

コモ（菰）に寄生するクロボキン（黒穂菌）の薬効について 一般薬理学的研究

長坂 淳子^{*,a}, 原 彰^b, 関口 駿一^a, 重信 弘毅^a

^a東邦大学薬学部薬物学教室, ^b名城大学農学部生物化学教室

Ustilago esculenta P. HENN. in *Zizania latifolia*-Parasite —General Pharmacological Study—

JUNKO NAGASAKA,^{*,a} AKIRA HARA,^b
SHUNICHI SEKIGUCHI^a and KOKI SHIGENOBU^a

^aDepartment of Pharmacology, Toho University, School of
Pharmaceutical Sciences, 2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274, Japan

^bFaculty of Agriculture, Meijo University, Shiogamaguchi,
Tempaku-ku, Nagoya, Aichi 468, Japan

(Received March 15, 1994)

A pharmacological study was made on the parasitic fungus, '*Ustilago esculenta* (*U.e.*)' of the Ustilaginaceae Family in the Class of Heterobasidiomycetes. When the plant '*Zizania latifolia*' is infected with *U.e.*, the shoots (or culm) of the plant become swollen. This 'hypertrophied sprout of *Z. latifolia*' is filled with a mass of the sporogenous hyphae of the smut fungus. Chinese people have been cultivating this plant and eating the fungus-infected swollen shoots for more than 400 years.¹⁾ *Zizania latifolia* grows in Japan, and in some area, it is cultivated. It was used as a crude drug from an ancient time.²⁾ Several papers report botanical studies on the host-parasite relationships between the fungus and the plant.³⁾ However, no systematic pharmacological studies on *U.e.* have been reported. Therefore, in the present study, we examined the pharmacological effects of *U.e.* in general using mice. *U.e.* did not cause any marked effects on the general behavior and locomotor activity of mice suggesting that it had no effect on the central nervous system. However, *U.e.* was shown to produce acetylcholine-like reactions on isolated guinea-pig ileal smooth muscles, suggesting that it had some interesting effects on the autonomic nervous system.

Keywords—*Zizania latifolia*; *Ustilago esculenta*; smut; fungi

イネ科植物「コモ（菰）*Zizania latifolia* TURCZ.」に寄生する「クロボキン（黒穂菌）*Ustilago esculenta* P. HENN.」, クロホ属 *Ustilago*, クロボ科 Ustilaginaceae, クロボ菌類 Ustilagineae, クロボ菌目 Ustilaginales, 異担子菌綱 Heterobasidiomycetes, 真菌類 Truefungi^{4-a, b, c)} の菌体凍結乾燥物の H₂O 抽出液の薬理作用をしらべ, 以下の点を明らかにした。

1. 乾燥菌体の H₂O 懸濁液では 300 mg~1 g/kg のマウス腹腔内投与で, 一般行動の抑制ならびに異常と死亡例が見られ, LD₅₀値 (mg/kg) マウス: 腹腔内=300 を得たが, 300 mg/kg 相当の抽出濾過液では死亡例および行動の抑制や異常は全く認められず, 菌体の H₂O 抽出成分は有意な全身毒性を示さないものと考えられた。

また, 懸濁液の 75, 150 mg/kg 投与群では, 自発運動活性および 75 mg/kg hexobarbital 睡眠時間に対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

2. 本抽出液はモルモット回腸で, 容量依存的な収縮作

用を示した。 *U.e.* 濃度 5×10^{-3} g/ml の抽出液による収縮は 10^{-5} M acetylcholine (ACh) による収縮の約 70% であった。この収縮は 10^{-7} M atropine 前処置ではほぼ完全に抑制されたが, chlorpheniramine maleate では 10^{-6} M で抑制されず, 10^{-4} M で抑制された。

3. 回腸収縮反応は, cholinesterase (ChE) 阻害薬 10^{-7} M neostigmine により増強された。

以上の結果より, クロボキン抽出液には, ACh 様の腸管収縮を惹起する物質が含まれているか, 或いは腸管の組織から ACh を遊離させる作用があると考えられる。本菌の共生するコモ抽出物の和漢薬としての効能に, このような物質の作用が関与している可能性が示唆された。

緒 言

イネ科植物（禾本科 Gramineae）に属する多年性の草本「コモ（菰）*Zizania latifolia* TURCZ.」に寄生する「クロボキン *Ustilago esculenta* P. HENN.」（以下 *U.e.* と略す）

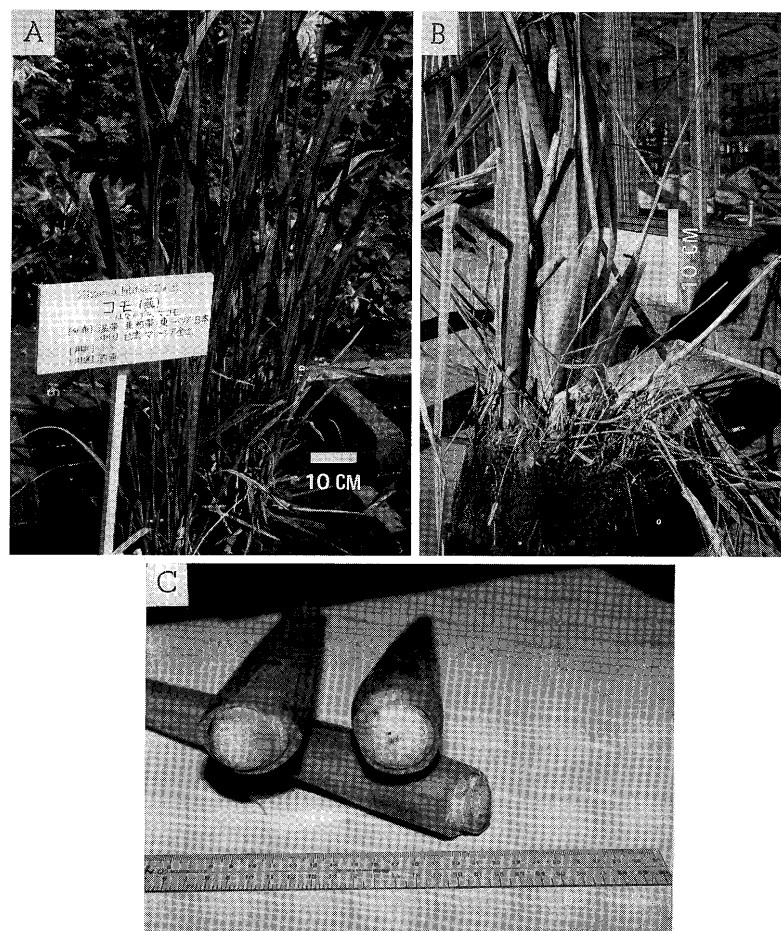


Photo 1. The Plant "*Zizania latifolia* TURCZ." Gramineae

(A) The very newly grown "*Zizania latifolia*" cultivated in the Hoshi College Botanical Garden.^{13-b)} (B) The host-parasite called "makomotake" in Japanese and "jiao sun" in standard Chinese (Mandarin), which is a "hypertrophied sprout of *Zizania latifolia*." The good crop at Meijo University. (C) A big "makono-tate" (called "jiao sun") brought from Formosa.

