

地球規模課題対応国際科学技術協力

(感染症研究分野「開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究」領域)

ガーナ由来薬用植物抽出物による感染症制御

(ガーナ共和国)

平成21年度実施報告書

代表者:山岡 昇司

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

<平成 21 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

ガーナでは先進医療の理解と普及がじゅうぶんでなく HIV、マalaria等の蔓延が深刻化し、治療が立ち遅れている。本プロジェクトは、ウイルス複製、寄生虫増殖を制御できる有用な植物由来抽出物を見出し、その作用機序を解明してガーナの実情を踏まえた感染症治療に有効と考えられる治療法開発に貢献すること、これらをとおしてガーナおよび日本における科学技術の向上と今後の研究を担う人材の育成に寄与することを目標とする。平成 21 年 7 月と 8 月には正山がガーナで、研究実施に向けた設備、人的資源状況についての予備調査を行った。平成 21 年度の国内研究成果として、以下の 4 項目があげられる。(1) 植物抽出物の抗 HIV 活性評価系を構築、(2) HIV 潜伏感染ヒト T 細胞株をあらたに樹立し、phorbol ester である PMA でプロウイルス発現が誘導されることを確認、(3) カカオニブ中の抗ウイルス複製活性を部分精製、(4) アフリカトリパノソーマ原虫の実験室内維持を開始し、herbal product による抗原虫活性をアッセイする系を確立した。平成 22 年度には、(1) HIV、トリパノソーマに対し抑制活性があることがわかっている物質等を用いてより優れた評価系の構築をめざす、(2) 樹立した複数の細胞クローンを様々な刺激に対する反応性、結果の安定性、感度などの面から比較検討し、スクリーニングに最も適した細胞を選ぶ。(3) Procyanidins、phorbol esters、gallic acidなどを指標としたガーナ産ハーブ抽出法の確立と毒性試験による安全域の決定を経て、(4) ハーブ抽出物のスクリーニングを開始する予定である。

2. 研究グループ別の実施内容

A. 東京医科歯科大学グループ

(1) 研究題目：ハーブによる抗ウイルス・抗寄生虫効果の研究

研究項目：抗 HIV 活性成分を有するガーナ産植物の探索

研究内容：ハーブ抽出物の抗 HIV 活性をスクリーニングするためのアッセイ系開発

① 研究のねらい

抗 HIV 活性を有するハーブ抽出物をスクリーニングするためには、細胞培養系を利用し試料の毒性と抗 HIV 効果を判別でき、定量化が可能で再現性が高い評価系を開発する必要がある。そのためにまずヒト T 細胞株で恒常的に発現しうるレポーター遺伝子発現ユニットを作製し、これをもとに細胞ゲノムに安定に組み込むためのレンチウイルスベクターを構築する。Jurkat ヒト T 細胞株にこのベクターを発現するレンチウイルスを感染させ、安定にレポーター遺伝子を発現する細胞株を樹立する。

② 研究実施方法

レンチウイルスの作製とJurkat T細胞株への感染

トランスフェクションより 1 時間以上前に、ダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) で培養している対数増殖期にある約 3.0×10^6 個のヒト由来細胞株 293T 細胞を 0.1 mg/ml のコラーゲンで表面を覆った培養皿に播種した。本研究で構築した新規レンチウイルスベクター pCERp、パッケージングベクター pCMV- Δ R8.2 及び pCMV-VSV-G) を 3 : 2 : 1 の比率で準備した 293T 細胞に Fugene6 (Roche) を用いてトランスフェクションした。これを一晩培養し、翌朝に DMEM から RPMI-1640 へと培養液を交換し、トランスフェクション後 48 及び 60 時間後に培養上清を回収、0.45 μ m の中空糸フィルターで

