

研究ノート

ウスバサイシンの市販品と栽培品中の アリストロキア酸の分析

川添 禎浩^{1*}, 岡本 薫¹, 北山 祥子¹, 伊藤 琴菜¹, 寺林 敏²

Analysis of Aristolochic Acid in Commercial and Cultivated *Asiasarum sieboldii*

Sadahiro Kawazoe, Kaoru Okamoto, Shoko Kitayama,
Kotona Ito, Satoshi Terabayashi

Summary

We investigated by HPLC the content of aristolochic acid I, a nephrotoxic and carcinogenic ingredient in commercial *Asiasarum sieboldii*, *Asiasarum sieboldii* cultivated in the greenhouse, *Asiasarum sieboldii* cultivated in the plant factory under LED light, and pharmacopoeial asiasarum root. Aristolochic acid I content in aerial parts in commercial plants (6 products), the greenhouse cultivated plants (n = 3) and the plant factory cultivated plants under LED light (n = 3) was 8.9~84, 8.0 and 27 $\mu\text{g/g}$ in average respectively, while aristolochic acid I was not detected in these underground parts and pharmacopoeial asiasarum root. According to clinical finding, aristolochic acid caused nephropathy in humans at the range of 3.1~233 $\mu\text{g/g}$ in Chinese herbs, health foods and others. Therefore, the use of the aerial parts of *Asiasarum sieboldii* should be avoided to prevent the risk of health hazard.

(Received 26 November, 2020, Accepted 15 December)

1. 緒言

ウマノスズクサ科 *Aristolochiaceae* の植物はハーブとして用いられ、カンアオイ属 *Asarum* のオウシュウサイシン（ヨーロッパサイシン）*Asarum europaeum* は健康食品の素材¹⁾に、ウスバサイシン属のウスバサイシン *Asiasarum sieboldii* の根や根茎は生薬サイシン（細辛）の原料^{2,3)}になる。サイシンは解熱、鎮痛、鎮咳、去痰作用などをもち、小青竜湯、麻黄附子細辛湯などの漢方薬（漢方処方）に配合される。なお、植物の分類上、ウスバサイシンはカンアオイ属の *Asarum sieboldii* とも記載される²⁾。

ところで、ウマノスズクサ科植物には腎毒性や発

がん性を有するアリストロキア酸（Aristolochic acid：AA）が含まれていることが知られており⁴⁾、ヨーロッパや日本、中国で、ウマノスズクサ科の生薬を含む漢方薬、ハーブや健康食品を摂取した人が腎障害を発症している⁵⁻⁷⁾。事例として、ベルギーで1990年以降、痩せ薬として漢方薬を摂取した人が、後に「Chinese herbs nephropathy」と名付けられる腎障害を発症した。腎障害を起こした漢方薬には生薬のボウイ（防己）が配合されるところを、コウボウイ（広防己）が配合されていた。コウボウイはウマノスズクサ科植物を基原とすることからAAが含まれていた。わが国においても、1993年に漢方薬によるChinese herbs nephropathyが初めて報告され、その後次々と同じ症例が報告された。1997年、腎障害を発症した人が服用していた漢方薬に配合される生薬に焦点が当てられ、本来はアケビ由来の生薬モクツウ（木通）が配合されるところを、AAを含有するウマノスズクサ科植物を基原とする中国産のカンモクツ

¹⁾ 京都女子大学家政学部食物栄養学科

²⁾ 京都府立大学大学院生命環境科学研究科

*連絡先 京都市東山区今熊野北日吉町 35

京都女子大学家政学部食物栄養学科衛生学研究室

ウ(関木通)が配合されていたことが判明した。中国ではカンモクツウをモクツウとして用いられるために、取り違えて健康被害が起こったと考えられた。中国でも同様にAAを含む生薬を使った健康被害がある。

以上のようにウマノズクサ科植物による健康被害が知られていることから、健康食品としてオウシユウサイシンは使用を避けるのが望ましいとされている¹⁾。また、生薬サイシンの原料になるウスバサイシンは植物体の地上部にAAを含むことから、生薬には地上部を混入してはならないとされている^{2,3)}。

