

E. equisetina Bunge (コダチマオウ) の計 8 植物種である (表 1、文献欄)。

続いてデータ取得を行う第 1 優先生薬 25 品目 (牡丹皮、桃仁、黄耆、細辛、防風、半夏、大棗、五味子、沢瀉、麦門冬、釣藤鉤、山茱萸、遠志、呉茱萸、杏仁、知母、葛根、桔梗、山薬、防己、山椒、黄柏、陳皮、厚朴、木通) については、16 生薬 (牡丹皮、黄耆、防風、半夏、沢瀉、麦門冬、釣藤鉤、遠志、杏仁、葛根、山薬、山椒、黄柏、陳皮、厚朴、木通) の、少なくとも基原植物 1 種についての文献情報の入力と公開が完了し、計 19 件の情報を収載した。第 1 優先生薬基原植物 (高等植物) で文献情報が未取得なのは、桃仁、細辛、大棗、五味子、山茱萸、呉茱萸、知母、桔梗、防己の 9 生薬の基原植物である (表 2、文献欄)。

さらにデータ取得を行う第 2 優先生薬 30 品目 (阿膠、荊芥、乾姜、附子、紅参、辛夷、芒硝、石膏、竜骨、牡蛎、猪苓、滑石、粳米、枳実、麦芽、竜眼肉、樸椒、麻子仁、独活、威靈仙、酸棗仁、白芷、薄荷、升麻、竜胆、羌活、天麻、木香、連翹、菊花) については、動物生薬 3 品目 (阿膠、竜骨、牡蛎)、鉱物生薬 3 品目 (芒硝、石膏、滑石)、菌類生薬の猪苓、第 1 コア生薬と基原植物が同一の 2 品目 (乾姜、紅参) を除く 21 品目のうち、12 品目 (附子、粳米、枳実、樸椒、麻子仁、独活、酸棗仁、薄荷、天麻、木香、連翹、菊花) の、少なくとも基原植物 1 種についての文献情報の入力と公開が完了し、計 15 件の情報を収載した。第 2 優先生薬基原植物 (高等植物) で文献情報が未取得なのは、荊芥、辛夷、麦芽、竜眼肉、威靈仙、白芷、升麻、竜胆、羌活の 9 生薬の基原植物である (表 3、文献欄)。

以上、「薬用植物総合情報データベース」に収載する漢方薬原料生薬 75 品目のうち、動物生薬 3 品目、鉱物生薬 3 品目、菌類生

薬 2 品目、基原植物が重複する生薬 2 品目を除く生薬 64 品目のうち、47 品目についての文献情報整備が完了した (73.4%)。

ホームページでの表示例 (黄芩の基原植物コガネバナ *Scutellaria baicalensis* Georgi) を図 2 (和文) 及び図 3 (英文) に示す。

2) オリジナルデータ取得のための、薬用植物組織培養物の育成と資源化

「薬用植物総合情報データベース」に収載する漢方薬原料生薬 (75 品目) の基原植物 (高等植物由来 64 生薬 : 101 植物種) について、オリジナルデータ取得状況 (○ : ほぼ完了、△ : 取得中) 及びオリジナルデータは取得していないが、継代培養による維持保存中で資源化が可能な培養物がある植物種 (△/○) の状況を表 1-3 に示した (オリジナル欄)。対象生薬 19 品目の基原植物 24 種のオリジナルデータ取得がほぼ完了し、以前から継代培養中の薬用植物も含め、対象生薬 23 品目の基原植物 28 種の資源化が完了した (23/64 : 35.9%)。

特に第 1 コア、第 2 コア生薬基原植物のオリジナルデータ取得状況の詳細を表 4 に、資源化が完了又はオリジナルデータ取得中の薬用植物の組織培養物の例を図 4 に示した。第 1 コア生薬基原植物は全ての生薬について少なくとも 1 種の薬用植物の資源化が完了し、第 2 コア生薬の基原植物は、桂皮、芍薬を除く全ての生薬の少なくとも 1 種の薬用植物の資源化が完了した (第 1 コア生薬+第 2 コア生薬 : 17/19 : 89.5%)。

以上、高等植物由来の生薬 64 品目のうち、50 品目について、少なくとも 1 基原植物についての文献情報あるいはオリジナルデータ取得を完了した (78.1%)。

D. 考察

漢方薬原料生薬の多くは中国で生産され

ているため、植物組織培養による増殖法に関する文献は、日本語や英語以外の言語で書かれた物（中国語や韓国語）が数多く存在し、詳細なデータを収載するのが困難な文献もあった。また、園芸用としても価値のあるリンドウ属植物のように、植物組織培養による増殖法に関する文献は入手できたものの、基原植物同士の交配種で日本薬局方の基原植物種とは異なる材料の例や、材料植物の学名の記載がなくデータベースに収載できないものがあった。文献情報がないもの及び入手が困難あるいは調査が困難なものについては、オリジナルデータで補完していく予定である。

オリジナルデータ取得に関しては、当初は発根した培養植物体の育成まで完了したものをデータ取得完了とする予定であった。しかし、シナマオウやイトヒメハギのように、組織培養でのシュートの増殖と生育は良好であるが、継代培養の期間の延長とともに発根が困難になり、初期培養では効果があった発根条件が、長期の継代培養後のシュートの発根には適さない例があった。これらのシュート培養については、培養シュートの直接土壌移植（培養シュートの挿し木）を検討したところ、活着、苗育成が可能であることが判明したため、培養苗育成が可能で培養物までの育成が完了したものをデータ取得完了とした。

E. 結論

薬用植物総合情報データベース」に収載する漢方薬原料生薬（75 品目）の基原植物（高等植物由来 64 生薬：101 植物種）について、組織培養物及び効率的増殖法に関する文献調査、新規情報のデータベースへの入力、既存データの更新を行った。その結果、57 種の薬用植物について、86 件の情報の拡充を完了した。また、薬用植物栽培並びに関連産業振興のため、オリジナルデー

タの取得と漢方薬原料生薬の基原植物の植物組織培養物の資源化を進め、24 種の薬用植物のオリジナルデータ取得を完了し、28 種の薬用植物組織培養物の資源化を完了した。

以上、高等植物由来の生薬 64 品目のうち、50 品目について、少なくとも 1 基原植物についての文献情報あるいはオリジナルデータ取得を完了した（78.1%）。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto T., Yoshimatsu K., Kawahara N., Yamamoto S., Niino T.: In vitro propagation by node culture and cryopreservation by V-Cryo-plate method for *Perilla frutescens*, *Advances in Horticultural Science*, **28**(2), 79-83 (2014).
- 2) 吉松嘉代, 乾貴幸: 植物工場における薬用植物の栽培と生育制御. 川原信夫監修; 薬用植物・生薬の最前線, シーエムシー出版 (2014) p.9-19
- 3) 乾貴幸: 閉鎖型植物生産施設における水耕栽培を用いた薬用植物生産の可能性. 和漢薬, 732, (2014) 2-4.

2. 学会発表

- 1) Yoshimatsu K., Kawano N., Inui T., Araho D., Tamura Y., Kawahara N.: Establishment of tissue culture bank for *Glycyrrhiza uralensis* (Chinese licorice), International Association for Plant Biotechnology Congress 2014 (Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10-15, 2014).
- 2) 吉松嘉代, 河野徳昭, 乾貴幸, 新穂大介, 田村幸吉, 川原信夫: 薬用植物の組織培養物バンクの確立ーウラルカンゾウについて, 第 32 回植物細胞分子生物学会 (盛岡) 大会・シンポジウム (2014.8.21-22, 盛岡).
- 3) 乾貴幸, 河野徳昭, 川原信夫, 吉松嘉

代：水耕栽培を用いたセリバオウレン生産の可能性, 第 32 回植物細胞分子生物学会 (盛岡) 大会・シンポジウム (2014. 8. 21-22, 盛岡).

- 4) 吉松嘉代, 乾貴幸, 河野徳昭, 川原信夫: ウラルカンゾウ優良株の大量増殖法の開発. 日本生薬学会第 61 回年会 (2014. 9. 13-14, 福岡)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1) 漢方薬処方実態調査 (定量), Summary Report, 日本漢方生薬製剤協会報告書 2011 年 10 月 18 日, [http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.p](http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.pdf)

df, cited 15 March, 2012.

- 2) 漢方製剤等の生産動態、平成 23 年「薬事工業生産動態統計年報」から, 日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編, 2012 年 11 月 16 日, <http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h23/all.pdf>
- 3) 漢方製剤等の生産動態、平成 24 年「薬事工業生産動態統計年報」から, 日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編, 2014 年 1 月 15 日, <http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h24/all.pdf>
- 4) 原料生薬使用量等調査報告書(2), 平成 21 年度および 22 年度の使用量, 日本漢方生薬製剤協会生薬委員会, 平成 25 年 10 月 1 日, <http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/pdf/shiyouyou-cho-usa02.pdf>, cited 9 February, 2015.
- 5) 中国産原料生薬の価格調査について, 日本漢方生薬製剤協会, 2014 年 8 月 8 日, <http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/kakaku-chousa.pdf>, cited 9 February, 2015.

