

[表 4] A. GulV2③-43 の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年8月22日より2012年8月27日										
		復 帰 変 異 数 コロニー数/plate(平均)										
		塩 基 対 置 換 型					フ レ ー ム シ フ ト 型					
		TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537		
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	84	97	9	9	29	33	13	19	11	10	
		( 91 )		( 9 )		( 31 )		( 16 )		( 11 )		
	78.1	84	113	5	6	22	19	10	12	5	9	
		( 99 )		( 6 )		( 21 )		( 11 )		( 7 )		
	156	84	100	9	14	26	30	23	25	10 *	12 *	
		( 92 )		( 12 )		( 28 )		( 24 )		( 11 )		
	313	109	116	12	7	23	33	13	17	13 *	7 *	
		( 113 )		( 10 )		( 28 )		( 15 )		( 10 )		
625	107	95	9	11	38	22	14	12	9 *	10 *		
	( 101 )		( 10 )		( 30 )		( 13 )		( 10 )			
1250	99	100	11 *	6 *	31	26	13 *	17 *	13 *	8 *		
	( 100 )		( 9 )		( 29 )		( 15 )		( 11 )			
2500	126	109	10 *	12 *	30	31	24 *	22 *	14 *	14 *		
	( 118 )		( 11 )		( 31 )		( 23 )		( 14 )			
5000 †	152 *	126 *	10 *	16 *	26	36	27 *	23 *	15 *	13 *		
	( 139 )		( 13 )		( 31 )		( 25 )		( 14 )			
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	94	83	8	10	39	35	31	33	19	15	
		( 89 )		( 9 )		( 37 )		( 32 )		( 17 )		
	78.1	108	116	11	7	39	33	28	26	16	17	
		( 112 )		( 9 )		( 36 )		( 27 )		( 17 )		
	156	100	108	7	11	44	35	28	17	16	18	
		( 104 )		( 9 )		( 40 )		( 23 )		( 17 )		
	313	113	83	11	13	32	30	35	23	14	16	
		( 98 )		( 12 )		( 31 )		( 29 )		( 15 )		
625	156	141	14	15	37	42	30	28	17	13		
	( 149 )		( 15 )		( 40 )		( 29 )		( 15 )			
1250	172	132	7	11	35	32	41	46	16	13		
	( 152 )		( 9 )		( 34 )		( 44 )		( 15 )			
2500	153 *	166 *	13	16	36	34	42	32	19 *	12 *		
	( 160 )		( 15 )		( 35 )		( 37 )		( 16 )			
5000	197 *	149 *	17 *	13 *	46	38	51 *	64 *	20 *	15 *		
	( 173 )		( 15 )		( 42 )		( 58 )		( 18 )			
陽 性 対 照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	0.01	0.5	0.01	0.1	80					
	S9 mixを 必要とす るもの	コロニー数/plate	282	324	581	572	109	104	463	486	257	310
			( 303 )		( 577 )		( 107 )		( 475 )		( 284 )	
		名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	1	2	10	0.5	2					
コロニー数/plate	698	674	320	332	515	512	374	372	256	217		
	( 686 )		( 326 )		( 514 )		( 373 )		( 237 )			

陰性対照, ジメチルスルホキシド

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; 2AA, 2-Aminoanthracene

†, 沈殿が認められた。

\*, 生育阻害が認められた。

[表 4] B. GnlV2③-43 の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 II)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年 8月30日より2012年 9月 3日	
		復 帰 変 異 数	コロニー数/plate (平均)
		フレームシフト型	
		TA1537	
S9 mix  (-)	0 (陰性対照)	7 ( 7 )	7
	9.77	3 ( 5 )	6
	19.5	5 ( 7 )	8
	39.1	7 ( 6 )	5
	78.1	5 ( 6 )	6
	156	5* ( 7 )	8*
陽 性 対 照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	9AA
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	80
		コロニー数/plate	239 ( 208 )

陰性対照, ジメチルスルホキシド

9AA, 9-Aminoacridine

\*, 生育阻害が認められた。

[表 5] A. GulV2⑥-2 の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I)

代謝活性化系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年8月22日より2012年8月27日										
		復 帰 変 異 数 コロニー数/plate(平均)										
		塩 基 対 置 換 型					フ レ ー ム シ フ ト 型					
		TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537		
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	84	97	9	9	29	33	13	19	11	10	
		( 91 )		( 9 )		( 31 )		( 16 )		( 11 )		
	78.1	82	102	9	13	30	32	14	17	4	9	
		( 92 )		( 11 )		( 31 )		( 16 )		( 7 )		
	156	83	81	5	7	31	30	15	19	7 *	11 *	
		( 82 )		( 6 )		( 31 )		( 17 )		( 9 )		
	313	105	85	9	8	26	26	18	20	7 *	15 *	
		( 95 )		( 9 )		( 26 )		( 19 )		( 11 )		
625	102	86	8	13	31	29	21	16	11 *	16 *		
	( 94 )		( 11 )		( 30 )		( 19 )		( 14 )			
1250	96	108	11 *	13 *	27	20	20 *	17 *	16 *	16 *		
	( 102 )		( 12 )		( 24 )		( 19 )		( 16 )			
2500	127	120	12 *	17 *	36	31	16 *	18 *	16 *	15 *		
	( 124 )		( 15 )		( 34 )		( 17 )		( 16 )			
5000 †	131 *	123 *	12 *	17 *	33	32	29 *	23 *	9 *	19 *		
	( 127 )		( 15 )		( 33 )		( 26 )		( 14 )			
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	94	83	8	10	39	35	31	33	19	15	
		( 89 )		( 9 )		( 37 )		( 32 )		( 17 )		
	78.1	112	81	6	6	23	35	30	32	20	19	
		( 97 )		( 6 )		( 29 )		( 31 )		( 20 )		
	156	85	93	11	11	34	23	35	31	21	19	
		( 89 )		( 11 )		( 29 )		( 33 )		( 20 )		
	313	108	92	12	14	33	33	24	36	19	18	
		( 100 )		( 13 )		( 33 )		( 30 )		( 19 )		
625	123	132	10	12	37	24	36	34	22	21		
	( 128 )		( 11 )		( 31 )		( 35 )		( 22 )			
1250	144	143	15	19	28	39	30	32	17	19		
	( 144 )		( 17 )		( 34 )		( 31 )		( 18 )			
2500	151 *	142 *	10	7	42	24	47	52	20 *	15 *		
	( 147 )		( 9 )		( 33 )		( 50 )		( 18 )			
5000	162 *	156 *	16 *	14 *	35	37	49 *	50 *	18 *	15 *		
	( 159 )		( 15 )		( 36 )		( 50 )		( 17 )			
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	0.01	0.5	0.01	0.1	80					
		コロニー数/plate	282	324	581	572	109	104	463	486	257	310
			( 303 )		( 577 )		( 107 )		( 475 )		( 284 )	
対照	S9 mixを必要とするもの	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	1	2	10	0.5	2					
		コロニー数/plate	698	674	320	332	515	512	374	372	256	217
			( 686 )		( 326 )		( 514 )		( 373 )		( 237 )	

