

遺伝子解析技術を用いた薬用植物基原種の鑑別

国立医薬品食品衛生研究所生薬部第一室長 丸山 卓郎

(独) 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター筑波研究部育種生理研究室 主任研究員 河野 徳昭

富山大学和漢医薬学総合研究所教授 小松かつ子

A. 遺伝子情報を利用した薬用植物の鑑別の行政への利用

1968年の「分子進化の中立説」の提唱と1985年のPCR (Polymerase Chain Reaction) 法の発見は、遺伝子の塩基配列の違いから種の系統関係を探る分子系統学を興し、その手法は現在、進化・分類学や考古学、法医学など、さまざまな研究に応用され、医療における遺伝子診断や犯罪捜査におけるDNA鑑定、遺伝子組み換え作物の検査等の場で、実用化されています。生薬、薬用植物の分野においても例外ではなく、これまで組織形態や含有成分を基にして行われていた生薬の分類、鑑定を、遺伝子情報により行う研究が、近年、さかんになされており、その技術は、既に一般的なものと言って良い水準に達しております。このため、現在では、遺伝子解析技術を生薬行政の場に生かす取り組みがなされております。

遺伝子情報を用いた薬用植物の分類、鑑定技術を行政の場に利用することを考えた場合、二つの道筋があります。一つは、日本薬局方や日本薬局方外生薬規格（局外生規）への新規収載品目の基原種の確認が挙げられます。薬局方は、5年ごとに大改正があり、その間、2回の追補が発出されます。近年の薬局方の作成方針には、「保健医療上重要な医薬品の全面的収載」が掲げられており、一般用漢方製剤承認基準の拡充などに伴い、その構成生薬の薬局方及び局外生規への積極収載が図られております。しかしながら、新規収載候補品目の収載原案を作成する際、基原植物に混乱が見られる場合がしばしばあります。このような場合に、遺伝子情報を用いた基原植物の鑑別が効力を発揮します。

遺伝子情報による薬用植物の鑑定技術の二つ目の利用法は、純度試験法への利用です。基原植物鑑別の試験法への利用を考えた時、“確認試験”と“純度試験”の2種が想定されますが、遺伝子を利用した試験設定には、PCR法の利用が欠かせません。このものは、微量のゲノムDNAから必要な遺伝子領域を指数関数的に増幅する技術です。従って、正品を検出するための試験法である確認試験の場合、多量の不適合品中に少量の正品が含まれていた場合でも陽性となってしまう、機能的な試験法の設定は困難です。一方、不適合品を検出するための試験法である純度試験の場合、PCR法の性質を利用し、検出感度の高い試験法の作成が期待出来ます。

国立衛研生薬部では、遺伝子解析技術の生薬行政への応用として、生薬、シゴカの基原種調査と、その結果を基にした、PCR-RFLP法による純度試験について検討を行ってきており、本稿では、その概要について、紹介します。

(1) シゴカの基原種鑑別

シゴカは、ウコギ科エゾウコギ、*Eleutherococcus senticosus* (Ruprecht et Maximowicz) Maximowiczの根茎を基原とする生薬で、2006年発出の第十五改正より局方収載された生薬です。局方収載に先立ち、日本薬局方調査会生薬等委員会、原案作成が行われました。その際、参照試料として用いたシゴカ、34個体について成分分析を行ったところ、主要成分であるeleutheroside類やisofraxidinの含量に大きなバラツキが見られ、基原植物の異なる試料の混入が疑われました。そこで、各試料よりゲノムDNAを調製し、



図1. エゾウコギとシゴカ（枠内）

核 rDNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列解析を行ったところ、主に2種の配列が見出されました。その内の一つは、正品であるエゾウコギの配列と一致し、この塩基配列を有する試料は、エゾウコギを基原としていると推定されました。このものは、全試料の2/3を占めていました。もう一方の配列は、マンシュウウコギ *E. sessiliflorus* (Ruprecht et Maximowics) S. Y. Hu 等の配列と一致し、この配列を持つ試料は、エゾウコギとは別の同属植物を基原としていることが明らかとなりました。従って、市場に流通するシゴカには、同属植物を基原とする偽品が1/3程度、存在していたことになります。遺伝子鑑別のテーマからは外れますが、成分分析の結果と合わせると、偽品には、eleutheroside B 及び iso-fraxidin が含まれていないことが明らかになり、日本薬局方のシゴカの確認試験には、HPLC による eleutheroside B の検出が採用されました。

