

半夏のイガイガに対する 生姜による消失メカニズム

The mechanism behind the disappearance of acridity of Pinellia Tuber by ginger

牧野利明¹⁾, 笛木司^{1, 2, 3)}

Toshiaki Makino¹⁾, Tsukasa Fueki^{1, 2, 3)}

1) 名古屋市立大学大学院薬学研究科生薬学分野, 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1, 467-8603

2) マツヤ薬局, 新潟市西蒲区巻甲 1927-5, 953-0041

3) 東邦大学医学部東洋医学研究室, 東京都大田区大森西 5-21-16, 143-8540

1) Department of Pharmacognosy, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1 Tanabe-Dori, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan

2) Matsuya Pharmacy, Maki-Ko 2927-5, Nishikan-ku, Niigata 953-0041, Japan.

3) Department of Traditional Medicine, Toho University School of Medicine, 5-21-16, Omori-Nishi, Ota-ku, Tokyo 143-8540, Japan

要旨

半夏（ハンゲ）は、カラスビシャクの乾燥した塊茎であり、日本薬局方、中国薬典に記載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、含有する針状結晶による咽喉に鋭い刺激痛（イガイガ）を生じるため、中医学で半夏は毒薬とされ、生姜煎液を利用して修治した姜半夏がよく使用される。一方、現在の日本では半夏は有毒とは見なされず修治の習慣はなく、その起源は香川修庵の『一本堂薬選』（1738）による。筆者らは半夏末から針状結晶を水と石油エーテルを用いて精製する方法を開発し、石油エーテル相に移行した針状結晶がイガイガを起こすことを見出した。そして、半夏由来針状結晶を熱水処理または生姜エキスで処理することで、石油エーテル相への分配が減少し、生姜エキス中に含まれる有効成分がシュウ酸であることを明らかにした。さらに、針状結晶表面にはカラスビシャクレクチン（PTL）が存在することを免疫染色法により明らかにし、熱水処理または生姜エキスで処理すること結晶表面のPTLが結晶から離れること、この作用の有効成分もシュウ酸であることを明らかにした。半夏によるイガイガは、針状結晶表面に存在するPTLの役割が大きいことを推察した。

キーワード：ハンゲ、イガイガ、修治、生姜、カラスビシャクレクチン

Abstract

Pinellia Tuber (PT, the dried rhizome of *Pinellia ternata*) is a crude drug listed in the Japanese Pharmacopoeia and the Chinese Pharmacopoeia. When untreated PT is taken orally, it causes a sharp stinging pain at the throat due to the needle-like crystals. Therefore, PT is recognized as a poison in traditional Chinese medicine (TCM), and processed PT using ginger extract is often used. On the other hand, PT is not considered poisonous in Japan, and there is no custom of processing it. The origin of this custom was found in Kagawa Shuan's *Ippondo Yakusen* (1738). We developed a method to purify needle-like crystals from PT using water and petroleum ether, and found that the needle-like crystals that transferred to the petroleum ether phase caused the stinging pain. We also found that the partitioning of PT-derived needle-like crystals into the petroleum ether phase was reduced by treating them with hot water or ginger extract, and that the active ingredient in ginger extract was oxalic acid. Furthermore, we demonstrated by immunostaining that *Pinellia ternata* lectin (PTL) is present on the surface of the needle-like crystals, the PTL on the crystal surface is separated from the crystals by the treatment with hot water or ginger extract, and that the active ingredient in this action is also oxalic acid. We speculate that the PTL present on the surface of the needle-like crystals plays a major role in the thorniness caused by PT.

Keywords : Pinellia Tuber, acidity, processing, ginger, *Pinellia ternata* lectin

緒言

半夏（ハンゲ）は、カラスビシャク *Pinellia ternata* (Thumb.) Makino [Araceae] の乾燥した塊茎であり、第十八改正日本薬局方¹⁾、中華人民共和国薬典 2020 年版²⁾（以下、中国薬典）に記載されている生薬である。半夏は、半夏厚朴湯、半夏瀉心湯、六君子湯など、現在の日本の漢方医学だけではなく、中国でも汎用されている処方^{2, 3)}に配合されている^{2, 3)}。中国での利用の歴史はたいへん長く、約 2 千年前に発表された『神農本草経』にも記録されている⁴⁾。現在の中医学で半夏は、燥湿化痰、降逆止嘔、消痞散結を目的に、湿痰寒痰、咳喘痰多、痰飲眩悸、風痰眩暈、痰厥頭痛、嘔吐反胃に対して使用され²⁾、現代においては咳、痰、嘔吐、ガンにおける去痰と制吐の管理を目的⁵⁾に利用されている。日本では、制吐、鎮痛（咽喉痛など）、鎮咳、利尿、化痰、去痰、胃内停水の改善、降気、燥湿を目的に使用されている⁶⁾。

半夏は、約 2 千年前に発表された『名医別録』に「毒」があると述べられており⁷⁾、中国薬典 2020 年版でも未修治の半夏は有毒であり、修治後に内服するべきだと記載されている²⁾。実際、未修治の半夏を経口的に摂取すると、咽喉において鋭い刺激痛を生じ（以下、この作用をイガイガと称する）、このイガイガは半夏に含まれるシュウ酸カルシウムから成る針状結晶が咽喉に刺さることによって生じるとされている⁸⁾。そのため、中医学では修治による半夏の解毒処理方法が開発されてきた。中国薬典 2020 年版²⁾には、3 品目の修治された半夏、すなわち、法半夏、姜半夏と清半夏が記載されている。法半夏は消石灰を加えて pH

