

原 著

ニンニク抽出液のインフルエンザ 感染防御に及ぼす影響

湧永薬品株式会社ファーマコン製薬研究所

永井勝次

多くのウイルス疾患では、有効な化学療法剤が発見されていないので、ワクチンによる予防が重要になつている。しかし、インフルエンザワクチンについては、現在でも幾つかの問題があり、有効性に関する議論されている。インフルエンザウイルスは抗原変異が起り易く、流行株の抗原性がたえず変つているので、ワクチンに使用する株の選択に時間を要し、流行を初期に阻止するのは困難である。又、インフルエンザの局所免疫の担い手は、気道粘膜の分泌 IgA 抗体であり、血清中の循環抗体ではない¹⁾。気道粘膜の分泌 IgA 抗体の産生を能率的に惹起するには、ワクチンの局所投与が良いとされているが²⁾、まだ一般には行なわれていない。従つて、株特異性が少なく、投与方法が簡便な感染阻止物質の開発が必要である。そこで、東洋では古くおら経験的にニンニクが使用され、その効果が認められているが、ニンニクの有効性を検証する目的のために実験を試みたので報告する。

実験材料および方法

1. マウス

dd YS 系で体重12g ± 1g 又は20g の雌雄を使用した。

2. ワクチンおよび攻撃ウイルス

インフルエンザワクチン(北研製)および日本脳炎ワクチン(千葉血清製)とも、マウスには0.1ml を1回のみ皮下接種した。攻撃には、インフルエンザウイルス AO/PR 8株を、日本脳炎ウイルス JaGAR 01株とも、鼻腔内滴下した。

3. ニンニク抽出液および投与方法

ニンニクを低濃度エタノールで抽出したものに

ビタミン B₁, B₁₂ および肝臓エキスを最終濃度10mg/ml, 1γ/ml, および50mg/ml になるように添加したものをニンニク抽出液として使用した。マウスにワクチン接種する15日前より毎日0.2ml あるいは0.002ml ずつ経口投与した。

4. 血清中のウイルス感染阻止因子の測定

ワクチン接種後は3日, 7日, 10日, 14日目に、各実験群とも10匹ずつのマウスから採血し、血清をプールしたものを使用した。ウイルス量、血清などの実験操作は定法により、37°Cで1時間放置後、インフルエンザウイルスの場合は、20g マウスに鼻腔内滴下、日本脳炎ウイルスの場合は、12g マウスに同様鼻腔内滴下して3週間観察して測定した。

5. 中和抗体の測定法

被検血清に飽和硫酸アンモニウム溶液を等量加えてグロブリンを分画しては(4)の方法と同様にして測定した。

実験成績

1. インフルエンザワクチンおよびニンニク抽出液の感染防御に及ぼす影響

表Iに示したごとくに実験マウス群を設け、各実験群のマウスで、同一ウイルス量の感染価を測定して防御対数を算出した。

ワクチンのみを接種したマウス実験群の防御対数は、雌では1.0、雄では1.2であり、有意の差は認められない。ニンニク抽出液を毎日0.2ml 投与し、ワクチンを接種した実験群のマウスの防御対数は、雌で2.3、雄で2.4であり、ワクチン単独接種群のマウスより約20倍高く感染防御効果を示した。ニンニク抽出液を毎日0.002ml ずつ

表Ⅰ インフルエンザワクチンとニンニク抽出液の感染防御に及ぼす影響

性別	ニンニク抽出液の投与量 (ml/day) ¹⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	LD ₅₀ ³⁾ (Log 10)	防御対数 (Log 10)
♀	0.2	0.1	2.5	2.3
	0.002	0.1	3.8	1.0
	—	0.1	3.8	1.0
	0.2	—	2.7	2.1
	0.002	—	4.2	0.6
	—	—	4.8	0
♂	0.2	0.1	2.8	2.4
	0.002	0.1	4.2	1.0
	—	0.1	4.0	1.2
	0.2	—	3.2	2.0
	0.002	—	4.8	0.5
	—	—	5.2	0

- 1): ワクチン接種10日前より経口投与
 2): 皮下接種1回
 3): ワクチン接種2週間後に各実験マウス群で同一ウイルス量の感染価を測定

投与し、ワクチンを接種した実験群のマウスでは、ワクチン単独接種群のマウスと同じ防御対数を示した。他方、ニンニク抽出液のみを投与した実験群のマウスでも、0.2ml ずつ投与した群では、防御対数は雌では2.1、雄では2.0であり、ワクチンを併用した時と同程度の感染防御効果が認められた。

