

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22580014

研究課題名（和文）薬用ウコン属植物におけるクルクミン成分の生成過程とその遺伝的変異の解明

研究課題名（英文）Accumulation of Curcumin and its genetic variation in medicinal plant *Curcuma* species

研究代表者

吉田 徹志 (YOSHIDA TETSUSHI)

高知大学・名誉教授

研究者番号：10145112

研究成果の概要（和文）：ウコンの根茎に含まれる薬用成分「クルクミン」および「精油」の蓄積量を、栽培、種・系統間で比較し、根茎の品質を収量とともに明らかにした。クルクミンおよび精油の含有量は生育に伴い増加し、根茎収量と密接に関係した。クルクミンおよび精油の含有率・含有量は基本的に外国産ウコンで国内産ウコンより高かった。遺伝解析の結果、クルクミン含有率にみられるウコンの系統間差異は外国産ウコンと他のウコン属種との雑種または浸透交雑によるものであることが示唆され、詳細な系統図により近縁関係が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Medicinal properties, curcumin and essential oil, accumulated in rhizomes were compared among different cultivations and different lines to evaluate the quality with the yield in *Curcuma* species. Contents of curcumin and essential oil increased with the development of rhizome, and closely related to rhizome yield. Higher rates and contents of curcumin and essential oil were basically observed in foreign *C. longa* than in domestic *C. longa*. Genetic analysis suggested that the difference of curcumin content among the various lines of *C. longa* was caused by hybridization and introgression between foreign *C. longa* and other *Curcuma* species. Detail system diagram was made to elucidate genetic affiliation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・作物学・雑草学

キーワード：ウコン，薬用成分，精油，クルクミン，根茎収量，種・系統間差異

## 1. 研究開始当初の背景

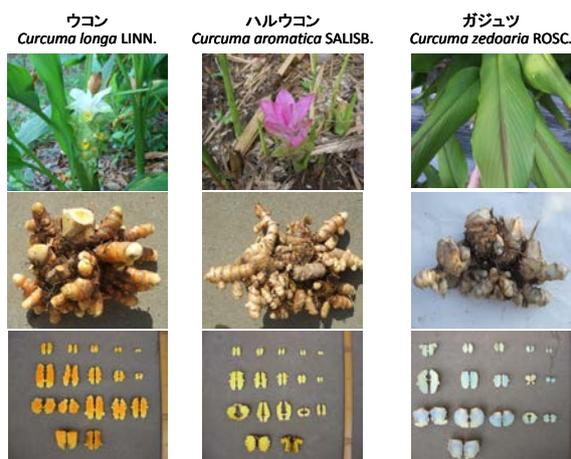
ウコン（ショウガ科 *Zingiberaceae*，ウコン属 *Curcuma* LINN.）は、その根茎に色素成分である「クルクミン」を貯える。クルクミ

ンは体内で強力な抗酸化性を有し、免疫細胞のダメージを防いで皮膚がんや大腸がんなど炎症性のがんを予防する効果が期待されている。また、その抗酸化作用から白内障や糖尿病性腎不全を予防する効果があることが確かめられている。

現在わが国で栽培されているウコン属植物はウコン (*Curcuma domestica* VAL. あるいは *C. longa* L.), ハルウコン (*C. aromatica* SAL.) およびガジュツ (*C. zedoaria* ROSC.) の3種であるといわれるが、形態および生理的特性から見てこれらとは異なる不明種もみられ、ウコン属植物の国内における遺伝的背景は未知の部分が非常に多い。また、日本国内で栽培されている系統に比べ、インドあるいはインドネシア産系統のクルクミン含有率は極めて高いことが知られている(国内産約0.5%, インド・インドネシア産約5.8%)。

ウコンおよびその薬効成分は医学的見地から研究が多様に進められており、健康食品として国内の需要が急速に伸びているが、農学的見地からの研究は極めて少ない。

#### ウコン属植物の種類



## 2. 研究の目的

本研究課題では、ウコン属植物の根茎で生成されるクルクミン成分および精油成分に着目し、1)根茎の発達に伴う生成過程、2)

