

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－南アフリカ 研究交流）

1. 研究課題名：「代謝生化学と分子遺伝学の統合によるマラリア/HIV 克服を目指した有用南アフリカ固有植物の創成」
2. 研究期間：平成 21 年 4 月～平成 24 年 3 月
3. 支援額： 総額 15,000,000 円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	村中俊哉	大阪大学大学院工学研究科	教授
研究者	關 光	大阪大学大学院工学研究科	准教授
研究者	鈴木宗典	大阪大学大学院工学研究科	特任研究員
研究者	大山清	東京工業大学大学院、理工学研究科	助教
研究者	高上馬希重	北海道医療大学、薬学部	准教授
研究者	福島エリオ デット	横浜市立大学大学院生命 ナノシステム科学研究科	博士後期課程学生
参加研究者 のべ 15名			

中国側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	JJ Marion Meyer	プレトリア大学、植物学部	教授
研究者	Emmanuel Tshikalange	プレトリア大学、植物学部	博士研究員
研究者	Ben-Erik van Wyk	ヨハネスブルク大学、植物学部	教授
研究者	Dave Berger	プレトリア大学、植物学部	教授
研究者	Heino Heyman	プレトリア大学、植物学部	講師
研究者	Mahdi Ziaratnia	プレトリア大学、植物学部	博士研究員
参加研究者 のべ 9名			

5. 研究・交流の目的

マラリアはアフリカ・アジアにおける重大疾病である。世界で 2～3 億人が感染し、5 歳以下の幼児を中心に毎年 200 万人以上の死者が出ている。特にサハラ砂漠以南のアフリカ大陸が、世界の発生の 90%を越え、30 秒に一人の子供が死亡している（出生 5 人に対して一人の死亡率）（WHO 資料）。また、HIV 感染も発展途上国を中心として重大な問題である。

南アフリカ（以下、南アと略）には、約 2 万種以上の多様な固有植物が自生しており、これらは潜在的な薬用資源の“金鉱”とも言える。これらの中には現地で伝承医薬として長年使用されてきたものが多数存在し、いくつかの成分の化学構造も明らかになっている。しかしながら、成分と薬理活性との相関が必ずしも明確ではなく、また、有効成分がアフリカ固有植物体内でどのような制御を受け代謝されているかを分子遺伝学的解析した研究は、日本側代表者村中と南ア側代表者 Meyer が 3 年前から開始した研究以外に例を見ない。そこで、アフリカ固有植物が産生する有用物質の有効利用を図るために、これまでの研究交流をより発展させ、植物代謝生化学と分子遺伝学を統合した国際交流を実施することにより

- i) 抗マラリア活性物質の生合成遺伝子ディスカバリーと有用植物の作出を目指す

ともに、もう一つの重大疾病である HIV に対して、ii) 新規抗 HIV 活性物質の南ア固有植物からのスクリーニングを行うことを目的とする。具体的には、日本側が有する総合的な植物代謝生化学研究、分子遺伝学的研究の技術を、南ア側が有するアフリカ固有植物研究に適用して研究を進める。

本共同研究で日本-南アが交流を通じて相互的に取り組むことで、アフリカにおける重大疾病の克服、日本における生活習慣病、生活の質などの改善・克服に向けた機能性植物の開発につながる数多くのシーズが期待される。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