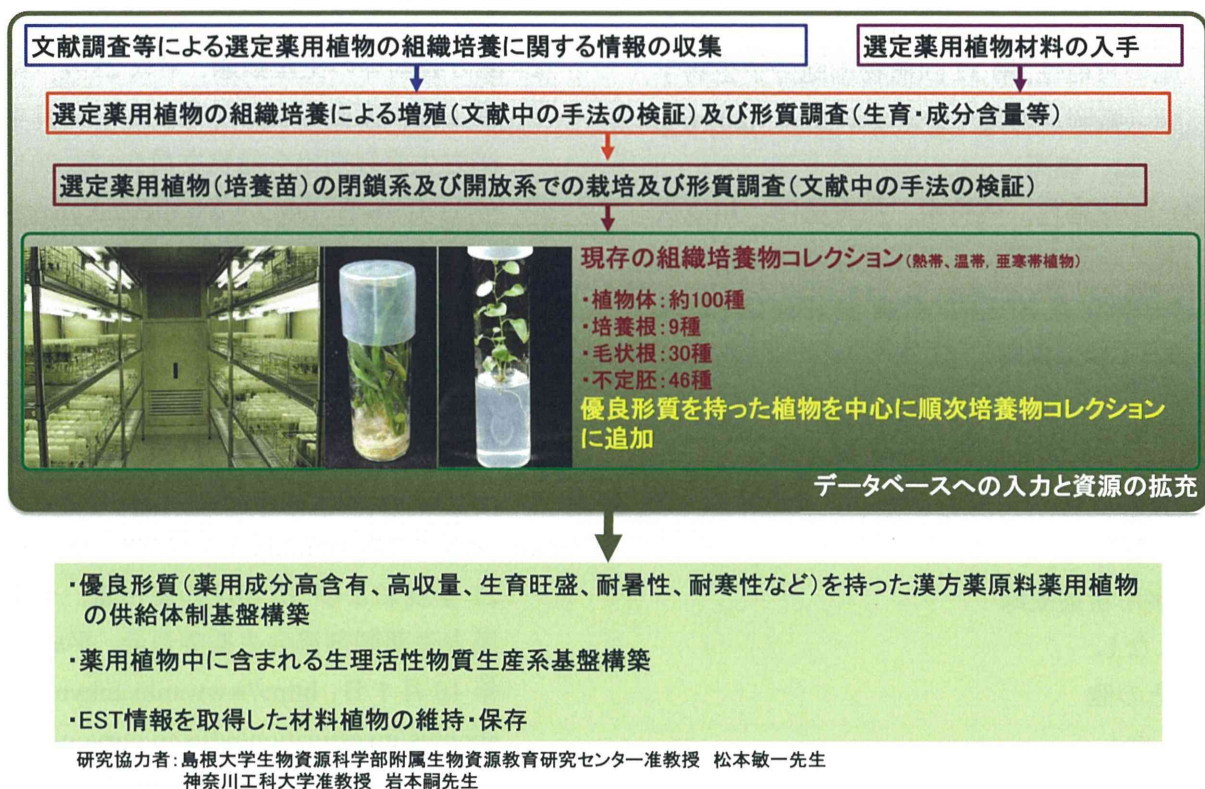


表2. 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備：データ取得状況（第1優先）

種別	生薬名(カナ)	生薬名	植物名	ラテン名	文献	オリジナル
第1優先	ボタンビ	牡丹皮	ボタン	<i>Paonia suffruticosa</i> Andrews	1	-
第1優先	トウニン	桃仁	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch	-	-
第1優先	トウニン	桃仁	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch var. <i>daidiana</i> Maximowicz	-	-
第1優先	オウギ	黄耆	キバナオウギ	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	1	△
第1優先	オウギ	黄耆	ナイモウオウギ	<i>Astragalus mongolicus</i> Bunge	-	△
第1優先	サイシン	細辛	ウスバサイシン	<i>Asiasarum sieboldii</i> (Miq.) F. Maekawa = <i>Asarum sieboldii</i> Miq.	-	-
第1優先	サイシン	細辛	ケイリンサイシン	<i>Asiasarum heterotropoides</i> (F. Schmidt) F. Maekawa var. <i>mandshuricum</i> F. Maekawa = <i>Asarum heterotropoides</i> F. Schmidt var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) Kitagawa	-	△
第1優先	ボウフウ	防風	トウスケボウフウ	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	1	-
第1優先	ハンゲ	半夏	カラスビシャク	<i>Pinellia ternata</i> Breitenb.	1	-
第1優先	タイソウ	大棗	ナツメ	<i>Ziziphus jujuba</i> Lam.	-	-
第1優先	ゴミシ	五味子	チョウセンゴミシ	<i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.	-	△
第1優先	タクシャ	沢瀉	サジオモダカ	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	1	-
第1優先	バクモンドウ	麦門冬	ジャノヒゲ	<i>Ophiopogon japonicus</i> Ker Gawl.	1	-
第1優先	チョウトウコウ	釣藤鈎・釣藤鈎	カギカズラ	<i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq.	1	-
第1優先	サンシュユ	山茱萸	サンシュユ	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zucc.	-	-
第1優先	オンジ	遠志	イトヒメハギ	<i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow	1	○
第1優先	ゴシュユ	呉茱萸	ゴシュユ	<i>Evodia rutaecarpa</i> (Juss.) Benth.	-	-
第1優先	ゴシュユ	呉茱萸	ホンゴシュユ	<i>Evodia officinalis</i> Dode	-	-
第1優先	キョウニン	杏仁	ホンアズ	<i>Prunus armeniaca</i> Linne	1	-
第1優先	キョウニン	杏仁	アズ	<i>Prunus armeniaca</i> Linne var. <i>ansu</i> Maximowicz	-	-
第1優先	キョウニン	杏仁		<i>Prunus sibirica</i> Linne	-	-
第1優先	チモ	知母	ハナスゲ	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	-	-
第1優先	カッコン	葛根	クズ	<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	1	-
第1優先	キキョウ	桔梗	キキョウ	<i>Platycodon glandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.	-	-
第1優先	サンヤク	山薬	ヤマノイモ	<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	2	△/○
第1優先	サンヤク	山薬	ナガイモ	<i>Dioscorea batatas</i> Decne.	1	-
第1優先	ボウイ	防已	オオツツラフジ	<i>Sinomenium acutum</i> Rehder et Wilson	-	-
第1優先	サンショウ	山椒	サンショウ	<i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC.	1	-
第1優先	オウバク	黄柏	キハダ	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	1	-
第1優先	チンピ	陳皮	ウンシュウミカン	<i>Citrus unshiu</i> Marcov.	1	-
第1優先	コウボク	厚朴	ホウノキ(ホオノキ)	<i>Magnolia obovata</i> Thunb.	1	-
第1優先	モクツウ	木通	アケビ	<i>Akebia quinata</i> Decne.	2	-
第1優先	モクツウ	木通	ミジバアケビ	<i>Akebia trifoliata</i> Koidz.	-	-

文献欄の数値は収載した文献数 オリジナル欄 ○:データ取得ほぼ完了、△:データ取得中、△/○:継代培養中の培養物有り、-:未着手
 オレンジ背景:文献・オリジナルとも植物種のデータは未取得であるが、生薬としてはいずれかのデータがあるもの
 黄色背景:文献・オリジナルとも植物種のデータも生薬としてのデータも未取得のもの 培養苗育成まで可能なものをデータ取得ほぼ完了とした

