

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06730

研究課題名(和文) 生薬自給率向上に資する国産資源開発の基盤整備

研究課題名(英文) Established for domestic resource development that contributes to improving the self-sufficiency rate of herbal medicines for Kampo

研究代表者

佐々木 陽平 (Sasaki, Yohei)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：10366833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：生薬生産は「薬草栽培」と「加工」の両方の技術確立で完結する。本研究課題では日本で特に欠けている「日本の環境に適した生薬の加工技術を確立すること」を目的とする。

加工技術は生薬の品質を左右する重要な工程であるにも関わらず、日本には確立した加工条件がなく、民間企業や個人の生産者が独自の方法で加工しているのが現状である。そこで加工法が異なる代表的な漢方生薬5品目(当帰、芍薬、地黄、川キョウ、附子)に着目し、中国の加工状況を調査したうえで科学的根拠に基づく最適条件を設定する。これが国産資源開発、生薬自給率向上に繋がる基盤整備となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本の伝統医学である漢方は今や医師の89%が処方しており、現在の医療に欠かすことができない医療になっている。しかしその治療薬である漢方薬は、その原料の約9割を海外からの輸入品に依存している。長らく輸入品に依存してきた品目は日本には生産するための技術がない。また日本で生産技術が残っている品目も、従事者の高齢化など消失は時間の問題である。そこで筆者は日本で重要な生薬品目のうち、加工方法が異なる5品目に着目し、条件と品質の関係を明らかにする研究に着手した。安定した漢方治療の持続には生薬の安定供給は必須であり、本研究の意義は非常に大きい。

研究成果の概要(英文)：The production of herbal medicine consists of both cultivation methods of original plants and processing methods of harvests technique. The purpose of this research is to "establish a processing technique for herbal medicine suitable for the Japanese environment. Although the processing is an important process that affects the quality of herbal medicines, there are no established processing conditions in Japan, and the current situation is that private companies and farmers process them by their own methods. Therefore, I focus on five typical Chinese herbal medicines with different processing methods (Angelicae Acutilobae Radix, Peoniae Radix, Rehmanniae Radix, Cnidium Rhizoma, and Aconiti Radix Processa), I determine the optimum conditions based on scientific evidence after field investigation about China. This will be the foundation for the development of the improvement of the self-sufficiency rate of herbal medicines produced in Japan.

研究分野：生薬学

キーワード：国産生薬 栽培と加工 当帰 芍薬 地黄 川キョウ 附子

## 1. 研究開始当初の背景

日本の伝統工芸品、芸術品とも言うべき生薬の生産技術は、国産生薬の使用比率の減少とともに失われつつある。生薬生産は、原植物から収穫物を得る「薬草栽培」と収穫物を製品にする「加工」の両方の技術が必要である。「薬草栽培」は植物の性質に合わせての生育管理であるため、独自の条件検討により最適条件を決定でき、また日本の農業技術により機械化や効率化が可能である。しかし「加工」は人為的な経験をもとに試行錯誤されて設定された技術である。その条件のもとで生産された品質が医療で使用されている以上、新たな品質の基準を設定することは困難である。生薬の指標成分と薬効成分は同じではないため、現在の生産方法を基準に考えざるを得ない。

一方、日本産生薬は、日本で使用される生薬のわずか1割であり、年々減少傾向にある。伝統的な生産技術は、高齢化や後継者不足という問題を抱えながらろうじて維持されているのが現状である。この問題は社会制度面と技術面との2つの問題に分けられる。社会制度面とは日本の健康保険医療制度の医薬品公定価格(薬価)によるもので、これは研究者が介入できる部分は少ない。一方、技術面は研究者こそが解決できる問題であり、私は本研究テーマとして提案したものである。ここで、日本と中国における生薬生産の現状を考えてみる。

[日本] 国内需要を満たすために中山間地域を中心に栽培品に由来する生薬生産地が存在している。しかし中国産生薬との価格競争がある品目は費用対効果が見合わず、専業での経営は難しい。作業の機械化や効率化などの技術面での負担軽減が必要である。

[中国] 生薬生産に関わる労働者の人件費が上昇しているものの、機械の導入よりは安価であるようである。栽培面では依然として人力に依存している面が多いものの、加工には乾燥設備など大型機械が導入されている。しかし作業効率化が優先され品質は考慮されていない面もあり、今後、中国との情報交換のもとで進めるべき点もある。

