

創薬基盤推進研究事業 研究開発課題 事後評価報告書

研究開発課題名	薬用植物の国内栽培推進を指向した基盤技術及び創薬資源の開発に関する研究
代表機関名	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
職名	センター長
研究開発代表者名	川原 信夫
全研究開発期間	平成 28 年度～令和 2 年度

1. 研究開発成果

本研究では、薬用植物に関連する基盤技術の開発、情報集積・発信及び創薬シーズ探索を 3 本の柱とし、薬用植物の国内栽培推進を指向した漢方薬原料生薬の品質及び安全性確保を目的とした行政支援、漢方製剤原料となる遺伝資源の確保と維持を目的とした生物資源研究支援、産業振興並びに創薬資源の開発を目的とした薬用植物エキスライブラリー、トランスクリプトームデータを活用した天然物創薬の創出に資するための研究を実施した。基盤技術の開発については、薬用植物の国内栽培の基盤的技術を確立、整備に資する薬用植物の新たな育種、栽培、生産技術等に関する研究を遂行し、本研究で得られた成果の早期実現のために、企業、行政機関と連携して技術移転や実用化の基盤構築を図った。情報集積・発信に関しては、我々が現在までに構築し、公開を行っている薬用植物総合情報データベースの情報の収集、更新を継続し、更なる拡充、整備を図る。さらに、国際的視野に立脚した薬用植物資源、関連情報の調査研究として、国内だけではなく、中国を除く諸外国における薬用植物の資源量及び栽培適地の調査研究並びに栽培拠点の構築を目指すための情報収集を行った。創薬シーズ探索に関しては、近年我々が独自に構築を開始した薬用植物のエキスライブラリー及びトランスクリプトームデータを活用した創薬資源探索並びに生薬の品質評価に関連する技術開発を実施した。

本研究事業の遂行により、以下に示す成果が得られた。

1) 薬用植物新品種育成に関わる基盤技術開発研究では、医薬品原料に適した薬用植物の品種を 2 種開発した。これらは、葉のロズマリン酸含量が極めて高いシソ品種‘per-001’、さらに根に含まれるペオニフロリン含量が高く、収穫量も多いシャクヤク薬用品種‘夢彩花’であり、医薬品原料として有用であった。トウキの栽培における、育苗と定植作業の省力化を目的とし、ペーパーポットを用いた育苗法を開発した。従来トウキの育苗は露地で行われ、育苗期間が1年を要するが、新たに開発した育苗法は、温室で肥料や補光条件を最適化することでその期間が 14 週間に短縮できた。この他に、ミシマサイコ、トウキ等 12 品目の発芽条件を明らかにするとともに、ムラサキ、ポウフウ等 6 品目の発芽促進技術を開発した。これらの研究成果の普及と薬用植物栽培振興を目的に道県自治体の行政担当者と定期的に検討会を開催した。

2) 薬用植物の実用化栽培のための栽培適地マップの作成に関する研究では、気象条件や土壌条件が異なる地点にて各種薬用植物の比較栽培試験を行うことにより、生育差から気象要因や土壌要因によって説明する生育モデルの作成が可能になる。北海道内の地理的・気象的、土壌的な条件が異なる6地点において、ダイオウなど各種薬用植物の全5年間の生育データを取得した。また、生育期間の気象データは、独自気象観測および農研機構メッシュ農業気象データ等より入手した。農研機構メッシュ農業気象データを基礎データとし、商用栽培期間としても想定される試験期間5年間のダイオウ生育モデルを作成した。高温ストレスを考慮する生育モデルを開発したところ、生育結果を良好に説明することが分かった。本ダイオウ生育モデルを用いて、5年間の21期間の収量分布を計算した。そのうち上位14番目の収量をマップ化した。他の薬用植物についても、取得した生育データに基づき同様に気象応答の生育モデル作成を試みた。これらの栽培適地マップが完成すれば、薬用植物栽培を事前検討する市町村に対して、好適作目及び概算収量見込みなど、有益な情報が提示されるため、薬用植物の国内生産が大きく加速するものと期待される。

