

# 研究概要集2023 目次 【研究開発部】

## ライフサイエンス評価法開発研究 「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト

◆ 総括	128
◆ 新型コロナウイルスを用いた新規性能評価サービスの提供	131
◆ 再生・細胞医療に関わる評価方法構築に向けた検討	134
◆ 人工がん幹細胞を用いた食品機能性評価	137
◆ モリブデン酸化物材料の抗ウイルス活性	141
◆ 抗かび性能評価試験サービスの提供に向けた取り組み	144
◆ 業績	147

# 次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト

プロジェクトリーダー 石黒 斉

## 【基本構想】

本プロジェクトは国際評価技術センター機能を更に充実させることを目的に、光触媒グループ抗菌・抗ウイルス研究グループと食品機能性評価グループを再編し、「感染症」、「未病」に関する評価サービスの提供、拡充及び研究開発をより強く進めていくことを目的として、2022年より活動を開始したプロジェクトである。「感染症」に関しては、抗菌分野(JIS Z 2801)のISO 17025を取得しており、高い品質を維持した抗菌・抗ウイルス性能評価サービスの提供及び各種団体の認証マーク取得に向けた性能評価サービスの提供等、多くの企業をサポートできるような体制で取り組んでいる。更に、規格試験では対応できない抗菌・抗ウイルス性能評価試験や新規材料の研究開発に取り組むなど、多岐にわたる活動を通じて、性能評価サービスの提供と研究開発を進めている。「未病」については、食品の機能性評価サービスとして、遺伝子発現を中心とした評価系の提供と共に新しい評価系の研究開発を進めている。また、従来の評価サービスの提供や研究開発に加えて、新しい評価系技術の構築への取り組みとして、「再生・細胞医療」に関して、細胞の特性を理解し、品質を評価するサービスの提供に向けた取り組みを開始している。

## 1. 2022年度の研究目的

本プロジェクトでは、従来より提供している性能評価サービスである抗菌・抗ウイルス性能評価試験、食品機能性評価試験に加えて、新しい性能評価試験方法の確立とサービス提供に向けて、取り組みを行っている。2022年度は、性能評価試験サービスの提供に加えて、以下のテーマについて注力し、取り組みを行ってきた。

### (1) 新型コロナウイルスを用いた性能評価試験サービスの拡充に向けた取り組み

新型コロナウイルス、SARS-CoV-2の感染拡大に伴い、各種抗ウイルス加工品による感染リスクを低減させることが非常に重要な課題となっている。そのため、国内外にて医薬品、消毒剤を含めた数多くの材料、製品の研究開発が行われている。これらの研究開発を行う中で、標的とするウイルスを対象とした抗ウイルス性能評価を行うことが必要とされているが、SARS-CoV-2の取り扱いがバイオセーフティレベル3(BSL3)での対応が必要であるため、SARS-CoV-2に対する抗ウイルス性能評価試験を用いた製品開発や既存製品の抗SARS-CoV-2性能を評価することが困難な状況であった。そこで、我々は2021年度にBSL3に対応する設備を整備し、対象となる抗ウイルス加工製品を平板、繊維と限定した中で、SARS-CoV-2に対する抗ウイルス性能評価試験サービスの提供を開始した。一方、抗ウイルス加工品は様々な製品があり、特に液体や紫外線を利用した抗ウイルス加工品の開発に取り組む企業より、SARS-CoV-2に対する評価の要望が高く上がっていた。そこで、本検討では、液体や紫外線照射装置による抗SARS-CoV-2性能評価方法

の検討を行い、新規性能評価方法のサービス提供に向けて取り組んだ。

### (2) 光触媒材料による抗かび性能評価試験サービスの提供に向けた取り組み

我々は光触媒を中心に様々な抗菌・抗ウイルス加工製品の評価試験サービスを提供しているが、抗かび性能評価試験に関しては、未整備であったため、抗かび性能評価試験サービス開始に向けて取り組みを行った。

### (3) 人工がん幹細胞を対象とした食品成分の機能性評価試験方法の開発

日本未病学会によると「自覚症状はないが検査では異常がある状態」と「自覚症状はあるが検査では異常がない状態」とを合わせたものを未病としている。我々はこの未病を改善して、健康な生活を過ごすために、食品に含まれる各種成分が重要と考えている。そこで、食品や食品成分の摂取が未病改善に対して、どのように機能しているか体内の遺伝子発現の変動を中心に解析を行ってきた。また、これらの評価方法を食品の新たな機能性の付与を探索する企業や研究機関に向けたサービスとして展開してきた。今年度は、がん細胞となる可能性を持つがん幹細胞の存在を未病状態として捉え、食品成分が、がん幹細胞に対してどのような機能を持つか横浜市立大学と共同研究を行い、検討した。

### (4) 再生・細胞医療に関わる評価方法構築に向けた検討

再生・細胞医療で用いられる可能性がある細胞として、ES細胞、iPS細胞やヒト間葉系幹細胞(MSC)が挙げ

られる。また、すでに一部の細胞については、医療現場で使用が開始されているものもある。中でも、MSCは取り扱いが容易であり、造腫瘍性が他の細胞と比較して少ないことから、その利用が増加している。一方で、MSCはヘテロな細胞集団であり、それにより品質のばらつきにつながっている。そのため、ヘテロな細胞集団の詳細な解析を行うことで、その品質特性を理解することが再生・細胞医療製品等の品質管理に重要である。本検討では、国立医薬品食品衛生研究所、国立成育医療研究センター、横浜市立大学、理化学研究所等と共同研究を行い、MSCの品質特性の理解と品質の改善に向けて研究に取り組んだ。

### (5) 新規抗ウイルス材料の探索と機能解析

これまでに、抗ウイルス活性を持つ材料の探索を行ってきた中で、 $\text{MoO}_3$ が高い抗ウイルス活性を持つことを明らかとしてきた。また、可視光に応答する材料としてモリブデン酸化物と酸化チタン光触媒を組み合わせた  $\text{Mo/TiO}_2$ についても抗ウイルス活性を評価しており、どちらについても、SARS-CoV-2に対しても抗ウイルス効果があることを明らかとしている。

本研究では、 $\text{MoO}_3$ 及び  $\text{Mo/TiO}_2$ の抗ウイルス活性をさらに高めながら、実用化に向けた開発に取り組んだ。その方法として、凹凸の構造を導入による表面積を増やすこと及びウイルスの吸着を高めることを目的として $\text{MoO}_3$ にインフルエンザウイルスの受容体として知られているシアル酸を組み合わせた材料を作製し、インフルエンザウイルスが効率的に不活化する材料の作製を試みた。

## 2. 2022年度の研究成果

### (1) 新型コロナウイルスを用いた性能評価試験サービスの拡充に向けた取り組み

紫外線照射装置を用いた抗ウイルス性能評価試験方法の検討として、試験片に抗ウイルス加工がされていないフィルムを用い、その上にウイルス液を接種後、従来の抗ウイルス性能評価試験方法と同様にフィルムをかぶせた条件(水含有条件)及び接種後にウイルス液を乾燥させる条件(乾燥条件)の、2種類の条件で SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス効果を確認した。その結果、紫外線を照射することにより、どちらの条件下においても、抗ウイルス効果の評価できることを確認することができた。特に、乾燥条件下における試験は実環境に近い条件下の試験方法と考えることができるため、製品開発に向けて非常に有効な性能評価試験方法といえる。

液体サンプルを用いた抗ウイルス性能評価試験方法に関しては、数種類の抗ウイルス液剤を用いて、ASTM E 1052 に準拠した方法により、評価系の構築を試みた。各種液体サンプルとウイルス液を混合し、一定時間経過後のウイルス感染価を確認したところ、用いた液体サンプルすべてで抗ウイルス効果を確認することができた。また、経時的な抗ウイルス効果についても検討し、正確な抗ウイルス効果を確認する評価系を立ち上げることがで

きた。

これらの成果から、新たに紫外線照射装置及び液体サンプルに対する抗 SARS-CoV-2 性能評価試験サービスを提供することが可能となった。

### (2) 光触媒材料による抗かび性能評価試験サービスの提供に向けた取り組み

試験は紫外光応答形光触媒材料による抗かび性能評価試験方法である JIS R 1705 に沿って進めた。*Aspergillus niger* (NBRC 105649、クロコウジカビ)及び *Penicillium pinophilum* (NBRC 6345、アオカビ)を培養、増殖させてから試験液を調整した。これらを紫外光応答形光触媒サンプルに接種し、その抗かび性能を評価した。その結果、いずれのかびに対しても、有効な抗かび性能を認めることができた。また、その効果は *Aspergillus niger* が *Penicillium pinophilum* と比較すると低い傾向が認められたが、これは JIS R 1705 の記載に一致するものであった。また、繰り返し試験においても、十分な再現性を確認することが出来た。今後は、他の抗かび性能評価試験規格である JIS L 1921 や JIS Z 2811 についても、整備を進めていく予定である。

### (3) 人工がん幹細胞を対象とした食品成分の機能性評価試験方法の開発

検討で用いた人工がん幹細胞は横浜市立大学で樹立された induced cancer stem cell-like 10A (iCSSL-10A)を用いた。また、横浜市立大学では、すでにドラッグスクリーニング評価系を確立しており、その手法を用いて検討を行った。機能を評価する食品成分として、5種類の食品成分を選定し、それらを細胞に作用させることで、細胞生存率、未分化性能、自己複製能に対する評価を行った。その結果、4種類の食品成分により細胞の生存率が低下することが明らかとなった。未分化性能に関しては、用いた5種類の食品成分すべてで未分化性能抑制効果が得られた。また、2種類の食品成分では自己複製能が低下することも明らかとした。これらの結果から、食品成分の機能性評価として、人工がん幹細胞を利用したスクリーニング系が有用であると考えられた。今後、さらに作用機構の解明やマーカー分子の探索を行いながら、食品成分の機能性を明らかとするとともに、新しい評価試験方法の確立を目指して取り組む予定である。

### (4) 再生・細胞医療に関わる評価方法構築に向けた検討

始めに、ヒト MSC を虚血条件下及び通常の培養条件下で培養し、その機能について検討を行った。その結果、血管内皮増殖因子である VEGF の産生が増加していることが明らかとなった。このことから、MSCによる血管新生や組織修復に VEGF の分泌が重要であると考えられた。更に、MSCはヘテロな細胞集団であることから、シングルセル解析を用いて細胞集団を分類し、複数のクラスターで構成されたヘテロな細胞集団であることを明らかとした。また、VEGF の産生と相関を持つ細胞集団

の存在を明らかとし、その細胞集団に特徴的な遺伝子群の同定に成功した。本検討により、再生医療に用いられる細胞の品質特性の指標を探索する新しい方法となりうることを明らかとした。更に、本手法は細胞加工製品の品質管理にも応用できることが示唆されている。

#### (5) 新規抗ウイルス材料の探索と機能解析

抗ウイルス試験方法として、JIS R 1756 及び ISO 21702 を参考にしながら、バクテリオファージを対象に検討を行った。初めに、新規抗ウイルス材料として、 $\text{MoO}_3$  をコーティングした表面を凹凸の構造にしたサンプルについて、検討を行った。その結果、凹凸の構造を持つサンプルは平滑なサンプルと比較すると、高い抗ウイルス効果が得られる傾向があった。これは表面積の増加による抗ウイルス効果の増加によるものと考えられる。

