

## 令和2年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告 生薬の鏡検に関する研究（第4報）\*6

清水 聖子\*1, 金井 千恵子\*1, 塩田 寛子\*1, 鈴木 淳子\*1, 茂木 友里\*1, 高橋 美佐子\*1,  
浦出 朋子\*1, 稲葉 涼太\*1, 荒金 眞佐子\*1, 中村 耕\*1, 斎藤 厳利\*1, 湯澤 勝廣\*1,  
長澤 明道\*1, 田中 和良\*1, 中嶋 順一\*1, 鈴木 俊也\*1, 鈴木 仁\*1, 高野 昭人\*2,  
川原 信夫\*3,\*4, 丸山 卓郎\*5, 徳本 廣子\*5, 猪又 明子\*1, 守安 貴子\*1

### Study of Microscopic Examination for Crude Drugs (Part 4)

Seiko SHIMIZU \*1, Chieko KANAI \*1, Hiroko SHIODA \*1, Atsuko SUZUKI \*1, Yuri MOTEKI \*1,  
Misako TAKAHASHI \*1, Tomoko URADE \*1, Ryota INABA \*1, Masako ARAGANE \*1,  
Kou NAKAMURA \*1, Itsuki SAITO \*1, Katsuhiko YUZAWA \*1, Akemichi NAGASAWA \*1,  
Kazuyoshi TANAKA \*1, Jun'ichi NAKAJIMA \*1, Toshinari SUZUKI \*1, Jin SUZUKI \*1,  
Akihito TAKANO \*2, Nobuo KAWAHARA \*3,\*4, Takuro MARUYAMA \*5, Hiroko TOKUMOTO \*5,  
Akiko INOMATA \*1 and Takako MORIYASU \*1

### Summary

In the Japanese Pharmacopoeia (JP), microscopic examination of crude drugs is very important to decide whether or not they conform to the required specifications. Observations of morphology, the size of organs or cells, and the cell contents form a key part of the JP criteria.

However, in the absence of visual information, such as schematic drawings or illustrations for each crude drug, considerable experience is needed to observe and identify internal morphology by means of microscopic observation.

Therefore, the aims of this study were as follows: (1) to investigate the external morphological characteristics of specimens of Notopterygium, (2) to collect images of the section for the specimens of Notopterygium or commercial Notopterygium, (3) to examine how the kind of original plant or the method used to prepare crude drugs from the raw materials affects the appearance, and (4) to interpret the internal anatomical characteristics with the aid of these images in the context of the JP.

### Key words

The Japanese Pharmacopoeia, Crude Drugs, Microscopic Examination, Identification, Tissue Sections, Internal Morphology, Notopterygium.

- \* 1 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部 東京都新宿区百人町3-24-1 (〒169-0073)  
Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, 3-24-1 Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan
- \* 2 昭和薬科大学薬用植物園薬用植物資源研究室 東京都町田市東玉川学園3-3165 (〒194-8543)  
Showa Pharmaceutical University, 3-3165 Higashi-Tamagawagakuen, Machidashi, Tokyo 194-8543, Japan
- \* 3 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 茨城県つくば市八幡台1-2 (〒305-0843)  
Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, 1-2 Hachimandai, Tukuba, Ibaraki 305-0843, Japan
- \* 4 高知県立牧野植物園 高知県高知市五台山4200-6 (〒781-8125)  
The Kochi Prefectural Makino Botanical Garden, 4200-6 Godaisan, Kochishi, Kochi 781-8125, Japan
- \* 5 国立医薬品食品衛生研究所 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-26 (〒210-9501)  
National Institute of Health Sciences, 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, Kanagawa 210-9501, Japan
- \* 6 本研究は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の令和2年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」事業により行ったものである。

## 1 緒言

日本薬局方（日局）に記載されている生薬の性状の項には、鏡検について記載がある。日局の一般試験法生薬試験法〈5.01〉に基づいて鏡検を行うが、切片の作成方法については具体的な規定がない<sup>1)</sup>。そのため試験者は観察対象物の性質等を十分に理解した上で切片を作成する必要がある。

また、観察対象物の内部形態が、日局各条の記載に合致しているか否かを判断するためには、性状の項の内部形態に関する専門的な記載を読み解き、観察像との対応関係を理解する必要がある。

したがって鑑別を行う試験者は植物や生薬に精通していることが求められるが、試験者の育成や技術の継承が難しく、鑑別時に参考となる画像が少ないという課題がある。

そこで、日局収載生薬を鑑別する際に参考となる画像取得を目指し、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及び国立医薬品食品衛生研究所生薬部（国立衛研）と連携し、パラフィン切片作成法を用いた切片画像の収集を試み、現在までに、カンゾウ、サイコ等の8生薬について日局の記載と鏡検画像との対応関係を明らかにしてきた<sup>2-4)</sup>。

本報告ではキョウカツについて切片を作成し、鏡検画像と日局の記載について比較し、対応関係について検討した。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

キョウカツは国立衛研により収集された全形生薬4検体（A～D）、及び2021年に東京都内で流通していた市販品（刻み）3検体（E～G）を用いた（Table 1）。

### 2.2 方法

全形生薬について、目視により外観及び横切面を観察し、日局等と照合しながら部位の確認を行った。

既報<sup>2)</sup>に準じ、全形生薬及び市販品検体を10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬して固定した後、厚さ10 $\mu$ mのパラフィン切片を作成した。切片を日局一般試験法生薬試験法〈5.01〉に準じて観察し<sup>1)</sup>、鏡