3) 種苗供給体制の確立に資するための全国種苗マップの構築に関する研究では、種苗マップを構築するために、全国の薬系大学(大学付属の薬草園並びに薬用植物園)が保有する薬用植物の栽培状況を調査し、概ね国内の種苗保有状況を把握することを達成した。一方で種苗供給のために、種子の場合は1,000粒を目標にトウキ(*Angelica acutiloba*)、ゲンノショウコ(*Geranium thunbergii*)、ミシマサイコ(*Bupleurum falcatum*)など16種を、苗の場合は30株を目標にシャクヤク(*Paeonia lactiflora*)、ウコン(*Curcuma longa*)、ジャノヒゲ(*Ophiopogon japonicus*)など16種を確保した。また、種苗マップについては、マオウ(*Ephedra sinica*)、カンゾウ(*Glycyrrhiza uralensis*)をモデル植物として枠組みを構築した。

4) 薬用植物総合情報データベース(MPDB)の情報更新と各種データを活用した多様性評価研究では、(1) 薬用植物総合情報データベース(MPDB)の各種情報更新、機能拡張におけるMPDBのシステム拡充については、栽培適地マップ、種苗マップの二つの新規カテゴリー等の拡充整備を完了した。各情報カテゴリーについては、遺伝子鑑別情報(8品目)、薬用植物の植物組織培養物及び効率的増殖法に関する情報(文献情報22品目、資源化11品目)、栽培情報(1品目)、TLC情報(日局20品目、局外生規29品目)、官能情報(味覚5品目、色彩3品目)の各情報を追加収集した。(2) 薬用植物総合情報データベースに収載された各種データを活用した品質評価、活性評価については、MPDB登録情報を活用した試料間の多様性評価のため、EST機能アノテーション横断検索機能をMPDBに実装し、主としてサポニンを生産する薬用植物17種の情報を収載した。また、生薬モデル試料45生薬232サンプルの熱水抽出エキスのLC/MSデータを登録した。生薬モデル試料における、熱水抽出エキスとメタノール抽出エキスの抽出成分の違いについては、オウゴン、サンシュユそしてソウジュツについて多変量解析を行い、抽出法により成分差異があることを明らかにした。

5) 国際的視野に立脚した薬用植物資源、関連情報の集積・調査研究では、生薬の永続的利用を目指して、中国周辺諸国で薬用植物の資源調査を行い、収集品について市場流通生薬と比較しながら品質を評価し、その結果から栽培拠点候補地の選定を行った。(1) モンゴルの防風資源：基原種 *Saposhnikovia divaricata* は東部に多く自生し、それらの根の dihydrofurochromones 含量は中国産防風に匹敵した。Chromones 等含量の地域変動に基づきX地域を栽培拠点候補地に選定した。(2) ミャンマーの縮砂とサラシアの資源：縮砂の基原種で異名として扱われているミャンマーの *Amomum xanthioides* と中国の *A. villosum* var. *xanthioides* は、nDNA ITS 配列等及び種子の精油成分により別種である可能性が示唆された。ミャンマーには *Salacia chinensis* 及び *S. oblonga* の遺伝的近縁種が自生していることを見出し、後者の根に強い α -グルコシダーゼ阻害活性とそれを裏付けるチオ糖化合物の存在を明らかにした。2 生薬ともにY地域を栽培拠点候補地に選定した。(3) ベトナムの桂皮資源：(*E*)-cinnamaldehyde 含量が中国産桂皮よりやや高い反面、肝毒性の報告がある coumarin 含量も高く、散剤として使用する際には注意が必要である。

6) 薬用植物エキストライブラリーを活用した創薬シーズ探索研究では、高品質のエキストライブラリー構築のため、根類生薬を中心にエンドキシン活性を測定した。また高付加価値情報としてライブラリーエキスの LCMS 測定を行った他、基原植物の食薬区分情報を調べた。植物エキストライブラリーの各種生物活性情報も検討し、抗糖化活性、抗原虫活性、アポトーシス誘導剤、HBO1 の発現量制御、一酸化窒素産生抑制活性、抗ガン活性、ヒアルロニダーゼ阻害活性について検討し、それぞれの活性化化合物を特定した。

