の吐しゃ物を覆うシートや、汚物処理時に使用する手袋、ガウ

ンなどの個人防護具、ゴミ袋、清掃用具にも適している。

「ノバロン IV3000」はエンベロープウイルスと非エンベロープウイルス双方に対する抗ウイルス効果を有するため、対象ウイルスが広がり、上述の両用途への応用が可能である。

7 おわりに

前述のように、着色性、耐熱性、加工性、安全性の面で優れ、さらに、即効性、耐水性を備えたエンベロープウイルスに高い効果を有する抗ウイルス加工剤「ノバロン IV1000」に加え、新たに非エンベロープウイルスに高い効果を有する「ノバロン IV2000」および双方のウイルスに効果を有する「ノバロン IV3000」を開発した。現在、前述用途例に示した各業界から多くの引き合いを頂いている。今後、より多くのエンドユーザーに利用して頂き、少しでも多くの人々に快適な生活空間を提供する手助けができるよう、さらなる開発を進めていく。

引用文献

- 1) 内田眞志, 山本達雄, 谷口明男, 中田真一, 中川善兵衛, “防菌防黴”, (2003)pp. 695~704.
- 2) 白井淳資, “海外悪性伝染病の新たな感染識別技術及び感染・発病制御技術の開発”, 農業・食品産業技術総合研究機構研究活動報告, (2007)pp. 22~31.
- 3) 山田喜直, 東亜合成研究年報, **22**, 6 (2019)
- 4) M. T. Madigan, J. M. Martinko, J. Parler, “Brock 微生物”, オーム社(2003) pp. 240~244.
- 5) 東匡, 小熊恵二, “シンプル微生物学”, 改訂第2版, 南江堂(1996)pp. 272~275.
- 6) 一般財団法人 北里環境科学センター, “試験報告書 抗ウイルス試験 北環発 2019_0525 号”, (2020) pp. 1~6.
- 7) 一般財団法人 北里環境科学センター, “試験報告書 抗ウイルス試験 北環発 2019_0283 号”, (2019) pp. 1~6.