陰性対照, ジメチルスルホキシド

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; 2AA, 2-Aminoanthracene

†, 沈殿が認められた。

\*, 生育阻害が認められた。

[表 5] B. GnlV2⑥-2 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (本試験 II)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年 8月30日より2012年 9月 3日	
		復 帰 変 異 数      コロニー数/plate (平均)	
		フレームシフト型	
		TA1537	
S9 mix  (-)	0 (陰性対照)	7 ( 7 )	7
	9.77	4 ( 4 )	4
	19.5	7 ( 8 )	8
	39.1	5 ( 5 )	4
	78.1	10 ( 10 )	9
	156	10 * ( 7 )	3 *
陽 性 対 照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	9AA
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	80
		コロニー数/plate	239      176 ( 208 )

陰性対照, ジメチルスルホキシド

9AA, 9-Aminoacridine

\*, 生育阻害が認められた。

[表 6] A. GulV2⑥-13 の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年8月22日より2012年8月27日										
		復帰変異数 コロニー数/plate(平均)										
		塩基対置換型					フレームシフト型					
		TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537		
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	84 ( 91 )	97 ( 9 )	9 ( 9 )	9 ( 9 )	29 ( 31 )	33 ( 31 )	13 ( 16 )	19 ( 16 )	11 ( 11 )	10 ( 10 )	
	78.1	82 ( 83 )	83 ( 10 )	8 ( 10 )	11 ( 10 )	37 ( 35 )	32 ( 35 )	20 ( 22 )	23 ( 22 )	5 ( 5 )	5 ( 5 )	
	156	90 ( 85 )	80 ( 12 )	12 ( 12 )	11 ( 12 )	22 ( 29 )	35 ( 29 )	22 ( 23 )	23 ( 23 )	6 * ( 7 )	8 * ( 8 )	
	313	102 ( 110 )	117 ( 13 )	13 ( 13 )	13 ( 13 )	27 ( 27 )	27 ( 27 )	11 ( 15 )	19 ( 15 )	10 * ( 8 )	5 * ( 5 )	
	625	82 ( 84 )	86 ( 11 )	11 ( 11 )	10 ( 11 )	29 ( 29 )	29 ( 29 )	15 ( 17 )	19 ( 17 )	6 * ( 8 )	10 * ( 10 )	
	1250	110 ( 103 )	96 ( 8 )	8 * ( 8 )	8 * ( 8 )	28 ( 30 )	32 ( 30 )	22 * ( 20 )	18 * ( 20 )	5 * ( 7 )	8 * ( 8 )	
	2500	119 ( 114 )	108 ( 14 )	10 * ( 14 )	17 * ( 14 )	33 ( 32 )	31 ( 32 )	21 * ( 21 )	20 * ( 21 )	7 * ( 7 )	7 * ( 7 )	
	5000 †	138 * ( 129 )	119 * ( 15 )	15 * ( 15 )	14 * ( 14 )	20 ( 25 )	30 ( 25 )	24 * ( 22 )	20 * ( 22 )	12 * ( 10 )	7 * ( 7 )	
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	94 ( 89 )	83 ( 9 )	8 ( 9 )	10 ( 10 )	39 ( 37 )	35 ( 37 )	31 ( 32 )	33 ( 32 )	19 ( 17 )	15 ( 15 )	
	78.1	90 ( 85 )	79 ( 8 )	7 ( 8 )	9 ( 9 )	34 ( 28 )	21 ( 28 )	27 ( 25 )	22 ( 25 )	14 ( 17 )	19 ( 19 )	
	156	107 ( 108 )	108 ( 8 )	8 ( 8 )	8 ( 8 )	40 ( 38 )	35 ( 38 )	22 ( 25 )	28 ( 28 )	29 ( 20 )	11 ( 11 )	
	313	106 ( 101 )	95 ( 10 )	9 ( 10 )	11 ( 11 )	42 ( 36 )	30 ( 36 )	46 ( 40 )	33 ( 33 )	23 ( 20 )	16 ( 16 )	
	625	120 ( 123 )	126 ( 8 )	6 ( 8 )	10 ( 10 )	40 ( 36 )	32 ( 36 )	33 ( 34 )	35 ( 35 )	17 ( 16 )	15 ( 15 )	
	1250	129 ( 127 )	125 ( 10 )	8 ( 10 )	11 ( 11 )	29 ( 32 )	35 ( 35 )	28 ( 34 )	39 ( 39 )	16 ( 11 )	5 ( 5 )	
	2500	132 * ( 126 )	119 * ( 11 )	10 ( 11 )	11 ( 11 )	34 ( 34 )	33 ( 34 )	50 ( 49 )	48 ( 48 )	18 * ( 21 )	23 * ( 23 )	
	5000	146 * ( 151 )	156 * ( 13 )	13 * ( 13 )	13 * ( 13 )	30 ( 34 )	37 ( 37 )	40 * ( 49 )	57 * ( 57 )	19 * ( 14 )	9 * ( 9 )	
陽性 対照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	0.01	0.5	0.01	0.1	80					
	S9 mixを 必要とす るもの	コロニー数/plate	282 ( 303 )	324 ( 577 )	581 ( 577 )	572 ( 572 )	109 ( 107 )	104 ( 104 )	463 ( 475 )	486 ( 486 )	257 ( 284 )	310 ( 310 )
		名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA					
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	1	2	10	0.5	2					
		コロニー数/plate	698 ( 686 )	674 ( 326 )	320 ( 326 )	332 ( 332 )	515 ( 514 )	512 ( 512 )	374 ( 373 )	372 ( 372 )	256 ( 237 )	217 ( 217 )

陰性対照, ジメチルスルホキシド

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; 2AA, 2-Aminoanthracene

†, 沈殿が認められた。

\*, 生育阻害が認められた。

[表 6] B. GluIV2⑥-13 の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 II)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	試験実施期間:2012年 8月30日より2012年 9月 3日	
		復 帰 変 異 数      コロニー数/plate(平均)	
		フレームシフト型	
		TA1537	
S9 mix  (-)	0 (陰性対照)	7 ( 7 )	7
	9.77	4 ( 4 )	4
	19.5	5 ( 4 )	3
	39.1	9 ( 9 )	8
	78.1	9 ( 9 )	9
	156	5* ( 5 )	5*
陽 性 対 照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	9AA
		用量( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	80
		コロニー数/plate	239      176 ( 208 )