- 「新しい知の創造/画期的な科学技術の進展/新分野の開拓」の観点から
 - ・ アルテミシニンを生産するアルテミシア・アヌア (*Artemisia annua*) (アジア原産) から、アルテミシニン生合成に関与する三種の遺伝子が単離されている。日本側チームは、アルテミシニンを生産しないアルテミシア・アフラ (*A. annua*) (南ア固有植物) にアルテミシニン生合成遺伝子の一つ ADS を過剰発現させた *A. afra* 毛状根を作出したが、アルテミシニン関連物質の生産は見られなかった。そこで、南ア側チームが、日本側チームが確立した南ア固有植物アルテミシア・アフラ (*A. afra*) の形質転換毛状根からの植物体再生について検討した。種々の植物ホルモン条件について検討した結果、比較的増殖のよい緑化カルスを誘導することに成功した。この物質について詳細に解析した結果、アルテミシニンと同一物質ではないことがわかった。また、南ア側チームは、初年度、アルテミシニン産生能を有する *A. annua* 植物に水ストレス処理を行うことにより、アルテミシニン産生能が変化することを見いだした。次年度以降には同様の処理をしてもこの変化が再現されなかったことから、この変異がエピジェネティックなものではないことがわかった。
 - ・ 日本側チームは、南ア固有植物アルテミシア・アフラ (*A. afra*) から、アルテミシア・アヌア (*A. annua*) におけるアルテミシニン生合成に関与する CYP71AV1 と相同なホモログ遺伝子を単離し、酵母遺伝子発現系においてその機能について調べた。その結果、*A. annua* の CYP71AV1 は、ADS を基質としてアルテミシニン酸まで 3 段階の酸化が進行するのに対し、*A. afra* の CYP71AV1 ホモログは、アルテミシニン酸をわずかに生産させるものの、産物の多くは 1 段階目の酸化生成物であるアルテミシニクアルコールと、構造未知のアルコールであることが判明した。さらに日本側チームは、CYP71AV1 と CYP71AV1 ホモログの酸化について、詳細に解析した結果、一つのアミノ酸が変わることが重要であることを見出した。
 - ・ アフリカ起源の *Helichrysum* 属植物は、全部で約 600 種類存在し、うち 244 種が南部アフリカに生息している。南ア側チームは、これまでに、*H. aureonitens* が、ヘルペスウイルスの一種に対し、抗ウイルス活性を示すことを見つけている。南ア側チームは、12 種の *Helichrysum* 属植物について細胞毒性、および、HIV についてのバイオアッセイを行った。その結果、二種が、低濃度で抗 HIV 活性を示し、新規抗 HIV 活性物質を含有している可能性があることがわかった。さらに、メタボローム解析によって、HIV 活性の程度により異なる群に分かれることを見いだした。
 - ・ ベツリン酸は、その誘導体がフェーズ II の臨床試験において HIV 治療薬として有効であることが示されている。日本側チームは、ベツリン酸を生合成する鍵となる酵素遺伝子の取得に成功し、酵母でベツリン酸を生産できることを示した。日本側チームの研究により、酵母で、ベツリン酸のみを単独で作らせることができたことは、HIV 治療薬としての産業応用にも期待できるものである。

●「相手国との協力による研究への相乗効果」の観点から

- ・ 抗マラリア薬アルテミシニンを産生するのは、アジア原産の *A. annua* のみであるが、アルテミシニン非産生の *A. afra* を南ア側チームの協力により入手し、アルテミシニン生合成に係わる遺伝子 CYP716AV1 ホモログ遺伝子を比較解析することにより、CYP71AV1 の反応に必須な領域のしぼりこみが容易に行えることが実証できた意義は大きい。日南アで共著論文のドラフトが完成し、近く国際誌に投稿予定である。
- ・ アルテミシニン生合成遺伝子の一つである ADS を導入した *A. afra* 毛状根を日本側チームが作成した。この毛状根を材料として、南ア側チームが鋭意検討することにより、緑化カサの誘導に成功した。研究プロジェクト期間内に、形質転換植物の作出までには至らなかったが、日南ア協力により、南ア固有植物 *A. afra* の形質転換研究が進展した意義は大きい。

●「当該研究の今後の展開見込、社会への波及効果」の観点から

- ・ 今回の研究交流を通して、南ア固有植物の多様性、研究ツールとしての意義が認識できた。今後、南ア固有植物について最先端ゲノム研究および代謝研究を行い、最先端研究データを集積し、南ア側が保有する伝統的知識データベースに統合すること、ならびに、抗 HIV/抗マラリアに向けた新規な生物資源調査を目指した共同研究へと展開することが必要である。
- ・ 本共同研究での目標である「日本－南アが交流を通じて相互的に取り組むことで、アフリカにおける重大疾病の克服、日本における生活習慣病、生活の質などの改善・克服に向けた機能性植物の開発につながる数多くのシーズ」を得ることができ、社会への大きな波及効果があったと自己評価する。