国内外の種・系統間差異を、作物学的、生理学的手法により定量し、内部形態の観察、遺伝解析による結果と比較した。栽培、種・系統間の違いによる根茎の収量、品質を明らかにし、3)地元企業との共同研究によりウコンを用いた地域振興に取り組んだ。

## 3. 研究の方法

(1) 高知県で栽培されているウコンおよびハルウコンを供試し、根茎の重量を調整し、幅90cm、高さ20cmの畦に、株間30cm、深度8cmで一条植えた。各種3反復を完全無作為化法で配置した。サンプリングとして9月、10月、11月に、各反復3個体(各種9個体)を掘り上げ、葉身、茎および根茎に切り分け、新鮮重を測定し、乾燥後に乾物重を測定した。1次分岐根茎の乾燥試料を粉碎し、80%エタノールでクルクミンを抽出し、HPLCでクルクミン含有率を測定した。また、陰干しした乾燥サンプルをクレベンジャー装置で水蒸気蒸留し、得られた精油の量を定量し、精油構成成分をGC-MSで同定・分析した。

(2) 国内産ウコン6系統、外国産ウコン11系統、国内産ハルウコン3系統、その他2系統(ガジュツ1系統および不明種1系統)の計22種・系統を供試した。種イモを畦幅70cm、株間30cm、植付け深度8cmの1条で植え付けた。各種・系統から生育の中庸な個体を収穫し、部位別に分け、新鮮重を測定し、乾燥した。(1)と同様に、新鮮重および乾物重を測定し、クルクミン含有率、精油含有率および精油構成成分を分析した。

(3) 新鮮な材料を用いてプラントミクロトームで厚さ20 $\mu$ mの切片を作成した。生物顕微鏡で検鏡し、クルクミン分泌物および精油油胞の密度、周囲長および面積をUSB顕微鏡デジタルシステムで計測した。精油油胞は中性脂肪を赤く染めるSudan IIIで染色した。

(4) 上述のうち12系統を供試し、新鮮な根茎からDNAを単離した。葉緑体DNA中の*matK*遺伝

子と *atpF* イントロン領域を PCR 法で増幅させ、その塩基配列を決定した。

(5) 高知県内 6 箇所の農家圃場でウコン、ハルウコンを供試し、収穫期に根茎をサンプリングした。根茎を切り分け、新鮮重を測定し、乾燥した。(1)と同様の方法で、新鮮重および乾物重を測定し、クルクミン含有率、精油含有率および精油構成成分を分析した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 根茎発達に伴う変化

①クルクミン含有率は、ウコンの 1 次分岐根茎において 9 月から 10 月の根茎形成直後に増加したが、10 月から 11 月の根茎肥大期にほとんど増加しないかやや減少した。一方、ハルウコンのクルクミン含有率は 1 次分岐根茎において 9 月から 10 月の根茎形成直後に有意に減少した。このようなクルクミン含有率の減少の結果、成熟期のクルクミン含有量(含有率×乾物重)はウコンに比べハルウコンで有意に低くなった。株当たりのクルクミン含有量は根茎収量の増加に伴い増加し、クルクミン含有量の増加のためには根茎収量の増加が重要であることが示された。

②精油含有率は、根茎で葉身および茎より有意に高く、生育に伴い増加した。しかし、精油の構成成分には生育時期による差異はなかった。また、葉身に比べ根茎に集積される精油構成成分は分子量が大きい傾向がみられた。

##### (2) 種・系統間差異

①外国産ウコンは国内産ウコンより、根茎乾物重が低く、クルクミン含有率が高かった。根茎乾物重とクルクミン含有率の積で示されるクルクミン含有量は外国産ウコン (563.2mg/株) > 国内産ウコン (190.9mg/株) ≧ ハルウコン (40.6mg/株) ≧ その他 (3.4mg/株) であった。根茎乾物重およびクルクミン含有率から各群を 3 グループに分類し