陰性対照, ジメチルスルホキシド

9AA, 9-Aminoacridine

\*, 生育阻害が認められた。

[表 7] 予備試験結果

A. 試験溶液中の各元素の濃度

	試験溶液濃度 (ng/mL)				
	<sup>75</sup> As	<sup>111</sup> Cd	<sup>200</sup> Hg	<sup>202</sup> Hg	<sup>208</sup> Pb
NIB-003	0.9	(0.0)	0.33	0.36	1.01
NIB-007	0.3	(0.0)	0.24	0.25	0.30
NIB-074	0.3	(0.0)	0.20	0.24	0.27
NIB-176	0.3	0.2	0.20	0.23	0.31
LOQ (ng/mL) <sup>a)</sup>	0.4	0.4	0.4	0.4	1

a) LOQ=定量下限

B. 同位体より換算した材質 1 g 当たりにおける各元素の濃度

	材質重量(g)	材質中濃度 (μg/g)				
		<sup>75</sup> As	<sup>111</sup> Cd	<sup>200</sup> Hg	<sup>202</sup> Hg	<sup>208</sup> Pb
NIB-003	0.13257	0.4	<LOD	<LOQ	<LOQ	0.4
NIB-007	0.11806	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ
NIB-074	0.10199	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ
NIB-176	0.10148	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LOQ (μg/g)		0.2	0.2	0.2	0.2	0.5

< LOQ=定量下限以下

< LOD=検出限界以下

[表 8] 添加回収試験

Sample: *Glycyrrhiza uralensis* (NIB-007)

	As <sup>a)</sup>	Cd	Hg <sup>b)</sup>	Pb
Recovery (%)	98.9	97.0	98.3	103.0
RSD (%)	3.7	1.9	2.7	4.2

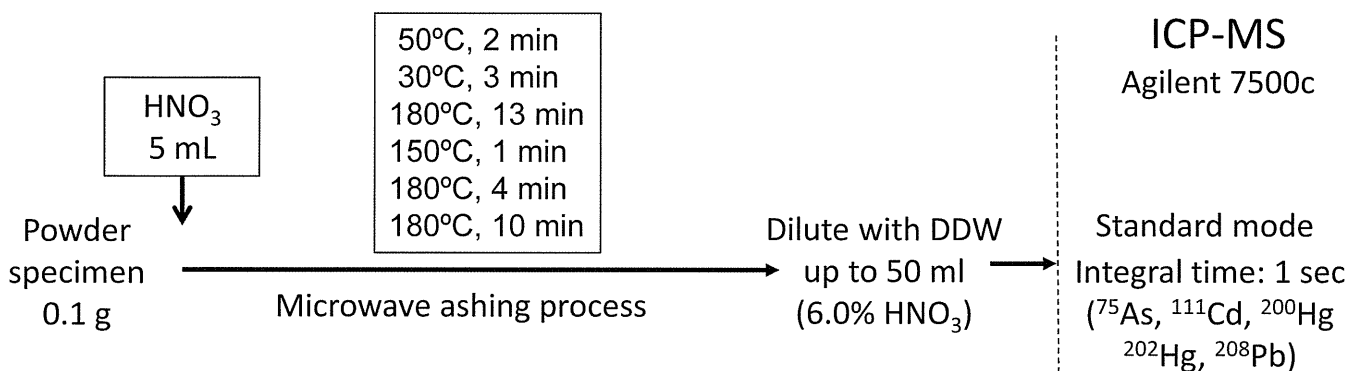
Data was shown as means of five experiments.

a) ヒ素(<sup>75</sup>As)は He ガスによるコリジョンモードを選択

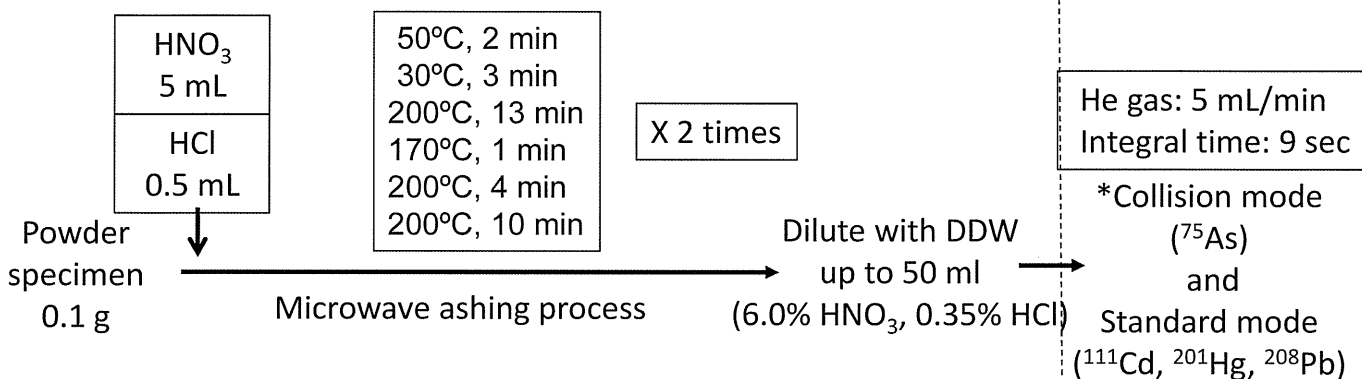
b) 水銀は <sup>201</sup>Hg をモニターして濃度を換算した

[図 1] ヒ素および重金属測定の流れ

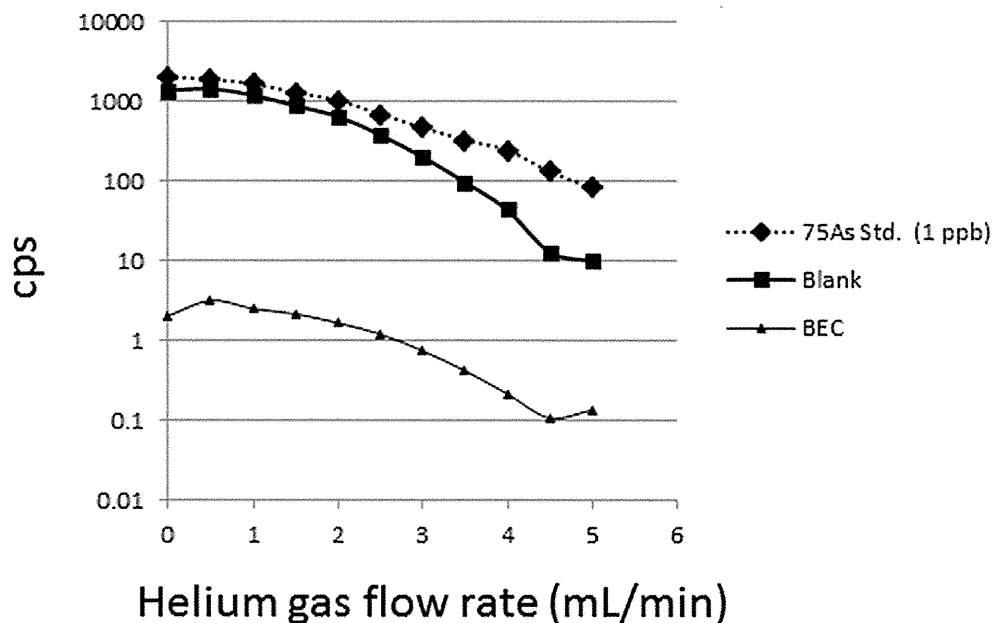
A. 予備試験での灰化条件および測定法



B. 本実験での灰化条件および測定法



[図 2] ヘリウムガスの流量の検討



BEC...Background Equivalent Concentration



[表 9] 市場流通品および水耕栽培品カンゾウのヒ素および重金属含量.

