

フジバカマと称される 2 タイプの植物について

佐々木陽平, 松本 篤, 滝戸道夫, 吉村 衛, 南雲清二

星薬科大学

Study on *Eupatorium* Plants Called “Fujibakama”Yohei Sasaki^{a,*}, Atsushi Matsumoto^a, Michio Takido^a, Mamoru Yoshimura^b, Seiji Nagumo^a^a Department of Medicinal Plant Science, Hoshi University

2-4-41 Ebara, Shinagawa, Tokyo 142-8501, Japan

^b Setagaya, Tokyo 156-0057, Japan

(Received May 26, 2005)

“Fujibakama” is the Japanese name for *Eupatorium fortunei* Turcz. (Compositae) and has been medicinally used for diabetes. But recently, the name “Fujibakama” has been used for unidentified *Eupatorium* sp. on the Japanese flower market. Here, we describe the former growing-in-Japan species as Fujibakama-wild type, and the latter as Fujibakama-gardening type. Although these two species could be easily distinguished by the shape of the leaves, the same name can cause confusion. In this paper, we clarified the relationship of Fujibakama-gardening type and the wild type by gene analysis. We also chose *E. cannabinum* L. because the species was similar to Fujibakama-gardening type morphologically, and was sold on Japanese flower market.

We analyzed the nucleotide sequences of the following chloroplast genome regions in three *Eupatorium* species: the *trnK* gene region; and the region covering between *trnT* exon and *trnF* exon, including the intergenic spacer (IGS) between *trnT* and *trnL* 5' exon; *trnL* 5' exon; *trnL* intron; *trnL* 3' exon; the IGS between *trnL* 3' exon and *trnF*. The differences of nucleotide sequence were detected on successive thymine regions embedded in the IGS between *trnT* and *trnL* 5' exon: fifteen and fourteen thymine in Fujibakama-wild type; seventeen and sixteen thymine in Fujibakama-gardening type. The nucleotide sequence of *E. cannabinum* was different from the two types of “Fujibakama”. The relationships between Fujibakama-gardening type and Fujibakama-wild type were closer than *E. cannabinum*.

Keywords: *Eupatorium fortunei*; Fujibakama; chloroplast DNA; identification; Compositae

キク科 (Compositae) の *Eupatorium* 属植物は北米大陸に分布し、アジアにも約 50 種、その内約 10 種が日本に分布している¹⁾。本植物は種間で交雑が起こりやすく、形態の変異も大きいため種の分類や同定が困難な植物群であり、学名も文献により異なっていることがある。こ

のうちフジバカマ *Eupatorium fortunei* Turcz. (*E. japonicum* Thunb.) は日本では開花直前の全草を民間的に皮膚のかゆみや糖尿病の予防と治療を目的に使用されてきた²⁾。また漢薬「沢蘭」及び「蘭草」の基源の 1 つでもあり、処方構成生薬としての需要もある³⁾。

Table 1. Comparative features of Three Species

type	Fujibakama-wild type	Fujibakama-gardening type	
scientific name	<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz.	<i>Eupatorium</i> sp.	<i>E. cannabinum</i> L.
height	1 - 2 m	1 m	1 m
color of corolla	purplish white	pinkish white - white	pink
petiole	+	+	-
shape of leaves	usually trilobed	trilobed	trilobed
			

フジバカマは高さ 1~2 メートルの多年生草本植物で、成葉は通常やや不規則に 3 裂する傾向がある^{1,4)}。川岸の土手などに自生していることが多いが、現在では個体数が減少し絶滅危惧種に指定されている⁵⁾。

ところで、フジバカマと呼ばれる植物には山野に自生している本来のものとは別に、近年主として園芸市場に流通しているものがある。両者を比較すると、同じ *Eupatorium* 属植物として類似するものの、形態的には容易に区別しうる。本報告では、この 2 タイプのフジバカマを区別するため、野生にみられる前者のタイプをフジバカマ野生型 (Fujibakama-wild type)、園芸市場でみられる後者をフジバカマ園芸型 (Fujibakama-gardening type) と呼ぶことにする。両者の形態上の違いを Table 1 に示した。