表3. 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備：データ取得状況（第2優先）

種別	生薬名(カナ)	生薬名	植物名	ラテン名	文献	オリジナル
第2優先	アキヨウ	阿膠	動物生薬	<i>Asini Corii Collas</i> (Doré)	-	-
第2優先	ケイガイ	荊芥穗	ケイガイ	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	-	-
第2優先	カンキョウ	乾姜	ショウガ	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	3	○
第2優先	ブシ	附子	ハナトリカブト	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	1	△/○
第2優先	ブシ	附子	オクトリカブト	<i>Aconitum japonicum</i> Thunb.	-	-
第2優先	コウジン	紅参	オタネニンジン	<i>Panax ginseng</i> C. A. Mey.	8	○
第2優先	シンイ	辛夷	タムシバ	<i>Magnolia salicifolia</i> Maximowicz	-	-
第2優先	シンイ	辛夷	コブシ	<i>Magnolia kobus</i> De Candolle	-	-
第2優先	シンイ	辛夷		<i>Magnolia biondii</i> Pampanini	-	-
第2優先	シンイ	辛夷		<i>Magnolia sprengeri</i> Pampanini	-	-
第2優先	シンイ	辛夷	ハクモクレン	<i>Magnolia denudata</i> Desrousseaux	-	-
第2優先	ボウショウ	芒硝	植物生薬		-	-
第2優先	セッコウ	石膏	植物生薬		-	-
第2優先	リュコツ	竜骨	動物生薬		-	-
第2優先	ボレイ	牡蠣	動物生薬	<i>Ostrea gigas</i> Thunberg (カキ)	-	-
第2優先	チョレイ	猪苓	チョレイマイタケ	<i>Polyporus umbellatus</i> Fries (菌類生薬)	-	-
第2優先	カッセキ	滑石	植物生薬		-	-
第2優先	コウベイ	稷米	イネ	<i>Oryza sativa</i> L.	1	-
第2優先	キジツ	枳実	ダイダイ	<i>Citrus aurantium</i> L.	1	-
第2優先	バクガ	麦芽	オオムギ	<i>Hordeum vulgare</i> L.	-	-
第2優先	リュウガンニク	竜眼肉	リュウガン	<i>Euphoria longana</i> Lamarck	-	-
第2優先	ボクソク	榲桲	クヌギ	<i>Quercus acutissima</i> Carruth.	1	-
第2優先	マシニン	麻子仁	アサ	<i>Cannabis sativa</i> L.	1	△/○
第2優先	ドクカツ	独活	ウド	<i>Aralia cordata</i> Thunb.	1	-
第2優先	イレイセン	威靈仙	サキシマボタンズル	<i>Olematis chinensis</i> Osbeck	-	-
第2優先	イレイセン	威靈仙		<i>Olematis manshurica</i> Ruprecht	-	-
第2優先	イレイセン	威靈仙		<i>Olematis hexapetala</i> Pallas	-	-
第2優先	サンソウニン	酸漿仁	サネブナツメ	<i>Zizyphu jujuba</i> Miller var. <i>spinosa</i> Hu ex H.F. Chou	1	-
第2優先	ビャクシ	白芷	ヨロイグサ	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch.) Benth. et Hook. fil.	-	-
第2優先	ハッカ	薄荷	ハッカ	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud	2	-
第2優先	ショウマ	升麻	サラシナショウマ	<i>Cimicifuga simplex</i> Wormsk.	-	○
第2優先	リュウタン	竜胆	トウリンドウ	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	-	-
第2優先	リュウタン	竜胆		<i>Gentiana manshurica</i> Kitagawa	-	-
第2優先	リュウタン	竜胆		<i>Gentiana triflora</i> Pallas	-	-
第2優先	キョウカツ	羌活		<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H.T. Chang	-	-
第2優先	キョウカツ	羌活		<i>Notopterygium forbesii</i> Boissieu	-	-
第2優先	テンマ	天麻	オニノヤガラ	<i>Gastrodia elata</i> Blume	1	○
第2優先	モッコウ	木香	モッコウ	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	1	-
第2優先	レンギョウ	連翹	レンギョウ	<i>Forsythia suspensa</i> Vahl	1	-
第2優先	キクカ	菊花	キク	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramatulle	2	-
第2優先	キクカ	菊花	シマカンギク	<i>Chrysanthemum indicum</i> Linne	1	-

文献欄の数値は収載した文献数 オリジナル欄 ○:データ取得ほぼ完了、△:データ取得中、△/○:継代培養中の培養物有り、-:未着手
 オレンジ背景:文献・オリジナルとも植物種のデータは未取得であるが、生薬としてはいずれかのデータがあるもの
 黄色背景:文献・オリジナルとも植物種のデータも生薬としてのデータも未取得のもの 培養苗育成まで可能なものをデータ取得ほぼ完了とした
 青背景:同基原植物の別生薬があるもの グレー背景:動物生薬又は鉱物生薬(対象外)

 薬用植物総合情報データベース			
トップ		総合検索	
生薬検索		植物検索	
化合物検索		モデル試料検索	
データ一覧		組織培養物及び効率的増殖法_文献	
植物名		コガネバナ	
ラテン名		Scutellaria baicalensis Georgi	
文献コード		Scutellaria_baicalensis-Ref-1	
出典 (著者, 雑誌, 巻号頁, 発行年)		Li H et al, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 62: 169-173 (2000)	
要約 (和訳)		中医学で様々な慢性の病気の治療に用いられるコガネバナ (Scutellaria baicalensis) の効率的な増殖法を開発したので報告する。Thidiazuron (TDZ) は、コガネバナの完全実生、伸長した胚軸の切片、無菌植物の茎切片からのシュート分化に効果的であった。胚軸切片又は節切片の組織学的観察により、不定芽形成は、カルスを伴出していることが明らかとなった。3種の組織切片でのTDZが誘発するシュート分化を比較したところ、最適な再分化効率のためには、外植体の切り出しは不要であることが示された。切り出された胚軸切片 (9.7シュート/外植体) よりもそのままの実生の胚軸 (20シュート/外植体) の方が非常に多くのシュートが分化し、このことは、隣接する組織で発生された内在性の代謝物がシュート誘発のための材料となっていることを示唆している。95%以上の再分化シュートが発根し、無菌培養系あるいは温室条件下で植物体が得られた。この研究で開発した再分化手法は、薬理活性をもつ成分の特定を通じたこの作物の改良の基盤を提供し、最終的には最適化した医薬用製品の開発に役立つであろう。	
目的		均一で、有害生物の混入や病気がないコガネバナの大量増殖法の確立	
材料 (品種, 系統, 産地, 由来)		種子 (Richter's Herb's Inc., Goodwill, ON Canadaより入手)	
外植体		種子	
初期培養		種子を95%エタノールで30秒、1.5%次亜塩素酸ナトリウム液 (Tween20 2滴/100 ml) で18分脱脂消毒、滅菌水で3回洗浄し、Murashige and Skoog塩類 + Gamborg B5ビタミン類、3%シロ糖含有培地 (MSO) 固形培地 (25 ml/Petri dishes, 0.3% gellan gumで固化) に置床し、24℃、16時間暗期 (30-35µmol/m ² /s) 下で培養。培養7日間で95%が発芽。	
シュート増殖		殺菌した種子をthidiazuron (TDZ) 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0又は20.0 µmol L ⁻¹ 及びPlant Preservative Mixture (PPM, Plant Cell Technology Inc., Washington DC) 4 ml L ⁻¹ を添加したMSO固形培地に置床し、24℃、16時間暗期 (30-35µmol/m ² /s) 下で培養し、14日後にシュート再分化を観察。2.5µmol L ⁻¹ TDZを添加した区で1実生あたり平均19本のシュートが形成。一方、TDZ無添加では平均2本のシュートが形成。TDZ 2.5µmol L ⁻¹ 以上の濃度では有意なシュート数増加は認められない。	
発根		培養2ヶ月後、再生したシュートを切り取り、MSO液体、半固形培地あるいは滅菌したpeat pellets (Premier Brands Inc. Stratford, ON, Canada)に移植し発根率を測定。いずれも95%以上が発根し、植物体が再生。	
馴化条件		滅菌したpeat pelletで1ヶ月間培養して発根した幼植物をmistling-bed systemに移し、通常の温室で2週間馴化。	
鉢上げ・定植		馴化後の植物体をgreenhouse soil mixture (Promix BX, Plant Products, Brampton, ON, Canada)に植え替え、温室環境で維持栽培。	
栽培条件		通常の温室環境で栽培。	
再生植物体の形質		通常の温室環境で正常に生育。	
分析した成分			
成分の抽出法			
分析法			
備考			
			

図2. 組織培養物及び効率的増殖法に関する文献情報例 (和文)

 Comprehensive Medicinal Plant Database	
Top	
Common	
Crude drug	
Plant	
Compound	
Sample	
Data list	
Tissue Culture Literature	
Plant latin name	
Scutellaria baicalensis Georgi	
Literature code	
Scutellaria_baicalensis-Ref-1	
Reference	
Li H et al, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 62: 169-173 (2000)	
Summary	
Development of an efficient in vitro propagation system for Huang-qin (Scutellaria baicalensis), a traditional Chinese medicinal plant used in the treatment of a wide range of human ailments, is described. Thidiazuron [TDZ: N-phenyl-N'-(1,2,3-thiadiazol-5-ylurea)] effectively induced regeneration on cultured intact seedlings, etiolated hypocotyl explants and sterile stem segments of Huang-qin. Histological examinations of excised hypocotyl or nodal explants revealed that adventitious shoots formed through an intermediate callus. Comparison of TDZ-induced regeneration in the three tissue types indicated that isolation of explants was not essential for optimal regenerative efficiency. Significantly more regenerants formed along hypocotyls of intact seedlings (20 shoots/explant) than were observed on excised hypocotyls (9.7 shoots/explant) indicating that endogenous metabolites produced in adjacent tissues provided resources for the shoot initiation. More than 95% of de novo regenerants formed roots and then intact plantlets under either sterile culture or greenhouse conditions. Regeneration protocols developed in this study may provide the basis for improvement of this crop through the identification of medicinally active constituents and eventual development optimized pharmaceutical products.	
Objectives	
Development of an efficient in vitro propagation system for Scutellaria baicalensis	
Materials	
Scutellaria baicalensis seeds obtained from Richter's Herb's Inc. (Goodwill, ON, Canada)	
Explant	
Seeds	
Initial culture	
Seeds were surface sterilized by dipping in 95% ethanol for 30 second, then immersion in 1.5% sodium hypochlorite containing Tween-20 (2drops per 100 ml solution) for 18 min, followed by 3 rises with sterile distilled water. Seeds were cultured in Petri dishes containing 25 ml of culture medium containing Murashige and Skoog (MS) salts, Gamborg B5 (B5) vitamins and 3.0%(w/v) sucrose, hereafter referred to as MSO. The pH was adjusted to 5.75 and 0.3% gellan gum (Gelrite, Schweitzerhall Inc., South Plainfield, NJ, USA) was added before autoclaving at 121℃, 1.4 kg cm-2 for 20 min. The cultures were sealed with Parafilm and incubated in a growth chamber at 24±2 °C with 16-h photoperiod provided by cool-white fluorescent tubes at 30-35 µmol m-2s-1 (Model F40/CW/RS/EW-II Philips Canada, Scarborough, ON, Canada). More than 95% seeds germinated after 7 days of culture.	
Shoot multiplication	
For intact seedling cultures, MSO was supplemented with 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, or 20.0 µmol L-1 of thidiazuron (TDZ) and 4 ml L-1 Plant Preservative Mixture (PPM, Plant Cell Technology, Inc., Washington DC). By day 14, all of the germinated seedlings cultured on TDZ-containing medium showed de novo shoot formation. Cultures on medium with 2.5µmol L-1 TDZ had an average of 19 shoots per seedling, while seeds germinated on medium without TDZ had an average of 2 shoots. There was no significant increase in the number of shoots formed as a result of increasing the concentration of TDZ to levels higher than 2.5µmol L-1.	
Rooting	
De novo shoots were excised and subcultured on either liquid MSO, semi-solid MSO or sterilized peat pellets (Premier Brands Inc. Stratford, ON, Canada) in Magenta boxes after 2 months of culture. More than 95% of excised regenerants formed roots and intact plants.	
Acclimation	
Plantlets were transferred to a misting-bed system under standard greenhouse conditions following incubation on sterile peat pellets for one month. Plants were acclimatized for 2 weeks.	
Planting	
Acclimatized plants were repotted in a greenhouse soil mixture (Promix BX, Plant Products, Brampton, ON, Canada) for growth and maintenance in the greenhouse environment.	
Cultivation conditions	
Plants were maintained in the greenhouse environment.	
Traits of regenerants	
All plantlets were eventually grown to maturity under standard greenhouse conditions.	
Ingredients analyzed	
Extraction	
Analytical methods	
Notes	
	