	(μg/g)			
	As	Cd	Hg	Pb
<b>市場流通品</b>				
NIB-007	<LOD	<LOQ	<LOQ	0.20 <sup>a)</sup>
NIB-003	0.36	<LOQ	<LOQ	0.49 <sup>a)</sup>
NIB-074	0.16	<LOQ	<LOD	0.28 <sup>a)</sup>
NIB-176	0.16	0.13	<LOD	0.28 <sup>a)</sup>
<b>水耕栽培品</b>				
GuIV2-③-43	<LOD	<LOQ	<LOQ	0.36 <sup>b)</sup>
GuV2-⑥-13	<LOD	<LOQ	<LOQ	0.32 <sup>b)</sup>
GuIV2-⑥-2	<LOD	<LOD	<LOD	0.21 <sup>b)</sup>
LOQ	0.1	0.1	0.1	0.05

すべての測定は n=1 で行った.

<LOD=検出限界以下、<LOQ=定量下限以下

ヒ素(<sup>75</sup>As)は He ガスによるコリジョンモードを選択

a) と b)間に有意差なし(p=0.396)

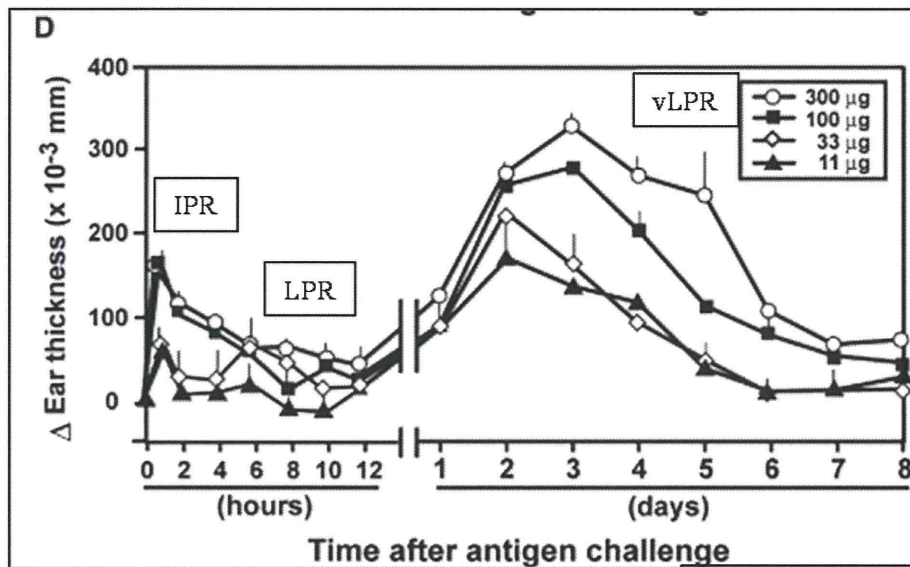
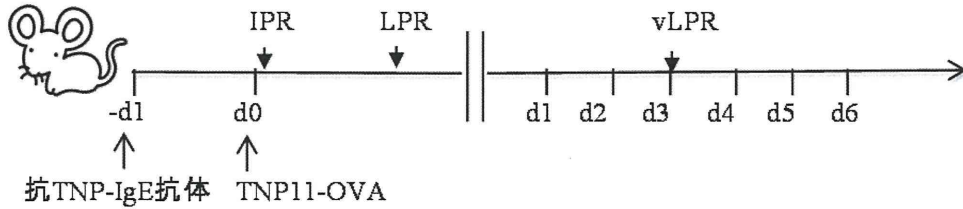
[図 3] 三相型アレルギーモデル

A. 病態の経過

TNP (2, 4, 6,-Trinitrophenol)誘導 三相型アレルギーモデル

- ・ IgE-依存型即時型アレルギーモデル  
Immediately Phase Response (IPR) / Late Phase Response (LPR)
- ・ 遅延型アレルギーモデル  
very Late Phase Response (vLPR)

BALB/c 7week, female

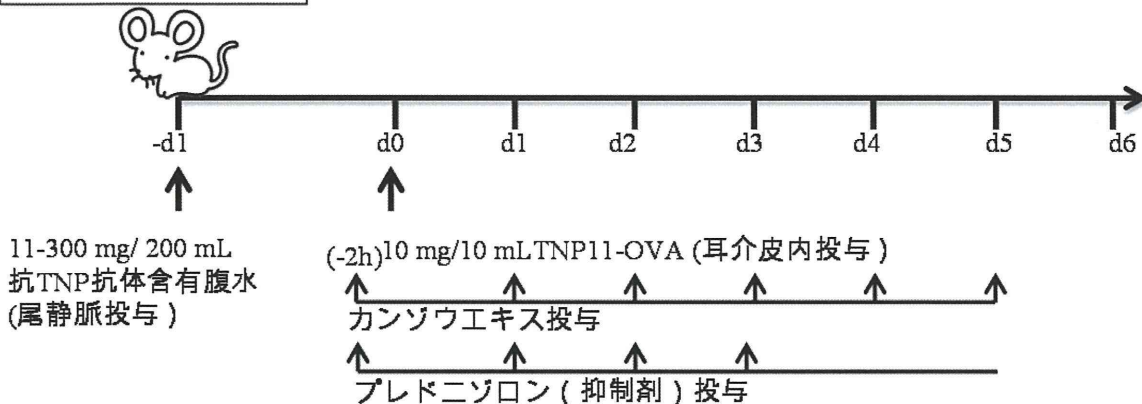


参考文献23)より

B. 投与スケジュール

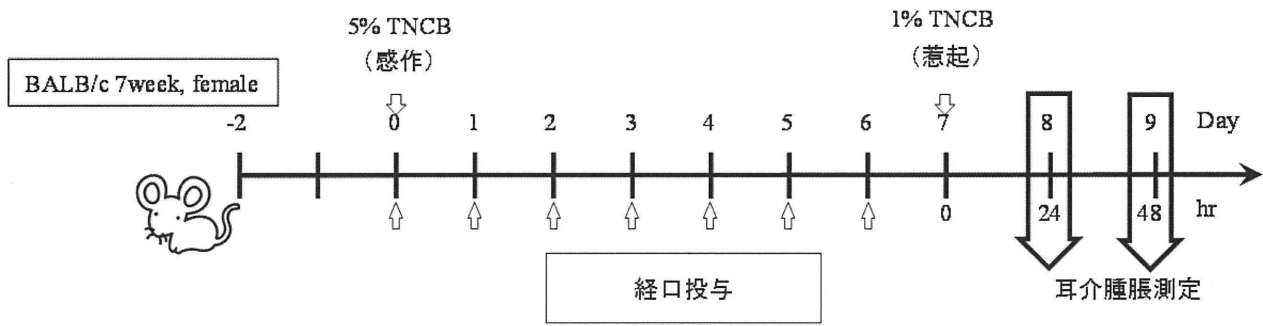
カンゾウエキスの投与方法

BALB/c 7week, female



[図 4] 接触性皮膚炎モデルと投与スケジュール

接触性皮膚炎 遅延型アレルギーモデル



平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

分担研究者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 ダイオウ：日本で栽培可能でかつ品質良好な系統を明らかにした。長野県菅平では系統17、18、29、43が、北海道名寄では系統38、29が有望であった。栽培年数は早熟のものでは3年、後熟のものでは5年が妥当であるものと考えられた。上記の系統ではSennoside Aの含量が日本薬局方の基準を満足し、かつ他の薬効成分も含有されていた。Sennoside Aは根茎では特に髓の異常維管束に局在した。加工法への示唆が得られた。一方、今後、網羅的成分分析を行う上での分析条件が設定できた。