は1895年ドイツ人のP. Henningsによって発見され命名された^{5-a)}。この母体植物の幼程がこのクロボキンに感染することによって生じたカルス状の物質は「マコモタケ(菰筍)」と呼ばれ、現在中国や台湾などで食用植物として広く好まれている(Photo 1)。もともと「コモ」は東南アジアから東シベリアに亘る亜熱帯-温帯を原産地とし、池や沼地、河川の水ぎわに群生していた。日本では太古の昔から薬草として尊ばれ後に生薬の原料となった^{2, 3, 5, 6-a)}。現代ではこの植物全草(或いは葉)に加工を加えたものが民間療法の一つとして「真菰健康法」といい飲料や浴用に用いられ、自然食、健康食愛好家にその効用が伝承されて利用者が約4万人(昭和55年)いるという^{6-c, e)}。しかし民間療法に対する学術的な根拠は不明である。赤松⁶⁾は「コモ(菰)」の薬用を詳しく記載しており、TABLE Iはそれらを纏めたものである。しかし後の考察で述べる如くTABLE Iの薬効(作用)の幾つか(無毒、利五臓、解酒、

消食、利腸胃、調腸胃、利大小便等)は本研究で得た知見との関連も推測されるが、確定するには更に明細な研究が必要であろう。

科学的には、これまでに「菰」および「クロボキン」について形態学的検索や栄養学的な分析^{3-a, 5-e)}の他、生物化学的研究がなされている^{7-a, b)}。また *Ustilago* 属として植物病理学や菌癭形成上の報告等が残されている^{7-c, d, e)}。また Fischer ら⁸⁾は Pusch (1893) がマウス、燕そして鶏において黒穂孢子(wheat smut spores, *Ustilago* 属)の多量かつ集中的な給餌により激しい胃腸炎を起すこと、また妊娠しているモルモットと畜牛を流産させる(実験結果はない)こと、しかしそれは毒性が妊娠時のみ発現するのであって、常時馬、畜牛、羊、山羊、豚等が長期かつ多量の孢子を食し尽くしても害はないと報告(後に撤回, 1912)している。Thrower ら¹¹⁾はマコモタケ(菰筍)の生成は主として宿主組織内でのオーキシシンとサイトカイニン

TABLE I. The Medical and Therapeutic Effects of *Zizania latifolia* TURCZ., Summarized in Table Form According to the Book "Wakan-Yaku (和漢薬)" Written by Akamatsu K. (赤松金芳) 1970

菰の効用	菰部位			
	菰(菰根)	子実(菰米)	茎瘤(菰筍)	中心茎(菰手)
作用				
無毒	+		+	+
利五蔵			+	
解酒	+			
消食	+			
利腸胃	+			
調腸胃		+		
解煩熱		+		
止渴	+	+		+
利大小便			+	
止小便利	+			
滋人齒				+
微毒				+
応用				
酒毒	+		+	
酒皰			+	
目黄			+	
目赤			+	
腸胃痼熱	+			
煩熱	+		+	
熱痢			+	
胸中浮熱風氣				+
胸中煩	+			
消渴	+			
水痢				+
小兒風瘡	+			
卒心痛			+	
火傷瘡	+			
白癩			+	
癰瘍			+	
毒蛇傷嚙	+			

(auxins and cytokinins) の生産強化が要因であるとしている。然し乍ら総じて黒穂菌についての体系的な薬理学的研究は、いまだなされていないと考えられる。そこで我々はこの植物‘コモ’の薬効の科学的な探索を試み、特に薬効の由来として‘コモ’に寄生する‘クロボキン’ (黒穂菌) に注目し、小動物を用いて以下の一般薬理学的研究を行ったので報告する。

実験材料および方法

実験試料クロボキンの分離培養 (原らによる)^{7-a, b)}

クロボキンの分離培養のフローチャートを Fig. 1 に示す。

培地：クロボキン用に開発された培地は数種類ある^{8-b)}が、我々は Czapeck-Dox 培地法を土台とし、原ら^{7-a)}の基本培地組成を参照して調整した。即ち、培地組成 (単位 g): 1% Agar maintenance medium (pH 6.0): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.0; K_2HPO_4 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5; KCl 0.5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01; Sucrose 20.0; Agar 末 10.0; マコモタケエキス 50 (ml); 精製水にて全量 1 l とする。

これは保存用固形培地の組成であるが、初代と主培養の

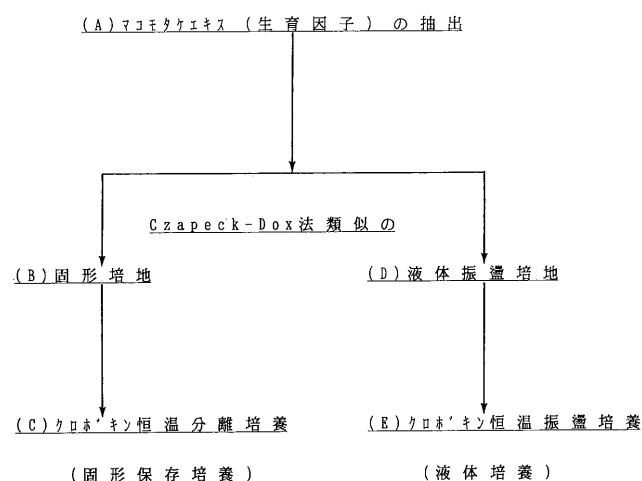


Fig. 1. The Flowchart for the Cultivation of "*Ustilago esculenta*"

液体振盪培養には、この組成から Agar 末を除いた。培地は Autoclave で滅菌後室温に保存した。またマコモタケエキスを加えたので Czapeck-Dox の処方の Sucrose 30 g は 20 g とした。

マコモタケエキス (菰筍の抽出液) の調製：三重県農業

試験場から供与された中国長沙系の品種を名城大学農学部附属農場で栽培し、10月中旬にマコモタケを収穫した。胞子を生じたマコモタケを細断 (slice) し、60~80℃で温風還流乾燥して得た乾燥マコモタケにその体積の20倍量の水を加え30分間煮沸還流抽出した後、1cm厚に固めたる紙パルプで濾過した。このマコモタケエキスを生育因子として培地に添加した。

