

二国間交流事業 共同研究報告書

令和4年4月15日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[代表者所属機関・部局]
神戸大学・大学院保健学研究科
[職・氏名]
助教・靱 千恵
[課題番号]
JPJSBP1 20188201

1. 事業名 相手国: インドネシア (振興会対応機関: LIPI) との共同研究
2. 研究課題名
(和文) インドネシアの薬用植物からの抗B型肝炎ウイルス新規リード化合物の探索と開発研究
(英文) Identification and development of new antiviral lead compounds against hepatitis B virus from Indonesian medicinal plants
3. 共同研究全実施期間 2018年4月1日 ~ 2022年3月31日 (4年0ヶ月)
4. 相手国代表者(所属機関・職・氏名【全て英文】)
Indonesian Institute of Sciences (LIPI), Research Center for Chemistry,
Professor Muhammad Hanafi

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		7,162,500 円
内訳	1年度目執行経費	2,450,000 円
	2年度目執行経費	2,337,500 円
	3年度目執行経費	2,375,000 円

6. 共同研究全実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	7名
相手国側参加者等	10名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	3	0	4(4)
2年度目	1	0	3(3)
3年度目	0	0	0(0)
4年度目			

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:本委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は本委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流実績の概要・成果等

(1)研究交流実績概要(全期間を通じた研究交流の目的・研究交流計画の実施状況等)

インドネシア産薬用植物から、B型肝炎ウイルスの感染や増殖を阻止する新規リード化合物の探索(主題研究)と誘導体開発研究(発展研究)を行なった。若手研究者や学生の研究向上と育成にも努めた。

1年目は、インドネシアで採取し調製した植物エキス(約50種)について、神戸大学でHBVの複製や初期侵入に対する活性や細胞毒性を調べた。日本側研究者(のべ3名)がインドネシア(LIPI、アイルラング大学熱帯病研究所)へ、インドネシア人研究者(のべ4名)が日本(神戸大学)へ訪問し、進捗報告会の開催(7, 9, 1月)と研究打ち合わせ、若手研究者や大学院生との交流を行った。

2年目は、HBV感染阻害活性を有する植物粗エキスの分画成分を調製し(インドネシア)、その活性評価と作用点解析を行なった(神戸)。また、新たに採取して調製した植物エキス(約30種)の活性を調べた。日本側研究者(のべ1名)、インドネシア人研究者(のべ3名)が相互訪問し、研究進捗報告会の開催(10月, 1月)と打ち合わせを行った。アイルラング大からの研究者を4週間神戸に招へいし、植物エキス(37種)のスクリーニング研究を行ってもらった。3月にインドネシア人研究者が訪日予定でいたが、COVID-19により渡航中止となった。

3年目(と延長1年)は、活性画分より単離精製して得られた化合物を、NMRやLC-MSで構造決定した(インドネシア)。また、粗エキスを質量分析計にかけ、含有成分の解析を行なった(インドネシア)。侵入過程を阻害するビフラボノイドの作用機序や、阻害活性に重要な構造を決定した(神戸)。また、日本の生薬由来の成分Bに新たにHBV感染初期阻害活性があることを見出した(神戸)。発展研究では、ビフラボノイドの誘導体合成として、カテキンを出発材料として酵素反応等で合成条件の検討を行ったが、プロジェクト期間内に最適化条件を見出せなかった。3年目はCOVID-19の再流行と入国規制のため、相互訪問の実施が不可能だったため、WEB会議で進捗報告会を開催し(年3回)、討議や打ち合わせを行なった。さらに、メール等で頻繁に連絡をとり、情報共有を密に行なった。また、日本側代表者は、アイルラング大学熱帯病研究所の大学院講義で、本共同研究に関連した特別講義(オンライン)を行い、相手国大学院生と活発な質疑応答とディスカッションを行なった。最終年度は、COVID-19の影響で研究が当初の計画に対して遅れが生じたものの、概ね共同研究の目標を達成した。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

