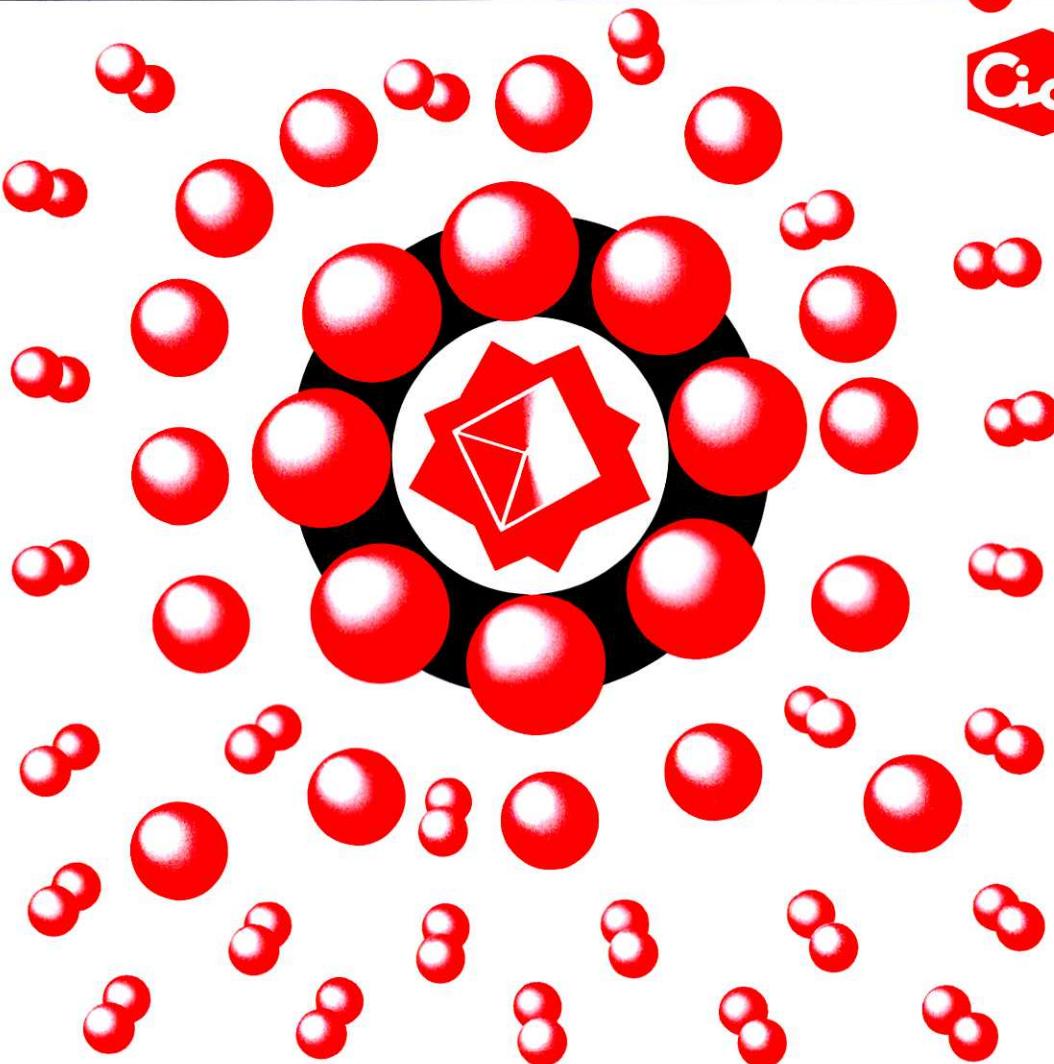


# THE

# CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446  
KANTO CHEMICAL CO., INC.  
2000 No. 2 (通巻176号)



## 目 次

キノコ類の薬効・食効とその利用性(12) ..... 水野 卓	2
Ⅶ. 桑黄、ソウオウ、メシマコブタケ	
医療における薬物分析 ..... 江藤 精二	13
Therapeutic Drug Monitoring から派生した基礎的研究(III)	
ミルクオリゴ糖(乳中少糖)の比較生化学(VI) ..... 斎藤 忠夫	18
イヌ乳ラクトース硫酸の発見とその利用性 ..... 浦島 国	
TFT-LCD プロセス技術と最新ITOエッティング技術 ..... 林 秀和	22
編集後記 ..... 24	

# キノコ類の薬効・食効とその利用(12)\*

静岡大学名誉教授 農学博士 水野 卓

## XII. 桑黄, ソウオウ, メシマコブタケ

中国名 桑黄(Song gen), 桑黃茸, 桑臣, 桑耳, 胡孫眼, 桑蛾, 針層孔菌, 木質泥茸

学名 *Phellinus linteus* (BERK. et CURT.) AOSHIMA

*Phellinus linteus* (BERK. et CURT.) TENG

*Phellinus yucatensis* (MURR.) IMAZ

担子菌亜門 (Basidiomycotina), 帽菌亜綱 (Hymenomycetidae), ヒダナシタケ目 (Aphylophorales) タバコウロコタケ科 (Hymenochaetaceae) キコブタケ属に分類される菌類として *Phellinus igniarius* (キコブタケ, 馬糞泥茸), *P. gilvus* (ネンドタケ), *P. gilvooides* (ネンドタケモドキ), *P. hartigi* (モミサルノコシカケ) などが知られている。さるのこしきけ科 (Polyporaceae), きこぶたけ科 (Mucronoporeceae) と近縁である。

### 目次

- まえがき
- 1. 桑黄 (メシマコブ) とは
- 2. メシマコブ菌の分離と培養・栽培
- 3. メシマコブ子実体 (桑黄) と菌糸体の化学成分
- 4. 桑黄多糖の分画・精製
- 5. 子実体多糖の抗腫瘍性

- 6. 培養菌糸体熱水可溶多糖の抗腫瘍性
- 7. 培養菌糸体から多糖の抽出と製品開発
- 8. メシマコブ投与の基礎研究と臨床例
- 9. 桑黄の薬効 (食効)
- 10. 煎じ方と服用法
- 参考文献

### まえがき

サルノコシカケ (さるのこしきけ科のキノコ) がガンに効くとの古くからの伝承が、科学的に証明されつつある。薬効を顯す本体が  $\beta$ -D-グルカンなどの高分子多糖体であり、そのメカニズムは生物体に備わっている免疫機能の賦活にあることが判明した。副作用の無いガンの特効薬 (化学療法剤) の出現は21世紀を待たざるをえなくなった現在、免疫療法剤の一つ (BRM, Biological Response Modifiers) として、きのこ類の和漢薬的な利用法が注目されている。

日本では、多糖体制癌剤としてクレスチン (カワラタケ菌糸体), レンチナン (シイタケ子実体), シゾフィラン (スエヒロタケの培養液内産物) の3種が開発された経緯も踏まえて、さらに、薬用キノコ、食用キノコからの健康食品 (機能性食品) の開発が盛んになってきた。

キノコの人工栽培法や菌糸体のタンク培養法が確立され

るに至り、それらの活性成分研究が盛んになった。今までにマンネンタケ (靈芝), マイタケ, シイタケ, アガリクス (カワリハラタケ), ヤマブシタケ, ツクリタケ, シメジ, カバノアナタケ, ハナビラタケなどのキノコから開発された多種多様な健康食品が市場に出回るようになった。

近年、韓国においても国家的プロジェクトを組んで医薬品として開発されたメシマコブタケ (桑黄) の培養菌糸体製品 (ATCC 26710 の近縁種である PL2 と PL5 株) である「メシマ」カプセル (韓国新薬に医薬品として認可されている。1997年) に関連した韓国からの資料と日本における基礎研究と臨床成果を整理してみた。

日本では、子実体 (桑黄) とともにメシマコブ菌糸体を主体とする新製品の健康食品業界への参入が企画されており、その発展が期待される。

### 1. 桑黄 (メシマコブ) とは

メシマコブ (女島瘤) はタバコウロコタケ科のキノコ *Phellinus linteus* (BERK. et CURT.) AOSHIMA の子実

\*前報 文献 7) 参照

体で、漢方では「桑黃」、Song Gen と呼んでいる。主に桑の木に寄生するきこぶたけ科のキノコで、子実体の内部まで黄色であるので、この名が付いた。クワ以外にボプラ、カンバ、ヤナギ、ニレ、クリ、櫟(ハシバミ)など広葉樹の枯死木に寄生し、白く腐らせるリグニン分解力の強い、いわゆる「白ボケ」を起こす多年生の木材腐朽菌の一種である。その分布は日本や韓国以外に北米、オーストラリア、フィリピンなど東南アジアの温帯地域に広く見られる。日本では長崎県の男女群島の女島(メシマ)の桑の木に生育するキノコ(木瘤)なのでこの名がある。(写真1-A, -B)

メシマコブ(桑黄)

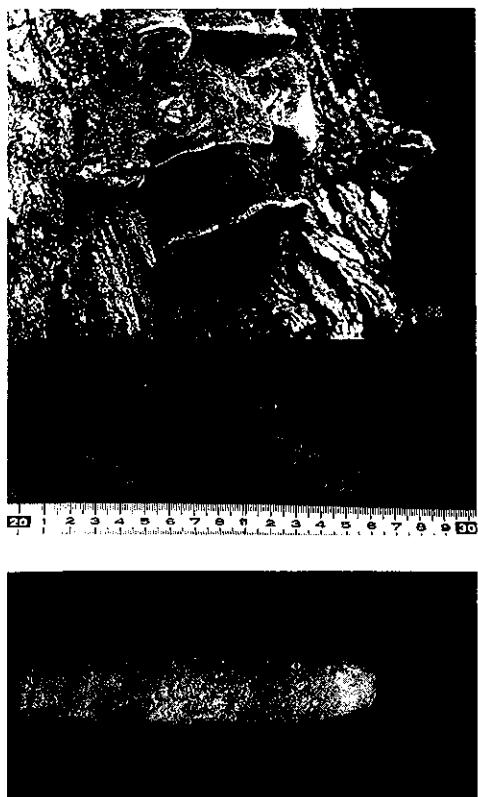


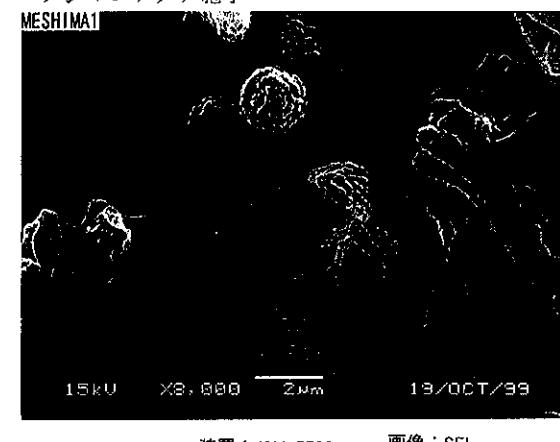
写真1-A 野生のメシマコブ子実体(桑黄)及び  
それから純粋分離した菌糸体スラント

中国では、真正の桑黄(薬物名)とはキコブタケ〔針層孔菌 *Phellinus igniarius* (L. EXFR.) QUEL〕が桑(クワの仲間, *Morus alba* L.)の樹幹に発生した子実体(桑黄、メシマコブ、針裂蹄菌, 学名 *Pyropolyphorus yucatensis* MURR. と区別している)に限るとの記載がある。<sup>18)</sup>

中国では「神農本草經」、「本草綱目」、「中藥大辭典」、「中國藥用真菌」、「東洋医学大辞典」などには中風、淋病、腹痛の治療に用い、利尿、健胃、血尿、済り腹、陰莖痛、脱肛、下血、過労、月経不順、悪血、リンパ腫、子宮不正出血、排尿異常、鼻血、顔面黒シミ、胃痛、下痢などに効果があり、長年煎じて飲むと体が軽くなり、滋養強壮と不老長寿の靈薬であるとの記載が見られる。

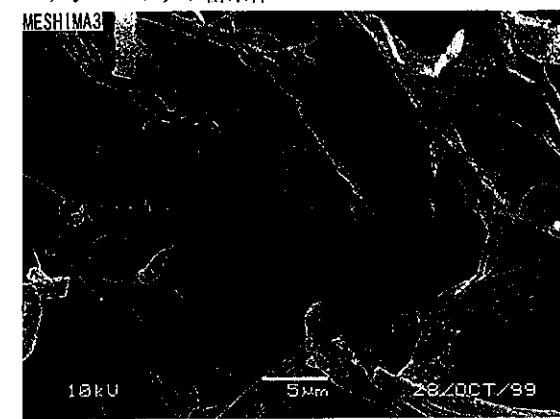
近年、桑黄の薬理作用として胃癌、食道癌、十二指腸癌、結腸癌、直腸癌などの消化器系統のガンをはじめ肝

メシマコブタケ胞子



装置: JSM-5500  
画像: SEI  
<二次電子像>  
加速電圧 (kV): 15  
写真倍率 ×7,500  
測定日: 1999-10-19

メシマコブタケ菌糸体



装置: JSM-5500  
画像: SEI  
<二次電子像>  
加速電圧 (kV): 10  
写真倍率 ×2,810  
測定日: 1999-10-28

写真1-B メシマコブタケ胞子と菌糸体電顕写真  
(応微研提供)

ガンなどに対する改善効果が見い出され注目されている。さらに、ガン患者に対して手術前後や化学療法との併用による改善効果が特筆されている。

### 形態

メシマコブ（桑黄）は主に広葉樹の枯死木に寄生し、子実体は多年生で、木質、菌傘の形は山円形ないし扇子形、または丸像形ないし馬蹄形であり、大きさは長径8–20cm、短径2–12cm、厚さは1.5–10cmの大形で、表面は初期は細かい毛で覆われていて暗褐色であるが、すぐに脱毛して黒褐色となる。

子実体の外部表面は固い木質構造となっていて、同心状のくっきりした丸口と縦横に割れた直角四辺形の亀裂をつくり、菌傘の周辺部と下部ははじめ鮮黄色だがすぐに黄褐色となり、不確かな幾重もの層になっている。胞子は楕円形で、淡褐色を帯び、大きさは3.5–4.5μm × 3–4μmである。