(2) シゴカのマンシュウウコギ類に対する純度試験

市場中のシゴカにマンシュウウコギ類が高い割

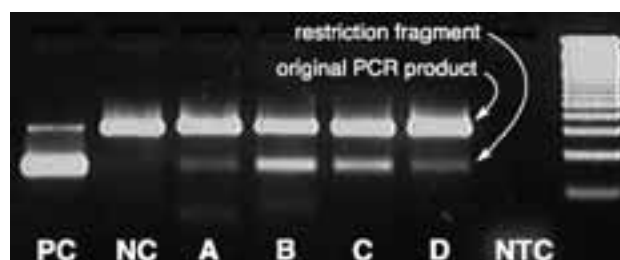


図2. PCR-RFLP 法を用いたシゴカの純度試験
PC, 100% *E. sessiliflorus*; NC, 100% *E. senticosus*
NTC, no template control
Samples A to D are 5% *E. sessiliflorus* in *E. senticosus*

合で混入していることが明らかになったことから、次に、遺伝子情報を利用したシゴカのマンシュウウコギ類に対する純度試験法の設定を検討しました。前述した2種の ITS 配列中には、6箇所の塩基置換が見出され、その内の一つは、偽品由来の配列において、制限酵素 *NcoI* の認識配列に位置していました。そのため、この領域を含む約 300 bp の DNA 断片を PCR により増幅し、その増幅産物を *NcoI* で処理する純度試験法を設計しました。偽品を5%含有する疑似試料11検体を作成し、実際に、試験を行ったところ、いずれの試料においても、偽品に由来する制限酵素断片を確認することが出来ました。従って、この試験法では、少なくとも5%の偽品の混入を検出可能であると考えられます。

遺伝子情報を利用した純度試験に利用可能な簡便な技術としては、他に、ARMS 法と呼ばれる種特異的なプライマーを用いた PCR 法があります。このものを利用した純度試験については、現在、産官学連携の研究班により、テンナンショウの掌葉半夏に対する純度試験の検討を行っています。

また、ARMS 法、PCR-RFLP 法を用いた、ジャクジュツのソウジュツに対する純度試験法が、第十六改正日本薬局方の参考情報として、収載されております。

遺伝子情報を利用した生薬の純度試験法の今後の課題は、第一にコストダウン、次に、生薬からの簡便な DNA 調製法を利用しつつ、純度試験法として十分な検出感度を保証する点です。後者については、天然物である動植物を原料とする生薬では、調製される DNA の品質に生薬の個体差が大きく影響するため、正確な定量は、ほぼ不可能

だろうと感じています。従って、研究レベルにおいて、多数の検体について試験を行い、「少なくとも〇〇%以上の混入を検出出来る感度を有する」という形での感度保証の仕方をせざるを得ないだろうと思います。

参考文献

- Maruyama T. *et al.*, *Planta Med.*, 74, 787-789 (2008).
丸山ら、生薬学雑誌、64, 15-20 (2010).
Kondo K. *et al.*, *J. Jpn. Bot.*, 84, 356-359 (2009).
丸山ら、生薬学雑誌、64, 96-101 (2010).
厚生労働省、第十六改正日本薬局方、2049-2052 (2011).
(丸山卓郎)

B. 生薬及び基原植物の遺伝子鑑別情報の薬用植物総合情報データベースへの収載

はじめに

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター(以下、センター)を中心とする研究班*では、薬用植物総合情報データベース(以下、総合DB)の構築を進めている。総合DBは、主に漢方薬に使用される生薬及びその基原植物の基本情報から成分や栽培法の情報に至る、多種多様なカテゴリで構成されているが、その一角をなすのが生薬及び基原植物の遺伝子鑑別に関する情報である。本稿では総合DB構築研究における遺伝子鑑別情報収集の概要と、収載されるデータの一例について紹介したい。

遺伝子鑑別情報の総合DBへの収載

センターでは、漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築を進めており、平成25年3月より公開を開始した(アドレス: <http://mpdb.nibio.go.jp>)。本データベースの最大の特徴が、国内に実際に流通する生薬を「モデル生薬」として、それらに関する成分等の「実測データ」を分析・取得し、収載する点である。その実測データのひとつが、生薬及びその基原となる薬用植物の遺伝子鑑別に関する情報である。(総合DBの構築並びに、モデル生薬の詳細については、本誌87-93ページを参照されたい。)

