

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月5日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
大阪大学・大学院理学研究科
[職・氏名]
教授・深瀬 浩一
[課題番号]
JPJSBP 120207001

1. 事業名 相手国: バングラデシュ (振興会対応機関: UGC) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) バングラデシュ薬用植物由来免疫調節化合物の同定と生体模倣酸化による誘導体化(英文) Exploring the immunomodulatory potential of Bangladeshi medicinal plants; identification of active ingredients and their derivatization by biomimetic oxidation system3. 共同研究実施期間 2020年4月1日～2023年3月31日 (3年0ヶ月)【延長前】 2020年4月1日～2022年3月31日 (2年0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Jashore University of Science & Technology・Associate Professor・
Mazumder Kishor

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		4,750,001 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,001 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	円

6. 共同研究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	4名
相手国側参加者等	5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	0	0	0(0)
2年度目	0	0	0(0)
3年度目	1	0	6(4)

* 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: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)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

自己と非自己の認識は生体防御の根幹をなすものであり、脊椎動物においては獲得免疫と自然免疫からなる精緻な機構が自己と非自己の認識を担っている。自然免疫は、Toll 様受容体(TLR)や Nod 様受容体(Nod), C-type レクチンなどの受容体を介して微生物に特徴的な分子を検出し、免疫系を活性化して身体を守る生体防御機構である。本研究はバングラデシュ産薬用植物から天然物を単離精製するとともに、それらの誘導体化を行い、その中から自然免疫受容体に作用して免疫制御を行う天然物を探索することが目的である。バングラデシュ薬用植物抽出物の解析を開始し、自然免疫受容体である TLR4 のアンタゴニスト作用ならびにアンタゴニスト作用を示す抽出物を見いだした。

2020 年度、2021 年度はコロナウイルス感染症の蔓延に伴い、派遣・受入ができず、交流はオンラインに限られたが、バングラデシュ側研究代表者であるジェソール科学技術大学薬学部 Associate Professor & Chairman の Kishor Mazumder 博士との共同研究として、総説を二報執筆した (*Molecules* (2020), **25**(8), 1904, *Processes* (2021), **9**(12), 2221)。

2022 年度は、2022 年 10 月、12 月、2023 年 3 月にバングラデシュ側が来日、2023 年 1 月に日本側がバングラデシュを来訪し、共同研究を中心とした交流を推し進めた。

具体的には、バングラデシュ側の研究者が、薬用植物から抽出した成分を日本側の研究者が、免疫機能を中心に機能解析した。昨年度までに、インドネシア産の薬用植物からの抽出物をモデルとして TLR4 受容体の制御因子を探索する実験系を構築していたので、これをバングラデシュ産の薬用植物の抽出物に適用した。これまでに TLR4 に対するアゴニスト作用ならびにアンタゴニスト作用を示す抽出物を見いだした。またアジュバント開発に加え、新型コロナウイルスワクチンなどのワクチン開発、人畜共通感染症について、情報交換を行った。

共同研究論文 (*Molecules* (2022), **27**(9), 3036.) を投稿し、アクセプトされた。

(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)

自己と非自己の認識は生体防御の根幹をなすものであり、脊椎動物においては獲得免疫と自然免疫からなる精緻な機構が自己と非自己の認識を担っている。自然免疫は、Toll 様受容体(TLR)や Nod 様受容体(Nod), C-type レクチンなどの受容体を介して微生物に特徴的な分子を検出し、免疫系を活性化して身体を守る生体防御機構である。本研究はバングラデシュ産薬用植物から自然免疫受容体に作用して免疫制御を行う天然物を探索することを目的とした。