た。グループ 1 (インドネシア b 系統を除く外国産ウコン): 根茎乾物重は最も低かったが、クルクミン含有率は有意に高かった。グループ 2 (国内産ウコンおよびインドネシア b 系統): 根茎乾物重は高かったが、クルクミン含有率は中濃度であった。グループ 3 (ハルウコンおよびその他の系統): 根茎乾物重は中程度であり、クルクミン含有率は著しく低かった。これらの作物学的特性に基づく分類は、遺伝解析から得られた分類と一致した。

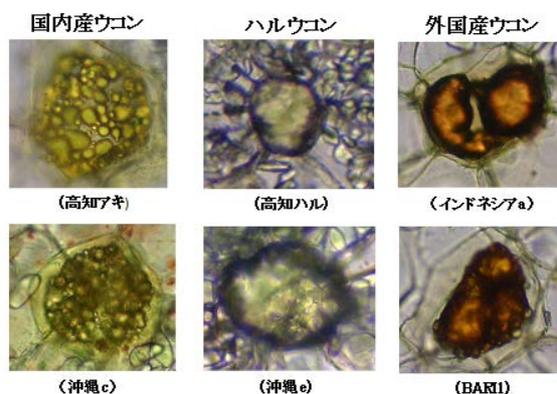
②精油の量および質には種・系統間差があり、精油構成成分の検出パターン種の系統間差は、クルクミン含有率や生育・収量の分類と一致した。

##### (3) 内部形態の観察

①植物体の内部形態の観察によりクルクミン分泌物および精油油胞が観察された。クルクミン分泌物の色はウコンでハルウコンより濃い黄色であった。クルクミン分泌物には様々な形状があり、細胞内に単一の大粒が占めるもの、複数の袋状の小粒が散在、または集合しているものがほぼ同程度に認められた。単一の大粒が占める場合には 5-6 個の透明細胞に外周を囲まれていた。クルクミン分泌物は維管束周辺に多くみられた。根茎に比べ葉身および茎では密度が有意に低かったが、ウコンでは葉身にも根茎より小さいクルクミン分泌物が認められた。精油油胞もクルクミン分泌物と同様の形状で存在していたが、多くは複数の小粒が集合している状態で認められた。また、黄色か無色透明であったが、SudanⅢにより赤く染色された。ウコンでは根茎で葉身および茎より有意に密度が高く、周囲長が長かった。

②クルクミン分泌物の色は多くの外国産ウコンで国内産ウコンより濃い橙色であり、ハルウコンで薄い黄色、不明種 (和歌山 b) で無色透明であった。クルクミンが含まれていないとされるガジュツでもクルクミン分泌物が確認されたが、密度は有意に低かった。精油油胞の密度に有意な種系統間差異が認められた。内部形態の種・系統間差異

は、化学分析および遺伝解析による種・系統間差異とほぼ一致した。



クルクミン分泌物の種・系統間差異

#### (4) 遺伝解析

①クルクミン含有率の高い系統のみが *atpF* イントロン領域に合計 20 塩基の挿入または欠失が存在した。この変異部位には制限酵素である *ScaI* の認識部位が存在した。そのため、*atpF* イントロンの PCR 増幅または *ScaI* による PCR-RFLP 法を用いることによって、ウコンの高クルクミン含有率系統を正確に識別することが可能となった。

②ウコンの種内においてクルクミン含量が異なる原因を探るために、ウコンとその他のウコン属植物の間の雑種または浸透交雑の可能性を調査した。その結果、ETS における雑種性および *matK* と ETS の系統樹の間に食い違いが見出された。ウコンのクルクミン含量は、純系において非常に高く、他のウコン属植物との雑種または浸透交雑であった系統は、中程度または低濃度のクルクミン含有量であった。これらはいずれも同じウコンの葉緑体 DNA を持っていたため、ウコンのクルクミン量の異なる系統は他のウコン属植物との雑種または浸透交雑種であることが示唆された。