近年、遺伝子情報を用いた生薬及び基原植物の遺伝子鑑別は、高度な技能や経験が要求されない、

客観的な結果が得られやすい鑑別手法であることから、その有用性及び汎用性が認知されるようになり、多数の報告がなされている。そこで、小松かつ子富山大学教授を研究分担者とする、本データベースの遺伝子鑑別情報カテゴリにおいては、生薬及びその基原植物の遺伝子鑑別に関する論文情報及び、国際遺伝子情報データベース(DDBJ/EMBL/GenBank、以下、DDBJ)に登録されている塩基配列情報等の「学術情報」を体系的に整理すること、並びに、モデル生薬の鑑別対象遺伝子領域の塩基配列を「実測データ」として解析・収集し、国内に流通する生薬の多様性の範囲を確認することを主な目的とし、重要度の高い生薬から順にデータの収集、そして総合DBへの収載を進めている。

遺伝子鑑別情報のデータ収集項目

生薬及び基原植物の遺伝子鑑別に関する情報のデータベース化にあたり、収載するデータの項目について検討を行い、まず、収載データを「遺伝子情報」と「遺伝子鑑別情報」に分け、学術情報及びモデル生薬の遺伝子情報のそれぞれについて、下記の項目のデータを収集することとした。

遺伝子情報についてはまず、[生薬名]、学術情報であるか、モデル生薬の情報であるかを区別する[データ区分]、モデル生薬の場合はその管理番号を登録する[管理番号]、そして[遺伝子領域]の各データ項目を設けた。塩基配列及びその関連情報については、DDBJの情報を引用できるよう、その書式を踏襲し、[Accession no.]、[Locus]、[Sequence]等の項目を設けた。データを取得した試料に関する情報、遺伝子情報取得時のPCR条件、プライマーの配列、本遺伝子情報を用いた鑑別結果の概要等は[備考]欄に、また、本遺伝子情報を要素とする多重整列解析または分子系統樹の画像は[遺伝子鑑別関連情報]に収蔵することとした。

次に、遺伝子鑑別情報については、[鑑別法]の項目に sequencing (direct)、sequencing (cloned)、PCR-RFLP、ARMS、MASA、PCR-SSCP、AFLP、ISSR、RAPD等の鑑別方法の種別を、また、[鑑別レベル]の項目に、科、属、

種、変種、品種、系統といった、どのレベルでの鑑別が可能か、そして[鑑別結果]の項目に、具体的な鑑別結果の情報を収載することとした。これらに加え、PCR 条件や用いたプライマーの配列等を収載する[備考]欄、鑑別の対象となる生薬、及び関連する生薬名を記す[(関連する) 生薬名]の項目、そして、遺伝子情報で登録した各モデル生薬の配列情報及び DDBJ 登録配列の情報を登録する[遺伝子情報]の項目を設けた。鑑別結果に関する文献等の情報は[鑑別結果情報]に収載することとした。本項目中の[関連情報ファイル]のデータ形式は自由度が高く、多重整列解析の結果や、分子系統樹、RFLP や AFLP 等の電気泳動のパターンの画像も収蔵することも可能である。また、文献に関しては、[PubMedID]、[書誌情報]の項目に加え、内容の要約などを記す[備考]欄を設けた。

以上のように、収載されるデータ項目は多岐にわたるが、データベースの閲覧方法は非常にシンプルであり、これらの情報はすべて、生薬名から簡単なクリックのみの操作で閲覧することができるようになっている。

モデル生薬データの収載 — オウゴン を例に —

上述のデータ項目について、実際にどのようにデータを収集しているか、その流れを生薬オウゴン を例に説明したい。オウゴン (黄芩) はシソ科のコガネバナ (*Scutellaria baicalensis* Georgi) の周皮を除いた根を基原とする生薬である¹⁾。*Scutellaria* 属には同属植物として、*S. galericulata*、*S. lateriflora*、*S. altissima*、*S. incana* などがあり、本属の遺伝子鑑別に関する文献を検索すると、葉緑体 DNA *rpl16* 遺伝子及び *rpl16* 遺伝子と *rpl14* 遺伝子間のスパーサー領域 (以下、*rpl16-rpl14* 領域) の多型を利用した陸上植物の識別法について報告した Nakamura らの方法²⁾による、Hosokawa らの報告³⁾がヒットした。また、DDBJ に登録されている *Scutellaria* 属植物の遺伝子領域について検索すると、*rpl16-rpl14* 領域の他 *psbA-trnH* 領域、*trnL-trnF* 領域等の塩基配列情報が得られた。これらの情報から、*rpl16-rpl14* 領域の多型情報により *Scutellaria* 属の植物