ウスバサイシンは山地の樹の陰に自生している多年草で、観賞用としても栽培されている²⁾。しかし、わが国において、ウマノズクサ科植物中のAAの含有量を調べた報告は少なく、ウスバサイシンからはAAが検出されなかったという報告もある⁸⁾。

そこで本研究では、ウスバサイシンの園芸用市販品を入手するとともに、わが国の生薬サイシンの確保は輸入のみで国内生産は行われていない⁹⁾ことから、基原植物ウスバサイシンの試験栽培を行い、それによって栽培品を得られたので、これらのAAをHPLCで分析し、どの程度の含有量であったかを報告する。なお、AAにはAA-I(図1)、AA-IIなどがあることが知られており、AA-Iに発がん性が確認されている⁴⁾ため、本研究ではAA-Iの分析を行った。

II. 方法

1. 試料

ウスバサイシンの園芸用市販品で、6製品(AS-1～AS-6)を、インターネットを介した通信販売で購入した。園芸用市販品の入手日と株数はAS-1:2017年9月13日(3株)、AS-2:2017年10月18日(3株)、AS-3:2017年10月25日(3株)、AS-4:2018年7月15日(1株)、AS-5:2018年7月15日(1

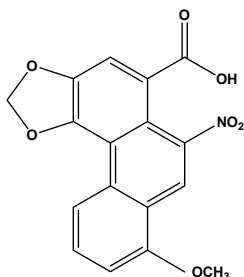


図1 アリストロキア酸(AA-I)

株)、AS-6:2018年7月18日(3株)で、一例としてAS-1の1株を写真1に示した。

ウスバサイシンの栽培品は、京都府立大学生命環境学部附属農場で試験栽培されたものである。加温ガラスハウス栽培(最低気温13℃に加温、太陽光、自然日長、光粒子束密度50~200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、ポット栽培・培地は鹿沼土:赤玉土=1:1)あるいは植物工場LED栽培(20℃恒温、赤青混合、12時間明期・12時間暗期、光粒子束密度44~55 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、水耕・培養液は園芸試験場処方1/8単位濃度液)を行い、2015年11月に収穫した。このうち、ガラスハウス栽培品、LED栽培品は、それぞれ3株を用いた。

ウスバサイシンの市販品と栽培品は入手後、形態測定を行い、60℃で一昼夜乾燥し、地上部(葉、葉柄、莖)と地下部(根茎、根)に分けた。

日本薬局方の生薬サイシン1製品を京都市内の漢方薬局から購入した。

これらの試料は室温で保存後、分析に供した。

2. 試薬

AA-IはLKT Laboratories, Inc.(和光純薬工業(株)が輸入)の試薬を用いた。メタノール、アセトニトリル、その他の試薬は和光純薬工業(株)の特級試薬を用いた。

3. HPLCの試験溶液の調製

園芸用市販品と栽培品は乾燥後、地上部と地下部に分けた。市販品のAS-1～AS-3とAS-6Aはそれぞれ3株あるため、3株をあわせた。栽培品のガラスハウス栽培とLED栽培もそれぞれ3株あるため、3株をあわせた。これらの試料と日本薬局方の生薬サイシンをミキサーで粉状に粉砕した。粉砕後のHPLC試験溶液の調製は、日本薬局方の方法(サイ



写真1 ウスバサイシンの園芸用市販品(AS-1, No. 1株)

シン、純度試験アリストロキア酸 I)¹⁰⁾を参考にした。粉碎試料0.2~2 gに75%メタノール50 mLを加え、超音波で20分間抽出した後、ろ紙5Aでろ過した。ろ液を0.45 μmのメンブランフィルターでろ過し、試験溶液とした。

4. HPLC 測定条件

園芸用市販品の分析に用いた HPLC は、(株)島津製作所製の送液ポンプ LC-20AT, 検出器 SPD-20AV, データ処理クロマトパック C-R8A である。栽培品および日本薬局方の生薬サイシンの分析に用いた HPLC は、(株)島津製作所製の送液ポンプ LC-6A, 検出器 SPD-10A, データ処理クロマトパック C-R6A である。

