

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

I 基本情報

研究開発課題名：薬用植物種苗供給の実装化を指向した開発研究

Development research oriented toward implementation of medicinal plant seed and seedling supply

研究開発実施期間：平成30年12月25日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名：吉松 嘉代

Kayo Yoshimatsu

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター センター長

National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition,

Research Center for Medicinal Plant Resources, Director

II 研究開発の概要

本研究は、産業界から求められる薬用植物国内栽培化の本格的な普及・拡大に向け、国内で生産可能な薬用植物種苗の提供体制を整え、国内で具現化可能な薬用植物の栽培技術を実装化していくシステムを構築することを目的に実施した。すなわち、研究開発代表者を含めたアカデミアらがこれまで構築してきた薬用植物の優良種苗選定・維持・保存技術や栽培技術等の基盤技術を、産学官協力の下で実装化レベルに引き上げるため、野菜等の種苗供給実績や肥料・農業資材等の販売実績のあるアグリビジネス企業（アグリ企業）及び実需者である製薬企業と密に連携しながら開発研究を進め、本課題終了時には、薬用植物資源基盤技術開発コンソーシアム設立に必要な連携体制、各機関の必要な役割や課題解決方法等について、提言に結びつける成果を示していくことを目的とした。日本で漢方製剤や生薬製剤に用いられる生薬は約300品目あり、薬用植物毎に栽培地の風土に合わせた優良種苗の選定や栽培方法の最適化が必要である。しかし、現在の国内自給率10.7%（2016年度）を日本漢方生薬製剤協会（日漢協）が掲げる「漢方の将来ビジョン2040（2018年7月策定）」の中の「20年後には現在の約3倍の国内生産量に拡大」に着実に繋げるためには、優良種苗も栽培技術もまだまだ不足しているのが現状である。そこで本研究では、参画製薬企業が研究開発を希望する5生薬（乾姜、芍薬、当帰、当薬及びセネガ）を最優先の研究開発対象とし、生薬の国内生産の流れ（種苗の確保⇒種苗の増殖・供給⇒栽培・管理⇒収穫・加工調製⇒生薬原料）の中で、現在、十分な技術の構築と実装化が行われていない種苗の確保⇒種苗の増殖・供給」を中心に参画企業と取り組んだ。実施した研究開発項目と得られた成果、意義は以下である。

1) 培養苗を利用した苗生産システムの構築

優先対象植物 5 種（ショウガ、シャクヤク、トウキ、センブリ、ヒロハセネガ：それぞれ乾姜、芍薬、当帰、当薬、セネガの基原植物）の優良種苗選抜のため、国内で収集した種苗から培養苗の誘導・増殖を行い、上記 5 種の植物の組織培養物（合計 191 クローン）について、培養苗の維持管理体制を整備した。又、培養苗から育成した馴化苗を用いて圃場試験栽培を行い、各植物種について、優良株候補を選抜した。本成果により、栄養繁殖性のショウガ及びシャクヤクの健全な苗の生産・管理体制が整えられ、種子繁殖性のシャクヤク、トウキ、センブリ、ヒロハセネガの種子親の安定的維持・保存体制が整備された。

2) 優良株の育成・遺伝的多様性解析

開花期の全草を生薬とする 2 年生植物のセンブリにおいては、開花期を迎える 2 年目に病害が頻発し、収量が著しく低下することが生産地での課題となっており、早期開花を誘導する技術や耐病性品種の育成が求められている。そこで、センブリの開花関連遺伝子群を探索し、開花マーカーとして FLC や FD たんぱく質をコードする遺伝子が有望であることを明らかにした。また、さび病耐性を示す高知県系統のセンブリに特徴的な遺伝子多型が存在することを確認した。ヒロハセネガについては、高品質 RNA の調製法を確立し、セネガサポニンの高生産系構築の基盤となる、生合成鍵酵素遺伝子の部分配列情報を取得した。