また、 $\text{MoO}_3$  とシアル酸を組み合わせた材料による抗ウイルス性能を評価した結果、エンベロープを持たないバクテリオファージでは、シアル酸の有無による抗ウイルス効果に違いは認められなかったが、エンベロープを持つバクテリオファージに対しては、シアル酸を組み合わせることで、より高い抗ウイルス効果が得られることを確認し、効率よい抗ウイルス効果が得られる可能性について明らかとした。その他にも多くの新しい新規抗菌・抗ウイルス材料について、検討を続けており、今後、有用な材料を開発できると期待している。

以上のように、我々は抗菌・抗ウイルス性能評価、食品成分の機能性評価の提供を軸にしながら、新しい評価方法の開発と基礎研究を通じた新規機能性材料の開発に向けた取り組みを行っている。今後も、様々な企業や研究機関の研究開発を推進する支援を引き続き行っていくとともに、新規機能材料の探索と機能解析を進めていき、基礎研究と実用化の2輪を回していく予定としている。更に、再生・細胞医療の分野について、殿町・羽田地区を中心とした再生・細胞医療の品質管理や評価方法を整備し、新しいサービスを提供できるように取り組んでいく予定である。

# 新型コロナウイルスを用いた新規性能評価サービスの提供

次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト

永井 武

## 1. はじめに

2019 年末に中国の武漢で、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) による感染事例が報告され、その後、瞬く間に世界中に拡散された。そして、2020 年 3 月 11 日、WHO が世界的な流行であるパンデミック宣言を出すに至った。日本でも、感染が拡大し、2020 年 4 月 7 日に一回目の緊急事態宣言が出された。2021 年から 2023 年度末にかけては、第 4 波から第 8 波に見舞われた。一方、2023 年 5 月には、新型コロナウイルス感染症が感染症法での 5 類感染症となり、以前のように SARS-CoV-2 の感染状況を把握することが困難となった。しかし、新型コロナウイルス感染症が減少したということではなく、また、大幅に弱毒化したということではないため、今後のウイズコロナの生活においても、抗菌抗ウイルス製品は、欠かすことのできない製品となっている。一方、抗菌抗ウイルス製品の市場が急拡大しており、新たな製品が次々と市場に上っている。しかし、市販の抗菌・抗ウイルス製品の多くは、「雑品」として販売されており、医薬品医療機器等法の適用範囲外である。そのため、中には抗ウイルス効果の低い、もしくは疑わしい製品も販売されており、しばしば優良誤認の案件として問題となっている。そこで、抗ウイルス効果を謳う製品について、適切に性能評価を行える第 3 者試験機関の重要性が高まりつつある。

我々は 2016 年より、平板、繊維、光触媒及び液体などの様々な素材の試験品についてインフルエンザウイルス及びネコカリシウイルスを用いた抗ウイルス性能評価サービスを開始し、同時に新しい性能評価試験法の開発を行ってきた。また、新型コロナウイルスの感染拡大に伴い、バイオセーフティーレベル(BSL)3 の実験室を整備し、2021 年度より SARS-CoV-2 を用いた抗ウイルス性能評価サービスをいち早く開始した。性能評価サービスの対象は、光触媒製品を含む平板及び繊維製品としていたが、これら以外の製品、例えば紫外線ランプや液体などを用いた評価の要望も多くあった。そこで、これらの製品について、SARS-CoV-2 を用いた抗ウイルス性能評価を正しくかつ安全に行う方法について検討した。その結果、紫外線照射装置及び液体を対象とした新規性能評価サービスを開始することができたので、下記の通り報告する。なお、SARS-CoV-2 を用いた検討は、全て BSL3 実験室で行った。

## 2. 実験と結果

### (1) 紫外線照射装置の SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス評価法の検討

紫外線には、強い抗菌抗ウイルスの効果があることは古くから知られており、すでに多くの製品が販売されている。しかし、現在の抗ウイルス性能評価試験規格は、紫外線照射装置のような機器を対象としたものはなく、適切な性能評価法はない。そこで、我々は紫外線照射装置を用いて、SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス試験について検討を行った。方法としては、5 cm × 5 cm のポリプロピレン(PP)フィルム(OHP シート KOKUYO VF-10)に SARS-CoV-2 の試験ウイルス液を接種した後、紫外線を照射し、その後ウイルスの感染価を測定した。感染価の測定方法などについては、ISO21702<sup>(1)</sup>を参考にした。試験ウイルス液の接種は、平板状製品の試験と同様に水分を含む条件(水含有条件)及び接種後乾燥させる条件(乾燥条件)の 2 通りの方法で行った(図 1)。試験ウイルス液の接種量は、PP フィルム 1 枚当たり 0.4 ml とし、水含有条件では、試験ウイルス液を接種後、PP フィルム(4 cm × 4 cm)を上からかぶせ、試験ウイルス液と PP フィルムを密着させた。乾燥条件では、PP フィルム 1 枚の 3 か所に試験ウイルス液を接種した後、安全キャビネット内で風乾した。検討に使用した紫外線照射装置は、安全キャビネット内の殺菌灯を用い、5 分間の照射を行った。対照は、同様に接種した PP フィルムを暗所で 5 分間静置した。検討に使用した SARS-CoV-2 は、神奈川県衛生研究所より分与された従来株(SARS-CoV-2/Hu/KngFJ/23RD5)を用いた。

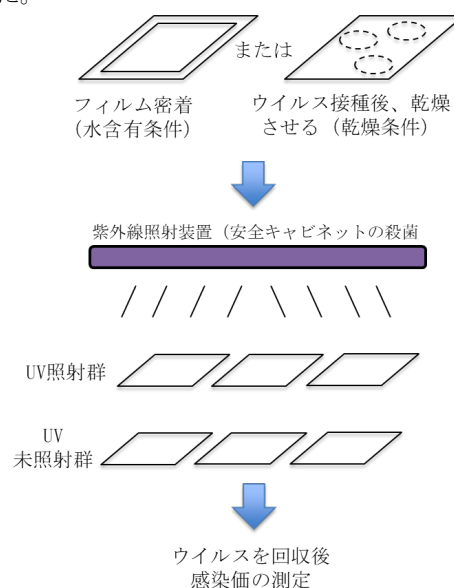


図 1 紫外線照射装置による抗ウイルス試験の検討

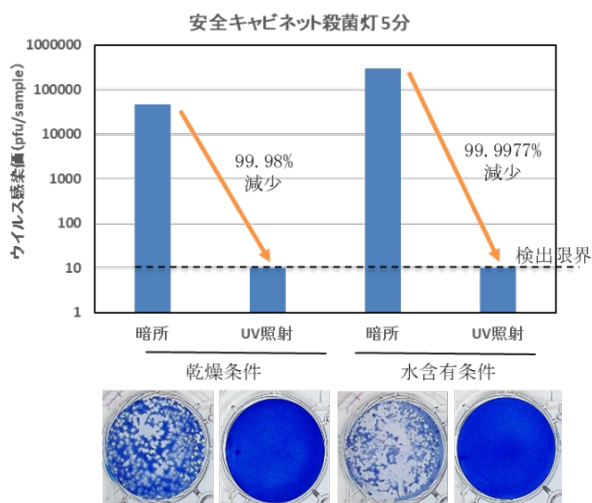


図2 紫外線照射装置による抗ウイルス試験の検討結果

検討の結果を図2に示す。プラークの写真で示されている通り、対照の暗所条件では、多くのウイルスが検出されたが、紫外線照射すると一つもプラークが現れなかった。つまり、乾燥条件及び水含有条件どちらでも、紫外線照射によって、SARS-CoV-2が検出限界以下となった。ウイルスの不活化率は、それぞれ、99.98%及び99.9977%であった。ただし、乾燥条件では、乾燥過程によって水含有条件よりも感染価が約1/10に減少していた。しかし、評価を行う上では影響がない程度の減少であるため、両条件下で適切に評価を行うことができることが明らかとなった。

## (2) 液体サンプルのSARS-CoV-2に対する抗ウイルス評価法の検討

消毒薬などの液体サンプルによる抗ウイルス性能評価試験については、アメリカではASTM E1052<sup>(2)</sup>及びE1053<sup>(3)</sup>、欧州ではEN14476<sup>(4)</sup>が標準試験法として採用されている。日本では標準規格はなく、上記の試験規格を使用することが多い。また、手指消毒剤などのように生体に使用する消毒薬は、医薬品または医薬部外品として管理されているが、生体に使用しない環境消毒剤については、管轄する工業団体がいないため、各企業が独自に評価を行っている状況である。我々もインフルエンザウイルスやネコカリシウイルスを用いた液体サンプルの抗ウイルス性能評価試験サービスは、上記の海外規格を参考にして提供を行っているが、SARS-CoV-2を用いた抗ウイルス性能評価サービスの提供は行っていなかった。そこで、SARS-CoV-2に対して抗ウイルス試験が適切に行うことができるかを検討した。

液体サンプルは主に、アルコール系、塩素系、界面活性剤系及び金属イオン系が使用されている。そこで、0.002%塩化ベンザルコニウム水溶液、70%エタノール、0.01%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて、検討を行った。方法は、ASTM E1052に準拠して行った(図3)。

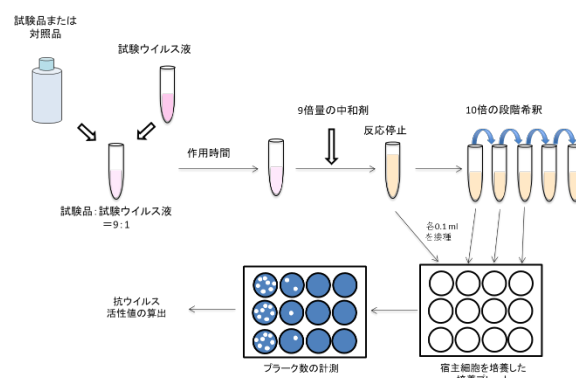


図3 液体サンプルを用いた抗ウイルス試験の方法

まず、試験サンプルと試験ウイルス液を9:1の割合で混合する。作用時間後、中和処理を行い、10倍の段階希釈系列を作製する。その後、プラーク法によって感染価を測定する。液体サンプルでの抗ウイルス性能評価試験で、特に考慮が必要な点は、中和処理が挙げられる。作用時間が数十秒から数十分が多いことから、適切な中和が行われないと、作用時間での抗ウイルス効果の信頼性が担保できない。今回の検討では、70%エタノール、0.002%塩化ベンザルコニウム水溶液ではSCDLP培地による10倍の希釈を用い、0.01%次亜塩素酸ナトリウム水溶液ではチオ硫酸ナトリウム水溶液を用いた。また、対照サンプルとしてPBSを用いた。検討の結果を図4に示す。

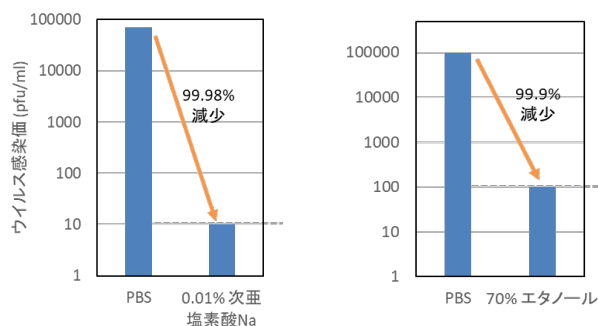


図4 液体サンプルによるSARS-CoV-2に対する抗ウイルス性能評価試験の結果

試験ウイルス液と70%エタノールまたは0.01%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を1分作用させた結果、SARS-CoV-2の感染価は検出限界以下となった。しかし、検出限界以下になってしまう場合、液体サンプルによる抗ウイルス効果以外の要因でウイルスが検出限界以下となっている可能性が考えられる。そのため、0.002%塩化ベンザルコニウム水溶液による検討で、作用時間を30秒から5分と経時的に測定することで、液体サンプルの抗ウイルス効果を適切に評価しているか検討した。その結果、図5に示すように、作用時間に応じて、SARS-CoV-2の感染価が減少し、5分で検出限界以下となった。このことから、液体サンプルによる抗ウイルス効果を適切に検出できていることを明らかとした。

