

所属長	所属科長	事務(局/部)長
		

令和3年 4月 1日

理事長 殿

学 長 殿



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

標記の件に関しまして、別紙のとおり報告いたします。

また、本研究報告の内容は、近畿大学学術情報リポジトリ (KURepo) に公開する旨、承諾いたします。

1. カテゴリー	<input type="checkbox"/> 研究 <input type="checkbox"/> 開発・改良 <input checked="" type="checkbox"/> 提案
2. 企画題目	Ribosome inactivate protein を豊富に含む野菜のウイルス感染予防への利用

研究代表者

所 属： 農学部・農業生産科学科

職・氏名： 細川宗孝



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

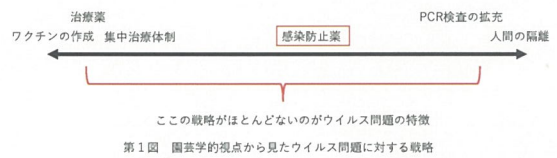
企画題目	Ribosome inactivate protein を豊富に含む野菜のウイルス感染予防 への利用
研究者所属・氏名	研究代表者：細川宗孝 共同研究者：なし

1. 研究、開発・改良、提案目的・内容

Ribosome inactivate protein を含むヒユ科の食用作物を加工し、多くのヒトが摂取することにより、新型コロナウイルスに対する防除が可能であると考えます。そこで、本目的に合致したヒユ科野菜を探索し、加工方法などについて検討を行う。

2. 研究、開発・改良、提案経過及び成果

2021年に入り、我が国でも新型コロナウイルスのワクチン接種が始まる見込みである。一方で、変異型の出現の報告もある。多くの経済活動に規制をかけながらコロナと共存するのも限界があるだろう。アルコール消毒は体内に入るまでのウイルスの非感染化には効果を持つが、体内に侵入して感染するまでのウイルスには用いることは出来ない。そこで、我々農学部ができることとして（第1図）、強いウイルス感染抑制効果を持つ ribosome inactivate protein を含む野菜を利用した集団感染予防作戦を提案したい。



報告者はヒユ科の野菜が持つウイルス感染抑制効果に注目し、研究を行ってきた。なお、以下の報告においてはウイルスとは植物ウイルスであり、宿主は植物である。新型コロナウイルスを実験に用いることは我々には出来ないが、植物ウイルスはエンベロープを持たないことから、動物ウイルスよりも非感染化は難しく、本結果を用いて動物ウイルスのヒトへの感染予防を考えることは可能であると考えます。

ヒユ科、オシロイバナ科の植物の葉の抽出液は予想通り、強いウイルス感染抑制効果を示した（第1表）。*Mirabilis expansa* は熱帯では *Mauka* と呼ばれる野菜として一般に食用とされており、毒性の弱い RIP を含んでいる。本野菜の葉の抽出液（100mg 生体重/mL PBS）の濃度を 1/32 まで希釈してもウイルスの感染予防が可能であった（第2表）。ただし、文献レベルの調査においては本野菜の食経験のある地域においてはイモを加熱して食しており、生での食経験は論文上は見当たらない。本野菜の葉の抽出液を 95℃で加熱したところ、ウイルス感染抑制効果は失われた（データ略）。そこで、本作戦を実行する上では、生で食することが可能な野菜を用いなければならない。

そこで、サラダとしても食されるハウレンソウ (*Spinacia*) を用いて同様の実験を行った（第1表）。*Mirabilis* と比較してその効果は弱いものの、用いた生食用野菜の中では最も高い効果が認められた（データ略）。なお、ハウレンソウの凍結乾燥パウダーにも高い効果が認められた（次ページ、第3表）。

第1表 *Mirabilis expansa*, *Bougainvillea* spp. および *Spinacia oleracea* の抗ウイルス活性 (20201124)

植物種	希釈率 ^z	接種個体数 ^y	感染個体数	感染率(%) ^x
<i>Mirabilis</i>	1/2	5	0	0
	1/10	5	0	0
<i>Bougainvillea</i>	1/2	5	0	0
	1/10	5	0	0
<i>Spinacia</i>	1/2	5	0	0
	1/10	5	2	40
Negative	-	5	0	0
Positive	-	5	5	100