濾過した。この濾液 4 ml をウイルス液として別に用意した約 2.0×10^6 個の JurkatT 細胞株に感染させた。

デュアルルシフェラーゼアッセイ

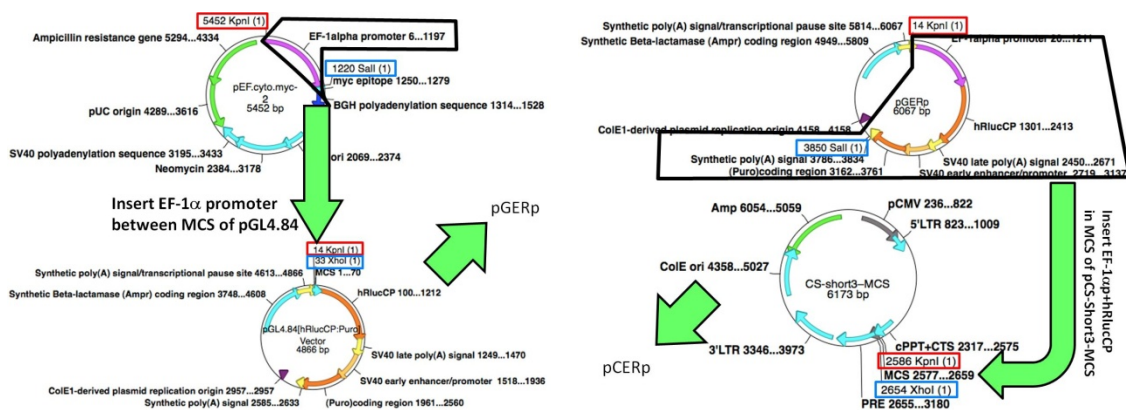
ホタルルシフェラーゼ及びウミシイタケルシフェラーゼを発現している細胞を用意し、Dual-Luciferase® Reporter Assay System (Promega)の手引きを参照してアッセイを行った。5× Passive Lysis Buffer (Promega)で細胞を溶解し、この細胞溶解液 5-10 µl を 96 穴ホワイトプレートに入れ、Luciferase Assay Reagent II を始めに入れて測定し、続いて Stop & Glo® Reagent を入れ再び測定。得られた値のウミシイタケルシフェラーゼに対するホタルルシフェラーゼの比を採ることにより相対値として表す。これらルシフェラーゼの活性は GloMax®-Multi Detection System (Promega)を用いて測定した。また、ホタルルシフェラーゼまたはウミシイタケルシフェラーゼ単体の活性の測定も同様にして行った。

AZTを用いた試し実験 (NL4-3-luc感染による)

pCERp ベクターを感染させた Jurkat 細胞をあらかじめ逆転写酵素阻害剤である AZT で処理した後、NL4-3luc 一回感染型 HIV ウイルスを感染させた。感染後 16 時間培養し、デュアルルシフェラーゼアッセイを行った。

ウミシイタケルシフェラーゼを恒常的に発現するレンチウイルスベクターの構築とJurkat感染細胞株の樹立 (図1参照)

pEF/myc/cyto ベクター(Invitrogen)を KpnI/SalI で消化し、EF-1αプロモータ部分を KpnI/XhoI で消化した pGL4.84 ベクター (Promega) に挿入、pGL4-EF-1α-hRlucCP/Puro (pGERp)とした。これを KpnI/SalI で消化し、EF-1αプロモータ+ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子の部分を KpnI/XhoI で消化したレンチウイルスベクター pCS-short3(-)-MCS に挿入し、得られたベクターを pCS-EF-1α-hRlucCP/Puro (pCERp)とした。