が12以上にした甘草の煎液に半夏を均一な黄色になるまで浸すことにより、姜半夏はミョウバンを加えた生姜煎液に半夏を加えて沸騰させることにより、清半夏は半夏をミョウバン水溶液に浸して製造される²⁾。

日本薬局方では、半夏の味として「初めなく、やや粘性性で、後に強いえぐ味を残す」と記載している¹⁾。えぐ味とは、『栄養生化学事典』⁹⁾によると「苦味、収れん味を中心とする好まれない味、不快味。例えばタケノコ、山菜などによく認められる」とあり、苦みと渋味がまざったような、舌の上に何かかまとわり付いてゴワゴワするような、不快な感覚のことである。『英辞郎』やグーグル翻訳での「えぐ味」の英訳はharsh tasteで、harshは不快な、ザラザラした、という感覚を表現する。したがって、えぐ味とは、決してイガイガという用語で表現した刺激痛ではない。

また日本薬局方では未修治の半夏のみが収載されており、半夏の修治についての記載はない¹⁾。厚生労働省により承認された一般用漢方製剤297品目および医療用漢方エキス製剤148品目のなかには、修治した半夏が配合された品目はなく^{3, 10)}、日本の漢方医学において半夏の修治は行われていない。すなわち、現在の日本では半夏は有毒とは見なされておらず、中国の状況とは大きく異なる。これは、1738年に香川修庵が記した『一本堂薬選』¹¹⁾による。それによると、香川修庵とその弟子たちは実際に半夏の煎液を飲み、喉の痛みを感じなかったという実践に基づき、半夏は修治により薬効が減弱することから修治するべきではないと結論づけた。実際、半夏は約30分間、煮沸して煎じることで、咽喉に対する刺激痛は消失する⁸⁾。香川の経験を受けた吉益東洞は、著書『薬徴』¹²⁾において、生姜で半夏を修治することはその有効性を損なうことから半夏を修治すべきでないと述べた。日本の伝統的な漢方医学を復元し近代化した大塚敬節¹³⁾は、『本草綱目』¹⁴⁾にある半夏の毒に関する記述を疑い、生姜により半夏の薬効が減弱することから、半夏を生姜を使用して修治する必要がない、と1939年に述べ¹⁵⁾、以降、日本では半夏を生姜で修治しないことが主流となった¹⁶⁾。

本研究では、半夏を煎じること、または生姜で処理することで、イガイガが消失するメカニズムを明らかにすることを目的とした実験を行い、一定の成果が出たので、それを総説する。

■半夏に含まれる針状結晶の表面は疎水性だった

これまでの半夏末から針状結晶を分離する際には、低速遠心分離により行われていたが¹⁷⁾、デンプン粒を完全に除くことはできない。ところでPaullらは、タロイモの葉から針状結晶を単離する際に、石油エーテルを用いる方法を報告した¹⁸⁾。この報告をもとに、半夏末の水懸濁液に石油エーテルを加えて、水と石油エーテルで分配したところ、針状結晶が石油エーテル層に移行して分散する現象が観察された(図1)。デンプン粒は石油エーテル層には見られないことから、この方法により純度の高い針状結晶を精製できることを見いだした¹⁹⁾。半夏に含まれる針状結晶はシュウ酸カルシウムから成るとされている⁸⁾が、塩であるシュウ酸カルシウムが水と石油エーテルとの分配で石油エーテル層へ分散することは考えにくいことから、針状結晶の表面にシュウ酸カルシウムの塩が露出しておらず、何らかの親油性の化合物が結晶の表面に存在していることが推測され

た。半夏末から石油エーテルを用いて、デンプン粒の混入がない針状結晶を精製する方法を、PEX (petroleum ether extraction) 法と名付けた。しかし、こうして得た針状結晶 (PEX 結晶) は水に再懸濁せず、そのまま実験に使用するのは困難であった。

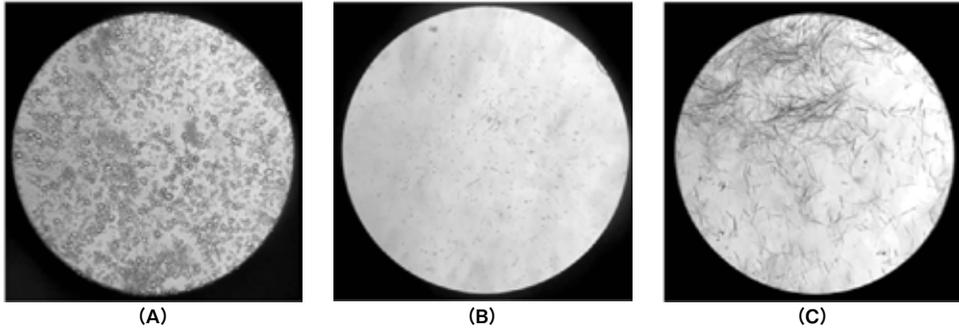


図1 半夏末の顕微鏡写真

(A) ハンゲ末の懸濁液、(B) 低速遠心によりデンプン粒を除いた半夏末の懸濁液、(C) PEX 結晶。

針状結晶を煮沸または生姜処理することで、針状結晶表面の疎水性が減弱した

半夏の水懸濁液を $18 \times g$ 、10 分間遠心分離することでデンプンを沈殿させ、針状結晶を含む上清を分離、 $1,000 \times g$ で 10 分間遠心分離することで、沈殿を得た。この沈殿に水を加えて再懸濁させ、顕微鏡観察すると、ある程度のデンプン粒を含む針状結晶を得た。この懸濁液を、LSPS (low starch Pinellia Tuber suspension) と名付けた。