HPLC 測定条件は、日本薬局方の方法¹⁰⁾を参考に、以下のように設定した。

- ・カラム：COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (4.6 mm i.d × 250 mm, 5 μm), カラム温度：室温
- ・移動相：0.05 mol/L NaH₂PO₄ (H₃PO₄ 2 mL/L)* / アセトニトリル (11 : 9)
- ※リン酸二水素ナトリウム二水合物 7.8 g, リン酸 2 mL に水を加えて溶かし 1 L に定溶した。
- ・流速：1.0 mL/min, 試料注入量：10~20 μL, 検出波長：400 nm

5. HPLC による AA-I の定量

AA-I を 1.0 mg を正確に量り、75%メタノールに溶かし、正確に 100 mL とし、標準溶液とした。これを段階的に希釈して、0.1 μg/mL から 10.0 μg/mL の標準溶液を調製した。

上記の HPLC 測定条件で、標準溶液 10 μL を注入し、ピーク面積を測定した。標準溶液の濃度とピーク面積から検量線 AA-I を作成した。分析に用いた HPLC の装置が違うため、園芸用市販品の分析の検量線は $Y = 14718.058 X, r = 0.996$, 栽培品および日本薬局方の生薬サイシンの分析の検量線は $Y = 22072.322 X, r = 0.998$ となった。

試料中の AA-I 含有量は、試料の HPLC 試験溶液の注入によって得られたピーク面積を検量線へ適用し、さらに希釈濃度を考慮し算出した。1 試料につき 3 回繰り返して (3 つの HPLC 試験溶液を調製) 定量分析を行い、含有量の平均値を求めた (n = 3)。

Ⅲ. 結果と考察

1. ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品、日本薬局方の生薬サイシンの形質形態

ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品、日本薬局方の生薬サイシンの形質形態を表 1 に示した。乾燥後のウスバサイシンの園芸用市販品、ガラスハウス栽培品、LED 栽培品、それぞれの状態を、1 株を例に写真 2 に、日本薬局方の生薬サイシンを写真 3 に示した。

園芸用市販品は、茎数は 1~2 本、全体の長さは 16.0~25.3 cm, 乾燥前の生重量 1.4~14.8 g, 乾燥後の乾重量 0.3~4.4 g であった。このうち、AS-6 が全体の長さ、生重量、乾重量が最も大きかった。逆に AS-4 は生重量、乾重量が最も小さかった。AS-2 と AS-3 は秋期、AS-1 と AS-4~AS-6 は夏期に入手したが、形質形態に関して入手時期による大きな違いはないと考えられる。

表 1 ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品、生薬サイシンの形質形態と AA-I 含有量

種類	試料入手日 (株数)	茎数	全体の長さ (cm)	生重量 (g)	乾重量 (g)	地上部 AA-I 含有量 (μg/g)	地下部 AA-I 含有量 (μg/g)
園芸用市販品		1 株の値あるいは 3 株の平均値				1 株あるいは 3 株をあわせたものを 3 回測定した平均値	
AS-1	2017 年 9 月 13 日 (3 株)	2	24.3	8.0	1.9	58	ND (not detected)
AS-2	2017 年 10 月 18 日 (3 株)	1	22.7	4.3	0.9	8.9	ND
AS-3	2017 年 10 月 25 日 (3 株)	1	16.0	8.1	1.9	28	ND
AS-4	2018 年 7 月 15 日 (1 株)	2	18.0	1.4	0.3	55	ND
AS-5	2018 年 7 月 15 日 (1 株)	2	22.0	5.6	1.5	84	ND
AS-6	2018 年 7 月 18 日 (3 株)	2	25.3	14.8	4.4	47	ND
栽培品		3 株の平均値				3 株をあわせたものを 3 回測定した平均値	
ガラスハウス	2015 年 11 月 30 日 (3 株)	1	25.2	23.5	3.5	8.0	ND
LED	2015 年 11 月 30 日 (3 株)	1	31.0	17.0	3.4	27	ND
生薬							
日本薬局方サイシン	2015 年 9 月 1 日	乾燥物				ND	