Table 1 実験に使用した試料

検体	形態	産地	基原
A	全形	甘肅省	<i>Notopterygium incisum</i>
B*	全形	青海省	<i>Notopterygium forbesii</i> ( <i>N. franchetii</i> )
C	全形	四川省	不明
D	全形	四川省	不明
E	刻み	中国	不明
F	刻み	中国	不明
G	刻み	中国	不明

\*生薬標本

検画像を取得した。必要に応じて、ヨウ素試液による染色を行った。観察は明視野及び偏光装置を用いて行った。

### 2.3 装置

密閉式自動固定包埋装置 Tissue-Tek VIP6、パラフィン包埋ブロック作製装置 Tissue-Tek TEC プラス、自動染色装置 Tissue-Tek DRS-2000（いずれもサクラ精機株式会社製）、滑走式マイクローム TU-213（大和光機工業株式会社製）、電動正立顕微鏡 DM3000、顕微鏡用カメラ DFC295、画像解析ソフト Leica Application Suite V3（いずれも Leica 製）を使用した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 全形生薬の外観及び横切面の観察結果

「キョウカツ」は日局<sup>5)</sup>において、*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 又は *Notopterygium forbesii* Boissieu (*Umbelliferae*) の根茎及び根と規定され、生薬の性状の項には「本品はやや湾曲した円柱形～円錐形を呈し、長さ3～10 cm、径5～20 mm、ときに根茎は分枝する。外面は黄褐色～暗褐色である。根茎はその頂端にやや円形にくぼんだ茎の跡があり、ときには短い茎の残基を付け、外面には隆起した節があり、節間は、通例、短い。節にはいぼ状突起となった根の跡がある。根の外面には粗い縦じわ及びいぼ状突起となった側根の跡がある。質は軽くややもろくて折りやすい。横切面には多くの放射状の裂け目があり、皮部は黄褐色～褐色、木部は淡

黄色～淡灰黄色，髓は灰白色～淡褐色を呈し，ルーペ視するとき，皮部及び髓には油道による褐色の細点を認める。」と記載されている。

根茎及び根の外部形態に関する記述はあるが，鏡検に関する記載では，具体的な観察部位が示されていない。そこで本研究では，まず，全形生薬の外観及び横切面を観察し，日局及び中国薬典等の記載と比較することにより，根茎及び根の区別を検討した。次に，根茎及び根を判別した検体について，鏡検を行い，日局の記載と照合した。

Fig. 1に全形生薬の外観及び横切面の画像を示す。

検体A (Fig. 1-A1)はやや湾曲した円柱状を呈し，長さ8cm，径6～14mmであり，頂端に茎の跡を認めた。外面は暗褐色であり，節が環状に隆起し，節間は明瞭であった。横切面 (Fig. 1-A2)では，多数の放射状の裂け目があり，皮部及び髓には油道に由来する褐色の細点を認めた。また，皮部は黄褐色～褐色，木部及び髓は淡黄色であった。外部形態の特徴が中国薬典<sup>6)</sup>の*N. incisum*の記載と一致していたことから，検体Aを*N. incisum*の根茎と判断した。

検体B (Fig. 1-B1)は，円柱形～円錐形を呈し，長さ12cm，径15～42mmであった。頂端には多数の茎の跡があり，茎の残基も認められた他，根と推定される組織が複数ついていた。外面は灰褐色であり，B3付近では節に由来する隆起を認めず，所々に，いぼ状の突起を認めた。B2の位置における横切面では，皮部は淡黄色～淡褐色，木部及び髓は淡黄色であった (Fig. 1-B2)。B3の位置における横切面では，皮部は淡褐色，木部は淡黄色で，髓は認められなかった (Fig. 1-B3)。外部形態の特徴が中国薬典<sup>6)</sup>の*N. franchetii* (*N. forbessi*のシノニム<sup>7)</sup>)の記載と一致していたことから，検体Bを*N. forbessi*の根茎及び根と判断した。

検体C (Fig. 1-C1)は円柱状を呈し，長さ6cm，径10～16mmであった。外面は褐色であり，節が環状に隆起していた。横切面の形状は検体Aと類似しており，中央部に髓を認めた (Fig. 1-C2)。以上のことから，検体Cを根茎と判断した。

検体D (Fig. 1-D1)はやや湾曲した円錐形を呈し，長さ6cm，径3～7mmであった。外面は灰褐色で，いぼ状の突起が認められた。横切面では，髓は認められなかった (Fig. 1-D2)。以上のことから，検体

Dを根と判断した。

今回観察した全形生薬では，検体によって外観が大きく異なっていたが，節及び横切面の髓の有無により根茎及び根を区別できた。キョウカツには様々な形態の生薬が知られていることから<sup>8,9)</sup>，今後更に多くの検体の外観を確認し，必要に応じて，日局の記載を現状に合わせる事が望ましいと考える。

### 3.2 全形生薬の鏡検結果

「キョウカツ」の性状の項には「本品の横切片を鏡検 (5.0I)するとき，最外層は数層～10数細胞層のコルク層からなり，その内側に数細胞層の厚角組織がある。皮層には多数の油道があり，大きいものでは径が300 $\mu$ mに達する。また皮層には放射状に大きな隙間がある。髓にも油道があり，大きいものでは径が500 $\mu$ mに達する。柔組織中には単粒及び2～3個の複粒のでんぷん粒を含む。」と記載されている<sup>5)</sup>。この記載と鏡検して得た画像との対応関係を検討した。