クロボキンの分離：上記マコモタケの皮を除き、表面を70% alcoholで完全消毒し、黒穂胞子のある小片を培地に移植し、継代保存培養に供した。

培養条件：継代保存培養は25℃のインキュベーターで行った。初代培養は500mlの坂口式振盪フラスコに150mlの培地を加え、保存菌を添加して25℃、3日間の往復振盪培養 (振幅45mm, 100回/分) を行った。

主培養は同様に500mlの坂口式振盪フラスコに150mlの培地を加え、初代培養菌液10mlを添加し、25℃、7日間の往復振盪培養 (振幅45mm, 100回/分) を行った。

クロボキンの確認

① 上記黒穂菌分離の際、その黒穂胞子を検鏡した時、胞子は10 μ m前後の、暗褐色の球形または楕円形で表面に多数の突起を有した。これは文献^{4-a)}に合致する。

② 恒温槽内振盪培養、24時間後の *U.e.* は培養液中にあって、既にコロニーが肉眼的に観察された。これは、3日後には培養液中でマリモ様の球状コロニーとなって多数観察された。これを *U.e.* の菌糸体 mycelium (菌糸の集合体) と見做し採種した。

③ 水洗を繰り返した後この菌糸体をほぐし、400倍の検鏡下、スライド上カバーガラス下に一定量の水の層の中に固定して観察した *U.e.* は、その濃い部分は‘林’の様或いは‘森’を視る如くであり、その極くまばらの部分を、光度を上げて視ると *U.e.* の形態は棒状 (糸状細胞)、前菌糸 promycelium であった。その長さは一様ではなく長いものは隔壁があり1列の数個の細胞から成り、所々分岐して別の細胞が続いた。更に枝分かれして菌糸の蔓延する様を見せていた。これは文献に一前菌糸には隔壁を欠くもの、3個または不定数個の隔壁を持つもの、単純な形のもの、不規則に分岐したものなどいろいろなものがある等^{4-r)}、また前菌糸は横列し小生子はその隔壁の部分と先端に出来る^{4-r)}、小生子を頂生及び側生す^{4-a, r)}とある通りである。更に図^{4-a)}に一致する。

④ 検鏡下に観察した小生子の数が不定である点に‘異担子菌の特性’を認めた。一各子柄上に生ずる分生子数 (小生子に同じ) は各種毎に常に一定し、栄養の状態に因り、差異を生ずること無し (黒穂菌類を除く)^{4-d)}とある通りである。

⑤ 次に、更に4日後 (培養1週間後) の検鏡で観察した *U.e.* は棒状の菌糸は存在せず、所々で集合しているが、

大小無数の米粒様形態の粒子が概ねばらばらで観察された。これは *U.e.* が豊かな栄養-液体培地の中で多数の小生子を生じそれらが更に酵母状に繁殖した結果の状態と解釈出来る。文献中の第194図^{24-a)}に同じである。

培養で得たクロボキンを遠心分離による水洗浄を3回繰り返した後、凍結乾燥をしてデシケーター内で保存し以下の実験に供した。

実験 I. マウスの行動および全身症状に及ぼす *U.e.* 投与の影響

実験 I-1. 全身症状および死亡率の検討 (懸濁液)

実験動物：体重25.1~35.3gの6週齢 ddY 系雄性マウス (東京実験動物より購入) を1群6匹として4群使用した。

被験薬物：コモクロボキン (*U.e.*) 菌体。

薬物投与：*U.e.* 菌体を、各々生理食塩水に懸濁し、その均一な状態の懸濁液を腹腔内に0.1~0.4ml/10g体重の範囲で注射して死亡率および全身症状を観察した。試験した用量は300mg/kg, 600mg/kg, 1g/kgである。対照群には生理食塩水を腹腔内に注射した。

実験 I-2. 全身症状および死亡率の検討 (抽出液)

実験動物：体重28.5~36.5gの6週齢 ddY 系マウス雌性 (12匹) 雄性 (6匹) (船橋農場より購入) を、*U.e.* には1群6匹として2群、対照群には1群3匹として2群を使用した。

被験薬物：コモクロボキン菌体。

薬物投与：*U.e.* 菌体150mg/kg, 300mg/kg相当を4℃にてTyrode溶液に20時間浸漬したのち菌体を遠心分離により除去した抽出液 (pH 6.9) を腹腔内に投与して全身症状を観察した。対照群にはTyrode溶液 (pH 6.9) を腹腔内に投与した。

実験 I-3. マウスの自発運動活性に及ぼす *U.e.* 投与の影響

実験動物：体重25~28gの6週齢 ddY 系雄性マウス (東京実験動物より購入) を1群6匹として3群使用した。

被験薬物の投与：*U.e.* 菌体75mg/kg, 150mg/kg相当を生理食塩液に懸濁し、容量0.63~0.73ml (0.35ml/10g体重 (=0.1~0.4ml/10g bwの範囲) である) を腹腔内投与した。対照群は生理食塩液を一様に0.6ml腹腔内投与した。

測定操作：群大式 Tilting cage 法によりマウスの自発運動量 (spontaneous motor activity : SMA) を測定した。locomotor count の記録には Ambrometer NEC PC-8801 mkII を使用した。室温22±1℃の動物室で1日の予備飼育後、測定用ケージに入れて30分間馴化した後に被験薬物 *U.e.* を腹腔内に投与した。adjustation 30分 (馴化)、測定間隔10分、最長時間180分、計21回測定として入力し、locomotor activity を記録した。(特に投与時

間がかかった場合、その10~20分=1~2回の測定時間を加えて入力した。) 対照群には生理食塩水を腹腔内投与した。

実験 I-4. *U.e.* 投与によるマウスの hexobarbital 睡眠延長効果の有無の検討

実験動物：体重 24.5~29.9 g の 6 週齢 ddY 系雄性マウス (東京実験動物より購入) を 1 群 10 匹として 3 群使用した。

被験薬物の投与：*U.e.* の生理食塩水懸濁液を腹腔内に投与した。試験した用量は 75 mg/kg である。対照群には hexobarbital 100 mg/kg 相当量を皮下に投与した (pH 11)。

試薬：hexobarbital 100 mg/kg.