### 2. メシマコブ菌の分離と培養・栽培

**種菌** 桑の枯死木に生えた天然桑黄の表面を消毒用のアルコールで拭いてから、組織内部を切り出して、培養液に接種し7日位経過すると組織から菌糸が生長する。これを麦芽寒天固体培地に接種し25°Cで培養すると、黄色を帯びた菌株が得られる。これをオガクズ培地（米糠10%添加）に接種して拡大培養すると、桑黄栽培用の種菌が得られる。

**種菌保存用培地**にはポテト・グルコース寒天培地かジャガイモ・ニンジン寒天培地を使用する。

**多糖体生産用合成功培地**の組成はガラクトース1g、シユクロース9g、キシロース1g、グルコース9g、酵母エキス0.5g、ペプトン2g、ポテト・グルコースプロス2g、NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>0.5g、DL-セリン0.5g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>1g、CaCl<sub>2</sub>1g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O2g、FeSO<sub>4</sub>0.02g、ZnSO<sub>4</sub>0.02g、MnSO<sub>4</sub>0.02g、チアミン·HCl0.0001g、蒸留水1000ml、pH4.5に調節。

合成液体培地を用いる多糖体生産は250mlフラスコで、25°C、120 rpmで30日間振騰培養を実施した。

**多糖体の分離と精製** 液体培養した原液を9,000rpmで遠心して菌糸体を分離した。4°Cに24時間保持し、沈殿するものを除き、上清を凍結乾燥した。さらに、多糖1gを100mlの蒸留水に溶かして再度凍結乾燥することによって水溶性の多糖体を精製した。

**原木栽培** 原木は樹液の移動が止まり、貯蔵養分が多い11月～翌年2月に伐採し、日陰で自然乾燥したクワやクヌギなど広葉樹を使用する。原木（直径10–20cm、長

さ15–20cm、水分含量40–50%）に種菌を乗せる。種菌は、ポリプロピレン袋にオガクズを入れて、ワタ栓をして、蒸気殺菌機で15時間滅菌して5–10°Cに冷やしてから菌を接種して培養した。種菌の接種は、殺菌された原木の上部に約100gを一様に広げ、原木全体をPP袋に入れて袋の口はPVC栓で固定した後、さらにワタで塞ぐ。菌糸は28°Cで良く生育するが、やや低めの21–22°Cで培養する。原木表面全体に活着される25日後は、最適温度である25°Cに保持する。菌糸体の色が黄褐色になり、黒く変わり出した2–3ヶ月後に、子実体を誘導するために、ポリプロピレン袋を取り外して栽培倉（靈芝栽培用と同じ）に移す。栽培倉では、菌糸の良く廻った原木を、地上部に5–7cmほどが出るようにして土で埋める。充分に灌水して湿度維持、換気、水はけに留意しつつ、約10ヶ月間栽培すると子実体が形成されて収穫出来るようになる。

### 3. メシマコブ子実体（桑黄）と菌糸体の化学成分

表1に示したように、メシマコブ子実体も培養菌糸体も共には糖質と蛋白質を主成分とし、特に食物纖維含量が高く低カロリーである。この他の成分としてミネラル、ビタミン類を含んでいる。

上海科学技術出版社刊「中藥大辭典」には桑黄(Sang huang)の化学成分として落葉松茸酸(Agaricic acid, 菌糸体には含まれない), C<sub>22</sub>, C<sub>24</sub>の飽和脂肪酸, C<sub>23</sub>, C<sub>25</sub>のアルカン、グリシン、アスペラギン酸などを主体とするアミノ酸、蔥酸、トリテルペノイド酸、芳香族酸、エルゴステロール、キシロース、酵素としてオキシターゼ、カタラーゼ、ウレアーゼ、エステラーゼ、シュクラーゼ、マルターゼ、セルラーーゼなどの存在が記載されている。<sup>[19]</sup>

表1. メシマコブ培養菌糸体の化学成分

	水 分	6.2%	無水物 %
粗蛋白質	13.6	14.50	
食物纖維	16.3	17.38	
粗脂肪	5.4	5.76	
糖 質	49.4	52.66	
粗灰分	9.1	9.76	
カロリー	301 kcal	321 kcal	
ナトリウム	41.9 mg%	44.67 mg %	
砒 素 (AS <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0.2 ppm	0.21 ppm	
重金属 (Pbとして)	5.7 ppm	6.08 ppm	

### 4. 桑黄多糖の分画・精製

桑黄（子実体）からの水溶性多糖体の分離法の一例を図1に示した。比較のために近縁種のコフキサルノコシカケ(*Ganoderma applanatum*), 子実体を梅寄生あるいは

は樹舌と言う)からの分画・精製法を図2に示した<sup>(3,4)</sup>。

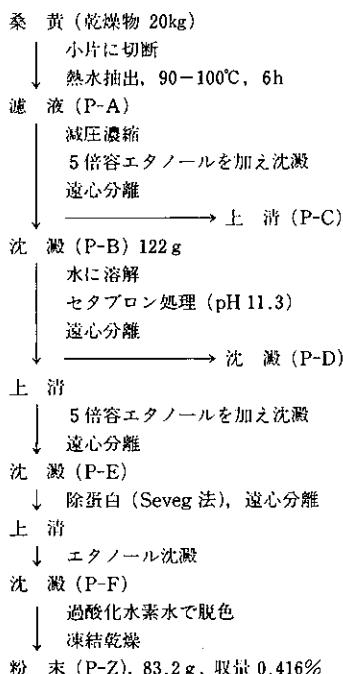


図1. メシマコブ(桑黄)から水溶性多糖体(P-F, P-Z)の分画と精製

### 5. 子実体多糖の抗腫瘍性

さるのこしかけ科などの多くのキノコ(子実体)から得た热水抽出物のSarcoma 180/マウス, ip法による抗腫瘍活性を比較した(表2)。

中でも、強い腫瘍増殖抑制率を示したメシマコブ(桑黄)から多糖体を分画精製し、分別過程で得られた多糖分(P-A, -B, -D, -E, -F, -Z)の抗腫瘍活性を試験し、表3の結果を得た。また、同様にして得たコフキサルノコシカケ多糖分(G-A, -B, -D, -F, -Z)の結果と比較した(表4)<sup>(3,4)</sup>。

### 桑黄の急性細胞毒性

ヒト由来のA549, SR-OV-3, SK-OV-3(ヒトの), SK-MEL-2(ヒトの色素ガン由来の細胞種), HCT15, XF-498(ヒトの神経系由来の細胞種)などのヒト由来の細胞を使用するSRB試験法によって毒性を検査した。その結果は6.25 μl/mlから200 μl/mlまでの濃度範囲では、いずれも急性細胞毒性は認められなかった。

### 6. 培養菌糸体热水可溶多糖の抗腫瘍性

韓国新薬のメシマコブ標準菌株(PL2とPL5)の培養

菌糸体から热水抽出して得られた多糖体製品“メシマ”が栄養補助食品(免疫活性素材)として日本でも発売されることになった(1999年)。

表2. キノコ子実体の抗腫瘍活性比較  
(Sarcoma 180/マウス, ip 試験)

キノコ和名(学名)	腫瘍抑制率(%)
メシマコブ <i>Phelinus linteus</i>	96.7
マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>	91.8
ナメコ <i>Pholiota nameko</i>	86.5
エノキタケ <i>Flammulina velutipes</i>	81.1
シイタケ <i>Lentinus edodes</i>	80.7
カラタケ <i>Coriolus versicolor</i>	77.5
ヒラタケ <i>Pleurotus ostreatus</i>	75.3
カンタケ <i>Pleurotus spodoleucus</i>	72.3
チャカイガラタケ <i>Daedaleopsis tricolor</i>	70.2
アテガカラタケ <i>Coriolus hirsutus</i>	65.0
コフキサルノコシカケ <i>Ganoderma applanatum</i>	64.9
オオチリメンタケ <i>Trametes gibbosa</i>	49.2
ウスバシハイタケ <i>Hirschioporus fuscoviolaceus</i>	45.5
オオシロタケ <i>Leucofomes ulmarius</i>	44.8
ベッコウタケ <i>Fomitopsis cytisina</i>	44.2
キクラ <i>Auricularia auricula-Judae</i>	42.6
カイガラタケ <i>Lenzites betulinana</i>	23.9

表3. メシマコブ(桑黄)から分画した多糖体の抗腫瘍活性  
(Sarcoma 180/mice, ip 試験)

画 分	投与量 mg/kg/日	抑 制 率 (%)	完全退縮率
P-A	200 × 10	96.7	7/8
P-B	115 × 10	89.2	5/8
P-D	150 × 10	64.9	4/8
P-E	150 × 10	91.9	7/10
P-F	150 × 10	94.0	9/10
P-Z*	50 × 10	94.4	7/9
Control	Saline	0	0/10

\* β-(1→3)-D-glucan

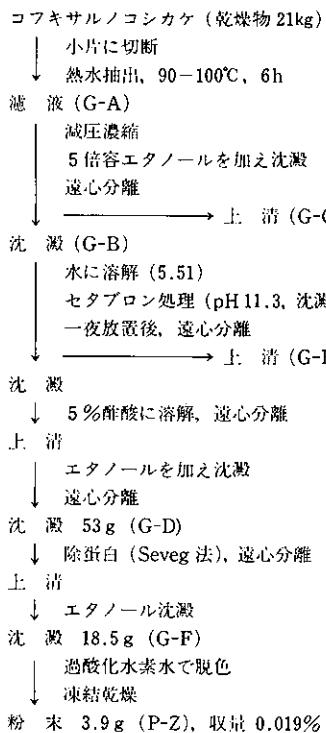


図2. コフキサルノコシカケから水溶性多糖体(G-F, G-Z)の分画と精製

## 7. 培養菌糸体から多糖の抽出と製品開発

日本では、各種の食用あるいは薬用キノコ(子実体)のほか木栽培や菌床栽培と共に、それの菌糸体培養の基礎研究と製品開発が並行して行われて来ている<sup>(5)</sup>。

メシマコブ茸についても例外ではない。メシマコブ(桑黄、子実体)とともにそれの菌糸体製品の生産が実働している。実働例を示す。菌糸体抽出エキスの製造

(株)応微研実施例(1999年)

### 1) 種菌の育種

自生メシマコブ菌の採取→種菌の育種・選別・安定化→培養菌種の保管

### 2) 菌糸体の培養

種菌の培養→菌糸体の大量培養→菌糸体の収穫→培養液の濾過→菌糸体

### 3) 抽出エキスの製造

菌糸体→热水抽出→抽出液の濃縮→噴霧乾燥→エキス粉末→各種試験→包装

### 4) 製品“メシマゴールド”的製造

エキス粉末→賦形剤の混合→造粒→打錠→検査→ピン詰→包装→出荷

表4. コフキサルノコシカケから分画した多糖体の抗腫瘍活性  
(Sarcoma 180/mice, ip 試験)

画 分	投与量 mg/kg/日	抑制率 (%)	完全退縮率
G-A	200 × 10	64.9	5/10
G-B	200 × 10	61.9	2/10
G-D	110 × 10	78.1	1/8
G-F	150 × 10	85.6	6/9
G-F	100 × 10	95.3	5/10
G-Z*	50 × 10	54.7	5/9
Control	Saline	0	0/10

\* $\beta$ -(1→3)-D-glucan

表5. コフキサルノコシカケから単離した $\beta$ -D-クグルカンの抗腫瘍活性<sup>(9-14)</sup>  
(Sarcoma 180/mice, ip 試験)

画 分	投与量 mg/kg/日	抑制率 (%)	完全退縮率	ID <sub>50</sub> * mg/kg
(子実体)				
FI-1a	10	100	5/5	0.76
FI-1b	10	100	5/5	0.34
FII-2	10	100	5/5	—
(菌糸体)				
FI-1a	10	100	5/5	—
FII-1	10	100	5/5	0.20
FII-1β	10	100	5/5	0.74

\*50%を退縮させるに要する最小投与量

表6. メシマコブとカワラタケ菌糸体多糖の構成糖組成比較

構成糖	メシマコブ	クレスチン (PS-K)
蛋白質	—	20~38%
多糖	—	80~62%
多糖 100 g 当り	100	100
マンノース	44.2%	15.5%
ガラクトース	24.1%	2.7%
グルコース	21.1%	74.6%
アラビノス	1.0%	—
キシロース	3.7%	4.8%
フコース	—	2.0%

## 8. メシマコブ投与の基礎研究と臨床例

### 1) 日本

◆国立がんセンター研究所 池川哲郎, 千原呉郎他;  
東京大学薬学部 柴田承二他

担子菌特にメシマコブ多糖体の抗腫瘍活性を始めて明らかにした。1968年<sup>(1-4)</sup>

◆西条中央病院(広島)免疫内科 山名征三(1980)。胃癌、結腸癌、直腸癌、肺癌、子宮癌などの患者24人を対象にメシマコブ培養菌糸体の熱水抽出物を投与した結果:良好12名、不明6名、不良6名。

◆山名征三:制ガン作用のある菌糸体の培養方法、公開特許公報(A)、平3-175974。

◆住友記念病院(愛知)内藤康弘

肺ガン末期患者(50才男)にメシマを1日に2-3gを3回に分けて経口投与した。腫瘍マーカーが1ヶ月後から1.7→0.7→正常値に戻った。

左乳房切除の乳ガン患者(30代女)が肋骨にできたビンボン大の腫瘍のための激痛がメシマの服用によって2ヶ月後に腫瘍が消失した。

◆韓国からのメシマコブ菌糸体製品“メシマ”の売り込みが始まった。1998年

韓国新薬と契約したメシマジャパン(株)が日本での

#### Mesima-Ex (韓国)



#### 桑黄(メシマコブ-ゴールド)(日本)

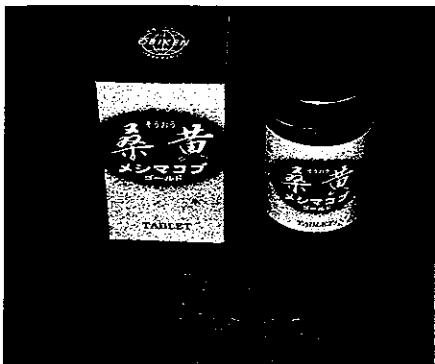


写真1-C メシマコブタケ製品例(韓国と日本)