Fig. 2に検体Aの横切片の鏡検画像を示す。

検体Aの横切片では，最外層は数細胞層のコルク層からなり，その内側の二次皮層は，二次師部及び柔組織からなっていた (Fig. 2-A3a, A3b, A4)。日局に記載されている厚角組織については後述する。二次皮層には放射状に大きな細胞間隙及び放射状に並ぶ多数の油道が確認された (Fig. 2-A3a, A3b, A5)。形成層の内側の二次木部を偏光下で観察すると，道管が明るく光り確認が容易であった (Fig. 2-A3b, A6a, A6b)。木部の内側の中心部には髓を認め，髓にも多数の油道が確認された (Fig. 2-A3c)。二次皮層の柔細胞中に存在するでんぷん粒は，偏光下での十字の模様を確認することが難しかったが，ヨウ素試液で青紫色に染色され，でんぷん粒であることを容易に確認することが可能であった (Fig. 2-A7)。

Fig. 3に検体Bの横切片の鏡検画像を示す。根茎では検体Aと同様の組織を確認した (Fig. 3-B4a～B4d)。根では根茎とほぼ同様の組織を認めたが，中央部には一次木部を認め，髓は認められなかった (Fig. 3-B5a～B5d)。

Fig. 4に検体C及びDの横切片の鏡検画像を示す。検体Dに髓が認められないことを除き，検体C及びDにおいても検体Aと同様の組織を確認した。

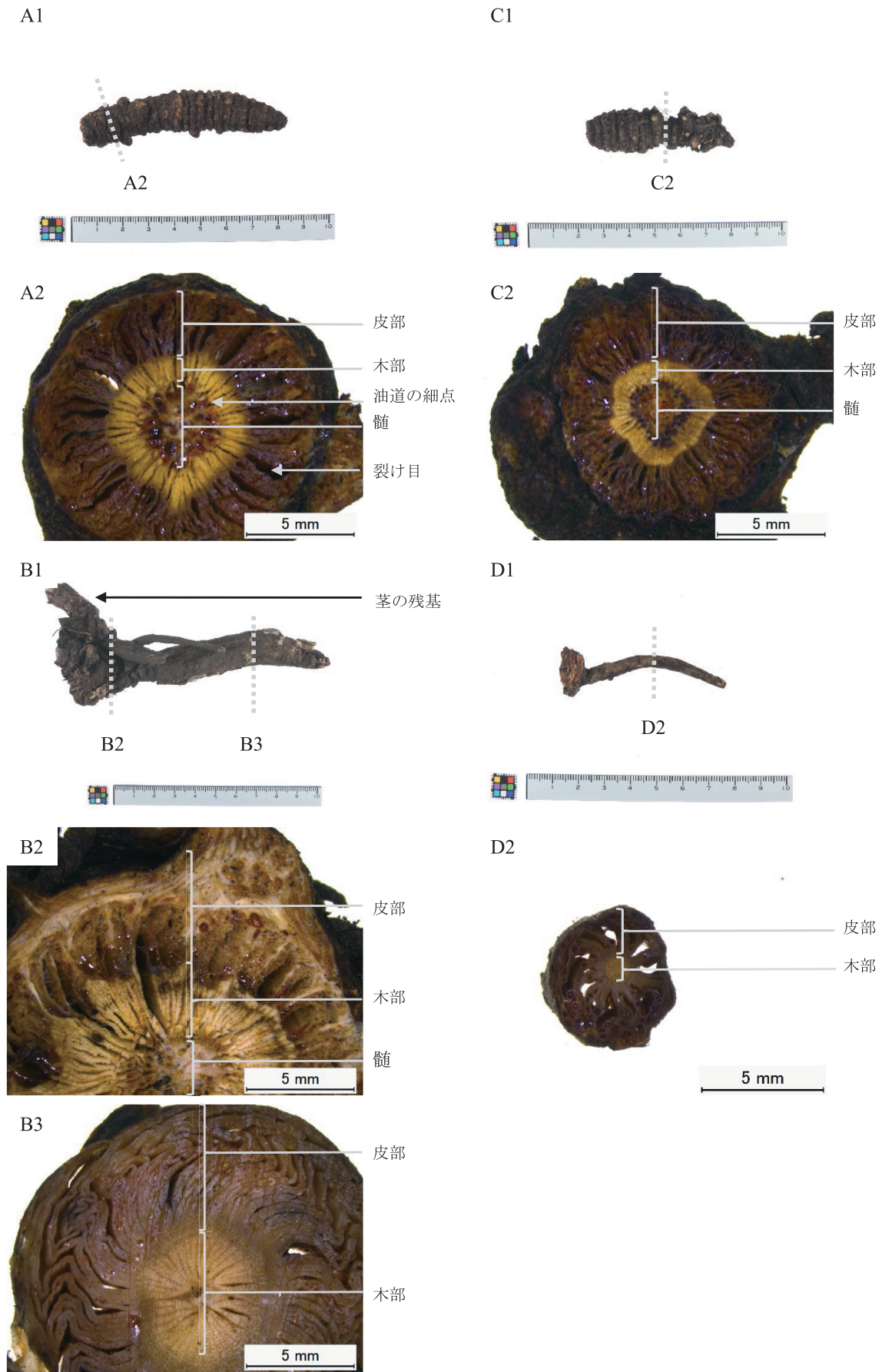


Fig. 1 全形生薬の外観及び横切面

A1：検体Aの外観，A2：検体Aの横切面，B1：検体Bの外観，B2，B3：検体Bの横切面，C1：検体Cの外観，C2：検体Cの横切面，D1：検体Dの外観，D2：検体Dの横切面。