しかし、ニンニク抽出液0.002mlの単独投与群マウスの防御対数は、雌で0.6、雄で0.5ではワクチン単独接種群マウスの感染防御効果より低い。

2. 日本脳炎ワクチンとニンニク抽出液の感染防御に及ぼす影響

インフルエンザの実験と同じ実験群を設定し、感染防御対数を算出した。表Ⅱに示したように、ワクチン単独接種群マウスの防御対数は1.0で雌雄の差は認められない。また、ニンニク抽出液を併用しても、ワクチン単独の場合と差は認められず、ニンニク抽出液単独投与群マウスでは、感染防御対数は、0.6~0.7でインフルエンザの場合にくらべて防御効果は低い。

3. インフルエンザワクチンとニンニク抽出液による血清中のウイルス感染阻止因子の消長

表Ⅱ 日本脳炎ワクチンとニンニク抽出液の感染防御に及ぼす影響

性別	ニンニク抽出液の投与量 (ml/day) ¹⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	LD ₅₀ ³⁾ (Log 10)	防御対数 (Log 10)
♀	0.2	0.1	4.8	1.0
	0.002	0.1	4.8	1.0
	—	0.1	4.8	1.0
	0.2	—	5.2	0.6
	0.002	—	5.5	0.3
	—	—	5.8	0
♂	0.2	0.1	5.2	1.0
	0.002	0.1	5.2	1.0
	—	0.1	5.2	1.0
	0.2	—	5.5	0.7
	0.002	—	5.8	0.4
	—	—	6.2	0

- 1): ワクチン接種10日前より経口投与
 2): 皮下接種
 3): ワクチン接種2週間後に各実験マウス群で同一ウイルス量の感染価を測定

ニンニク抽出液投与マウスにワクチンを接種すると、インフルエンザの場合は、ワクチン単独接種マウスよりも感染防御効果は大きい。これに反して、日本脳炎の場合には、ニンニク抽出液投与マウスにワクチンを接種しても、ワクチン単独接種マウスと感染防御効果に差を認めなかつた。この機転を解明するために、ニンニク抽出液0.2ml、あるいは0.002ml投与マウスにワクチンを接種した場合、またワクチン単独接種マウスから経口的に血清を採り、全血清あるいはグロブリン分画の感染阻止活性と中和活性を測定した。表Ⅲのごとく、ワクチン単独接種マウスの血清中に出現するウイルス感染阻止活性は、ワクチン接種後7日目に4倍の活性を認め、14日後に50倍の活性を認めた。ニンニク抽出液0.2ml投与マウスにワクチンを投与すると、3日後から高い感染阻止活性が検出された。しかし、各実験群マウスの血清からグロブリン分画を抽出して感染阻止活性を測定すると、表Ⅳに示したように、ワクチン単独接種マウスと同程度の活性しか認められなかつた。またワクチン単独接種マウスでは、全血清とグロブリン分画の示す感染阻止活性の間に有意の

表Ⅲ インフルエンザワクチンとニンニク抽出液による血清中のウイルス感染阻止因子の消長

性別	ニンニク抽出液の投与量 (ml/day) ¹⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	血清中のウイルス感染阻止活性 (Log 10)			
			3日後	7日後	10日後	14日後
♀	0.2	0.1	1.8	2.0	2.3	2.5
	0.002	0.1	0.8	1.0	1.7	2.3
	—	0.1	—	0.6	1.2	1.7
♂	0.2	0.1	1.8	1.8	2.0	2.5
	0.002	0.1	0.5	0.8	1.3	2.0
	—	0.1	—	0.5	0.8	1.5

1): ワクチン接種10日前より経口投与

2): 皮下接種1回

表Ⅳ インフルエンザワクチンによる中和抗体産生に及ぼすニンニク抽出液の効果

性別	ニンニク抽出液の投与量 (ml/day) ²⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	中和抗体価 (Log 10) ³⁾			
			3日後	7日後	10日後	14日後
♀	0.2	0.1	—	0.5	1.2	1.8
	0.002	0.1	—	0.5	1.0	1.6
	—	0.1	—	0.5	0.8	1.5
♂	0.2	0.1	—	0.5	1.0	1.5
	0.002	0.1	—	—	—	1.5
	—	0.1	—	0.5	0.8	1.3

1): ワクチン接種10日前より経口投与

2): 皮下接種1回

3): 血清グロブリン分画中の中和活性

表Ⅴ 日本脳炎ワクチンとニンニク抽出液による血清中のウイルス感染阻止因子の消長

性別	ニンニク抽出液の投与量 (ml/day) ¹⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	血清中のウイルス感染阻止活性 (Log 10)			
			3日後	7日後	10日後	14日後
♀	0.2	0.1	0.4	1.0	1.7	2.0
	0.002	0.1	—	0.7	1.7	1.7
	—	0.1	—	—	1.0	1.8
♂	0.2	0.1	0.4	0.7	1.3	1.7
	0.002	0.1	—	0.7	1.0	1.7
	—	0.1	0.4	—	1.0	1.7