製造・総発売元となる。1999年

◆恵比寿ガーデンプレスクリニック(東京)高木繁 1999年から。ガンの代替医療としてメシマを次の3つのケースに適用した。

①エコー(超音波検査)やレントゲン検査で見て、腫瘍が完全に取り切れて手術は成功した場合、再発防止のため飲む

②手術したが腫瘍の全部を取り切れなかったか、手術が出来ないと判断されたケース。ガンの進行を抑えたりQOL(生活の質)の向上や延命効果を期待して飲む

③宗教上や年齢的な理由で手術出来ないケースに飲み続ける。

◆金沢大学薬学部 太田富久、1999年

メシマコブ菌糸体抽出物(メシマ)は注射だけではなく、経口投与でもガンを抑制出来ることがマウスを使った動物実験で判明した。

◆(株)応微研から健康食品としてメシマコブ菌の培養菌糸体エキス「メシマゴールド」が開発された。

1999年

#### 2) 韓国

◆日本でのメシマコブの研究にヒントを得て、韓国科学技術者と製薬会社の国家プロジェクトとして研究開発に取り組み、その培養菌糸体熱水抽出物からの製剤・商品化に漕ぎ着け、(株)韓国新薬では医薬品“メシマ”として認可された。1998年

(株)韓国新薬(大田広域市)が開発した免疫治療剤「メシマキャプセル」が韓国のノーベル賞といわれる「茶山賞」を受賞した。1998年

◆ソウル大学薬学部 Kim Byung-Kackら:メシマコブの熱水抽出物によってマウスのマクロファージ活性が5倍増強、Tリンパ球による遲延型過敏反応が3倍に増強した。

◆忠南大学薬学部 Jung Kyung-Suら:脾臓のB細胞とマクロファージが増強された。マウスの抗体反応が129倍に増強した。リンパ球形成能が3.3倍に増強。腹腔内のリンパ球増大の誘発、ガン細胞殺傷能力増強。ガン移植前投与によるガンの予防効果の増強。

◆生命工学研究所 You In-Dong, Kim Hwan-Mukら:抗体生成能と免疫増強効果がそれぞれ5倍に増強された。メシマコブ菌糸体培養液から新物質の多糖体の開発。メシマコブ投与によって担癌マウスの寿命が1.8倍に延命した。

◆慶熙大学東西医学研究所 Hong Nam-Doら:LD<sub>50</sub>

が $1500\text{ mg/kg}$ 以上の安全性を確認。Sarcoma 180マウスを移植し腹水ガンを誘発したマウスの生存期間を5~6日延命。NK細胞活性が2~3倍に増強されることによる非特異的免疫機能による抗ガン活性の発現。

◆1993年、韓国新薬、国立生命研究所：メシマコブの培養菌糸体の热水抽出物の商品化に成功した。「メシマ(Mesima)」の商標で医薬品の許可を受けて発売開始。

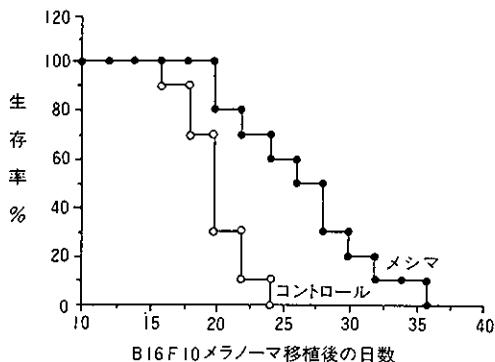


図3. “メシマ”投与による担がんマウスの延命効果(その1)

B16F10メラノーマを移植した無菌マウス(SPF)に“メシマ”を12日間投与した結果、延命効果が認められた。

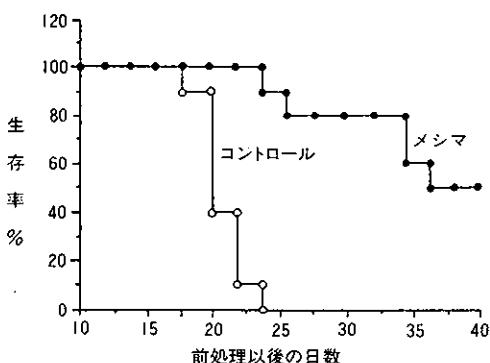


図4. “メシマ”投与による担がんマウスの延命効果(その2)

予め“メシマ”を7日間投与後に、B1610メラノーマを移植し、さらに12日間“メシマ”を投与した結果、著しく延命効果が認められた。

◆忠南大学 Kim Sam-yong Kim: ガン患者22例胃ガン9例、肝ガン、原発が不明のガン2例、複合ガン6例に適用した結果、副作用皆無で、ガン患者の免疫力(ヘルパーT細胞)が向上した。

◆全南大学 Kim Young-Jin: 胃ガン20例に適用した結果、副作用が無く、ガン患者の免疫力(ヘルパーT細胞)を向上させた。

◆大丘工科大学 Song Chiehら: 桑黄の子実体、培養菌糸体、培養液から高分子、物質を抽出し、それら

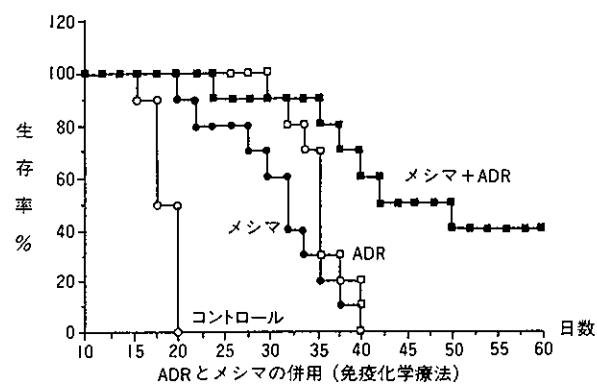


図5. “メシマ”とアドリアマイシン(ADR)の併用による担がんマウスの延命効果(その1)

“メシマ”(100mg/kg, po)とADR(0.1mg/kg, ip)の併用により、メラノーマ移植60日後、40%が生存していた。

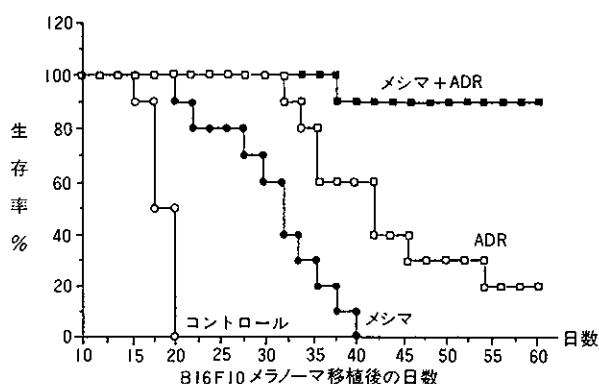
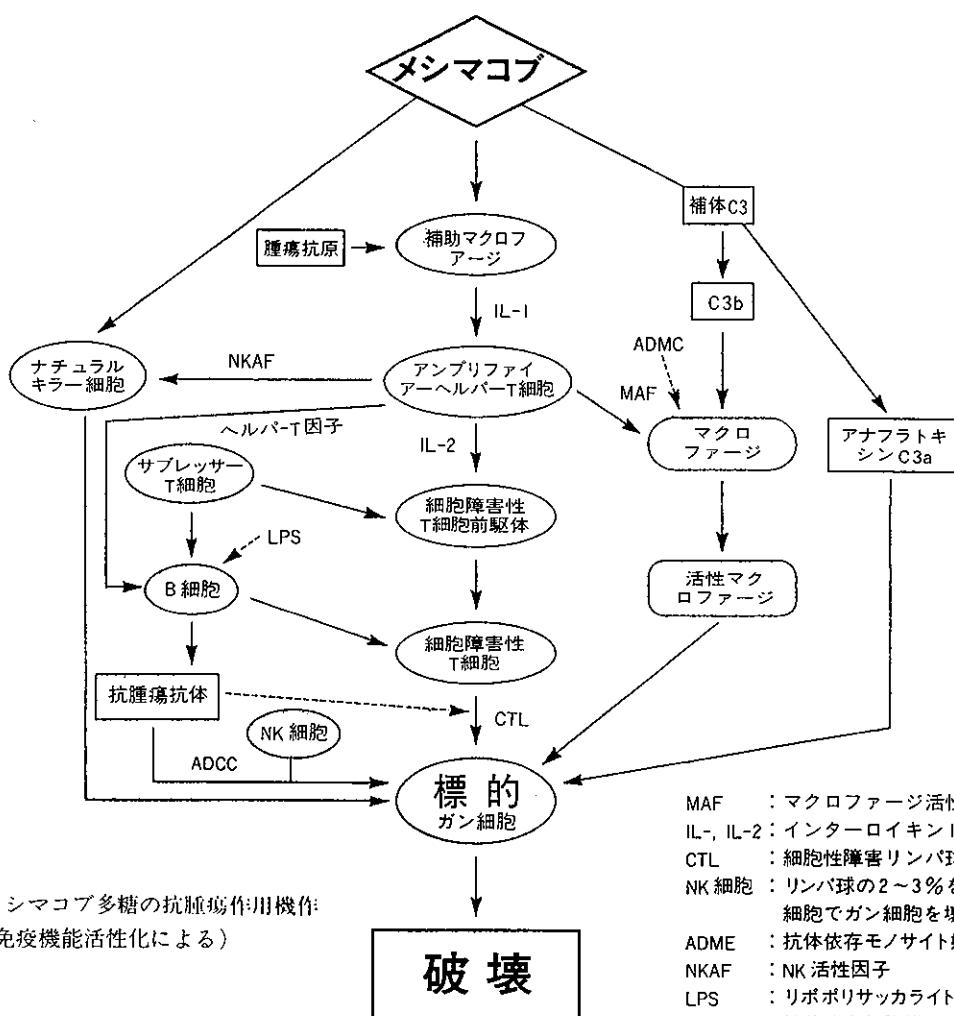


図6. “メシマ”とアドリアマイシン(ADR)の併用による担がんマウスの延命効果(その2)

“メシマ”(100mg/kg, po)とADR(0.3mg/kg, ip)の併用により、メラノーマ移植60日後、90%が生存していた。延命効果大。



MAF : マクロファージ活性因子  
IL-1, IL-2 : インターロイキン1, 2  
CTL : 細胞性障害リンパ球  
NK細胞 : リンパ球の2~3%を占める細胞で癌細胞を壊死させる  
ADME : 抗体依存モノサイト媒介毒性  
NKAF : NK活性因子  
LPS : リボポリサッカライド  
ADCC : 抗体依存細胞媒介毒性

に免疫活性を測定した結果、それぞれ65.77%, 41.95%, 21.87%であった。

“メシマ”投与による延命効果(図3, 図4)と“メシマ”と抗生素質アドリアマイシンの並用効果(図5, 図6)並びにその作用機作(図7)を示した。

◆桑の木とアベマキの木を原木にしてメシマコブを栽培し、収穫された子実体(桑黄)の抗腫瘍活性と免疫活性を比較した。その結果は、桑の木で栽培された子実体の蛋白多糖含量は、アベマキの木に栽培されたものより約2倍多かった。その構成アミノ酸はアスパラギン酸、グルタミン酸、プロリン、アルギニンなどが相対的に多かった。抗腫瘍活性と免疫活性は桑の木で栽培した子実体の方が少し高かった。

両方の子実体共に抗ガン効果に関係するNK細胞とT細胞の増加をもたらし、特に圆形ガンではNK細胞の増加が著しかった。

◆ソウル大学校病院外科, 1995年

第3期胃ガン切除後の患者45名を無作為に15名ずつを以下の3群に分けてメシマエキス散(Mesima-Ex, 韓国新薬)の投与試験を実施した。

第1群：手術後、経口投与が可能になった日からメシマエキス1gずつ1日3回、食後30分毎に経口投与した。

第2群：手術後、第5日目からK-432 1.0 KEずつを週1回皮下注射した。

第3群：第1群のプラセボ(偽薬)と同じ方法で投

与した。

手術後の抗ガン化学療法は3群ともに同じマイトイシンC (MMC)と5FUを使用した。投薬が細胞性免疫反応に及ぼす効果を調べる対象患者の手術前と手術後9日目、3ヶ月、そして7ヶ月目に各々の総リンパ球数やT3, T4, T8, B, NK-cell数の変化を調べた。さらに、手術前と手術後3ヶ月目にMulti-test CMI Kitを使い、投薬による副作用の有無を見るために遅延型皮膚過敏反応の程度を調べた。

遅延型皮膚過敏反応はグリセリンをコントロールとして8種の抗原の中から皮内投与時2mm以上の硬結を形成する抗原の数を点数化して示した(表8)。

結果を図10~14並びに表8に示した。図10のT3リンパ球の場合、メシマ投与群である第1群では、術前T3リンパ球の88.9%まで回復した。OK-432投与群である第2群では、術前T3リンパ球の81.5%まで回復した。対照群である第3群では、手術前T3リンパ球の63.5%の回復率であった。

図11のヘルバーリンパ球であるT4の場合には第1群では手術前78.7%の回復率であった。第2群では手術前の88.9%まで回復した。第3群では、手術前の64.8%まで回復した。図12のサプレッサーリンパ球

表7. メシマコブから分離された  
多糖体“メシマ”的抗補体活性

多 糖 体	抗 補 体 活 性 (ITCH <sub>50</sub> %) ± SD
NP	61.35 ± 0.2184
CP	61.50 ± 0.0348
W. P-1	61.52 ± 0.0945
W. P-2	16.35 ± 0.1188