栄養繁殖性のショウガについて、前年に室内にて試験管培養苗から馴化、栽培して得られた根茎を種芋として、翌年屋外での生産栽培を実施可能であることが示された。本研究で選抜検討したショウガ 5 系統（ZoTuK3-1、ZoTuK5-2、ZoTAO3-1、ZoJO1、ZoJR2）について、培養苗 1 株から 2 年後に得られた根茎重量は 1.3～6.0kg、根茎 1kg の調製所要時間は 15.1～107.9 分、乾姜調製後[6]-shogaol 含量は 0.35～0.53%であり、収穫等における取扱いは ZoTAO3-1 が容易であった一方、根茎増殖率等では ZoJR2 が優れていた。

3) 早期生薬生産・成分評価システムの構築

センブリでは、種子の培地への播種と組織培養—ロゼット苗の低温処理—圃場栽培の工程を最適化し、収穫までの栽培期間を約 200 日間短縮でき、さらに作出物は乾燥重量、swertiamarin 含量ともに市場品より高かった。シャクヤクでは、培養苗から育てた系統 PLKD2 が 3 年の圃場栽培で 5%以上の paeoniflorin 含量であった。エゾウコギでは水耕—圃場ハイブリット栽培を完結し、地下部、茎及び葉の利用について成分面から示唆を与えた。

4) 新規優良種子選別方法の開発

トウキ種子の NIR（近赤外分光）による非破壊分析と発芽試験により、発芽率への脂肪酸の関与が示唆されたため、揮発成分を標的とした GC 分析を行った結果、発芽率と香气成分との相関が示唆された。セネガ種子では、発芽率のよい種子は水分または糖に基づくと思われる NIR スペクトルの増強を示した。種子繁殖性薬用植物の苗の効率的な育苗には、発芽率が高く、一斉に発芽する種子を用いたコンテナ苗生産システムが有効である。本成果により、コンテナ苗生産システムに適したトウキ及びヒロハセネガ種子の選別が可能となった。

5) コンテナ苗生産システムの構築

トウキ種子は適温における恒温条件下で、ヒロハセネガ種子では温湯浸漬によるプライミング処理で休眠から覚醒し、それぞれ発芽が促されることを見出した。ヒロハセネガの発芽試験では、種子の水分保持が発芽率維持に重要であることが示され、NIR の種子選別法としての有用性が確認できた。

6) 成分分析・多変量解析による同等性評価

生ショウガから乾姜への調製法は不明な点が多いため、最初に[6]-shogaol が十分生成する条件を見出す検討を行い、最適な調製条件を確定した。その調製法を用いて多くの培養苗や慣行苗由来ショウガを乾姜に調製し、歩留まりの測定その他、[6]-shogaol,[6]-gingerol 含量、灰分測定を行い、さらに GC/MS や LC/MS 分析による香気成分解析や多変量解析などを行い、市場流通品との比較を行った。これらの成果は、乾姜に最適な種苗選抜のための重要な基礎データを提供した。総合的に判断して乾姜調製に最適な種苗について選抜を行った結果、参画企業がショウガ培養苗から育苗し、製薬企業契約農家圃場において生産したショウガが最も乾姜原料として適していると判断された。各協力機関で試験栽培されたヒロハセネガ及びトウキ試料について、LC/MS メタボローム解析により市場品との同等性評価を行った。セネガでは、組織培養苗の水耕栽培品及び水耕栽培苗を土耕したものの評価を行い、前者は、健全な成長をした個体であれば、後者は、個体に無関係に、市場品と相溶性の高い成分組成を示すことが分かった。トウキでは、基原種の異なる中国及び韓国市場品とは明確に区別されるものの、国内市場品との比較では、試験栽培品と同じグループに分類されるもの、日本市場品と同じグループに分類されるもの、両者の中間型のものに分かれた。