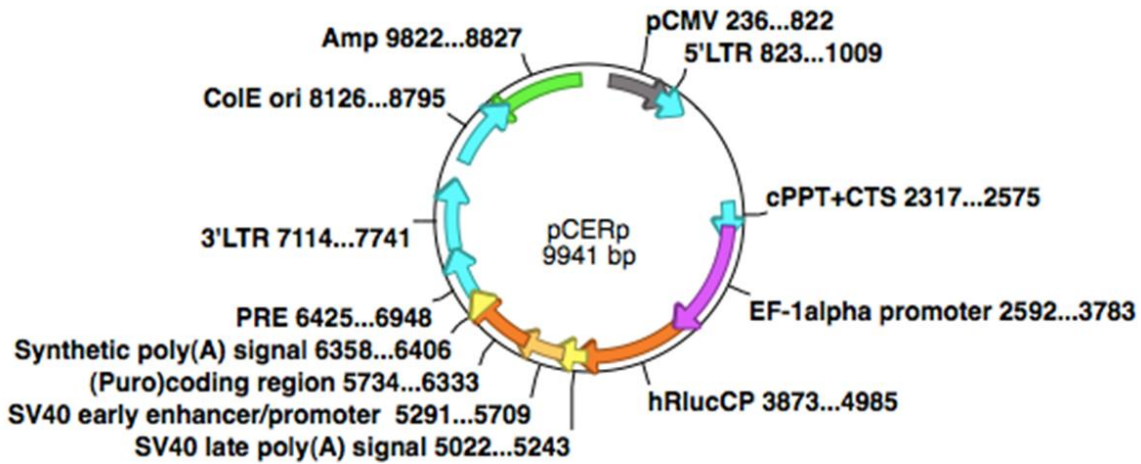


図1 Renilla luciferase を恒常的に発現することができるレンチウイルスベクターの構築

カカオニブ(cacao-nib)中の抗ウイルス活性分析

本研究では、カカオ生豆中の Procyanidins を抗ウイルス活性物質候補として挙げている。生豆はガーナ現地でしか入手解析できないため、カカオ豆を発酵、焙煎して得られる日本国内市販カカオニブ中のポリフェノール類を薄層クロマトグラフィー(TLC)で解析したところ、ウイルス複製抑制効果が期待できる5量体付近の Procyanidins を含むことが判明した(図2)。カカオニブの30%エタノール抽出画分をLipophilic-Sephadex に吸着、70%アセトンで溶出、濃縮後、Lipophilic-Sephadex で70%アセトンをういゲルろ過分離した。各画分を乾燥後、重量当たりの SARS 関連コロナウイルスの Vero 細胞における複製阻害活性をプラークアッセイ法によって調べた。TLC 上重合度が5 mer 程度の procyanidins が含まれている第40から43画分の抗ウイルス複製活性が強いことがわかった。このことは、以前の論文で5 mer 付近の重合度を持つ procyanidins が最も強い抗癌作用を示したと報告されたことと符合する。

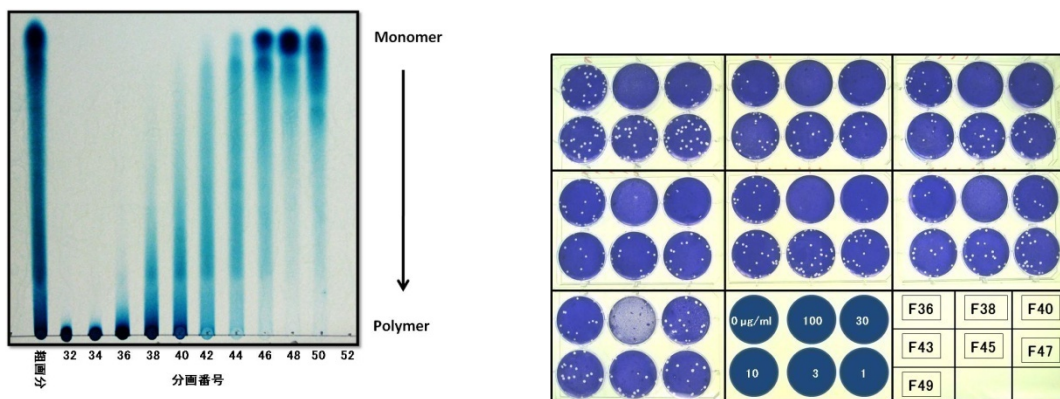


図2 カカオニブより抽出したポリフェノールの Lipophilic-Sephadex によるゲル濾過産物の TLC 解析(左)とプラークアッセイ(右)。カカオニブ 10~30 µg/ml 濃度域で、F40 から F43 でプラーク数の減少が明らかである。