NP: メシマコブ子実体からの粗多糖

CP: 培養菌糸体から分離した粗多糖

W. P-1: 热水抽出多糖(子実体から)

W. P-2: 热水抽出多糖(培養菌糸体から)

ITCH<sub>50</sub> = (TCH<sub>50</sub> of control - TCH<sub>50</sub> treated with sample)/TCH<sub>50</sub> of control × 100

表8. 遅延型皮膚過敏症に対する効果

	正抗体の平均数		陰性率 (%)			
	手術前	術後 3ヶ月	術後 7ヶ月	手術前	術後 3ヶ月	術後 7ヶ月
第1群	1.38	0.92	1.00	14.3	21.4	15.4
第2群	1.05	0.71	0.89	26.7	26.7	26.7
第3群	1.17	0.83	0.67	21.4	28.6	30.8

であるT8の場合第1群では手術前の90.8%、第2群では、73.7%、第3群では72.8%の回復であった。図13のBリンパ球では第1群では手術前の58.6%、第2群では80.8%、第3群では64.7%まで回復した。

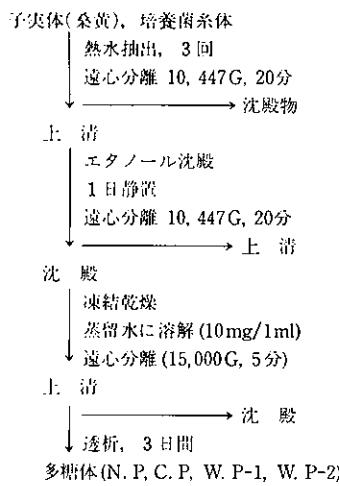


図8. メシマコブから粗多糖体“メシマ”的調製法

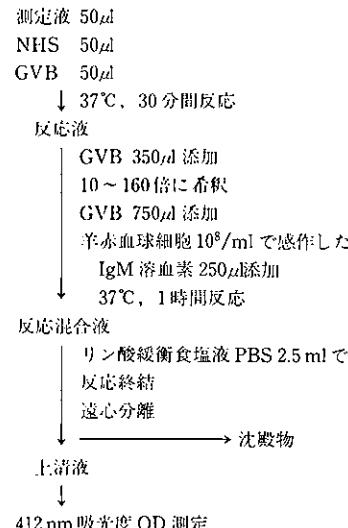


図9. 抗補体活性測定法 (Mayer法)

NHS: Normal human serum

GVB: Gelatin veronal buffer

PBS: Phosphate buffer saline

ITCH<sub>50</sub>: Inhibition of 50% total complement hemolysis

ITCH<sub>50</sub> = (TCH<sub>50</sub> of control - TCH<sub>50</sub> treated with sample)/TCH<sub>50</sub> of control × 100

図14のNK細胞の場合、第1群では100%、第2群は86.6%、第3群は97.4%回復した。

#### 韓国の医薬品“メシマ”関係の特許

- ◆ 多糖体及びその製造法  
大韓民国特許登録 第051055(1992.4.24)
- ◆ メシマコブの培養方法  
大韓民国特許登録 第051056(1992.4.24)
- ◆ メシマコブ子実体及び菌糸体が生産する免疫増強物質並びに抗ガン活性成分の抽出法  
大韓民国特許公開 第96-16895(1996.6.18)
- ◆ 抗ガン免疫増強物質を生産するメシマコブ菌株  
大韓民国特許公開 第97-01531(1997.1.24)
- ◆ メシマコブから分離した抗ガン免疫増強多糖類及びその製造法  
大韓民国特許公開 第97-15743(1997.4.28)
- ◆ メシマコブ菌糸体の液体培養と抗ガン免疫増強物質の製造法  
大韓民国特許公開 第97-9150(1997.6.7)

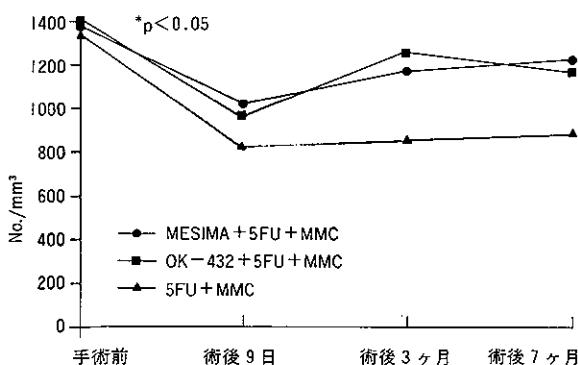


図10. 手術後のT3リンパ球数の変化

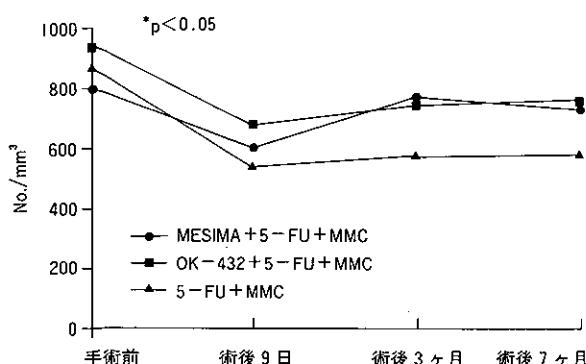


図11. 手術後のT4リンパ球数の変化

◆ PCT国際特許申請済み（アメリカ・ヨーロッパ・アジア）(1998)

◆ 韓国新薬で免疫賦活作用のある医薬品（飲薬）として開発された多糖体製品

“メシマ”的製造法(図8)、薬効検定法(図9)と結果の一例(表7)を示した。

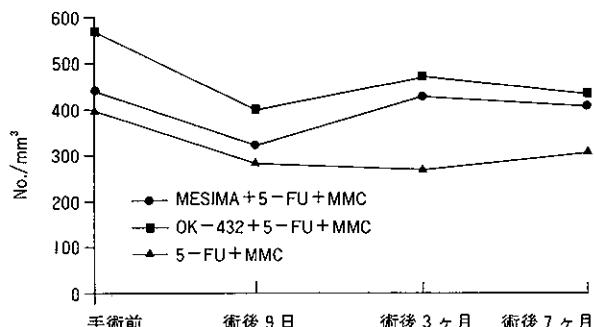


図12. 手術後のT8リンパ球数の変化

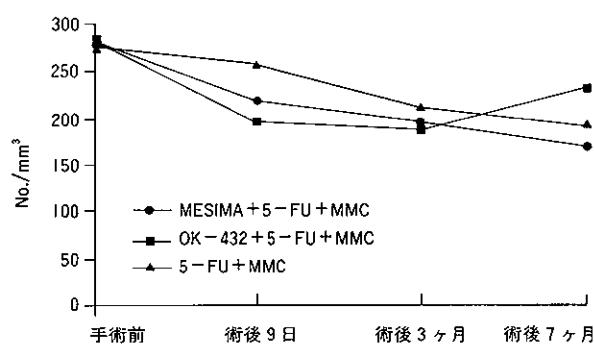


図13. 手術後のBリンパ球数の変化

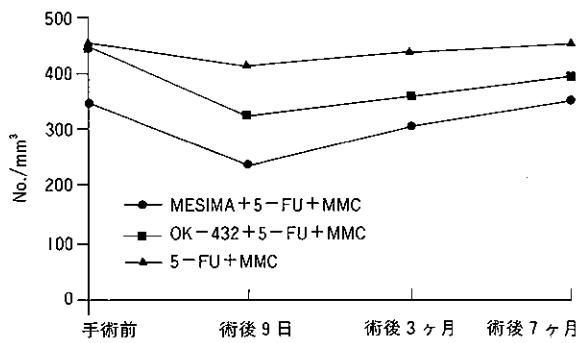


図14. 手術後のNK細胞数の変化

## 9. 桑黄の薬効（食効）

生物活性	関与分子種
抗腫瘍性	$\beta$ -D-グルカン, 糖蛋白 ヘテログリカン, 核酸成分
免疫賦活	$\beta$ -D-グルカン, 糖蛋白 ヘテログリカン
抗炎症性	$\beta$ -D-グルカン
血糖低下	ヘテログリカン
血圧低下	ヘテログリカン
骨粗鬆症	エルゴステロール

## 漢方薬としては

子宮出血、帶下、月経不順、臓出血、五臓及び胃腸機能活性化、解毒作用、関節炎、抗ガン効果、動脈硬化、糖尿病、脳卒中、痴呆、成人病、美容、風邪、肺結核、気管支炎、喘息、免疫増強、血尿、渇り腹、陰茎痛、脱肛、下血、過労排尿異常、鼻血、胃痛、下痢、花粉症、アトピー性皮膚炎、尋常性乾癬、喘息、リュマチなどに薬効あり。メシマの薬効として抗ガン作用にとどまらず慢性胃炎、便秘、糖尿病、高血圧・低血圧、動脈硬化、膀胱炎、腎炎、前立腺肥大、アトピー性皮膚炎、精力減退など目的疾患を局限しない自然治癒力の增强に起因すると推察される効果が多数報告されている。

## 10. 煎じ方と服用法

粉碎した桑黄25~35gに水500mlを加え、沸騰直前の温度(95°C前後)で3時間抽出する。煎じた抽出液は別の容器に移し、再度500mlの水で同様に抽出する。両煎じ液を合わせて(1,000ml)、3日分とする。1日3回約100mlづつを3日間で適時飲用する。煎じ方は水500mlで3回抽出し、3日間分としても良い。煎じ液の保存はガラス容器で冷蔵庫が望ましい。

## 参考文献

- 1) 千原呉郎. 1977. 多糖の薬理活性、特に抗腫瘍活性を中心に. 高分子, 26, 117-123.
- 2) 千原呉郎. 1978. 担子菌類の抗腫瘍作用、その生理活性の特徴と限界. 発酵と工業, 34, 942-951.
- 3) Ikegawa T., Nakanishi M., Uehara N., Chihara G. and Fukuoka F. 1968. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *GANN*, 59, 155-157.
- 4) Sasaki T., Arai Y., Ikegawa T., Chihara G. and Fukuoka F. 1971. *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 821-826.
- 5) Mizuno T. 1999. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1, 9-29.
- 6) 水野 卓. 1997. キノコ類の薬効・食効とその利用(10)カバノアナタケ, *The Chemical Times*, 163号, p. 9-15.
- 7) 水野 卓. 1990. キノコ類の薬効・食効とその利用(11)冬虫夏草, *The Chemical Times*, 173号, p. 9-15.
- 8) 相沢克幸. 1998. メシマコブがガンに効く. pp. 1-175, 現代書林.
- 9) 水野 卓, 林 克幸, 荒川順生, 深海健吉, 清水雅子, 田中基裕. 1981. コフキサルノコシカケの水溶性グルカンの分別と化学構造、抗腫瘍活性について、静岡大学農学部研究報告 No. 31, 49-64.
- 10) 水野 卓, 牛山正志, 碓氷泰市, 荒川順生, 新海健吉, 清水雅子. 1982. コフキサルノコシカケ培養菌糸体からの抗腫瘍性  $\beta$ -D-グルカンの分離と化学構造特性. 静岡大学農学部研究報告 No. 32, 41-58.
- 11) Usui T., Iwasaki Y., Hayashi K., Mizuno T., Tanaka M., Shinkai K., and Arakawa M. 1981. Antitumor activity of water-soluble  $\beta$ -D-glucan elaborated by *Ganoderma applanatum*. *Agric. Biol. Chem.*, 45, 323-326.
- 12) Usui T., Iwasaki Y., Mizuno T. 1981. Isolation and characterization of two kinds of heterogalactan from the fruit bodies of *Ganoderma applanatum* by employing a column of concanavalin A-Sepharose 4B. *Carbohydrate Research*, 92, 103-114.
- 13) Usui T., Iwasaki Y., Mizuno T., Tanaka M., Shinkai K. and Arakawa M. 1983. Isolation and characterization of antitumor active  $\beta$ -D-glucans from the fruit bodies of *Ganoderma applanatum*. *Carbohydrate Research*, 115, 273-280.
- 14) 鶴嶋一永. 1996. 薬用キノコの人工栽培に関する研究. 日本林学会九州支部研究論文集, No. 49, pp.
- 15) 今閑六也, 本郷次雄 編著. 1989. 原色日本新菌類図鑑(II), メシマコブ. p. 189, 図版 853, 保育社, 東京.
- 16) 健康産業新聞刊 Medical Nutrition. 1999. 食効評価報告, 第2回「メシマコブ」, 6月1日発行, p. 7.
- 17) 劇波著/難波恒雄・布目慎勇共訳. 1982. 中国の薬用菌類—効能と応用法一, p. 78-79, 自然社, 東京.
- 18) 上海科学技術出版社刊 中薬学大辞典 1967. p. 1967. 4037 桑黄.
- 19) マキノ出版刊 雑誌「安心」10月号. 1999. メシマコブ特集, pp. 164-177. 東京.