フジバカマは秋の七草として知られるが、フジバカマ野生型は個体数が少なく園芸市場に出ることはまれである。一方、園芸型は栽培が容易であることから園芸市場に広く流通するようになったと推定される。フジバカマの学名は本来的には野生型に与えられたものであり、園芸型のもの *Eupatorium* 属植物としてはこれまで文献上記載がなく、種同定が明確になされていない。しかも日本に自生する *Eupatorium* 属植物について植物検索表で検索すると園芸型もフジバカマ (*E. fortunei*) に分類されることになる。そのため植物図鑑などでも園芸型をフジバカマとして記載する場合があります⁶⁾、フジバカマという植物 (名) には混乱がみられる。

そこで本研究ではフジバカマの野生型、園芸型両者に

ついて特定遺伝子領域の配列を比較し、近縁関係調べた。比較植物としてフジバカマ野生型と園芸型、および *E. cannabinum* の 3 者を対象とした。*E. cannabinum* はカンナビウムという名称で園芸市場に流通しており、その成葉の形状だけをみるとフジバカマ園芸型に類似し、近縁関係が想定されたからである。

Eupatorium 属植物については、これまで Internal transcribed spacer (ITS) 領域について系統学的解析を行なった報告がある⁷⁾。この報告ではフジバカマ (*E. japonicum* = *E. fortunei*) 及びカンナビウムも含めて ITS 領域の配列を解析しているため、我々も、この報告を基に同領域を解析した。しかし検体の多くは核領域である ITS 領域に数種類の配列が混在するため解析できなかった。解析できなかった個体はおそらく ITS 領域において配列が異なる同種の個体同士が交配したことが原因であると考えられる。このような領域は生薬の同定に応用することができないため、本研究では新たに交雑の影響を受けない葉緑体 DNA を検討した。領域として葉緑体 *trnK* 遺伝子領域及び葉緑体 *trnK* 遺伝子領域及び葉緑体 *trnT* exon から *trnF* exon に至る領域 (*trnT-trnL* IGS, *trnL* 5' exon, *trnL* intron, *trnL* 3' exon, *trnL-trnF* IGS を含む) を選択した。

実験材料

実験にはフジバカマ野生型 (*Eupatorium fortunei* Turcz., Fujibakama-wild type)、フジバカマ園芸型 (*Eupatorium* sp., Fujibakama-gardening-type)、及びカンナビウム (*E. cannabinum* L.) を用いた。検体の情報を Table 2 に示し

Table 2. Plant Materials Used in This Study

Species	Japanese name	Source*	Collection Date	Voucher No.
<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz. Fujibakama-wild type	Fujibakama	MP-HU	Jun. 2003	SF01
		MP-KU	Aug. 2003	SF05
		MP-ME	May 2004	SF13
		MP-HH	May 2004	SF14
		Ono, Fukui	Sep. 2004	SF16
		Mino, Gifu	Sep. 2004	SF17
		Tsukuba, Ibaraki	Sep. 2004	SF18
		Nimi, Okayama	Sep. 2004	SF19
<i>Eupatorium</i> sp. Fujibakama-gardening type	Fujibakama	MP-HU	Jun. 2003	SF02
		MP-KU	Aug. 2003	SF04
		Gunma, Gumma	Nov. 2003	SF06
		Iida, Nagano	Nov. 2003	SF07
		Iida, Nagano	Nov. 2003	SF09
		Market in Tokyo	Apr. 2004	SW01
<i>E. cannabinum</i> L.		Market in Tokyo	Apr. 2004	SC01
		Market in Tokyo	Apr. 2004	SC03
		BG-GE	Apr. 2004	SC02

*Abbreviation: MP-HU, Medicinal Plant Garden of Hoshi University; MP-KU, Medicinal Plant Garden, Kyoritsu University of Pharmacy; MP-ME, Tokyo Metropolitan Medicinal Plants Garden; MP-HH, Medicinal Botanic Garden, Health Sciences University of Hokkaido; BG-GE, Botanical Garden Frankfurt.