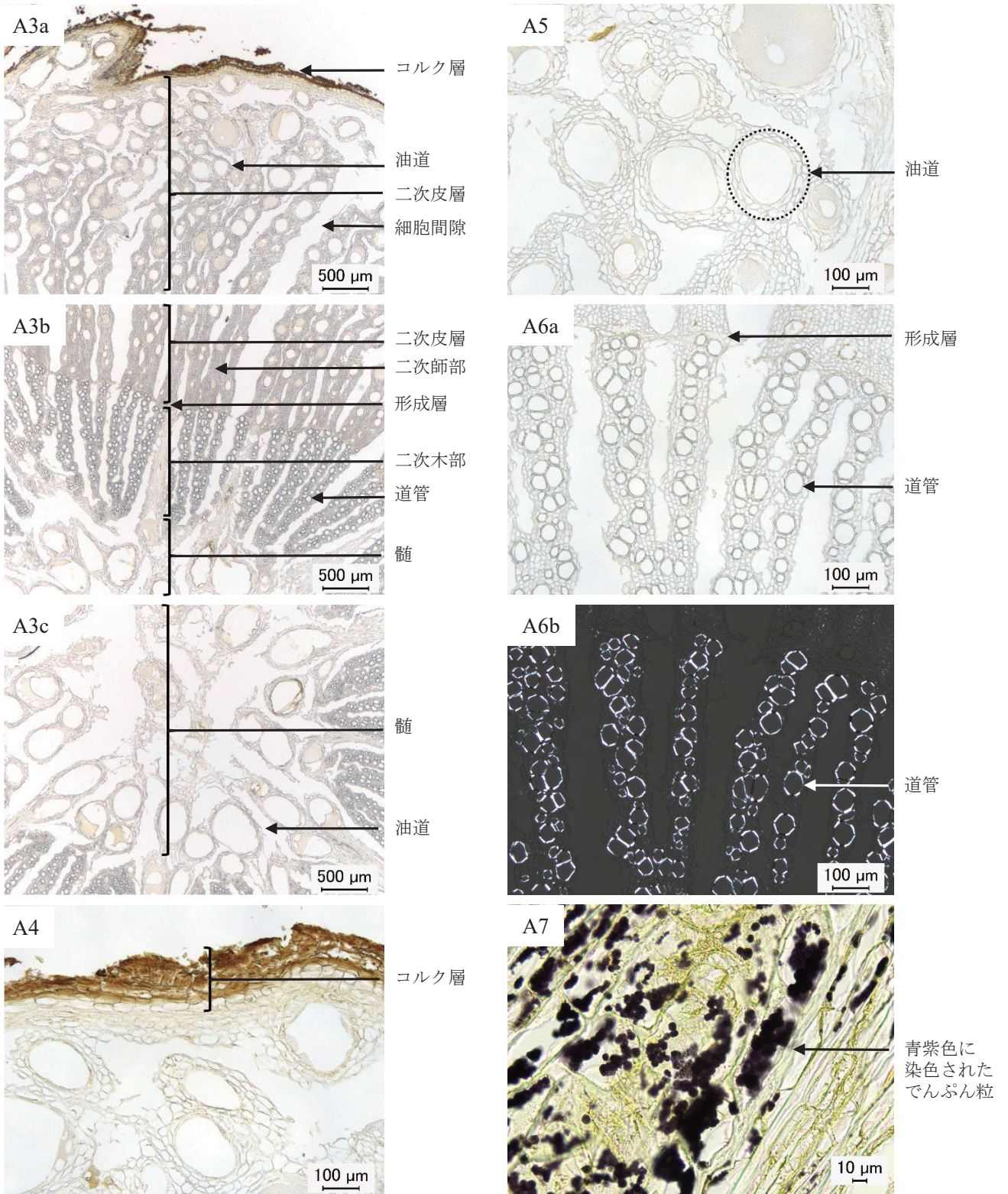


Fig. 2 検体Aの横切片の鏡検画像

A3a~3c：全体像，A4：コルク層～二次皮層，A5：二次皮層，A6a：二次木部，A6b：二次木部（偏光装置），A7：二次皮層の柔組織（ヨウ素試液）。