逆転写酵素阻害剤AZTによるHIV複製抑制を用いた実験系の評価

HIV-1-Firefly luciferase を感染後、デュアルルシフェラーゼアッセイを行った。Renilla luciferase 値

で補正した Firefly luciferase 値が有意に低下し、作製した実験系が有効に作動することを確認した (図 3)。

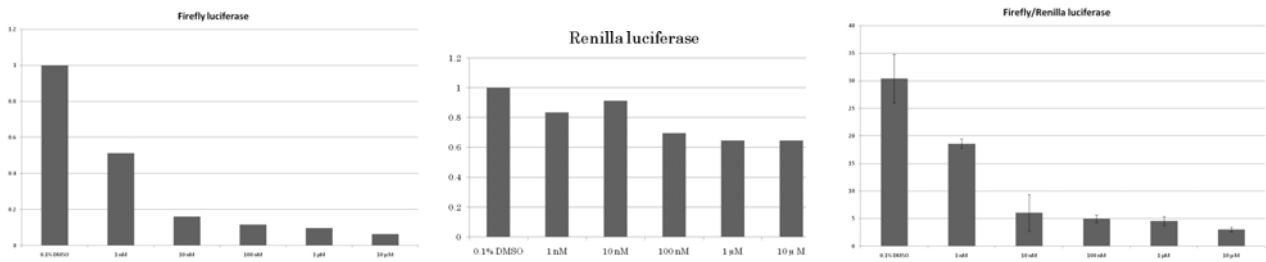


図 3 HIV 複製抑制効果評価の 1 例。表示した濃度の逆転写阻害剤 AZT で処理した Renilla luciferase を発現する Jurkat 細胞プールに NL4-3luc ウイルスを感染させ、蛍光 luciferase 活性 (左) を Renilla luciferase 活性 (中央) で割った値 (右) を計算した。

③ 当初の計画に対する現在の進捗状況

レポーター遺伝子の構築および感染レポーター細胞株候補を樹立し、AZT による実験系の検証まで行えたことは、ほぼ予定通りである。平成 22 年度末までに限界希釈法によって細胞クローンを樹立するとともに、ハーブ抽出物スクリーニングへの適格性を最終検証する。レポーター細胞樹立が後になったため、カカオニブの抗ウイルス複製活性に関しては、SARS 関連コロナウイルスのプラークアッセイで解析した。

④ カウンターパートへの技術移転の状況

R/D 締結前であり、技術移転はまだ行っていない。

研究結果に関する考察

本研究で開発した HIV 複製アッセイ系は、GFP 蛍光の検出や HIV 由来蛋白質の検出などに比べて安全、簡便、安価であり、未知の物質が HIV の複製を抑制するかどうかを検討するスクリーニングの系として有用と期待される。外来化学物質のウイルス複製への影響を調べる場合、その細胞毒性が常に問題となる。細胞毒性によって、ウイルス複製も低下するケースが多いからである。このアッセイ系の特色は、HIV-1 感染実験を行う同一の細胞で細胞への毒性、転写・翻訳への影響を別のレポーター蛋白で定量化することで、試料の細胞への影響とウイルス複製への影響を同時に科学的に比較検討することを可能にする、という点である。システム上問題があるとすれば、複製したウイルス粒子の感染性をチェックするという厳密な意味での複製検定レベルではないことだが、多くの植物抽出サンプルをスクリーニングする段階では十分かつ適切であると考えている。21 年度に樹立したのは Renilla luciferase を恒常的に発現するヒト T 細胞株プールであり、原理的には細胞プールで大きな問題はないと考えられるが、今後限界希釈法によって細胞をクローン化してより安定な発現が得られるか、細胞クローン化によって HIV-1 感染について何らかのバイアスが生じないか、他の細胞株ではどうか、等の点について検討すべきと考える。

Reference

1) Feng WY, Tanaka R, Inagaki Y, Saitoh Y, Chang MO, Amet T, Yamamoto N, Yamaoka S,

Yoshinaka Y. Pycnogenol, a procyanidin-rich extract from French maritime pine, inhibits intracellular replication of HIV-1 as well as its binding to host cells. Jpn J Infect Dis. 61, 279-85, 2008.

(2) 研究題目：ハーブによる抗ウイルス・抗寄生虫効果の研究

研究項目：抗 HIV 活性成分を有するガーナ産植物の探索

研究内容：抗ウイルス因子の発現を増強するガーナ産植物の探索

① 研究のねらい

APOBEC3G 及び BST-2/Tetherin はこれまで報告されてきた宿主因子の中で最も強い抗 HIV-1 活性を示すことから、本研究ではこれらの遺伝子発現をガーナ産植物抽出物スクリーニングの第一指標として選出した。前者は、HIV-1 の逆転写産物に G→A 変異を頻発させ感染性を低下する機能を有し、後者はウイルス粒子が細胞表面から出芽するのを阻害する機能を持つ宿主蛋白である。

② 研究実施方法

各々の遺伝子発現 (mRNA 発現) の変化を定量化すべく、リアルタイム RT-PCR によるアッセイ系を確立する。標準曲線作製のためのプラスミド DNA 構築、プライマー及びプローブの設計、PCR サイクルの条件設定等を行う。また内部対照として用いるハウスキーピング遺伝子 (GAPDH 等) についても同様の作業を行う。1 年以内に終了し、野口研で解析を開始できるようセッティングする。

