

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450219

研究課題名(和文) 安全性の高い界面活性剤を用いたスギ花粉形成抑制技術の確立

研究課題名(英文) Establishment of pollen formation suppression techniques of Japanese cedar using highly safe surfactant

研究代表者

小塩 海平 (Koshio, Kaihei)

東京農業大学・国際食料情報学部・教授

研究者番号：50318177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：安全性の高い界面活性剤(ソルビタントリオレート：STO)を雄花の形成後に葉面散布処理することにより、雄花を選択的に褐変枯死させる技術を開発した。透過型電子顕微鏡による観察の結果、STOは雄花におけるネクローシス型プログラム細胞死を引き起こすことにより、花粉形成を阻害することが明らかとなった。STO処理により、スギの雄花が枯死するため、スギの成長が促進されるとともに、球果の形成も抑制できることが明らかとなった。これらの成果は、スギの材としての価値を損なうことなく花粉の飛散量を抑制できるため、実用的なスギ花粉症の軽減技術に結びつくことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：New techniques to kill male flowers of *Cryptomeria japonica* were tried to establish by the application of sorbitan trioleate which is a food additive and used for cosmetics. By the observation of TEM, it was clear that sorbitan trioleate induced necrosis type programmed cell death of male flower cells leading to the suppression of pollen formation. The cells treated with sorbitan trioleate seemed to shrink separated from cell wall and cell membrane was broken so that cytosol was leaked out to apoplast. The electrophoresis of DNA showed smear degradation. Sorbitan trioleate induces plant growth by suppression of male flowers and cones of *Cryptomeria japonica*, which can lead to establish a practical technique to decrease pollen dissemination without damaging the values of Japanese cedar timbers.

研究分野：森林科学、植物生理

キーワード：花粉症 スギ 界面活性剤 プログラム細胞死

1. 研究開始当初の背景

日本におけるスギ花粉症患者は国民の約20%にも上るといわれており(北村・武田, 2002)、年間の経済的損失はおよそ2860億円にも達すると概算されていた(中村ら, 2002)。日本で初めてスギ花粉症患者が報告されたのは1963年のことであるが(堀口・斉藤, 1964)1980年から2000年までの20年間に、患者数は約2.6倍に増加したことが報告されていた(Kanekoら, 2005)。さらにスギ花粉特異的IgE抗体陽性率(JCP-IgE 1.5IU/ml)は、若年層を中心に国民の40~50%に及ぶとみなされており(Ozasaら, 2002)、将来にわたって大きな社会問題となっていた。

花粉症の治療には、抗ヒスタミン剤やステロイド剤などの薬物を用いた対症療法や減感作療法と呼ばれる抗原特異的免疫療法が知られていたが、即効性や副作用などの点から、安全性に優れた根治療法とは言い難い(今井ら, 2002)。またスギ花粉抗原エピトープを導入したアレルギー軽減米の研究も進められていたが(高岩・高木, 2006)遺伝子組換え作物の摂取に関しては、まだまだ大きな抵抗があった。

花粉回避に関しても花粉飛散量の予測(平ら, 2004)、空中花粉量の測定法(高橋ら, 1992)、空中スギ花粉アレルゲンの測定法(高橋・青山, 2006)、シミュレーション法を用いた花粉情報(高橋ら, 1996)、空中スギ花粉の着衣・皮膚への付着(奥田ら, 2005)など、さまざまな研究が進められていたが、根本的な解決策として、スギ花粉自体の飛散を抑制することが求められていた。

それまで、マレイン酸ヒドラジッドコリン塩(橋詰・山本, 2002)やウニコナゾールP(Shinohara et al., 2001)、トリネキサパックエチル(Honma, 2003)など、植物成長調節物質を用いたスギ雄花の着花抑

制が検討されてきたが、生態系への影響が大きく、実用化は困難であった。また、育種によって無花粉スギが育成され(Saito et al., 1998)、植林事業も進められていたが、これらの系統は精英樹ではないため材質が劣る上、労力と時間を要するという大きな欠点があった。

