

## 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8月22日現在

機関番号：37604  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22590116  
 研究課題名（和文） エフェドラ・シニカ関連マオウ属植物のユーラシア大陸での分布と品質評価  
 研究課題名（英文） Studies on resource of *Ephedra sinica* and the related *Ephedra* plants in Eurasia and evaluation of their quality as the crude drug.  
 研究代表者  
 垣内 信子（KAKIUCHI NOBUKO）  
 九州保健福祉大学・薬学部・教授  
 研究者番号：30204324

### 研究成果の概要（和文）：

重要な漢方薬「マオウ」の主たる原植物は、現在では *Ephedra sinica* である。一方、ユーラシア大陸には *E. sinica* との近縁とされる *E. dahurica* と *E. distachya* が存在するが、その詳しい系統は解析されておらず、薬用としての有用性も明らかではない。今回2006年シベリア地域、および2008年アルプス地域でそれぞれ採取した *E. dahurica*、および *E. distachya* 試料、さらに金沢大御影教授のグループが中国及びモンゴルで採集した *E. sinica* 試料、Kassel 大学 Freitag 教授のグループからの *E. distachya* 試料について DNA 解析を行い、ロシア・中国～ヨーロッパにわたる *E. sinica* 関連マオウ属植物の分布と系統関係を解明した。

### 研究成果の概要（英文）：

The aerial part of *Ephedra* plants is a staple crude drug worldwide. Among them, *E. sinica* is currently the most commonly used crude drug in the Japanese and Chinese market. *E. dahurica* and *E. distachya* are believed to be closely related to *E. sinica*. However, *E. dahurica*, distributed in limited area of Far East Russia, has no record of medicinal usage, neither clear evidence on the relationship with *E. sinica*. I examined DNA sequences of *E. dahurica* samples, which I had collected in Bryatia, East Siberia, in 2006, *E. sinica* vouchers of the Herbaria of Kanazawa University collected in China and Mongolia by Prof Mikage. I also examined *E. distachya* samples collected in 2008 in Alps as well as vouchers of Kassel University deposited by Prof Freitag. I revealed the phylogenic relationship of *E. sinica*-relating *Ephedra* plants, and evaluated them as the crude drug.

### 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	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：生薬、資源、DNA 解析、ユーラシア大陸、エフェドラ・シニカ

### 1. 研究開始当初の背景

国際的に優れた代替補完医療である「漢方医療」には、品質の高い漢方生薬が必須である。漢方薬の原料は多くは中国を中心とする東アジア地域の野生植物に依存している。それら天然生薬資源は、長期的には近年の気候変化、また短期的には国際政治的状況の変化が生薬の輸出入に大いに影響を与えるようになった。その代表例として、マオウがあげられ、主な生産および輸出国中国は環境破壊防止を理由に、輸出を制限している。我々は1989年より東アジア地域のマオウ属植物資源調査を継続的に行い、2000-2003年の中国産マオウ属植物調査の結果、9種のマオウ属植物の自生地を確認するとともに、それらの遺伝的系統関係を明らかにした (*Planta Med.* **70**, 1080-1085 (2004)、*Biol. Pharm. Bull.* **28**, 285-2888 (2005))。また、パキスタン北部 (*J. Nat. Med.*, 61, 357-365 (2007))、モンゴル、さらにロシア極東地域において野生マオウ属植物の調査を行った。また中国における栽培についても調査し報告している (*Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 746-749 (2006))。

日局収載マオウ原料(原植物)のうちユーラシア大陸極東地域に自生する *E. sinica* は特に重要なマオウ源植物である。一方 *E. sinica* との近縁関係が推測されているマオウ属植物に *E. dahurica* と *E. distachya* が挙げられる。そのうち *E. dahurica* はシベリア地域に分布するとされているが、詳しい系統は解析されておらず薬用としての有用性も明らかではない。一方 *E. distachya* は中央アジアからヨーロッパに分布するが、形態的には数種の系統

があるされる。

### 2. 研究の目的

重要な漢方薬「マオウ」の基源は野生マオウ属植物の地上部である。局方には3種のマオウ属植物が原植物として収載されているが、*Ephedra sinica* が主たる原植物となっている。一方 *E. sinica* との近縁関係が推測されているマオウ属植物に *E. dahurica* と *E. distachya* が挙げられる。そのうち *E. dahurica* はシベリア地域に分布するとされているが、詳しい系統は解析されておらず薬用としての有用性も明らかではない。一方 *E. distachya* は中央アジアからヨーロッパに分布するが、形態的には数種の系統があるされる。*E. dahurica*、*E. distachya* が局方収載 *E. sinica* と遺伝的に近縁であれば、広い分布を有する薬用資源の確保が期待できる。ドイツ・Kassel大学のFreitag教授を中心とするマオウ研究グループとの共同研究を開始し、これまで我々の調査の及ばなかった中央アジア以西の資源についても、資源の調査が可能となった。これにより中国東北部、ロシア極東から中央アジアを経て地中海にかけてユーラシア大陸に広く分布する *E. sinica* 関連のマオウ属植物の薬用資源としての評価をおこなう。

