



2025年2月12日

兵庫県立大学、徳島大学、富山県立大学

緑茶に含まれる茶カテキンは酵素活性部位への結合を介して新型コロナウイルスの 酵素メインプロテアーゼを阻害する ～食による感染症予防に期待～

研究の概要

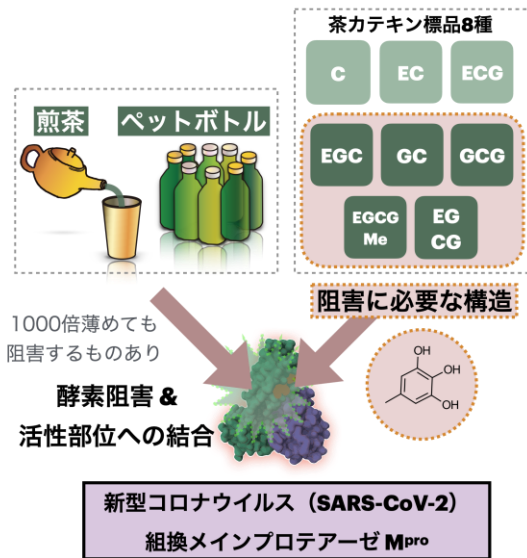
新型コロナウイルスの複製に必須な酵素メインプロテアーゼ (M^{pro}) に対する茶カテキン類の阻害効果を検討しました。解析したカテキン類8種のうち、エピガロカテキンガレート(EGCG)を含む5種のカテキン類が用量依存的に組換えウイルス酵素を阻害しました。茶カテキンはウイルス酵素の5つの部位(配列)と優先的に共有結合を形成し、なかでも酵素活性部位(システイン145残基を含む配列)で最も明瞭でした。10種類の市販ペットボトル茶とウイルス酵素を保温したところ、4種類の緑茶(135倍希釈)はウイルス酵素を80%以上阻害しましたが、ブレンド茶と麦茶は効果を示しませんでした。煎茶(600倍希釈)、ティーバッグの緑茶(700倍希釈)でも阻害が認められました。ウイルス酵素を発現している培養細胞の培地にEGCGを添加して細胞と保温すると、細胞内からEGCGが結合したウイルス酵素が見つかりました。細胞内で茶カテキンとウイルス酵素が直接結合したことを報告する最初の研究となります。このことは緑茶カテキンが感染細胞内のウイルス酵素を阻害しうることを示唆しています。

本研究はアメリカ化学会が刊行する国際学術雑誌『Journal of Agricultural and Food Chemistry』に、2025年2月5日、オンライン掲載されました。