6-2 人的交流の成果

●「相手国との研究交流につながる人材育成」の観点から

- ・ 研究代表者については、2009 年度ならびに 2010 年度に村中が、2010 年度に Meyer 教授が相互交流し、日南ア相互の綿密な研究打合せ、および研究進捗情報の確認ができた。
 - ・ 2010 年 3 月 4 日に南アプレトリア大学にて、日南ア共同研究特別セミナーを実施した。日本側からは村中が参加し、有用植物代謝制御研究に関して研究発表を行った。
 - ・ 2012 年 2 月 28 日に、大阪大学にて、ワークショップ「代謝生化学と分子遺伝学の統合によるマラリア/HIV 克服を目指した有用南アフリカ固有植物の創成」を開催した。南ア側からは、研究チームのプレトリア大学講師 Heino HEYMAN が南ア側研究の総括を行った。本ワークショップを通して、植物の代謝多様性研究の重要性が再認識され、各国が保有する植物資源を保全しながら有効利用するため、持続的な共同研究体制の構築、人材育成が必要であることで意見が一致した。
- 「当該事業を端緒とした相手国との研究交流の増加/持続的発展の可能性（終了後の交流計画を含む）」の観点から
- ・ 今回の研究交流を通して、南ア固有植物の多様性、研究ツールとしての意義が認識できた。そのためには、南アとの研究交流の増加、持続的発展が必要である。具体的には、「南部アフリカ固有植物保護および資源活用に資するゲノムならびに代謝研究分野で

の先端科学技術人材の育成」として以下の項目が挙げられる。

- 研究に携わる若手研究者の先端技術指導および研究論文指導
 - シンポジウム、ワークショップ等の開催での研究発表による間接的に当該分野の研究者の育成
 - 南アの機関を支援することによる間接的に、南アの伝統的知識関連人材の育成／社会還元促進
- ・ またアウトリーチ活動として以下の項目が挙げられる
 - 一般市民を対象とした公開シンポジウムの開催
 - 「アフリカ植物の魅力」を題材とした、一般対象の平易なシンポジウムを企画する。
 - インターネット上での研究成果の継続的発信

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手国側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Fukushima EO, Seki H, Ohyama K, Ono E, Umemoto N, Mizutani M, Saito K, Muranaka T* (2011) CYP716A subfamily members are multifunctional oxidases in triterpenoid biosynthesis. <i>Plant Cell Physiol.</i> 52: 2050-2061 (Selected as a cover photo)	
論文	Ryden, A.M., Ruyter-Spira, C., Quax, W.J., Osada, H., Muranaka, T., Kayser, O. and Bouwmeester, H. (2010) The molecular cloning of dihydroartemisinic aldehyde reductase and its implication in artemisinin biosynthesis in <i>Artemisia annua</i> . <i>Planta Med.</i> 76, 1778-1783	
論文	Tang J, Kobayashi K, Suzuki M, Matsumoto S and <u>Muranaka T*</u> (2009) The mitochondrial PPR protein LOVASTATIN INSENSITIVE 1 plays regulatory roles in cytosolic and plastidial isoprenoid biosynthesis through RNA editing. <i>Plant J.</i> 61: 456-466	
論文	Ohayama K, Suzuki M, Kikuchi J, Saito K and <u>Muranaka T*</u> (2009) Dual biosynthetic pathway to phytosterol via cycloartenol and lanosterol in <i>Arabidopsis</i> . <i>Proc. Natl. Acad. Sci, USA</i> 106: 725-730	
論文	Ziaratnia, S.M., Ohyama, K., Hussein, A.A., Muranaka, T., Lall, N., Kunert, K.J. and Meyer, J.J.: Isolation and identification of a novel chlorophenol from a cell suspension culture of <i>Helichrysum aureonitens</i> . <i>Chem. Pharm. Bull.</i> 57: 1282-1283 (2009).	日南 ア共 著