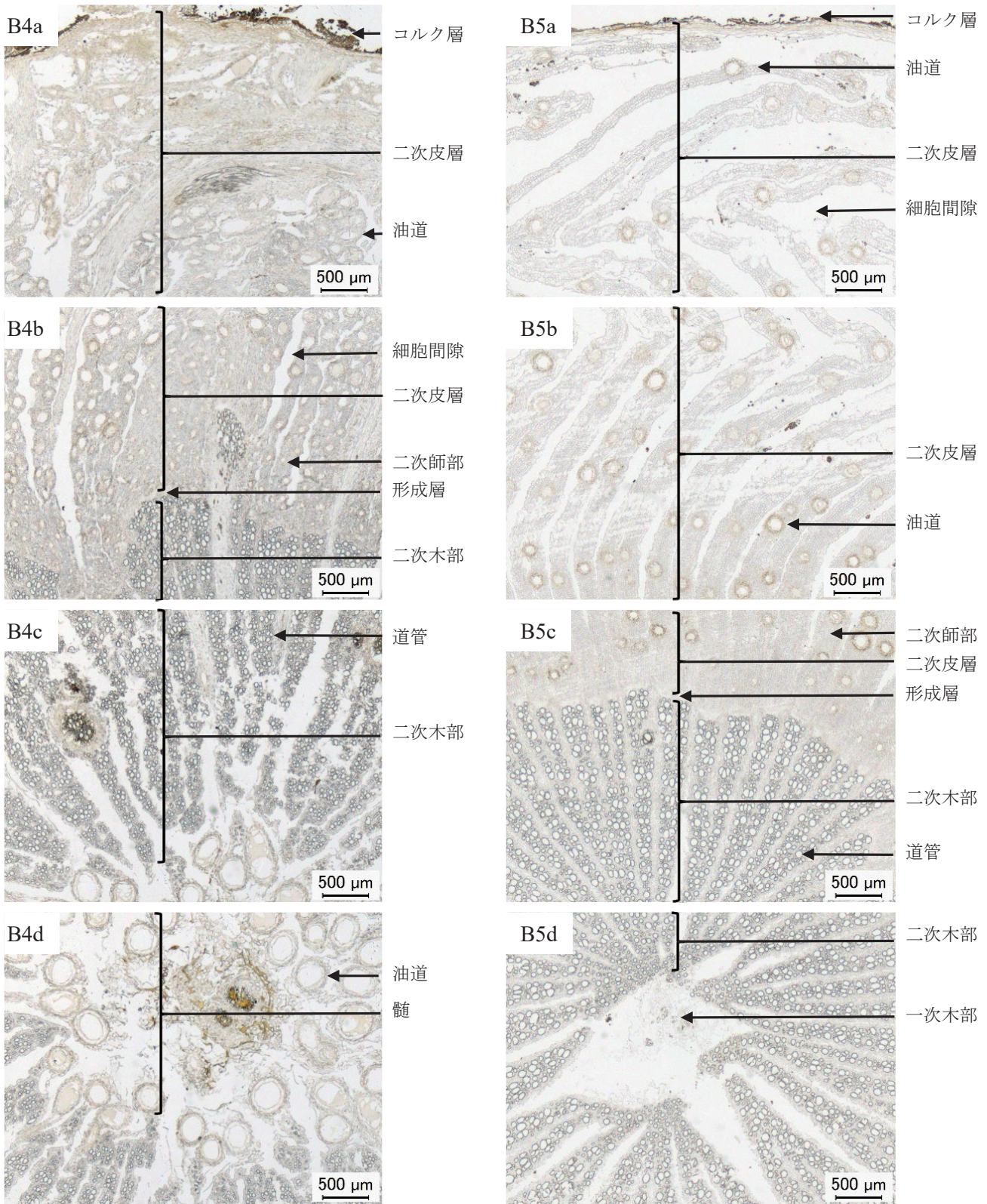


Fig. 3 検体Bの横切片の鏡検画像

B4a~4d：根茎, B5a~5d：根.

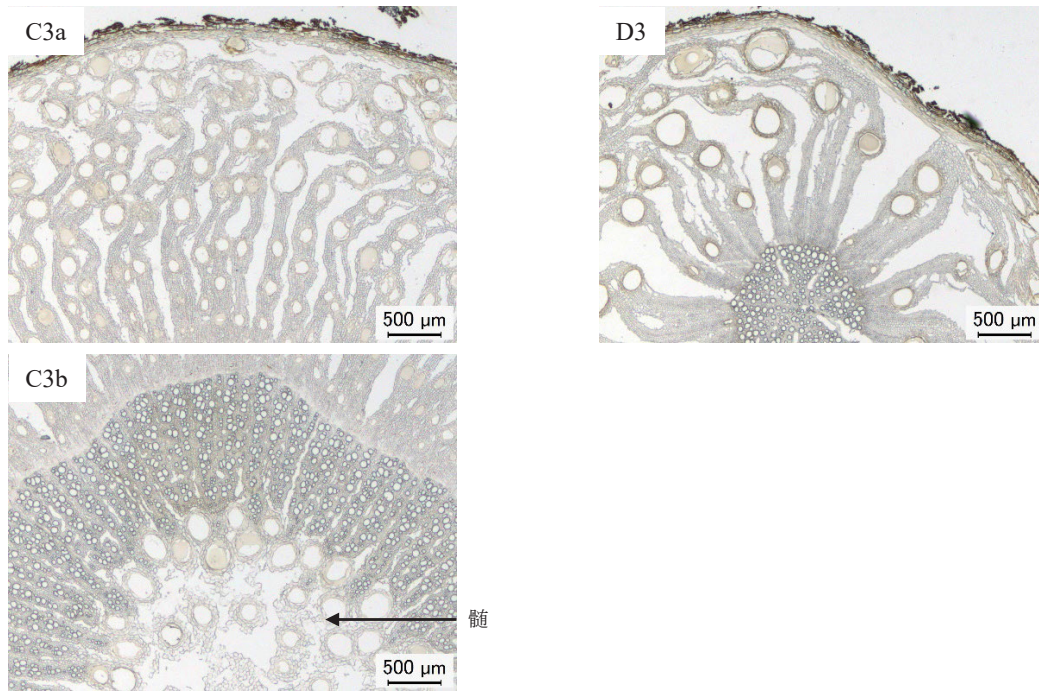


Fig. 4 検体C及びDの横切片の鏡検画像

C3a, 3b：検体C, D3：検体D.