図3. 組織培養物及び効率的増殖法に関する文献情報例 (英文)

表4. 組織培養物及び効率的増殖法に関する情報整備と組織培養物の資源化
(第1コア、第2コア生薬基原植物のオリジナルデータ取得状況)

種別	生薬名	植物名(学名)	データ取得状況
第1コア	甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer, <i>G. glabra</i> Linné	両種ともほぼ完了。
	生姜	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	ほぼ完了。
	人參	<i>Panax ginseng</i> C.A.Mey.	ほぼ完了。
	蒼朮	<i>Atractylodes lancea</i> De Candolle, <i>A. chinensis</i> Koidzumi	<i>Atractylodes lancea</i> はほぼ完了。 <i>A. chinensis</i> は未取得。
	黄芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	ほぼ完了。
	芍薬	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	培養シュート(多芽体)形成まで取得。
	桂皮	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	未取得。
	当帰	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa, <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino	<i>Angelica acutiloba</i> はほぼ完了。 <i>A. acutiloba</i> var. <i>sugiyamae</i> Hikino は未取得。
	柴胡	<i>Bupleurum falcatum</i> Turcz.	ほぼ完了。
	川芎	<i>Cnidium officinale</i> Makino	培養シュート、カルス誘導まで。既存培養植物体有り。
第2コア	地黄	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino, <i>R. glutinosa</i> Liboschitz f. <i>hueichingensis</i> (Chao et Schih) Hsiao	両種ともほぼ完了。
	麻黄	<i>Ephedra sinica</i> Stapf, <i>E. intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer, <i>E. equisetina</i> Bunge	<i>Ephedra sinica</i> はほぼ完了。 <i>E. equisetina</i> はシュート誘導まで。 <i>E. intermedia</i> は未取得。
	山梔子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	ほぼ完了。
	大黄	<i>Rheum palmatum</i> Linné, <i>R. tanguticum</i> Maximowicz, <i>R. officinale</i> Baillon, <i>R. coreanum</i> Nakai	<i>Rheum palmatum</i> はほぼ完了。他種は未取得。
	黄连	<i>Coptis japonica</i> Makino, <i>C. chinensis</i> Franchet, <i>C. deltoidea</i> C.Y.Cheng et Hsiao, <i>C. teeta</i> Wallich	<i>Coptis japonica</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. deltoidea</i> はほぼ完了。 <i>C. teeta</i> は未取得。
	白朮	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi ex Kitamura, <i>A. ovata</i> De Candolle	<i>Atractylodes japonica</i> はほぼ完了。 <i>A. ovata</i> は未取得。
	車前子	<i>Plantago asiatica</i> Turcz.	ほぼ完了。
	蘇葉	<i>Perilla frutescens</i> Britton.	ほぼ完了。
	牛膝	<i>Achyranthes fauriei</i> Leveille et Vaniot, <i>A. bidentata</i> Blume	両種ともほぼ完了。

培養苗育成まで可能なものをデータ取得ほぼ完了とした

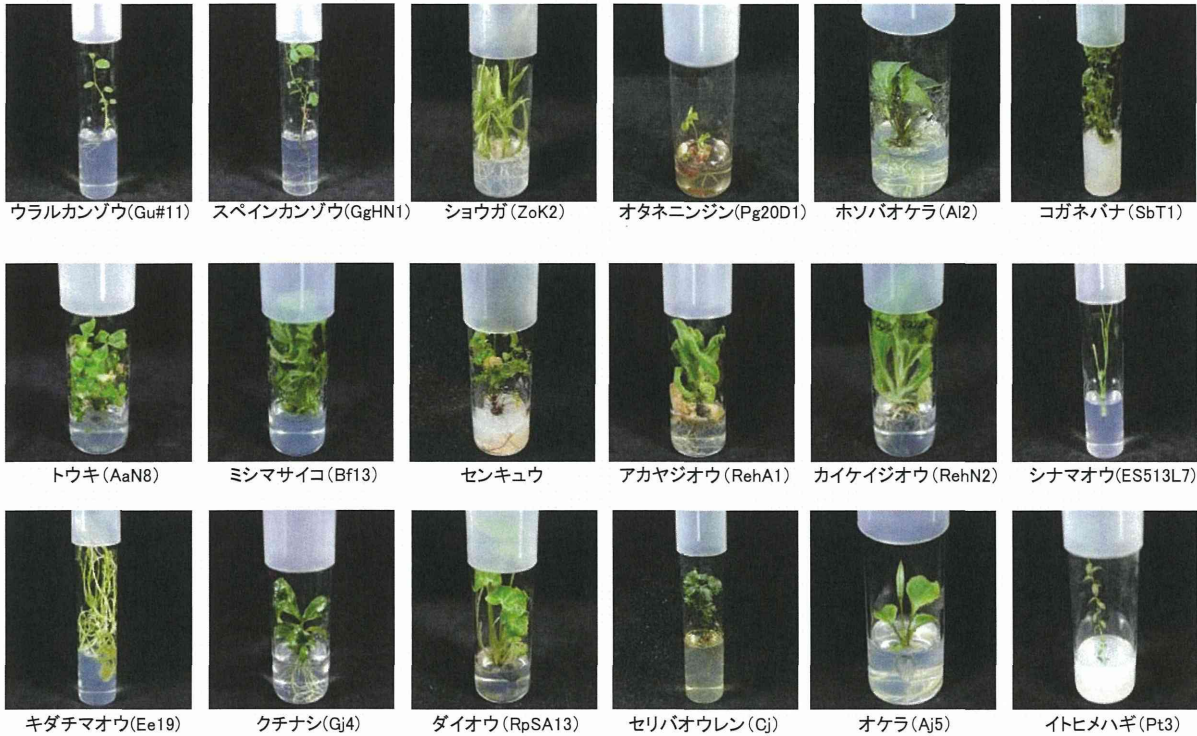


図4. オリジナルデータ例（培養植物体又は培養シュート）

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの
拡充と情報整備に関する研究（H25-創薬-指定-006）
分担研究報告書

分担研究課題 植物組織培養情報に関する研究

研究分担者 吉松 嘉代 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター
育種生理研究室長

牛膝、山梔子の基原植物の組織培養に関する研究

研究協力者 岩本 嗣 神奈川工科大学大学院工学研究科 准教授

牛膝の基原植物 *Achyranthes bidentata* と *A. fauriei* の無菌培養植物体の節を含む茎切片を利用した多芽集塊の効率的な誘導条件、山梔子の基原植物 *Gardenia jasminoides* の無菌培養植物体の効率的な節間伸長条件を明らかにした。

A. 研究目的

漢方薬は日本独自の漢方理論に基づいて処方される医薬品であり、現在、全ての大学医学部と医科大学で漢方教育が行われている。日本漢方生薬製剤協会の漢方薬処方実態調査 2011¹⁾によると、日常診療の中で漢方薬を処方する医師は全体の89%に上り、今後も漢方薬の需要は増加するものと思われる。また、同協会による漢方製剤等（漢方製剤、生薬、その他の生薬及び漢方処方に基づく医薬品）の生産動態によると2011年の漢方製剤等生産金額は1,422億円²⁾であるが、2012年には1,519億円³⁾と確実に伸びている。

しかしその原料生薬の供給は88.3%（2012年）が海外に、特に中国に依存（2012年：80.8%）⁴⁾しており、その多くは野生植物の採取によるものである。従って、生薬の原料となる薬用植物資源の減少が著しく、また、主生産国である中国の近年の急激な