金沢大学・薬用植物園は日本の薬用植物園で唯一、生薬生産実績を有していること、また中国の主要大学との共同研究も盛んであり、本研究を遂行する能力があると考えている。

## 2. 研究の目的

加工技術は生薬の品質を左右する重要な工程であるにも関わらず、日本では一般化した加工条件と品質の関係が明確に示されていない。民間企業や個人の生産者は独自の方法で実施している。本研究では「加工技術の確立」、つまり各工程および条件が品質に及ぼす影響を調べ、解明したうえで最適条件を決定することを目指す。まず漢方薬原料として重要な生薬5品目(当帰、芍薬、地黄、川芎、附子)に着目し各生薬の生産面における技術的に重要なポイントに絞り、条件と品質の関係を明らかにすることを目的とする。なお、ここで選定した生薬5品目は、それぞれ異なる方法で生産されているものである。

以下、生薬の品目別に記載する。

### (1) 当帰

当帰はセリ科トウキ *Angelica acutiloba* Kitag. の根に由来する漢方生薬である。日本で開発された生薬であり日本産のみが使用されていたが、近年は中国からの逆輸入品も増加し 2016年には日本産比率 27%にまで減少している。日本での当帰生産農家の減少の理由の1つに長い生産期間が挙げられる。そこで今回、農業資材ペーパーポットを使用し栽培期間の短縮を計ると共に、それにより生産された収穫物に対して加工条件の検討を行なった。

### (2) 芍薬

芍薬はボタン科シャクヤク *Paeonina lactiflora* Pall. の根に由来する漢方生薬である。シャクヤクの 2016年の日本産比率 2.3%にまで減少している。日本での芍薬生産農家の減少の大きな理由は長い栽培期間である。苗の定植から収穫まで3-6年を要する。しかしこの労力に見合う販売利益が必ずしも保証されている訳ではない。シャクヤクには様々な系統があり、薬用以外に園芸目的の系統もある。しかし薬用と園芸用は遺伝的に分けられている訳ではなく、それらの近縁関係は整理されていない。今回は遺伝子解析による分子系統樹の作成を試みた。更に加工法の違いによる成分変化も同時に実施した。以下、遺伝子解析法に関して記載する。

### (3) 地黄

地黄はゴマノハグサ科 *Rehmannia glutinosa* Libosch. ex Fisch. et C. A. Mey. の根の肥大部に由来する漢方生薬である。地黄は収穫物を乾燥したものを乾地黄、蒸したものを熟地黄と称している。主成分は catalpol であり、収穫物には含まれているものの、乾燥や加工に伴い消失する。しかし加工方法が均一でないため、市場には同じ乾地黄でも catalpol が含まれているもの、含まれていないものがある。地黄はほぼ輸入品であり日本には加工の技術がない状況にある。また、過去日本ではアカヤジオウとカイケイジオウという2つの系統別に管理されており、この系統間の違いも同時に調べた。

### (4) 川芎

川芎はセリ科センキュウ *Cnidium officinale* Makino の根茎に由来する漢方生薬である。原

植物は日本特産種であるため、当帰同様、過去にはすべて日本産であった。しかし少しずつ中国産が増加し、2016年の日本産比率は84%である。日本では北海道での大規模栽培が成功しているものの、加工（湯通し、乾燥）法に関しては様々な方法が採用されている。今回は湯通しの温度条件と成分含量の関係を調べた。

#### (5) 附子

附子はキンポウゲ科ハナトリカブト *Aconitum carmichaeli* Debx. の塊根に由来する生薬である。漢方薬には、加熱などの方法で加工されたものが配合される。アルカロイド含量の個体差が大きく、また条件が厳しいとアルカロイドがすべて分解してしまう。アルカロイド成分の安全域と有効域の幅が非常に狭い生薬である。今回は、オートクレーブによる加熱条件とアルカロイド含量の差を調べた。

### 3. 研究の方法

#### (1) 研究の方法：当帰

[栽培] 金沢大学・附属薬用植物園において、慣行法により生産した苗およびペーパーポット苗が得た収穫物を材料に供した。

[加工] 当帰の加工法として実際に採用されている「ハサ掛け（自然乾燥）」および「湯もみ（温湯処理）」を様々な条件で実施した。

いずれも HPLC 法による (*Z*)-ligustilide の定量分析を実施した。

#### (2) 研究の方法：芍薬

シャクヤク 30 系統を材料に 2 種類の TCP 領域の DNA 配列による系統関係の構築を試みた。

#### (3) 研究の方法：地黄

加熱時間と catalpol 含量：オートクレーブ（高圧蒸気滅菌器）を使用した

糖含量：UPLC-MS 法により測定した。

形態的特徴に基づく PCA 解析：葉の紫色、根の形、紐状根の割合などから算出

遺伝的な解析結果に基づく系統解析：TCP 遺伝子領域の配列および SRAP 解析

#### (4) 研究の方法：川芎

金沢大学・附属薬用植物園で栽培して得られた収穫物を様々な条件で加工し、HPLC 法により各種成分 ((*Z*)-ligustilide, (*E*)-ligustilide, senkyunolide A, cnidilide, ferulic acid, coniferyl ferulate) を定量した。

