



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬科学）
報告番号	甲第2028号
学位記番号	第411号
氏名	LIU YAN
授与年月日	令和6年3月22日
学位論文の題名	ハンゲの修治に関する薬史学的研究ならびにハンゲによる咽喉刺激痛と修治によるその消失メカニズムに関する研究
論文審査担当者	主査： 鈴木 匡 副査： 牧野 利明, 山村 壽男, 矢木 宏和

氏名	りゅう えん LIU YAN
学位の種類	博士（薬科学）
学位の番号	薬博第 411 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 22 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	ハンゲの修治に関する薬史学的研究ならびにハンゲによる咽喉刺激痛と修治によるその消失メカニズムに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 鈴木 匡 (副査) 教授 牧野 利明 ・ 教授 山村 壽男 ・ 准教授 矢木 宏和

論文内容の要旨

ハンゲ（半夏）は、カラスビシャク *Pinellia ternata* の乾燥した塊茎を基原とし、中国伝統医学（TCM）や日本の漢方医学で使用されている生薬である。未修治の半夏を経口的に摂取すると、咽喉頭に刺激痛（イガイガ）を発生させる（以下、イガイガ活性と称する）ことから、TCM では半夏は毒薬とされされている。一方、日本薬局方では、未処理の半夏のみが登録されており、半夏は普通薬の扱いとなっている。

そこで本研究の第一部の目的は、TCM と漢方医学の間で半夏の加工方法に差異が生じた理由を薬史的に明らかにすることとした。中国大陸ならびに日本で出版された歴代の本草書、医方書における半夏の修治方法に関する記述をレビューし、時代とともにその変遷を解析した。半夏を減毒のために加工するという記述は、『金匱玉函経』（後漢代）が初出で、湯で十数回、洗浄するという方法であった。その後、『肘後備急方』（晋代、341 頃）に生姜を使う方法が初めて記述され、『本草経集注』（南北朝代、536）では「用之必須生薑」とあり、生姜を補料として修治することが必須とされた。『本草綱目』（明代、1578）では、目的に応じて補料を変えた半夏曲を用いる事が記載され、『本草備要』（清代、1694）では、補料が異なる 10 品目の半夏曲が提示され、現在の中国での修治方法が清代で確立された。一方、日本での半夏を修治して使用する記述の初出は『有林福田方』（1363）で、生姜を補料として使用していた。明代の半夏曲が日本へ伝わり、『和名集並異名製剤記』（1623）から半夏麴（半夏曲）が登場、した。その後、香川修庵が記した『一本堂薬選』（1738）では、半夏を煎剤として調製するとイガイガが消失することが明記され、修治をすることでかえって薬効が低下することから修治は不要とした。吉益東洞の『薬徴』（1771）でも、毒を恐れるべく生姜で加工することは、返って薬効を失わせるので、修治すべきではない、とした。日本の漢方医学を復刻させた大塚敬節もこの説を支持し、日本での半夏の修治不要説が確定した。日本の漢方医学は、陰陽五行説などの伝統的な知識に基づく教条主義を避け、実証主義を採用する傾向がある。このポリシーは、現代の日本の漢方医学と TCM における半夏の修治方法にも反映していると考えられた。

本研究の第二部では、半夏に含まれるイガイガ活性を担う成分の同定と、30 分間の水中での加熱処理および生姜煎液を用いた修治によるイガイガ活性消失メカニズムを明らかにすることを目的とした。笹木らは、半夏末から低速遠心により分離した低デンプン半夏末懸濁液（LSPS）を水とエーテルで分配したときに、半夏針状結晶がエーテル層に分散すること、その分散性が LSPS の加熱または生姜煎液処理により減少すること、生姜煎液中に含まれるその活性成分がシュウ酸によることを明らかにした（Fueki T. et al., *Acupunct. Herb. Med.* 2, 33-40, 2022）。本研究では、そのエーテル層への分散性を担う成分の同定と、加熱、生姜煎液、シュウ酸処理のその成分に対する影響について研究した。半夏末を水