③ 当初の計画 (全体計画) に対する現在の進捗状況

項目⑤に記載。

④ カウンターパートへの技術移転の状況

R/D 締結前であり、技術移転はまだ行っていない。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況

ヒト APOBEC3G および Tetherin の定量 RT-PCR 実験系が、他の研究者によって平成 21 年 12 月に論文発表された。本研究では、そこに記載された実験条件に再現性がありスクリーニングに応用可能であれば、採用したい。現在同条件で定量実験を行い、有用性を確認中である。

(3) 研究題目：ハーブによる抗ウイルス・抗寄生虫効果の研究

研究項目：抗 HIV 活性成分を有するガーナ産植物の探索

研究内容：HIV-1 潜伏感染 T 細胞株の樹立

① 研究のねらい

抗レトロウイルス薬物治療 (ART) が一定の効果을あげている場合でも、いったん ART を中断すると潜伏感染細胞からウイルスが産生され始め、再びウイルス量が増大してくることが知られている。潜伏感染細胞を駆逐するためには、未感染細胞を ART で守りつつ潜伏感染細胞を刺激してプロウイルス発現を誘導しなければならない。Phorbol esters はプロウイルス発現を誘導できる代表的薬剤であるが、免疫系細胞をいたずらに刺激することなく安全にプロウイルス発現を誘導する物質でなければ臨床的には

使用できない。HDAC 阻害剤も同様である。本課題では、このような性質をもつ物質を植物抽出物中に見出すことを目的としており、そのスクリーニングに用いるべきレポーター細胞を作製することを本年度の課題として設定した。

② 研究実施方法

ルシフェラーゼの活性測定法

ルシフェラーゼの活性は GloMax®-Multi Detection System (Promega) を用いて手引きに従い測定した。但し、反応液には 1 x Lysis buffer に終濃度 100 μ M のホタルルシフェリンと 500 μ M の ATP が含まれるものを用いた。

Jurkat への NL4-3luc の感染

一回感染型の HIV-1 である NL4-3luc (ホタルルシフェラーゼ) ウイルス液を様々な希釈倍率 1/2, 1/3, 1/4, 1/5 で T 細胞株 Jurkat に感染させた。ほとんどの細胞は高力価ウイルス感染のために死滅したが、2 週間以上培養を続けることによって生存細胞を得て、これを感染細胞プールとした (図 1)。

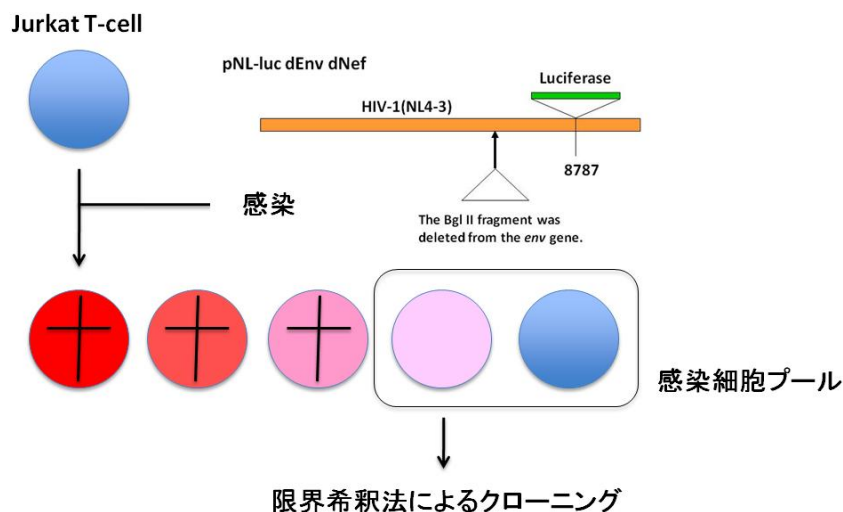


図 1 潜伏感染細胞の作製経過

感染細胞プールにおける PMA によるプロウイルス遺伝子発現誘導

感染細胞プール (5.0×10^5 個/ml) を Phorbol esters の一種である 12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (PMA) 20 nM 存在下 24 時間培養し、ホタルルシフェラーゼ活性を測定した。コントロール細胞でも低いルシフェラーゼ活性が見られたが、PMA によって 100 倍以上のルシフェラーゼ活性の増大が誘導され、NL4-3luc プロウイルスが潜伏感染状態で存在している細胞が含まれていることがわかった。