# 医療における薬物分析

## Therapeutic Drug Monitoring から派生した基礎的研究 (III)

産業医科大学病院 薬剤部科長 薬学博士 江藤 精二

### I. はじめに

前回（2000年 No. 1）は、TDM (Therapeutic Drug Monitoring) における Phenytoin の主代謝物である 5-(*p*-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin (*p*-HPPH) 血中濃度の測定意義について述べた。今回は、薬理活性な代謝物の血中濃度測定の臨床的意義について触れたい。

代謝物が薬理活性を有する薬物は多い。特に、抗てんかん薬あるいは抗うつ薬など神経系用薬には薬理活性な代謝物が数多く存在する。抗てんかん薬あるいは抗うつ効果を期待して多用される Carbamazepine (CBZ) もその 1 つである。Fig. 1 に CBZ の主な代謝経路を示している。10, 11-dihydro-10, 11-epoxycarbamazepine (CBZ-epoxide) は薬理活性な代謝物であり、CBZ の臨床的薬理作用に少なからず寄与している。そこで、CBZ-epoxide 血中濃度測定の臨床的意義を示すことにより、薬理活性代謝物の TDM の有用性を論述する。

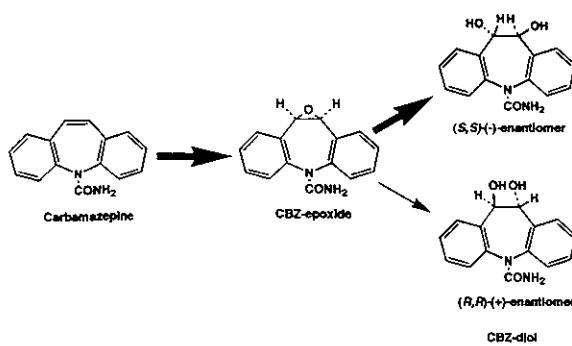


Fig. 1 The main route of carbamazepine metabolism in human

### II. CBZ-epoxide の血中濃度測定と臨床的意義

#### 1. CBZ-epoxide の血中濃度測定法

CBZ, CBZ-epoxide および CBZ-diol 血中濃度の HPLC 法による同時定量法の報告は枚挙に暇がない。しかしながら、次に述べる理由によりこれらの報告のすべてが、信頼できる定量法として十分に検証されていないことが

判明した。

筆者は CBZ 代謝物の血中濃度測定の際、CBZ-epoxide と CBZ-diol 以外の CBZ 代謝物とみられる比較的大きなピーク（未知ピーク）が必ず出現することを認めていた。これまで CBZ-epoxide あるいは CBZ-diol に匹敵するような CBZ 代謝物を血液から検出した報告は全くなかった。そこで、この未知ピークに相当する代謝物の構造を HPLC/質量分析 (LC/MS) 法によって同定することにした。溶離液としてアセトニトリル/メタノール/水の混合液 (19/16/65, v/v) を用いる HPLC により、患者血清中の CBZ, CBZ-diol, CBZ-epoxide および未知代謝物を極めて良好に分離することができた。Fig. 2 に CBZ 単独服用患者の血清サンプルで得られた分析結果を示す。Fig. 2A は  $m/z$  235 から 275 のトータルイオンモニタリング (TIM) クロマトグラムであり、保持時間 14.4 分のピーク 3 が未知ピークである。未知ピークの FAB マススペクトル (Fig. 2B) は、 $m/z$  255 に親イオンピーク、さらに  $m/z$  180 に特徴あるピークを有している。親イオンピークは  $[M+1]^+$  に相当すると考えられ、また  $m/z$  180 は  $[M-CH_2OH-CONH_2]^+$  に合致する。さらに  $m/z$  347 に出現しているピークは、 $[M+1]^+$  FAB マスマトリックスのグリセリンが付加した質量に相当している ( $[M+1]^+ + \text{glycerol}$ )。さらに分子イオンピーク  $m/z$  255 のマスクロマトグラムより、 $m/z$  255 に由来するピークはピーク 3（未知ピーク）のみであることを確認した (Fig. 2C)。以上より、未知代謝物の分子量 254 は CBZ-diol (分子量 270) より酸素原子が 1 個少ない構造に一致し、さらに hydroxymethyl 基 (-CH<sub>2</sub>OH) を有しており、さらに carbamoyl 基 (-CONH<sub>2</sub>) が残存していることが示唆された。そこで、未知代謝物を CBZ から CBZ-diol への代謝過程における Pinacol 型転位反応および引き続く還元反応で生じ得る 9-Hydroxymethyl-10-carbamoyl-acridan (HMCA) と推定し、別途合成した標品の LC/MS スペクトルと比較したところ、全く同じ結果が得られた。以上より、未知ピークは HMCA に由来することが明らかとなった<sup>1)</sup>。

SEIJI ETO

Department of Hospital Pharmacy, School of Medicine, University Occupational and Environmental Health

以上の結果より、HMCAは血液中に存在するCBZの主要な代謝物の一つであることが明らかとなった。しかし、無視できない血中濃度にもかかわらず、これまで血液中HMCAの分析および動態に関する報告は皆無であった。報告がない理由として次のようなことが考えられる。HPLCによる血清中CBZ代謝物の定量に関するこれまでの報告のほとんどは、ODS充填カラムを用い溶離液としてアセトニトリル／水の混合系が使用されており、アセトニトリル濃度比は30%あるいはそれ以上の場合が多い<sup>2)</sup>。しかしながら著者らは、CBZ-diol、CBZ-epoxideおよびHMCAを含む患者血清試料をアセトニトリル／水(30/70, v/v)で溶離したところ、CBZ-epoxideとHMCAは全く分離されないまま完全に重なってしまうことを見いたした(Fig. 3B)。一方、同じ試料で溶離液をアセトニトリル／メタノール／水(19/16/65, v/v)に換えたところ、3者とも良好に分離検出された(Fig. 3A)。また数社から市販されているODS充填カラムを用いて検討したが、全く同様の結果が得られた。したがって、これまでの血

液中CBZ代謝物を定量したほとんどの例でHMCAとCBZ-epoxideの分離ができていなかったと推定される。

このようにCBZ-epoxideとHMCAが分離できない条件で定量を行った場合、薬理学的に活性なCBZ-epoxide濃度を実際よりも高く評価するとともに、CBZの主代謝物の一つであるHMCAを完全に見落してしまうことになる。分析の対象が血液中CBZとCBZ-epoxideだけである場合は、前処理で脱グルクロン酸抱合を行わないことが多い。しかしながらその場合でも次項に述べるように、HMCAのグルクロン酸抱合率、ならびにCBZ-diolとHMCAの生成比(血中濃度比)より考えると、実際のCBZ-epoxide濃度より約25%程度高く見積もってしまうことになる。現在までに報告されているCBZの代謝研究およびTDMに関する血液中濃度測定結果について精密な議論を行う場合には、著者らの分離条件のようなHMCAの分離可能なHPLC条件を用い、再検討し直す必要があると考えられる。

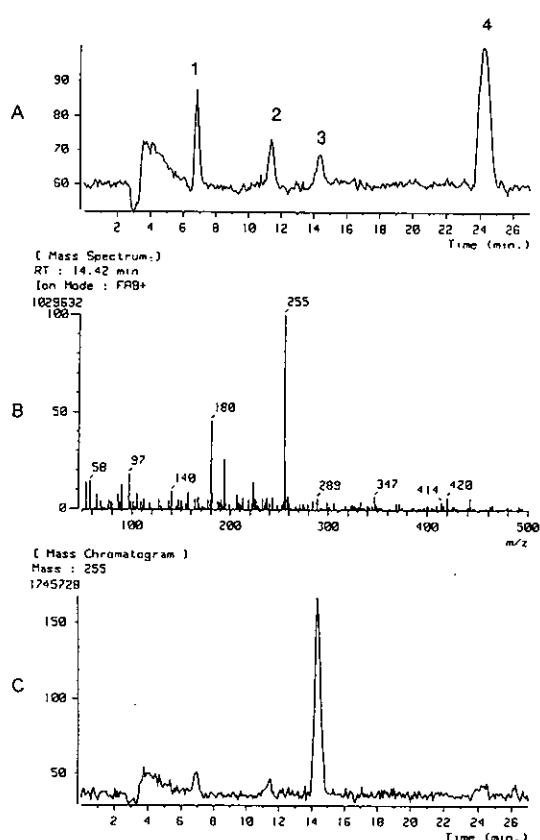
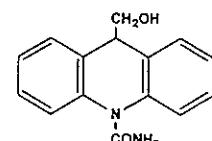
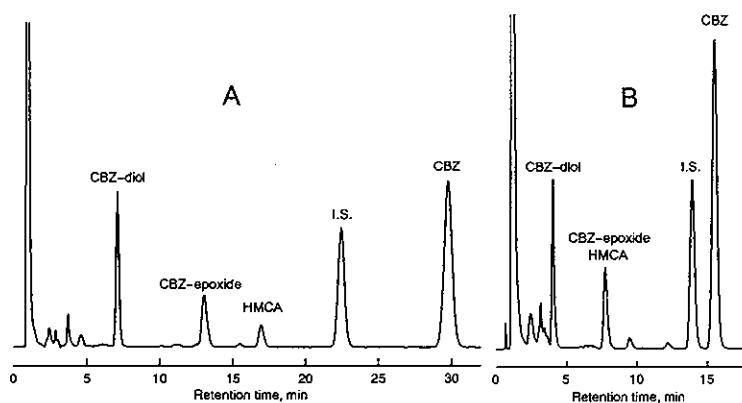


Fig. 2 The characterization of HMCA on a liquid chromatography-mass spectrometric analysis

- (A) Total ion monitoring ranging from  $m/z$  235 to 275.
- peak-1, CBZ-diol ; peak-2, CBZ-epoxide ; peak-3, unknown peak ; peak-4, CBZ.
- (B) FAB mass spectrum of the unknown peak.
- (C) Mass chromatogram at  $m/z$  255.



9-Hydroxymethyl-10-carbamoylacridan (HMCA)



**Fig. 3** Chromatogram of the Extract of Serum Sample Taken from an Epileptic Patient Treated with CBZ Alone in a Daily Dose of 250mg for a Long Period  
Mobile phase

(A) : acetonitrile/methanol/water(19:16:65 by volume)

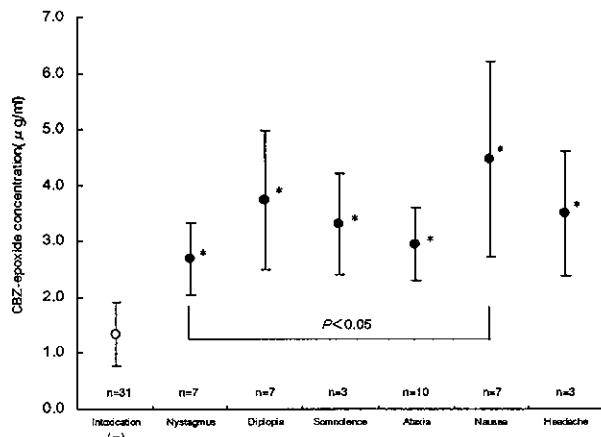
(B) : acetonitrile/water(30:70 by volume)

## 2. てんかん患者におけるCBZ-epoxide 血中濃度の測定意義

CBZ の主代謝物である CBZ-epoxide は、神経痛に対する効果あるいは抗うつ作用があることが報告されているが<sup>3)</sup>、同時に副作用発現の要因となることも示唆されている<sup>4)5)6)</sup>。このようなことから、CBZ-epoxide 血中濃度に関する報告は枚挙に暇がない。しかしながら、これまでに報告された CBZ-epoxide 血中濃度測定のための HPLC 法のはほとんどが HMCAs との分離が不完全であり、正確な CBZ-epoxide の定量ができていないことを示した。そこで、HMCA との完全な分離を可能にした HPLC 法によりてんかん患者の正確な CBZ-epoxide 血中濃度を測定し、CBZ-epoxide 血中濃度と副作用の関連性を検討した。対象とした症例は、コンプライアンスが良好であり、定期的あるいは随時 TDM を行った外来、あるいは入院中のてんかん患者 21 名 (68 ポイント) である。このうち 7 名に何らかの副作用が発現していた。同一患者においても、服用量が異なる場合、あるいは副作用がある場合とない場合の血中濃度は別個の値として評価した。CBZ および CBZ-epoxide 血中濃度と副作用症状の関連性は、Kruskal-Wallis および Scheffé test を用いる有意差検定により検討した。

その結果、副作用発現時の CBZ-epoxide 平均血中濃度は  $3.4 \pm 1.3 \mu\text{g}/\text{ml}$  であり、副作用非発現時の  $1.2 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{ml}$  に対して有意に高値を示していることがわかった。一方、CBZ 平均血中濃度は副作用発現時が  $8.1 \pm 2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、非発現時が  $6.5 \pm 2.2 \mu\text{g}/\text{ml}$  と、いずれも CBZ の治療有効域 ( $4 \sim 12 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) の範囲内にあり有意差はなかった。ところで、他の抗てんかん薬を併用していた場合、併用

している抗てんかん薬の血中濃度も測定し、その血中濃度が一般的治療有効域内であることを確認した。また、CBZ-epoxide 血中濃度が  $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上ではほとんどの患者が何らかの副作用を呈し、 $2.0 \mu\text{g}/\text{ml}$  以下では副作用は発現しなかった (Fig. 4)。とくに、眼振 (Nystagmus) は比較的低い CBZ-epoxide 血中濃度で発現している。



**Fig. 4**

Relationship of CBZ-epoxide concentrations and clinical signs of intoxication  
\* CBZ-epoxide concentrations of patients with each clinical signs are significantly different from that of group without those of intoxication,  $p < 0.001$ .

CBZ に限らず他の抗てんかん薬の副作用としても眼振は比較的低い薬物血中濃度で発現するように思われ、重篤な中毒症状が出現する前兆として注意すべき症状である。また、眼振と吐気 (Nausea) が発現する CBZ-epoxide 血中濃度の間にのみ有意差 ( $p < 0.05$ ) があったが、吐気が発現する CBZ-epoxide 血中濃度は幅が広く、それぞれ

の副作用症状と CBZ-epoxide 血中濃度の関連性はないようと思われた (Fig. 4)。一方、CBZ 血中濃度では複視 (Diplopia) 発現濃度が非発現濃度と有意差があるものの、他の副作用症状の発現血中濃度と非発現濃度には有意差が認められなかった (Fig. 5)。抗てんかん薬であるバルプロ酸 (VPA) の併用は CBZ-epoxide 血中濃度を上昇させる最も大きな要因であるが、VPA 併用時の CBZ-epoxide 血中濃度の上昇の程度は VPA 血中濃度に依存的であった。VPA は CBZ-epoxide を加水分解する epoxide hydrolase の活性を濃度依存的に粗害すると考えられる。したがって、CBZ-epoxide 血中濃度を指標として VPA を減量すれば、副作用を発現することなくてんかん発作のコントロールが可能であることが示された。ただし、発作型によっては CBZ を減量した方がよい場合がある。このように CBZ 服用中に副作用を惹起した症例では、CBZ-epoxide 血中濃度測定の意義について医師への周知に務めている。このようなことから産業医科大学病院では、副作用が発現した場合には CBZ よりも CBZ-epoxide 血中濃度の方がよい指標であるという認識が定着している。このように、臨床的に有用な代謝物の測定を行うためには、正確かつ精度の高い測定が前提であることは論を待たない。

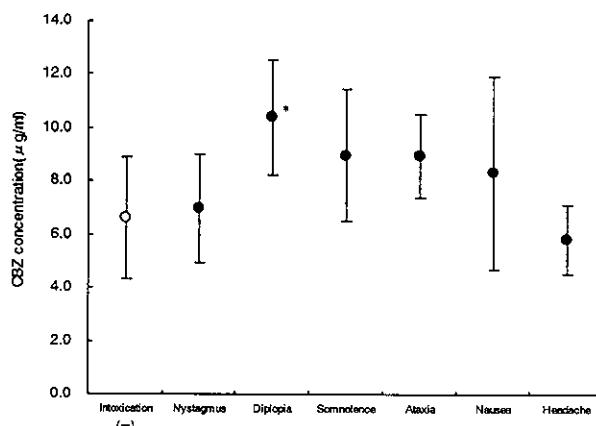


Fig. 5

Relationship of CBZ concentrations and clinical signs of intoxication  
\* CBZ concentration of patients with diplopia as clinical sign is significantly different from that of group without clinical signs of intoxication,  $p < 0.05$ .