ウイルスはPMMoV I4を *Nicotiana benthamiana* に接種し、1か月後に濃度がプラトーになったものを使用した。400mgの乾燥葉を8mLのPBS-Tバッファー(pH7.4)で抽出し、さらに同バッファーで650倍に希釈したものを接種に用いた。植物の葉は100mg新鮮重の成葉を1mLのPBS-Tで抽出し、遠心分離した上澄みを用いた。
^x 希釈率は最終希釈率である。すなわち、当量の葉の抽出液と混ぜて接種した場合、ウイルス液は最終的に1/1250倍、葉の抽出液は1/2倍となる。
^y 5個体の *Nicotiana benthamiana* (葉が5枚程度ついた栄養成長段階のもの) を用いた。接種は20℃、蛍光灯のもとで行った。接種25日後に病徴から感染の有無を評価。

第2表 *Mirabilis expansa* 凍結乾燥葉の抗ウイルス活性 (20210119)

植物種	希釈率 ^z	接種個体数 ^y	感染個体数	感染率(%) ^x
<i>Mirabilis</i>	1/2	10	1	10
	1/8	10	0	0
	1/32	10	1	10
	1/128	10	6	60
	1/512	10	10	100
1/2048	10	10	100	
Negative	-	10	0	0
Positive	-	10	10	100

ウイルスはPMMoV I4を *Nicotiana benthamiana* に接種し、1か月後に濃度がプラトーになったものを使用した。400mgの乾燥葉を8mLのPBS-Tバッファー(pH7.4)で抽出し、さらに同バッファーで650倍に希釈したものを接種に用いた。植物の葉は100mg新鮮重の成葉を1mLのPBS-Tで抽出し、遠心分離した上澄みを用いた。
^x 希釈率は最終希釈率である。すなわち、当量の葉の抽出液と混ぜて接種した場合、ウイルス液は最終的に1/1250倍、葉の抽出液は1/2倍となる。
^y 10個体の *Nicotiana benthamiana* (葉が5枚程度ついた栄養成長段階のもの) を用いた。接種は20℃、蛍光灯のもとで行った。接種25日後に病徴から感染の有無を評価。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・改良、提案計画

本研究では3種類の異なる植物ウイルスを用いて、ホウレンソウの抽出液によるウイルス感染予防効果を明らかにし、乾燥パウダーを用いても効果を持つことが示された。すなわち、ホウレンソウの加工品を作成することが可能であることを示している。

報告者が提案したいのは、ホウレンソウパウダーを大量に作出し、近畿大学の教職員・学生に配布する“近畿大学ポパイプロジェクト”である。現在重要なのは集团的視点によるウイルス濃度の低減化であると考え。社会全体のウイルス濃度をいかに下げると言った視点が重要なのであり、そのためには普段食している野菜などを利用するのが有効であろう。安全で健康機能性の高いホウレンソウパウダーを用いて、実証することも近畿大学のような発信力のある大学であるからこそ担うべき社会的役割ではないかと考える。

第3表 Spinacia oleracea の凍結乾燥パウダーによる抗ウイルス活性 (CMV) (20210317)

植物種	ウイルス濃度	ホウレンソウ希釈率 ^z	接種個体数 ^y	感染個体数	感染率(%) ^x
Spinacia	1/50	1/2	10	0	0.0
	1/250	1/2	10	0	0.0
	1/1250	1/2	10	0	0.0
Cont	1/50	-	10	8	100.0
	1/250	-	10	4	40.0
	1/1250	-	10	1	10.0
Negative	-	-	10	0	0

ウイルスはCMVの乾燥葉を用いた。Nicotiana benthamianaに接種し、1か月後に濃度がプラトーになったものを使用した。20mgの乾燥葉を400μLのPBS-Tバッファー(pH7.4)で抽出し、さらに同バッファーで1/25, 1/125, 1/625に希釈したものを作成し、対照区、ホウレンソウ区それぞれ等量の溶液をまぜることで、ウイルス濃度を最終的に1/50, 1/250, 1/1250にして接種に用いた。植物の葉は100mg新鮮重の成葉を1mLのPBS-Tで抽出し、遠心分離した上澄みを用いた。ホウレンソウパウダーは20mg/mLで遠心上澄みをもちいた。
^z: 希釈率は最終希釈率である。すなわち、当量の葉の抽出液と混ぜて接種した場合、ウイルス液は最終的に1/1250倍、葉の抽出液は1/2倍となる。
^y: 10個体のNicotiana benthamiana (葉が5枚程度ついた栄養成長段階のもの)を用いた。接種は20℃、蛍光灯のもとで行った。接種15日後に病徴から感染の有無を評価。
^x: 感染率=(感染個体数/接種個体数)×100

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)

5. 開発・改良、提案課題の成果発表等

2021年度、園芸学会にて論文成果発表 (執筆中) および学術研究報告を行う予定である。