操作：① *U.e.* 処置群は、*U.e.* 75 mg/kg を腹腔内に投与し 30 分後に、生理食塩液に溶解した hexobarbital 100 mg/kg を皮下に注射した。②対照群 10 匹には hexobarbital のみを皮下に注射した。③マウスにおける正向反射の消失の時間、発現までの時間を測り、睡眠導入および睡眠持続時間を測定した。

実験 II. モルモット摘出回腸平滑筋の収縮反応に及ぼす *U.e.* 投与の影響

実験動物：体重 300~600 g の Hartley 系雄性モルモット (船橋農場より購入) を用いた。

被験薬物：*U.e.* は Tyrode 溶液を用い 80~85℃ で調製抽出し、抽出懸濁液、抽出上澄液、また抽出濾過液三通りの投与液を試験した。

対照試薬：acetylcholine (ACh) dichloride, atropine sulfate, histamine dihydrochloride, chlorpheniramine maleate, neostigmine bromide.

実験方法：① 常法 (マグヌス法) に従いモルモット摘出回腸平滑筋標本を栄養液中に懸垂し、等張性 (isotonic) に、収縮弛緩を観察した。Organ bath 容量 10 ml, 恒温 27℃, 通気は空気とした。測定機器：isotonic-Transducer No. 20288, Thermal array recorder 90Y103, DC Amplifier (日本光電)；Pen recorder (日立製作所)。

② 被験薬物：*U.e.* 濃度 10^{-2} および 3×10^{-2} g/ml 相当の懸濁液を調製した。すなわち秤量した *U.e.* を乳鉢で微粉末とした後に約 80℃ で Tyrode 栄養液を加え良く攪拌し 1~2 時間放置、均一な懸濁物 (沈澱する) を確認した後、濾紙にて濾過し淡黄色透明抽出液を得た。一部の試験では均一な懸濁液そのままを供した。この調製原液より 10 倍希釈を繰り返し累積投与液を調製した。 10^{-2} g/ml 液の pH は 6.35, 10^{-3} g/ml 液の浸透圧は 299 mOsm (cf. saline Osmolality : 284) であった。

U.e. 累積投与濃度範囲： 10^{-6} ~ 5×10^{-3} および 3×10^{-8} ~ 5.4×10^{-3} g/ml (final bath 濃度)。

比較対照試薬濃度：ACh 10^{-7} M; atropine 10^{-9} , 10^{-7} M;

histamine 10^{-7} M; chlorpheniramine maleate 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M; neostigmine bromide 10^{-9} , 10^{-7} , 10^{-6} M (final bath 濃度)。

栄養液 Tyrode 液の組成 (単位 mm): NaCl 137.0; KCl 2.70; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.50; MgCl_2 1.00; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.40; NaHCO_3 2.50; Glucose 5.50.

標本作成：回腸の回盲部から約 30 cm 上部 15~25 cm の範囲で 3 本の標本を作成した。

実験結果

1. 抽出液の性状

凍結乾燥した試料のクロボキンは灰淡褐色で、水に溶解しにくい部分 (菌体) が多く、懸濁液は粘性高く、付着性がある。また菌体は一種の微粒子であるため懸濁液は容易に沈澱を生じるものの、上澄液は透明には成り難い。

実験 II でクロボキンの凍結乾燥品を Tyrode 液に懸濁させ 24 時間冷蔵放置の後、冷却高速遠心機 (RS-181V) で 2℃, 12,000 r.p.m. ($11,000 \times g$), 10 分間の遠心分離を行ったところ、やや濁ってはいたが上澄液が得られ、更に $0.45 \mu\text{m}$ のフィルターで濾過したところ、濾液は淡黄色透明な抽出液となった。

実験 I-1, I-3, I-4 はクロボキンを懸濁液、I-2 では抽出液を用いて行った。後述するように I-1 と I-2 については異なる結果を得たが、実験 II では、透明抽出液と懸濁液の両方を用いたところ同様の作用を認めた。

2. 実験 I. *U.e.* 腹腔内投与後のマウスの行動および全身症状

実験 I-1.

最高用量 1 g/kg i.p. で、投与直後は対照との相違は見られなかったが、2 時間後には、対照群は行動正常 (hanging, standing, running, walking, self-grooming, scratching, body etc.), 食欲旺盛 (drinking, eating) となったのに反し、*U.e.* 投与群は動きは少なくなり腹部着床 (lying) 例も認めた。24 時間以内に 6 例中 5 例が死亡し、48 時間以内に残りの 1 例も死亡した。死亡に至る経過では、よろめき歩行 (staggering gait), うずくまり (crouching), 腹部着床 (lying), 眼瞼下垂 (ptosis), 流涙 (lacrimation), 下痢 (diarrhea), 心拍動増強 (あらい呼吸) 等を認めた。

U.e. 投与群 600 mg/kg と 1 g/kg の内 6 例について、死亡の直前 (瀕死状態のマウスを切迫屠殺したもの) と直後に解剖を行ったところ、大量の菌体が腹腔内に貯留しており腸の一部癒着が見られた。

本実験での死亡率は下記の通りである。平均値 $n=12$

投与量	75 (mg/kg)	150	300	600
死亡率	0/12	4/12	7/12	11/12

実験 I-2.

150, 300 mg/kg 相当の菌体 Tyrode 溶液抽出液のマウ

ス腹腔内投与では、投与後 72 時間までの死亡例はなく、一般行動の異常も対照群と比較して全く見られなかった。更に投与後 216 時間 (9 日目) でも死亡例はなく、体重の変化もなかった (Fig. 2)。

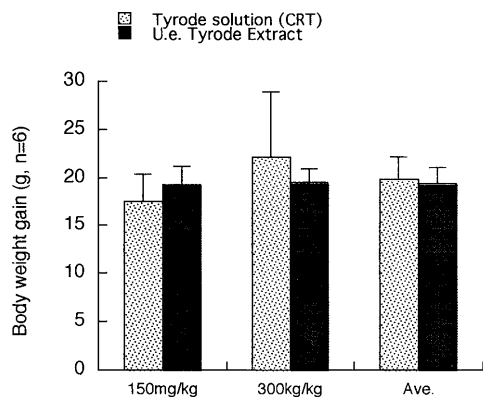


Fig. 2. Body-Weight Gain of ddY Mice Treated with *Ustilago esculenta* at 150 and 300 mg/kg and That with the Same Doses of Tyrode Solution (Control)

The corresponding values (*U.e.*-treatment and control) in both experiments (150 mg and 300 mg/kg) were averaged, which is shown in "Ave." Each column represents the mean $\pm$ S.E. (*U.e.* $n=6$).