#### (5) 研究の方法：附子

金沢大学・附属薬用植物園で栽培して得られた収穫物を様々な条件で加熱加工し、HPLC 法により Mesaconitine, Hypaconitine, Aconitine の定量を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 研究の成果：当帰

ペーパーポットを採用することにより、従来の育苗期間である4月から10月までの期間を短縮することに成功した。しかし生産物の個体差が大きく改善の余地が考えられた。まず、ペーパーポット苗には、同一トレーであっても生育に大きなばらつきが認められる(図1)。ここで、葉の小葉の長さにより根頭部径を推定することを可能にし、目的とする生産株に応じた苗の選別を可能にした。また、生薬製品の比較において、ペーパーポット苗によるものは、慣行苗によるものに比較して側根(細根)の比率が大きいことを明らかにした(図2)。生産した当帰(加工前)について、部位別(根頭部、主根部、側根部)に(*Z*)-ligustilide 含量を測定した結果、側根の含量が最も多かった(図3A)。一方、加工後におけるペーパーポット苗と慣行苗の部位別(*Z*)-ligustilide 含量を比較すると、ペーパーポット苗によるものの方が全体的に少なく、さらに側根部の含量が特に減少している(図3B)。これは当帰の加工法の1つである温湯処理において、表面積が大きい側根部から(*Z*)-ligustilide が溶出したためと考えられる。別に加工条件と(*Z*)-ligustilide や糖類などの含量変化も明らかにしており、ペーパーポット苗による生産株は、慣行株より温湯処理の時間を短くする、などの対応により同等品が得られることを明らかにした。

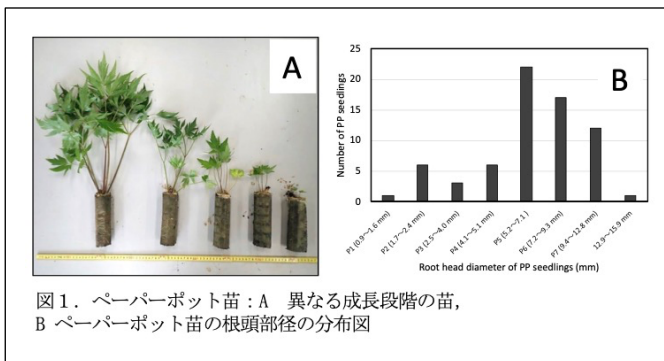


図1. ペーパーポット苗: A 異なる成長段階の苗, B ペーパーポット苗の根頭部径の分布図

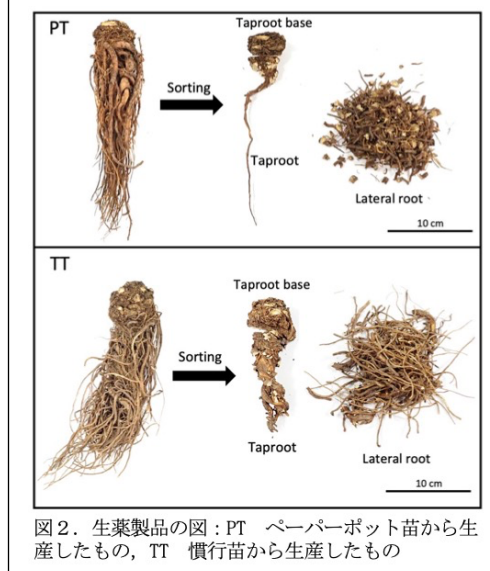


図2. 生薬製品の図: PT ペーパーポット苗から生産したもの, TT 慣行苗から生産したもの

(2) 研究の成果：芍薬

アウトグループとしてボタン *P. suffruticosa*, ホソバシャクヤク *P. tenuifolia* を加え分子系統樹を作成した(図4)。その結果、大きく3つのクラスター (I, II, III) に分けられたが、薬用系統 (Bonten, Kitasaisho) と園芸系統は同一クラスターに分類されなかった。同一配列の系統があるものの、市場性などを考えるとほぼ、配列と系統の対応関係を認めた。

