

	アベ シンイチ
氏 名	阿部 伸一
本籍（国籍）	岡山県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連論第162号
学位授与年月日	平成27年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当論文博士
研究科及び専攻	連合農学研究科
学位論文題目	森林生物起源サナギタケのカイコ蛹を用いた大量生産法の確立 (Establishment of mass production using the host silkworm pupae of <i>Cordyceps militaris</i> originated from a forest organism)
学位審査委員	主査 准教授 小藤田 久義 副査 講師 安 嬰 副査 教授 高橋 孝悦 副査 教授 小池 正徳

論文の内容の要旨

冬虫夏草の多くは、森林生物群集の構成メンバーとして昆虫に寄生しながら生態系の維持に貢献している。冬虫夏草の自然界における生長は遅く、特定地域に制限されるので採取量は極めて少ないだけでなく、中国とその近隣国の高山帯でコウモリガ類に寄生する狭義の冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*) の採取による自然破壊は、すでに社会問題となっている。

グローバルに進行する地球上の高山帯の環境破壊に歯止めをかけ、森林生物資源の多様性の維持と保全を提案するためにも、森林生物資源起源となるサナギタケ (*Cordyceps militaris*) の新しい社会的な役割に着目した。サナギタケは、わが国では通常山地で採取されており、養蚕業に関しては、20世紀の前半には総輸出額の50%以上が生糸であり、科学技術も蓄積されている。本研究では、森林生物資源起源のサナギタケと養蚕業のカイコを融合し、その生産物がヒトの健康寿命延長と国民医療費削減に貢献することを最終的な出口としている。

第一章では、サナギタケの宿主昆虫カイコのカイコ蛹ステージにおける感染率の課題に取り組んだ。カイコは大量飼育技術が確立されており、幼虫期よりも蛹期がサナギタケの感染率が高いこと、また感染方法として二次胞子の散布や浸漬よりも注射接種が優れていることが報告されているが、生存中のカイコ蛹にサナギタケ胞子を接種するステージは限られており、蛹発育中期の眼点期を経ると成虫発育が進行し羽化が減増するため、眼点期からの限られた時期までに接種を行わなければならない、サナギタケの大量生産における大きな障壁となる。

そこで、蛹発育を停止する炭酸ガス麻酔処理に着目して、カイコ蛹発育とサナギタケ感染効率の関連性について解析した。実験方法として、カイコ蛹を眼点形成期で揃えて、5日間に渡りサナギタケの二次胞子懸濁液 (50 μ L) を関節間膜から注射し、その注射接種ごとに炭酸ガス麻酔を2日間処理した。この麻酔処理後、通常環境下に戻してその後の感染化を調査した。

その結果、5日間の何れの時期に接種しても感染率は高く維持されほとんどのカイコ蛹は完全に感染することができた。

一方、冷蔵麻酔は炭酸ガス麻酔と同じように使用されていることから、比較検討するために、炭酸ガス麻酔と同様に2日間5°C処理して、その後の感染率を調査した。その結果、冷蔵麻酔処理した場合でも連続して通常環境下で保存した対照区と同じように、蛹の眼点形成以後の成虫化が進むと共にサナギタケ感染率は急速に減少した。

以上のことから、宿主昆虫に対する注射接種期間の延長を炭酸ガス麻酔で達成することができ、カイコ蛹をサナギタケの宿主として使用し子実体の大量生産を可能とした。

第二章では、サナギタケの大量生産を行う上では、現在各地で行われている養蚕によるカイコ飼育を前提とするため、ウイルス・細菌類を保有するカイコ蛹を避けることはできず、サナギタケが感染することなくカイコ蛹が死亡腐敗してしまう問題に取り組んだ。腐敗蛹は強烈な腐敗臭が発生するため、作業者に与える苦痛は大きい。さらに、数十時間で内部が液状化し潰れやすい腐敗蛹は、量産工程では隔離することができないため、周辺の正常感染蛹にも影響を与えてしまう。従って、有効な腐敗抑制方法を見出す必要がある。

そこで、内部汚染菌などの不健全カイコ蛹の全カイコ蛹の比率（不良率）と感染や羽化をせずに腐敗に至るカイコ蛹の全カイコ蛹の比率（腐敗率）との関係に着目し、37戸の養蚕農家から収繭して切り出した合計1,479,046頭のカイコ蛹を調査した。その結果、汚染菌と腐敗蛹について不良率と腐敗率との関係からクリティカルポイントが存在することを見出した。