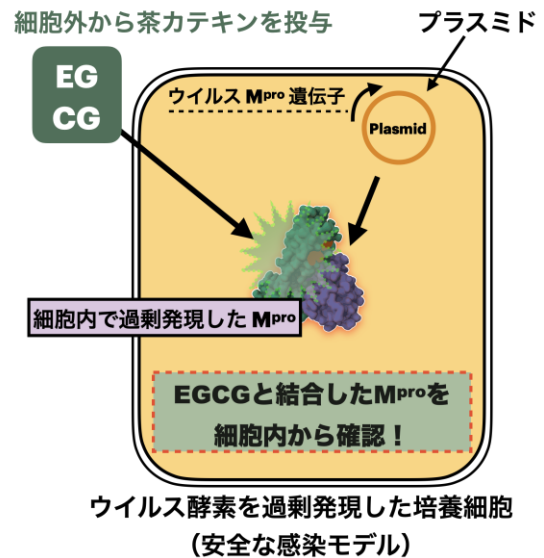
本研究で得られた主な成果

- 1) 緑茶に含まれる茶カテキンに強いウイルス酵素メインプロテアーゼ阻害を見出し、酵素活性部位 **C1745** への結合を確認しました。酵素阻害に大きく寄与する化学構造も明らかとなりました。
- 2) ペットボトルの緑茶に強い阻害活性を見出し、ウイルス酵素メインプロテアーゼに対する茶成分の結合を確認しました。急須で淹れた煎茶やティーバッグ(緑茶)で淹れたお茶においても、高い阻害作用を見出しました。
- 3) ウイルス酵素メインプロテアーゼの遺伝子を培養細胞に導入し、ウイルス酵素を過剰発現する安全安心なウイルス感染モデルを用い、細胞内発現しているウイルス酵素メインプロテアーゼに対し、細胞外から作用させた茶カテキン **EGCG** が細胞内で結合することを初めて明らかにしました。
- 4) 酵素の活性部位 (**C1745**) を変異させた酵素活性を持たないメインプロテアーゼも用い、野生型(活性を持つ酵素)と比較することで、細胞内でもウイルス酵素の活性部位に茶カテキンが結合することでその酵素活性を失わせることを示しました。

細胞外（試験管内）実験



培養細胞内実験



研究の背景

世界でパンデミックを引き起こした新型コロナウイルスは、その症状は軽くなりながらも国内外で未だに感染が続いています。過去の例からみても、数年～十数年内に次なるコロナウイルスなどの新たな感染症の蔓延（パンデミック）も懸念されています。新型コロナウイルスに対しては、塩野義製薬やファイザーから新型コロナウイルスの酵素メインプロテアーゼ(M^{pro})を標的とした経口治療薬が開発され、使用されています。日々の食を通じた感染予防も期待されており、様々な研究がなされてきました。お茶は感染症予防効果を期待されている候補の一つです。お茶にウイルスを入れるとウイルスが不活性化する、ペットボトルのお茶でも感染を抑制する、などが報告されています。お茶に含まれる茶カテキンであるエピガロカテキンガレート (EGCG) などがメインプロテアーゼを阻害する作用を持つことも知られています。一方で、EGCG がどのようにしてメインプロテアーゼを阻害するのか、また、感染細胞内でもメインプロテアーゼを阻害しうるのか、についての十分な知見は得られていませんでした。なお、新型コロナウイルスは実験する者に感染の恐れもあるため、バイオセキュリティの確保されている特殊な施設において、かつ、高いスキルを有している研究者のみが扱うことができます。

研究の内容

まず始めに、感染の恐れがないメインプロテアーゼの組換体（精製品）を用意しました。この組換酵素を用いて、お茶に含まれるカテキン8種の阻害活性を調べました。そのうち、5種のカテキン（メチル化されたEGCG、EGCGなど）に極めて強い阻害活性が認められました。残り3種については、阻害活性が弱い、あるいは、阻害活性が認められませんでした。阻害に伴い、メインプロテアーゼに茶カテキン1分子あるいは2分子が結合していました。メチル化EGCGを用いてさらに詳細に調べたところ、メインプロテアーゼの5箇所の配列にメチル化EGCGが結合していることがわかりました。そのうち、メインプロテアーゼの活性部位（システイン 145 番目 (C145)) を含む配列に最も強いシグナルが認められまし

た。解析を進めると、EGCG のどの部分が メインプロテアーゼ に結合しているかも明らかになりました。これらのことから茶カテキンにおいて、ウイルス酵素阻害に大きく関与している構造は水酸基が3つ並んだピロガロール基（カテキンの B 環に存在）であることがわかりました。

市販ペットボトルのお茶 10 種を用意して、メインプロテアーゼ に対する阻害活性を調べました（図 1 A）。10 種のうち、緑茶 8 種は阻害が認められましたが、麦茶やブレンド茶は阻害しませんでした。1000 倍薄めても酵素活性を 50%以上阻害する緑茶もありました。阻害に伴い、緑茶に含まれる茶カテキンが メインプロテアーゼ に結合していることも見出しました。急須で淹れた煎茶（600 倍希釈して測定）やティーバッグの緑茶（700 倍希釈して測定）についても調べました（図 1 B）。いずれも緑茶成分の抽出時間が長くなると阻害活性の増加が認められ、5 分後には酵素活性が 15~25%程度まで低下しました。