(3) 研究の成果：地黄

様々な地黄サンプルについて、Catalpol 含量と加熱時間の関係を明らかにした。乾地黄から熟地黄への変化について、約1時間で3分の1程度まで減少し、6時間ではほぼ消失することを明らかにした(図5)。

また、Catalpol と合わせて、糖類 (fructose, galactose, glucose, sucrose, raffinose, melibiose, manninotriose, stachyose) について、UPLC-MS による同時一斉分析を可能にした。

また形態学的な観察結果に基づく系統分類では日本で系統維持管理されているアカヤジオウ系とカイケイジオウ系について調べた。その結果、カイケイジオウ系は少なくとも3つのグループに分けられることを明らかにした(図6)。遺伝子解析結果でも、グループ分けのサンプルは異なるものの形態学的な形跡結果と同様な結果を示した。カイケイジオウ系について、複数のクラスターに分類された(図7)。

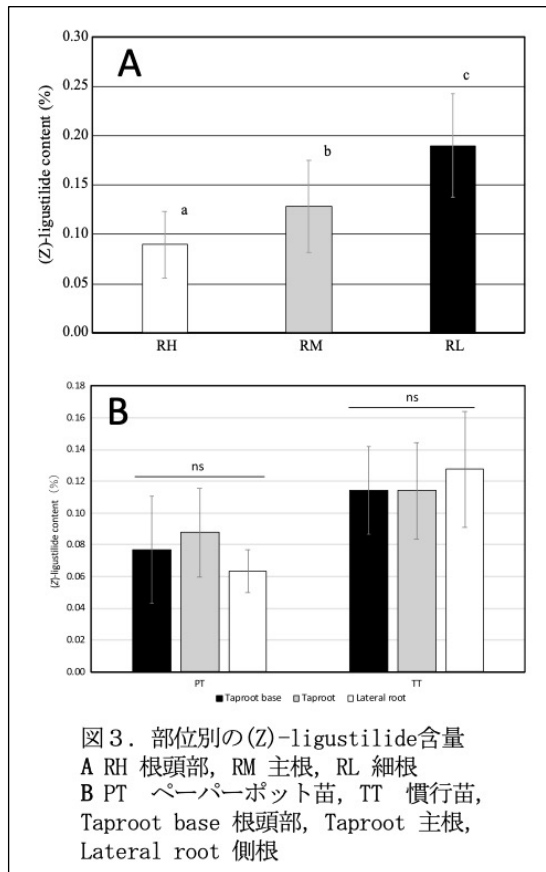


図3. 部位別の(Z)-ligustilide含量  
A RH 根頭部, RM 主根, RL 細根  
B PT ペーパーポット苗, TT 慣行苗,  
Taproot base 根頭部, Taproot 主根,  
Lateral root 側根