園芸用市販品（AS-1, No. 1株）



ガラスハウス栽培品（No. 1株）



LED栽培品（No. 1株）



写真2 乾燥後のウスバサイシンの園芸用市販品，ガラスハウス栽培品，LED栽培品

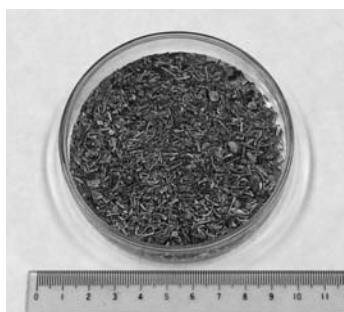


写真3 日本薬局方の生薬サイシン

栽培品に関して，園芸用市販品より茎数は1本と少ないが，逆に全体の長さ，生重量，乾重量は大きい傾向にあった。栽培品は根が大きく成長していることが影響していると考えられる。LED栽培品はガラスハウス栽培品より全体の長さが大きかったが，生重量は小さかった。LED栽培品は根が細いことが影響していると考えられる。

日本薬局方の生薬サイシンは乾燥物で根を細く刻

まれたものであった。

2. ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品，日本薬局方の生薬サイシンのAA-I含有量

園芸用市販品分析時のAA-I標準溶液，ウスバサイシンの園芸用市販品（AS-1）の地上部および地下部から調製された試験溶液のHPLCクロマトグラムを例を図2に示した。

AA-I標準溶液のクロマトグラム上のAA-Iのピークの保持時間は18分頃であった。地上部のクロマトグラムで18分頃にピークが見られ，AA-Iのピークと考えられたが，地下部のクロマトグラムでも19分頃にピークが見られた。

そこで，AA-Iのピークを確実にするために，試験溶液にAA-I標準溶液を添加して，地上部および地下部のクロマトグラムの当該ピークが増加するか調べたところ，地上部のピークは増加した。しかし，地下部のピークは増加せず18分頃に添加したAA-Iのピークが新たに見られた。これらのことから，

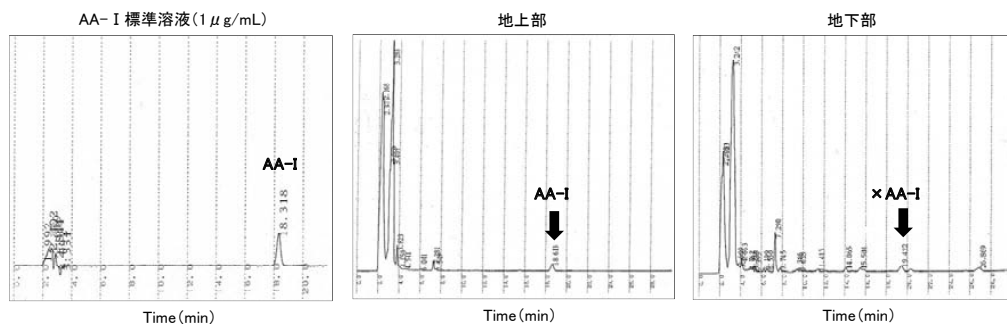


図2 園芸用市販品分析時のAA-I標準溶液，園芸用市販品（AS-1）の地上部および地下部から調製された試験溶液のHPLCクロマトグラム

AA-I：AA-Iのピーク，×AA-I：AA-Iのピークではない

地上部の18分頃のピークをAA-Iと同定した。

栽培品および生薬サイシン分析時のAA-I標準溶液、日本薬局方の生薬サイシンから調製された試験溶液、ガラスハウス栽培品およびLED栽培品のそれぞれの地上部および地下部から調製された試験溶液のHPLCクロマトグラムの例を図3に示した。

AA-I標準溶液のクロマトグラム上のAA-Iのピークの保持時間は20分頃であった。ガラスハウス栽培品の地上部のクロマトグラムで19分頃にピークが見られた。一方で、LED栽培品の地上部のクロマトグラムでは21分頃にピークが見られ、地下部のクロマトグラムでも21分頃にピークが見られた。また、日本薬局方の生薬サイシンのクロマトグラムでも18分頃と21分頃にピークが見られた。