LSPS を 100°C で 30 分処理してから水/石油エーテル分配を行い、石油エーテル層を顕微鏡で観察すると、石油エーテル相に分散する結晶の割合が明らかに減少した (図2)。

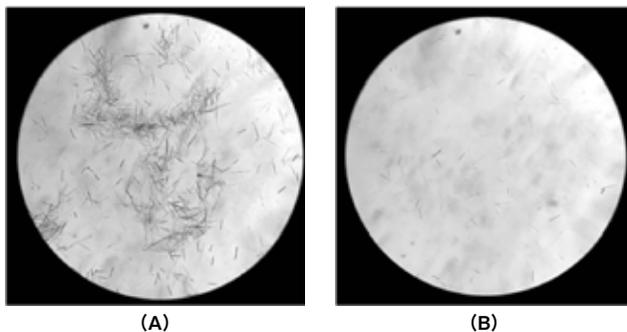


図2 100°C で 30 分処理した LSPS を水/石油エーテルで分配したときの石油エーテル層の顕微鏡写真

(A) LSPS を室温で 30 分間処理したもの、(B) LSPS を 100°C で 30 分間処理したもの。

われわれは、この針状結晶の性質の変化を変性と位置づけ、石油エーテル層に分散する針状結晶懸濁液の濁度（660 nm の吸光度）を測定することで数値化する方法、針状結晶変性度試験法（RDA, raphides denaturation assay）を考案した。

LSPS を各濃度の生姜熱水抽出エキスと合わせて、40℃で90分間インキュベートし、その後RDAを行った。その結果、半夏針状結晶の石油エーテル層への分散は、生姜熱水抽出エキス処理により濃度依存的に減少した（図3）。

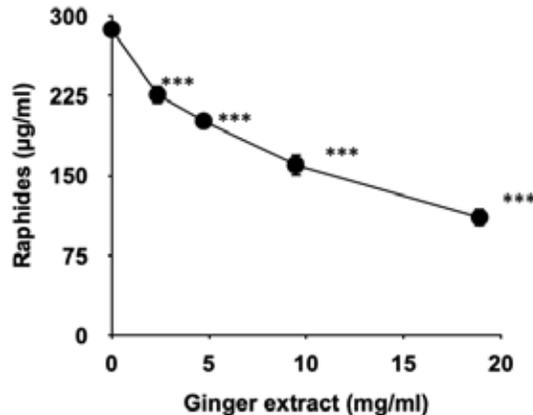


図3 生姜熱水抽出エキスの半夏針状結晶変性活性

LSPS を各濃度の生姜エキスと合わせて、40℃で90分間インキュベートし、RDAを行った。針状結晶の石油エーテル懸濁液の濃度と濁度との相関関係をあらかじめ測定して検量線を作り、データは針状結晶の濃度として、平均±標準偏差（n = 3）で提示した。統計処理は、一元配置分散分析後、ボンフェロニーの多重検定により行った。*** $P < 0.001$ vs control (0 mg/ml) 群。

生姜エキスに含まれる半夏針状結晶変性活性成分はシュウ酸だった

生姜エキスに含まれる半夏針状結晶変性活性成分の同定を試みた。生姜エキスを水に懸濁させ、石油エーテル、酢酸エチル、n-ブタノールと順次分配し、最後の水層に4倍量のメタノールを加え、80%メタノール可溶部と不溶部に分け、それぞれの分画物を得た。その結果、半夏針状結晶変性活性成分は80%メタノール可溶部へ移行した。この分画においてメタノール可溶部には、単糖類、オリゴ糖類、アミノ酸、核酸、有機酸などの低分子有機化合物が移行したと予想される。そこで、それらのなかから有機酸に着目した。

植物に含まれる有機酸を試薬として、酢酸、クエン酸、マレイン酸、リンゴ酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸を選び、それらを0.1 Mずつ含む水溶液とLSPSを合わせ、40℃で90分間インキュベートし、RDAを行った。その結果、実験したすべての有機酸で有意な半夏針状結晶変性活性を認め、特にシュウ酸に強い活性を認め、次いでクエン酸、酒石酸、リンゴ酸の順で活性を認めた（図4）。