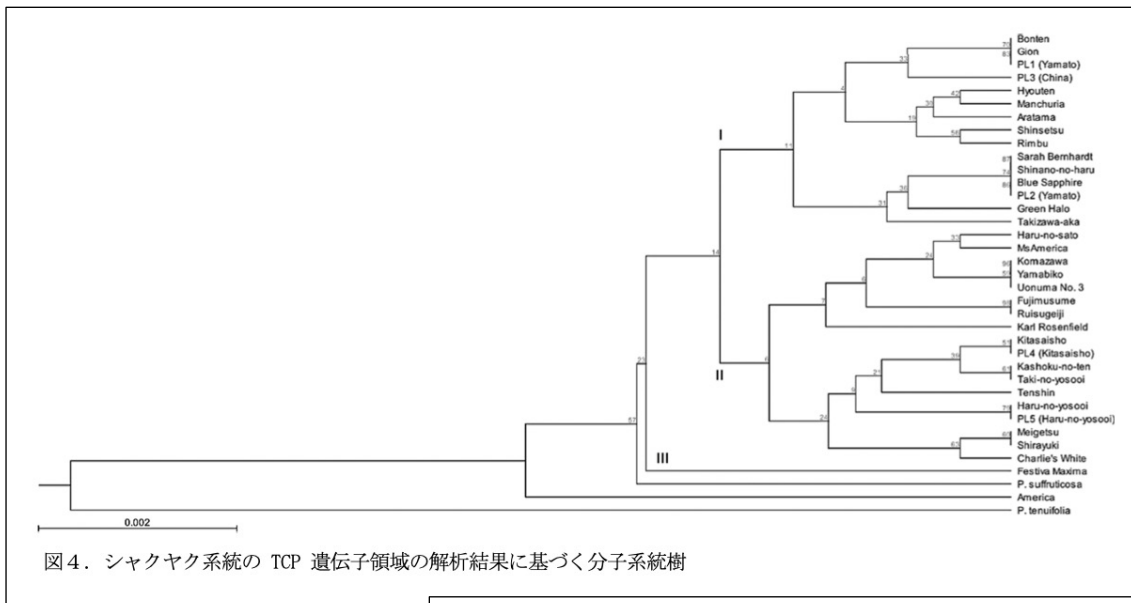


図4. シャクヤク系統の TCP 遺伝子領域の解析結果に基づく分子系統樹

(4) 研究の成果：川芎

精油とされる6成分を定量した結果、温度の上昇と時間の増加と共に、必ずしも減少する訳ではないことを明らかにした。例えば (Z)-ligustilide と (E)-ligustilide のように異性化するもの、Ferulic acid と Coniferyl ferulate のように二量体が分解するもの、などの関係があることを明らかにした(図省略)。

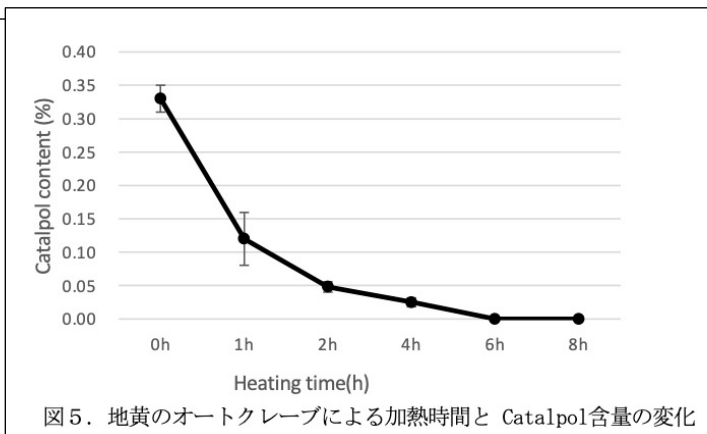
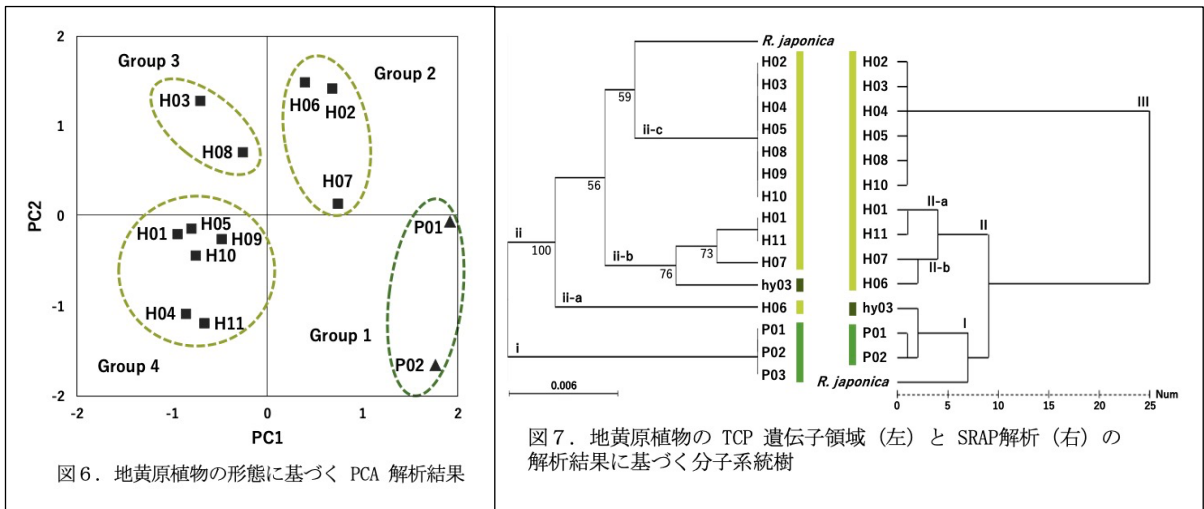
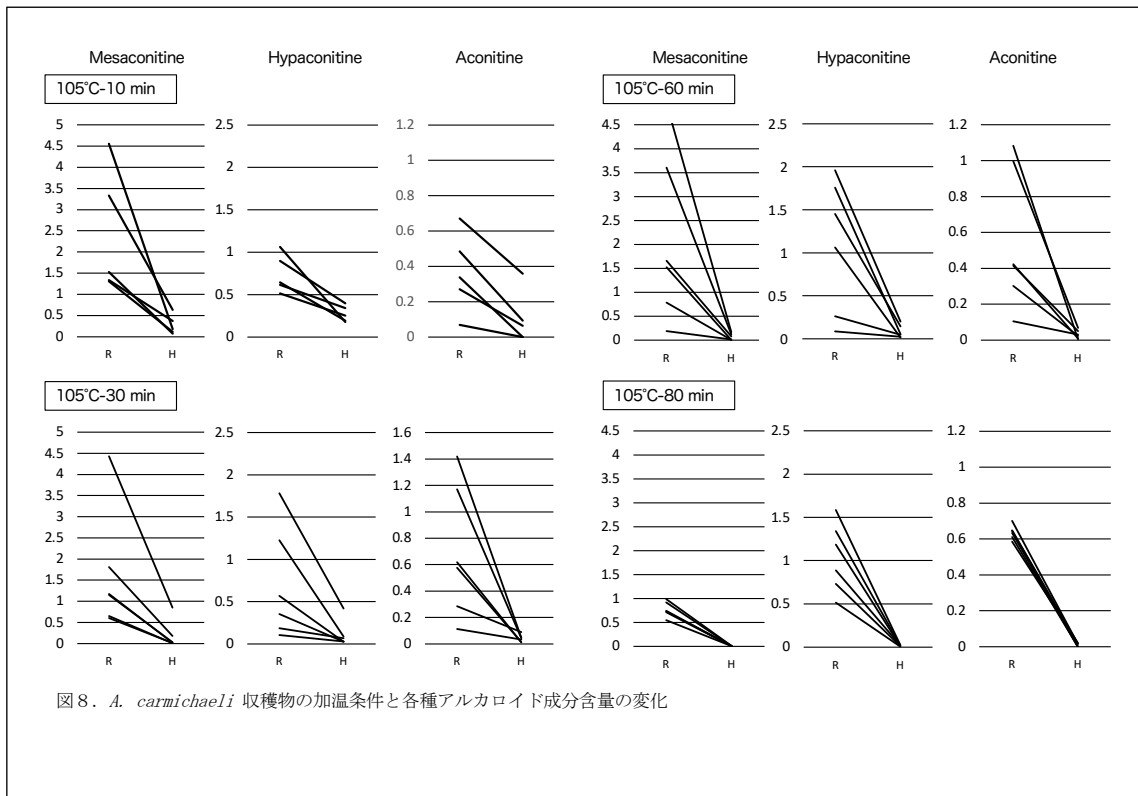