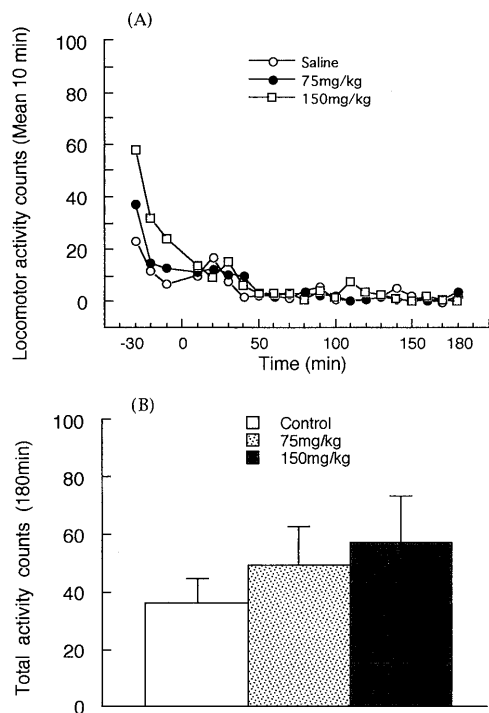


Fig. 3. (A) Locomotor Activity of ddY Mice during 180 min Test Period

Following 30 min habituation period, animals were treated with *Ustilago esculenta* and saline (control). No significant difference was found between both groups.

(B) Total Locomotor Activity Counts in *Ustilago esculenta*-Treated and Control Groups, Which Were not Significantly Different

実験 I-3. 自発運動量に対する *U.e.* の作用

10 分間毎に測定した locomotor activity counts (mean $n=6$) は 180 分の経過を通し、*U.e.* 投与群 (75 および 150 mg/kg) と対照群 (saline) に有意な差は認められなかった (Fig. 3-A). また 180 分間の total activity も濃度に依存して増加傾向は認められるものの、有意ではなかった (Fig. 3-B).

実験 I-4. hexobarbital 睡眠延長効果

U.e. 75 mg/kg 腹腔内投与群と対照群間で、hexobarbital 睡眠導入時間および持続時間に有意差はなかった (Fig. 4).

実験 II. *U.e.* のモルモット摘出回腸平滑筋に対する作用

① *U.e.* の Tyrode 抽出液は緩徐で持続の長い収縮を惹起した (Fig. 5-A). この作用は懸濁液、遠沈上澄液のいずれでも同様であった。即ち、懸濁液、透明な濾液共にモルモット摘出回腸平滑筋に対して同様の収縮作用を示すことが認められた (Fig. 5-B).

② モルモット摘出回腸平滑筋標本において *U.e.* 存在下では、ACh の収縮力が増加された (Fig. 5-C).

③ *U.e.* は、モルモット摘出回腸に対して著明な収縮反応を惹起し、その最大反応 (5×10^{-3} g/ml *U.e.*) は ACh

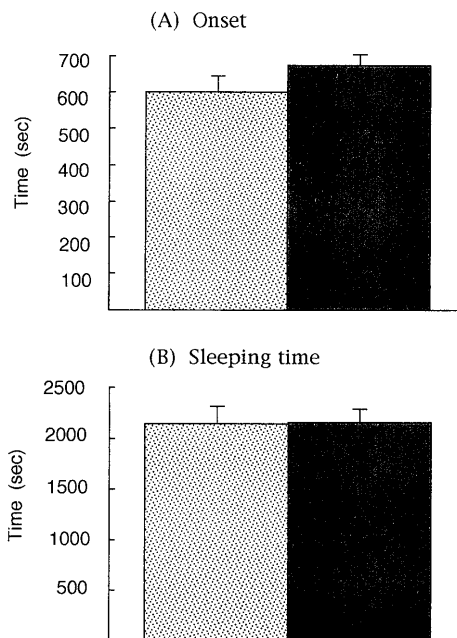


Fig. 4. Influence of *Ustilago esculenta* on the Time of Onset (A) and Duration (B) of the Sleep Induced by Hexobarbital Bromide (100 mg/kg) Subcutaneously Injected to Each Group

Corresponding saline groups were only treated with hexobarbital bromide. □ Control (100 mg/kg hexobarbital) and ■ (75 mg/kg *U.e.* + 100 mg/kg hexobarbital). Both parameters were not significantly different between control and treated groups.

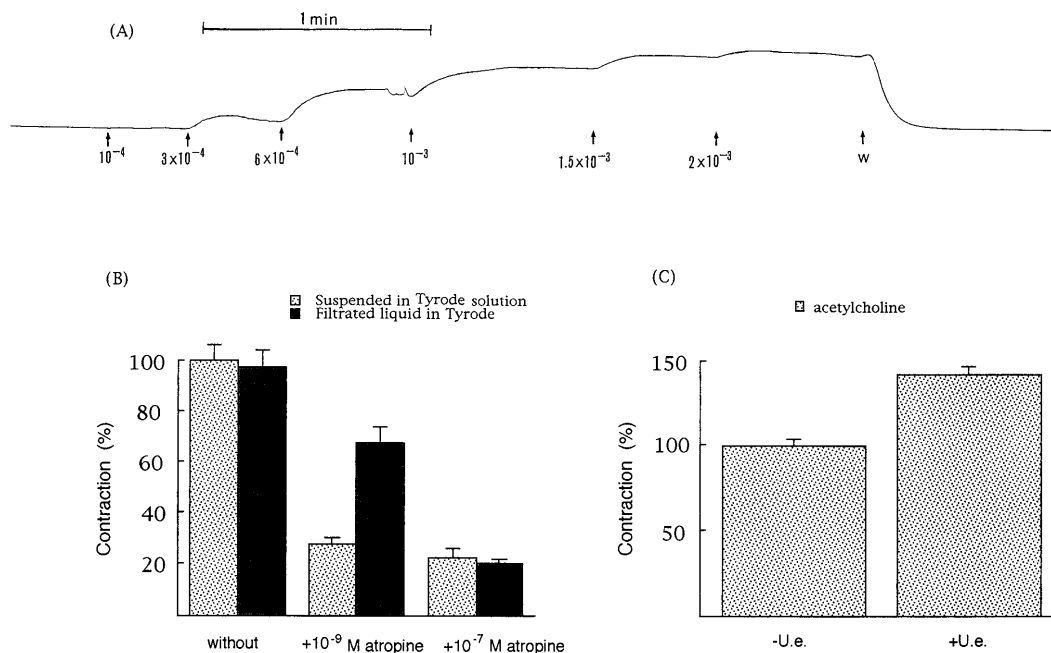


Fig. 5. (A) Representative Trace of Contractions of Guinea-Pig Ileum Induced by Filtered Liquid of *U.e.* Extract

The contraction was sustained for more than 3 h unless the preparation was washed (not shown).

(B) Contractions of Guinea-Pig Ileum Induced by Suspended Solution of *Ustilago esculenta* and Filtered Liquid of *U.e.* Extract, and Their Inhibition by Atropine (10^{-9} M, 10^{-7} M)

Ordinate: contraction as expressed by % of maximum contraction produced by *U.e.* suspension in the absence of atropine. Each column represents the mean $\pm$ S.E. ($n=5$).