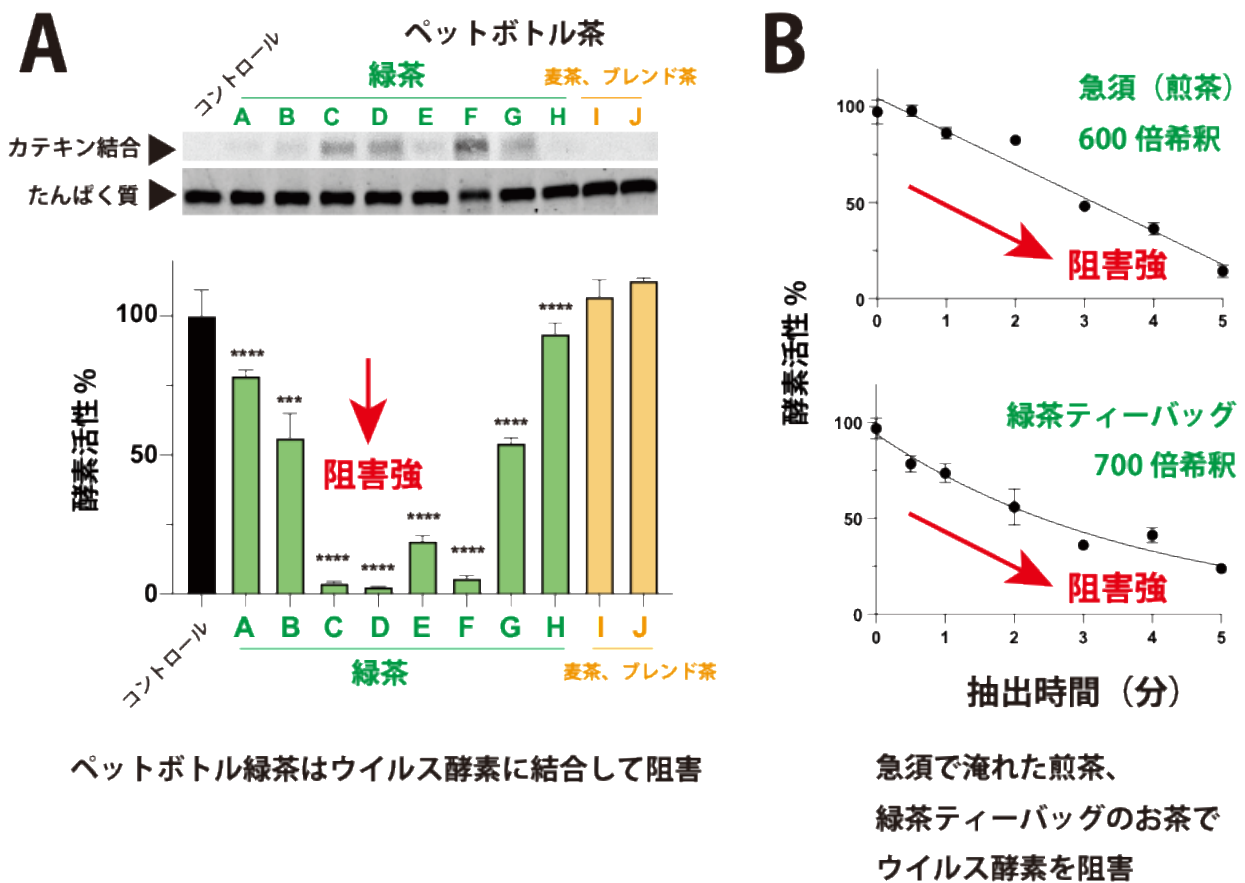


図 1 ペットボトル茶（緑茶）、煎茶、ティーバッグ緑茶によるウイルス酵素メインプロテアーゼの阻害
緑茶のペットボトル茶によりウイルス酵素が阻害され、茶の成分がウイルス酵素に結合していることを示している。急須
やティーバッグで淹れた緑茶でも抽出時間とともに阻害活性が増加。

実際に「ウイルス感染細胞内で発現しているウイルス酵素に茶カテキンが作用するのか？」は、解決して
いない問いです。その問いに対する答えを探りたいと考えますが、ウイルス感染細胞を扱うのは、実験者
に感染の危険を伴います。そこで本研究では、古典的とも言える プラスミド を培養細胞に導入する トラ
ンスフェクション法 を活用することにしました。培養細胞にウイルス由来の メインプロテアーゼ の遺伝
子を導入し、過剰発現させました。なお、この手法は安全面で優れているのみならず、ウイルス感染に伴