シャクヤク：生薬の赤芍または白芍（芍薬）として使用可能と考えられる園芸品種をそれぞれ3品種選択できた。成分には遺伝的要因の他、環境要因も関与することが判明し、富山県シャクヤクではPaeoniflorinの他、Pentagalloylglucoseに着目すべきことがわかった。

エゾウコギ：未熟胚の成熟を早め、約3ヶ月に短縮する後熟促進処理方法を決定した。

研究協力者

伏見裕利 富山大学和漢医薬学総合研究所  
准教授

数馬恒平 同 助教

朱 姝 同 助教

平 修 北陸先端科学技術大学院大学  
助教

川原信夫 (独) 医薬基盤研究所 薬用植物  
資源研究センター センター長

菱田敦之 同 北海道研究部  
研究サブリーダー

磯田 進 昭和大学薬用植物園 講師

田村隆幸 富山県薬用植物指導センター  
主任研究員

村上守一 同 元所長

中曽根亨 長野県健康福祉部薬事管理課

なるに従い、漢方方剤の需要が伸びている。一方、方剤に配合される生薬は約83%を中国に依存しており、今後、中国の自然環境の変化や国家政策によっては生薬の供給が滞る事態も危惧される。漢方医学の持続性を担保する意味から、日本で栽培可能な生薬は栽培化を図るべきである。

しかし、生薬の薬価の引き下げや栽培従事者の高齢化などから生薬を作り出す薬用植物の栽培面積は年々減少する傾向にある。一方、里山開発や休耕田の利用、中高齢者の副収入源として薬用植物の栽培を希望する地域も多い。矛盾する現象ではあるが、作出物の品質保証と一定量の作出物が安定供給できない限り、生薬関連企業は国産品を購入せず、栽培は広がらない。産学官が連携して薬

A. 研究目的

漢方医学の科学的エビデンスが明らかに

用植物の栽培研究と品質保証を行い、地域住民に栽培・加工方法を指導して、最終的に作出物を産業界が利用するというサイクルを作り出すことが現在の緊急の課題である。

そこで本研究では、これまでの薬用植物の多様性解析研究を通じて優良系統または成分的に特徴を有する系統として明らかにしてきた3生薬（大黄、芍薬、刺五加）の基原植物について、栽培法を確立すること、作出物に含まれる成分の組成と含量及び組織内分布を明らかにして、栽培系統、栽培年数及び加工調製法を決定すること、さらに実際にブランド製品として開発することを目的とする。

ダイオウについては、瀉下活性のある Senoside 含量のみならず、他の成分をも広範に含有した新しい系統を選抜し、漢方的に虚証の患者様にも適応可能な大黄を作出する。また、質量顕微鏡で主要成分の組織内分布を明らかにすることにより、作出物の加工調製を科学的根拠に基づいて行う。

シャクヤクについては、園芸用・薬用の双方に利用可能な品種を選択することにより収益率を向上させ、地域での栽培拡充を図る。また、鎮痙薬とされる芍薬（白芍）のみならず、婦人科疾患に有効な赤芍として使用可能な品種を栽培することで、芍薬の可能性を広げる。

エゾウコギについては、養液栽培と圃場での栽培を組み合わせた方法を開発する。また、生活習慣病や認知症の改善に効果が期待できることから、作出物から健康食品を開発し流通させることにより、中高年疾患の予防に貢献する。

以上の薬用植物から仕上げた加工品を、実際に生薬として流通させるためには、現在の

局方生薬との同等性を調べる必要がある。そこで、最終的には、医薬品として国内規格を満たす品質であるかどうかを検証する。

平成24年度は、ダイオウの圃場における栽培研究（長野県上田市菅平、北海道名寄市、富山県富山市、山梨県富士吉田市）と、長野県菅平で栽培された主として栽培5年目の植物体の地下部に関する成分研究（有機成分・無機成分）並びに成分の組織内分布に関する研究；シャクヤクの園芸品種から、薬用にも適した品種を選択するための成分研究；エゾウコギの種子の休眠打破に関する研究を行った。

## B. 研究方法

### 1. 実験材料

#### 1) ダイオウ

富山大学和漢医薬学総合研究所生薬資源科学分野で保有している24系統のダイオウ（表1）の種子を、富山県薬用植物指導センターにて播種し、種苗を育成した。これらを、長野県上田市の菅平薬草栽培試験地（長野県健康福祉部薬事管理課）、北海道名寄市（（独）医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部）、富山県富山市（富山県薬用植物指導センター）及び山梨県富士吉田市（昭和大学薬用植物園）に分配して、栽培した。品質評価研究には、長野県菅平で栽培された主として5年生の植物体の地下部を用いた。

#### 2) シャクヤク

富山県薬用植物指導センターで栽培された園芸品種 97 品種及び薬用品種 2 品種の、主として 4～8 年生の植物体の根を用いた。また、富山県薬用植物指導センターで育成し

た種苗を長野県菅平薬草栽培試験地に移し、同地で栽培された3品種の4年生の植物体の根を用いた。

### 3) エゾウコギ

(独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部より入手した10系統の種子を用いた。

## 2. 研究方法

本研究では、学(富山大・和漢研、北陸先端大)と官(基盤研・薬用植物資源研究セ、富山県、長野県)が連携し、付加価値のある薬用植物の選抜、栽培方法の確立、作出物の加工・調製方法の確立を行う。さらに、養液栽培については富山県内企業が参画する。各々の過程で各種機器分析を駆使して科学的根拠を得る。

本研究の流れと研究計画を、図1と図2に示す。

### 1) ダイオウ

栽培研究: 長野県菅平薬草栽培試験地で5年目の栽培を実施する。これまでに見出した耐暑性の系統、成分的に優れた系統、根茎の発達が良い系統などの間で交配実験を行い、種子を得る。

基盤研・薬用植物資源研究センター北海道研究部では、成分的に優良な系統などの最適栽培環境及び栽培方法に関する研究を行う。

品質評価: ダイオウ11系統の栽培5年目の植物体の根茎及び根についてそれぞれ、薬効に関与する成分(Anthraquinone類とその配糖体、Dianthrone類、Phenylbutanone類、Stilbene類、Fravan-3-ol類など)をHPLC法で定量し、栽培2~4年目の根茎及び根の成