であるが、その精神と手法は医薬品開発に直接携わっていない医療関係者および研究者にとっても重要である<sup>9)10)</sup>。分析法バリデーションの検討すべきパラメータの一つに特異性があるが、今回明らかにされた HMCA と CBZ-epoxide の分離の問題はまさしく、分析法バリデーションにおける特異性の問題である。これまで CBZ-epoxide 血中濃度と薬理作用について臨床的に検討したいくつかの報告があるが、いずれの研究においても HMCA と CBZ-epoxide との分離・定量がなされていないため、不正確な結論が得られている可能性が強い。したがって、今後 CBZ-epoxide 血中濃度の特異性を十分に検討した分析法を用い、薬理作用との関連について再評価する必要がある。

著者らはその一環として、特異性について十分にバリデートした CBZ-epoxide 血中濃度定量法を用い、CBZ 治療における副作用発現の指標としての CBZ-epoxide 血中濃度モニタリングの有用性を確認した。CBZ は常用量（1 日 200～1200 mg）の服用であれば、ほとんどの症例において 4～12 μg/ml の血中濃度を示す。特に、CBZ 投与量が 500 mg 以上では CBZ 血中濃度の上昇が頭打ちとなる。したがって 4～12 μg/ml 以外の血中濃度が得られた場合は、ノンコンプライアンスあるいは過量服薬（調剤過誤、誤薬あるいは虐待目的の強制服薬など）の可能性が高い。このような場合は、CBZ 血中濃度を測定する意義があるが、副作用発現要因の裏付け、あるいは発作抑制の指標としての測定意義については議論も多く、今回の結果からもその有用性については疑問を禁じ得ない。今後は副作用と治療効果の両面から、CBZ および CBZ-epoxide 血中濃度の測定意義を評価したいと考えている。

## References

- 1) S. Eto, N. Tanaka, A. Noda, and H. Noda: 9-Hydroxymethyl-10-carmaboylacridan in human serum is one of the major metabolites of carbamazepine, *Biol. Pharm. Bull.*, 18 (6): 926-928 (1995).
- 2) a) E. Mendez-Alvarez, R. Sato-Otero and G. Sierra-Marcuno: The effect of storage conditions on the stability of carbamazepine and carbamazepine-10, 11-epoxide in plasma, *Clin. Chim. Acta*, 154: 243-246 (1986).
- b) P. S. Bonato, V. L. Lanchote, D. de Carvalho and P. Ache: Measurement of carbamazepine and its main biotransformation products in plasma by HPLC, *J. Anal. Toxicol.*, 16: 88-92 (1992).
- c) M. C. Rouan, J. Campestrini, V. Le Clanche, J. B. Lecaillon and J. Godbillon: Automated micro-analysis of carbamazepine and its epoxide and *trans*-diol metabolites in plasma by column liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, 573: 65-68 (1992).

## III. あとがき

最近医薬品開発におけるバリデーションが法制化され、1998年4月から施行された<sup>7)</sup>。種々のバリデーションの中で、GMP および GLP における分析法バリデーションが設定され、日本薬局方第13改正にも初めて記載された<sup>8)</sup>。分析法バリデーションは医薬品開発者に課せられる義務

- d) H. Liu, M. Delgado, S. T. Iannaccone, L. J. Forman and C. M. Eggers : Determination of total and free carbamazepine and the principal metabolites in serum by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection, *Ther. Drug Monitor.*, 15 : 317-327(1993).
- 3) R. S. Moosa, M. L. McFadyen, R. Miller, and J. Rubin : Carbamazepine and its metabolites in neuralgias : concentration-effect relations, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 45 : 297(1993).
- 4) J. F. Schoeman, A. A. Elyas, E. M. Brett, and P. T. Lascelles : Correlation between plasma carbamazepine-10, 11-epoxide concentration and drug side-effects in children with epilepsy, *Develop. Med. Child Neurol.*, 26 : 756(1984).
- 5) P. N. Patsalos, T. J. Stephenson, S. Krishna, A. A. Elyas, P. T. Lascelles, and C. M. Wiles : Side-effects induced by carbamazepine-10, 11-epoxide, *Lancet*, August 31 : 496(1985).
- 6) 萩原真理子 : Carbamazepine-10, 11-epoxide 血中濃度と副作用の関連性, てんかん研究, 10 : 34(1992).
- 7) Validation 基準 : 薬発第158号 (1995年3月1日).
- 8) 日本薬局方13改正 : 分析法 Validation, p1561(1996年).
- 9) 江藤精二, 野田浩司 : クリニカルファーマシーにおけるバリデーション (その1), 薬局, 47(8) : 1163-1171(1996年).
- 10) 江藤精二, 野田浩司 : クリニカルファーマシーにおけるバリデーション (その2), 薬局, 47(9) : 1341-1346(1996年).

## GLP / GMP Validation Support · Certified Quality

# GLP/GMP における 分析バリデーションをサポートします。



KANTO Reagents



分析バリデーションサポート高純度シリカ系逆相カラム  
**Mightysil GP シリーズ**

充填剤バッチ間・カラムロット間偏差を厳しい規格として設定し  
高精度の充填を行っています。

▶バリデーションが必要とされるあらゆる分析工程において、  
安心してご利用いただけます。

常時3バッチの充填剤をご用意しています。

▶医薬品などの分析法検討の際、充填剤バッチの異なるカラム3本をあらかじめ試験することができます。

充填剤の物性・溶離特性を証明する「Certificate of Analysis.」を添付。

▶酸性、塩基性、金属配位性化合物などの幅広い試料に対し  
て、抜群のピーク形状と高い再現性をお約束します。

新製品

親水性化合物の分離に!!  
溶離液に水100%が使用可能!!

### **Mightysil RP-18 GP Aqua**

「Mightysil RP-18 GP Aqua」は溶離液に水100%が使用可能な親水性ODS充填剤です。従来、ODS充填剤では良好な保持が得られないことが多かった高極性化合物(核酸・アミノ酸等)の分離において、水100%もしくは高極性の溶離液を用い、安定した結果を再現性良く得ることができます。

環境保全と健康維持は、私たちの願いです



関東化学株式会社 試薬事業本部

<< <http://www.kanto.co.jp> E-mail: reag-info@gms.kanto.co.jp >>

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631  
〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(6222)2796  
〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2-22-3 092(414)9361

# ミルクオリゴ糖（乳中少糖）の比較生化学（VI）

## ——イヌ乳ラクトース硫酸の発見とその利用性——

東北大学大学院農学研究科 助教授 農学博士 斎藤忠夫  
帯広畜産大学畜产学部 助教授 農学博士 浦島匡

### 1. はじめに

哺乳動物の最大の特徴は、ミルク（乳汁）を分泌し、哺乳行為を行う点である。ミルクはその泌乳期により初乳、移行乳、常乳および後期乳に分類され、本稿の対象は主として泌乳初期に分泌される「初乳 (Colostrum)」である。初乳には、感染症を防ぐために抗体（ウシでは主として免疫グロブリン G1）が多く含まれ、特に反芻獣などの後天性免疫動物は、初乳を飲まないと重度の下痢症などに罹患しやすい。初乳には、抗体の他に特徴的な「ミルクオリゴ糖 (Milk oligosaccharide)」という成分が含まれており、種々の生理活性が予想されている。

これまで、ヒトミルク (Human breast milk, 人乳)、ウシ初乳、ヒツジ初乳、ウマ初乳およびヤギ初乳から単離されたミルクオリゴ糖の構造的特徴やその機能性について最新の文献紹介も含めて述べてきた<sup>1-9)</sup>。これら一連の研究は、我が国を含めて世界的にも著者ら以外の研究者は少なく、特に最新の核磁気共鳴スペクトル法 (NMR) による高感度かつ非破壊的な構造解析法の導入は高く評価され始めている。

著者らは、「ミルク中に合目的性の無い成分は存在しない。」という基本的な考え方をしている。この観点から、ミルクオリゴ糖は何らかの重要な生物活性を発現するために、乳腺細胞により合目的に生合成されてきたに違いないと考えている。近年、生体機能を調節する因子を発現するために予め構造設計された食品としてミルクが捉え直されてきており（食品の第三次機能）、ミルクオリゴ糖にもこの生体機能を調節する諸作用が有るものと推定される。

前回<sup>9)</sup>は、ヒツジ初乳中に生理活性糖質であるシアル酸を結合するシアリルラクトースのラクトン体が見いだされ、ヒト A 型インフルエンザウィルスの感染予防などへの新しい応用性について概説した。そこで今回は、人間の伴侶としても長い歴史を誇る「イヌ」という動物種において、そのミルク中に重要な生理活性の推定されるミルクオリゴ糖の発見とその利用性について概説する。

### 2. 酸性ミルクオリゴ糖

ミルクオリゴ糖は、電荷の無い「中性ミルクオリゴ糖」と陰電荷を有する「酸性ミルクオリゴ糖」に大別される。ミルクオリゴ糖に陽電荷を有するものは報告されていない。酸性ミルクオリゴ糖における陰電荷（マイナスチャージ）は、シアル酸、リン酸基および硫酸基などが結合することに起因する。シアル酸 (N-アシルノイラミン酸の総称) には、現在30種類以上の誘導体が知られており、その中には乳酸基を結合する場合も知られているが、非常に希である。これまで文献的には、ミルク中にラクトース (Gal $\beta$ 1→4Glc) やシアリルラクトース (NeuAc (NeuGc)  $\alpha$ 2→3(6)Gal $\beta$ 1→4Glc) および N-アセチルラクトサミン (Gal $\beta$ 1→4GlcNAc) の酸性誘導体（リン酸化、硫酸化、ヌクレオチド結合体など）の存在も知られている。しかしながら、その化学構造が NMR により検証されたケースはこれまでなかった。

### 3. イヌ乳におけるラクトース硫酸の発見と構造解析<sup>10)</sup>

イヌ (Dog, Canis Familiaris) という動物種は、哺乳類の分類体系では、食肉目 (Order Carnivora, 12科109属271種) の裂脚亜目 (Suborder Fissipedia) のイヌ科 (Family Canidae, 10属37種) に位置する。著者らは、帯広畜産大学の獣医学科内科教室で飼育するイヌ (ビーグル犬) から、分娩後13日目のミルク (2 ml) を得た。4倍量のクロロホルム/メタノール (2:1, v/v) を用いる分配抽出法により、糖質画分を調製し、Bio Gel P-2カラム (2.5×100 cm) によるゲルろ過を行った (図1)。

その結果、非吸着画分の溶出する位置 (ボイドボリューム = 200 ml) に溶出する酸性ミルクオリゴ糖画分 (ピーク1および2)、および遅れて溶出する中性ミルクオリゴ糖画分 (3糖:ピーク3および2糖:ピーク4) とに分離された。ピーク1はシアル酸を結合するシアリルオリゴ糖と考えられ、薄層クロマトグラフィー (TLC) により4成分の存在が示唆されたが、微量でありこれ以上の解析は行わなかった。またピーク3およびピーク4成分は、<sup>1</sup>H-

TADAO SAITO Dr. Agric.

Laboratory of Animal Products Chemistry,  
Graduate School of Agricultural Science, TOHOKU University

TADAS URASHIMA Dr. Agric.