種レベルでの識別、そして、生薬オウゴンの基原植物の鑑別が可能と判断され、モデル試料について、同領域の塩基配列情報を解析、収集することとした。

まず、*Scutellaria* 属植物の *rpl16-rpl14* 領域の塩基配列情報を DDBJ から抽出し、総合 DB の遺伝子情報に登録し、次いで、遺伝子鑑別情報に Hosokawa らの文献情報を登録した。実測データの取得については、中国河北省、山東省、内蒙古自治区、陝西省の各省を産地とする生薬オウゴンのモデル生薬、15件の検体について *rpl16-rpl14* 領域の解析を行った。各モデル試料の検体について、DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用い生薬からゲノム DNA を調製し、PCR の鋳型とした。Nakamura らの設計したプライマーで、PCR 酵素に KOD-plus (Toyobo) を用いて増幅を行い、得られた増幅産物についてダイレクトシーケンシング、またはクローン化の後、シーケンシングを行った。得られた塩基配列について多重整列解析を行い、変異点等を抽出したところ、モデル試料3検体に DDBJ 登録配列と1塩基の変異が認められた。この変異点は、*Scutellaria* 属植物種間の変異の幅を越えるものではなく、*S. baicalensis* 種内の変異と考えられる。すなわち、今回供試したモデル生薬より得られた塩基配列データから、これらはいずれも、*S. baicalensis* を基原とするものであることが確認されたとともに、オウゴンの国内流通生薬における *rpl16-rpl14* 領域の変異の「幅」が示された。総合 DB には上記の変異点の情報が鑑別結果情報に、そして、各検体の塩基配列の情報がモデル生薬の管理番号毎に登録されており、それぞれの産地や成分の情報などとともに参照することが可能である。

データベース遺伝子鑑別情報の今後の展開について

平成25年度よりデータベース研究は実質的な2期目に入り、データの増強、カテゴリーの追加等を行う発展的研究の段階に進んでいる。今期は、各カテゴリー間のデータの相関解析を予定しており、取得した遺伝子情報と成分情報等、他のカテゴリーとの横断的な解析により、生薬及び薬用植

物の多様性に関する新たな知見が得られると期待される。

おわりに

第十五改正日本薬局方第一追補参考情報に「遺伝子情報を利用する生薬の純度試験」が収載された⁴⁾ように、今後、生薬の品質管理の現場において遺伝子情報を用いた鑑別法の重要性はますます高くなるものと考えられる。本データベースに収載される遺伝子鑑別に関する情報が、生薬及びその基原植物の遺伝子鑑別に携わる方々の情報源として活用され、さらには、生薬の遺伝子鑑別手法の普及の一助となれば幸いである。

*総合 DB は、厚生労働科学研究費補助金創薬基盤推進研究事業「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」、「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」の一環として構築を進めている。

参考文献

- 1) 第十六改正日本薬局方（平成23年3月24日 厚生労働省告示第65号），pp. 1457-1458
- 2) Nakamura I. *et al.*, *Breeding Sci.* 47, 385-388 (1997)
- 3) Hosokawa K. *et al.*, *J. Ethnopharmacol.* 99, 105-108 (2005)
- 4) 第十五改正日本薬局方第一追補（平成19年9月28日 厚生労働省告示第316号），pp. 200-201

（河野 徳昭）

C. 生薬の多様性解析のためのインデックスとしての遺伝子情報

はじめに

生薬の品質評価では基原植物の同定、成分分析、薬理試験（*in vitro*、*in vivo*）、臨床的評価が行われる。その内、第一にすべきことが生薬の同定であり、従来、比較組織学的手法が用いられてきたが、熟練を要する上に、指標となる形質が植物の生長度合や環境により変化するため客観性を欠く場合があるという問題があった。近年、植物の分子系統学の発展にともない、生薬学分野においても遺伝子解析が盛んに行われるようになり、生薬の同定に応用されるようになった。DNA の塩基配列