た。標本はすべて星薬科大学薬用植物研究室標本室に保存されている。

実験方法

1. 全 DNA の抽出及び PCR 法による増幅

植物又は標本 20–50 mg から DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を使用して全 DNA を抽出し、次いで GENECLANE II Kit (BIO101) で精製した。PCR 法による増幅は以下の条件で行なった。反応溶液は精製した全 DNA を鋳型として、1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 0.25 μM プライマー 1, 0.25 μM プライマー 2, 1.5U Taq polymerase (TaKaRa) 及びバッファーを加え、50 μl で行なった。使用したプライマーの配列は葉緑体 *trnK* 遺伝子領域; *trnK*-3914F: 5'-TGG GTT GCT AAC TCA ATG G-3' 及び *trnK*-2R: 5'-AAC TAG TCG GAT GGA GTA G-3', 葉緑体 *trnT-trnL* IGS, *trnL* 5' exon, *trnL* intron, *trnL-trnF* IGS 領域: *trnT*-aF: 5'-CAT TAC AAA TGC GAT GCT CT-3' 及び *trnF*-fR: 5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3' である。反応は Thermal Cycler (TaKaRa Dice) を使用し、94°C のホットスタートの後、96°C (1 分), 52°C (1 分), 74°C (1.5 分) を 35 サイクル行なった。反応後、アガロース電気泳動法により増幅を確認し、QIAquick PCR Purification K

Kit (QIAGEN) で精製した。

2. 塩基配列の解析

精製した PCR 増幅産物を Cycle Sequencing Kit (ABI, BigDye Terminator v1.1) で Cycle Sequence 反応を行なった。塩基配列は ABI PRISM 377 DNA Sequencing System により解析し、得られた配列情報を基にソフトウェア AutoAssemble Program v1.3.0 (ABI) により配列間の比較解析を行なった。

結果

1. 葉緑体 *trnK* 遺伝子領域 (Fig. 1)

本領域の全長は 2584~2597 塩基対であった。フジバカマ野生型及びフジバカマ園芸型の間では完全に保存されており全長 2585 塩基対で同一の配列であった。カンナビウムは全長 2597 塩基対及び 2596 塩基対の 2 種類の配列が認められ、1570 番目が guanine であるもの (SC01, 02) と adenine であるもの (SC03) があった。さらに同一個体でも 2387 番目からの連続した adenine 領域に 2 種類の配列が認められ、16 塩基のものとして 15 塩基のものを認めた。これに加えてカンナビウムには 189 番目から 6 塩基の繰り返し挿入、11 箇所又は 12 箇所の塩基置換が認められた。

2. 葉緑体 *trnT* exon – *trnF* exon 領域 (*trnT-trnL* IGS,

trnL 5' exon, *trnL* intron, *trnL* 3' exon, *trnL* - *trnF* IGS 領域) (Fig. 2)

この領域の塩基配列において 2 つの特徴が認められた。第 1 としてすべての検体において、同一個体内に 2 種類の配列が観察された。フジバカマ野生型 (Fujibakama-wild type) は 273 番目からの連続した thymine の領域において、thymine の数が 15 塩基の配列と 14 塩基の配列があった。同様にフジバカマ園芸型 (Fujibakama-gardening type) は 17 塩基と 16 塩基の配列が、カンナビウムは 15 塩基の配列と 14 塩基の配列が観察された。第 2 の特徴として、検体とした植物の種類に応じて特異的な配列がこの領域に認められた。フジバカマ野生型は thymine が 15 塩基及び 14 塩基であるのに対し、フジバカマ園芸型は 17 塩基及び 16 塩基であり、それ以外の配列は相同であった。カンナビウムは全長 1526 及び 1525 塩基対であり、thymine の数は 15 塩基及び 14 塩基であるが、その後 ATTAAT でありフジバカマ野生型と配列が異なっている。またカンナビウムは 114, 202, 829, 1162, 1254 番目に塩基置換, 307 番目に塩基挿入, 602 番目に塩基欠失, 1255 番目から 31 塩基の欠失が観察された。

3. 解析した配列について

本研究で解析した配列は国立遺伝学研究所日本 DNA データバンク (DDBJ) に登録済みである。葉緑体 *trnK* 遺伝子領域及び葉緑体 *trnT* exon - *trnF* exon 領域 (*trnT* - *trnL* IGS, *trnL* 5' exon, *trnL* intron, *trnL* 3' exon, *trnL* - *trnF* IGS 領域を含む, アンダーライン) についての各種の Accession 番号は以下のとおりである。なお、フジバカマ園芸型は未登録である。 *Eupatorium fortunei*: AB217689, [AB217693](#); *E. cannabinum*: AB217691 (SC01, SC02), AB217692 (SC03), [AB217695](#)。