(C) Influence of the *Ustilago esculenta* Liquid (10^{-2} g/ml) Extracted with Tyrode Solution on the Acetylcholine (10^{-7} M)-Induced Contraction of Guinea-Pig Ileum

Ordinate: contraction as expressed by % of control contraction produced by 10^{-7} M acetylcholine in the absence of *U.e.* Each column represents the mean $\pm$ S.E. ($n=8$).

の最大反応 (10^{-5} M) の約 70%であることが認められた。また, *U.e.* の作用は atropine の前処置により濃度依存的に抑制された (Fig. 6-A)。

④ histamine 10^{-7} M を対照薬とするとき, モルモット摘出回腸に対して *U.e.* は 4.5×10^{-3} g/ml の濃度で histamine の 80%以上 ($n=8$) の収縮反応を惹起することが認められた (Fig. 7-A)。また histamine の作用は chlorpheniramine 10^{-6} M の前処置ではほぼ完全に抑制されたが *U.e.* の作用は 10^{-6} M の chlorpheniramine の前処置では影響されなかった (Fig. 7)。そして 10^{-4} M の chlorpheniramine 前処置では抑制された (Fig. 8-A)。しかしながら ACh の作用も, 10^{-4} M の chlorpheniramine の前処置で同程度に抑制されたこと (Fig. 8-B) からこれらの抑制は chlorpheniramine の atropine 様作用によるものと考えられる。

⑤ *U.e.* の回腸収縮反応は, ChE 阻害薬の neostigmine 10^{-7} M 以上の濃度により増強されることを認めた (Fig. 9-A)。neostigmine 10^{-7} M による増強作用を, 単回投与により, *U.e.* と ACh と比較した結果を Fig. 9-B に示す。

考 察

植物 ‘コモ’ の薬効は古い文献に記録がある。赤松^{6-a)}

に基づきその薬能を表に纏めた (TABLE I)。また国会図書館古典籍資料室貴重書として所蔵されている『古文書』—中国の医学書—にも, ①菰筍の主治 (=作用) として “酒毒を解し, 丹石の毒発を圧する”^{2,10)}, ②“成熟菰筍に生成する黒ゴマ様のものを ‘まこもずみ’ や ‘烏鬱 (コモノズミ)’ と称して婦人の髪に塗るもの”^{2-c)}, ③“烏鬱を婦人の黛として甚だよし, 茎根を焼いて灰にしたもの亦佳し, 油にまぜて禿に塗れば毛髪を生やし得”^{2-b)} 等多くの記載がある。①②③は原文のまま或いは校定国譯文^{2-d)} から記した。

また最も古くは Hippocrates (460?~377? B.C.) に ‘コモ’ と同族植物である ‘アシ’ *Phragmites communis* の管状の茎について, 医療器具としての用途や「第三巻 植物注釈」には “畑や海岸などに多く育成するイネ科多年生雑草に温める作用があり, 特に痢疾薬として用いられた”と言及している⁹⁾。Dioscorides (第一世紀頃 A.D.) には沼地などに生える ‘ガマ’ *Typha latifolia* の花 Panicula が “火傷治療に良い” ことが記されており¹⁰⁾, これら同類の植物についての記録は日本の神話 (古事記) にある大国主命と因幡の白兔の火傷治療の話の思い出させる。

以上のごとく薬草として, 古くは生薬として, 今では民

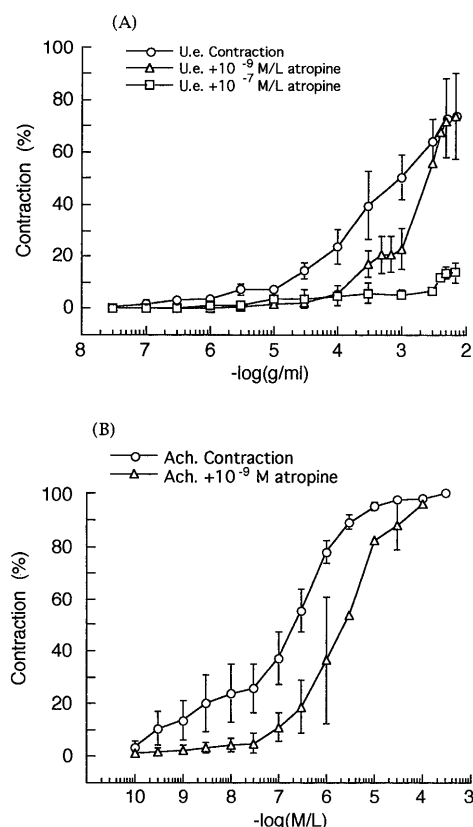


Fig. 6. (A) Contraction of Guinea-Pig Ileum by the Extract of *Ustilago esculenta* as Expressed by % of ACh (10⁻⁷ M)-Induced Contraction with or without Atropine Sulfate
(B) Contraction of Guinea-Pig Ileum by Acetylcholine as Expressed by % of Maximum Contraction with or without Atropine

間薬, 自然食品として取り扱われているが, 上述の作用についての記述の多くは, 宿主である植物本体と, その寄生菌との区別を必ずしも明確にしておらず (赤松)⁹⁾, 或いは菌体をもって主効とするものもある¹¹⁾. そこで我々は今回の研究において, 特にマコモタケ (菰筍) に注目し, 寄生するクロボキンについての薬理学的検討を行った. なお生物界にはコモ-クロボキンの外に, クロボキンと称せられる類のもの (クロボキン目 Ustilaginales) は多数存在している¹²⁾.

上記文献の効能書きに口渴の抑制, 解熱等の記載があるので中枢作用が考えられるところであるが, クロボキン 150 mg/kg の懸濁液ではマウスの一般行動, 自発運動量に, また 75 mg/kg で hexobarbital 睡眠時間に対していずれも影響を与えなかった (Fig. 3, 4). さらに, 抽出液を用いて 300 mg/kg を腹腔内に投与しても全身症状に特記すべき変化が見られなかったことより, 本菌の抽出物は少なくとも急性効果としては見るべき中枢作用を有さないものと考えられる.