7) 薬用植物のトランスクリプトーム及びゲノムデータを活用した創薬資源探索では、シナニッケイ、スペインカンゾウのゲノムアセンブリデータを取得、さらに約 40 種の薬用植物の RNA-seq データを取得した。このうちレンギョウ属、トリカブト属、サンシュユ、トウサイカチ、セイヨウムラサキ、スイカズラ、センブリ、ホオズキ、トチバツニンジンについて、トランスクリプトームとメタボロームの統合解析により、有用成分の生合成に関与する遺伝子を予測し、栽培マーカー候補遺伝子を得た。

本研究開発事業の進捗により、現在までに新たに 2 種の薬用植物の新品種を育成することに成功し、特にシャクヤクに関して、産地化の道筋を見出せたことは、薬用植物の国内栽培化推進のモデルケース構築に貢献できたものと考えられ、大きな成果である。しかしながら現状では、原料生薬の国内自給率は 10%程度とまだまだ低く、全国規模での産地化推進が望まれる。今後は薬用作物産地支援協議会、厚生労働省並びに農林水産省とも連携し、種苗生産、栽培技術指導等、積極的なアプローチが必須であると考えられる。一方で、実需者である製薬メーカー等にも働きかけ、国内生産拡大に向けた課題抽出、対応を継続的に行う必要があり、そのための各種研究支援(薬用植物総合情報データベースへの情報集積・発信、生物活性・品質評価、有用物質生産に関わるゲノム編集技術の開発等)に関しても引き続き実施していく予定である。

In this research project, we developed fundamental technology aiming for promotion of domestic cultivation of medicinal plants and investigated medicinal plant resources for drug discovery in seven sub-themes. These results are as follows,

1) Development of preliminary methods for the cultivation of new medicinal plant varieties:

We developed two medicinal plant varieties suitable for use as pharmaceutical raw materials. These were *Perilla frutescens* 'per-001', a Shiso variety with an extremely high rosmarinic acid content, and *Paeonia lactiflora* 'Yumesaika', a high-yielding Chinese peony variety, with a high concentration of paeoniflorin in its roots. Furthermore, seedling-raising method using paper pots was developed to reduce labor requirements in the raising and transplanting of *Angelica acutiloba*. Conventional methods for raising seedlings of *A. acutiloba* re conducted in open fields, with the seedling-raising period taking one year. However, by using greenhouses, optimizing the use of fertilizers, and monitoring the supplemental lighting conditions, the newly developed seedling-raising period was reduced to 14 weeks. In addition, we identified the germination conditions of 12 plant varieties and developed methods to promote germination in six plant varieties. To disseminate the findings and promote the cultivation of medicinal plants in Japan, we held regular discussions with administrative personnel from prefectural governments.

2) Study of construction for cultivation map of suitable locations:

The growth data of various medicinal plants, such as *Rheum palmatum*, were obtained for a total of five years at six sites in Hokkaido with different geographical, meteorological, and soil conditions. Meteorological data during the growth period were obtained from meteorological observations and from The Agro-Meteorological Grid Square Data of NARO. A growth model for *Rheum palmatum* was developed for a five-year period, and a map of suitable locations was generated.

3) Study of construction for seed and sapling map:

We investigated the cultivation situation of the medical herb plant in the physic garden attached to the university. For the purpose of supply, 1,000 seeds were secured about 16 kinds of seeds including the *Angelica acutiloba*, the *Geranium thunbergii* and the *Bupleurum falcatum*. In the case of the seedling, it was cultivated for 30 security. 16 kinds of seedlings including the *Paeonia lactiflora*, the *Curcuma longa* and the *Ophiopogon japonicus* were secured. In addition, about the seed and sapling map, a frame was built as a model plant in the *Ephedra sinica* and the *Glycyrrhiza uralensis*.