経済成長に伴う、中国での物価や人件費上昇、中国国内での生薬の需要増加、外国での生薬の需要増加、中国での採取・輸出規制の影響等により、生薬供給価格が高騰している。現に中国から直接輸入している生薬の使用量上位30品目の2013年の価格は、2006年の約2倍である⁵⁾。

このような状況の中、漢方薬原料となる生薬の国内での安定的・戦略的確保のための基盤を整備することは、日本における漢方薬の安定的・持続的生産に貢献し、国民の健康の増進を図る上で、その意義は大きい。

植物組織培養は、限られた空間で、様々な気候区分で生育する植物を遺伝的に安定に維持でき、また、国内での増殖が困難あるいは交雑により含有成分が変化し易い植物を効率的に増殖できる優れた技術である。本研究では、漢方薬原料植物の安定的・戦略的確保のための基盤整備のため、植物組

組織培養による効率的増殖法に関する文献調査を行うとともに、漢方薬原料となる薬用植物の供給体制基盤構築(資源化)のため、材料植物の入手、無菌培養系の確立、増殖法の確立を行う。

B. 研究方法

1) オリジナルデータ取得のための、植物組織培養物の育成

牛膝の基原植物 *Achyranthes bidentata* と *A. fauriei* の多芽集塊による大量増殖を目的に、*A. bidentata* 無菌培養植物体より、節を含む茎切片を 5mm 長に切り出し、 $0.1 \sim 10.0 \text{ mg L}^{-1}$ の 5 種類のサイトカイニン[Zeatin, Kinetin, Benzyladenine (BA), Forchlorfenuron (4-CPPU), Thidiazuron (TDZ)]と 0.1 mg L^{-1} の Naphthaleneacetic acid (NAA)を組合せ添加した合計 25 試験区の Murashige and Skoog (MS) 寒天培地に置床した。 24°C 、2,000 lx、16 時間日長条件の恒温室内で培養し、多芽集塊の誘導条件を検討した。

山梔子の基原植物 *Gardenia jasminoides* の無菌培養植物体は、節間が短く(図 7)、節を含む茎切片の摘出が困難であった。そこで、節間伸長効果の報告があるジベレリン (GA_3) を用いて、*G. jasminoides* の節間伸長に最適な GA_3 濃度を検討した。

G. jasminoides の無菌培養植物体より、3 mm 長の頂芽を切り出し、 GA_3 を 4 濃度(5.0, 10.0, 20.0, 50.0 mg L^{-1}) で添加した区とホルモンフリー区の合計 5 試験区の MS ゲルライト固形培地に置床した。 24°C 、2,000 lx、16 時間日長条件の恒温室内で培養し、8 週間後に草丈、節数、正常成育率について調査した。

C. 研究結果

1) オリジナルデータ取得のための、植物組織培養物の育成

牛膝の基原植物 *Achyranthes bidentata* の

節切片は、 0.1 mg L^{-1} NAA + 10.0 mg L^{-1} 4-CPPU 区を除く全ての試験区においてシュートを形成した(図 1)。NAA + Kinetin 区、NAA + Zeatin 区における切片当たりのシュート形成数はそれぞれ、2.5~3.0 本、2.4~12.4 本で、最大シュート形成数は 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} Kinetin 区の 3.0 本(図 1、図 3A)、 0.1 mg L^{-1} NAA + 10.0 mg L^{-1} Zeatin 区の 12.4 本(図 1、図 3B)であった。NAA + Kinetin 区、NAA + Zeatin 区では、シュートはよく伸長するが(図 3A, B)、シュート数が少ない傾向であった(図 1、図 3A, B)。一方、NAA + 4-CPPU 区、NAA + BA 区における切片当たりのシュート形成数はそれぞれ 0~16.2 本、11.5~21.0 本で、最大シュート形成数は 0.1 mg L^{-1} NAA + 0.1 mg L^{-1} 4-CPPU 区の 16.2 本(図 1、図 3C)、 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} BA 区の 21.0 本(図 1、図 3D)とシュート形成数が多かった。これらのサイトカイニンは、シュートを多く形成するが、NAA + Kinetin 区、NAA + Zeatin 区ほど伸長しなかった(図 3C, D)。さらに、NAA + TDZ 区におけるシュートは、他の 4 種類のサイトカイニンと NAA との組合せ添加区に比べて短い、切片当たりのシュート形成数は 15.2~36.6 本と極めて多く(図 1、図 3E)、 0.1 mg L^{-1} NAA + 1.0 mg L^{-1} TDZ 区では最多となる 36.6 本が得られた(図 1)。

A. bidentata と同様に、牛膝の基原植物 *A. fauriei* の節を含む茎切片は、 0.1 mg L^{-1} NAA + 10.0 mg L^{-1} 4-CPPU 区を除く全ての試験区において節切片からシュートが形成された(図 2)。各サイトカイニンによるシュート形成はヒナタイノコズチとほぼ同様の傾向があり(図 2、図 4F~J)、切片当たりのシュート形成数は、5 種類のサイトカイニンの中で TDZ が最も多く、NAA + TDZ 区で 11.8~34.2 本で、 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} TDZ 区では最多となる 34.2 本のシュ

トが得られた (図 2)。

牛膝の基原植物の多芽体形成を考えると NAA + TDZ 区が適しており、*A. bidentata* の節を含む茎切片では 0.1 mg L^{-1} NAA + 1.0 mg L^{-1} TDZ 区 (図 1、図 3E)、*A. fauriei* の節を含む茎切片では 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} TDZ 区 (図 2、図 4J) が至適濃度であった。

山梔子の基原植物 *G. jasminoides* の無菌培養植物体の頂芽をホルモンフリー区で 8 週間培養後に観察を行った結果、草丈は 1.3 cm (図 5、図 7、図 8)、節数は 5.1 節 (図 7) であった。一方、GA₃ を添加した区の節数は 4.7-5.2 節で、節数に差は認められなかったが、節間が伸長し、草丈が有意に高くなった。その中でも 10.0, 20.0, 50.0 mg L^{-1} GA₃ 区では、草丈がそれぞれ 5.8, 5.9, 5.5 cm と、無添加区より 4.23~4.54 倍高い結果となった (図 5、図 8)。その内、50.0 mg L^{-1} GA₃ 区は、草丈の伸長にバラつきが大きく (図 5)、安定的に材料を確保できないため、節間伸長には不適であると判断した。また、5.0, 10.0 mg L^{-1} GA₃ 区では、80 % のシュートが正常に生育したが、20.0 mg L^{-1} GA₃ 区では、頂芽が枯死する個体が生じ、50 % に低下した (図 6)。

以上の結果から、山梔子の基原植物 *G. jasminoides* の節間伸長に至適な GA₃ 濃度は、節間伸長に優れ、かつ正常成育率の高い、10.0 mg L^{-1} GA₃ 区であることが明らかになった (図 5、図 6、図 8、図 9)。

D. 考察

牛膝の基原植物 *A. bidentata* と *A. fauriei* においては、NAA と TDZ を組み合わせ添加することにより、多芽集塊の形成が促進され、*A. bidentata* では外植体あたり 36.6 本、*A. fauriei* では外植体あたり 34.2 本のシュートが形成されたが、シュートの伸長が抑制される傾向が強く認められたため、

発根による植物体再生の効率を今後検討する必要がある。

山梔子の基原植物 *G. jasminoides* の無菌培養植物体は、節間が短く、節を含む茎切片の摘出が困難であった。そこで、節間伸長に最適な GA₃ 濃度を調査したところ、節間伸長に優れ、かつ正常成育率の高い、10.0 mg L^{-1} GA₃ 区が至適濃度であることが明らかになった。今後は、10.0 mg L^{-1} GA₃ 区で培養して節間伸長した無菌培養植物体 (図 9) から、節を含む茎切片を切り出し、多芽集塊形成による大量増殖条件を検討する予定である。

E. 結論

牛膝の基原植物 *A. bidentata* と *A. fauriei* の無菌培養植物体の節を含む茎切片を利用した多芽集塊の効率的な誘導条件、山梔子の基原植物 *G. jasminoides* の無菌培養植物体の効率的な節間伸長条件を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 工藤聖広：ヒナタイノコズチとトウイノコズチの組織培養に関する研究. 神奈川工科大学応用バイオ科学科卒業論文 (2015).
- 2) 諏訪林麻美：クチナシの組織培養に関する研究. 神奈川工科大学応用バイオ科学科卒業論文 (2015).

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1) 漢方薬処方実態調査（定量），Summary Report，日本漢方生薬製剤協会報告書 2011 年 10 月 18 日，<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.pdf>, cited 15 March, 2012.
 - 2) 漢方製剤等の生産動態，平成 23 年「薬事工業生産動態統計年報」から，日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編，2012 年 11 月 16 日，<http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h23/all.pdf>
 - 3) 漢方製剤等の生産動態，平成 24 年「薬事工業生産動態統計年報」から，日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編，2014 年 1 月 15 日，<http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h24/all.pdf>
 - 4) 原料生薬使用量等調査報告書(2)，平成 21 年度および 22 年度の使用量，日本漢方生薬製剤協会生薬委員会，平成 25 年 10 月 1 日，<http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/pdf/shiyouyou-chousa02.pdf>, cited 9 February, 2015.
- 中国産原料生薬の価格調査について，日本漢方生薬製剤協会，2014 年 8 月 8 日，<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/kakaku-chousa.pdf>, cited 9 February, 2015.