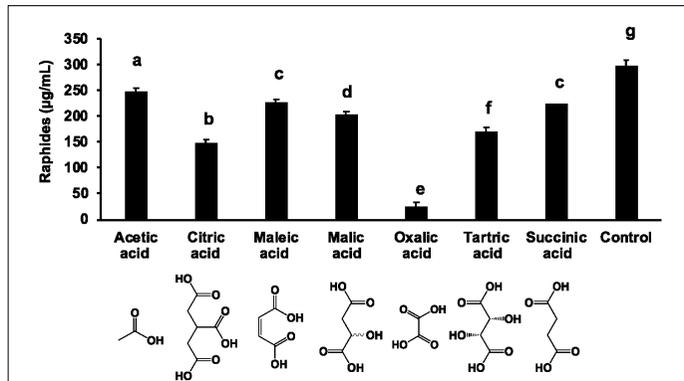


図4 生姜熱水抽出エキスの半夏針状結晶変性活性
 LSPSを各濃度の有機酸を合わせて、40℃で90分間インキュベートし、RDAを行った。データは平均±標準偏差 (n = 3) で提示した。統計処理は、一元配置分散分析後、ボンフェロニーの多重検定により行った。異なるアルファベット間で、 $P < 0.05$ で有意な差があった。

■ 半夏針状結晶には、カラスビシャクレクチン (*Pinellia ternata* lectin, PTL) が含まれていた²⁰⁾

半夏末から調製したPEX結晶を0.1 M AlCl₃/0.15 M KAl(SO₄)₂水溶液に溶解し、タンパク質を石油エーテルで抽出、乾固後、5% ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) 溶液に溶解し、15%のポリアクリルアミドゲルを使用してSDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) で分析、ゲルをクマシーブリアントブルー (CBB) で染色した。その結果、PEX結晶から約14 kDaバンドが得られた (図5)。

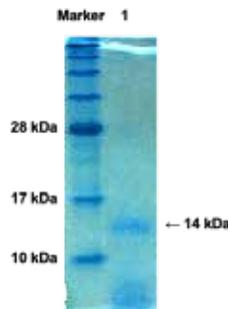


図5 半夏 PEX 結晶から得たタンパク質の SDS-PAGE
 PEX 結晶からタンパク質抽出、15%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動、CBB 染色した。Lane 1, PEX 結晶溶液エーテル抽出画分。

このバンドの分子を同定するために、バンドを切り出して、ペプチド配列解析を依頼した。その結果、このバンドには2つの異なるタンパク質配列が含まれており、検出されたアミノ酸配列は、N末端から N と V; V と G; P と T; F と N; T と Y だった。これらのアミノ酸配列の組み合わせを調査し、最終的にこのバンドにカラスビシャクレクチン (PTL, GenBank, EU199445.1) が含まれている可能性を予測した (図6)。

```

MASKLL-FLLPAIFGLVIPPAAATAVGTNYLLSGETLNTDGH
MASKLLFLLPAILLGLIIPRPAAAVGTNYLLSGETLDTDGH
putative signal peptide
LRNGDFDFIMQDDCNVAVLYNGNWQSNNTANKGRDCKLT
LKNQDFDLVMOEDCNVAVLYNGNWQSNNTANKGRDCKLT

LTDRGELVINNNEGSAVWRSGSQSAKGNYYAAVLHPEGK
LTDRGELVINNNEGSAVWRSGSQSAKGNYYAAVLHPEGK

LVYIGPSVFKINPWVPGLNLSRLGNVPPFTNNMLFSGQVLY
LVYIGPSVFKINPWVPGLNLSRLGNVPPFTNNMLFSGQVLY

GDGKITARNHMLVMQDDCNLVLYGGKYGWQSNTHGN
GDCKITARNHMLVMQDDCNLVLYGGKYGWQSNTHGN

GEHCFLRLNHNKGEIILKDDDFKSIWSSQSSSKQG DYVFIL
GEHCFLRLNHNKGEIILKDDDFKSIWSSQSSSKQG DYVFIL

QDNGVYGVIVGPAIWA TSSKRSA A A QETMIGMVTEKVN
QDNGVYGVIVGPAIWA TSSKRSA A A QETMIGMVTEKVN
    
```

図6 図5で見られた14 kDaのバンドの amino 酸配列から予測されたカラスビシャクレクチン (PTL, LC764429) と GenBank に EU199445.1 として登録されていた PTL の配列の比較

上段が EU199445.1, 下段が今回カラスビシャク塊茎から単離, シーケンスして得た PTL の amino 酸配列。上段の下線部の5 amino 酸が, 図5で示したバンドの amino 酸配列解析で読まれた配列。下段の下線部は, 両者で amino 酸が異なる事を示す。黒枠は, 先行研究²¹⁾での3次元構造から予測されるマンノース結合部位。

カラスビシャク塊茎からの PTL のクローニングと抗血清の作成

カラスビシャクの新鮮な塊茎から total RNA を抽出し, dT プライマーと逆転写酵素により cDNA を調製した。PTL の mRNA 配列 (GenBank, EU199445.1) のオープンリーディングフレーム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 amino 酸からなるポリペプチドをコードしており, その予想分子量は 29.3 kDa だった。このポリペプチドを Genbank の PTL と比較すると, カラスビシャクレクチン (QNL35375.1) と 97% の相同性を有していた。この PTL は, 図3に示した公開されたペプチド配列と比較して, 14 個の amino 酸に変異があった。このヌクレオチド配列は, LC764429 のアクセッション番号で DDBJ DNA データベースに登録した。