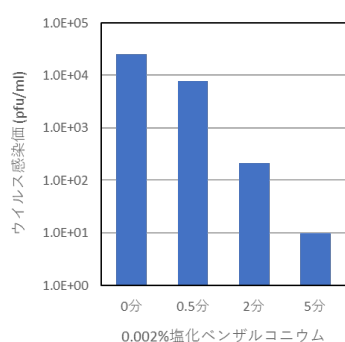


図5 液体サンプルによる SARS-CoV-2 に対する経時的な抗ウイルス性能評価試験の結果

以上の結果より、液体サンプルの SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス性能評価試験を、適切に行うことができるようになった。

### 3. 考察及び今後の展望

上記の検討の結果、SARS-CoV-2 に対する紫外線照射装置及び液体サンプルでの抗ウイルス性能評価方法を確立し、サービス提供を開始することができた。どちらも顧客からの要望により、性能評価サービスの提供を始めたが、その他にも様々な要望が寄せられている。その都度、個々に対応できるものは応用試験として依頼を受けているが、今後も規格対象外の性能評価試験サービスの提供を柔軟に応えられるように検討をしていく。さらに、公的試験機関として、まだ性能評価系が確立されていない試験方法について検討を行い、公表していくことも重要なことであると考えている。

#### 【参考文献】

1. ISO 21702. Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces. (2019)
2. ASTM E1052-20. Standard Practice to Assess the Activity of Microbicides against Viruses in Suspension.
3. ASTM E1053-20. Standard Practice to Assess Virucidal Activity of Chemicals Intended for Disinfection of Inanimate, Nonporous Environmental Surfaces.
4. EN 14476. Quantitative suspension test for evaluation of virucidal activity in the medical area.

# 再生・細胞医療に関わる評価方法構築に向けた検討

次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト  
河合 純

## 1. はじめに

新たな成長産業を創出する研究開発として、第一期中期計画期間に開発した抗菌・抗ウイルスや食品分野に対する評価法における知見を活かし、創薬や新規医療のための物質や細胞等の有用性を評価するスクリーニング手法の開発等への展開を図っている。ここでは細胞・再生医療等製品の題材として取り上げた間葉系幹細胞の品質評価技術の開発<sup>(1)</sup>と、社会実装に向けた連携の取組みについて述べる。本研究は、国立医薬品食品衛生研究所、国立成育医療研究センター、横浜市立大学、理化学研究所などとの共同研究である。

### (1) 品質評価技術の開発

培養ヒト間葉系幹細胞(MSC)は多能性幹細胞であるES/iPS細胞と比較して体内での腫瘍形成の懸念の低さから再生医療等製品の原料等としての利用が拡大しつつある(図1)。一方で、MSCはヘテロな細胞集団であり分化能や増殖能にも由来組織やドナーによるばらつきが大きく見られるため、MSCの特性を正確に理解するための品質評価法が求められている。

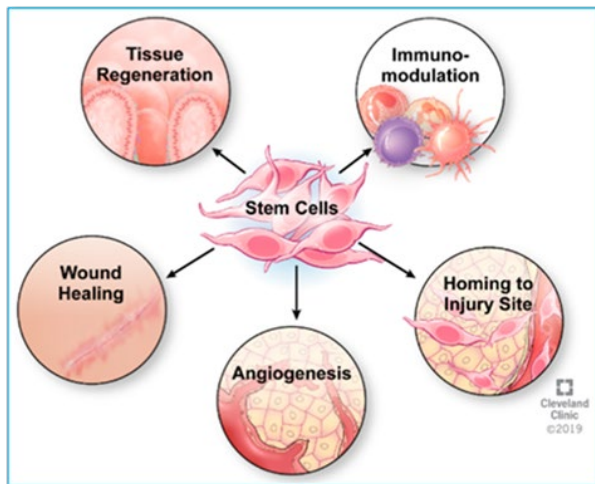


図1 培養ヒト間葉系幹細胞(MSC)の多様な機能  
(引用元: Cleveland Clinic)

### (2) 社会実装に向けた連携の取組み

品質評価は再生医療等製品の「安全性」と「有効性」を担保し、かつ産業として「効率的」に「経済的」に実施されなければならない。そのために製薬会社は個々の再生医療等製品の特徴に応じ、さまざまな品質評価技術を必要とする。そこでは生物個体を用いる *in vivo* 試験や

細胞あるいは生化学的な *in vitro* 試験など非常に多様で、単一の組織体がすべてを提供するよりも複数の企業・団体が総合的な品質評価基盤を整えるべきと考えられ、基盤構築の推進が求められている。

## 2. 実験と結果

### (1) 品質評価技術の開発

#### (1)-1 作業仮設の構築

MSCの品質規格の妥当性検証や品質規格の改善に資するデータ基盤、及び、品質特性を理解するためのパイプラインを開発することをめざし、ヒトMSCを複数の組織に由来するMSCを研究リソースとして樹立することと並行して、単一細胞レベルの遺伝子発現の解析技術としてシングルセルRNA-seqおよびバルクCAGE-seqの解析パイプラインを構築した。MSCの機能評価系として「VEGF産生能など血管新生に関わる機能」を取り上げ、ヒトMSCの開発、MSCの *in vitro* 低酸素・低栄養下培養系を確立した。ヒトMSCのトランスクリプトームプロファイルのデータ(シングルセルRNA-seqおよびバルクCAGE-seq)を測定し、機能(VEGF産生能)と相関する細胞集団を探索した。また細胞集団が特徴的に発現する遺伝子群を同定し、機能との関連を調査した(図2)。

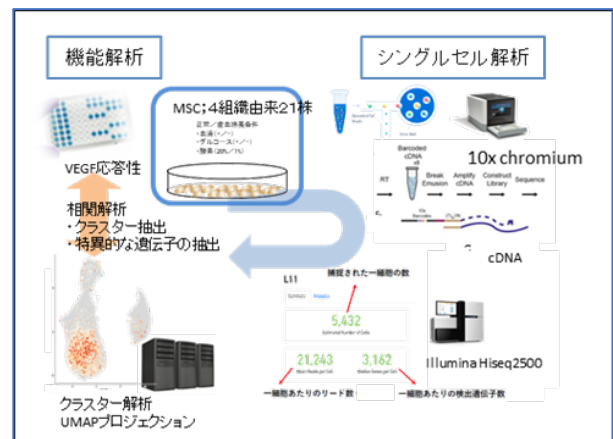


図2 MSCの細胞特性解析のストラテジー

#### (1)-2 MSCの調製

再生医療等製品として使用可能なヒト間葉系幹細胞の原料を安定的に供給することを目的とした。再生医療等製品の原料として用いるための細胞の品質として、生物原材料基準に適合していることが必須である。成育バイオリソースである多指症手術検体ヒト小児余剰



指軟骨、小耳症手術検体ヒト耳軟骨および肋軟骨に由来する間葉系幹細胞を樹立した。また、ヒト羊膜由来間葉系幹細胞やヒト胎盤由来間葉系幹細胞を調製し単一細胞レベルの遺伝子発現解析に供した。さらに、ヒト多能性幹細胞から分化誘導して作製した間葉系幹細胞を提供した。サンプルの調製にあたっては、ドナーに対する適切な情報提供、組織採取方法、ドナー組織の細菌、真菌、ウイルス等への感染スクリーニング、得られた間葉系幹細胞の品質や情報の管理等の体制を構築した。

### (1)3 疑似虚血条件下における MSC 機能の評価

臨床利用されるヒト MSC の多様性を理解するために、モデルケースとしてヒト MSC による虚血性組織の修復効果に関連する細胞機能を取り上げ、損傷部位の生体内環境を模倣した培養条件下におけるヒト MSC の機能(例えば液性因子分泌能など)を評価した。マトリゲルを用いた管腔形成アッセイ、及び、下肢虚血モデルマウスにて評価した結果、ヒト MSC が血管新生能を有すること、また虚血条件下で培養されたヒト MSC において血管新生関連タンパク質である VEGF(血管内皮増殖因子)の顕著な産生増加が認められたことから、ヒト MSC による血管新生や組織修復にヒト MSC から分泌される VEGF が寄与していると考えた。樹立条件が異なる(樹立方法、ドナーやソース組織などが異なる)、骨髄および脂肪に由来する複数のヒト MSC が同一虚血環境下において有為な VEGF 産生の上昇を確認した。一方、臍帯由来ヒト MSC においては、VEGF の分泌は検出されなかった。

### (1)4 単一細胞レベルの解析

MSC が複数の細胞種から構成されるヘテロな集団であることが、MSC の特性理解のハードルとなっている。そのヘテロジェニティを明確化するために、単一細胞レベルの遺伝子発現解析技術をもちいた。遺伝子の転写開始点を計測できるシングルセル CAGE 解析を開発した。解像度の高い遺伝子発現データを得られることが利点であるが、細胞内での cap 構造を有する mRNA のポピュレーションにばらつきが複雑であるため、MSC の解析には 10X Genomics 社の一細胞遺伝子発現プロファイル技術を利用した。また以下で得られた MSC のデータは国際プロジェクト、HCA (Human Cell Atlas)にデポジットし、再生医療研究における基盤的なデータとすることとした。HCA は、77 カ国、2,000 人を超える研究者が参加する国際プロジェクトで、いわゆる健全な細胞のシングルセルレベルの解析を進めており、理化学研究所はアジアの地域拠点として参画している。HCA では肝臓や腎臓、免疫など多彩な側面から細胞の記述が進んでいるので将来、MSC をそれらと比較することにより、ヘテロであるという MSC に、調製段階で残存、あるいは混入した別種の細胞であるかどうかの検討も可能になると考えられる。

ヒト骨髄由来 MSC をシングルセル RNA-seq 解析により解析し、ヒト骨髄由来 MSC の不均一性の特徴をクラスタリング解析により明確化し、ヒト骨髄由来 MSC の細胞集団が複数の細胞画分(クラスター)で構成されていることを明らかにした。このシングルセル RNA-seq 解析により得られたデータをもとに、それぞれのクラスター内に存在する各ロットの割合と、虚血環境下における各ロットの VEGF 分泌量と相関のあるクラスターを抽出し、このクラスターにおける特徴的な候補遺伝子群の同定に成功した(図 3)。このクラスターはテストセットとして準備したヒト脂肪由来 MSC においても虚血時 VEGF 産生量と相関性が高いことを確認できた。また、この虚血時 VEGF の産生能と相関のある細胞集団は、細胞骨格制御に関連するシグナル経路が活性化状態にあることも、遺伝子エンリッチメント解析を用いて確認されたことから、血管新生や細胞遊走にも深く関与している細胞集団であることが予想された。