は環境に影響されない遺伝の一次情報であり、4つの塩基で表されるため明瞭である。従って、生薬の基原となる薬用植物とその関連植物の遺伝子多型を明らかにし、分類群に固有な塩基配列を見いだしておけば、生薬から得られた DNA の塩基配列をこれと比較することにより容易に基原種を同定できる。多くの遺伝子情報が国際遺伝子情報データベース（DDBJ と略す）に登録されているので、これを参考にするのが便利であるが、登録されている植物の同定の正しさや生育地域による遺伝子多型も考えられるので、実際上は、自分で採集した複数の植物を正確に同定し、遺伝子の塩基配列を決定して、植物種固有のマーカー配列を見いだす必要がある。生薬の同定には、核 rDNA の ITS 領域、葉緑体 DNA の *matK* 遺伝子、*trnK* 遺伝子、*trnK-rps16* intergenic spacer 領域、*trnL-F* intergenic spacer 領域などが用いられている（伝統医薬データベース <http://dentomed.u-toyama.ac.jp> 参照¹⁾）。一般に生薬の基原植物は近縁な数種に及ぶことがあり、植物学的に未整理な分類群であれば、生薬の同定は容易ではない。このような場合、生薬の成分化学的品質評価の結果も統一性を欠き、Chemotaxonomy 上の事実を見逃すことになる（大黃、莪朮、党参など）。さらに、多様性が顕著な分類群（栽培が広域にわたっている薬用植物などで見られる）を整理する上では、同一種につき多数の植物材料を収集し、それらの遺伝子解析を行い、分類群の全体像を明らかにすることが不可欠である。ここでは党参を例にして、種の多様化の様相を示すとともに、基原種が同定されたことにより明瞭になった成分の種間差について述べる。

薬用 *Codonopsis* 属植物の遺伝的多様性と党参の基原

党参はキキョウ科の *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., *C. pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. D. Shen., *C. tangshen* Oliv. の根に由来する生薬で、中国では強壯薬として食欲不振、疲労倦怠、咳嗽、口渴などに繁用され、また薬用人参の代用として処方に配合されることも多い。近年、日本においても需要が増しているこ

とから、党参の品質確保を目的として、*Codonopsis* 属植物の遺伝子多型に基づく同定法を開発し、中国及び日本の市場流通品の基原を明らかにした²⁾。

2008年から3年間にわたって党参の産地である中国甘肅省、湖北省及び重慶市で調査を行い(図3)、*Codonopsis* 属植物の栽培品または野生品95検体及び党参市場品57点(各2検体を使用)を収集した。これらについて核rDNAのITS領域をPCR法で増幅し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。Electropherogramでは、同一箇所にも二重のピーク(ヘテロ型のピーク)が確認されたため、ノイズと区別するために、副ピークの高さ/(副ピークの高さ+主ピークの高さ)が20%以上のものをヘテロ型と判断した(クローニングによる確かめ実験も行った)。その結果、2種1変種のITS1-5.8S-ITS2領域は長さ655 bpで、各領域はそれぞれ257 bp、163 bp、235 bpであった。同属3分類群の種間及び種内の多型の解析には上

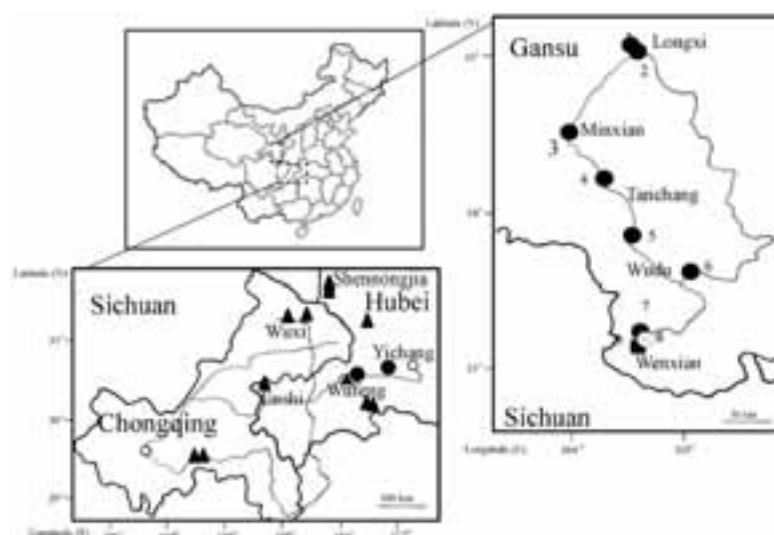


図3. 中国における*Codonopsis*属植物の調査地域(2009年及び2010年)

- *C. pilosula*; ■ *C. pilosula* var. *modesta*;
- ▲ *C. tangshen*;
- ⊗ *C. pilosula* 及び *C. pilosula* var. *modesta*;
- ⊗ *C. pilosula* and *C. tangshen*.

