

低濃度オゾンガスによる新型コロナウイルスの不活化

Inactivation of novel coronavirus by low concentration of ozone gas

○村田貴之

藤田医科大学医学部

論文要旨

新型コロナウイルスは 2019 年中国湖北省より感染が広がり、世界的パンデミックとなって現在もお収束の目処が立たない。この感染拡大を抑制するためには、抗ウイルス薬やワクチンの開発と並んで、付着したウイルスや飛沫に含まれるウイルスを不活化する技術の開発が重要である。本研究では、新型コロナウイルスを人体に許容される低濃度のオゾンガスで処理することによって、ウイルスの感染性を効果的に減少することができることを世界に先駆けて明らかにした。

Novel coronavirus outbreak started in late 2019 from Wuhan, China, and the virus is still posing a major threat to the world. In order to contain the pandemic, developing technologies to inactivate the virus in airborne droplets and on the surface of objects is of importance. Here, we show for the first time in the world that low concentration of ozone gas that is permissive for human did inactivate the virus infectivity.

キーワード：新型コロナウイルス, オゾンガス, 低濃度

1. はじめに

新型コロナウイルスはエンベロープを有するプラス鎖 RNA ウイルスであり、コロナウイルス科ベータコロナウイルス属に分類される。ウイルスのゲノム配列が、2003 年末に中国広東省を起源として発生し、2004 年夏に収束した重症肺炎の原因ウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV, Severe acute respiratory syndrome coronavirus) に類似しているため、学術論文等では SARS-CoV-2 という表現が使用される。新型コロナウイルスは 2019 年末に中国湖北省から拡大しパンデミックとなって、およそ 2 年が経過した現在も収束していない。主に接触感染及び飛沫感染によって感染を広げ、感染するとまず発熱、頭痛、倦怠、発咳、咽頭痛などのカゼ様症状を呈し、のちに重症化して肺炎、急性呼吸窮迫症候群となる場合がある。特に高齢者や基礎疾患のある人では重症化するリスクが高い。致死率は 2%程度と推計されており、公衆衛生上の大きな脅威となっている。

新型コロナウイルスあるいは新型コロナウイルス感染症 (COVID-2019, coronavirus disease 2019) に対してはすでに複数の抗ウイルス薬、ワクチン、治療薬が認可されている。また手洗い、マスク着用、密集を避けるなどの行動によっても感染の拡大をある程度抑えられることも明らかになっている。しかしながら、変異株の出現や、自粛疲れなどもあり、未だ感染を抑え込むことができていない。故に上記のような手段に加えて、飛沫中のウイルスあるいは付着したウイルスを効果的に消毒する手段の必要性は高い。

オゾンはその高い酸化力によって、インフルエンザウイルスや大腸菌など、多くの病原体を不活化することがすでに証明されている。さらに我々が研究を開始した時には、高濃度のオゾンガスが新型コロナウイルスを効率よく不活化するという報道がすでになされていた。そこで本研究では、特に人体に対して安全とされる低い濃度のオゾンで処理することで新型コロナウイルスを不活化することができるか、検討した。

2. 材料と方法

2.1 細胞とウイルス

新型コロナウイルスの細胞への侵入を仲介する TMPRSS2 遺伝子を安定的に発現する Vero 細胞（VeroE6/TMPRSS2 細胞）は、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクより入手し、ダルベッコ変法イーグル最小必須培地（Nacalai-Tesque）に 5%のウシ胎児血清とペニシリン/ストレプトマイシン（Sigma-Aldrich）を添加した培養液で培養した。新型コロナウイルスは神奈川県衛生研究所より入手した SARS-CoV-2/Hu/DP/Kng/19-020 株を、VeroE6/TMPRSS2 細胞で増幅したのち使用した。

2.2 オゾンガス処理

オゾンガス処理装置は（株）タムラテコの協力により作製した。アクリル製の気密容器の中にオゾンガス発生装置、オゾン濃度測定装置、温湿度計を入れ、オゾンガスの濃度が 0.1 もしくは 0.05ppm で維持できるように設計されている（図 1）。

ウイルス液(50 μ L)を、直径 2cm ほどのステンレスのディスク（図 2）の上面に滴下、乾燥させた。ウイルスが付着したディスクを上記の装置に収め、意図した時間までオゾンガスに暴露した。その後ディスクに付着しているウイルスを、培養液で懸濁して回収した。同じ条件で 3 つのサンプルを試験し、それらの平均をウイルス力価とした。