分含量と比較する。これにより、日本で栽培可能なダイオウの系統、栽培年数などを明らかにする。

また、LC-MSにより網羅的成分分析を行うための分析条件を検討し、成分プロファイリングを行う。さらに、主要成分の根茎及び根における組織内分布を、イメージング質量分析により明らかにする。

一方、無機成分についてもICP発光分光分析法で定量し、系統間差異を検討する。また、蛍光X線分析法により、根茎及び根における無機成分のマッピングを行う。

### 2) シャクヤク

品質評価: 99栽培品種の根について、8成分(Paeoniflorin、Pentagalloylglucoseなど)をHPLC法で定量し、含有成分の品種間の差異、栽培地間の差異などを検討する。芍薬類生薬との成分的類似性から、赤芍または白芍(芍薬)として使用可能な園芸品種を選抜する。

### 3) エゾウコギ

エゾウコギの種子は未熟であるため、自然条件下では胚の成熟に約1年を要することが知られている。したがって、効率的な栽培化を目指す上では、この期間の短縮が必要である。そこで、種子の後熟と休眠打破に関する実験を行い、発芽を早めることができるかどうかを検討する。

## C. 研究結果

### 1) ダイオウ

#### 栽培研究

・長野県菅平で5年目の栽培を実施し、植物体の保存率が高い系統として、系統41(62.5%)、43(51.2%)、17(47.7%)、18(45.1%)を見出した。これらは*Rheum palmatum*の系統で、*matK*遺伝子の塩基配列はすべてRPII型、

Rp5タイプであった。このタイプでは、太い根が1株あたり数本以上付くという特徴があり、収量も高かった。

・長野県菅平で栽培5年目を迎えた系統4、15、18、43、45の間で受粉を行い（♂系統4×♀系統15、♂系統45×♀系統18、♂系統45×♀系統43）、8月中旬に種子を得た。

・北海道名寄市では19系統のダイオウについて、栽培に適した系統を選抜する目的で、2年生株の生存率と収量を調査した。生存率は系統27及び系統29が80～90%、次いで系統38が75%と高かった。2年生株の地下部の収量は、系統38が最も高く、系統27が中程度、系統29では低かった。これらの結果から、系統27、次いで系統38が栽培に適した系統である可能性が示唆された。系統38はこれまでの成分研究で優良系統であることが判明しているが、長野県菅平では生育が悪かった。

・富山県富山市（標高 1,177 m）においても *R. palmatum* 由来の11系統のうち8系統で、1年間の生育が可能であった（生存率12.5～57.1%）。一方、山梨県富士吉田市（標高 1,000 m）での栽培は困難であることが、5年間の栽培試験から示唆された。

### 品質評価

・栽培2年目～4年目の植物体の根茎及び根について12成分を定量した結果、*R. palmatum* 由来である系統14、15、17、18、29、37、43は、栽培2年目または3年目に根茎またはかつ根が「日本薬局方」規定のSennoside A含量（0.25%以上）を満足した。これらのうち、系統17、18、29（RPII型、Rp5タイプ）ではCatechin 及び Resveratrol-4'-O-(6''-O-galloyl)-glucopyranoside の含量も高く、さらにLindleyin、Rhein 8-O-glucopyranosideも比較的高かった。系統17、29では、栽培5年目の植物体においても同様の結果であった。以上か

ら、*matK*配列がRPII型、Rp5タイプを示す系統が長野県菅平の環境で生育可能であり、かつ品質的にも優良であることが示された。さらに、系統17及び18では栽培3年目、系統29及び43では栽培5年目での収穫が適当であるという結果が得られた。

・LC-MSによる網羅的成分分析を行うためには、Orbitrap検出器を備えたMSを使用し、0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液の系によるグラジエント分析がよいことがわかった。この条件で22検体を分析したところ、既知化合物とは異なるアントラキノン類と考えられる化合物のピークが20程度検出された。また、ダイオウに特徴的なタンニン類の網羅的分析の手がかりとして、重合度の小さいタンニン類を複数検出することに成功した。

・根茎切片のイメージング質量分析により、Sennosidesが髄の異常維管束に局在し、特に道管またはその周辺に多く存在することが明らかになった。また、EmodinまたはAlocemodinは根茎の木部に集中的に存在した。

・ICP発光分光分析法で22検体の無機元素を定量した結果、Feの含量が既報に比べやや少なかった。また、ダイオウの系統29でAl、Kが少ない傾向があった。次に、蛍光X線分析法により無機元素のマッピングを行ったところ、Kは根茎のコルク層、皮層の最外部及び髄に多く存在した。比較に用いた四川省産大黃市場流通品のみ、根茎の皮層にSが検出され、本法は適正な乾燥法が行われているかの判断にも応用できそうであった。

### 2) シャクヤク

99栽培品種について、核ITS領域の塩基配列により赤芍系と白芍系に分けた。主として4～8年生の根のPaeoniflorin含量から、局方規

定 (2.0%以上) を満足する83品種を選び、さらに6成分の含量に基づく主成分分析から、流通生薬すなわち赤芍または白芍 (芍薬) の市場流通品と同様な成分組成・含量を持つものをそれぞれの系統から3品種選び出した。また、環境の違いが成分に及ぼす影響を、同一クローンの富山県産と長野県菅平産で比較し、前者ではPentagalloylglucoseが、後者ではPaeoniflorinとCatechinの含量が高いことが明らかになった。

### 3. エゾウコギ

種子における胚の成熟期間を短縮する目的で、既報の一部を改変した方法を用いて、後熟促進処理を行ったところ、胚の成熟が約3ヶ月に短縮できることを確認した。

## D. 考察

これまでの薬用植物の多様性解析研究を通じて優良系統または成分的に特徴を有する系統として明らかにしてきた3生薬 (大黄、芍薬、刺五加) の基原植物について、栽培法を確立すること、作出物に含まれる成分の組成と含量及び組織内分布を明らかにして、栽培系統、栽培年数及び加工調製法を決定すること、さらに実際にブランド製品として開発することを目的に研究を実施した。

ダイオウについては、国内4ヶ所 (長野県上田市、北海道名寄市、富山県富山市および山梨県富士吉田市) の栽培地での試験から、3ヶ所 (山梨県富士吉田市以外) については栽培地に適した優良系統の選抜に成功した。

各栽培地での優良系統には違いがあり、北海道名寄市での栽培に適した系統38は、長野県上田市での生育は不良であった。このことは、ブランド生薬の開発の確実な推進のためには、多様性をもった植物資源が必須である

ことを示唆している。

シャクヤクについては、同一クローンの富山県富山市と長野県上田市での栽培試験の結果から、根に含有される二次代謝物の組成及び含量が異なり、前者ではPentagalloyl-glucoseが、後者ではPaeoniflorinとCatechin含量が高いことが明らかになった。このことは、用途あるいは目的とする薬用成分に応じたブランド生薬「芍薬」の開発には、材料とするシャクヤクの遺伝的素因だけでなく、栽培環境も極めて重要であり、遺伝的素因と栽培環境の両方を加味した栽培方法の開発と商品化が重要であることを示唆している。