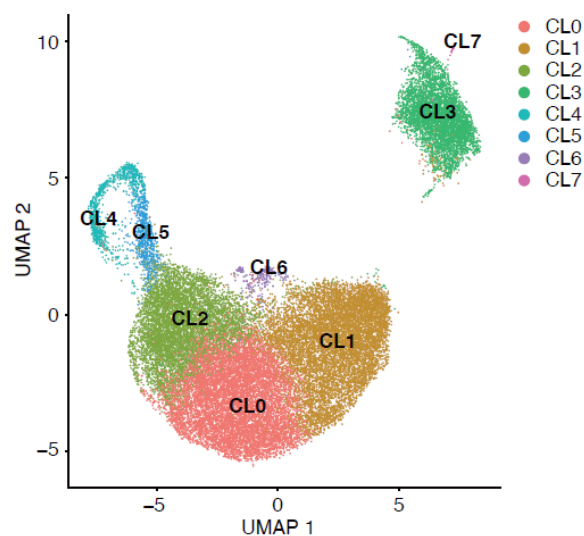


図 3 ヒト骨髄由来 MSC のシングルセル RNA-seq 解析

## (2) 社会実装に向けた連携の取組み

細胞という複雑系が発揮する表現型や機能と相関する重要品質特性(CQA)を探索し評価系として実装することは容易ではなく、多くの研究者らによる協力が必要である。再生・細胞医療を産業として推進するためには、神奈川や殿町に集まる最先端の技術とノウハウを活用し評価系を構築する戦略を議論をする場として、かながわ再生・細胞医療産業化ネットワーク(RINK)が主催するイベントで、「細胞を評価する上で大切なこと ~再生医療の産業化における「評価」の役割~」と題するセッションをオーガナイズした。

## RINK FESTIVAL 2023

2023.2.17 (Fri)

セッションC (16:15-17:45) :細胞を評価する上で大切なこと  
～再生医療の産業化における「評価」の役割～



図 4 RINK FESTIVAL 2023 セッション C

(2023年2月17日 川崎市殿町)

### 3. 考察及び今後の展望

MSCにおける、低酸素・低栄養への応答性と相関する細胞集団(サブポピュレーション)を特定した。MSCにおけるこの細胞集団の含有量は、虚血性組織を修復する治療効果の規格として利用できる可能性がある。一連の研究により、単一細胞レベルのトランスクリプトームプロファイリングが、再生医療に用いられる細胞の品質特性指標の探索手法となりうることを示すことができた。蓄積したデータは国際プロジェクト、HCAにデポジットし、再生医療研究における基盤的なデータとすることとした。単一細胞レベルのトランスクリプトームプロファイリングが、細胞の品質特性指標の探索手法となりうる。また、細胞加工製品の機能を的確に反映した細胞画分の存在をプレディクティブな品質特性として評価することが可能であることを示唆しており今後、本手法は新たな細胞加工製品の品質管理手法として応用が期待される。

神奈川県には品質評価技術に強みをもつアカデミアや企業が集積している。地域にねざした非営利団体としてKISTECはそれらの連携をコーディネートし産業基盤としての発展に貢献することが期待されている。

#### 【参考文献】

- 1.Miura T, Kouno T, Takano M, *et. al.*, *Stem Cells Translational Medicine*, 12, 379-390(2023)

# 人工がん幹細胞を用いた食品機能性評価

次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト  
亀井 飛鳥

## 1. はじめに

日本は超高齢社会を迎えて久しく、平均寿命が延伸したことに伴う健康寿命延伸への要求は尽きない。わが国の平均寿命と健康寿命の隔たりは平均で10歳以上であり、我々の生活の質(QOL)の向上や、医療費の削減といった観点から、平均寿命と健康寿命の差の短縮は喫緊の解決すべき課題の一つである。私たちの身体は、生体恒常性の働きから健康と疾病の手前(未病)を行き来しており、健康寿命延伸を見据えると、疾病に至る前にこのバランスを調節することが重要であり、その調節には生活習慣、特に食品や運動の寄与が期待される(図1)。

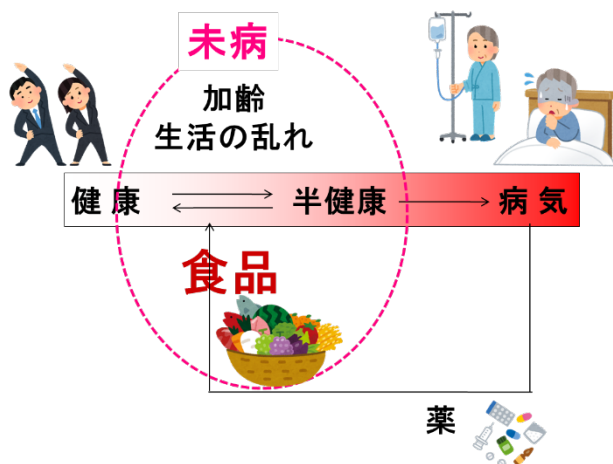


図1 未病と食品

我々は未病を軸に、主に動物やヒトを対象とし、トランスクリプトーム解析(網羅的な遺伝子発現解析)を駆使した食品の機能性評価研究を実施してきた。その多くは未病として疲労やストレス、メタボリックシンドロームやその予備群を対象としてきたが、2022年度から、より広義の未病としてがん幹細胞を対象とする食品成分の機能性評価系の確立に向けた検討を開始した(横浜市立大学との共同研究)。本稿ではその成果の一部を報告する。

### (1) 未病と食品

未病は、病気ではないが健康でもない状態とされており、日本未病学会では「自覚症状はないが検査では異常がある状態」と「自覚症状はあるが検査では異常がない状態」とを合わせたものと定義している。健康状態から病気に至るまで、身体の中は徐々に変化するが、このわ

ずかな変化を病気に至る兆しとして捉え、対策を講じることが病気の予防の一つと考えられる。このわずかな変化は、既存の健康診断や特殊検査による検出が難しいため、未病を評価するための新たなマーカー分子の探索が必須である。

未病状態から病気に至ることへの予防策のひとつに食品の機能性への期待が高い。食品にはそれぞれに機能があるが、そのほとんどにおいて、摂取して生じる身体の変化はわずかである。しかし、食品を日常的に摂取することによる変化の積み重ねや繰り返しが中長期的に影響し、未病を改善させることや病気への進行を遅らせる等の影響を与えることが可能と考えられる。

これまで、未病と食品による改善作用、その作用メカニズムをトランスクリプトーム解析により明らかにしてきた。例えば、桑の葉の脂質代謝に及ぼす作用<sup>(1,2)</sup>、サラシア属植物の免疫に及ぼす作用<sup>(3,4)</sup>、ビフィズス菌の脂質代謝に及ぼす作用<sup>(5,6)</sup>、短鎖フラクトオリゴ糖の脂質代謝に及ぼす作用<sup>(7)</sup>、アミノ酸混合液の作用<sup>(8)</sup>、鉄の摂取量の違いが身体に及ぼす作用<sup>(9,10)</sup>などである。更に、食品の機能性成分について、その効果を発揮する至適量があることも明らかにした。これはメープルシロップの機能性評価研究において見出された<sup>(11-13)</sup>。疲労・ストレスについては、ヒトを対象としたPC上で実施する計算テストの実行成績と実行に伴う主観的疲労度に対するポリフェノールの作用<sup>(14,15)</sup>等も報告してきた。このように、食品は生体に対して様々に作用する。

## (2) がん幹細胞と評価

### (2)-1 がん幹細胞

がんは、日本人の死因の第1位である(厚生労働省、人口動態統計(2021年))。がん組織は均一な集団ではなく、ヘテロな細胞集団であることが知られており、わずかにがん幹細胞も存在すると考えられている。がん幹細胞は、2006年の米国がん学会(American Association for Cancer Research: AACR)にて、腫瘍内に存在し、自己複製能と腫瘍組織を構成するさまざまな系統のがん細胞を生み出す能力(多分化能)を併せ持つ細胞と定義されている。更に、従来のがん治療に用いられる化学療法、放射線治療や分子標的薬等に抵抗性を示し、既存の治療でがん細胞が死滅した後も残存して再発や転移に至る一因となるため、がん幹細胞を標的とし、自己複製やがん細胞への分化を阻止する治療法の確立が急務である。

## (2)-2 人工がん幹細胞 iCSCL-10A

横浜市立大学(医学研究科微生物学教室)において、多能性幹細胞誘導技術を用い、ヒト乳腺上皮細胞から自己複製能を有し、未分化性を保持した状態で大量培養が可能という特徴を持つ人工がん幹細胞 (induced cancer stem cell-like 10A, iCSCL-10A) が確立されている<sup>(16)</sup>。更に、iCSCL-10A を用いたドラッグスクリーニング評価系を確立した報告もされている<sup>(17)</sup>。そこで、我々は、iCSCL-10A を用いたドラッグスクリーニング評価系に着目し、横浜市立大学と共同研究を行いながら本検討を進めていくことで、新たな評価系の構築に向けた取り組みを開始した。

### (3) がん幹細胞と食品

がん幹細胞を標的とする薬剤やドラッグデリバリーシステムの探索・研究は鋭意進められている。その中で、天然物や食品成分によるがん幹細胞への影響も多く報告されている<sup>(18-22)</sup>。

iCSCL-10A 細胞においても、73 の天然物由来成分を評価し、未分化能や自己複製能に対して強い抑制作用を持つ成分として withaferin A を見出している<sup>(17)</sup>。食品を含む天然物由来の成分は多数あり、がん細胞への分化や自己複製を未然に抑制する成分の発見も期待される。本研究では、がん幹細胞の存在が、がん細胞に至る前の広義の未病と捉えつつ、食品成分の人工がん幹細胞 iCSCL-10A に対する作用の評価を試みた。

## 2. 実験と結果

### (1) 食品成分の選定

がん幹細胞を対象とする研究において、食品等の天然物由来成分による増殖抑制等の作用が報告されている。本研究では、これまで我々がメタボリックシンドローム、疲労、ストレス等への機能性を評価してきた複数の食品成分から、既報にはない 5 種類の成分(compound 1~5)を選定し、検討した。

### (2) iCSCL-10A を対象とする評価実験方法

いずれも文献 17 に記載の方法に基づいて実験を行った。方法概要は以下のとおりである。なお、各種実験は横浜市立大学にて実施した。

#### (2)-1 細胞生存率計測

人工がん幹細胞 iCSCL-10A 細胞を  $5 \times 10^3$  cells / well とするよう 96-well プレートに播種し、24 時間後に 5 成分を終濃度 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 40  $\mu\text{M}$  となるようにそれぞれ添加した。ネガティブコントロールは各成分の溶媒とし、compound 1、2、3 については dimethyl sulfoxide (DMSO)、compound 4、5 については ethanol (EtOH) とした。ポジティブコントロールは、未分化性抑制および自己複製能抑制の活性を有することが報告されている withaferin A とした。培地は 10% FBS、1% penicillin/streptomycin を含む Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) を用いた。各種成分を添加した 48 時間

後に CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega)にて細胞生存率を測定した。

#### (2)-2 未分化性評価

iCSCL-10A 細胞を  $5 \times 10^3$  cells / well とするよう 96-well プレートに播種し、24 時間後に 5 成分を終濃度 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 40  $\mu\text{M}$  となるようにそれぞれ添加した。ネガティブコントロールは各成分の溶媒とし、compound 1、2、3 については dimethyl sulfoxide (DMSO)、compound 4、5 については ethanol (EtOH) とした。ポジティブコントロールは、未分化性抑制および自己複製能抑制の活性を有することが報告されている withaferin A とした。培地は 10% FBS、1% penicillin/streptomycin を含む Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) を用いた。各種成分を添加した 48 時間後に TRACP & ALP Assay Kit (Takara)にて alkaline phosphatase (ALP)活性を測定した。