### 3. 研究の方法

これまで採取した標本、これから採集するシベリア地域 *E. dahurica* および中

国モンゴルの *E. sinica* 検体、さらに協力者から提供を受けたモンゴル西部から中央アジア、ヨーロッパの *E. distachya* 検体について、DNA 解析で種間、種内変異を調べ、各地域に自生するマオウ属植物の系統関係、地域間変異を明らかにする。エフェドリン含有分析によって品質を評価する。現地調査を行い、栽培研究をするための基礎資料とする。

#### 4. 研究成果

図1に示す東アジア～地中海に渡り採取され、形態的に *E. sinica*、*E. dahurica*、*E. pseudodistachya*、*E. lomatolepis*、*E. distachya* と分類されている *Ephedra* 属植物 59 検体の核DNA ribosomal internal transcribed spacer 領域 (nr ITS1 and ITS2) および葉緑体DNA intergenic spacer region between trnL and trnF (cp trnLF) 領域の解析を行った。

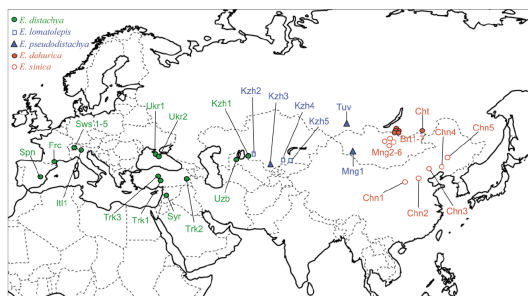


図1 検体採取地

(1) *E. dahurica* と *E. sinica* とはこれまでも形態的に近似していることがわかっているが、今回の nr ITS1 and ITS2 および cp trnLF いずれの DNA 解析の結果も、非常に相同性が高いことが明らかになった。分布も連続性があるところから、両種は同種と結論された。

(2) 一方、中央アジアに産する *E. distachya* の近縁種とされる *E. pseudodistachya*、*E. lomatolepis* は緩い系統グループを形成すること、西アジアおよび地中海に産する *E. distachya* は形態的には変異が見られるが、系統解析で近縁であることが判った。従って、*E. distachya* と *E. pseudodistachya*、*E. lomatolepis* のグループは、近縁ではあるが系統的には区別可能であることが明らかとなった。さらに、*E. dahurica* / *E. sinica* とも別の系統であることが判った。以上よりモンゴル西部から中央アジアの *E. distachya* の形態的分類と遺伝的な分類の関係を明らかにできた。

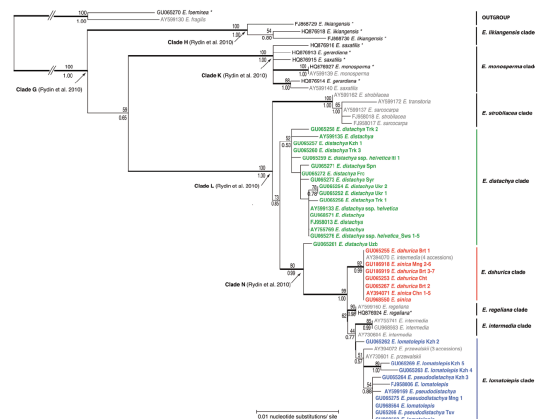


図2 *Ephedra* 属植物の最尤法による系統解析

(3) また、各地域の *E. sinica* のエフェドリン含量を確認し薬用としての品質についての評価をおこなったところ、地域毎にエフェドリン含量に違いのあることが判り、産地が重要であることが判った。一方、中国以外の地域では、南アジアにおいては *E. gerardiana*、*E. saxatilis*、中東からヨーロッパでは *E. major* 等、*E. sinica* 以外のマオウ属植物も薬用に用いられている。そこで、中国にあまり産

せず、*E. sinica* とは系統を異にするマオウ属植物種について、金沢大学および Kassel 大学収蔵 *E. geradiana* 関連のマオウ属植物の DNA 解析を行い、アジアの伝統医学で利用されてきたマオウ属植物について、包括的な系統関係を解明した。