組換え PTL を合成するために, シグナルペプチド部分を除いた PTL 配列を pET45b ベクターにサブクローニングし, 大腸菌 BL21 (DE3) 株に導入, 発現させた。合成した組換え PTL は, SDS-PAGE 解析により, 期待される約 28 kDa のバンドが得られ, Ni-NTA アフィニティカラム, 透析により精製し, 組換え PTL タンパク質を得た。

組換え PTL をフロイドの完全アジュバント, 不完全アジュバントに乳濁させてエマルジョンを作り, マウスに2週間毎に4回, 腹腔内投与後, 全採血することにより, マウス由来抗 PTL 血清を調製した。

PEX 結晶を PBS 中でホモジナイズした懸濁液を PVDF 膜にスポットし, 得られた抗血清と二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG を用いてドットブロット解析したところ, この抗血清が濃度依存的に PEX 結晶に結合することを確認した (図7)。

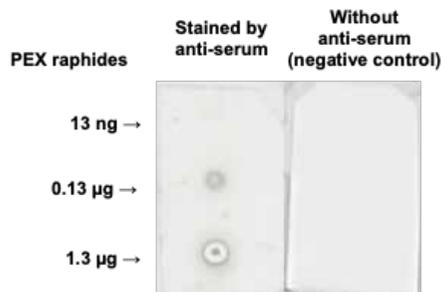


図7 得られた抗血清を用いたドットプロット解析
PEX 結晶のホモジネートを PVDF 膜にスポットし、得られた抗血清で免疫染色した。
右は得られた抗血清を使用しない陰性コントロール。

半夏針状結晶に対する PTL の免疫染色と加熱または生姜抽出物処理の影響

この抗血清を用いて、PEX 結晶の免疫染色を行った。PEX 結晶の PBS 中での懸濁液を、4℃ (control) または 100℃ で 30 分間、インキュベートした。遠心により上清と沈殿に分離し、沈殿をブロッキング緩衝液、抗 PTL 血清、二次抗体として抗 Cy3 標識マウス IgG を用いて順次処理し、PBS に再懸濁してスライドグラスに滴下、蛍光顕微鏡により観察した。

その結果、図 8A に示すように、免疫蛍光染色により PEX 結晶表面に PTL が検出できた。

PEX 結晶を 100℃ で 30 分加熱した場合、control と比較して光学顕微鏡で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減少した (図 8A)。Image J を使用して光学顕微鏡で観察された PEX 結晶の面積あたりの、蛍光染色陽性領域の相対面積を解析した結果、100℃ で 30 分処理により PEX 結晶中の染色領域は、4℃ で保持した control のそれよりも有意な低値を示した (図 8B)。一次抗体を使用せずに、二次抗体のみを使用した PEX 結晶では、蛍光は示されなかった (data not shown)。

また、上清を濃縮して PVDF 膜にスポット、抗 PTL 血清を用いてドットプロット解析した。100℃、30 分処理した上清中の陽性スポット面積が control と比較して増加していた (data not shown)。

このことから、半夏針状結晶を水中で加熱することにより、針状結晶の形状は変化せずに、結晶中の PTL が水中へ遊離することが明らかになった。

次に、PEX 結晶を生姜エキスで修治したときの影響を評価した。PEX 結晶の PBS 中での懸濁液と生姜熱水抽出物を合わせ、40℃ で 30 分インキュベートした。遠心により上清と沈殿に分離し、沈殿中の針状結晶中の PTL を免疫染色した。その結果、control と比較して生姜抽出物で処理した針状結晶では、光学顕微鏡での観察による結晶の形状と数に影響を与えずに、針状結晶表面における PTL の含量を濃度依存的に有意に減少していた (図 9A)。その IC₅₀ 値は 4.6 mg/ml だった (図 9B)。また上清を濃縮してドットプロット解析したところ、生姜抽出物は染色されず、生姜抽出物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 (data not shown)。

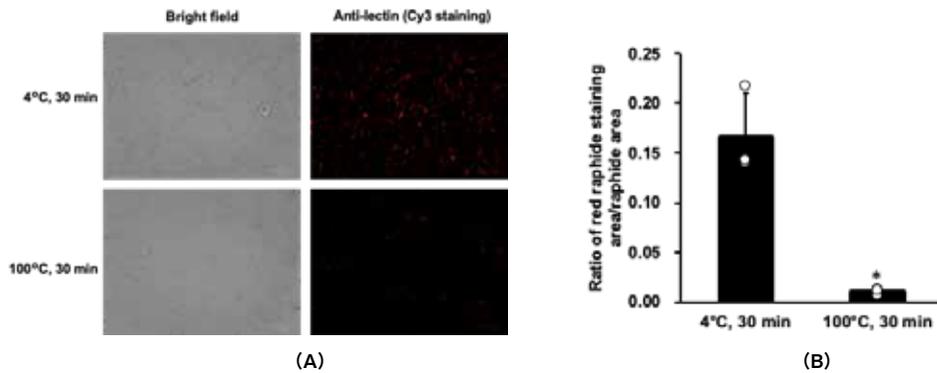


図8 カラスビシャクレクチン (PTL) に対する抗血清を使用した、半夏由来 PEX 結晶の免疫染色と加熱の影響

PEX 結晶を PBS に懸濁し、4°C または 100°C で 30 分間インキュベートした。遠心後、沈殿をマウス抗 PTL 血清および Cy3 標識二次抗体で染色した。(A) 光学顕微鏡および蛍光顕微鏡の写真。(B) 光学顕微鏡写真の黒色領域 (針状結晶) と蛍光顕微鏡写真の赤色蛍光領域 (PTL) の面積を Image J を使用して同じ位置の写真で画像解析した。針状結晶の面積に対する赤色蛍光染色領域の比率を計算した。結果は、各サンプルのデータを○で示し、カラムは平均値±標準偏差 (S.D.) (n = 3) である。統計処理は Welch の *t* 検定を行った。**p* < 0.05 vs 4°C 群。