#### (2)-3 自己複製能評価

iCSCL-10A 細胞を培地に懸濁後、5 成分を終濃度 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 40  $\mu\text{M}$  となるように添加し、 $5 \times 10^3$  cells / well とするよう Ultra-Low Attachment Surface 96-well plate (Corning)に播種した。ネガティブコントロールは各成分の溶媒とし、compound 1、2、3 については dimethyl sulfoxide (DMSO)、compound 4、5 については ethanol (EtOH) とした。ポジティブコントロールは、未分化性抑制および自己複製能抑制の活性を有することが報告されている withaferin A とした。各種成分を添加した 48 時間後に顕微鏡下で sphere 数を計測した。

## (3) 結果

### (3)-1 細胞生存率計測

ネガティブコントロールに対し、ポジティブコントロールとして設定した withaferin A において添加量依存的な細胞生存率低下作用が確認された。本検討で用いた 5 種類の成分のうち、compound 3 を除く 4 成分について添加量依存的な細胞生存率低下作用が認められた(図 2)。

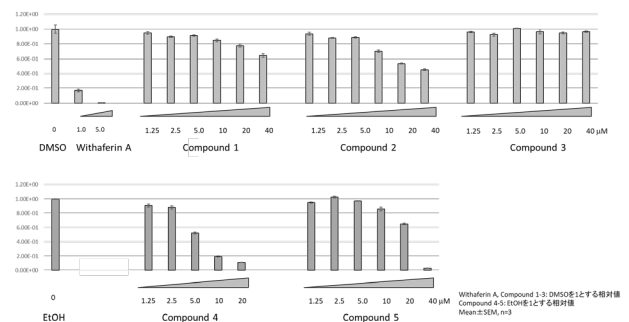


図 2 iCSCL-10A の細胞生存率

ネガティブコントロールを 1 とする相対値で示す。Mean  $\pm$  SEM, n = 3.

### (3) -2 未分化性評価

ネガティブコントロールに対し、ポジティブコントロールとして設定した withaferin A において添加量依存的な ALP 活性低下作用（未分化性抑制作用）が確認された。また、本検討で用いた 5 種類の compound 全てについても、添加量依存的な ALP 活性低下作用が認められた(図 3)。compound 3 を除く 4 成分について添加量依存的に細胞生存率が低下していることから、生細胞あたりの ALP 活性を生細胞あたりの未分化性として評価したところ、特に compound 4 において他の compound に比べてより強い未分化性抑制活性を有することが示された。

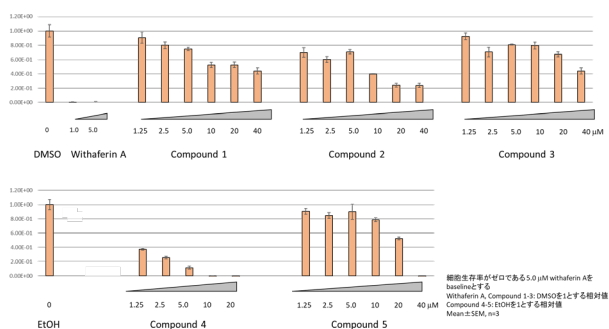


図 3 iCSCL-10A の ALP 活性

ネガティブコントロールを 1 とする相対値で示す。生細胞数は考慮しない。Mean ± SEM, n = 3.

### (3)-3 自己複製能評価

ネガティブコントロールに対し、ポジティブコントロールとして設定した withaferin A において添加量依存的な自己複製能抑制作用が確認された。本検討で用いた 5 種類の compound の内、compound 4 及び compound 5 において添加量依存的に自己複製能が抑制されており、他の compound に比べて強い自己複製能抑制活性が認められた(図 4)。

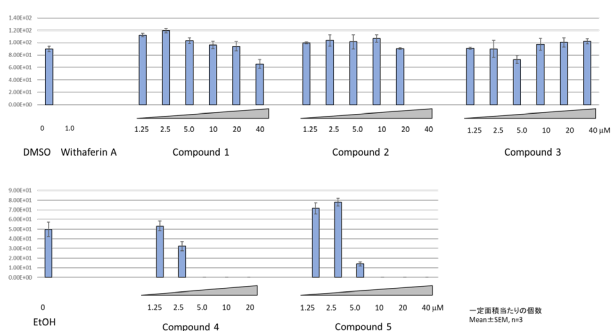


図 4 iCSCL-10A の自己複製能

一定面積あたりの sphere 数を示す。Mean ± SEM, n = 3.

## 3. 考察及び今後の展望

人工がん幹細胞 iCSCL-10A の (1) 細胞生存率、(2) 未分化性、(3) 自己複製能に対し、5 種類の食品由来成分の濃度依存的な作用を評価したところ、それぞれに特徴を

有することが明らかになった。一部の成分については再現性も確認しており、本評価系が食品成分の新たな機能性探索にも広く適用可能であることが示された。

特定の成分に着目すると、compound 4 は細胞生存率の低下作用を有するが、細胞生存率の顕著な低下が引き起こされるよりも低濃度の段階から未分化性や自己複製能の抑制作用が認められる等、幹細胞の機能抑制活性を有することが予測される結果を得た。しかし、各成分の有する活性が、がん幹細胞特異的に発現するものであるかは未検証である。今後は、作用メカニズムの解明やマーカー分子探索を目的とするオミクス解析、正常細胞への影響の確認等も実施しつつ、食品成分の新たな機能性評価系として、人工がん幹細胞の活用、展開を目指す。

### 【参考文献】

1. Kobayashi Y, Miyazawa M, Araki M, *et al.*, *Journal of Pharmacognosy and Natural Products*, 1, 113(2015)
2. Kobayashi Y, Miyazawa M, Kamei A, *et al.*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74, 2385-2395(2010)
3. Oda Y, Ueda F, Utsuyama M, *et al.*, *PLoS One*, 10, e0142909(2015)
4. Oda Y, Ueda F, Kamei A, *et al.*, *BioFactors*, 37, 31-39(2011)
5. Kondo S, Kamei A, Xiao JX, *et al.*, *Beneficial Microbes*, 4, 247-251(2013)
6. Kondo S, Xiao JZ, Satoh T, *et al.*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74, 1656-1661(2010)
7. Fukasawa T, Kamei A, Watanabe Y, *et al.*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7007-7012(2010)
8. Shinozaki F, Abe T, Kamei A, *et al.*, *Genes and Nutrition*, 11, 21(2016)
9. Kamei A, Watanabe Y, Kondo K, *et al.*, *PLoS One*, 8, e65732(2013)
10. Kamei A, Watanabe Y, Ishijima T, *et al.*, *Physiological Genomics*, 42, 149-156(2010)
11. Watanabe Y, Kamei A, Shinozaki F, *et al.*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75, 2408-2410(2011)
12. Kamei A, Watanabe Y, Shinozaki F, *et al.*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79, 1893-1897(2015)
13. Kamei A, Watanabe Y, Shinozaki F, *et al.*, *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(2017)
14. Shinozaki F, Kamei A, Shimada K, *et al.*, *Japanese Pharmacology and Therapeutics*, 50, 93-107(2022)
15. Shinozaki F, Kamei A, Shimada K, *et al.*, *Food and Function*, 14, 4440(2023)
16. Nishi M, Sakai Y, Akutsu H, *et al.*, *Oncogene*, 33, 643-652(2014)
17. Nishi M, Akutsu H, Kudoh A, *et al.*, *Oncotarget*, 5, 8665-8680(2014)
18. Moselhy J, Srinivasan S, Ankem MK, Damodaran C, *Anticancer Research*, 35, 5773-5788(2015)
19. Taylor WF, Jabbarzadeh E, *American Journal of Cancer*

*Research*, 7, 1588-1605(2017)

20. Meerson A, Khatib S, Mahajna J, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 13044(2021)
21. Deldar Abad Paskeh M, Asadi S, *et al.*, *International Journal of Molecular Sciences*. 22, 11669(2021)
22. Hashem S, Ali TA, Akhtar S, *et al.*, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 150, 113054(2022)

# モリブデン酸化物材料の抗ウイルス活性

次世代ライフサイエンス技術開発グループ

砂田 香矢乃

## 1. はじめに

新型コロナウイルスによる感染症が世界中で蔓延しパンデミックとなってから3年以上が経過した。日本では、感染法上の位置づけで、新型コロナウイルス感染症は、インフルエンザと同等の「5類感染症」に変更となった。しかしながら、まだ新型コロナウイルスが根絶されたわけではないので、感染するリスクは常に身近に存在している。また、感染症の問題は新型コロナウイルスだけでなく、例えば、卵価格の高騰を引き起こした鳥インフルエンザウイルスなど、他のウイルスや細菌による感染リスクは、常に生活環境に存在している。このような感染症に対しては、接触感染、飛沫感染、飛沫核感染(エアロゾル感染、空気感染)、経口感染などの感染経路をシャットダウンすること、あるいは、その感染リスクを低減することが重要な方策である。そのための活性の高い持続性のある抗ウイルス材料が求められている。

これまでに、金属酸化物を中心に抗ウイルス活性を調べてきた<sup>(1)-(4)</sup>。具体的には、抗菌活性を持つことが知られている金属イオンをふくむ酸化物を中心に、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 、 $\text{MnO}_2$ 、 $\text{CeO}_2$ 、 $\text{MoO}_3$ 、 $\text{MoO}_2$ 、 $\text{WO}_3$ 、 $\text{SnO}_2$ 、 $\text{NiO}$ 、 $\text{ZnO}$ の9種の金属酸化物について、抗ウイルス活性を評価したところ、モリブデン酸化物である  $\text{MoO}_3$  に高い抗ウイルス活性が認められ、 $\text{MoO}_2$  や  $\text{ZnO}$  に弱い抗ウイルス活性が見つかった。また、モリブデン酸化物と酸化チタン光触媒を組み合わせた新規材料( $\text{Mo/TiO}_2$ )についても抗ウイルス活性を評価してきた。たとえば、図1は、野生株の新型コロナウイルス(SARS-Cov-2)に対する抗ウイルス評価結果を示しているが<sup>(5)</sup>、

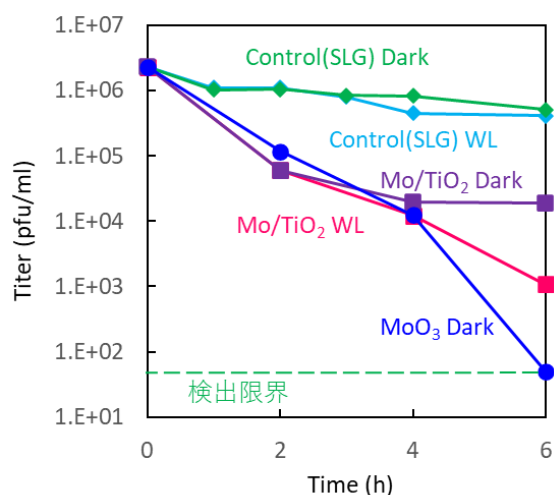


図1  $\text{MoO}_3$  並びに  $\text{Mo/TiO}_2$  の野生株新型コロナウイルス(SARS-Cov-2)に対する抗ウイルス活性

$\text{MoO}_3$  では、6時間の暗所放置で、検出限界まで感染価が低下し、SARS-Cov-2 に対しても高い抗ウイルス活性を示すことがわかった。また、 $\text{Mo/TiO}_2$  でも可視光照射下6時間で、初期の99.9%以上、感染価が低下し、SARS-Cov-2 に対する抗ウイルス活性が認められた。