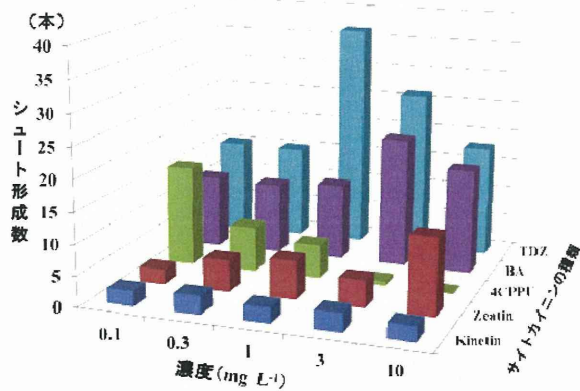


図1 *A. bidentata* の節を含む茎切片からのシュート形成に及ぼすサイトカイニンの種類と濃度の影響

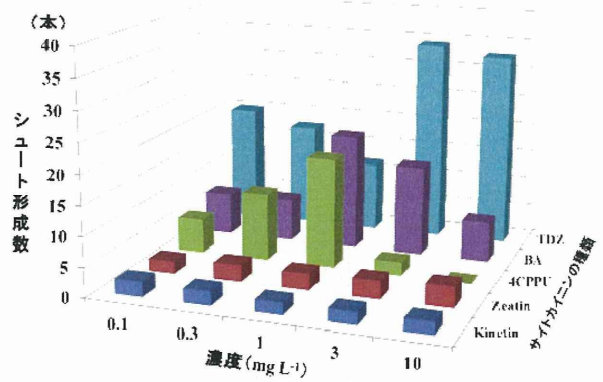


図2 *A. fauriei* の節を含む茎切片からのシュート形成に及ぼすサイトカイニンの種類と濃度の影響



図3 *A. bidentata* のシュート伸長 (A、B) と多芽集塊形成 (C、D、E)
筑波研究部産 (TS0607-79)、A: 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} Kinetin、
B: 0.1 mg L^{-1} NAA + 10.0 mg L^{-1} Zeatin、C: 0.1 mg L^{-1} NAA + 0.1 mg L^{-1} 4-CPPU、
D: 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} BA、E: 0.1 mg L^{-1} NAA + 1.0 mg L^{-1} TDZ

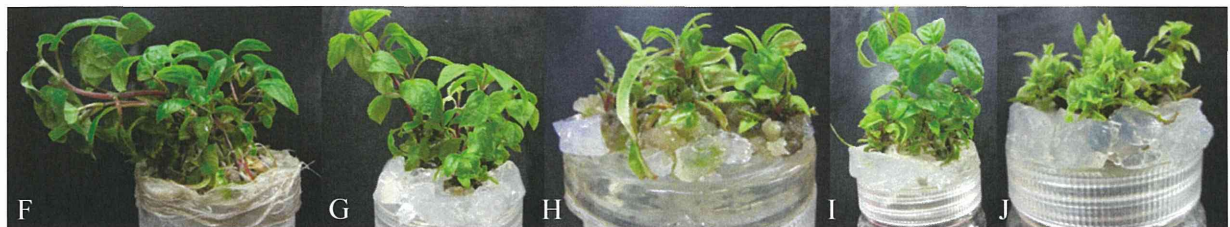


図4 *A. fauriei* のシュート伸長 (F、G) と多芽集塊形成 (H、I、J)
筑波研究部産 (TS1247-80)、A: 0.1 mg L^{-1} NAA + 0.1 mg L^{-1} Kinetin、
B: 0.1 mg L^{-1} NAA + 10.0 mg L^{-1} Zeatin、C: 0.1 mg L^{-1} NAA + 1.0 mg L^{-1} 4-CPPU、
D: 0.1 mg L^{-1} NAA + 1.0 mg L^{-1} BA、E: 0.1 mg L^{-1} NAA + 3.0 mg L^{-1} TDZ

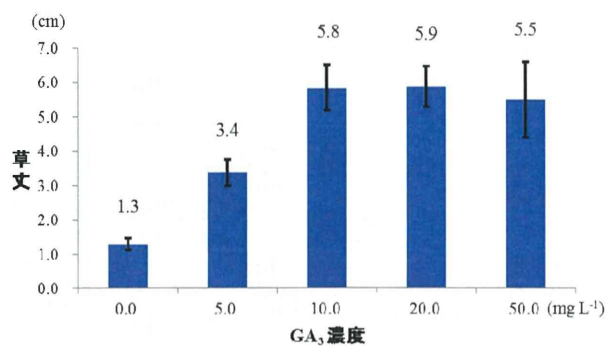


図5 *G. jasminoides* の草丈に及ぼす GA₃ 濃度の効果

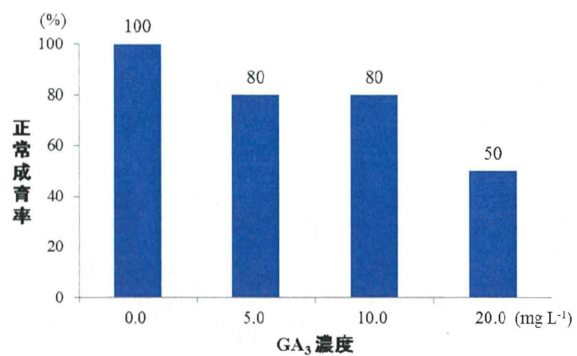


図6 *G. jasminoides* の成育に及ぼす GA₃ 濃度の影響



図7 節間の詰まった
G. jasminoides in vitro
シュート
北里大学産：ホルモン
フリーMS



図8 GA₃ による *G. jasminoides*
シュートの節間伸長効果
北里大学産



図9 節間伸長した
G. jasminoides
10.0 mg L⁻¹ GA₃
北里大学産

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの
拡充と情報整備に関する研究（H25-創薬-指定-006）
分担研究報告書

分担研究課題 植物組織培養情報に関する研究

研究分担者 吉松 嘉代 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター
育種生理研究室長

スペインカンゾウ及び黄耆の基原植物の組織培養に関する研究

研究協力者 松本 敏一 島根大学生物資源科学部附属生物資源教育研究センター
准教授

スペインカンゾウ 2 系統（北農試 No.2711 及び富山大系 No.12851）、オウギ属植物（キバナオウギ、ナイモウオウギ）種子を無菌的に播種して育成した植物体の茎切片を材料に、生存率、再生率、株数、草丈に対する種々濃度のゼアチンの効果を調べた。その結果、スペインカンゾウでは北農試 No.2711、富山大系 No.12851 とも、増殖、植物体伸長にはホルモンフリーが適し、ナイモウオウギは、増殖にはホルモンフリー、植物体伸長にはゼアチン 0.5mg/L 添加が適していた。一方、同条件で殺菌したキバナオウギ種子は、雑菌の混入率が高く、無菌植物体が得られなかった。キバナオウギ種子は、通常よりも強い殺菌操作が必要であると思われる。

A. 研究目的

漢方薬は日本独自の漢方理論に基づいて処方される医薬品であり、現在、全ての大学医学部と医科大学で漢方教育が行われている。日本漢方生薬製剤協会の漢方薬処方実態調査 2011¹⁾によると、日常診療の中で漢方薬を処方する医師は全体の 89%に上り、今後も漢方薬の需要は増加するものと思われる。また、同協会による漢方製剤等（漢方製剤、生薬、その他の生薬及び漢方処方に基づく医薬品）の生産動態によると 2011 年の漢方製剤等生産金額は 1,422 億円²⁾であるが、2012 年には 1,519 億円³⁾と確実に伸びている。

しかしその原料生薬の供給は 88.3%（2012 年）が海外に、特に中国に依存（2012 年：80.8%）⁴⁾しており、その多くは野生植物の採取によるものである。従って、生薬の原料となる薬用植物資源の減少が著しく、また、主生産国である中国の近年の急激な経済成長に伴う、中国での物価や人件費上昇、中国国内での生薬の需要増加、外国での生薬の需要増加、中国での採取・輸出規制の影響等により、生薬供給価格が高騰している。現に中国から直接輸入している生薬の使用量上位 30 品目の 2013 年の価格は、2006 年の約 2 倍である⁵⁾。

このような状況の中、漢方薬原料となる

生薬の国内での安定的・戦略的確保のための基盤を整備することは、日本における漢方薬の安定的・持続的生産に貢献し、国民の健康の増進を図る上で、その意義は大きい。

植物組織培養は、限られた空間で、様々な気候区分で生育する植物を遺伝的に安定に維持でき、また、国内での増殖が困難あるいは交雑により含有成分が変化し易い植物を効率的に増殖できる優れた技術である。本研究では、漢方薬原料植物の安定的・戦略的確保のための基盤整備のため、植物組織培養による効率的増殖法に関する文献調査を行うとともに、漢方薬原料となる薬用植物の供給体制基盤構築(資源化)のため、材料植物の入手、無菌培養系の確立、増殖法の確立を行う。