そこで、どのピークがAA-Iのピークであるかを確実にするために、それぞれの試験溶液にAA-I標準溶液を添加して、クロマトグラムの当該ピークが増加するか調べた。結果は、ガラスハウス栽培品およびLED栽培品の地上部のピークは増加した。しかし、LED栽培品の地下部のピークは増加せず、20分頃に添加したAA-Iのピークが新たに見られた。生薬サイシンでもピークは増加せず、20分頃に添加し

たAA-Iのピークが新たに見られた。これらのことから、ガラスハウス栽培品の地上部の19分頃のピークおよびLED栽培品の地上部の21分頃のピークをAA-Iと同定した。

以上の結果として、ウスバサイシンの園芸用市販品、ガラスハウス栽培品、LED栽培品、それぞれの地上部からAA-Iが検出されたが、地下部からはAA-Iは検出されず、生薬サイシンからもAA-Iは検出されなかった。

生薬サイシンには、ウスバサイシンの地上部が混入してはいけないため、AA-Iは検出されないはずである。この確認をするために、生薬サイシンを購入してAA-Iの分析を行なった。結果、AA-Iは検出されず、生薬サイシンにはAA-Iを含む植物体が入っていないことを確認できた。

ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品、それぞれの地上部のAA-I含有量を前述の表1に示した。

AA-Iは園芸用市販品に8.9~84 μg/g含まれていた。ガラスハウス栽培品には8.0 μg/g、さらにLED栽培品には27 μg/g含まれていた。ウマノスズクサ科カンアオイ属のAA含有量に関する報告⁸⁾において、

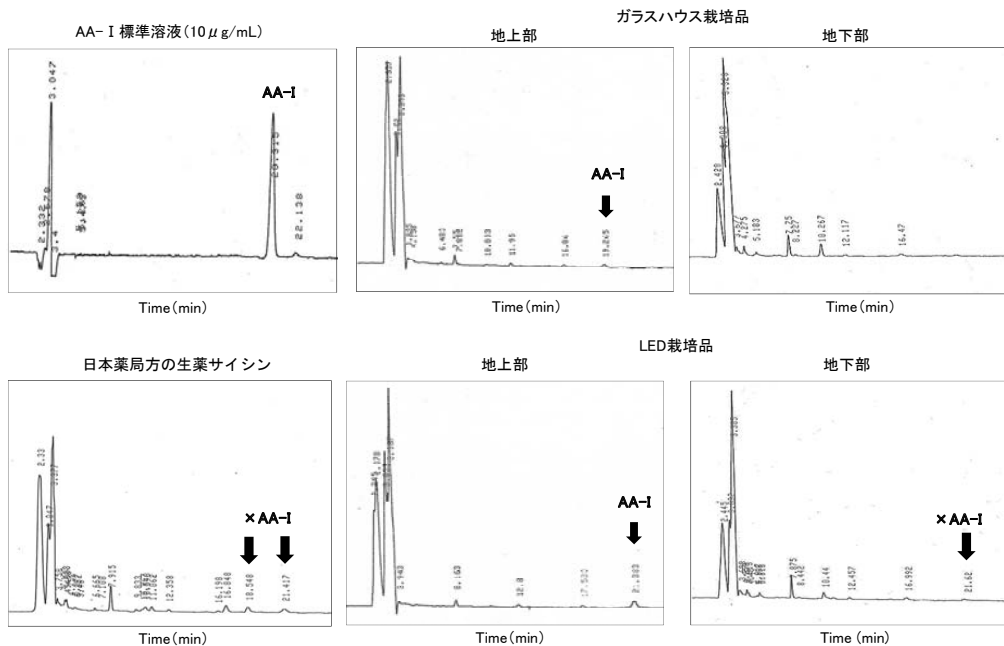


図3 栽培品および生薬サイシン分析時のAA-I標準溶液、日本薬局方の生薬サイシンから調製された試験溶液、ガラスハウス栽培品およびLED栽培品のそれぞれの地上部および地下部から調製された試験溶液のHPLCクロマトグラム