### 3.3 市販品の鏡検結果

市販品である検体E～Gは、不整形に切断されており、外面から部位を判別することは難しかった。そこで、各検体から横切面中央部の髓の有無を確認できるものを選別し、鏡検を行った。

Fig. 5に検体E～Gの横切片の鏡検画像を示す。

検体E～Gは、髓を認めないものと、認めるものが混在しており、根と根茎が混合されたものであることを確認した。また、髓の有無を除き、検体Aと同様の組織を確認した。

日局の記載について、「根茎に由来するものでは髓を認める。髓にも油道があり、大きいものでは径が500 μmに達する。」とするなど、根茎に特化した記載がわかるようにすることが望ましいと考える。

### 3.4 厚角組織について

Fig. 6に検体A～Gの横切片におけるコルク層付近の鏡検画像を示す。

「キョウカツ」では、コルク層の内側に、細胞の互いに接する角隅が肥厚した厚角細胞が集合した厚角組織<sup>10)</sup>があるとされている<sup>5)</sup>。

検体Bでは、隣接する細胞の角隅が肥厚した厚角

細胞が集合しており、厚角組織が明瞭に確認できた (Fig. 6-B6)。ただし、厚角細胞か否か判別が難しい細胞も存在した (Fig. 6-B7)。他の検体では、一部で厚角細胞及び厚角組織が認められたが (Fig. 6-A8, C4, D4)、判別が難しい細胞が多かった。厚角組織については、引き続き検討が必要であると考ええる。

### 3.5 油道のエピセリウム細胞について

Fig. 7に検体A及びBの横切片における二次皮層の鏡検画像を示す。

*N. incisum*と*N. forbesii*では油道のエピセリウム細胞の形状に違いが認められると報告されている<sup>11)</sup>。基原が判明している検体A及びBの油道を観察した結果、検体A (Fig. 7-A9) に比べ、検体Bではエピセリウム細胞の大きい油道が確認された (Fig. 7-B8, B9)。ただし、同一検体の観察においてもエピセリウム細胞の大きさに幅が認められ、エピセリウム細胞の確認が難しい油道も存在した。これらのことから、基原種の判別には他の情報も含めて行う必要があると考える。

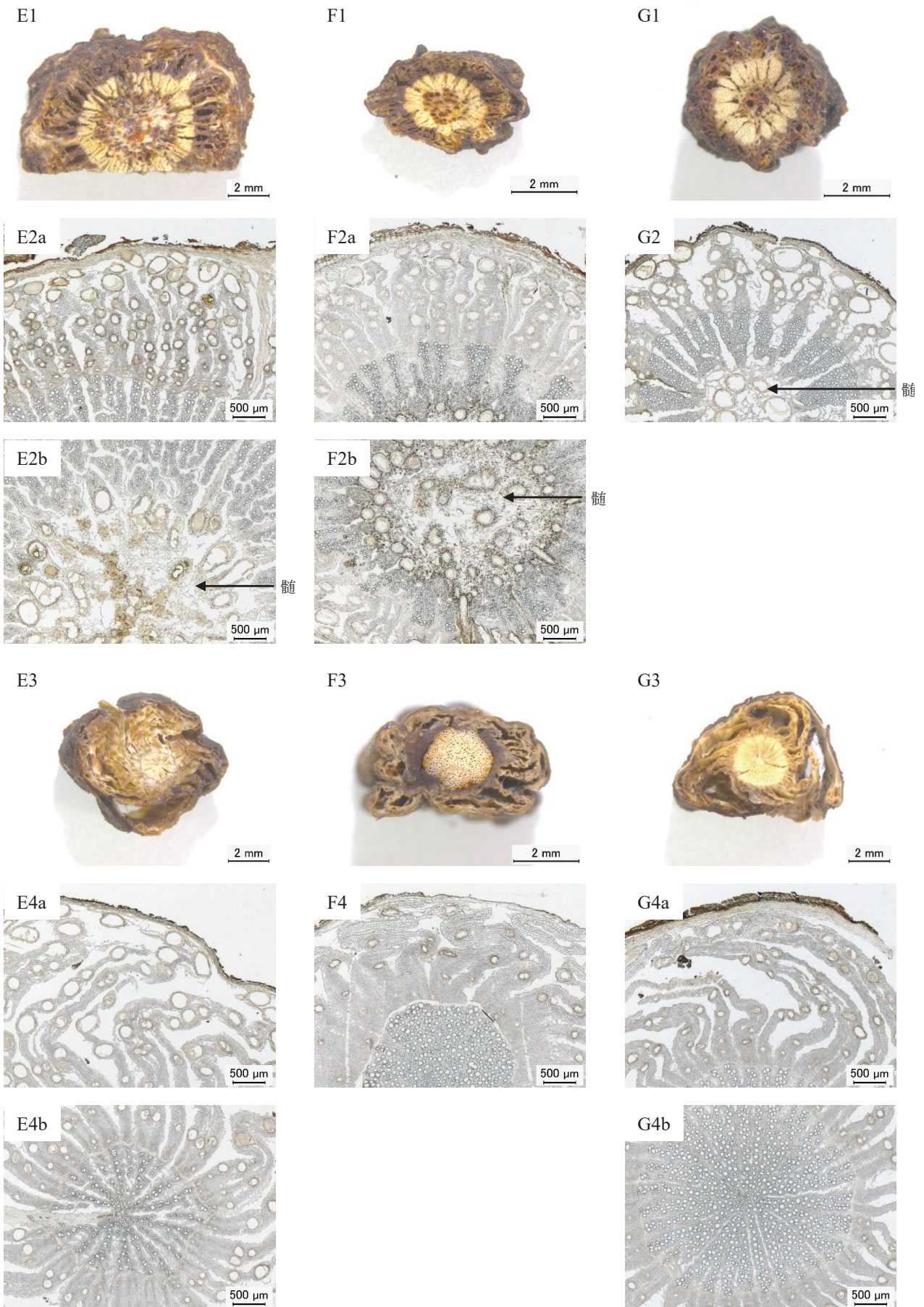


Fig. 5 検体E~Gの横切片の鏡検画像

E1, 2a, 2b : 検体E (根茎), E3, 4a, 4b : 検体E (根), F1, 2a, 2b : 検体F (根茎), F3, 4 : 検体F (根), G1, 2 : 検体G (根茎), G3, 4a, 4b : 検体G (根).