一方, '菰' の効能書きには整腸, 消化, 解毒作用など消

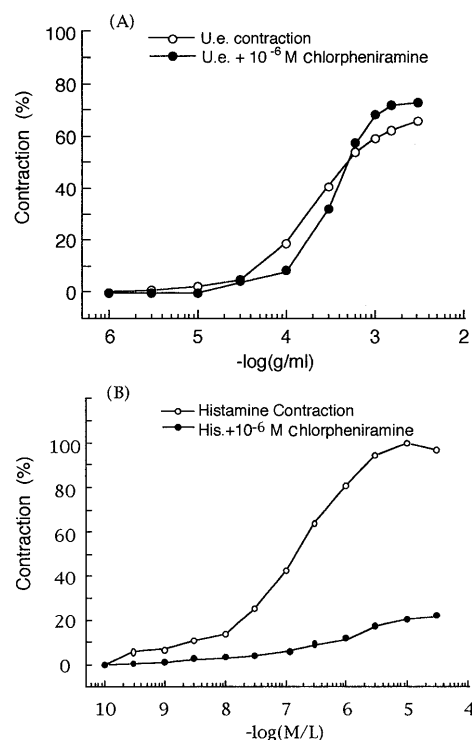


Fig. 7. (A) Contractile Responses of Guinea-Pig Ileum to the Extract of *Ustilago esculenta* as Expressed by % of Histamine (10⁻⁷ M)-Induced Contraction in the Presence or Absence of 10⁻⁶ M Chlorpheniramine Maleate
(B) Contractile Responses to Histamine as Expressed by % of Maximum Contraction in the Presence or Absence of 10⁻⁶ M Chlorpheniramine

化管系に対する作用が記載されている. そこで黒穂菌の腸管に及ぼす作用を調べた. 即ち常法 (マグヌス法) により, モルモット摘出回腸を用いてクロボキンの消化管平滑筋収縮作用について薬理学的検討を加えた.

その結果 ACh に似た作用を持つことが明らかになった. これは atropine で拮抗されること, 更に ChE 阻害薬 neostigmine の前処置で増強されることから推察される. ACh 収縮反応が, atropine で拮抗され neostigmine 前処置で増強されることは本研究でも確認した (Fig. 6, 9). またクロボキンの作用は低濃度の chlorpheniramine により影響を受けないことより histamine 或いは histamine 受容体 (H₁) を介する物質の反応とは考えられない. chlorpheniramine は, 高濃度においては atropin 様作用を示すので, クロボキンの作用が chlorpheniramine 10⁻⁴ M で減弱したのはおそらく抗コリン効果によるものであろう (Fig. 8-A). 高濃度 chlorpheniramine の ACh に対する抗コリン作用も確認した (Fig. 8-B).

本物質クロボキンが熱に安定であることより, タンパク質とは考えられず, ACh 以外とすればおそらく peptide (ペプチド) 或いは低分子の alkaloid のようなものかも知れない. 水溶性の部分は配糖体で存在しているのかも知れ

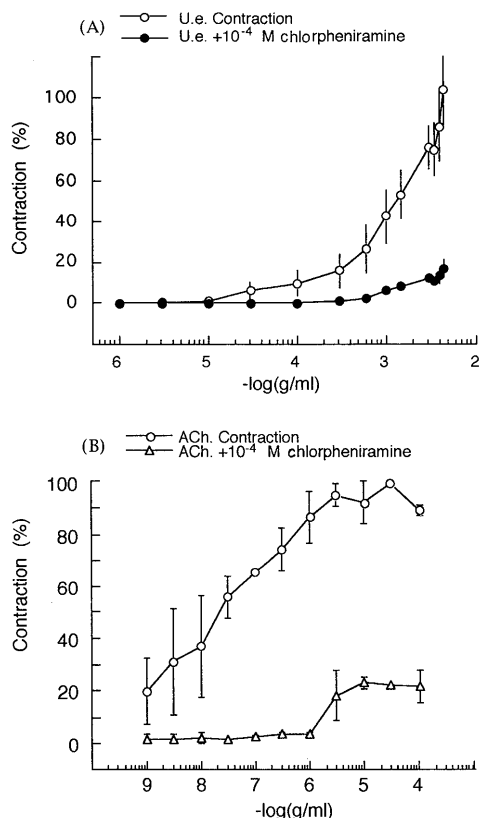


Fig. 8. Responses both to *U.e.* (A) and ACh (B) in the Presence of High Concentration (10^{-4} M) of chlorpheniramine

Ordinate: contraction as expressed by % of histamine (10^{-7} M)-induced contraction (A) and of maximum contraction produced by ACh (B).

ない。但し本研究の結果からはクロボキンがACh様作用を示す物質そのものなのか或いは、モルモットの回腸組織よりAChの遊離を促す物質であるのかは決められない。

クロボキン抽出物のモルモット回腸収縮作用はそれほど強いものではない。今回の実験では、*U.e.* 濃度 5×10^{-3} g/ml により、ACh 10^{-7} M の約 70% の収縮にとどまった。作用の発現は比較的なだらかなであり、一方持続的であった (Fig. 5-A)。多くの生薬に共通して見られる効果が緩徐かつ持続性であることを考えると、本菌の作用は興味深い。このような作用の特性から見て、回腸の収縮をもたらすものはACh そのものではない可能性が高い。本研究は第一段階のものであり、回腸収縮物質の抽出、同定等には至らなかったが、古典における記載の意義を明らかにする第一歩の研究として、今後は活性物質の同定がなされるべきであろう。

結 論

‘菰’に寄生する‘黒穂菌’の水抽出液は直接的な中枢作用は有しないが、モルモット回腸を収縮させるアセチルコリン様の作用を示すことを明らかにした。この抽出液の作

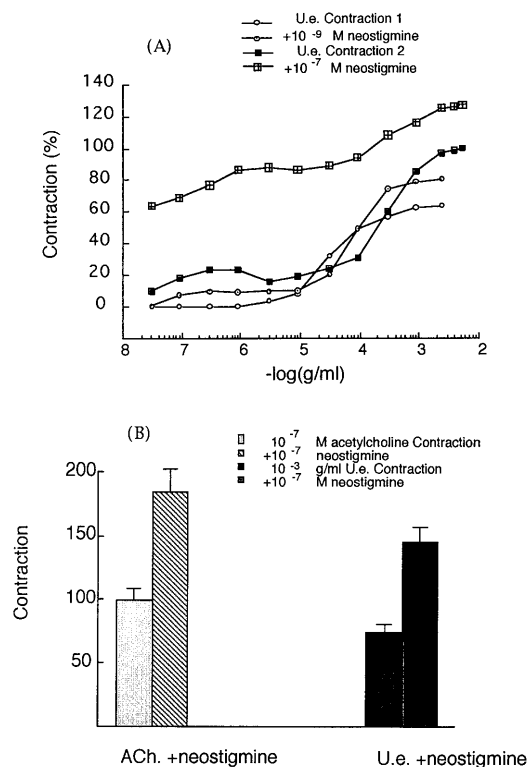


Fig. 9. Enhancement of the Response of Guinea-Pig Ileum to *Ustilago esculenta* by Neostigmine

(A) Two separate experiments were made (contraction 1 and 2) in the absence or presence of neostigmine (10^{-9} M, 10^{-7} M). Ordinate: contraction as expressed by % of contraction 2 in the absence of neostigmine. (B) Effects of neostigmine (10^{-7} M) on the *U.e.* and ACh-induced contractions. Ordinate: contraction as expressed by % of ACh (10^{-7})-induced contraction in the absence of neostigmine.