図 1. オゾンガス処理装置

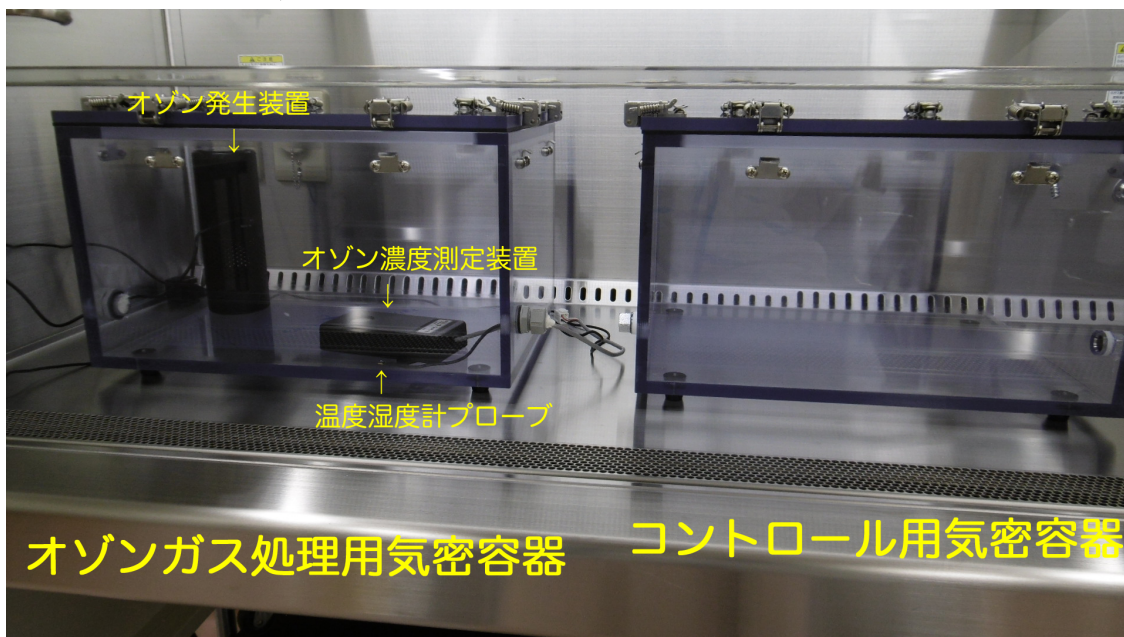


図 2. ステンレス製ディスク（プラスチック製シャーレに載せてある状態）

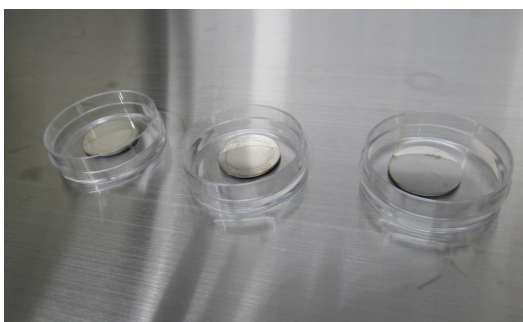
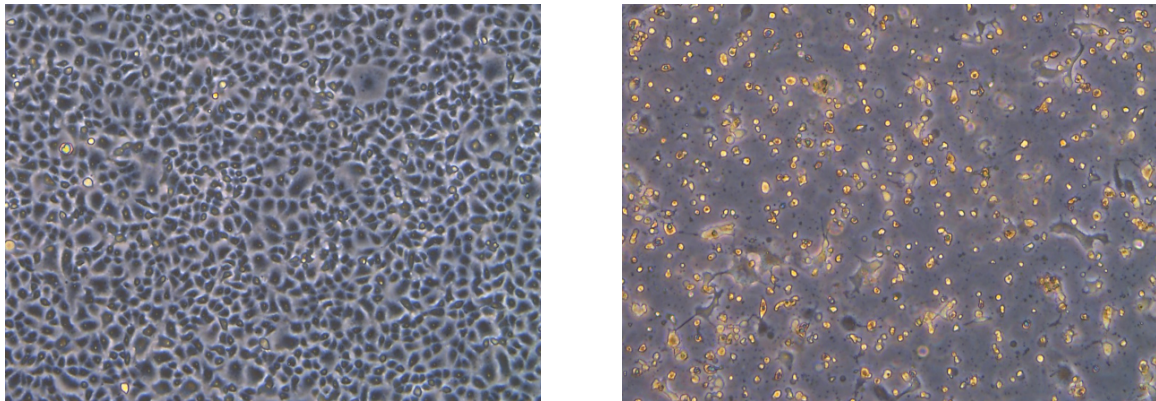