自然免疫の活性化は効率的な抗体産生に必須であるので、アルミニウム塩、モノリン酸リピド A (MPL)、CpG DNA (CpG 1018)、QS-21 といった自然免疫活性化物質がワクチンの効力を高めるアジュバントとして実用化されている。一方、自然免疫受容体は自己免疫疾患やアレルギーなどの免疫不全症や慢性炎症と相関しており、その恒常的な活性化により、生活習慣病(糖尿病、高血圧など)、喘息、動脈硬化症、慢性腎炎が悪化する。自然免疫の制御物質は、アジュバントだけでなく、これらの慢性疾患治療薬としての応用が期待され、そのリソースとしての天然物が注目されている。例えば、上記の QS-21 はチリ産植物 *Quillaja saponaria* 由来のトリテルペンサポニンである。日本側代表者は抗生物質フニコロシン誘導体を TLR4/MD-2 の温和なアゴニストとして開発していた (*J. Biol. Chem.* **2017**, *292*, 15378)。

日本側代表者は、自然免疫活性化物質であるリポ多糖(LPS)やペプチドグリカンなどの細菌由来複合糖質

について、世界最先端の合成と機能研究を展開してきた。例えば、リボ多糖やその活性中心であるリピド A の受容体は細胞表層では TLR4/MD-2 複合体であり、細胞内ではカスパーゼ 11(マウス)、カスパーゼ 4(ヒト)であるが、代表者は種々の化学合成プローブを提供することで、それらの同定に貢献した。また構造活性相関研究により、大腸菌型リピド A が極めて強力な免疫増強作用と炎症惹起作用を持ち、致死毒性などの毒性を示すのに対し、Lipid VIa などアシル基の少ないリピド A がアンタゴニストとして働き、TLR4/MD-2 シグナルを遮断できることを明らかにした。1位リン酸を欠いたモノリン酸体リピド A が TLR4/MD-2 シグナルを選択的に活性化して、温和な免疫増強作用を示すことを明らかにし、GSK 社によるモノリン酸リピド A (MPL)含有ワクチンアジュバント開発の実用化にも貢献したものと考えている。さらにパイエル板に共生する *Alcaligenes faecalis* 由来 LPS やリピド A が温和な免疫増強作用を示し、ワクチンアジュバントとして有用であることを示している (*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2021**, *60*, 10023; *Int. Immunopharmacol.* **2023**, *117*, 109852)。

さて天然物の中でも植物の二次代謝産物は、テルペン(テルペノイド、イソプレノイド)、フラボノイド、アルカロイドなど様々な系統の多様な有機化合物からなり、生物活性化合物の宝庫であると言える。そのため医薬、農薬として応用された化合物も多い。熱帯産植物は生物多様性が高いため、熱帯産植物由来の二次代謝産物を分析することで、新規の生物機能性分子を発見できる可能性は高い。そこで本共同研究は膨大で強力な天然資源であるバングラデシュ薬用植物に着目した。先に、日本側代表者と Mazumder 博士は、バングラデシュ産薬用植物 *Saurauja roxburghii* からウルソール酸を含むトリテルペン類を単離構造決定し (*Phytochem. Lett.* **2011**, *4*, 287)、さらにはウルソール酸を酸化誘導体化して複数の新規トリテルペンに導き (*Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1756)、それらの抗腫瘍活性について構造活性相関研究を行った。ウルソール酸は様々な植物が産生し、種々の食品にも含まれる機能性トリテルペンであり、TLR4 シグナルを抑制し、抗炎症作用を示すことが報告された (Zhao J. et al. *Cytokine* **2019**, *123*, 154726)。バングラデシュ薬用植物由来二次代謝産物は、自然免疫制御物質として有望である。

一方、植物二次代謝産物の抗炎症作用や免疫調節作用については、まだ限られた報告しかない。自然免疫受容体 TLR4/MD-2 は、炎症や免疫増強などを制御する自然免疫受容体の中でも最も重要な鍵分子であるので、熱帯産植物由来の二次代謝産物から TLR4/MD-2 に作用して免疫を調節する分子を探索する研究を開始した。