う他の事象の影響を排除できるため、メインプロテアーゼのみに焦点をあてることができます。ウイルス酵素を発現した培養細胞に茶カテキン (EGCG) を1時間作用させ、その後、細胞内タンパク成分を回収しました。EGCG が結合しているタンパク質を選択的に取りだして調べたところ、メインプロテアーゼが含まれていることがわかりました (図2 A)。また、システイン 145 番目をアラニンに変えた変異型酵素の遺伝子をトランスフェクションした細胞を用いた実験では、天然のウイルス由来の酵素 (野生型) に対して細胞内における EGCG 修飾が約 25%少ないことがわかりました (図2 B)。このことから、細胞内でも酵素の活性部位に EGCG が優先的に反応していることが示唆されました。

- ・細胞外から加えた茶カテキン (EGCG) が細胞内に入り、ウイルス酵素メインプロテアーゼと結合
- ・メインプロテアーゼ活性部位の変異型では結合量が減る→細胞内で活性部位に結合→細胞内で酵素活性を阻害

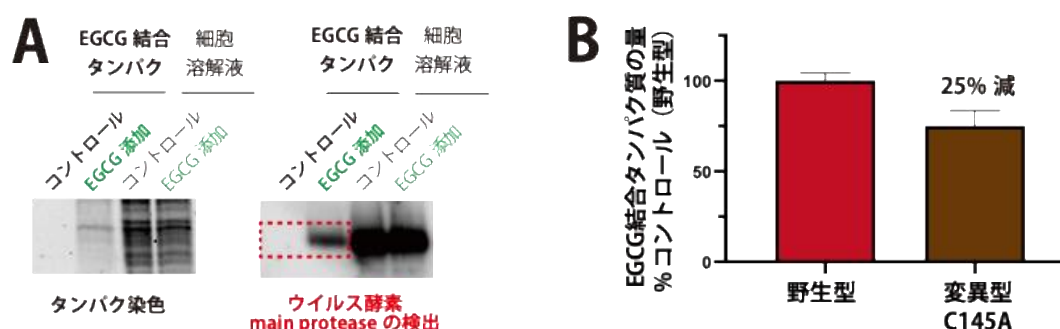


図2 細胞外から作用させた茶カテキン EGCG が細胞内で発現しているウイルス酵素メインプロテアーゼと結合

野生型 (天然に存在しているウイルス酵素の遺伝子と同じ) に比べて、変異型 (ウイルス酵素の活性部位に存在するシステイン 145 番目をアラニンに変化させて活性を発現できなくしたもの) では、茶カテキンによる結合量が減少。細胞内で茶カテキンがウイルス酵素の活性部位に結合して酵素阻害することを示している。

研究の展望

本研究では、茶カテキンが生体内に近い濃度でウイルス酵素メインプロテアーゼ (組換え体) を阻害することを見出しました。ペットボトルの緑茶、急須で淹れた煎茶、ティーバッグのお茶もウイルス酵素を阻害することを明らかにしました。また、茶カテキン EGCG が細胞内でウイルス酵素に結合し、ウイルス酵素阻害を誘導しうることも見出しました。しかしながら、ヒトの体の中では、茶カテキンのみならず多くの食品由来の成分は素早く分解・代謝されることが知られています。感染した人の体内で茶カテキンのような食に由来する成分がウイルス酵素阻害作用を発揮するか? については、今後の課題といえます。製薬会社がデザインした新型コロナウイルスのメインプロテアーゼを標的とした治療薬とは異なり、茶カテキンはウイルス酵素のみを阻害することは考えにくく、細胞内では様々な標的と相互作用することが予想されます。緑茶の健康効果は大きく期待されているところですが、その生物作用については更なる研究が必要です。

研究成果の発表

- 論文タイトル：Tea catechins in green tea inhibit the activity of SARS-CoV-2 main protease via covalent adduction（参考訳：緑茶カテキンは新型コロナウイルスのメインプロテアーゼに対して付加結合を介して阻害する）
- 著者：加藤陽二、鈴木咲子、東山明香里、金子一郎、赤川貢、西川美宇、生城真一
- 掲載誌：Journal of Agricultural and Food Chemistry（アメリカ化学会 出版）
（DOI: 10.1021/acs.jafc.4c11685） 【オンライン公開日：2025年2月5日】