4) Functional and data expansion of Comprehensive Medicinal Plant Database (MPDB) and application of MPDB data for evaluation of quality and bioactivity of crude drugs:

Two new data categories, the map indicating suitable area for cultivation, and the location map for medicinal plant resources were added to MPDB. Also, data update for each data category, for an example, genetic discrimination information for eight crude drugs, was accomplished. To apply

MPDB data for an evaluation of variety of crude drugs, functional annotation data of EST from saponin producing plants were added to MPDB. In addition, LC/MS data for hot-water extracts of 45 crude drugs (232 samples) were acquired. Furthermore, compositional difference between hot-water and methanol extracts were clearly shown by multivariate analysis for three crude drugs.

5) Study of medicinal plant resources and the accumulation of their related information based on an international perspective:

- (1) Resource of Saposhnikovia Radix (SR) in Mongolia: *Saposhnikovia divaricata* distributed abundantly in eastern part was qualified to be natural sources of SR, because the roots contained equivalent level of dihydrofurochromones to Chinese SR. Based on the geographical variation in contents of chromones *etc.*, area X was proposed as a proper region for the cultivation.
- (2) Resources of Amomi Semen (AS) and SALACIA in Myanmar: *Amomum xanthioides*, the botanical origin of AS, from Myanmar was discriminable from *A. villosum* var. *xanthioides* from China by nrDNA ITS sequence and essential oil components, although the two are treated as synonymous in taxonomy. Moreover, we found *Salacia chinensis* and an unidentified *Salacia* sp., which was genetically closer to *S. oblonga*. The root of *Salacia* sp. showed potent α -glucosidase inhibitory activity which was related to the thiosugar contents. As the cultivation base of these two crude drugs, area Y was proposed.
- (3) Resource of Cinnamomi Cortex (CC) in Vietnam: The barks of *Cinnamomum cassia* cultivated in Vietnam showed somewhat higher content of (*E*)-cinnamaldehyde and higher content of coumarin than Chinese CC. Since the coumarin is known to be hepatotoxic, Vietnamese CC should be used with caution especially in powder form formulas.

6) Study of medicinal plant resources for drug discovery by using plant extract library:

The endotoxin activity of each extract was measured to create a high-quality plant extract library. LCMS measurement of the library extract was performed as highly useful information in the library, and information on the borderline of pharmaceuticals to non-pharmaceuticals of the original plant of the extract was investigated from many literatures. Various biological activity information of the plant extract library was also examined. The anti-glycation activity, antiprotozoal activity, apoptosis inducer, HBO1 expression level control, nitric oxide production inhibitory activity, anti-cancer activity, and hyaluronidase inhibitory activity for the plant extract library were investigated.

7) Study of medicinal plant resources for drug discovery by using transcriptome and genome data:

In this project, genome assembly data of *Cinnamomum cassia* and *Glycyrrhiza glabra*, and RNA-seq data of about 40 species of medicinal plants were obtained. Integrated transcriptome-metabolome analysis was performed on *Forsythia* sp., *Aconitum* sp., *Cornus officinalis*, *Gleditsia sinensis*, *Lithospermum erythrorhizon*, *Lonicera japonica*, *Swertia japonica*, *Physalis* sp. and

Panax japonicus. From these analyses, the information of candidate genes for quality markers were obtained.

2. 総合評価

優れている

【評価コメント】

薬用植物に関わるデータベース、エキスライブラリ収集・評価、トランスクリプトーム解析など、薬用植物研究において意義の高い基盤構築を、全国規模のネットワークを活かして取り組んだことは評価できる。

今後、薬用植物の安定供給や国内自給率向上に向け、個々の研究の連動性を高めるとともに、価値創造につながる提言を行い、薬用植物研究拠点としての意義を高め続けることを期待する。また、薬用植物ライブラリーや薬用植物総合情報データベースについて、継続的な維持・運営を行うとともに、実用化に直結するよう、利用者視点を踏まえた改善・展開を望む。

以上