#### 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 11 件)

- ① Phylogenetic study on *Ephedra* plants related to *Ephedra sinica* by sequence analysis of internal transcribed spacer 2 region (ITS2) in nuclear ribosomal DNA. Kakiuchi N, Higuchi M, Tanaka S, Nishikawa K, Kamikawa S, Ohtsuka I, Freitag H. J KUHW, 2013; 14: 169-172
- ② Difference in cultivation characteristics and genetic polymorphism between Chinese and Japanese strains of *Wolfiporia cocos* Ryvar den et Gilbertson (*Poria cocos* Wolf). Kobira S, Atsumi T, Kakiuchi N, Mikage M. J Nat Med 2012; 66:493-499 (査読有)
- ③ Quality evaluation of Chotoko – Local and specific variations in the alkaloid contents of *Uncaria* plants-. Shi W, Kitaoka F, Doui M, Miyake K, Sasaki Y, Kakiuchi N, Mikage M. J Trd Med 2012; 29: 63-73 (査読有)
- ④ A molecular phylogenetic study of the *Ephedra distachya* / *E. sinica* complex in Eurasia. Kakiuchi N, Mikage M, Ickert-Bond S, Maier-Stolte M, Freitag H. Willdenowia 2011; 41:203-215 (査読有)
- ⑤ Molecular Genetic Characteristics of Nepalese *Ephedra* Plants. Hamanaka E, Ohkubo K, Mikage M and Kakiuchi N. J Jpn Bot. 2011; 86: 303-313 (査読有)
- ⑥ Temporal change in quality of a Kampo decoction packed by a decocting machine (1) Doui M, Anjiki N, Ina S, Yoshimitsu M, Kawahara N, Goda Y, Kakiuchi N, Mikage M. Shoyakugaku Zasshi 2011; 65:103-107. (査読有)
- ⑦ The relationship between growth of the aerial part and alkaloid content variation in cultivated *Aconitum carmichaeli* Debeaux. Kawasaki R, Motoya W, Atsumi T, Mouri C, Kakiuchi N, Mikage M. J Nat Med. 2011; 65:111-5. (査読有)
- ⑧ A herbological studies on medicinal effects and employments of rhubarb processed with liquor (2). Comparison of principal compound contents in liquor-dipped rhubarb and liquor-soaked rhubarb. Doui M, Kakiuchi N, Ebara T, Miakge M. Kampo Med., 2010; 61:133-137 (査読有)
- ⑨ [Herbological studies on combination of rhubarb and mirabilite]. Doui M, Ando H, Goi C, Kakiuchi N, Mikage M. Yakushigaku Zasshi. 2010; 45:106-11. Japanese. (査読有)
- ⑩ Chemical changes in rhubarb heated after processed with liquor. Doui M, Kakiuchi N, Miakge M. J Trad Med., 2012; 27: 143-147 (査読有)

⑪ Studies of *Ephedra plants* in Asia. Part 6: Geographical changes of anatomical features and alkaloids content of *Ephedra sinica*. Wang LL, Kakiuchi N, Mikage M. J Nat Med. 2010; 64:63-9. (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

① 渥美聡孝, 大塚功, 垣内信子: 九州産トリカブトの資源調査, 第 29 回日本薬学会九州支部大会, 2012.12, 熊本

② 垣内信子, 渥美聡孝, 大塚功, 御影雅幸, H. Freitag, M. Maier-Stolte : アジア及び地中海沿岸地域に分布する *Ephedra Gerardiana* および関連 *Ephedra* 属植物の系統解析, 日本生薬学会第 59 回年会 2012.9, 千葉.

③ 垣内信子, 樋口真理, 上川翔平, 大塚功, 渥美聡孝, 山岸喬, 西澤信, 林茂樹, 菱田敦之: 南北海道に自生するトリカブト植物の遺伝子タイピングと含有成分を指標とした識別, 日本薬学会第 132 年会, 2012.3, 札幌.

④ 御影雅幸, 三宅克典, 北岡文美代, 垣内信子: ネパール産マオウ属植物に関する新知見、植物地理・分類学会、2011 年 6 月京都

⑤ 樋口真理, 田中沙織, 西川佳奈美, 上川翔平, 大塚功, 垣内信子, 御影雅幸, H. Freitag: ユーラシア大陸に自生する *Ephedra sinica* 関連マオウ属植物の DNA 解析と系統解析、第 58 回日本生薬学会、2011 年 9 月東京

⑥ 韓燕, 間野真澄, 北岡文美代, 姜東孝, 垣内信子, 御影雅幸: 薬用 Clematis 属植物の研究(1) — 「威霊仙」の DNA 解析 — 日本生薬学会第 58 年会, 2011 年 9 月東京.

⑦ 小平早百合, 御影雅幸, 垣内信子: 中国産茯苓と日本産茯苓の栽培特性および DNA の比較, 第 130 回日本薬学会, 2010.4, 岡山.

⑧ Kawasaki R, Oi I, Miyake K, Kakiuchi N, Mikage M. The relationship of alkaloid contents between daughter tuberous root and rootlet of *Aconitium Carmichaeli*. The 5th JSP-CCTNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy. 2010 年 9 月徳島

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

垣内 信子 (KAKIUCHI NOBUKO)  
九州保健福祉大学・薬学部・教授  
研究者番号: 30204324