限界希釈による NL4-3luc 感染細胞クローンの樹立

得られたプールを細胞 5 個/ml に希釈して 100 μ l ずつ 96 穴プレートにまき、限界希釈により個別細胞クローンを得た。得られたクローンの中で、ホタルルシフェラーゼ遺伝子の基底発現水準が低く、PMA による同遺伝子の発現誘導水準が高い細胞を選択した。さらにこのクローンをもう一度限界希釈によりクローンを純化した (クローン番号 8, 11-a, 11-f)。同様に PMA でホタルルシフェラーゼの発現を確認

し (図 2 左)、得られた細胞を樹立した潜伏感染細胞株として以降の実験に用いた。

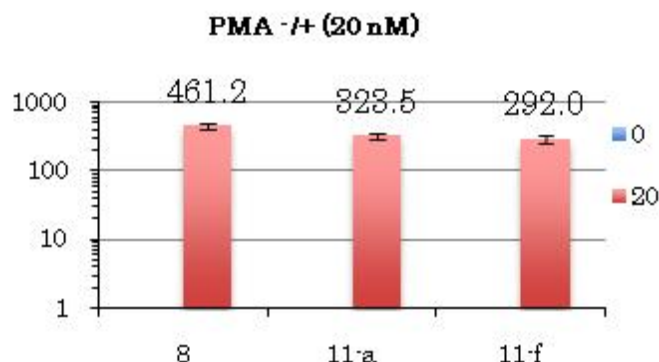


図 2 : PMA による潜伏感染細胞クローンにおけるプロウイルス発現誘導。Y 軸は PMA を入れていない場合の luciferase 活性を 1 とした時の PMA による luciferase 活性誘導倍数を表す。

細胞株の viability と誘導の再現性、安定性について

細胞株は樹立後、約 3 ヶ月に渡っての長期培養を試みたが、長期間の培養の後も樹立直後と同様に PMA に反応性を示し、安定的なデータが得られている。従って、これまでに報告されている他の細胞株と同様にこの樹立株も潜伏感染細胞株として実験を行えると考えられる。

③ 当初の計画に対する現在の進捗状況

潜伏感染レポーター細胞株候補の樹立に成功した。予定どおり、平成 22 年度末までにハーブ抽出物スクリーニングへの適格性を検証する見込みである。

④ カウンターパートへの技術移転の状況

R/D 締結前であり、技術移転はまだ行っていない。

研究結果についての考察

PMA によるルシフェラーゼ遺伝子の発現誘導

PMA はプロテインキナーゼ C (PKC) の下流のシグナル伝達経路を活性化させるための試薬として知られており、文献上 HIV-1 の慢性感染細胞株に対するウイルス遺伝子の発現誘導剤としても用いられている。今回、潜伏感染細胞株として樹立した細胞も PMA に反応してホタルルシフェラーゼ遺伝子を発現したことから、レポーター遺伝子も持つ潜伏感染細胞株としてスクリーニングに利用できることが示された。

これまでのレポーター潜伏 T 細胞株との比較

過去の文献上¹⁾、Jurkat 細胞に HIV LTR-Tat-GFP ミニ HIV-1 遺伝子を組みこんだレポーター細胞株は存在するが、本研究で作製したプロウイルスを組み込んだ潜伏感染細胞株は、Nef と Env 以外のすべてのウイルス蛋白とホタルルシフェラーゼ遺伝子を発現することで、より野生株ウイルスに近似していると言える。しかし培養条件によっては、ウイルスアクセサリ蛋白の毒性による弊害が生じる可能性があり、事実、刺激前から比較的高値のホタルルシフェラーゼ活性を示していた細胞は長期間安定に維持することができなかった。