エゾウコギについては、種子の未熟胚の成熟を早め、通常1年を要する胚の成熟を約3ヶ月に短縮する後熟促進処理法を開発した。今後、養液栽培方法を検討する予定である。

## E. 結論

ダイオウについては、日本で栽培可能でかつ品質良好な系統を明らかにした。長野県菅平では系統17、18、29、43が、北海道名寄市では系統38、29が有望であった。栽培年数は系統により異なり、早熟のものでは3年、後熟のものでは5年間が妥当であるものと考えられた。上記の系統ではSennoside Aの含量が日本薬局方の基準を満足し、かつ他の薬効成分も含有されていた。Sennoside Aは根茎及び根に含有されており、根茎では特に髄の異常維管束に局在した。ダイオウの加工法への示唆が得られた。一方、今後、網羅的成分分析を行う上で分析条件が設定できた。

シャクヤクについては、生薬の赤芍または白芍 (芍薬) として使用可能と考えられる園芸品種をそれぞれ3品種選び出すことができた。また、成分には遺伝的要因の他、環境



要因も関与することが判明し、富山県シヤクヤクでは、Paeoniflorin の他、Pentagalloyl-glucose に着目すべきことがわかった。

エゾウコギについては、種子の未熟胚の成熟を早め、約3ヶ月に短縮する後熟促進処理方法を決定した。

以上、平成24年度の目標をほぼ達成できた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) Zhu S., Yu X. L., Shiraishi F., Komatsu K., Murakami M., Tamura T.: Genetic characterization of White/Red Peony roots and the horticultural varieties of *Paeonia lactiflora*. The 7th KSP-JSP-CCTCNM Joint Symposium on Pharmacognosy (2012.8.23-25, Seoul, Korea).
- 2) Zhu S.: Genetic and chemical characterization

of white/red peony roots and the horticultural cultivars of *Paeonia lactiflora*. The 5th International Symposium on Scientific Research of Traditional Medicine—Basic and Clinical Research on Traditional Medicine, Hokuriku Innovation Cluster for Health Science (2012.10.13, Toyama).

- 3) 朱姝, 于曉麗, 白石史遠, 小松かつ子, 村上守一, 田村隆幸: Genetic characterization of White/Red Peony roots and the horticultural cultivars of *Paeonia lactiflora* by nuclear rDNA ITS sequences. 日本薬学会第133年会(2013.3.28-30, 横浜).
- 4) 于曉麗, 朱姝, 吳煜秋, 小松かつ子, 村上守一, 田村隆幸: 芍薬の成分的多様性の解析(2)—白芍・赤芍の成分的差異と園芸品種の薬用資源としての可能性. 日本薬学会第133年会(2013.3.28-30, 横浜).