図5. 地黄のオートクレーブによる加熱時間と Catalpol含量の変化



(5) 研究の成果：附子

120 度で実施した加熱試験では全ての塊根のアルカロイド含量が消失した。そこで、温度を 105 度に固定し、1 分から 80 分まで検討した。いずれも大きな個体差があるものの、30 分を超えると高い値を示すものは少なくなる。しかし医療においては確実に減少させる必要があり、この点に関してはもう少し個体差を加味した検討が必要である (図8)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 工藤喜福, 韓旭, 安藤広和、佐々木陽平
2. 発表標題 当帰の品質評価：石川県産当帰に含有される糖類の局在性と個体間差異について
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 韓旭, 安藤広和, 佐々木陽平
2. 発表標題 糖類を指標とした生薬の品質評価法に関する研究
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工藤喜福、安藤広和、佐々木陽平
2. 発表標題 石川県産当帰に含有される ligustilideの局在性と個体間差異について
3. 学会等名 日本生薬学会第65回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桜田拓弥、安藤広和、佐々木陽平
2. 発表標題 附子の加工法に関する研究 加熱による成分変化
3. 学会等名 日本生薬学会第65回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉江唯菜, 工藤喜福, 安藤広和, 佐々木陽平
2. 発表標題 トウキ抽苔株の根の薬用価値について
3. 学会等名 第1回薬用植物栽培研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yohei Sasaki
2. 発表標題 Phylogenetic relationships based on DNA information and application for the species identification
3. 学会等名 2nd International Conference on DNA technology for authentication, quality control and conservation of herbal material (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関