③葉緑体遺伝子 4 領域により詳細な系統間ネットワーク図を作成し、近縁関係を明らかに

した。

#### (5) 産地間差異

地元企業との共同研究により、ウコンの産地間差異を明らかにし、ウコンを用いた新商品を開発した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

①H. Hayakawa, Y. Minamiya, K. Ito, Y. Yamamoto, T. Fukuda, Difference of curcumin content in *Curcuma longa* L. (*Zingiberaceae*) caused by hybridization with other *Curcuma* species. American Journal of Plant Sciences, 査読有, Vol. 2, 2011, 111-119.

②H. Hayakawa, T. Kobayashi, Y. Minamiya, K. Ito, A. Miyazaki, T. Fukuda and Y. Yamamoto, Development of a molecular marker to identify a candidate line of turmeric (*Curcuma longa* L.) with a high curcumin content. American Journal of Plant Sciences, 査読有, Vol. 2, 2011, 15-26.

③H. Hayakawa, T. Kobayashi, Y. Minamiya, K. Ito, A. Miyazaki, T. Fukuda and Y. Yamamoto, Molecular identification of turmeric (*Curcuma longa*, *Zingiberaceae*) with High Curcumin Content. Journal of Japanese Botany, 85 (5), 2010, 263-269.

④小林徹也, 宮崎彰, 松澤篤史, 黒木美一, 島村智子, 吉田徹志, 山本由徳, ウコンおよびハルウコンの根茎発達に伴うクルクミンの蓄積経過. 日本作物学会紀事, 79 (1), 2010, 10-15.

〔学会発表〕(計 5 件)

- ①椎野由佳理, ウコンおよびハルウコンの根茎発達に伴う各器官の精油含有量および構成成分の変化. 日本熱帯農業学会, 2013年3月30日~3月31日, 茨城大学農学部(茨城県阿見町)
- ②椎野由佳理, ウコンおよびハルウコンの生育および根茎の発達に伴う各器官の精油の含有量および構成成分の変化. 日本作物学会四国支部, 2012年11月29日~11月30日, 香川県農業試験場(香川県綾歌郡)
- ③宮崎彰, インドおよびバングラディッシュにおけるウコンの栽培と利用. 日本熱帯農業学会, 2011年9月17日~9月18日, 信州大学農学部(長野県上伊那郡)
- ④早川宗志, ウコンのクルクミン含有率の変異は他のウコン属植物との雑種形成に起因する. 日本作物学会四国支部, 2010年11月25日~11月26日. 愛媛県農林水産研究所(愛媛県松山市).
- ⑤早川宗志, Molecular identification of the High Content line of Curcumin in Turmeric. 日本育種学会, 2010年3月26日~3月27日, 京都大学農学部(京都府京都市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 徹志 (YOSHIDA TETSUSHI)  
高知大学・名誉教授  
研究者番号: 10145112

### (2) 研究分担者

山本 由徳 (YAMAMOTO YOSHINORI)  
高知大学・教育研究部自然科学系・教授  
研究者番号: 00093956  
宮崎 彰 (MIYAZAKI AKIRA)  
高知大学・教育研究部自然科学系・准教授  
研究者番号: 00304668

島村 智子 (SHIMAMURA TOMOKO)  
高知大学・教育研究部総合科学系・准教授  
研究者番号: 50350179  
河野 俊夫 (KAWANO TOSHIO)  
高知大学・教育研究部自然科学系・教授  
研究者番号: 60224812  
(H22→H23: 連携研究者)  
福田 達哉 (FUKUDA TATSUYA)  
高知大学・教育研究部総合科学系・准教授  
研究者番号: 00432815  
(H23~: 研究分担者)

### (3) 研究協力者

早川 宗志 (HAYAKAWA HIROSHI)  
独立行政法人・農業環境技術研究所・特別  
研究員