研究代表者の小塩海平は、サラダ油の5%溶液をヘリコプターで散布することによってスギ雄花の着生を抑えることに成功したが(Koshio et al., 1995 and 2000)、その後、食品添加物や化粧品の素材として利用され人体や環境に対してより安全性が高い界面活性剤(Elder, 1985)を中心に検討を続け、オレイン酸誘導体非イオン系界面活性剤がスギ雄花に対する選択的褐変効果にすぐれていることを見出した(小塩ら, 2011)。代表者の小塩は、研究開始までに、界面活性剤を用いた花粉飛散抑制に関する8つの特許を申請し、ソルビタントリオレート(STO)を利用したスギ雄花の選択的褐変枯死技術の確立に関する研究を続けてきた。

2. 研究の目的

STOによって引き起こされる雄花の褐変枯死現象を経時的に顕微鏡観察し、プログラム細胞死(PCD)のメカニズムおよびPCDを誘導するのに最も効果的な時期を特定することを目的とした。合わせてSTO処理によって花粉形成を抑制した場合、材の成長がどれほど促進されるのかを測定することを目的とした。

3. 研究の方法

スギ雄花および花粉の形成過程を時系列的に詳細に走査型電顕および透過型電顕で観察するとともに、それぞれの時期にSTOを処理して、スギ雄花の褐変、花粉の細胞死、アレルゲン活性の消長に及ぼす影響に

ついて検討を行った。また、1年生のスギ苗について6月にGA処理(100ppm)によって雄花を誘導した後、STO処理を行って雄花を選択的に褐変させ、対照区と比較して、苗の樹高、茎径および球果の数を計測した。

4. 研究成果

STOによって引き起こされるスギ雄花の褐変枯死現象について経時的に顕微鏡観察し、花粉母細胞の減数分裂期前後にSTOを処理することにより、生理的には一連のサイトカニン活性が高まること、また形態的には原形質分離が起こって細胞膜が断絶し、細胞質が細胞外に流出してネクローシス型のプログラム細胞死が引き起こされることを明らかにした。生理的メカニズムについて調査したところ、雄花におけるエチレン生成量が極端に抑えられ、サイトカニンやサリチル酸が増加するなど、プログラム細胞死特有の生理的变化が認められた。透過型電子顕微鏡でSTOを処理したスギ雄花の細胞を観察すると、原形質分離が起こって細胞膜が断裂し、細胞内容物が放出されるなど、ネクローシス型プログラム細胞死が起こっていることが明らかとなった(図1)。

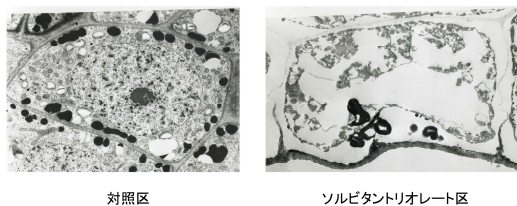


図1 ソルビタントリオレートによって誘導される雄花細胞のネクローシス型プログラム細胞死

また、1年生のスギ苗にSTO処理をした結果、雄花の褐変枯死が誘導されて樹高が高くなり、さらに球果の形成も抑制されることが明らかとなった(図2)。



図2 ソルビタントリオレートによって雄花の選択的褐変・枯死を誘導すると、材の成長が促進される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

小塩海平・平塚理恵「安全性の高い界面活性剤を用いたスギ花粉形成抑制技術の確立」アレルギーの臨床4月号(2016) 査読あり

〔学会発表〕(計1件)

平塚理恵・小塩海平「雄性不稔スギ花粉の微細形態観察 -新大8号について-」(2015)日本花粉学会第56回大会(50周年記念大会)、滋賀県立琵琶湖博物館

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小塩海平 (KOSHIO, Kaihei) 東京農業大学国
際食料情報学部・教授
研究者番号：50318177

(2) 研究分担者

平塚理恵 (HIRATSUKA, Rie) 東京慈恵会医科
大学医学部・准教授
研究者番号：30246376

(3) 連携研究者

()

研究者番号：