すなわち、空気感染やカイコ蛹の体表接触によって腐敗が拡大するものではなく、ウイルス・細菌類にすでに汚染されているカイコ蛹は、サナギタケに感染することなく腐敗し、健全なカイコ蛹についても、注射接種時に器材によってウイルス・細菌類が注入されて汚染され、サナギタケに感染することなく腐敗することを見出した。

以上のことから、クリティカルポイントによるサナギタケの生産体制の構築によって腐敗抑制を実現できるとともに、腐敗率が低い安定生産を確立すべく、カイコ蛹の健全性を前提としたカイコ飼育に取り組むことが期待される。

本研究の成果である1)炭酸ガス麻酔による注射接種時期の延長と、2)クリティカルポイント設定による宿主カイコ蛹の安定供給体制の構築は、森林生物起源のサナギタケの非繊維型薬理産業の糸口になるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

古来より薬理資源として活用されてきた冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*) は、チベットおよびヒマラヤの高山地でコウモリガ類に寄生する糸状菌であるが、近年の乱獲により希少薬理資源となっている。わが国の森林生物として通常発生しているサナギタケ (*Cordyceps militaris*) は昆虫体に寄生し、広義的には冬虫夏草と呼ばれている。本研究では、コウモリガ類に寄生する冬虫夏草代替の糸状菌として着目されているサナギタケのカイコを用いた大量生産法の確立を目的とした。

1. カイコを飼育したサナギタケの大量生産は従来から試みられており、蛹期にサナギタケ2次胞子を注射法により接種すると高い感染率が誘導されることが明らかとなっている。しかし、

蛹の眼点形成期後の接種は感染率の急速な低下を招き、生産工程を制限するものとなっていた。そこで、蛹期の眼点形成期以降における感染率の向上を目的として、これまで昆虫体の麻酔法として使用されている炭酸ガス処理について検討した。カイコ蛹の眼点期形成期から5日間に渡りサナギタケ2次孢子懸濁液を注射法で接種し、直ちに2日間の炭酸ガス麻酔処理を行い、その後の感染率を調査した。対照区として、無処理操作のほか、炭酸ガスと同様に昆虫体で使用されている冷蔵麻酔を実施した。その結果、無処理区と冷蔵麻酔区では時間の経過とともに感染率が低下したのに対し、炭酸ガス麻酔処理ではいずれの時期でもほぼ完全に感染が認められた。以上のことから、サナギタケの生産に寄生昆虫としてカイコ蛹を用いた場合には、炭酸ガス麻酔の導入により、高い感染率を一定期間維持できることが明らかとなった。

2. サナギタケの寄生昆虫としてカイコ蛹を大量に炭酸ガス麻酔処理するためには、その前段階として農家からの収穫作業が不可欠になる。しかし、これまで農家から収穫する際にサナギタケ接種後の腐敗蛹の発生数を予測することは不可能であり、有効な腐敗抑制法の確立が求められていた。そこで、収穫時における不健全なカイコ蛹と接種後に腐敗に至るカイコ蛹との関係に着目し、37戸の養蚕農家から収穫して切り出した合計1,479,046頭のカイコ蛹を調査した。その結果、カイコ蛹の腐敗は空気感染や体表接触によって拡大するものではなく、ウイルス・細菌類にすでに汚染されている不良蛹が腐敗蛹となるケースが多いこと、また、両者の数的関係には腐敗の発生率が著しく高くなるクリティカルポイントが存在することを見出し、サナギタケの安定生産に必要とされる腐敗抑制のための条件を明らかにした。

本研究は、森林生物資源の1つであるサナギタケを薬理資源として位置付け、わが国で確立されているカイコ飼育法と組み合わせることで大量生産することを想定し、炭酸ガス麻酔法導入によるサナギタケ感染率の向上、ならびに宿主昆虫の腐敗防止による安定供給体制の構築を可能にするための重要な知見を提供したものである。以上のことから、本審査委員会は「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. Shinichi Abe, Kei-ichiro Yamamoto, Ying An, Jun Saeki, Takashi Itagaki, Hisayoshi Kofujita and Koichi Suzuki.

CO₂ anesthesia enhances infection rate of *Cordyceps militaris* (Hypocreales: Clavicipitaceae) on pupae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Journal of Insect Biotechnology and Sericology. (掲載証明付き)

参考論文

1. 阿部伸一 (2007)

かいこセラピー事業への取り組み

東北蚕糸・昆虫利用研究報告 No.29 2007:5-12