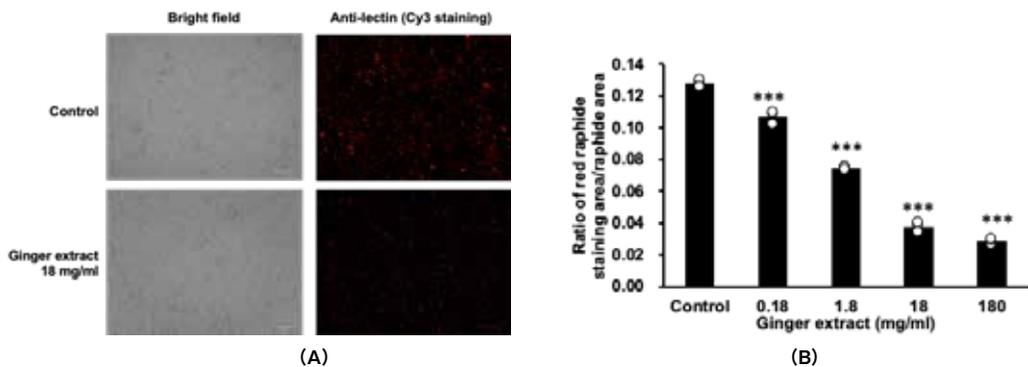


図9 半夏由来 PEX 結晶を生姜熱水抽出物で処理したときの結晶中のカラスビシャクレクチン (PTL) への影響

PEX 結晶を生姜熱水抽出物を含む PBS に懸濁し、40°C で 30 分間インキュベートした。遠心後、沈殿をマウス抗 PTL 血清および Cy3 標識二次抗体で染色した。(A) 光学顕微鏡および蛍光顕微鏡の写真。(B) 光学顕微鏡写真の黒色領域 (針状結晶) と蛍光顕微鏡写真の赤色蛍光領域 (PTL) の面積を Image J を使用して同じ位置の写真で画像解析した。針状結晶の面積に対する赤色蛍光染色領域の比率を計算した。結果は、各サンプルのデータを○で示し、カラムは平均値±標準偏差 (S.D.) (n = 3) である。統計処理は Dunnett の多重 *t* 検定を行った。****p* < 0.001 vs control 群。

このことから、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、結晶表面における PTL が遊離することが明らかになった。

PEX 結晶中の PTL 量を減少させる生姜抽出物に含まれる有効成分を探索した。上述したとおり、有機酸が候補と考えられたため、まずは生姜抽出物中の有機酸の濃度を HPLC で測定した。その結果、酢酸、コハク酸、マレイン酸は検出限界以下 (それぞれ 0.07% (w/w) 未満, 0.01% (w/w) 未満, 0.09% (w/w) 未満) で、クエン酸、シュウ酸、酒石酸、リンゴ酸を、それぞれ 2.1% (w/w), 2.6% (w/w),

0.51 % (w/w), 2.2 % (w/w) 検出した。

検出された4種の有機酸を、元の生姜抽出物 18 mg/ml に相当する調製、PEX 結晶を処理、針状結晶を免疫染色した。その結果、シュウ酸が 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 (図 10)。

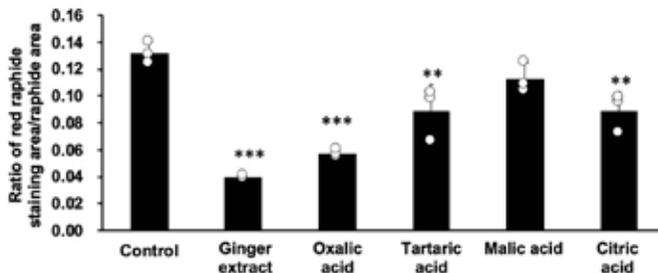


図 10 半夏由来 PEX 結晶を有機酸で処理したときの結晶中のカラスビシャクレクチン (PTL) への影響
 PEX 結晶をサンプル (生姜抽出物 18 mg/mL 相当量, シュウ酸 4.4 mM, 酒石酸 0.6 mM, リンゴ酸 3mM, クエン酸 2.3 mM) を含む PBS に懸濁し, 40°C で 30 分間インキュベートした。遠心後, 沈殿をマウス抗 PTL 血清および Cy3 標識二次抗体で染色した。光学顕微鏡写真の黒色領域 (針状結晶) と蛍光顕微鏡写真の赤色蛍光領域 (PTL) の面積を Image J を使用して同じ位置の写真で画像解析した。針状結晶の面積に対する赤色蛍光染色領域の比率を計算した。結果は, 各サンプルのデータを○で示し, カラムは平均値±標準偏差 (S.D.) (n = 3)。統計処理は Dunnett の多重 t 検定を行い, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs control 群である。