B. 研究方法

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターから分譲を受けたスペインカンゾウ 北農試 No.2711、スペインカンゾウ 富山大系 No.12851、ナイモウオウギ及びキバナオウギの種子を常法により殺菌、洗浄後、ホルモンフリーの 1/2MS(主要無機塩類が 1/2 濃度の Murashige and Skoog) 固形培地上で無菌発芽させた。得られた植物体の腋芽をゼアチン 0, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L 添加の 1/2MS 固形培地に置床し、28 日後に生存率、再生率、株数、草丈を調査した。各区 8-10 個体で 3 反復とした。

C. 研究結果

スペインカンゾウの生存率は、北農試 No.2711 および富山大系 No.12851 とともに、ゼアチン濃度に関係なく 80-100%と高かった。両系統ともホルモンフリー区(ゼアチン 0 mg/L)における再生率、生育が最も良好となったが、それぞれの再生率は、北農試では 83.3%、富山大系では 60.2%であり、北

農試の方が高い値を示した。株数は、系統、ゼアチン濃度に関係なく 1.0-1.3 本であった(表 1、表 2、図 1、図 2)。

ナイモウオウギは、ホルモンフリー区(ゼアチン 0 mg/L) またはゼアチン 0.5mg/L 区で生存率、再生率がそれぞれ、100%, 90%以上と高かった。株数はホルモンフリー区(ゼアチン 0 mg/L) で 3 本と最も多く、草丈はゼアチン濃度上昇にしたがって伸長する傾向が認められた(表 3、図 3)。

キバナオウギについては、コンタミが多く、実験できなかった。

以上の結果から、スペインカンゾウでは北農試 No.2711、富山大系 No.12851 とともに増殖、植物体伸長ともホルモンフリーが適し、ナイモウオウギは増殖にはホルモンフリー、植物体伸長にはゼアチン 0.5mg/L 添加が適していると考えられる。

D. 考察

2 系統のスペインカンゾウ(北農試 No.2711 及び富山大系 No.12851) の種子より育成した無菌植物体の節切片を材料に、生存率、再生率、株数、草丈に対する種々濃度のゼアチンの効果を調べた結果、植物体再生には、ゼアチン無添加(ホルモンフリー) 培地が適していたが、系統間の差が認められ、北農試 No.2711 の方が高い再生率を示した。

スペインカンゾウの組織培養による増殖については、Kohjyouma らの報告⁶⁾と Patel らの報告⁷⁾があり、いずれの報告でも節切片を材料に、シュートの形成にはナフタレン酢酸とベンジルアデニンの組み合わせ、あるいはベンジルアデニン添加培地を使用している。しかし本研究でのシュート再生は、むしろホルモンフリーの方が良好であった。このことは、スペインカンゾウの植物ホルモンへの感受性は、系統間で大きく異なることを示唆している。

オウギ属植物のうち、キバナオウギ種子は雑菌の混入率が高く、種子からの組織培養物の誘導が出来なかった。さらに強い条件での殺菌操作が必要であると思われる。

E. 結論

種子を無菌的に播種して育成した植物体の茎切片を材料に、生存率、再生率、株数、草丈に対する種々濃度のゼアチンの効果を調べた結果、スペインカンゾウでは北農試 No.2711、富山大系 No.12851 とも、増殖、植物体伸長にはホルモンフリーが適し、ナイモウオウギは、増殖にはホルモンフリー、植物体伸長にはゼアチン 0.5mg/L 添加が適していた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto T., Yoshimatsu K., Kawahara N., Yamamoto S., Niino T.: In vitro propagation by node culture and cryopreservation by V-Cryo-plate method for *Perilla frutescens*, *Advances in Horticultural Science*, **28**(2), 79-83 (2014).

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1) 漢方薬処方実態調査（定量），Summary Report，日本漢方生薬製剤協会報告書 2011 年 10 月 18 日，<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.pdf>, cited 15 March, 2012.
- 2) 漢方製剤等の生産動態，平成 23 年「薬事工業生産動態統計年報」から，日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編，2012 年 11 月 16 日，<http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h23/all.pdf>
- 3) 漢方製剤等の生産動態，平成 24 年「薬事工業生産動態統計年報」から，日本漢方生薬製剤協会総務委員会・編，2014 年 1 月 15 日，<http://www.nikkankyo.org/publication/movement/h24/all.pdf>
- 4) 原料生薬使用量等調査報告書(2)，平成 21 年度および 22 年度の使用量，日本漢方生薬製剤協会生薬委員会，平成 25 年 10 月 1 日，<http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/pdf/shiyouyou-cho-usage02.pdf>, cited 9 February, 2015.
- 5) 中国産原料生薬の価格調査について，日本漢方生薬製剤協会，2014 年 8 月 8 日，<http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/kakaku-chousa.pdf>, cited 9 February, 2015.
- 6) Kohjyouma M. et al., *Plant Tissue Culture Letters*, **12**, 145-149 (1995).
- 7) Patel R.M., Shah R.R., *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, **1**, 27-29 (2007)

表1 スペインカンゾウ(北農試No.2711)の節培養におけるゼアチン濃度と生育

Zeatin (mg/L)	生存率(%)	再生率(%)	株数(本)	草丈(mm)
0	93.3±6.7	83.3±8.8	1.2±0.1	5.3±0.6
0.5	93.3±6.7	30.0±10.0	1.0±0.0	3.5±0.5
1	80.0±5.8	73.3±6.7	1.1±0.1	7.2±0.6
5	100	23.3±3.3	1.0±0.0	4.9±0.5

培養28日後調査

表2 スペインカンゾウ(富山大系No.12851)の節培養におけるゼアチン濃度と生育

Zeatin (mg/L)	生存率(%)	再生率(%)	株数(本)	草丈(mm)
0	100	60.2±2.3	1.3±0.1	11.1±0.5
0.5	100	20.0±5.8	1.2±0.2	8.5±1.0
1	100	7.4±7.4	1.0±0.0	11.0±0.3
5	93.3±3.3	10.0±5.8	1.0±0.0	5.3±0.3

培養28日後調査

表3 ナイモウオウギの節培養におけるゼアチン濃度と生育

Zeatin (mg/L)	生存率(%)	再生率(%)	株数(本)	草丈(mm)
0	100	93.3±6.7	3.0±0.9	4.4±1.0
0.5	100	96.7±3.3	1.7±0.1	9.0±0.6
1	83.3±3.3	73.3±8.8	1.6±0.1	7.1±2.5
5	86.7±3.3	76.7±3.3	1.7±0.1	11.6±1.0

培養28日後調査

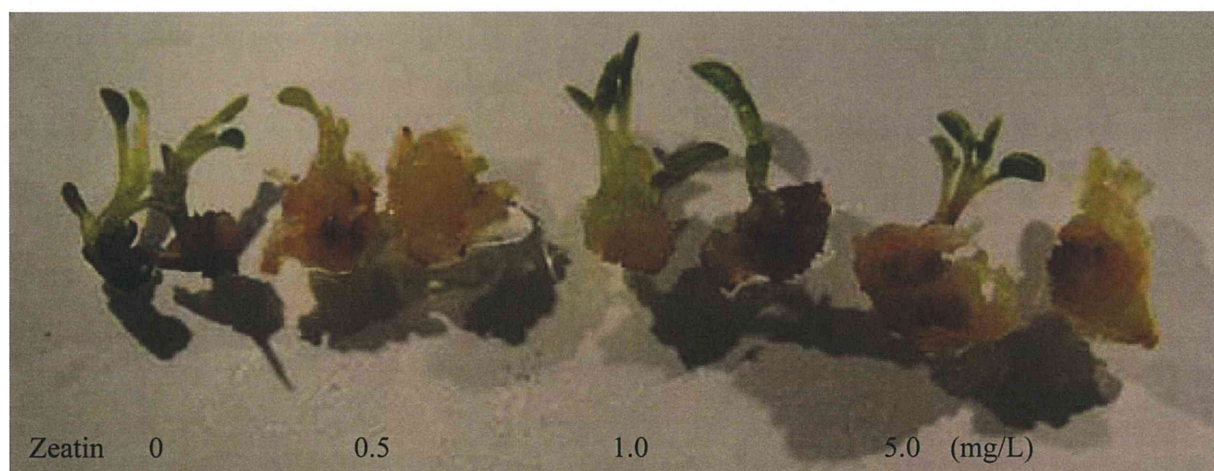


図 1. スペインカンゾウ(北農試 No.2711) 節培養における Zeatin の影響 (培養 28 日後)