7) 品質評価マップの作成

セネガについて NMR 及び GC/HPLC を用いた品質評価マップを作成し、製薬企業より提供された生産地別のセネガ及び本研究で生産した水耕栽培セネガの品質評価を実施した。その結果、養液を変え生育を改善することで、水耕栽培セネガが、製薬企業より提供された生産地別のセネガの近傍にプロットされることが明らかとなった。また、セネガについて、生薬末そのものを直接試料とする近赤外分光法 (NIR) を用いたメタボリックプロファイリングに着目し、セネガ生薬末を NIR 測定するだけで tenuifolin 量を推定できるサポニン含量予測モデルも確立できた。すなわち、高温高压下フロー式サポニン加水分解反応を利用した定量法と機械学習を利用し、定量的(回帰分析)分析を実施した。さらに回帰分析計算では種々パラメーター、適切波長を約 1500 通り検討し、寄与率、予測精度が良好なモデル構築に成功した。ウラルカンゾウについて、NMR と NIR を用いた品質評価マップを作製し、人工水耕、人工水耕-圃場ハイブリッド栽培、植物組織培養-圃場ハイブリッド栽培甘草の栽培地、栽培年数の異なる全形生薬(根及びストロン)及び市場品について、品質評価を行った。その結果、何れの分析においても、圃場栽培期間を2年から3年へと増加させることでハイブリッド甘草の品質が向上したことが確認でき、同時に 1H-NMR, NIR によるメタボリックプロファイリングが甘草の品質を評価する上で有用であることが確認できた。特に、NIR は非破壊分析で携帯可能な機器も販売されていることから利便性は極めて高い。

8) 新知見のデータベースへの収載と公開

本研究で作成した各種マニュアル等の公開・普及に向け、薬用植物総合情報データベース「種苗供給実装化情報」カテゴリーを整備した。

9) 生薬の国内情勢に関する情報の収集

製薬企業協力のもと、国内栽培地での薬用植物栽培状況の調査、農家又は生産団体へのヒアリング、及び生産拡大に向けた課題の抽出を行なった

10) 企業への技術移転

主としてアグリ企業を対象に、薬用植物の組織培養・水耕栽培技術講習会を薬植セ筑波研究部にて、令和1年度に2回開催した。又、製薬企業等から入手した種苗、それらから慣行法で育成した実生苗、既存培養苗及び新

規に誘導した培養苗をアグリ企業等へ分譲した。また、本研究で得られた新知見を含む技術、各植物種の組織培養方法、センブリの組織培養-圃場栽培による早期生薬生産、シャクヤク培養苗の圃場栽培、ヒロハセネガ種子の取扱い法、NMR による品質評価マップ作成について、マニュアルを作製し、参画企業及び参加機関へ技術移転を行なった。

11) 社会実装化の促進

参画製薬企業が開発を希望する最優先薬用植物 5 種について、製薬企業が要望する優良形質を備えた種苗供給の実現と社会実装化のため、植物毎に設定した最終表目標に向けた研究開発を実施し、100%目的を達成した。アグリ企業（種苗企業）においては、ショウガ及びトウキについて、苗供給及び事業化の検討に至った。培養苗由来の種ショウガの事業化については、2022 年度にアグリ企業で生産した種芋の製薬企業契約農家 2 ヶ所での栽培実証試験と製薬企業での生薬への加工調製を行い、従来品と遜色のない生薬「乾姜」の生産が可能であることが確認できた。しかし、施設栽培の種ショウガは慣行法に比べてコストがかかることから、さらなるコスト削減が必要と思われた。本乾姜の品質評価は、製薬企業にて実施中である。また、トウキについては、アグリ企業（種苗企業）において、受注による苗生産が可能となった。しかしながら安定した苗供給のためには、受注先の確保・拡大が必要である。ヒロハセネガについては、アグリ企業（種苗企業）において、採種技術を開発し、提供に至った。また、アカデミアで栽培した水耕栽培品について、製薬企業での品質評価を実施し、灰分以外は日局規格を満たすことが確認できた。令和 3 年度から、薬植セ筑波及びアグリ企業（資材企業）と共同で、トウキ、シャクヤク、ショウガ、センブリについて、農業資材の検討を行なった。その結果、トウキの栽培では、液体複合微量要素肥料の葉面散布により、地下部の生育が促進されること、シャクヤクの栽培においては、亜リン酸含有肥料が根の生育を促進すること、ショウガの栽培においては、液体複合微量要素肥料、亜リン酸含有肥料、ケイ酸含有肥料が生育を促進すること、センブリ栽培においては、液体複合微量要素肥料、亜リン酸含有肥料が生育を促進すること等、多くの知見を得ることができた。