1): ワクチン接種10日前より経口投与

2): 皮下接種1回

差は認められない。以上の成績から、マウスにニンニク抽出液を投与すると、ワクチン刺激による中和抗体の産生を増強することなく、グロブリン分画以外の血清分画中に感染阻止因子が出現してくると考えられる。

日本脳炎の場合は表Ⅴ、表Ⅵに示したように、ニンニク抽出液投与マウスにワクチンを接種した場合とワクチン単独接種した場合とで、全血清とグロブリン分画中の感染阻止活性の間に有意の差は認められなかった。

表VI 日本脳炎ワクチンによる中和抗体産生に及ぼすニンニク抽出液の効果

性 別	ニンニク抽出液の投与量 (ml) ¹⁾	ワクチンの接種量 (ml) ²⁾	中和抗体価 (Log 10) ³⁾			
			3日後	7日後	10日後	14日後
♀	0.2	0.1	—	0.5	0.8	1.7
	0.002	0.1	—	0.3	0.7	1.5
	—	0.1	—	0.4	0.7	1.5
♂	0.2	0.1	—	0.8	1.0	1.5
	0.002	0.1	—	0.3	0.7	1.3
	—	0.1	—	0.3	0.7	1.5

1): ワクチン接種10日前より経口投与

2): 皮下接種1回

3): 血清グロブリン分画中の中和活性

考 察

ニンニク抽出液をマウスに適当な量を投与することによりインフルエンザウイルスに対する感染防御効果を高めることが出来る。これは、インフルエンザウイルスに対する抗体産生を増強するためではなく、血清中に感染阻止因子が出現することによる。この感染阻止因子の性状や生物学的特異性については、今後の研究にまたなければならぬ。循環抗体のように、血清中に出現するが、インフルエンザウイルスの感染の場である気道粘膜に移行し難い物質であれば感染防御能を発揮できないから³⁾、この感染阻止因子は、粘膜表面に移行し得るものと考えられる。また、この感染阻止因子はインターフェロンと異なり、インフルエンザウイルス粒子に直接作用して感染性を消失させる。ところが日本脳炎ウイルスは、この感染阻止因子に感受性がない。感染阻止物質の作用の特異性については、現在実験を進めているが、AO/PR 8株のみならず、A 2型、B型のウイルスにも感染阻止作用を示す。インフルエンザウイルスのように抗原変異の起り易いウイルスでは、流

行株の抗原性がたえず変つているので、ワクチンによる予防は難事である。従つて、このような特異性の広い感染阻止は、実際、インフルエンザの流行の阻止に有効である可能性がある。

結 論

ニンニク抽出液をマウスに経口投与するとインフルエンザウイルスに対しては感染防御効果が認められたが、日本脳炎ウイルスには認められなかった。ニンニク抽出液投与マウスの血清中に感染阻止活性を認めた。血清中のグロブリン分画以外のところに存在した。また、ニンニク抽出液は、中和抗体の産生を増強する作用はない。

終りに臨み、実験の補佐して頂いた熊谷孝史及び伊藤邦夫両研究員に厚くお礼を申し上げる。

参考文献

- 1) Rossen, R.D. et al.: JAMA, 211: 1157—, 1970.
- 2) Mann, J.J. et al.: J. Immunol., 100: 726—, 1968.
- 3) Fazekas de St. Groth, S. et al.: Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci., 29: 323—, 1951.

Experimental Studies on the Preventive Effect of Garlic Extract against Infection with Influenza Virus

Katsuji NAGAI

Pharmakon Research and MFG. Laboratories, Wakunaga

Pharm. CO. LTD., Kobe, Japan

Preventive effect of garlic extract added with vitamines B₁, B₁₂, and liver extracts against influenza

infection in mice (ddYS) pernasally inoculated with influenza virus AO/PR 8 strain was studied.

The experiment revealed that the garlic extract, contrary to Japanese encephalitis case, further heightened the preventive effect of influenza vaccines and in the case of using alone it was as effective as vaccines.

In order to analyze that augmented preventive activity against influenza infection, the activity of globulin fraction extracted from the mice was measured. But, no increase has been seen in the activity in that fraction. Then, it is presumed that it is not neutralization antibody but other preventive factor or factors that was prompted to increase.