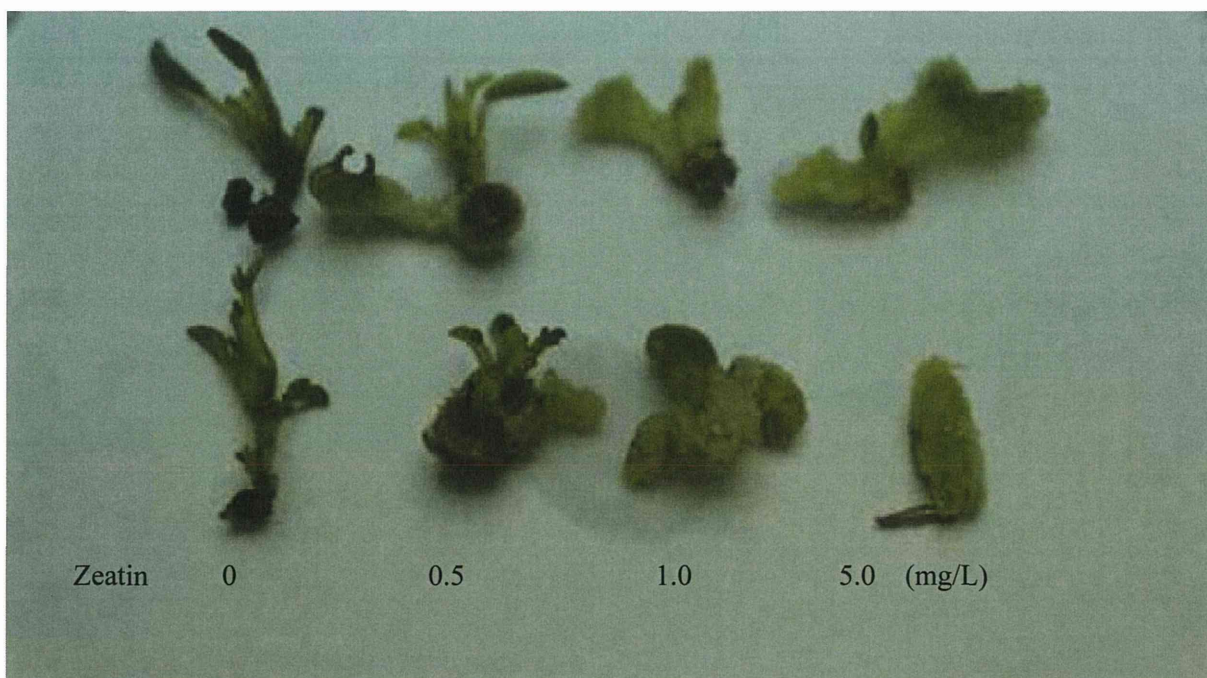


図 2. スペインカンゾウ（富山大系）節培養における Zeatin の影響 （培養 28 日後）

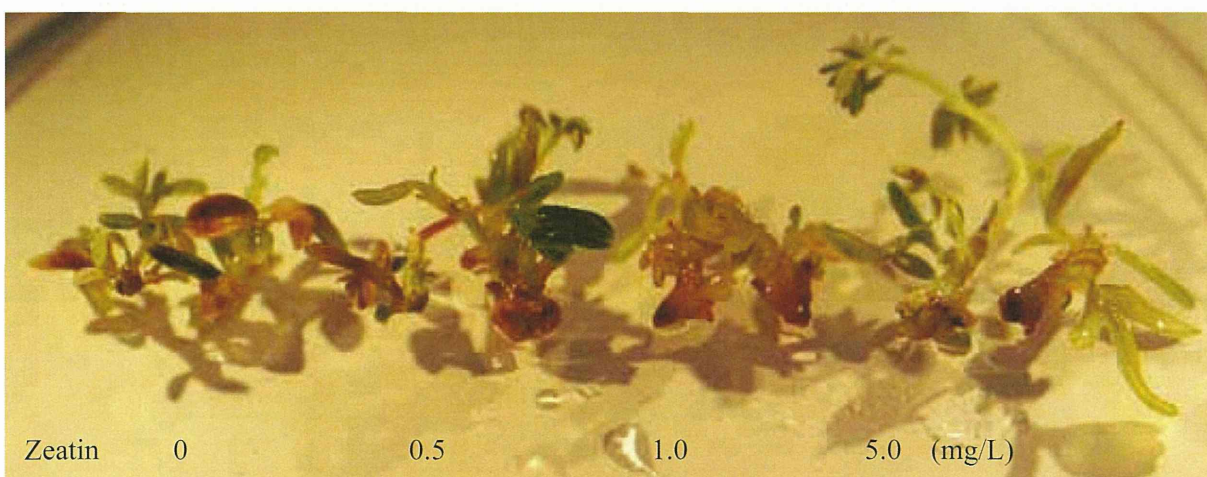


図 3. ナイモウオウギ節培養における Zeatin の影響 （培養 28 日後）

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの
拡充と情報整備に関する研究（H25-創薬-指定-006）
分担研究報告書

分担研究課題 植物体栽培情報に関する研究
－植物体栽培および植物の効率的生産法に関する情報－

研究分担者	菱田 敦之	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 北海道研究サプリーダー
研究協力者	大谷 克城	旭川医科大学 医学部 微生物学講座 准教授
研究協力者	河野 徳昭	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部主任研究員
研究協力者	杉村 康司	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 種子島研究サプリーダー
研究協力者	瀏野 裕之	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 種子島研究リーダー
研究協力者	熊谷 健夫	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部主任研究員
研究協力者	飯田 修	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部研究員
研究協力者	林 茂樹	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 北海道研究部研究員
研究協力者	山口 真輝	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 北海道研究部特任研究員
研究協力者	菊池健太郎	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 北海道研究部技術補助員

黄耆（10 系統）、葛根（18 系統）、沢瀉（27 系統）、釣藤鈎（18 系統）および麦門冬（20 系統）の 5 品目（93 系統）について、ICP-発光分光光度法を用いた多元素一斉分析を行い無機成分の組成を比較した。その結果、黄耆はニッケルおよびバナジウム、葛根および釣藤鈎はスズが特異的に含まれることが明らかになった。各生薬のロット間の差異は比較的少なかったが、沢瀉では NIB-0366, 0368, 0369 および 0400 の鉄およびアルミニウムの含量が他のロットと比較して10～100倍程度高かった。

薬用植物の病害虫情報を収集するために北海道内の生産地等を調査した。カノコソウでは、本年度北海道研究部において半身萎凋病が発生し、その原因は *Verticillium dahliae* によると判断した。またトウキにおいて発生した根腐は *Fusarium solani* と推定した。

A. 研究目的

生薬は天然物であるため、栽培環境や加工・調製方法が有効成分含量などの品質を大きく左右する。高品質な生薬を安定して供給するためには、生産、製造および研究の分野において生薬の十分な基礎データが必要である。このような社会的要請を受け、平成22年度～平成24年度に実施された「漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベース構築のための基盤整備に関する研究」の成果をもとに「薬用植物総合情報データベース」が完成した。近年、薬用植物の国内栽培が再評価され、本データベースの重要性は増し、さらなる拡充が必要になった。そこで本研究は、生薬や薬用植物の生産現場で活用可能な各種測定データや画像データを盛り込んだ植物体栽培および効率的生産法に関する情報整備のための調査および研究を行った。

本年度の研究では、薬用植物栽培の施肥条件の目安とするため、生薬市場品の黄耆（10 系統）、葛根（18 系統）、沢瀉（27 系統）、釣藤鈎（18 系統）および麦門冬（20 系統）の 5 品目（93 系統）について、ICP-発光分光光度法を用いた多元素一斉分析を行った。さらに、薬用植物の病害情報は非常に少ないことから、北海道におけるカノコソウおよびトウキの病害につて調査した。

B. 研究方法

1) 生薬、薬用植物における無機成分の多元素一斉測定法の検討

供試材料：データベース研究でモデル生薬として収集された市場品。黄耆（10 系統）、葛根（18 系統）、沢瀉（27 系統）、釣藤鈎（18 系統）および麦門冬（20 系統）の 5 品目（93 系統）。

試料溶液の調製：80℃で乾燥した試料（粒径 0.5mm 以下）250 mg を精秤し、60 mL 容テフロン製分解チューブに入れ、6.0 mL

の濃硝酸を加えて試料に浸透するまで放置した。次に 1.5 mL 濃塩酸を加えて緩やかに混合した後、120℃に設定したカーボン製ブロックヒーターで 30 分間加熱した。次に分解チューブの蓋を閉め、ブロックヒーターの設定温度を 155℃に上昇して 30 分間加熱した。分解して得られた溶液は、0.1 N 希硝酸を用いて 50 mL に定容し、PTFE 製ろ過フィルター（孔径 0.2 μm）を用いてろ過して濾液を測定溶液とした。

測定：iCAP-6300 DUO（Thermo Fisher Scientific 社）を用い、検量線の作成は、汎用混合標準溶液（34 元素、Cat No. XSTC-622B, SPEX 社）を用いた。

測定元素と測定波長：標準試料を用いた予備試験から、Ag（測定波長：328.0）、Al（396.1）、B（249.6）、Ba（493.4）、Cd（226.5）、Co（237.8）、Cr（284.3）、Cu（324.7）、Fe（239.5）、Ga（417.2）、Ge（265.1）、Li（670.7）、Mn（257.6）、Mo（281.6）、Na（588.9）、Ni（231.6）、Pb（220.3）、Sb（217.5）、Se（203.9）、Si（251.6）、Sn（189.9）、Sr（346.4）、Ti（336.1）、V（311.0）、W（239.7）、Zn（202.5）、Zr（343.8）、Ca（317.9）、K（766.4）、Mg（279.5）、P（178.2）とした。

2) 薬用植物の病害虫の調査

調査植物：カノコソウ *Valeriana fauriei* Briquet およびトウキ *Angelica actiloba* Kitagawa

調査方法：調査は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（北海道名寄市）の試験圃場で行った。カノコソウは、2014 年 7 月 30 日、トウキは、2014 年 6 月 25 日に調査した。

C. 研究結果

1) 生薬、薬用植物における無機成分の多元素一斉測定法の検討

生薬「黄耆」では、ロット間における無機成分組成の差異は小さく、他の生薬と比