用はアトロピンにより抑制され、ネオスチグミンで増強されるので、次の可能性が考えられる。

1. 抽出液中にアセチルコリンそのものが含まれている。
2. ムスカリン様アセチルコリン受容体に作用するアゴニストに類する物質が含まれている。かつ、存在様式は熱に安定である。
3. モルモット回腸よりアセチルコリンの遊離を促す物質が含まれている。

なおこの作用は生薬に特徴的な、緩和で複雑かつ持続的であるという特性を持つ。従って、この薬効を薬理学的に単純明確に捕らえることは困難であるが、興味深いものとする。

謝 辞：原稿を終えるにあたり、本研究試料クロボキンの培養にご協力戴いた名城大学 船隈 透助教授に深謝致します。また本研究の遂行に終始ご助言を賜りました池本文彦博士（万有製薬 K.K.）並びに、本研究初期に所属しお世話になった星薬科大学 柳浦才三名誉教授、三澤美和教授、鈴木 勉助教授、

および同大学諸先生方また范姜宏仁氏（中外製薬 K.K.），鈴木阿希美氏（スミスクラインビーチャム K.K.），Mr. D. Tuazon（Prof., Univ. of the Philippines），長坂安子氏（聖路加国際病院）に深く謝意を表します。更に本研究完成にご協力戴いた東邦大学 高橋澄子，田中 光両講師また縣 直樹氏（メルシャン K.K.），高木則和氏（宇部興産 K.K.）に厚く御礼を申し上げます。

引用文献

- 1) L. B. Thrower, Y. S. Chan, *Economic Bot.*, **34**, 20, Dep. Biol., Chinese Univ. Hong Kong, Shatin, Hong Kong (1980).
- 2) a) 李 時珍, “本草綱目 卷十九, 草部”, 四 (1590~1954), 1596; b) 寺島良安, “和漢三才図会 卷之九十七, 水草類”, 1713; c) 岩崎濯園, “本草図譜 卷之三十, 十八, 菰”, 1844, a); b); c) 各国立国会図書館支部上野図書館所蔵; d) 木村康一, “新註校定國譯本草綱目, 第六冊, 第十九卷, 菰, 第七札, 穀部, 第二三卷, 菰米”, 1931 (白井光太郎校註, 鈴木真海訳, 春陽堂, 昭 4-9).
- 3) a) 奥村音三郎, 東京化学会誌 (報文), 第三十九帙, 983, 台湾産食用植物の研究 第一報, 台湾総督府農事試験場, 農芸化学部 (1918); b) L. H. Pammel, “Manual of Poisonous Plants,” Iowa State College, Torch Press, 1911.
- 4) a) 伊藤誠哉, “大日本菌類誌”, 第貳卷, 第壹号, 養賢堂, 1936, p. 24; b) 伊藤誠哉, “日本菌類誌”, 第二卷 3 号, 養賢堂, 1950; c) 伊藤誠哉, “日本菌類誌”, 第二卷 4 号, 養賢堂, 1955; d) 池野成一郎, “植物系統学”, 下卷, 裳華堂, 1948, p. 292; e) 山口和夫, 山口辰良, “最新 応用微生物学入門”, 技報堂, 1973; f) 井上 浩, 岩槻邦男, 柏谷博之, 田村道夫, 堀田 満, 三浦宏一郎, 山岸高旺, “植物系統分類の基礎”, 図鑑の北隆館, 1975; g) 小林義雄, “図説菌類学”, 廣川書店, 1985, p. 182.
- 5) a) P. Hennings, *Hedwigia*, **34**, 10, Botanische Museum, Berlin III (1895); b) 宮部金吾, 植物学雑誌, 第 99 号, 196 (1895); c) 宮部金吾, 動物学雑誌, 第 78 号 (1895); d) S. Hori, *Annales Mycologie*, **5**, 150 (1907); e) 川上龍弥, 東京化学会誌, **34**, 982 (1911); f) 川上龍弥, 台湾総督府農事試験場特別報告, 第二号, 109 (1911).
- 6) a) 赤松金芳, “新訂 和漢薬”, 医歯薬出版, 1970; b) 佐島英雄, *Bull. Water Plant Soc., Jpn.*, **18**, 17 (1984); c) 中村重正, 農業構造問題研究, 第 147 号, 別冊 (1985); d) 東邦大学薬学部編 [帝国女子医学薬学専門学校], “日本民間薬草集覧”, かのう書房, 1985; e) 原 彰, 船隈 透, 名城大学農場報, **3**, 78 (1987).
- 7) a) 原 彰, 川口一臣, 船隈 透, 名城大学農学報, **16**, 6 (1980); b) T. Funaguma, Y. Kawamura, A. Hara, *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2117 (1982); c) E. J. Trione, *Phytopathology*, May, 592 (1964); d) E. J. Trione, *Am. J. Bot.*, **61**, 914 (1974); e) R. F. N. Langdon, R. A. Fullerton, *Aust. J. Bot.*, **23**, 915 (1975).
- 8) a) G. W. Fischer, C. S. Holton, “Biology and Control of Smut Fungi,” The Ronald Press, N.Y., 1957, pp. 377-392; b) G. W. Fischer, C. S. Holton, “Biology and Control of Smut Fungi,” The Ronald Press, N.Y., 1957, p. 622.
- 9) ヒポクラテス (460?~377? B.C.), “ヒポクラテス全集”, 疾病について, 第二巻-26 (70), 第三巻, 植物 注釈, エンタプライズ.
- 10) ディオスコリデウス (第 1 世紀頃 A.D.), “ディオスコリデスの薬物誌”, 133 巻, エンタプライズ, p. 426.
- 11) 劉 波, 難波恒雄, 布目慎男訳, “中国の薬用菌類”, ミドリ書房, 1982.
- 12) a) 中野政弘, “カビへの招待”, 研成社, 1990; b) 大谷吉雄, “きのこーその見分け方ー”, 北隆館, 1968; c) 塩川勝利, 政田正弘, 大具和博, 福島和雄, 田村五郎, 日本農芸化学会誌, **64**, no. 03, 大会講演要旨, 495 (1990); d) 梅原 裕, “原生真菰を科学で探る”, 文理書院, 1990.
- 13) a) 環境庁自然保護局編, “植物目録”, まこも整理番号, 72640, 1987; b) 星薬科大学薬用植物園, “植物目録”, 1991, p. 17.