これらの有機酸は、PEX 結晶内の PTL を濃度依存的に遊離させ、それぞれの IC50 値はシュウ酸 4.2 mM, 酒石酸 1.3 mM, リンゴ酸 7.7 mM, クエン酸 5.4 mM だった (図 11)。

生姜は、乾燥したショウガ科ショウガ *Zingiber officinale* の根茎を基原として日本薬局方¹⁾ に記載される生薬である。本研究では生姜抽出物の半夏由来針状結晶から PTL を遊離させる作用の活性成分が主にシュウ酸であることが示された。日本薬局方¹⁾ では、生姜の品質確保のために利用する指標成分として 6-ギンゲロールを規定している一方で、シュウ酸は多くの植物に含まれる一次代謝産物であることから、生姜中のシュウ酸の含量は、植物の個体差や産地の違いなどにより大きなバラツキがあると推定される。日本で流通する一般的な野菜中のシュウ酸の含量を分析した結果では、菊永らは 13 品目の野菜のうちホウレンソウに次いでショウガが高い含量を示して 2.39 mg/g²²⁾、中原らは 44 品目の野菜のうちアカザ、ツルナ、ホウレンソウに次いで、ショウガが高い含量を示して 8.45 mg/g²³⁾ と報告している。このことから、ショウガは数ある天然由来品のなかではシュウ酸含量が高い素材であるといえ、古代の医師、薬剤師が半夏の減毒のための修治の際に使用する補料として生姜を経験的に選択した理由が、その高いシュウ酸含量によることが推察された。

サトイモ科の植物に含まれる針状結晶による咽喉への刺激痛は、針状結晶の針が咽喉上皮細胞の細胞膜を突き刺さることによって生じるといわれている^{24, 25)}。しかし、今回の結果から、加熱または生姜抽出物で処理しても、光学顕微鏡での観察では針状結晶の形状は変化していないにもかかわらず、咽喉への刺激痛を引き起こさないことから、針状結晶の針が細胞膜を突き刺したときの刺傷が刺激痛

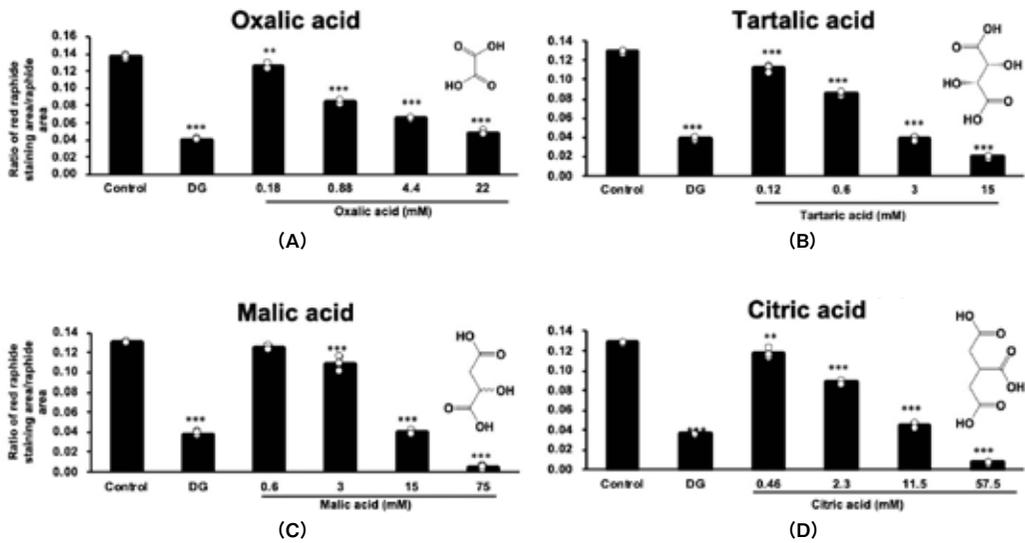


図 11 半夏由来 PEX 結晶をシュウ酸 (A), 酒石酸 (B), リンゴ酸 (C), およびクエン酸 (D) で処理したときの結晶中のカラスピシャクレクチン (PTL) への影響
 PEX 結晶を各濃度の有機酸または生姜エキス 18mg/ml (DG) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に懸濁させ、40℃で 30 分間インキュベートし、PEX 結晶抗 PTL 血清で免疫染色、定量した。結果は、各サンプルのデータを○で示し、カラムは平均値±標準偏差 (S.D.) (n=3)。統計処理は Dunnet の多重 t 検定を行い、***p* < 0.01, ****p* < 0.001 vs control 群である。

の原因ではない可能性がある。PTL は疎水性が高く、同様に疎水性の高い細胞膜上に付着しやすい可能性がある。PTL はトール様受容体 4 を刺激することによって炎症を引き起こす可能性があることが報告されている²⁶⁾。これらのことから、半夏由来針状結晶が咽喉において刺激痛を起こす機序として、針状結晶表面に存在している PTL により針状結晶が細胞表面に付着し、針状結晶から PTL が遊離して細胞膜上の何らかの受容体やチャネルを活性化する可能性が考えられた。