流から122番目、226番目、441番目及び489番目の塩基が重要で、さらに*C. tangshen*の種内多型の解析では135番目、489番目及び500番目の塩基が重要であった。

*C. pilosula*には11タイプの塩基配列、*C. pilosula* var. *modesta*には5タイプの塩基配列、*C.*

表1 *Codonopsis*属植物のITS領域の塩基配列タイプと交配に関与したと考えられる両親の塩基配列タイプ

Species	Sequence type (ITS)	Accession number (DDBJ)	Nucleotide position																Sequence type of supposed parental lineages (nucleotides at 122, 226, 441 and 489)	Number of plant specimens
			ITS1									ITS2								
			52	55	122	130	135	199	226	234	253	441	483	489	500	509	519	533		
<i>C. pilosula</i>	P0	AB769260, EF190460 ³	C	G	C	G	G	C	C	T	A	T	C	T	G	C	A	G	5	
	P1	AB769261	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	5	
	P2	AB769262	*	*	Y	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	
	P3	AB769263	*	*	Y	*	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	*	*	11	
	P4	AB769264	*	*	Y	R	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	
	P5	AB769265	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	1	
	P6	AB769266	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	Y	*	*	*	*	*	2	
	P6'	AB769267	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	Y	*	*	R	*	*	1	
	P7	AB769268	*	*	T	*	*	*	Y	*	*	*	*	Y	*	*	R	*	7	
	P8	AB769269	*	*	T	*	*	*	*	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	1	
<i>Codonopsis</i> sp.* ¹	P9	AB769270	*	*	T	*	*	Y	*	*	*	Y	*	*	*	*	*	3		
	P10	AB769271	*	*	T	*	*	Y	*	*	*	*	Y	*	*	*	*	1		
	S0	AB769272	*	*	T	*	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	4		
<i>C. pilosula</i> var. <i>modesta</i>	PM0	AB769273, EF190461 ³	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	7		
	PM0'	AB769274	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	1		
	PM1	AB769275	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	Y	*	*	*	*	1		
	PM2	AB769276	*	*	T	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2		
	PM3	AB769277	*	*	T	R	*	*	Y	*	*	*	*	*	*	*	*	2		
	PM4	AB769278	*	*	T	R	*	*	*	*	*	Y	*	*	*	Y	*	1		
<i>C. tangshen</i>			Sequence type of supposed parental lineages (nucleotides at 135, 489 and 500)																	
	T0	EF190462 ³	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*	0	
	T1	AB769279	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	9		
	T2	AB769280	*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	Y	R	*	*	*	1		
	T3	AB769281	*	*	T	*	A	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	13		
	T4	AB769282	*	*	T	*	R	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	7		
	T4'	AB769283	*	*	T	*	R	Y	*	*	*	*	C	*	*	*	*	2		
	T5	AB769284	*	*	T	*	R	*	*	*	*	*	Y	R	*	*	*	5		
Crude drug samples ²																				
Baitiaodangshen (No.26659b)	Q0		*	*	T	*	*	*	*	*	*	C	*	*	*	*	*			
Tojin (No.26991a)	T0		*	*	T	*	*	*	*	*	*	*	*	A	*	*	*			

Numerals above sequence are aligned nucleotide positions of *C. pilosula* which correspond to all other species. Y = C and T, R = A and G, M = A and C

Asterisk indicates the identical nucleotide to which of *C. pilosula* (accession No. EF190460).

¹⁾ The shape of flowers with half-inferior ovary is similar to that of *C. pilosula*, while that of leaves is similar to that of *C. tangshen*.

²⁾ The nucleotide sequence is only found in crude drug samples. Parenthesis numerals show specimen reference number of Museum of Material Medica, Institute of Natural Medicine, University of Toyama.