今後、本研究成果の公表できる部分は広く公表し、薬用植物資源基盤技術開発コンソーシアム設立に結び付けたい。本研究は、対象薬用植物の特性（栄養繁殖／種子繁殖、1 年栽培～7 年栽培、適した気候など）と目指す優良形質を明確に設定し、対象植物毎に柔軟な組織を編成することで、100%目的を達成できた。コンソーシアムにおいても、薬用植物全体が抱える課題解決に向けた取り組みの他、植物毎に柔軟な組織編成を行うことで、より効果的に薬用植物国産化が推進できると思われる。その一方で、アグリ企業（種苗企業）が種苗供給拠点として事業化するためには、種苗の買取補償制度など、事業化を安定化させる制度も必須と思われ、また、新規就農者等の生産者の拡大においては、苗及び栽培技術の無償提供、生産した生薬の買取補償等、生産者が安心して生産に取り組める制度も必要と思われた。さらに、シャクヤクのように、栽培年数が長い薬用植物の種苗供給の事業化は、アグリ企業単独では困難であり、公的資金等で運営する薬用植物種苗供給・管理センターのような機関が必要と思われた。

The purpose of this research was to establish a system to provide medicinal plant seeds and seedlings that can be produced domestically and to establish a system to implement cultivation technology for medicated plants that can be realized domestically, in order to expand domestic cultivation of medicinal plants needed by the industry.

In other words, in order to raise the basic technologies for selecting, maintaining, and preserving high-quality seeds and seedlings of medicinal plants and cultivation technologies, which had been developed by academia, including the principal investigator, to the level of implementation in cooperation with industry, academia, and government, development research has been conducted in close collaboration with agribusiness companies that have experience in supplying seeds and seedlings of vegetables and in selling fertilizer and agricultural materials, as well as pharmaceutical companies. The objective of this project was to promote development research in close collaboration with agribusiness companies and pharmaceutical companies, and to present results that will lead to proposals for a collaborative structure necessary for the establishment of a consortium for the development of basic technologies for medicinal plant resources, the necessary roles of each organization, and methods for solving problems at the end of this project. There are approximately 300 crude drugs used in Kampo and crude drug preparations in Japan, and it is necessary to select the suitable seeds and seedlings, and optimize the cultivation method for each medicinal plant according to the climate of the cultivation site. However, in order to steadily increase the current domestic self-sufficiency rate of 10.7% (FY2016) to "expand domestic production to about three times the current level in 20 years," as stated in the "Future Vision for Kampo Medicines 2040 (formulated in July 2018)" by the Japan Kampo Medicines Manufacturers Association (JKMA), both superior seeds and seedlings and cultivation techniques are still lacking. Therefore, in this study, the five crude drugs (processed ginger, peony root, Japanese angelica root, swertia herb and senega) that the participating pharmaceutical companies desire to research and develop were selected as the top priority R&D targets, and we worked with the participating companies focusing on "securing seeds and seedlings ⇒ seedling multiplication and supply" in the domestic production flow of crude drugs (securing seeds and seedlings ⇒ propagation and supply ⇒ cultivation and maintenance ⇒ harvest, processing and preparation ⇒ crude drug materials), for which sufficient technology is currently not being established and implemented. The research and development items conducted are as follows, 1) establishment of a seedling production system using plant tissue culture, 2) breeding of superior strains and analysis of genetic diversity, 3) establishment of a cultivation system to shorten growing period for crude drug production and establishment of an evaluation system to shorten selecting period for superior strains, 4) development of a novel selection method for superior seeds, 5) establishment of a container seedling production system, 6) evaluation of equivalence through component analysis and multivariate analysis, 7) creation of quality evaluation maps, 8) publication of new findings in databases and their release to the public, 9) collection of information on the domestic situation of crude drugs production, 10) Technology transfer to companies, 11) Promotion of social implementation.