とエーテルの混合溶媒中に分散させ、エーテル層の分散物を分離した（以下、PEX 結晶とする）。PEX 結晶をミョウバン水に溶解後、タンパク質を石油エーテルで抽出し、SDS-PAGE した結果、14 kDa にバンドが確認できた。このバンドを切り出し、ペプチド配列解析を依頼した結果、カラスビシャクレクチン（PTL）である可能性が示唆された。カラスビシャクの新鮮な塊茎から total RNA を抽出し、逆転写酵素により cDNA を合成、PTL の mRNA 配列（GenBank, EU199445.1）から設計したプライマーを使用して PCR により増幅し、pMD20 ベクターにサブクローニングした。単離した PTL cDNA は 810 bp、269 アミノ酸からなるポリペプチドで、その分子量は 29.3 kDa であった。PTL 配列をサブクローニングし、大腸菌に導入、発現させ、組換え PTL タンパク質を得た。これをアジュバントに懸濁させ、マウスに腹腔内投与することでマウス由来抗 PTL 血清を調製した。PEX 結晶を、4℃または 100℃で 30 分間、インキュベートし、結晶と上清を分離、それぞれ抗 PTL 血清で蛍光免疫染色した結果、PEX 結晶を 100℃で 30 分加熱した場合、4℃と比較して光学顕微鏡観察による結晶の形状や数での変化はなかったものの、結晶表面の蛍光強度が有意に減少していた。上清を濃縮して抗 PTL 血清を用いてドットプロット解析したところ、100℃、30 分処理により上清中の陽性スポット面積が control と比較して有意に増加していた。PEX 結晶を生姜熱水抽出物で 40℃で 30 分処理すると、光学顕微鏡観察による結晶の形状と数には影響を与えずに、針状結晶中 PTL の含量を濃度依存的に有意に減少させた。上清中の陽性スポット面積も有意に増加していたことから、半夏末を生姜の煎液で処理することにより、針状結晶の形状は変化せずに、結晶中の PTL が遊離することが明らかになった。生姜抽出物の有効成分を探索したところ、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸を得て、そのうちシュウ酸が生姜抽出物の PEX 結晶からの PTL 遊離作用に最も貢献し、酒石酸とクエン酸も有意な効果を示した。半夏針状結晶によるイガイガは、針状結晶が咽喉上皮細胞に付着し、PTL が結晶から遊離して細胞膜上の何らかの受容体を刺激することにより生じる可能性と、針状結晶表面の PTL は加熱またはシュウ酸により離れることでイガイガを起こさなくすることが示唆された。

以上の研究内容を、以下の論文として公表した。

1. Yan Liu, Misato Ota, Tsukasa Fueki, Toshiaki Makino. Historical study for the differences of processing of *Pinellia ternata* tuber between China and Japan. *Frontiers Pharmacol.* 13:892732, 2022
2. Yan Liu, Itsuki Nose, Kazuyoshi Terasaka, Tsukasa Fueki, Toshiaki Makino. Heating or ginger extract reduces the content of *Pinellia ternata* lectin in the raphides of *Pinellia* tuber. *J. Nat. Med.* 77(4): 761-773, 2023

論文審査の結果の要旨

令和 6 年 1 月 9 日に論文内容に関する公開発表会を行い、博士論文原稿の提出後に論文内容に関して主査、副査による個別面談を行った。令和 6 年 2 月上旬に行われた個別面談での指摘事項への対応を含めて最終審査発表会として博士論文の口頭発表を令和 6 年 2 月 22 日に行い、その後、発表内容に関して質疑応答を行った。以上の博士論文発表と質疑応答を踏まえて、最終試験担当者間で協議を行ったところ、本論文は博士（薬科学）の学位を授与するに値する論文であると判断した。