考察

本論文では、わが国で現在フジバカマと呼ばれている植物に野生型および園芸型と呼ぶ 2 タイプ存在することを初めて指摘した。フジバカマ野生型と園芸型について遺伝子解析したところ葉緑体 2 領域のイントロン領域に違いが認められ、両者は遺伝子配列の比較からも識別できることが明らかとなった。しかしその相違は塩基欠損が起こりやすいとされるイントロン領域であり、しかも塩基置換ではなく連続したチミン領域におけるチミンの

数であることを考慮すると、両者は非常に近縁であることが示唆された。

今回解析した葉緑体の 2 領域はサワヒヨドリ (*E. lindleyanum*), ヒヨドリバナ (*E. chinense* var *simplicifolium*) でも塩基置換が観察され、フジバカマ野生型と異なっていること確認している (未発表)。すなわち、フジバカマ野生型にとって同園芸型はサワヒヨドリ等よりも近縁であり、*E. cannabinum* はかなり遠縁の関係にあるとみられる。

一方、今回配列を検討した葉緑体 *trnT* - *trnL* 5' exon の間の intergenic spacer (IGS) 領域はフジバカマ両タイプだけに限らずサワヒヨドリ、ヒヨドリバナなどもそれぞれの種に固有の配列を有している領域である。*Eupatorium* 属植物に由来する生薬を DNA 解析により同定する場合には、同属植物を含めた他のより広範囲は植物のデータも必要になるが、この領域は同定のために重要な領域であることを示すことができた。

なお、フジバカマを含めて *Eupatorium* 属植物は交雑しやすく、形態の変異が大きいことから学名にも変遷が見られる^{8,9)}。 *E. fortunei*^{2,6)}, *E. japonicum*^{1,3,10)}, *E. stoecadosmum* など使用されるがすべてシノニムとされている。またフジバカマ園芸型の種の同定は学名の整理を含めた研究が必要なため、本論文では *Eupatorium* sp. と記載した。

結論

フジバカマ野生型と園芸型はともに“フジバカマ”と呼称されているが、分子系統学的にも近縁であることを本研究で初めて明らかにした。両型間の DNA 配列の違いは葉緑体 *trnT* - *trnL* 5' exon の間の intergenic spacer (IGS) 領域に認められた。フジバカマを基源とする生薬には野生型、園芸型両者を区別せず利用している可能性が高く、本研究の結果はそうした場合に品質評価の一助となろう。

謝辞

フジバカマに関して有益なご助言を賜りました神戸大学渡辺邦秋教授に深くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Iwatsuki K., et al (ed.), “Flora of Japan,” Volume IIIb, Kodansha, Tokyo, 1995, pp.110-114.
- 2) Izawa K., “Yakuso Kara Zukan 1,” Shufu no Tomo-Sha,

- Tokyo, 1990, pp. 163–164.
- 3) Namba T., “The encyclopedia of wakan-yaku II,” Hoikusha, Tokyo, 1991, pp.31-33.
 - 4) Kitamura S., Murata G., Hori M., “Genshoku Nihon Shokubutsu Zukan I,” Hoikusha, Tokyo, 1957, pp. 87–88.
 - 5) Environment Agency of Japan, “Threated Wildlife of Japan –Red Data Book 2nd ed.,” Japan Wildlife Research Center, Tokyo, 2000, p. 51.
 - 6) Okada M., “Newly Revised Illustrated Medicinal Plants of the World,” Hokuryukan, Tokyo, 2002, p.557.
 - 7) Ito M., Watanabe K., Kita Y., Kawahara T., Crawford D. J., Yahara T., *J. Plant Res.*, **113**, 79–89 (2000).
 - 8) Kitamura S., *Acta Phytotax. Geobot.*, 12, 99–106 (1943).
 - 9) Murata G., Koyama H., *Acta Phytotax. Geobot.*, 33, 282–301 (1982).
 - 10) Aoba T., “The grand dictionary of horticulture,” Shogakukan, Tokyo, 1988, pp. 317–319.