Department of Bioresource Chemistry,  
OBIHIRO University of Agriculture and Veterinary Medicine

NMR 分析から、それぞれ 2'-フコシルラクトース ( $\text{Fuc} \alpha 1 \rightarrow 2\text{Gal} \beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}$ ) および ラクトース ( $\text{Gal} \beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}$ ) と構造決定された。

ここで特に注目されたのはピーカー 2 であった。ゲルろ過ではシアリルオリゴ糖付近に溶出しているにもかかわらず、TLC 分析（展開溶媒：エタノール/ブタノール/ピリジン/水/酢酸 = 50/10/10/10/3, v/v）では 3'-N-acetyl-neuraminyllactose に対する相対移動度が 1.44 を示し、低分子のオリゴ糖と推定された。ゲルろ過に用いた Bio Gel P-2 ゲル担体は、Sephadex G（架橋デキストラン）と同様に若干の負電荷を保持しており、負電荷をもつ成分は負電荷同士の反発のため、通常の分子量の溶出位置よりも早く溶出することが知られている。従って、ピーカー 2 は低分子であるが負電荷を有するミルクオリゴ糖と推定された。

このミルクオリゴ糖（ピーカー 2）を  $^1\text{H-NMR}$  に供した結果、 $\delta$  5.225（ケミカルシフト値：5.225 ppm）と  $\delta$  4.665 に還元末端 Glc 由来の 2 本のアノマーシグナル (H-1) が、また  $\delta$  4.57 に  $\text{Gal} \beta 4\text{H}-1$  に由来するシグナルが認められた。従って、ラクトース単位を有する 2 糖と考えられたが、 $\delta$  4.30 と  $\delta$  4.34 に通常の糖残基のプロトンよりも

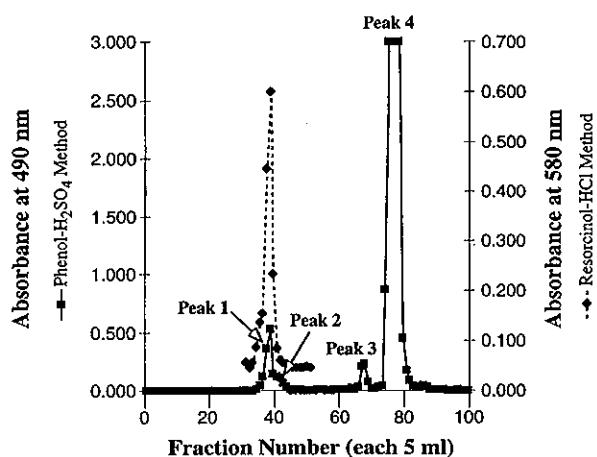


図 1. イヌ(ビーグル犬)乳より調製した全糖質画分のゲルろ過クロマトグラム

カラム：Bio Gel P-2 (2.5 X 100 cm)

移動層：高純度蒸留水

検出：■ フェノール硫酸法(中性糖) 490 nm

◆ レゾルシノール塩酸反応(シアリ酸) 580 nm

表 1. オリゴ糖（ピーカー 2）の NMR 分析における  $^1\text{H}$  および  $^{13}\text{C}$  シグナルの帰属

		Designated proton/carbon and value <sup>a</sup>						
Quantity	Residue	1	2	3	4	5	6	6'
$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\alpha$ -Glc	5.225	3.59	3.84	3.68	3.96	3.88	3.88
	$\beta$ -Glc	4.665	3.29	3.65	3.70	3.61	3.96	3.82
	$\beta$ -Gal <sup>b</sup>	4.568 ( $\beta$ ), 4.569 ( $\alpha$ )	3.69	4.34	4.30	3.78	3.79	3.79
$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )	$\alpha$ -Glc	92.1	71.4	71.7	78.6	70.3	60.2	
	$\beta$ -Glc	96.0	74.1	74.6	78.5	75.0	60.3	
	$\beta$ -Gal	102.8	69.4	80.3	67.1	75.2	61.2	
${}^1J_{\text{CH}}$	$\alpha$ -Glc	169.7	144.7	144.7		142.1		
	$\beta$ -Glc	161.8	144.7	144.7		143.4		
	$\beta$ -Gal	163.1	147.3	144.7	148.6			
${}^nJ$ ( $^{13}\text{C}$ )	$\alpha$ -Glc A	A3, A5	A3	A2, A4 A3, A5, A6				
	$\beta$ -Glc B		B1, B3 B2, B4 B3, B5, B6					
	$\beta$ -Gal C	A4, B4	C1, C3 C2, C4	C2, C4 C2, C3				

このオリゴ糖は、ラクトース単位 ( $\text{Gal} 1 \rightarrow 4\text{Glc}$ ) を有しているので、還元末端 Glc には、 $\alpha$ -および  $\beta$ -アノマーが存在する。

著しく低磁場シフトしたシグナルが観察された。また Gal $\beta$ 4H-1シグナル ( $\delta$ 4.57) も通常のラクトースのそれよりも0.12 ppmも低磁場シフトしていた。以上より、本2糖は、負電荷をもつ官能基により結合修飾をうけているラクトースではないかと考えた。

文献的には、N-アセチルラクトサミン (Gal $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcNAc) 単位をもつ糖鎖の非還元末端ガラクトース残基の3位が硫酸基によって修飾を受けた場合、結合位置のH-3並びにその隣接するH-4シグナルが4.3~4.4 ppmと極めて低磁場シフトしていた<sup>11)</sup>。著者らは、本オリゴ糖は非還元末端ガラクトース残基の3位が硫酸化されたラクトースではないかと推定したが、さらに二次元NMRによる解析を進めた。

同オリゴ糖のCOSYおよびTOCSYスペクトラからガラクトース残基のH-4およびH-5間でのシグナル同士が弱い相関をしていることを認めた。また、HSQC(図2)およびHMBCスペクトラからすべてのプロトンおよびカーボンシグナルが矛盾無く、ラクトース3'-O-硫酸に帰属された(表1)<sup>12)</sup>。<sup>13</sup>C-NMRでは、ガラクトース残基のC-3位がラクトースの同位置のシグナルよりも著しく低磁場シフトし、また2位、4位のシグナルが若干高磁場シフトすることが特徴的であった。この特徴は、硫酸基で糖残基が置換された場合、<sup>13</sup>C-NMRにおいて置換位置のシグナルは著しく低磁場シフトし、その隣接位置のシグナルは若干高磁場シフトするという経験則とも合致している<sup>12,13)</sup>。また同オリゴ糖の陰イオンモードでの質

量分析の結果、421.3に[M-H]<sup>-</sup>の分子イオンピークが観察された。この値は、ラクトース(MW=342)に硫酸基(-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>=80)が結合した化合物 [MW-H=(342+80)-H=421] と完全に一致した。このようにして、ピーク2成分は最終的に「ラクトース3'-O-硫酸」と構造決定された。

#### 4. 酸性ミルクオリゴ糖の生理機能

著者らのミルクオリゴ糖研究の中で、硫酸基を含むオリゴ糖の存在が確認された動物種は、イヌが初めてであった。これまで文献的には、ラット乳および泌乳期ラット乳腺においてラクトース-6'-O-硫酸および $\alpha$ 2,3-N-アセチルノイラミニルラクトース-6'-O-硫酸の存在が報告されている<sup>14,15)</sup>。イヌ乳ラクトース硫酸はガラクトースの3位が硫酸化されていたが、ラットでは6位が硫酸化されており、イヌとラットの動物種における硫酸基の結合位置の異なる点が、硫酸基導入酵素の基質特異性の違いの結果として特に注目される。また、人乳中においては、FAB-MSの結果のみに基づく不完全な同定であるが(M-Hイオンの存在は認められていない)、N-アセチルノイラミニルラクトース硫酸の存在も示唆されている<sup>16)</sup>。

また、ラット泌乳期乳腺に[<sup>35</sup>S]タウリンや[<sup>35</sup>S]無機硫酸塩を注入すると、ラット乳中に放射活性を示すN-アセチルノイラミニルラクトース硫酸が検出されると同時に、それを授乳した乳仔ラットの肝臓、脳に[<sup>35</sup>S]無機硫酸塩による放射活性が検出されることが報告されている<sup>16)</sup>。この事実は、N-アセチルノイラミニルラクトース硫酸やラクトース硫酸は、乳仔の腸管でオリゴ糖と無機硫酸塩に加水分解されると同時に、無機硫酸塩が吸収されて、脳

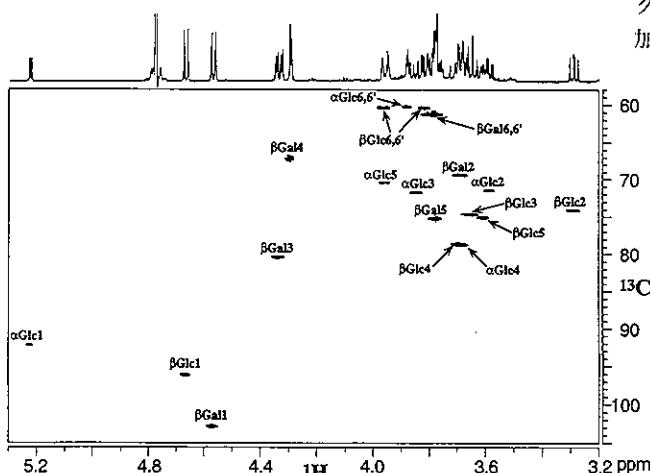


図2. 重水(D<sub>2</sub>O)中でのオリゴ糖(ピーク2)の600MHz HSQCスペクトラム  
横軸は<sup>1</sup>H-NMR、縦軸は<sup>13</sup>C-NMR

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

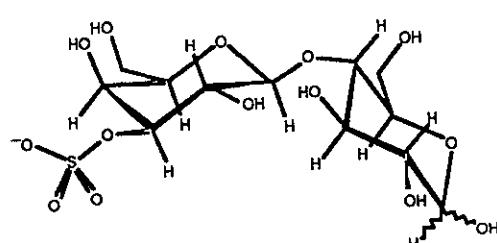


図3. ラクトース-3'-O-硫酸の化学構造  
化学構造:  $\beta$ -D-Galp(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glc<sup>p</sup>

などの組織に運搬されていることが明瞭に示唆される。硫酸基は、乳仔にとり脳や網膜の形成にとって非常に重要な物質であると考えられている。それは、成獣においては含硫アミノ酸から合成されるがcystein dioxygenase

活性の弱い乳仔期においては、体内でシステインから合成されない。そこで、ミルク中のラクトース硫酸やN-アセチルノイラミニルラクトース硫酸が、硫酸基を乳仔に運搬する役割を担っていると推定される。このことから、硫酸化ミルクオリゴ糖は、乳仔の脳や網膜の発達にとって非常に重要な生理活性物質であることは間違いないものと考えられる。

本研究で使用したイヌ乳における糖質含量は、4.7g/100mlと定量されたが<sup>10)</sup>、全糖質の約1%がラクトース硫酸であるとすれば、イヌ乳でのその含量は47mg/100mlと試算される。このことから、子犬は一回の授乳によって、かなりの量の硫酸基を含むミルクオリゴ糖を摂取していることが予想された。新生仔の犬はまだ目が開いていないが、この時期に母犬から子犬にラクトース硫酸を通して硫酸基が運搬され、これが子犬の脳や網膜の発達を促していると考えられる。一方、人乳中でもN-アセチルノイラミニルラクトース硫酸の存在が示唆されていることから、硫酸化オリゴ糖のこのような役割は、ヒトの場合にも当てはまるだろう。

### 5. 硫酸化オリゴ糖の合成とその利用

ヒト乳児用の人工調製粉乳には、脳や網膜の発達を促す物質として硫酸基を含むアミノ酸であるタウリン(2-アミノエタンスルホン酸)が配合されている商品もある。タウリンの硫酸基にも、硫酸化オリゴ糖と同様の役割があるのであろう。タウリンは母乳中にも含まれる物質であるので、母乳ではタウリンとN-アセチルノイラミニルラクトース硫酸やラクトース硫酸が、相互に補いながら泌乳初期における重要な生理的働きをしていると考えられる。すなわち、硫酸基のみの給源であればタウリンだけで済むと考えられるが、ミルクオリゴ糖の硫酸化された誘導体も必要とする合目的性が存在するのであろう。

最近、静岡大学の碓氷および村田らは、酵素法による硫酸化オリゴ糖の合成に成功している。彼らは、4-メチルウンベリフェリルβ-D-ガラクトシド-6-硫酸(S6Galβ1-4MU)からガラクトース-6-硫酸を切り出すことの出来るβ-ガラクトシダーゼを広く検索し、大腸菌を含む数種の菌株をスクリーニングした。このバクテリア起源のβ-ガラクトシダーゼ酵素を用い、S6Galβ1-4MUを供与体基質、GlcNAcを受容体基質として反応させた所、S6Galβ1-xGlcNAcが誘導された<sup>17)</sup>。また、Glcを受容体基質として反応させると、S6Galβ1-6Glc(硫酸化アロラクトース)が約10%の収率で合成された<sup>18)</sup>。これまでに、酵素法による硫酸化オリゴ糖合成の試みは、ほとんど知られておらず、非常に注目される研究である。

この研究において、ミルク中に見出されるラクトース-3'や6'-O-硫酸はまだ合成されていないが、酵素を選択するなどの改良によって乳中に存在する分子と同一のオリゴ糖が得られる期待は極めて高いといえる。著者らは、ラクトース硫酸やN-アセチルノイラミニルラクトース硫酸を極めて重要な成分ととらえ、これらをラット乳腺などのSulfonyltransferase活性などを用いて安全かつ大量に調製する方法論も模索している。将来的にこれらのミルクオリゴ糖の安定供給が実現した場合には、ヒトを対象とした人工調製粉乳などに添加する新たな機能性因子としての応用性が考えられ、期待される研究分野と言えよう。

### 参考文献

- 1) 浦島 匠, 齋藤忠夫, 化学と生物 31, 80-82(1993).
- 2) 齋藤忠夫, 浦島 匠, *The Chemical Times*, No. 154, 13-21 (1994).
- 3) 齋藤忠夫, 浦島 匠, *The Chemical Times*, No. 165, 15-20 (1997).
- 4) 浦島 匠, 中村 正, 齋藤忠夫, *Milk Science*, 46, 211-220 (1997).
- 5) 齋藤忠夫, 浦島 匠, *The Chemical Times*, No. 167, 3-9 (1998).
- 6) 齋藤忠夫, 浦島 匠, *The Chemical Times*, No. 173, 2-8 (1999).
- 7) 浦島 匠, 齋藤忠夫, バイオサイエンスとインダストリー 57, 619-620(1999).
- 8) 齋藤忠夫, 浦島 匠, 化学と生物, 37, 401-403(1999).
- 9) 齋藤忠夫, 浦島 匠, *The Chemical Times*, No. 175, 3-8(2000).
- 10) Bubb, W. A., T. Urashima, K. Kohso, T. Nakamura, I. Arai and T. Saito, *Carbohydr. Res.* 318, 123-128 (1999).
- 11) Lo-Guidice, J. M., J. M. Wieruszewski, J. Lemoine, A. Verbert, P. Roussel and G. Lamblin, *J. Biol. Chem.* 269, 18794-18813 (1994).
- 12) Honda, S., H. Yuki and K. Kakiura, *Carbohydr. Res.* 28, 150-153 (1973).
- 13) Contreras, R. R., J. P. Kamerling, J. Breg and J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.* 179, 411-418 (1988).
- 14) Ryan, L. C., R. Carubelli, R. Caputto and R. E. Trucco, *Biochem. Biophys. Acta* 101, 252-258 (1965).
- 15) Kuhn, N. J., *Biochem. J.* 130, 177-180 (1972).
- 16) Sturman, J. A., Y. Y. Lin, T. Higuchi and J. H. Fellman, *Pediatric Res.* 19, 216-219 (1985).
- 17) 村田健臣, 小杉正樹, 碓氷泰市, 日本農芸化学会1999年度大会(福岡)講演要旨集, p. 284(1999).
- 18) 小杉正樹, 村田健臣, 碓氷泰市, 日本応用糖質科学会1999年度大会(静岡)講演要旨集, p. 60(1999).