天然薬用資源から見出される二次代謝産物は、その構造多様性の高さから創薬研究のシード探索として利用されてきた背景をもつ。一方、生物多様性豊かなインドネシア国に生息する薬用植物は、土地特有の化合物や未知の化合物も含むと考えられ、B型肝炎ウイルスの感染・増殖を抑える新規の化合物が見出される可能性がある。本研究交流により、インドネシア産薬用植物約120種について、B型肝炎ウイルスの初期感染や複製に対する活性を細胞培養系で評価し、*Cannanga odorata*, *Cassia fistula*, *Melastoma malabathricum*, *Phyllanthus niruri*, *Curcuma xanthorrhiza*の抽出エキスに強い阻害活性を見出した。これらの結果は、国際雑誌2報に報告した。また、*C. fistula*から活性本体を解析する過程で見出したビフラボノイドに、B型肝炎ウイルスの感染初期を阻止する活性があることを明らかにした。この成果は国際学会等で発表をし、現在、国際学会誌への論文投稿の準備中である。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

研究上の交流による成果

生物多様性が非常に高い自国の薬用植物資源を有効活用したいインドネシア側と、B型肝炎ウイルスを抑える新規抗ウイルス物質を見出したい日本側が共同実施することにより、B型肝炎の複製や侵入を阻害する植物由来の粗エキスや単離化合物の同定、さらにHBs発現には影響せずHBeとHBV DNA産生量を抑えるユニー

クな粗エキスを見出すなど、複数の成果が得られた。

若手研究者や大学院生の交流成果

研究進捗会では、両国の若手研究者や大学院生が互いに英語で発表し、討議することでコミュニケーション能力やプレゼンテーションスキルをつける良い機会となった。また、インドネシア人研究者が日本滞在時に実験を通じ、日本人大学院生と英語でコミュニケーションをとりながら取り組んでいた。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

現在、インターフェロンや核酸アナログ製剤が B 型肝炎の治療薬に用いられているが、抗原陰性化率や、投薬中止による再燃、薬剤耐性等で課題が残るため、作用機序の異なる新規阻害剤の開発が必要とされている。本事業を通じ、インドネシア産薬用植物のスクリーニング評価を行い、B 型肝炎の感染や増殖を阻止する粗エキスや単離物を複数同定できた。このことは、生物多様性が高いインドネシア産薬用植物資源の代謝産物が探索源として有用であることを科学的に立証することができたと言える。今回得られた単離化合物の誘導体化等の発展研究や、活性を有するその他の植物エキスの解析を継続してゆくことにより、B 型肝炎ウイルス治療薬開発のための有望な創薬シーズの発見へと繋がることが期待できる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取り組み、成果)

(i)日本側参加者の博士課程大学院生(インドネシア人留学生)が、本事業の研究内容で博士学位を取得した。当該学生は学位取得後に、インドネシアガジャマダ大学薬学部の教員となり、インドネシアで感染症やガン関連研究に従事している。

(ii)初年度と2年度に、インドネシア人若手研究者2名を神戸大学大学院保健学研究科に短期間招聘し(14-28日間)、植物エキスクリーニング試験、免疫染色、ELISA 試験、データ解析について指導を行い、共同実験を行なった。得られた成果は、来日したインドネシア人研究者が国際学術論文に投稿し採択された(Wahyuni et al., 2020)。

(iii)日本側代表者がアイルランガ大学熱帯病研究所の大学院講義を通じ、天然物由来物質による肝炎ウイルスの感染制御の特別講義を行い、相手国若手研究者や大学院生と活発な討議を行なった。

(6)将来発展可能性(本研究交流事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本事業終了後も、阻害活性が認められるその他のエキスについて、引き続き活性本体の同定と阻害点の解析を行っていくことで研究交流を継続させていくことを相互に確認している。また、今回のスクリーニングにより選出された植物粗エキスや単離物の活性は、中から弱程度であったため、今後はアッセイ系の改良によりスクリーニングサンプル数を増やしていくことで、より強い活性を有する有望なヒット化合物の獲得を目指す。また、本プロジェクトに参加した、現インドネシアガジャマダ大学薬学部教員と、現在新たにインドネシア産薬用植物からの活性成分の解析に関する共同研究の実施に関し、協議を始めている。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記述してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞、産業財産権の出願・取得など

相手国研究代表者(Prof. Hanafi)は、日本国代表者との研究学術交流の経験と実績が評価され、2020年度に日立財団アジアイノベーションアワードに「インドネシア薬用植物からの感染症治療薬の開発」で、奨励賞を獲得した。