本研究では、上記の通りに明らかにしてきた  $\text{MoO}_3$  単独並びに酸化チタン光触媒と組み合わせた可視光応答型材料( $\text{Mo/TiO}_2$ )の抗ウイルス活性をさらに高活性のものにし、実用化に耐える材料の設計指針を得ることを目的とした。高活性化のための一つの方法として、 $\text{MoO}_3$  をコーティングした表面に、凹凸の構造を導入し、表面積を増やすことを行った。もう一つは、宿主へのウイルスの吸着を利用した  $\text{MoO}_3$  とシアル酸を組み合わせた材料の作製である。インフルエンザウイルスが宿主に感染する際、宿主細胞表面のシアル酸に、インフルエンザウイルス表面のヘマグルチニン(HA)タンパク質が吸着するところから感染が始まると知られている。それを利用して、シアル酸がウイルスを  $\text{MoO}_3$  の近くに呼び込み、 $\text{MoO}_3$  により不活化するという材料の作製を試みた。

## 2. 実験と結果

### (1) 凹凸構造を導入した $\text{MoO}_3$ の抗ウイルス活性

$\text{MoO}_3$  並びに  $\text{Mo/TiO}_2$  は、これまでの研究で作製したものをを用いた。抗ウイルス活性を評価する際は、それぞれの粉末を 50 mm×50 mm のソーダライムガラス(SLG)に担持した。

凹凸構造の導入は、酸化チタンの懸濁液をバインダーとして用いて、そのゾルに 1  $\mu\text{m}$  のシリカ微粒子( $\text{SiO}_2$ )を混ぜて、50 mm 角の SLG にスピンコーティングした。それを焼成した後、 $\text{MoO}_3$  を同じくスピンコーティングした。抗ウイルス活性を比較したサンプルは、バインダーの酸化チタンとそれに混ぜた  $\text{SiO}_2$  粒子をコーティングしたもの、 $\text{SiO}_2$  粒子を含まずに  $\text{MoO}_3$  をコーティングしたもの、 $\text{SiO}_2$  粒子により凹凸を導入したところに  $\text{MoO}_3$  をコーティングしたものの3者で比較した。

抗ウイルス活性は、JIS R 1756 並びに ISO 21702 を参考にバクテリオファージ $\phi 6$ (エンベロープあり)並びにバクテリオファージ Q $\beta$ (エンベロープなし)を用いて、暗所下 25°C の高湿度条件のもとで評価を行った。

バクテリオファージ $\phi 6$  を用いた際の抗ウイルス評価結果を図2に示した。バインダーの酸化チタンとそれに混ぜた  $\text{SiO}_2$  粒子をコーティングしたガラスは、2時間の反応時間で、感染価は0時間とほぼ同じで抗ウイルス活性は認められなかった。次に、凹凸構造がない  $\text{MoO}_3$  と  $\text{SiO}_2$  微粒子

を使って凹凸構造を導入した  $\text{MoO}_3$  との比較では、凹凸構造がない  $\text{MoO}_3$  では、120 分で感染価が検出限界に至ったのに対し、凹凸構造を導入した  $\text{MoO}_3$  の方が、60 分と早く感染価が検出限界となった。このようにわずかであるが、 $\text{SiO}_2$  で構造を導入した  $\text{MoO}_3$  の方が、高い抗ウイルス活性が認められた。

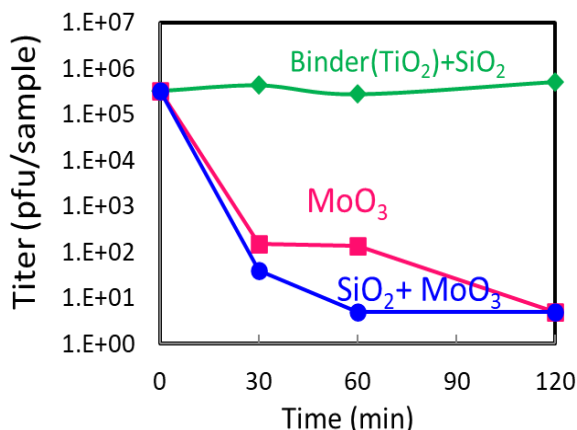
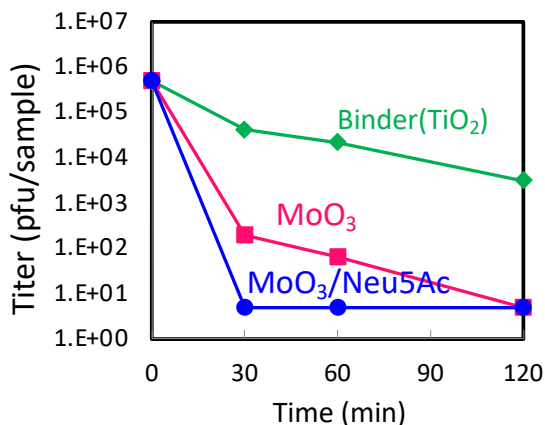


図2 凹凸構造を導入した  $\text{MoO}_3$  のバクテリオファージ $\phi 6$  に対する抗ウイルス活性評価結果

## (2) シアル酸と $\text{MoO}_3$ を組み合わせた材料の抗ウイルス活性評価

A 型インフルエンザウイルスが宿主細胞へ吸着し、侵入する際には、宿主細胞表面にあるシアル酸(一番先端がシアル酸とガラクトースが $\alpha 2-6$  結合した糖鎖)とインフルエンザウイルス表面にあるヘマグルチン(HA)タンパク質が結合する。すなわち、インフルエンザウイルスがシアル酸と結合しないと宿主細胞への感染は始まらないことになる。このウイルスの吸着を利用して、効率のよい抗ウイルス活性を得ようと、 $\text{MoO}_3$  とシアル酸である N-アセチルノイライミン酸(Neu5Ac)を組み合わせた材料の作製を行った。Neu5A がインフルエンザウイルスと吸着すると、すぐそばにある  $\text{MoO}_3$  が効率的にインフルエンザウイルスを不活化しないかと考えた。



サンプルは、25 mm×25 mm のソーダ石灰ガラス (SLG) 上に、酸化チタンをバインダーとして用いて、 $\text{MoO}_3$  をコーティングした。シアル酸と  $\text{MoO}_3$  を組み合わせたサンプルについては、さらに Neu5Ac を  $\text{MoO}_3$  上にコーティングした。評価結果を図 3 に示した。バクテリオファージ Q $\beta$  に対しては、シアル酸の効果は見られなかったが、バクテリオファージ $\phi 6$  に対しては、シアル酸と組み合わせていない  $\text{MoO}_3$  は、120 分で感染価が検出限界に至ったのに対し、シアル酸と組み合わせた  $\text{MoO}_3$  では、30 分とより短い時間で感染価が検出限界まで低下した。宿主細胞への吸着にシアル酸が関与していない場合は、バクテリオファージ Q $\beta$  のように効果が認められないが、バクテリオファージ $\phi 6$  やインフルエンザウイルスのようにシアル酸が宿主への吸着に関与しているウイルスの場合は効果がみられ、このような材料も有用であると考えられた。

## 3. 考察及び今後の展望

金属酸化物である  $\text{MoO}_3$  の抗ウイルス活性をさらに高めようと、2つの方法で工夫を行ったサンプルの抗ウイルス活性について報告した。どちらの場合も、まだ端緒にすぎたばかりで、今後さらに詳細に調べる必要があると思われる。一つ目の凹凸構造を導入したサンプルでは、表面の解析が必要であり、シアル酸と組み合わせたサンプルでは、インフルエンザウイルスでの評価が必要である。また、 $\text{MoO}_3$  と Neu5A を一度にコーティングできるようにするなどの検討も必要である。

本稿では、金属酸化物として  $\text{MoO}_3$  の抗ウイルス活性について述べたが、東京工業大学 中島 章研究室と 2016 年より共同研究を行っており、その中で種々の金属酸化物の材料が作製されている。たとえば、La の酸化物と Mo、Cu の酸化物を組み合わせた材料や、Ce や La とヨウ素酸を組み合わせたユニークな材料などが作製され、高い抗菌、抗ウイルス活性が確認されている<sup>(6-7)</sup>。

新型コロナウイルスによるパンデミックは落ち着いてきたが、感染症の問題は常に身近にあり、高い抗菌、抗ウイルス活性をもつ材料が求められている。金属酸化物は、

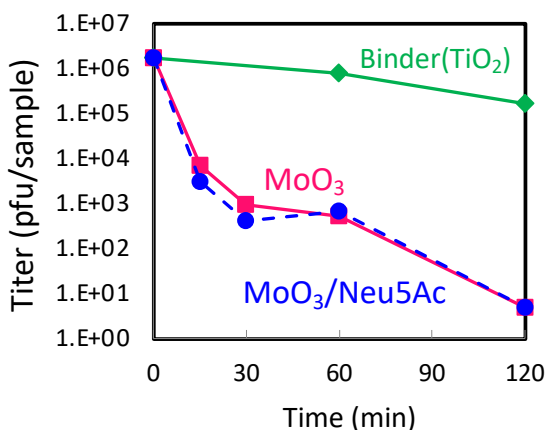


図3  $\text{MoO}_3$  とシアル酸を組み合わせた材料の抗ウイルス活性評価

左図：バクテリオファージ $\phi 6$  に対しての活性評価、右図：バクテリオファージ Q $\beta$  に対しての活性評価



持続性がある点と耐性菌などが出にくいなどの利点があるので、今後も新しい材料創製に取り組みたいと考えている。

本稿での新型コロナウイルスに対する抗ウイルス評価は、奈良県立医科大学 中野竜一准教授のもとで行われたが、一昨年から弊所でも新型コロナウイルスに対する抗ウイルス評価は、可能となっている。抗ウイルス材料を開発されている方々にぜひ利用して頂ければと思っている。

最後になりましたが、新型コロナウイルスの評価を進めて頂きました奈良県立医科大学 中野竜一准教授、並びに共同研究を一緒に進めて頂いております東京工業大学 中島 章教授に深謝申し上げます。

#### 【参考文献】

1. Sunada K, Minoshima M, Hashimoto K, *Journal of Hazardous Materials*, 235-236, 265-270(2012)
2. Minoshima M, Lue Y, Sunada K, *et al.*, *Journal of Hazardous Materials*, 312, 1-7(2016)
3. Miyachi M, Sunada K, Hashimoto K, *Catalysts*, 10, 1093(2020)
4. 砂田 香矢乃、永井 武、中島 章、石黒 齊, 28, 146-151(2021)
5. Ito T, Sunada K, Nakajima A, *et al.*, *Materials Letters*. 290, 129510(2021)
6. Abe K, Sunada K, Nakajima A, *et al.*, *Ceramics International*, 49, 14681-14688(2023)
7. Sakai T, Sunada K, Nakajima A, *et al.*, *Journal of Ceramic Society of Japan*, 130, 370-375(2022)