プールと各クローンによる違い

プールでは、たとえ高力価のウイルスを用いたとしても NL4-3luc に感染していない細胞が含まれている可能性があり、また感染していてもコピー数や挿入される遺伝子座の違いなどにより PMA などの薬剤に対する感受性が異なる細胞が含まれる。したがって、薬剤で処理した際に得られるデータはこれら集団の平均的な結果であるため感度に問題があり、プールの状態では感染細胞は集団として常に均質でない可能性が高く、再現性の高いデータが得られない可能性がある。一方、クローンを単離して用いた場合は集団として均質であり各クローンの感度を評価することが可能で、また良好な再現性を期待できる。したがって我々は、感染細胞プールからホタルルシフェラーゼの基底発現水準が低く薬剤感受性が高いクローンを 2 回の限界希釈を経て単離した。

基底ルシフェラーゼ活性と細胞生存

本課題で樹立した Jurkat 由来潜伏感染細胞株では微量のホタルルシフェラーゼ遺伝子の発現が検出されており、生存に障害がない程度にプロウイルス遺伝子が発現しているものと考えられるが、細胞の増殖には影響がなく課題遂行上問題になることはない。また、本研究で用いた薬剤 PMA で刺激した場合、基底状態で検出されるよりも平均して 20 nM PMA で 300 倍以上にホタルルシフェラーゼの活性の増大が検出されたが、この誘導メカニズムが転写因子の活性化だけで説明できるのか、エピジェネティックな制御が介在するのか、プロウイルス挿入部位の環境はどうかなどについて、今後の解析を要すると考えられる。

Reference

- 1) Jordan, A., Bisgrove, D. and Verdin, E. HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells in vitro. EMBO J., **22**, 1868 – 1877, 2003.

(4) 研究題目：ハーブによる抗ウイルス・抗寄生虫効果の研究

研究項目：抗原虫活性成分を有するガーナ産植物の探索

研究内容：ハーブ抽出物による抗アフリカトリパノソーマ原虫活性をスクリーニングするためのアッセイ系開発

① 研究のねらい

西アフリカ地域ではツエツエバエが伝播する原虫 *Trypanosoma brucei gambiense* によるアフリカ睡眠病が流行しており、中枢神経症状を呈して臨床的に重篤化する風土病であるが、典型的な Neglected Tropical Diseases (NTD) として対策の遅れが指摘される疾患でもある。現在でも安全で有効な駆虫薬が開発されていないため、安価で有効かつ安全な治療薬の開発が急務である。本研究では既に報告のあるハーブ抽出物による抗トリパノソーマ原虫効果に関する生物学的機序を解析し、効果を示す物質の薬効機序の解析、薬効物質の精製と構造活性相関に基づくより広範なスクリーニングのシステム確立を目的としているが、今年度はトリパノソーマ原虫の実験室内維持の立ち上げと殺原虫効果のアッセイ方法の確立し、ガーナ・野口研における研究との連携支援の体制整備に着手した。

② 研究実施方法

- (1) 原虫株：トリパノソーマ原虫は実験室内維持株 *Trypanosoma brucei brucei* GUTat3.1 株の導入をおこなった。本原虫株はケニア ILRI(International Livestock Research Institute)にて確立されたもので、西アフリカに分布するものとは亜種の違いはあるが、国際的な標準株とされているものの一つであるため、この原虫株を導入した。薬効解析を野口研のデータと比較するために *in vitro* の培養法を統一することとしたが、ガーナでは FCS の安定的入手に問題が生じる可能性があるため藪らの方法による低血清培地による培養を行うこととした。すなわち、血流型原虫を 0.5%FBS 添加 Iscove's modified Dalbecco 培地に 200 μ L L アラニン、100 μ M グリシン、20 μ M L 塩化オルニチン、10 μ M L シトルリンを添加したものに培養を適応させ、5% CO₂、37°C にて培養を継続している。
- (2) 薬効アッセイ系：原虫は単細胞動物であるので、薬効の 1 次スクリーニングとしては細胞死の判定になる。原虫では細胞死が個体死となるが、トリパノソーマでもアポトーシスが起こるため、細胞死の判定と細胞死の機序を解析することにした。細胞死はトリパンプルーによる判定で問題ないが、アポトーシス誘導の有無も指標とすることが有用であると考え、原虫の鞭毛、核、ミトコンドリアなどの形態観察を微分干渉顕微鏡で観察することの確認まで進めた。