謝辞

本論文の後半は、名古屋市立大学大学院薬学研究科生薬学分野、劉艶博士の博士論文と能瀬逸紀学士の卒業論文を元としている。また、同分野講師、寺坂和祥博士には、PTL のクローニングと組み替えタンパク質の発現でたいへんお世話になった。謹んで感謝いたします。

引用文献

- 1) 一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団：第十八改正日本薬局方。じほう，東京，2021
- 2) 国家药典委員会：中华人民共和国药典（2020年版）。中国医药科技出版社，北京，中国，2020
- 3) 合田幸広，袴塚高志：新一般用漢方処方の手引き，日本漢方生薬製剤協会（編）。じほう，東京，2013
- 4) 作者不詳：神农本草经。北京燕山出版社，北京，中国，2010
- 5) Bensky D, Clavey S, Ströger E: Chinese herbal medicine: Materia Medica. Eastland Press, Seattle, USA, 2004
- 6) 牧野利明，石井智子，飛奈良治，鈴木達彦，並木隆雄：医療用漢方製剤に配合される生薬の効能の標準化案—漢方医学書籍編纂委員会・生薬効能標準化ワーキンググループ報告。日本東洋医学雑誌 73：146-175，2022
- 7) 陶弘景：名医别录，尚元胜（Ed.）。中国中医药出版社，北京，中国，2013
- 8) Fueki T, Sumino M, Makino T, Matsuoka T, Beppu M, Tanaka K, Namiki T: Quick and easy preparation method for decoctions of kampo formula (part 3) : Extraction efficiency of the IPCD method for volatile compounds. Tradit. Kampo Med. 3 : 157-161, 2016
- 9) 野口忠：栄養生化学事典。朝倉書店，東京，2009
- 10) 日本漢方生薬製剤協会：医療用漢方製剤 2022 - 148 処方の添付文書情報 -，2012
<https://www.nikkankyo.org/seihin/seihin1.htm>.
- 11) 香川修庵：一本堂薬選。国立国会図書館デジタルコレクション，東京，1738
<https://dl.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/2606390>.
- 12) 吉益東洞：薬徴。国立国会図書館デジタルコレクション，東京，1771
<https://dl.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/2606247>.
- 13) Otsuka K: Kampo : A clinical guide to theory and practice, 2nd Edition. Singing Dragon, Philadelphia, USA, 2016
- 14) 李时珍：本草纲目。人民卫生出版社，北京，中国，2004
- 15) 大塚敬節：半夏の毒。漢方と漢薬 1 : 806, 1939
- 16) Liu Y, Ota M, Fueki T, Makino T: Historical study for the differences of processing of *Pinellia ternata* tuber between China and Japan. Front Pharmacol 13 : 892732, 2022
- 17) 吴皓，钟凌云，张琳，朱涛：半夏草酸钙针晶的毒性和针晶结合蛋白的研究，中华中医药学会四大怀药与地道药材研究论坛暨中药炮制分会第二届第五次学术会与第三届会员代表大会论文集。pp. 96-101, 2007
- 18) Paull RE, Tang CS, Gross K, Uruu G: The nature of the taro acidity factor. Postharvest Biol Technol 16 : 71-78, 1999
- 19) Fueki T, Tanaka K, Obara K, Kawahara R, Namiki T, Makino T: The acrid raphides in tuberous root of *Pinellia ternata* have lipophilic character and are specifically denatured by ginger extract. J. Nat. Med. 74 : 722-731, 2020
- 20) Liu Y, Nose I, Terasaka K, Fueki T, Makino T: Heating or ginger extract reduces the content of *Pinellia ternata* lectin in the raphides of *Pinellia* tuber. J Nat Med. 77 : 761-773, 2023
- 21) Yao JH, Zhao XY, Liao ZH, Lin J, Chen ZH, Chen F, Song J, Sun XF, Tang KX: Cloning and molecular characterization of a novel lectin gene from *Pinellia ternata*. Cell Research 13 : 301-308, 2003
- 22) 菊永茂司，高橋正侑：細管式等速電気泳動法による野菜中のシュウ酸の定量。日本栄養・食糧学会誌 38 : 123-128, 1985
- 23) 中原経子：植物性食品中の蓚酸含量。栄養と食糧 27 : 33 - 38, 1974

- 24) 笛木司, 田中耕一郎, 並木隆雄, 松岡尚則, 牧野利明: ハンゲの刺激(イガイガ)原因物質—最近の研究動向—. 漢方の臨床 62: 977-982, 2015
- 25) 金羊平, 吴皓, 郁红礼, 潘耀宗, 陈叶青, 王奎龙, 张程超, 王卫: 姜辣素拮抗掌叶半夏毒针晶刺激性毒性的机制研究. 中国中药杂志 41: 1087-1092, 2016
- 26) Li J, Wang W, Yuan Y, Cui X, Bian H, Wen H, Zhang X, Yu H, Wu H: Pinellia ternata lectin induces inflammation through TLR4 receptor and mediates PI3K/Akt/mTOR axis to regulate NF- κ B signaling pathway. Toxicology 486: 153430, 2023