しかしながら上述のように、共同研究を開始した 2020 年度は、Covid-19 パンデミックが猖獗を極めており、バングラデシュ側では完全に研究がストップした。2022 年度からようやく交流が可能な状況となったので、バングラデシュ側で、植物から二次代謝産物を抽出し、クロマトグラフィー分画を行い、素精製画分を得た。一方で、大阪大学側では細胞を用いた $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 活性化試験やサイトカイン誘導試験などの生物検定系を構築するとともに、本二国間交流事業と連携する形で、インドネシアのパジャジャラン大学 Unang Supratman 教授と共同してインドネシア産植物由来二次代謝産物を用いた生物検定系の評価と自然免疫制御物質の探索を行った。その結果 TLR4 に対するアゴニスト作用あるいはアンタゴニスト作用を示す化合物群の同定に成功した。そこで、バングラデシュ産植物由来二次代謝産物由来の素精製画分について、同様の解析を行い、自然免疫受容体を制御可能な因子が TLR4/MD-2 バングラデシュ薬用植物に含有されていることを見出した。今後、共同研究を継続することにより、バングラデシュ産植物由来二次代謝産物からも免疫調節分子が見出されることが期待される。

なおバングラデシュ側研究代表者である Kishor Mazumder 博士との共同研究として、総説を三報執筆した。

1. A review of cytotoxic plants of the indian subcontinent and a broad-spectrum analysis of their bioactive compounds, Mazumder, Kishor; Biswas, Biswajit; Raja, Iqbal Mahmud; Fukase, Koichi *Molecules* (2020), **25**(8), 1904.

2. In Silico Analysis and Experimental Evaluation of Ester Prodrugs of Ketoprofen for Oral Delivery: With a View to Reduce Toxicity, Mazumder, Kishor; Hossain, Emran Md.; Aktar, Asma; Mohiuddin, Mohammad; Sarkar, Kishore Kumar; Biswas, Biswajit; Aziz, Abdullah Md.; Abid, Ahsan Md.; Fukase, Koichi *Processes* (2021), **9**(12), 2221
3. A Review on Mechanistic Insight of Plant Derived Anticancer Bioactive Phytocompounds and Their Structure Activity Relationship, Mazumder, Kishor; Aktar, Asma; Roy, Priyanka; Biswas, Biswajit; Hossain, Emran Md.; Sarkar, Kishore Kumar; Bachar, Sitiesh Chandra; Ahmed, Firoj; Monjur-Al-Hossain, A. S. M.; Fukase, Koichi *Molecules* (2022), **27**(9), 3036.

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

2020年度と2021年度は新型コロナウイルス流行のため、交流はオンラインに留まったが、2022年度は訪問による学术交流が可能であり、バングラデシュ側が3回(10月、12月、3月)共同研究のため来日した。また1月には、研究代表者の深瀬浩一教授がバングラデシュを訪問した。

10月16日-23日、ジェソール科学技術大学薬学部 Associate Professor & Chairman, Kishor Mazumder 博士ならびに Assistant Professor Biswajit Biswas が来阪し、バングラデシュ産薬用植物二次代謝産物の免疫調節物質に関する共同研究を実施した。

12月18日-25日、ダッカ大学薬学部薬学部長 Dr. Sitiesh Chandra Bachar 教授ならびに Kishor Mazumder 博士が来阪し、共同研究を実施した。

1月28日-2月2日、1月29日に代表者がダッカ大学薬学部を訪問し、1月29日-2月1日にジェソール科学技術大学を訪問し、多数の研究交流と研究指導を行った。またダッカ大学薬学部ならびにその提携先である Globe Biotech Limited を訪問して、ワクチン開発について情報交換を行い、特にバングラデシュにおける新型コロナウイルスワクチン開発について情報を提供いただいた。

3月25日-3月30日、ジェソール科学技術大学 Mazumder 博士と Professor Dr. Md. Anwar Hossain が来日し、共同研究ならびにワクチン開発や感染症対策について様々な情報交換を行った。

(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)