³⁾ Lin T, Hsieh C, Agrawal D, Kuo C, Chueh F, Tsay H, J. Food Drug Anal., 15, 428-432 (2007).

tangshen には6タイプ（タイプ T0は DDBJ に報告があり、党参市場品のみに認められた）の塩基配列が認められた（表1）。これらの内、ヘテロ型の塩基を示さない純系のタイプは、*C. pilosula* のタイプ P0、*C. pilosula* var. *modesta* のタイプ PM0、*C. tangshen* のタイプ T0、T1及び T3であった。さらに、花の形状や子房半下位の特徴は *C. pilosula* に類似するが葉の形状は *C. tangshen* に類似した *Codonopsis* sp. も純系のタイプ S0を示し、また甘肅省産白条党参（民族薬物資料館保存生薬標本 No.26659）に認められたタイプ Q0も純系であった。この2タイプは塩基配列の類似性、産地などから *C. pilosula* に属すると判断した。以上の純系であった7種類の塩基配列タイプを考慮することにより、*Codonopsis* 属2種1変種の多様な塩基配列の成因は、表1のように考察された。例えば、*C. pilosula* の中で最も出現頻度が高かったタイプ P3は、タイプ P0とタイプ S0が交配することにより生じたものと考えられた。また、*C. pilosula* var. *modesta* ではタイプ PM0が最も頻度が高かったが、この地域に *C. pilosula* のタイプ P0またはタイプ S0が侵入しそれぞれタイプ PM0と交配すると、タイプ P1やタイプ P7が生じるなどのように考察され、多様性の軌跡を追うことができた。*C. tangshen* ではタイプ T3と T1が多く見られ、両タイプが交配したと考えられるタイプ T4も多かった。*C. tangshen* は、*C. pilosula* やその変種と明らかに分布域を異にし、湖北省や重慶市に分布したが、タイプ T1の関与がタイプ P6やタイプ PM1に見い出されたことは興味深い。

分類群または塩基配列タイプを分けるマーカー配列が明確になったことから、次に生薬「党参」の中国市場品の基原を検討したところ、甘肅省産党参ではタイプ PM0、P3、PM1、P1及び P0が多かった。大多数が *C. pilosula* であり、甘肅省文県に産するもののみ主として *C. pilosula* var. *modesta* に由来した。品質良好とされる「紋党参」と称する市場品はタイプ PM0、PM1及び T1であった。*C. tangshen* に由来する市場品は湖北省、重慶市、陝西省の市場に認められた。日本市場では貴州省産と甘肅省産の党参が主流ですべて *C. pilosula* であったが、河南省産党参のみ *C. tangsh-*

en のタイプ T0、T2を示した。多くの市場品が、塩基配列タイプの異なる個体の混合品であり、栽培地の状況を反映しているものと考えられた。

薬用 *Codonopsis* 属植物の成分的差異

遺伝子解析により *Codonopsis* 属植物及び党参市場品の基原を確証した上で、生物活性の報告がある7成分（アルカロイド：Codonopyrrolidinium A、Codonopyrrolidinium B；フェニルプロパノイド：Tangshenoside I；ポリアセチレン類：Cordifolioidyne B、Lobetyolinin、Lobetyolin、Lobetyol）を定量し、分類群間の差異を検討した³⁾。その結果、*C. pilosula* 及び *C. pilosula* var. *modesta* の主な成分は Codonopyrrolidinium B であり、*C. tangshen* に特徴的に多い成分は Tangshenoside I 及び Codonopyrrolidinium A であることが明らかになった。Lobetyolin はほぼ共通して含まれていた。*C. tangshen* のタイプ T1は、*C. pilosula* var. *modesta* からなる「紋党参」市場品中に混在していたが、*C. tangshen* の成分的特徴を有していた。なお、塩基配列タイプの違いによる差異は認められなかった。

おわりに

党参を例にして、遺伝子情報は生薬の基原種の鑑別はもちろんのこと、薬用植物の多様化の軌跡を追う手段になることを示した。*C. pilosula* またはその変種と、*C. tangshen* との間で交配があった可能性が示されたことから、今後栽培地において交配が進めば、各種の成分的特徴が不明瞭になることも考えられる。遺伝子資源の確保の観点から、純系の系統は保護していく必要がある。

参考文献

- 1) 文部科学省地域イノベーションクラスタープログラムグローバル型(Ⅱ期)「ほくりく健康創造クラスター」広域化プログラム(2008~2012)により作成した。
- 2) He J. Y., Zhu S., Komatsu K., Goda Y., Cai S. Q., *J. Nat. Med.*, 10. 1007/s11418-013-0780-1 (2013).
- 3) 何敬愉, Zhu S., 小松かつ子, 合田幸広, 蔡少青, 日本生薬学会第60回年会講演要旨集, p.263, 2013.

(小松かつ子)