AA-I : AA-Iのピーク, × AA-I : AA-Iのピークではない

地上部の葉あるいは葉柄のAA-I含有量は10 µg/g (ツクシアオイ *Asarum kiusianum*, 長崎県) ~ 780 µg/g (タカサゴサイシン *Asarum epigynum*, 台湾) である。本研究のAA-I含有量もこの範囲に近い値であった。

園芸用市販品の形質形態に関しては入手時期による大きな違いがなかったが、夏期に入手したAS-1とAS-4~AS-6は、秋期に入手したAS-2とAS-3に比べて、AA-I含有量が高かった。ウマノスズクサ科アリストロキア属のウマノスズクサ *Aristolochia debilis* について、新芽の展開した時期の5月と生長した時期の10月の地上部のAA-I含有量を比較すると、5月は高く、生長後の10月に減少することが報告⁸⁾されており、植物の分類上の属の違いはあるものの、本研究でも同様に地上部のAA-I含有量は夏期に高く、秋期に低くなった。秋期に入手したガラスハウス栽培品とLED栽培品は、同じく秋期に入手した園芸用市販品のAS-2とAS-3と同程度のAA-I含有量であった。形質形態の全体の長さが大きかったLED栽培品はガラスハウス栽培品よりAA-I含有量が高く、ウスバサイシンはLED照明によって太陽光以上にAA-Iを生産するのではないかと考えられる。

AAの安全性に注目すると、AAはDNAと反応し遺伝子突然変異をもたらす遺伝毒性発がん物質である⁴⁾。現実的なリスクの管理は様々であるが、一般に遺伝毒性発がん物質は毒性試験において、これ以下であれば健康影響が見られない用量レベル、すなわち閾値が設定できないことが知られており¹¹⁾、低濃度でも安全とみなすことはできない。また、1997~2005年のChinese herbs nephropathyの報告において、健康被害を起こした漢方薬などの製品から検出されたAAは3.1~233 µg/gの範囲の濃度であった¹²⁾。この場合、低濃度の3.1 µg/g (AA-I, AA-IIなどの複数成分の合計濃度)で慢性腎不全を起こしており¹³⁾、高濃度の233 µg/g (AAのどれかの単一成分の濃度か複数成分の合計濃度か不明)で末期腎不全に至っている¹²⁾。よって、本研究のウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品のAA-I含有量も、Chinese herbs nephropathyを発症するAAの濃度の範囲内であったため注意を要する。

本研究の調査は、数も少なく限定されたものであったが、健康被害を起こす濃度のAA-Iが含まれることが判明した。したがって、ウスバサイシンの誤用は避ける必要がある。仮にウスバサイシンをハーブやお茶として使用する際には、地下部のみを用い、

地上部を含まないように注意することが大切である。また、ウスバサイシンは、本研究のように園芸用として比較的簡単に入手できること、試験栽培であったが植物工場でのLED栽培ができることから、入手や取り扱いにおける注意喚起が必要と考えられる。

海外では、以前からAAを含むサプリメント、ハーブティーなどの安全性の研究^{14,15)}が行われている。近年ではAAに関連する1957年から2017年までの合計1,217報の論文と189報の総説を用いて研究動向を調査した報告¹⁶⁾があり、今後は、AAの医薬品としての有効性、天然に存在するAA、AAの有害性などの研究の必要性を提案している。わが国においては、ウスバサイシンを含めAAを含むウマノスズクサ科の植物、健康食品などについての研究が少なく、これに関連する研究が必要と考えられる。

IV. 要約

ウマノスズクサ科の植物はハーブや健康食品の素材になる。その一種のウスバサイシンの根や根茎は生薬サイシンの原料である。一方で、ウマノスズクサ科植物には腎毒性や発がん性を有するAAが含まれていることが知られており、ウマノスズクサ科の生薬を含む漢方薬、ハーブや健康食品を摂取した人がChinese herbs nephropathyとして知られる健康被害を起こした事例がある。しかし、わが国でウマノスズクサ科植物中のAAの含有量を調べた報告は少ない。そこで、ウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品、生薬サイシンのAA-IをHPLCで分析した。