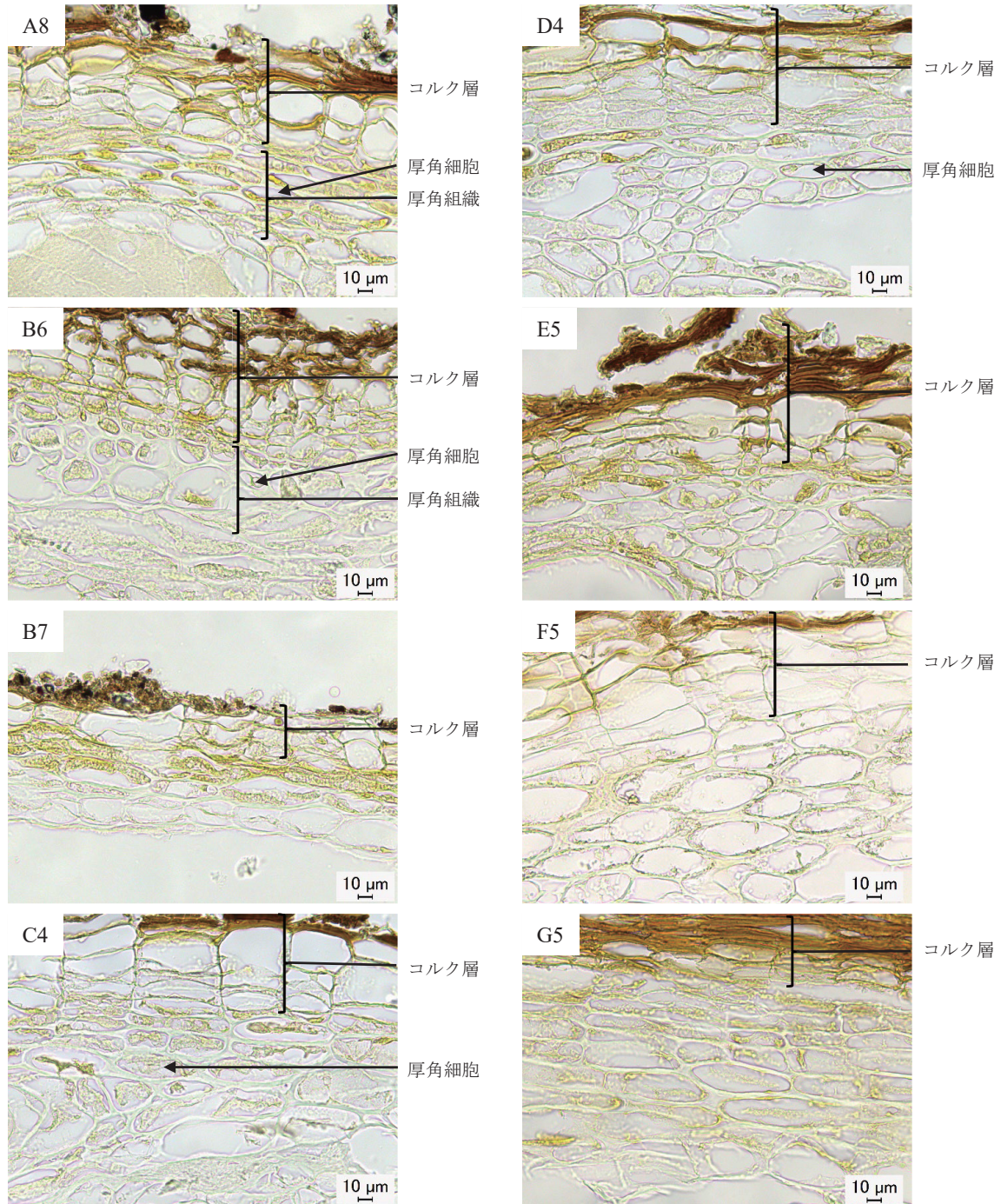


Fig. 6 検体A~Gの横切片におけるコルク層付近の鏡検画像

A8：検体A, B6：検体B（根茎）, B7：検体B（根）, C4：検体C, D4：検体D, E5：検体E（根）, F5：検体F（根茎）, G5：検体G（根）.