著者所属（卒業生含む）

- 兵庫県立大学環境人間学部（先端食科学研究センター兼務） 教授 加藤 陽二
- 兵庫県立大学院環境人間学研究科 大学院生 鈴木 咲子
- 兵庫県立大学環境人間学部 学生 東山 明香里
- 兵庫県立大学環境人間学部（先端食科学研究センター兼務） 准教授 金子 一郎
- 徳島大学大学院医歯薬学研究部 教授 赤川 貢
- 富山県立大学工学部生物工学科 助教 西川 美宇
- 富山県立大学工学部生物工学科 教授 生城 真一

用語説明

メインプロテアーゼ (Main protease, M^{pro})：ウイルスが遺伝情報として持つタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）の一つ。3C-like Protease とも呼ばれる。メインプロテアーゼは、ウイルス遺伝情報に由来するポリペプチドを細胞内で切断し、ウイルス複製に必要なパーツを作成するために必須のウイルス酵素である。メインプロテアーゼ酵素活性部位付近の遺伝子配列は変異が少ないとされており、治療のための優れた標的と考えられる。ファイザーや塩野義製薬は新型コロナウイルスのメインプロテアーゼを標的とする経口治療薬を開発し、すでに治療に利用されている。

酵素活性部位：酵素を構成するタンパク質の中で、酵素活性（触媒作用）を担う部位を示す。メインプロテアーゼの場合、145番目のシステイン残基（C145）が活性部位に位置しており、酵素活性に必須の役割を担っている。

プラスミド：小さな環状二本鎖 DNA であり、細胞に特定の遺伝子を導入するためのツールとして用いられる。本研究ではウイルス酵素メインプロテアーゼ遺伝子が組み込まれたプラスミドを使用している。

トランスフェクション：核酸を細胞に導入する過程を示す言葉。たとえばリポソームなどの脂質小胞にプラスミドなどを封入し、細胞に作用させることで、細胞内に特定の遺伝子を送達・発現させる。細胞内に遺伝子が導入されると、細胞内でその遺伝情報が読み取られ、たんぱく質が合成される。本論文ではウイルス酵素メインプロテアーゼの遺伝子が細胞内に導入されるため、感染細胞のように細胞内でウイルス酵素メインプロテアーゼが過剰に合成される。

問い合わせ先

[研究に関する問い合わせ]

兵庫県立大学環境人間学部 教授 加藤 陽二 (カトウ ヨウジ)
yojikato (末尾に"@shse.u-hyogo.ac.jp"をつけてください)
TEL : 079-292-9413

徳島大学大学院医歯薬学研究部 食品栄養学分野 教授 赤川 貢 (アカガワ ミツグ)
akagawa (末尾に"@tokushima-u.ac.jp"をつけてください)
TEL : 088-633-7088

富山県立大学工学部生物工学科 教授 生城 真一 (イクシロ シンイチ)
ikushiro (末尾に"@pu-toyama.ac.jp"をつけてください)
TEL : 0766-56-7500 (内線 1601)

[報道に関する問い合わせ]

兵庫県立大学姫路環境人間キャンパス経営部総務課
u_hyogo_kankyou (末尾に"@ofc.u-hyogo.ac.jp"をつけてください)
TEL : 079-292-1515

徳島大学蔵本事務部医学部総務課総務係
isysoumu1k (末尾に"@tokushima-u.ac.jp"をつけてください)
TEL : 088-633-9116

富山県立大学事務局教務課情報研究係
johokenkyu (末尾に"@pu-toyama.ac.jp"をつけてください)
TEL : 0766-56-7500 (内線 1229)

同時資料提供先

兵庫県立大学：兵庫県教育委員会記者クラブ、兵庫県中播磨県民センター記者クラブ
徳島大学：文部科学記者会、科学記者会、徳島県教育記者クラブ加盟報道機関
富山県立大学：富山県政記者クラブ