# 抗かび性能評価試験サービスの提供に向けた取り組み

次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト  
小林 慶一、永井 武、砂田 香矢乃、石黒 斉

## 1. はじめに

抗かび性又はかび抵抗性に関する試験として、現在国内の試験機関等で提供されている代表的な JIS 規格試験としては、JIS L 1921、JIS R 1705 および JIS Z 2911 が存在する。これら 3 つの規格の中では JIS Z 2911 が最も早く制定(1957 年)された規格であるが、試料上のかびの生育度合を肉眼や顕微鏡で観察し評価する定性的な試験であり、JIS R 1705 が制定(2008 年)されるまで抗かびに関する定量的な評価試験方法は存在していなかった<sup>(1)</sup>。これは細菌とは異なるかびの形態(孢子、菌糸を形成)に起因すること等が理由とされている。

一方、JIS R 1705 と JIS L 1921 の両規格は抗かび性に関する定量的な試験方法であるが、それぞれ対象とする試料や評価手法が異なっている。JIS L 1921 は繊維製品を対象としてかびの細胞内 ATP 量で評価する<sup>(2)</sup>のに対し、JIS R 1705 は紫外光下での平板状の光触媒加工品を対象としてコロニー数で抗かび性を評価する<sup>(3)</sup>。

我々は、企業等による製品や機能性材料の研究開発の支援の一環として、抗菌・抗ウイルス性能評価試験サービスを提供している。当該性能評価試験サービスは、JIS/ISO 等の標準規格をベースとして実施しているが、企業等から性能評価試験の相談内容は対象が研究開発段階の製品であったり、材料や形状が様々であったり、また、標的として希望される菌やウイルスの種類も多様である。これらの様々な要望に対し、当研究所では最適な性能評価方法を、時にはオーダーメイドの方法を提案し、可能な限り性能評価試験サービスとして提供している。しかし、かび(糸状菌)を標的とする抗かび性能評価試験については、JIS 規格が存在し、企業等からの依頼相談もあったが、体制が整っていないことから今まで対応していなかった。そこで、我々はかびを対象とする抗かび性能評価試験サービスの提供へ向けた準備を進めており、本稿ではその状況について報告する。

## 2. 実験と結果

上記のとおり抗かび性又はかび抵抗性に関する代表的な JIS 規格試験としては、JIS L 1921、JIS R 1705 および JIS Z 2911 が存在し、それぞれの規格の概要は表 1 のとおりである。これらの規格のうち、JIS R 1705 は、細菌を対象とした光触媒加工品の抗菌性評価を定めた JIS R 1702 のフィルム密着法<sup>(4)</sup>と共通する部分が多く、JIS R 1702 をベースとする抗菌性能評価試験は既にサービス提供している取り扱いに慣れた規格であることから、抗かび性能評価試験サービスの提供へ向けた準備としてまずは JIS R 1705

の再現から試みることにした。

表1 抗かび性又はかび抵抗性試験

規格	名称	概要	対象
JIS L 1921	繊維製品の抗かび性試験方法及び抗かび効果	試料又は試験片に孢子懸濁液を接種し、所定期間後のATP量を測定	繊維製品
JIS R 1705	ファインセラミックス—光照射下での光触媒かび加工製品の抗かび性試験方法	試験片に孢子懸濁液を接種し、光照射または暗所条件下で培養後に検体を洗い出し、生菌数を測定	光触媒加工品(平板)
JIS Z 2911	かび抵抗性試験方法	試料又は試験片上に孢子懸濁液を接種し、所定期間後の発育状態を評価	工業製品 工業材料

### (1) 光触媒抗かび加工製品の抗かび性試験<sup>(3)</sup>

#### (1)-1 菌株、培養、光照射、孢子懸濁液接種と回収

試験は JIS R 1705 に定められた手順に従い実施した。その概要を図 1 に示す。まず、26°C で 7 日間培養した *Aspergillus niger* (NBRC 105649、クロコウジカビ)又は 14 日間培養した *Penicillium pinophilum* (NBRC 6345、アオカビ)を、湿潤液(dioctyl sodium sulfosuccinate 50 mg + NaCl 9 g/L)3 mL に懸濁し、ろ過後十分に孢子を分散させて血球計算版で孢子濃度を算出した。算出した濃度に基づき、孢子濃度が  $5.0 \times 10^5$  個/mL になるように湿潤液で希釈した。濃度を調整した孢子懸濁液 0.1 mL を 50 mm 角の試験片に滴下し、40 mm 角のフィルムを被せ、暗所または紫外光照射条件下で所定時間静置した。所定時間経過後、試験片をフィルムごと、懸濁液が零れないようにストマッカー袋に入れ、湿潤液 10 mL を加えて十分に揉んで孢子を洗い出した。洗い出した液(回収液)を原液として、湿潤液で 10 倍の希釈系列を作製し、各液 1 mL ずつを 2 枚のシャーレに入れ、15~20 mL のポテト・デキストロース寒天(PDA)培地を注ぎ固化させ、26°C で最大 7 日間培養した。培養後、10~99 個のコロニーが現れた希釈系列のシャーレのコロニー数を計測した。



図 1 JIS R 1705 の手順概要

今回は光触媒加工された試験片としては 50×50×1.8 mm のガラス板に膜厚 0.3 μm で光触媒が塗布された市販品を、対照となる光触媒加工されていない無加工の試験片としては同一寸法のガラス板を使用した。紫外光照射条件としては 0.5 mW/cm<sup>2</sup> の照度で 24 時間照射した。また、今回実施した試験の水準表を表 2 に示す。表 2 のとおりの条件の試験 (n=3) を、*A. niger*、*P. pinophilum* それぞれの菌株について 3 回ずつ実施した。

表2 試験水準表

試料	紫外光照射条件		
	0時間	24時間 0 mW/cm <sup>2</sup> (暗所)	24時間 0.5 mW/cm <sup>2</sup>
無加工の試験片	#1	#4	#10
	#2	#5	#11
	#3	#6	#12
光触媒加工された試験片	-	#7	#13
	-	#8	#14
	-	#9	#15

## (1)-2 抗かび活性値の算出

計測したコロニー数から回収液中の生残孢子数を算出し、JIS R 1705 において式(1)、(2)でそれぞれ定義されている紫外光照射条件における抗かび活性値  $R_L$  及び光照射による抗かび効果  $\Delta R$  を算出した。

$$R_L = \log B_L - \log C_L \dots \dots \dots \text{式(1)}$$

$B_L$  : 無加工の試験片に所定条件で紫外光照射した後の生残孢子数の平均値

$C_L$  : 光触媒加工された試験片に所定条件で紫外光照射した後の生残孢子数の平均値

$$\Delta R = R_L - \log(B_D / C_D) \dots \dots \dots \text{式(2)}$$

$B_D$  : 無加工の試験片を所定時間暗所に保存した後の生残孢子数の平均値

$C_D$  : 光触媒加工された試験片を所定時間暗所に保存した後の生残孢子数の平均値

## (2) 結果

### (2)-1 生残孢子数

*A. niger* は培養開始から 2 日目、*P. pinophilum* は 3 日目から目視でコロニーの形成が確認できた。計測したコロニー数から算出した回収液中の生残孢子数を表 3 及び表 4 にまとめる。試験成立条件として、孢子懸濁液中の単一分子が十分に分散していること以外に、①孢子懸濁液を接種した直後の無加工の試験片の生残孢子数が  $1.0 \times 10^4$  個以上  $1.0 \times 10^5$  個未満であること、②無加工の試験片の光照射後の生残孢子数が  $5.0 \times 10^3$  個以上であること、が JIS R 1705 に定められているが、*A. niger* と *P. pinophilum* のどちらの株を使用した試験も 3 回全て①、②の条件を満たしていた。

表3 生残孢子数 (*A. niger*)

試料	生残孢子数の平均値 (個/sample)		
	0時間	24時間 0 mW/cm <sup>2</sup> (暗所)	24時間 0.5 mW/cm <sup>2</sup>
無加工の試験片	$1.6 \pm 0.2 \times 10^4$	$1.5 \pm 0.2 \times 10^4$	$1.7 \pm 0.1 \times 10^4$
光触媒加工された試験片	-	$1.4 \pm 0.1 \times 10^4$	$1.2 \pm 0.5 \times 10^1$

表4 生残孢子数 (*P. pinophilum*)

試料	生残孢子数の平均値 (個/sample)		
	0時間	24時間 0 mW/cm <sup>2</sup> (暗所)	24時間 0.5 mW/cm <sup>2</sup>
無加工の試験片	$5.3 \pm 1.9 \times 10^4$	$4.1 \pm 2.1 \times 10^4$	$3.8 \pm 1.6 \times 10^4$
光触媒加工された試験片	-	$2.0 \pm 0.7 \times 10^4$	$1.0 \pm 0.0 \times 10^1$

また、コロニー数計測時の PDA 培地プレートの様子を図 2、3 に示す。紫外光照射下の光触媒加工された試験片上からの回収液を接種したプレートを除き、今回の試験条件では *A. niger* は培養 2~3 日目、*P. pinophilum* は培養 3~4 日目がコロニー数の計測に適しており、それ以上の日数が経過するとコロニー数の計測が困難になる場合が殆どであった。

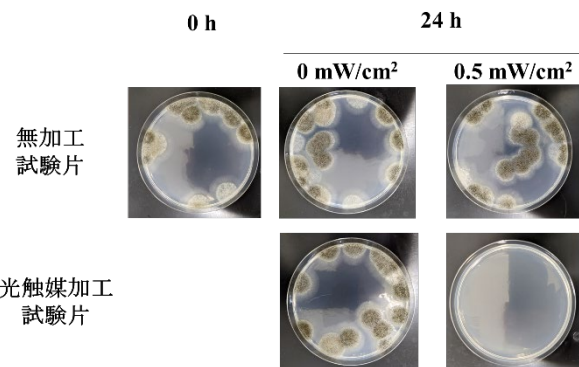


図 2 コロニー数計測時の PDA 培地プレート (*A. niger*)

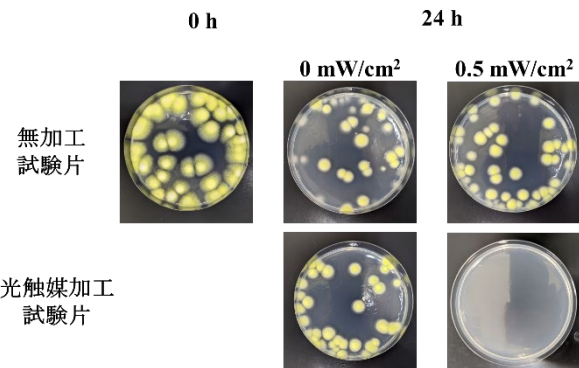


図 3 コロニー数計測時の PDA 培地プレート (*P. pinophilum*)

### (2)-1 抗かび活性値

計測したコロニー数を基に式(1)、(2)により算出した  $R_L$  及び  $\Delta R$  を表 5 にまとめる。*A. niger* と *P. pinophilum* との間に  $R_L$  値及び  $\Delta R$  値に大きな差は確認されなかったが、表 5 に示すとおり *A. niger* ( $R_L = 3.1$ ) の方が *P. pinophilum* ( $R_L = 3.5$ ) よりも光触媒加工された試験片に対しやや抵抗性が高い傾向にあり、JIS R 1705 の「解説」の記載とも一致する傾向が確認された。

表5 抗かび活性値及び光照射による抗かび効果

菌株	抗かび活性値	光照射による 抗かび効果
	$R_L (-)$	$\Delta R (-)$
<i>A. niger</i>	3.1 ± 0.2	3.1 ± 0.2
<i>P. pinophilum</i>	3.5 ± 0.2	3.2 ± 0.1