図3. 正常な細胞形態（左）と、新型コロナウイルス感染によって細胞変性効果が生じた細胞の形態（右）



2.3 ウイルス力価計測

回収したウイルス液に含まれる感染性ウイルスは、TCID₅₀ (tissue culture infectious dose 50) を算出することで定量した。まず VeroE6/TMPRSS2 細胞を前日 96 ウェルプレートに播種する。当日、回収したウイルス液を、培養液で 10 倍段階希釈し、96 ウェルプレートの細胞 1 ウェルあたり 100μL ずつ感染させた。ウイルスが細胞に感染すると、細胞が異常な形態となる（図3）。これを細胞変性効果という。何倍まで希釈した場合にこの細胞変性効果が見えなくなるかを観察することによって、感染性ウイルスを定量した。

3. 結果

3.1 0.1ppm、湿度 80%

作業環境基準として日本産業衛生学会が定める許容濃度である、0.1ppm のオゾンについてまず検討した。オゾンは、水分が存在すると、より酸化力が強いヒドロキシラジカルを産生するため、高い効果が得られることが知られている。このためオゾンガス処理装置内に水の入った容器を設置し、平均 80% 程度の高い湿度を保って実験を行った。コントロールの、オゾンを産生していない装置にも同様に水の入った容器を設置した。結果、0.1ppm オゾン 4 時間処理で新型コロナウイルスの感染性は平均 73.2% 減少した。7 時間では 86.7%、10 時間では 95.4% 減少した（図4）。

3.2 0.05ppm、湿度 80%

次に、米国食品医薬品局（FDA）が室内環境基準として定める 0.05ppm のオゾンについて検討した。湿度約 80% において、8 時間で 60.9%、14 時間で 82.4%、20 時間で 94.3% 新型コロナウイルス力価が減少していた（図4）。

3.3 0.1ppm、湿度 50%

最後に、日本産業衛生学会が定める 0.1ppm のオゾンについて、湿度 50% の条件で効果を検討した。ウイルス力価は、4 時間で 46.9%、7 時間で 54.0%、10 時間で 68.4% 減少していた（図4）。

4. 考察

新型コロナウイルスによるパンデミックは、公衆衛生上の大きな問題となっている。これまでに世界でおよそ 2 億人が感染、420 万人が死亡、日本ではおよそ 100 万人が感染し 1 万 5 千人が死亡している（2021 年 8 月 3 日現在）。発症/重症化予防効果の高いワクチンが開発されたが、感染を完全に抑えることはできず、また変異株の出現もあり、今なおマスク着用や手指消毒などの従来法による感染抑止が必要である。この

点、オゾン飛沫のウイルスも不活化することができ、複雑な形状の家具等の消毒にも効果を発揮する。また原理を考えれば、どのような変異株にも有効であることが推察される。

本研究では特に人体に許容される低い濃度のオゾンであっても新型コロナウイルスに対して一定の効果を有することを証明した。人体に安全なレベルで新型コロナウイルスを不活化できることが示された消毒法は今もほとんどなく、重要性が高い。低濃度オゾンガスは、換気が困難な部屋や、どうしても人がいなければいけないような場所において、有効性が高いと考えられる。

一方でオゾンガスは、ベストの効果をj得るためには湿度の高い条件が必要となる。さらに低濃度オゾンガスは、単独で完全にウイルスを不活化できるほどの非常に高い効果を有しているわけではない。このような長所と短所をよく理解した上で、手洗いやマスク着用など他の感染防護法とも組み合わせつつ、トータルとして感染を抑制していくことが肝要と考える。本研究では安全で有効なコロナウイルス不活化方法の一つの選択肢として、低濃度オゾンを提案させて頂いた。

図4. 低濃度オゾンガス処理による新型コロナウイルス力価の減少