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

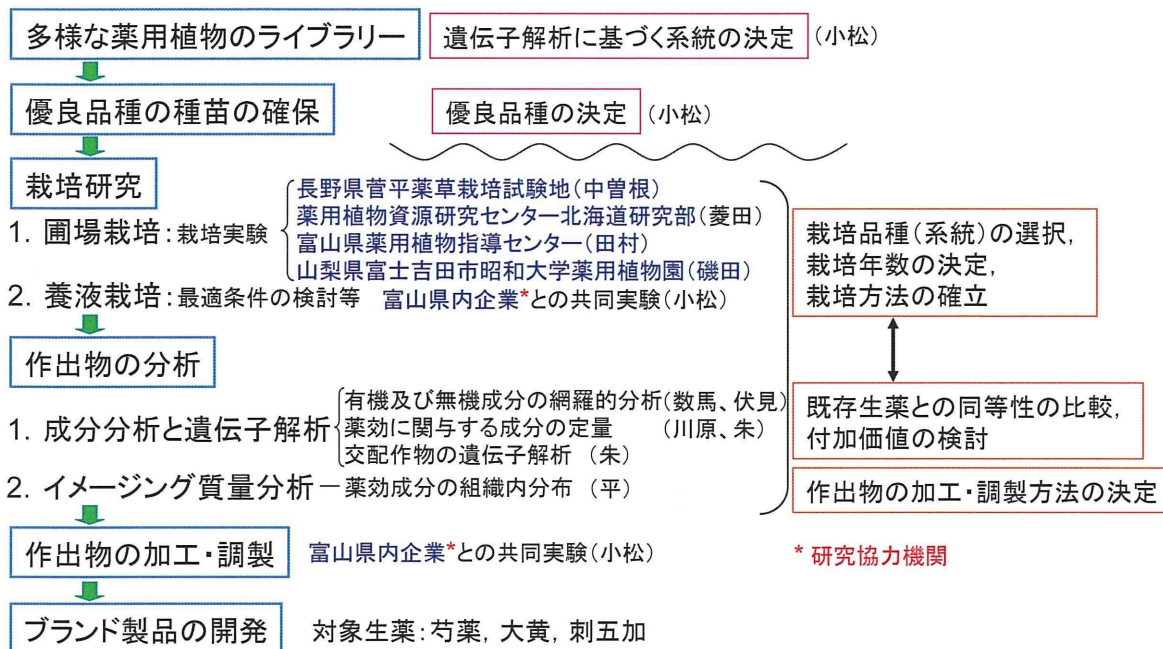


図1 「地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究」の流れ

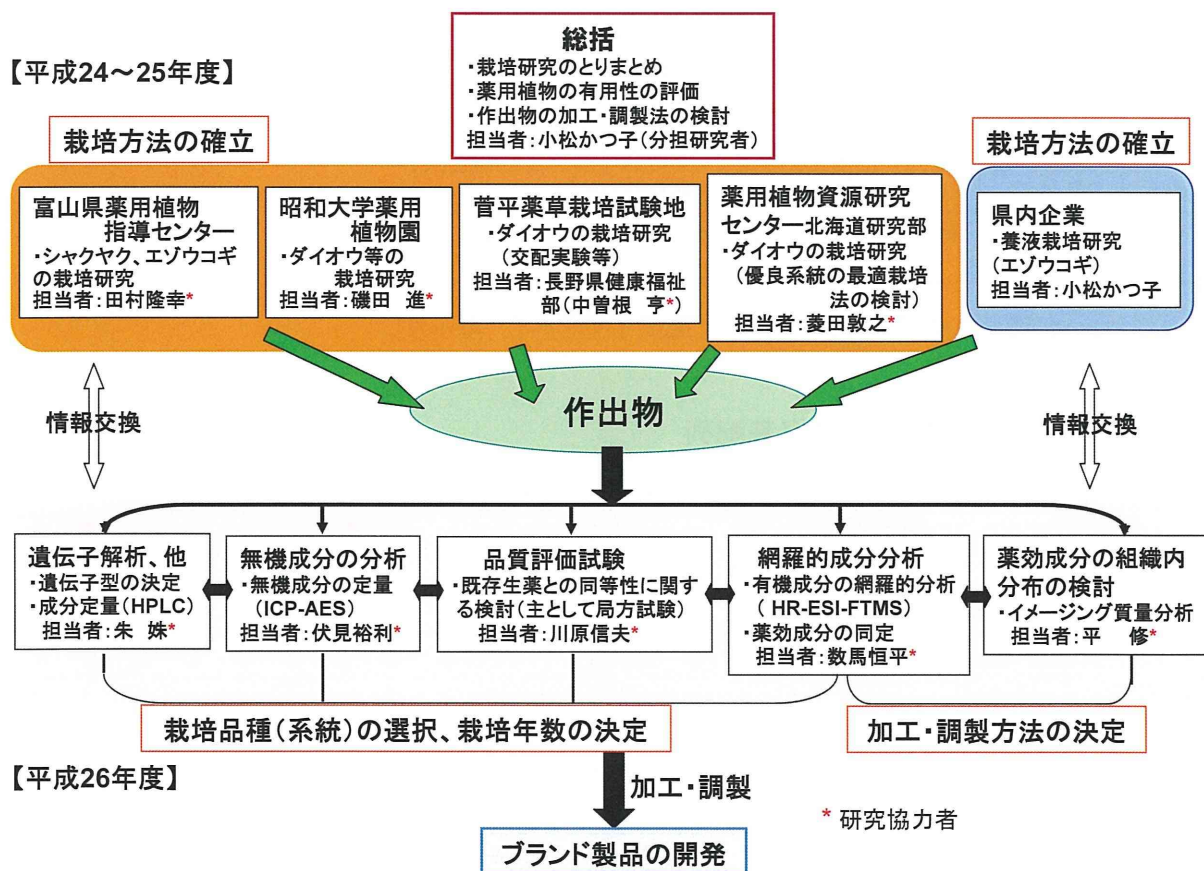


図2 研究計画

表1 ダイオウの栽培系統と葉緑体*matK*遺伝子領域の塩基配列

A. ダイオウの栽培系統

系統	基原		入手地 (標高 m)
	遺伝子型	塩基配列タイプ	
4	RP III	Rp17	甘肅省天祝県(2745)
5	RP III	Rp17	甘肅省天祝県(2745)
6	RT	Rt1	甘肅省天祝県(2745)
7	RL	Rl	甘肅省夏河県(2451)
8	RL	Rl	甘肅省夏河県(2451)
9	RL	Rl	甘肅省夏河県(2451)
10	RL	Rl	甘肅省夏河県(2451)
11	RL	Rl	甘肅省夏河県(2451)
14	RP IV	Rp21	甘肅省碌曲県(3119)
15	RP IV	Rp21	甘肅省碌曲県(3119)
17	RP II	Rp5	甘肅省瑪曲県(3482)
18	RP II	Rp5	甘肅省瑪曲県(3482)
27	RP II	Rp8	四川省若爾蓋県(3277)
29	RP II	Rp5	四川省若爾蓋県(3277)
37	RP I	Rp4	四川省阿坝州阿坝県(3150)
38	RP I	Rp4	青海省久治県(3516)
41	RP II	Rp5	四川省甘孜州色達県(3857)
42	RP I	Rp4	四川省甘孜州色達県(3857)
43	RP II	Rp5	四川省甘孜州色達県(3857)
45	RP II	Rp5	四川省甘孜州色達県(3857)
46	RP II	Rp5	四川省甘孜州色達県(3857)
A1	RP IV	Rp21	甘肅省礼県(1856)
D4	RP IV	Rp21	甘肅省礼県(2651)
D5	RP II	Rp5	甘肅省礼県(2651)
4利	RP III	Rp17	系統4を富山県利賀村で栽培し、種子を得た。

基原には*matK*遺伝子の塩基配列に基づく遺伝子型とタイプを示す。

B. 葉緑体*matK*遺伝子領域の塩基配列

		Nucleotide position																		
Species	Strain Genotype	3 6 7	4 4 3	4 5 1	5 3 1	5 8 7	66 11 89	7 0 7	7 6 9	7 0 3	8 0 8	8 3 3	8 3 7	9 3 7	1 0 6 1	1 1 4	1 2 5 7	1 3 5 4	1 4 5 6	1 4 1 9 7
<i>R. palmatum</i>	RPI Rp4	C	T	G	G	A	TA	C	T	T	C	C	C	C	C	C	C	G	C	T
	RPII Rp5	*	A	*	*	*	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	RPII Rp8	*	A	*	*	*	*C	*	G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	RPIII Rp17	*	A	*	*	*	*C	*	G	*	*	*	A	*	T	*	*	*	*	C
RPIV Rp21	*	A	*	A	*	*C	*	G	*	*	*	*	*	*	*	T	A	*	*	
<i>R. tanguticum</i>	RT Rt1	T	A	*	*	*	**	*	G	A	*	*	T	*	T	*	*	*	G	*
<i>R. laciniatum</i>	RL RI	*	A	*	*	*	A*	*	G	*	*	*	T	*	T	*	*	*	G	*

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—北海道名寄市薬用植物資源研究センター北海道研究部における  
ダイオウの栽培試験—

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 富山大学系ダイオウ 19 系統について栽培に適した系統を選抜する目的で、2 年生株の生存率と収量を調査した。生存率は富 27 系および富 29 系が 80～90%、次いで富 38 系が 75%と高かった。2 年生株の地下部の収量は、富 38 系が最も高く、富 27 系が中程度、富 29 系では低かった。これらの結果から、富 27 系、次いで富 38 系が栽培に適した系統である可能性が示唆された。

研究協力者

菱田敦之 （独）医薬基盤研究所  
薬用植物資源研究センター  
北海道研究部研究サブリーダー

の可能性を調査することが目的である。本年度は、平成23年度に育苗して定植したダイオウの各系統について、その生存率を調査し、生存率の高い系統について収穫調査した。

#### A. 研究目的

ダイオウは、タデ科の多年生草本植物で中国青海省、四川省の高地に分布している。ダイオウの根や根茎は、乾燥させて生薬「大黄」として用いる。生薬「大黄」は、便秘、高血圧症、解熱、鎮痛、消炎、皮膚疾患の改善を目的とした漢方処方に配合され、また駆瘀血を目的とした処方にも配合される。大黄の国内使用量は年間約300トン、この内で90トンは北海道等で栽培されている。

本研究では、研究分担者によって中国で収集されたダイオウ種子を用いて北海道研究部（北海道名寄市）の圃場で栽培試験を実施し、栽培に適した系統を選抜し、国内栽培化

#### B. 研究方法

供試材料：富山大学より供与されたダイオウ 19系統。

播種日：2011年4月19日にセルトレイに播種して温室内で育苗した。その後、ビニルポットに植え替えてさらに育成した。同系統の種子を富山県薬用植物指導センターで育苗し、北海道で同時に定植した。

定植日：2011年6月28日

栽植密度：畝幅 100 cm、株間 50 cm

施肥方法：基肥は、堆肥2,000 kg/10a、炭カル100 kg/10a、化成(S121) 50 kg/10a。追肥は2年目の萌芽期に化成(S121) 50kg/10aを施用