## 4 結論

今回、キョウカツについて、基原種の明らかな2検体を含む4検体の全形生薬の外部形態を観察し、日局等の記載と比較し、根茎及び根を判別した。

次にそれらの切片を作成し、根茎及び根の鏡検画

像を収集し、日局各条の「キョウカツ」の鏡検の記載との対応関係について検討した。

その結果、髄は根茎でのみ認められた。また、日局記載の厚角組織については、厚角組織か否か判別が難しい検体が存在した。

市販品3検体の観察の結果、根茎及び根に由来す

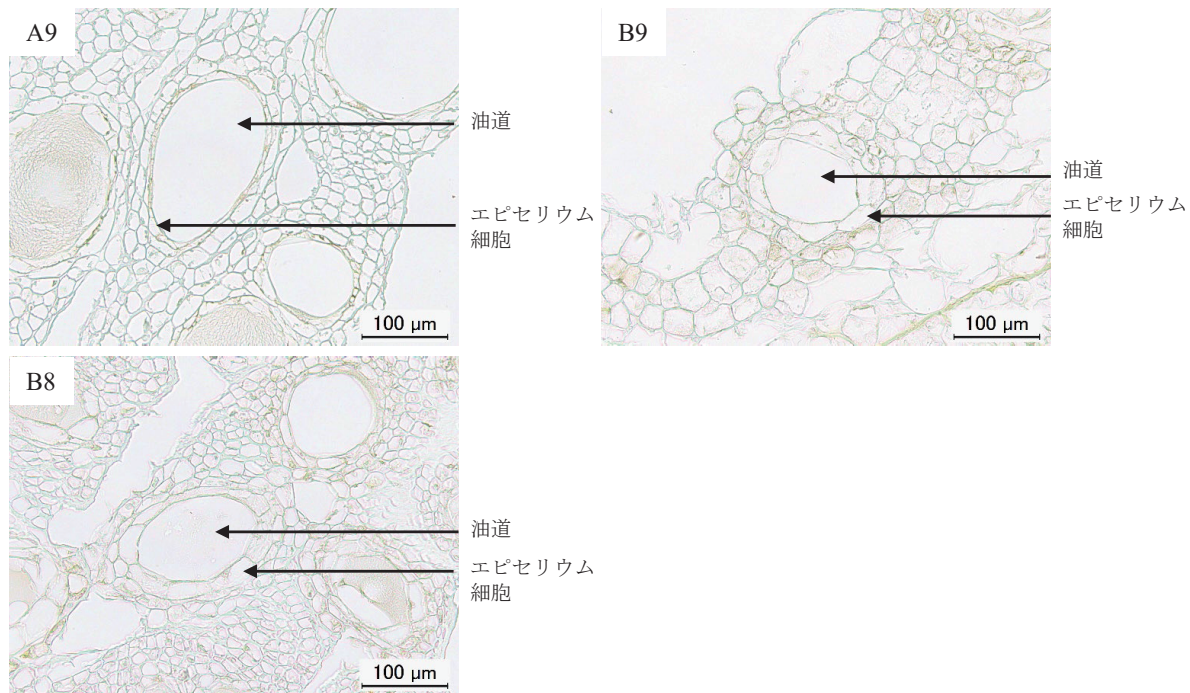


Fig. 7 検体A及びBの横切片における二次皮層の鏡検画像

A9：検体A， B8：検体B（根茎）， B9：検体B（根）。

るものが混在していることが明らかになった。

これらの結果から，日局の記載について，追記が望ましい箇所及び検討が必要な課題を明らかにした。

#### 文献

- 厚生労働省. 第十八改正日本薬局方. 2021, p.134-137.
- 植村望美, 中嶋順一, 鈴木淳子, 清水聖子, 茂木友里, 高橋美佐子, 浦出朋子, 金井千恵子, 荒金眞佐子, 中村耕, 湯澤勝廣, 長澤明道, 田中和良, 鈴木俊也, 鈴木仁, 高野昭人, 川原信夫, 猪又明子, 守安貴子. 生薬の鏡検に関する研究. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2019, 50 (7), p.420-427.
- 清水聖子, 中嶋順一, 鈴木淳子, 植村望美, 茂木友里, 高橋美佐子, 浦出朋子, 金井千恵子, 荒金眞佐子, 中村耕, 湯澤勝廣, 長澤明道, 田中和良, 鈴木俊也, 鈴木仁, 高野昭人, 川原信夫, 猪又明子, 守安貴子. 生薬の鏡検に関する研究（第2報）. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2020, 51 (9), p.476-484.
- 中嶋順一, 清水聖子, 金井千恵子, 塩田寛子, 鈴木淳子, 植村望美, 茂木友里, 高橋美佐子, 浦出朋子, 荒金眞佐子, 中村耕, 斎藤厳利, 湯澤勝廣, 長澤明道, 田中和良, 鈴木俊也, 鈴木仁, 高野昭人, 川原信夫, 丸山卓郎, 徳本廣子, 猪又明子, 守安貴子. 生薬の鏡検に関する研究（第3報）. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2021, 52 (8), p.679-689.
- 厚生労働省. 第十八改正日本薬局方. 2021, p.1914-1915.
- 国家薬典委員会編. 中華人民共和国薬典（2020年版）第1部. 中国医药科技出版社. 2020, p.190-191.
- She, Menglan (Sheh, Meng-lan); Mark, F. Watson. "27. NOTOPTERYGIUM H. de Boissieu, Bull. Herb. Boissier, sér. 2, 3: 838. 1903.". *Flora of China*. <http://flora.huh.harvard.edu/china/PDF/PDF14/Notopterygium.pdf>, (accessed 2021-10-25).
- 中国医学科学院薬物研究所等編. 中薬志, 第2版. 人民衛生出版社. 第二冊. 1982, p.397-401.
- 上海科学技術出版社, 小学館編. 中薬大辞典. 小学館. 第一巻. 1985, p.478-479.
- 猪野俊平. 植物組織学, 訂正第1版. 内田老鶴圃. 1964, p.168.
- Namba, Tsuneo; Gu, Zhe-Ming; Zhou, Guang-Chun; Wang, Tian-Zhi; Mei, Huo; Komatsu, Katsuko. Pharmacognostical Study on the Chinese "Qiang-huo (羌活)": On the Anatomical Characteristics of the Underground Parts of *Notopterygium incisum* and *N. forbesii*. *Natural Medicines*. 1995, 49 (4), p.409-417.