昨今の新型コロナウイルス感染症の蔓延に伴い、ワクチン開発研究には大きな注目を集めており、その成果は大きな社会的貢献となる。大阪大学大学院理学研究科ではワクチンの効果を最適化するアジュバントの開発研究を進めており、上述の自然免疫受容体 TLR4 のリガンドはその重要な候補物質である。本共同研究において、バングラデシュ薬用植物に TLR4 制御因子が含まれていることを見出した。また学术交流を通じて、新型コロナウイルスワクチン開発や熱帯域における感染症対策について議論ができたことも大きい。以上のように本学术交流の成果が、今後、大きな社会貢献となることが期待される。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

本研究には日本側の若手研究者として下山助教と真鍋助教が参画した。これまで両助教の共同研究先は、イタリア、台湾、イギリス、米国、ドイツ等いわゆる先進国が中心であり、発展途上国との共同研究については経験がなかった。本共同研究は若手研究者に新たな方向性で研究ネットワークを拡大する機会を提供する契機となった。本共同研究の実施により幅広い視野を持った国際的研究者として成長することが期待される。また、Biswajit Biswas 博士(Jashore University of Science & Technology)は、ジェソール科学技術大学に所属する若手教員であり、来日の際に技術指導やディスカッションを行った。研究代表者はジェソール科学技術

大学において多数の若手研究者を対象に、ディスカッション等を通じて若手研究者養成に貢献した。

(6)将来発展可能性(本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)

ダッカ大学やジェソール科学技術大学はバングラデシュの国立大学で、Chancellor はバングラデシュ大統領である。Vice-Chancellor は実質的に日本の大学の総長に相当し、政府要人としての立場である。バングラデシュ全体としては科学技術は発展途上であるが、そのような環境下で政府の後押しを受けて、ジェソール科学技術大学は急速に研究開発体制を整えつつある。一方で、新型コロナウイルスワクチン開発などのように海外企業とも連携して世界最先端研究が実施されている領域もある。SARS-CoV2 で実際に起こったように、熱帯雨林の開発が進むにつれ熱帯域における人畜共通感染症の脅威は増していくと予想される。またデング熱、ハンセン病、シャーガス病、トリパノソーマ症、リーシュマニア症など 20 種疾患が「顧みられない熱帯病(Neglected Tropical Diseases:NTDs)」として、WHO により指定されており、「人類が制圧しなければならない熱帯病」である。これらの疾患を克服するためには、ワクチン開発や治療薬の開発が必須である。

本研究を通じて、ワクチンアジュバント開発の重要性について認識を高めることができた。またバングラデシュ産植物二次代謝産物に免疫調節物質が存在することを明らかにした。それらの中には QS-21 のようにアジュバントとして有望な化合物が含まれている可能性があり、また急性炎症や慢性炎症を抑制可能な化合物が存在するものと考えている。また NTDs に対する治療薬候補や創薬リード化合物が見出される可能性もある。

本研究はまだ開始したところであり、新型コロナウイルス流行の影響で研究の進捗状況は必ずしも満足のいくものではないが、膨大で強力な天然資源であるバングラデシュ薬用植物の有用成分解析を継続することで、世界の創薬研究に大きく貢献することが期待される。主に熱帯の貧困地域を中心に、世界で約 17 億人が NTDs の感染のリスクにさらされていると言われている。NTDs は労働力や生産性の低下を招き、貧困の原因ともなっている。将来的には、この研究領域は、人畜共通感染症や NTDs に対する治療法の開発に貢献することにより、開発途上国や新興国における健康状況を改善し、経済成長の発展にも貢献することが期待される。

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

大阪大学大学院理学研究科とジェソール科学技術大学薬学部、ならびに大阪大学大学院理学研究科とダッカ大学薬学部とで、部局間学術交流協定を締結することで合意した。また大阪大学大学院薬学研究科とジェソール科学技術大学薬学部、大阪大学大学院薬学研究科とダッカ大学薬学部との部局間学術交流協定についても検討が進んでいる。

受賞:

深瀬浩一、2021 年 10 月、国際内毒素・自然免疫学会 Honorary Life Member 2021