AA-Iは園芸用市販品の地上部に8.9~84 µg/g含まれていた。ガラスハウス栽培品の地上部には8.0 µg/g、さらに植物工場の人工光源のLED栽培品の地上部には27 µg/g含まれていた。これらの地下部および生薬サイシンからはAA-Iは検出されなかった。Chinese herbs nephropathyを発症した漢方薬などの製品中のAAは3.1~233 µg/gと報告されており、本研究のウスバサイシンの園芸用市販品および栽培品から検出されたAA-I含有量もこの範囲内であったことから、ウスバサイシンの地上部の誤用は避ける必要がある。

利益相反 (COI)

本研究に関連して、開示すべきCOIはない。

参考文献

- 1) 田中平三, 門脇 孝, 久代登志男, 篠塚和正, 山田和彦, 松本吉郎, 尾崎治夫, 渡邊和久監訳: 「健康食品・サプリメント [成分] のすべて2017 ナチュラルメディシン・データベース」, 一般社団法人日本健康食品・サプリメント情報センター, 発売元 (株)同文書院, 2017年, p.175-176
- 2) 伊藤美千穂, 北山 隆監修, 原島広至著: 「改訂第3版生薬単」, 丸善雄松堂(株), 2017年, p.36-37
- 3) 吉川雅之, 松田秀秋編: 「大観漢方生薬学」, 京都廣川書店, 2009年, p.159-160
- 4) IARC: Plants containing aristolochic acid, *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.*, 100A, 347-361 (2002)
- 5) 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所, 国立健康・栄養研究所: 「健康食品」の安全性・有効性情報, 有害なアristolochic acidを含むハーブによる健康危害, <https://hfnet.nibiohn.go.jp/contents/detail684.html>, アクセス 2020年10月10日
- 6) 内藤裕史: 「健康食品・中毒百科」, 丸善(株), 2007年, p.15-22
- 7) 牧野利明: 漢方薬による腎障害いわゆる Chinese herbs nephropathy について, *薬用植物研究*, 1号, 35-39, 1998
- 8) 川村智子, 長田有布希, 奥田和代, 久田陽一, 酒井英二, 田中俊弘, 立松 勇: ウマノスズクサ科植物中のアristolochic acid - 特にサイシン関連植物について -, *Nat. Med.*, 57, 105-109 (2003)
- 9) 日本漢方生薬製剤協会: 原料生薬使用料等調査報告書(4) - 平成25年度および26年度の使用料 -, 2016(平成28)年10月
- 10) 厚生労働省: 第十七改正日本薬局方, サイシン, 純度試験アristolochic acid I, 2016年
- 11) 本間正充: 食品に含まれる化学物質のリスクアセスメントと遺伝毒性評価, *FFI JOURNAL*, 223, 8-16 (2018)
- 12) 藤村敏子, 玉置清志, 飯田修司, 田中英晴, 池堂博文, 高宮良美, 加藤誠也, 田中敬雄, 奥田誠也: 民間療法によって末期腎不全に至ったアristolochic acid 腎症の1例, *日腎会誌*, 47, 474-480 (2005)
- 13) Tanaka, A., Nishida, R., Yoshida, T., Koshikawa, M., Goto, M., Kuwahara T.: Outbreak of Chinese herb nephropathy in Japan: Are there any differences from Belgium?, *Intern. Med.*, 40, 296-300 (2001)
- 14) Ioset, J.R., Raoelison G.E., Hostettmann, K.: Detection of aristolochic acid in Chinese phytomedicines and dietary supplements used as slimming regimens, *Food Chem. Toxicol.*, 41, 29-36 (2003)
- 15) Mouden, S.: Master Research Project I, Analysis of aristolochic acids in *Aristolochia consimilis* and its derived commercial products, Bio-Pharmaceutical Sciences, Leiden University, and Natural Products Lab, Institute of Biology (2012)
- 16) Zhou, Q., Pei, J., Poon, J., Lau, A.Y., Zhang, L., Wang, Y., Liu, C., Huang, L.: Worldwide research trends on aristolochic acids (1957-2017): Suggestions for researchers, *PLoS ONE*, 14, e0216135 (2019)