# TFT-LCD プロセス技術と最新 ITO エッチング技術(その1)

関東化学株式会社 電子材料事業本部 林 秀 和

TFT-LCD は、現在ノート PC の表示装置をはじめとして、大型の液晶ディスプレイとして広く採用されている。また今後、液晶ディスプレイはより大画面化、より高精細の表示が要求されており、TFT-LCD の透明導電膜として利用されている ITO (Indium Tin Oxide) 膜のエッチング技術は、その要求を満たす鍵といえる。第1報では、TFT-LCD の概要とプロセス技術について、第2報では、ITO 膜のエッチング技術に関連し、関東化学㈱が開発した最新 ITO エッチング液「ITO-05N」について紹介する。

## 1. はじめに

CRT (Cathode Ray Tube) ディスプレイは画面サイズに比較し占有面積、重量が大きい。このため CRT に代わる FPD (Flat Panel Display) として、LCD (Liquid Crystal Display : 液晶ディスプレイ), LED (Light Emitting Diode), PDP (Plasma Display Panel), ELD (Electron Luminescence Display), FED (Field Emission Display) などが開発実用化されている<sup>1)</sup>。

特に、TFT (Thin Film Transistor ; 薄膜トランジスタ) をスイッチング素子とした TFT-LCD は、薄型・軽量・低電圧・低消費電力などの特徴を兼ね備え、ノート PC を中心としてその需要は年々大きく伸長している。さらに大画面化、高精細化によりモニタや大型液晶 TV の領域まで市場拡大し、まさにこれからの中核ディスプレイ時代の主役となろうとしている<sup>2)</sup>。図1には、世界の LCD 用途別市場動向を示した<sup>3)</sup>。この図からわかるようにノート PC の市場が拡大するに伴い、液晶パネル全体の市場も急速に伸びてきたことを示している。

## 2. TFT-LCD の技術概要

1980年代後半から末にかけて、TFT-LCD の製造には、太陽電池用製造ラインが転用されていた。しかし、LCD 製造は太陽電池と異なり大変厳しいパーティクル管理が求められる。このため、1990年以降になると半導体(DRAM) の製造技術が応用された。TFT-LCD の製造は、異物混入に関する厳しい管理技術や、微細加工技術という点で、

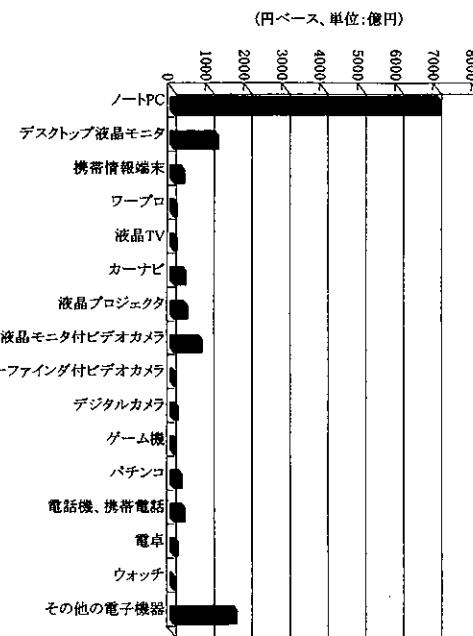
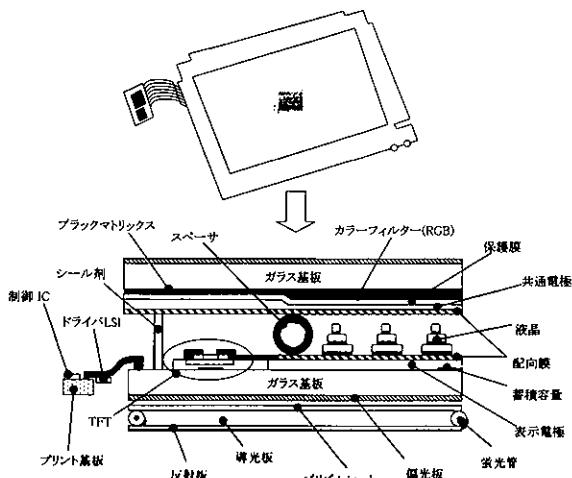


図1. 世界の LCD 用途別市場動向<sup>3)</sup>

DRAM と TFT-LCD とは生産技術上では酷似している点が多い<sup>4)</sup>。たとえば、 $1024 \times 768$ ドットのカラー液晶ディスプレイには、 $1024 \times 768 \times 3$ 原色 = 約 240 万個のトランジスタが置かれ、約 2 メガビットのメモリーに相当する<sup>5)</sup>。

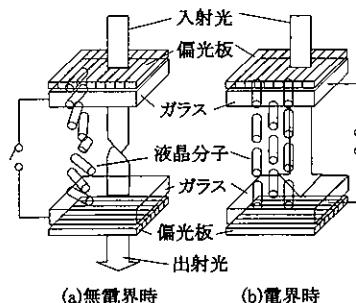
図2にカラー TFT-LCD のパネル断面図を示す<sup>6)</sup>。TFT-LCD はガラス基板上に TET と電極線などを形成した TFT アレイ基板と、RGB と BM (ブラックマトリックス) などのカラーフィルターを形成したカラーフィルター基板とをシール剤を用いて貼り合わせた後、それらの基板の隙間に液晶を注入し、注入口を封止剤で封じて完成する。ドライバ LSI は、TFT を介して液晶を駆動する LSI である。ドライバ LSI は本来外付けだが、現在急速に開発が進んでいる低温ポリシリコン TFT-LCD 技術を用いれば、ガラス基板上にドライバ LSI を作り込むことができる。ポリシリコンを TFT のスイッチング素子としたディスプレイは、アモル

フアスシリコンを用いたものに比べ電子の移動度が大きく、高精細のディスプレイとして期待されている。通常、ポリシリコンを形成するには高温でアモルファスシリコンを結晶化させるため、安価なガラス基板を用いると耐熱性などの問題があり用いることができなかった。しかし近年ではレーザーニール技術を用いた低温成膜が注目され、すでに10型サイズのLCDパネルなどで実用化されている。

図2. TFT-LCD断面図<sup>6)</sup>

液晶は、それ自身は光を発しないため、液晶パネルの裏側に蛍光管を用意して光を当てている。光は波の性質を持ち、いろいろな方向に振動している。液晶ディスプレイでは、一定方向だけの光を通す「偏光板」がガラスの上下に張られ、1枚は水平方向に振動する光、もう1枚は垂直に振動する光だけを通すような角度になっている。この状態で光を当てると、まず光は水平偏光板に入り、水平に振動する光だけが通り抜ける。次に光は液晶を通過しながら、分子のねじれに沿って90度回転し、垂直方向に振動する。出口の偏光板は、垂直に振動する光だけを通すので、光はそのままディスプレイ表面を通過し、画面は明るく光って見える。ここで液晶層に電圧をかけると、電気の流れに沿って分子が一定方向に並び、分子のねじれがなくなる。この状態では、光は最初の水平偏光板は通過するが、水平に振動したまま垂直方向の偏光板に当たる。そのため偏光板を通過できず、光は外に出で行かない。つまり液晶層に電圧がかかっていると、ディスプレイは黒く見えることになる(図3.)。液晶は電圧のコントロールで色合いを変える。TFT-LCDは、一つ一

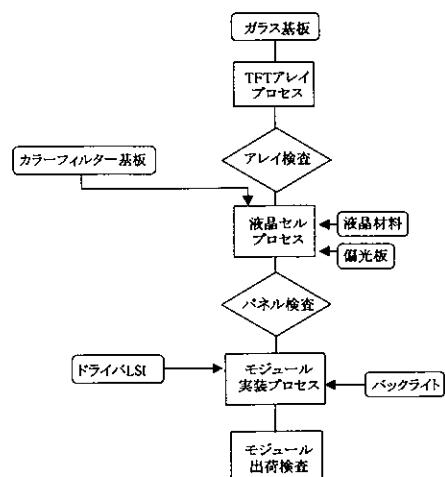
つのドットにトランジスタを置き、液晶にはコンデンサとしての性質を持たせているのが最大の特徴である<sup>5)</sup>。

図3. 液晶ディスプレイの原理図<sup>8)</sup>

TFT-LCD用液晶化合物としては、これまで時計や電車などに使用してきたシアノ系液晶化合物に比べF系(フルオロ系)液晶化合物が有利であることが判明している。F系液晶はシアノ系液晶と比較して比抵抗が高く、TFT-LCDの電圧保持率を高くすることが可能で、特に高温領域ではその差が顕著となることから、TFT-LCD用液晶材料として種々のF系液晶が開発されている<sup>7)</sup>。

### 3. TFT-LCDプロセス技術

図4.にTFT-LCD製造工程フローを示す<sup>2)</sup>。製造プロセスは、TFTアレイ、液晶セル、モジュール実装の3つのプロセスから成り、各々の間に検査工程が入る。アレイプロセスでは、ガラス基板が投入され、洗浄、成膜、

図4. TFT液晶ディスプレイ製造工程フロー<sup>2)</sup>

フォトリソグラフィ、エッチングの一連のプロセスが金属配線、半導体膜、絶縁膜、ITO膜など各々に対して行われ、TFTアレイ基板が作られる。工程内では、品質、歩留まり向上のため、各ステップで膜厚、抵抗値、パーティクル測定やパターン検査が行われる<sup>2)</sup>。

図5にアモルファスシリコンTFTプロセス断面を示す<sup>2)</sup>。①まずガラス基板を洗浄し、スパッタリングでゲート電極になる金属膜を成膜する。金属材料はTa, MoTa, Cr, Alなどで、LCDメーカーはそれぞれ独自の材料を採用している。②次にCVD(Chemical Vapor Deposition)によりゲート絶縁膜を成膜する。ゲート絶縁膜の上に半導体層としてアモルファスシリコン膜、さらに保護膜としてSiNx膜を連続成膜する。③リンをドープしたn<sup>+</sup>型アモルファスシリコンをCVDで成膜し、フォトリソグラフィ、エッチングにより島状に残す。④画素電極(透明)としてITO膜をスパッタリングで成膜する。⑤ソース・

ドレイン金属膜(Al, Cr, Mo, Ti)をスパッタリングで成膜し、フォトリソグラフィ、エッチングによりソース・ドレイン電極を形成する。今日ではAl膜が多用されているが、耐熱性の観点から、Al膜と高融点金属(Cr, Moなど)との積層または表面を陽極化されて用いられている。⑥保護膜のSiNxをCVDで成膜し、画素と周辺端子部をエッチングにより露出させる。以上でTFTアレイプロセスは完了し、液晶セルプロセスへ投入される<sup>2)</sup>。

#### 4.まとめ

液晶ディスプレイのなかでもノートPCを中心に発展しているTFT-LCDについて、その概要とプロセス技術について述べた。液晶パネルはいまや2兆円を超える市場規模となり、TFT-LCD産業はその中でも中心的存在になっている。今後、TFT-LCDはノートPC市場の拡大を図るとともに、デスクトップモニタ用や家庭向けの液晶TVとしての拡大が期待されている。また、これまで韓国、日本のLCDメーカーがリーダーシップをとってきたのだが、台湾でも新しい企業があいついで大画面に対応したTFT-LCD工場を建設するなどグローバルな競争が始まっている。ディスプレイ産業はTFT-LCD産業を中心になります注目が集まるだろう。

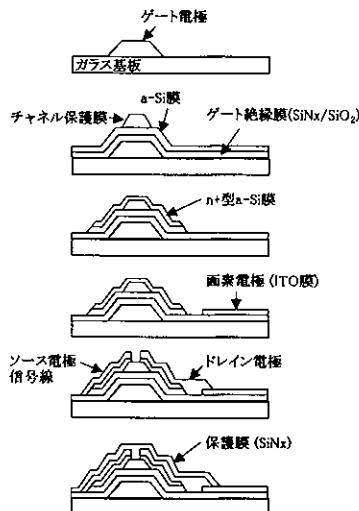


図5. a-Si TFT プロセス断面<sup>2)</sup>

〈編集後記〉春の訪れを、春を六つに分けた節気、すなわち①立春②雨水③啓蟄④春分⑤清明⑥穀雨の中の「春分」で寒さの緩み始めを感じます。また、冬の終わりを告げる「春雷」や、初めて吹く強い南風の「春一番」で、いっそう春の到来を覚えます。更には梅そして桃の花が

#### 引用文献

- 1) 大野、他、実装表面技術、Vol. 35, No. 11(1998), pp. 48-53.
- 2) 西村、Electronic Journal 別冊 2000 FPD テクノロジー大全 FPD Technology Outlook, 勉電子ジャーナル(1999), pp. 107-117.
- 3) 1998 LCD パネル・CF データブック, 勉電子ジャーナル(1998), pp. 35.
- 4) 岩井, M & E, 1999年12月号, 工業調査会, pp. 106-117.
- 5) 夏目, ASAHI パソコン 2000. 2. 1, 朝日新聞社, pp. 46-49.
- 6) 山崎、他、カラー TFT 液晶ディスプレイ、SEMIスタンダード FPD テクノロジー部会(1994), pp. 133.
- 7) 川上、液晶ディスプレイ技術 1998年 電子材料別冊、工業調査会, pp. 28-32.
- 8) 馬場、他、現代電子材料、(株)講談社(1986), pp. 79.

咲き、桜の花見で春爛漫を満喫することになります。その花見は「ゴザを敷いて、○枕でごろーんと上を向き、寝て見る」のが格別とのこと(○:腕、膝等)。

皆様におかれましては、この春の季節に「新しい桜の花見」を試されるのも良いかも知れません。(三城)



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号  
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560  
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>  
編集責任者 三城 侑三 平成12年4月1日 発行