### 3. まとめと今後の予定

抗かび性試験の受託へ向けた準備として、JIS R 1705 の再現を試みた。表 5 に示したとおり、JIS R 1705 に定められたどちらの菌株を使用した場合でも、同一の試験条件においてほぼ同等の値を安定して再現されることが確認できた。すなわち、JIS R 1705 または当該規格をベースとする抗かび試験の実施体制が整ったと言える。JIS R 1705 は、光触媒加工品の細菌を対象とした抗菌性試験に関する類似規格 JIS R 1702 と異なり、基準となる値が存在しない相対的な評価であるため、基準値が存在するもう一方の抗かび性に関する定量的な試験規格 JIS L 1921 の再現にも現在取り組んでいる。実施体制が整った規格をベースにした抗かび性試験から順次、性能評価試験サービスの提供を開始し、2023 年度中には JIS Z 2911 を含めた 3 つの抗かび性又はかび抵抗性に関する試験規格をベースとする抗菌試験を受託できる体制を確立させる予定である。

#### 【参考文献】

1. Y. Moriyama, *Microbiol. Cult. Coll.*, 25, 125-130 (2009)
2. JIS L 1921, 繊維製品の抗かび性試験方法及び抗かび効果 (2015)
3. JIS R 1705, ファインセラミックス—光照射下での光触媒かび加工製品の抗かび性試験方法 (2016)
4. JIS R 1702, ファインセラミックス—光触媒抗菌加工材料の抗菌性試験方法及び抗菌効果 (2020)

# 業績

## 【原著論文】

1. Nakano R, Yamaguchi A, Sunada K, Nagai T, Nakano A, Suzuki Y, Yano H, Ishiguro H, Miyauchi M. Inactivation of Various Variant Types of SARS-CoV-2 by Indoor-light-sensitive TiO<sub>2</sub>-based Photocatalyst. *Scientific Reports*, 12, 5804 (2022)
2. Sakai T, Sunada K, Mochizuki Y, Isobe T, Matsushita S, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Antiviral and antifungal of lanthanum molybdate and copper molybdate. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 130, 370-375 (2022)
3. Shimada K, Nohara M, Shinozaki F, Tatsuda M, Watanabe T, Kamei A, Abe K. The effects of compression load to the trunk on lipid metabolism in an inactive phase. *PLoS One*, 17, e0270705. (2022)
4. Shimada K, Nohara M, Yasuoka A, Kamei A, Shinozaki F, Kondo K, Inoue R, Kondo T, Abe K. Mouse model of weak depression exhibits suppressed cAMP signal in amygdala, lowered liver steroidogenesis, and correlated gut microbiota. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16, 841450 (2022)

## 【総説】

1. 砂田 香矢乃, 宮内 雅浩. 金属酸化物の抗ウイルス活性について. *せんい*, 75, 258-265 (2022)
2. 阿部 啓子. JSPS RO21「食と未病マーカー委員会」の紹介. *The TAKASAGO Times*, 189, 31-34 (2022)
3. 篠崎 文夏. 基礎研究・ヒト介入試験トランスクリプトーム. *B & I*, 80, 270-271 (2022)
4. 嶋田 耕育. 機能性食品評価のための脳機能評価系導入と確率に向けて. *B & I*, 80, 272-274 (2022)
5. 野原 正勝. 血液を用いた未病評価システムの開発. *B & I*, 80, 275-276 (2022)
6. 阿部 啓子. 統括と展望. *B & I*, 80, 500 (2022)
7. 亀井 飛鳥. 食と未病研究の評価技術センター. *B & I*, 80, 502-503 (2022)
8. 中島 章, 磯部 敏宏, 砂田 香矢乃, 石黒 斉, 永井 武, 岩田 昌也. 希土類モリブデン酸複合酸化物を用いた新規抗ウイルス材料の開発. *Journal of the Japan Society of Colour Material*. 95, 218-210 (2022).
9. 砂田 香矢乃, 畑山 靖佳, 永井 武, 石黒 斉. 酸化チタンと酸化モリブデンを組み合わせた可視光応答型光触媒材料の抗ウイルス活性に関する研究. *JETI*. 71, 58-61 (2023)

## 【口頭発表】

1. Ishiguro H. From bacteriophage to virus - the new test method proposal. Committee of Asian Standardization for Photocatalytic Materials and Products. 2022年11月. 韓国.

(招待)

2. Ishiguro H. Standardized test method for antibacterial/antiviral activities by photocatalyst. ICPAC KK 2022. 2022年11月. マレーシア. (招待)
3. Ishiguro H. Test for antiviral activity using animal virus. ISO TC206/WG9. 2022年12月. ベルギー.
4. 石黒 斉. 光触媒ナノ粒子の安全性とリスクについて. 光触媒工業会 技術研究会. 2023年1月. オンライン.
5. 永井 武, 石黒 斉, 小林 慶一. 新型コロナウイルスを用いた抗ウイルス性能評価の提供. 第1回キングスカイフロント サイエンスフォーラム. 2023年2月. 神奈川.
6. 亀井 飛鳥, 石黒 斉. 未病と食の機能性評価. 第1回キングスカイフロント サイエンスフォーラム. 2023年2月. 神奈川.
7. 阿部 和也, 砂田 香矢乃, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 松下 祥子, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. 希土類ヨウ素酸化合物の合成とその抗菌・抗ウイルス活性. 公益社団法人日本セラミックス協会第35回秋季シンポジウム, 2022年9月. オンライン及び徳島.
8. 桐林 龍寿, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 松下 祥子, 中島 章, 砂田 香矢乃, 永井 武, 石黒 斉. LaMnO<sub>3</sub>及びLaCoO<sub>3</sub>の抗ウイルス活性と熱触媒活性. 公益社団法人日本セラミックス協会第35回秋季シンポジウム, 2022年9月. オンライン及び徳島.
9. Nakajima A, Isobe T, Sunada K, Ishiguro H, Nagai T, Iwata M. Development of new antivirals using rare-earth molybdate complex oxides. 95th JSCM Anniversary Conference "sustainable Technology in Colour Materials" 2022年10月. 東京. (招待)
10. Kobayashi N, Sunada K, Nagai T, Ishiguro H, Moshizuki Y, Isobe T, Matsushita S, Nakajima A. Decomposition of 2-naphthol in water and antiviral activity by (Ce<sub>0.8</sub>Bi<sub>0.2-x</sub>, La<sub>x</sub>)O<sub>2-δ</sub> in the dark or under visible light. 95th JSCM Anniversary Conference "sustainable Technology in Colour Materials" 2022年10月. 東京.
11. Abe K, Sunada K, Nagai T, Ishiguro H, Mochizuki Y, Isobe T, Matsushita S, Nakajima A. Preparation of rare earth iodates and their antibacterial and antiviral activities. 95th JSCM Anniversary Conference "sustainable Technology in Colour Materials" 2022年10月. 東京.
12. Kiribayashi R, Sunada K, Nagai T, Ishiguro H, Mochizuki Y, Isobe T, Matsushita S, Nakajima A. Antibacterial, antiviral and thermal catalytic activity of LaCoO<sub>3</sub> and LaMnO<sub>3</sub>. 95th JSCM Anniversary Conference "sustainable Technology in Colour Materials" 2022年10月. 東京.
13. 河合 純, 川路 英哉, 廣瀬 直毅, AMED ゲノム創薬河合班. カニクイザル 標準ゲノム配列・遺伝子モデル

の更新. 日本核酸医薬学会第7回年会. 2022年7月. 東京.

(1)国内特許出願 3件

14. 中野 竜一, 山口 晃, ○砂田 香矢乃, 永井 武, 矢野 寿一, 石黒 斉, 宮内 雅浩. 可視光応答形光触媒材料  $\text{Cu}_x\text{O}/\text{TiO}_2$  の新型コロナウイルスに対する抗ウイルス活性について. 日本防菌防黴学会第49回年次大会, 2022年9月. 東京.
15. 砂田 香矢乃, 永井 武, 小林 慶一, 青木 大輔, 濱田 健吾, 落合 剛, 中島 章, 石黒 斉. 酸化モリブデン担持酸化チタンの抗ウイルス活性とその評価法について. 第27回シンポジウム「光触媒反応の最近の展開」, 2022年12月. オンライン.
16. 亀井 飛鳥, Yizhi Liu, 松浦 洋, 吉本 秀輔, 柴田 健雄, 片山 和彦, 江連 耕太郎, 水原 義史, 篠崎 文夏, 笠口 隆重, 池内 眞弓, 岸本 憲明, 高清水 眞二, 西崎 泰弘, 阿部 啓子. タスク実行に伴うストレス状態の評価における簡易型脳波計活用の検討. 第29回日本未病学会学術総会, 2022年11月. 千葉.
17. 黒田 拓也, 安田 智, 松山 さと子, 三浦 巧, 澤田 留一, 松山 晃文, 森岡 勝樹, 粕川 雄也, 山本 由美子, 川路 英哉, 伊藤 昌可, 阿久津 英憲, 河合 純, 佐藤 陽治. 神経細胞製造の原料としてのヒト多能性幹細胞の品質試験法の開発. 日本再生医療学会第2回科学シンポジウム. 2022年12月. 神奈川.
18. 三浦 巧, 河野 掌, 高野 慈美, 黒田 拓也, 山本 由美子, 草川 森土, 森岡 勝樹, 菅原 亨, 平井 孝昌, 安田 智, 澤田 留美, 松山 さと子, 川路 英哉, 粕川 雄也, 伊藤 昌可, Jay W Shin, 梅澤 明弘, 河合 純, 佐藤 陽治. 間葉系幹細胞の薬理効果に寄与するバイオマーカーの効率的な同定法の開発. 日本再生医療学会第2回科学シンポジウム. 2022年12月. 神奈川.
19. 黒田 拓也, 安田 智, 松山 さと子, 三浦 巧, 澤田 留美, 松山 晃文, 森岡 勝樹, 粕川 雄也, 山本 由美子, 川路 英哉, 伊藤 昌可, 阿久津 英憲, 河合 純, 佐藤 陽治. ヒト iPS 細胞における神経予測マーカーによる神経分化調節機構の解明. 第22回日本再生医療学会総会. 2023年3月. 京都.
20. 三浦 巧, 河野 掌, 高野 慈美, 黒田 拓也, 山本 由美子, 草川 森土, 森岡 勝樹, 菅原 亨, 平井 孝昌, 安田 智, 澤田 留美, 松山 さと子, 川路 英哉, 粕川 雄也, 伊藤 昌可, Jay W Shin, 梅澤 明弘, 河合 純, 佐藤 陽治. 単一細胞遺伝子発現解析による間葉系幹細胞の血管新生予測バイオマーカーの探索. 第22回日本再生医療学会総会. 2023年3月. 京都.
21. 亀井 飛鳥, 梅津 晶, 佐々木 結子, 嶋田 耕育, 井原 雄太, 篠崎 文夏, 岩井 雅子, 三留 夏野子, 矢野 淳, 下嶋 美恵, 阿部 啓子, 太田 啓之. 高脂肪食摂取マウスに対する微細藻類ナンノクロロプシス抽出物による体重増加抑制および肝臓コレステロール代謝改善作用. 日本農芸化学会 2023年度大会. 2023年3月. オンライン.

## 【特許】