③ 当初計画の進捗状況

初年度はアフリカトリパノソーマ原虫に対するハーブ抽出物の薬効評価アッセイ系を確立することを目指した準備段階として開始したが、ガーナ・野口研と東京医科歯科大学とで原虫の培養条件を共有し、実験データに対する相互のアクセスを確立しつつあるという点で、ほぼ予定通りに進行している状況である。

B. 長崎国際大学グループ

(1) 研究題目：ハーブ抽出物の有機化学的研究

研究内容：研究環境についての予備調査

① 研究のねらい

野口研(NMIMR)および生薬科学研究センター(CSRPM)の研究環境についての予備調査を行うため、平成 21 年 7 月 19 日から 26 日まで両施設を視察した。

② 研究実施方法と結果

1. 野口研の各研究室を点検した結果、研究室内設備としては CO₂ インキュベータ、遠心機、クリンベンチ、洗浄装置等が設置されており、整備することにより室内で独立して実験が出来る環境を備えていると判断した。特に別棟の P3,P2 研究室 (JICA の建設) は十分な整備が行われており、抗 HIV 活性成分に関するアッセイ等には支障なく対応出来ると判断した。但し、PCR 装置、タッチミキサー、卓上型遠心機、蛍光フォトメーター、プレートリーダー等こまごました装置とピペット類、エッペン、ガラス器具等の消耗品、一般的な試薬類を整備する必要があるものと見受けられた。以上の機材は品質の保証が得られるので日本で購入し移動するのが得策と考える。以上の状況から実験を開始出来るよう整備するためには少なくとも半年は必要と判断した。抗寄生虫活性成分研究に関しては、Parasitology の関連研究室で研究遂行が求められるが、鈴木研究室を除いては機器類の整備は行われておらず、研究開始までには、上述の HIV 関連研究に匹敵する機械器具類の整備が必須であると判断した。また、研究遂行にとって人材確保が重要課題であるが、現時点では困難な状況が予想される。Nyarko 所長との話し

合いで、研究の進め方や公表方法に付いての要望が述べられた。また、共同研究遂行のために必要な機械器具類の希望リストが提出されたが、これらは野口研全体として必要な機械器具類と判断した。実験動物センターを見学した結果、本施設はガーナ国内の研究施設へ各種実験動物を提供しており、大変しっかりした研究体制が構築されていて、本プロジェクトのインビボ研究に十分活用出来ると判断した。

2. 生薬科学研究センター

Nyarko 所長、Dr.Brandful、JICA のタン女史と共に生薬科学研究センターを訪問した。Okine 所長、Phytochemistry Head から研究所内を案内された。植物標本室は充実しており、phytochemical ラボでは HPLC、凍結乾燥機、エバポレーター等保有し、サンプルエキス作成ラボではエバポレーター、凍結乾燥機が稼動しており、エキスサンプルを多数保有している。クリニックラボでは1日30名の患者にハーバルメディスンを投与しており、MD が研修医を教育中であった。これらの状況から施設は古い、植物サンプル、エキスサンプル等は充実している。成分研究も行われているが構造決定を担うマス、NMR 等の機器は皆無で外部との共同研究が必須と判断した。25エーカーの植物園を保有し、必要な植物を栽培可能であり、現在園内植物の同定等を整備中であった。

3. 再び野口研の Nyarko 所長を訪ねて、野口研が主導をとり生薬研と共同研究を行うスキームが示されたが、山岡教授が決定される案件と話した。教育省、保健省訪問はスケジュールについて若干変更あるものの実現は間違いない感を受けた。

3. 成果発表等

(1) 原著論文：国内 0 件、国際 0 件

(2) 特許出願：0 件

4. プロジェクト実施体制

(1)「東京医科歯科大学」グループ(ハーブによる抗ウイルス・抗寄生虫効果の研究)

①研究グループリーダー：山岡 昇司(東京医科歯科大学・教授)

②研究項目

抗HIV活性成分を有するガーナ産植物の探索

研究内容：HIV-1 潜伏感染 T 細胞株の樹立

ハーブ抽出物の抗 HIV 活性をスクリーニングするためのアッセイ系開発

抗ウイルス因子の発現を増強するガーナ産植物の探索

抗寄生虫活性成分を有するガーナ産植物の探索

(2)「長崎国際大学」グループ(ハーブ抽出物の有機化学的研究)

① 研究グループリーダー：正山 征洋(長崎国際大学・教授)

② 研究項目

ハーブ抽出物の有機化学的研究

以上