

〔報告〕 高松塚古墳における菌類等微生物調査報告(平成 18 年)

木川 りか・佐野 千絵・石崎 武志・三浦 定俊

1. はじめに

高松塚古墳は、昭和47年(1972年)に発見され、当時、文化庁によって組織された保存対策委員会により壁画の現地保存が決断された。その後30年以上が経過し、高湿度環境の古墳で壁画を保存する困難さから、古墳石室の解体・壁画の修理が決定され¹⁾、現在、解体作業が進められている。解体が行われるまでの間、少しでも微生物の生育を遅くする緊急対応の目的で、2005年9月より石室の冷却が開始され、石室はおよそ10℃の低温に保たれて解体を待つ状態にある。本稿では、2006年に入って後の高松塚古墳の菌類等微生物調査の結果について述べる。

2. 2006年2月の状況

2006年2月2日の文化庁による石室の点検の際に撮影された写真で、西壁女子群像の右肩部、右目脇に黒いしみが発見された。これを受け、2006年2月20日、杉山純多検討会委員とともに現地調査を行い、続いて、3月10日高鳥浩介検討会委員同行のうえ、調査が行われた。

その結果、杉山検討会委員による所見では、「2006年2月20日の現地調査において、女子群像の肩の染みほか全サンプル7点から細菌ならびに菌類が分離された。このことは、「染み」という名で報道された部分には細菌と菌類(カビと酵母)によるバイオフィームが形成され、しかも生きた状態にあることを明瞭に示している。従って、適当な水分の供給と温度上昇があった場合には、バイオフィームが拡大する、すなわち生物劣化が進行することが予測される。」とのことであった²⁾。

2006年2月20日の調査の時点では、分離されたカビなどの菌類は、主に*Penicillium* sp. や *Fusarium* sp. であり、従来から分離されていた種類と大きな差異はみられなかった(国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会、第6回資料)²⁾。また、3月10日に高鳥浩介検討会委員によって実施された結果でも、菌類については*Penicillium* sp. が主で、若干*Fusarium* sp. が検出されるという、同様の傾向が見られた(国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会、第6回資料)²⁾。以上のように、2006年2-3月の段階では、壁面からは、*Penicillium* sp. のカビが主に検出されており、黒い部分はこれまでのように主にバイオフィーム状の菌類と細菌の混生体であることが明らかにされた。

2006年2月20日の調査時における状況を写真1に、また当日、西壁女子群像女子の右肩から採取した試料より現地でプレパラートを作成し、のちに顕微鏡観察した像を写真2に示す。

3. 2006年5月の状況

2006年5月2日の文化庁による点検の際に、西壁女子群像の黒色のしみがさらに拡大していることが報告され、これを受けて、2006年5月17日、再び杉山純多検討会委員、高鳥浩介検討会委員とともに現地調査を行った。

杉山検討会委員による所見では、「今回採取のサンプルで観察された「黒色のカビ」はすべて同じ暗色系の*Acremonium* (section *Gliomastix*) sp. (以下、暗色系の*Acremonium* sp. と記載する) である。このカビはこれまでも高松塚石室内から分離されたことはあるが、これほど複数の箇

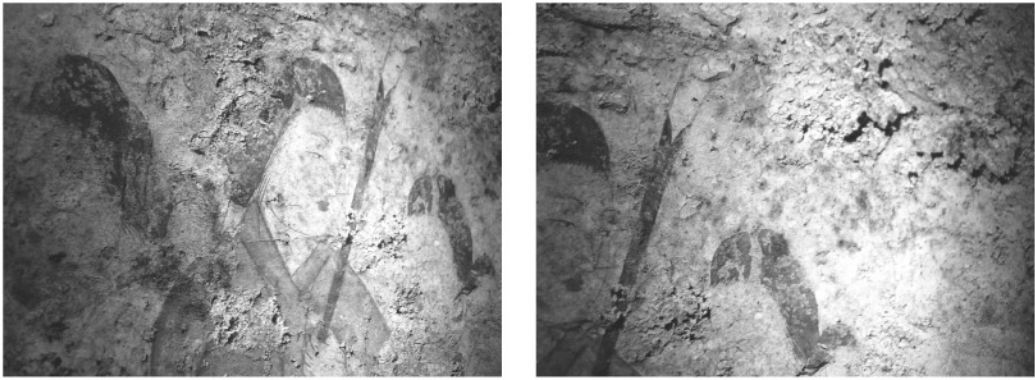


写真1 2006年2月20日, 西壁女子群像付近の様子

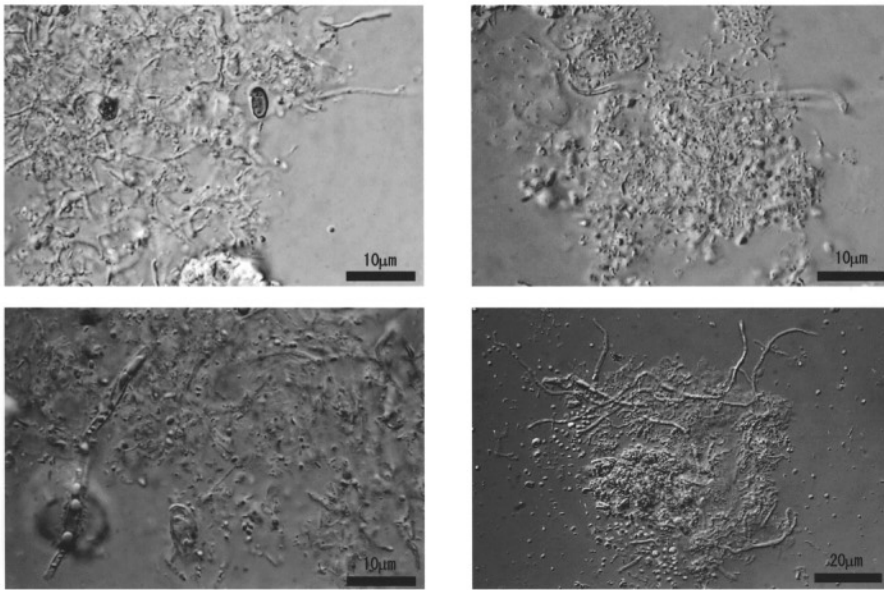


写真2 高松塚古墳西壁女子群像女子右肩の赤い着物上のスポットから採取された試料(2006年2月20日)の顕微鏡写真(写真提供:杉山純多博士)

所から多量に分離されたことはないと思われる。」とのことであった(国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会, 第6回資料)²⁾。

また, 高鳥検討会委員による解析結果からも, 同様に石室のサンプリング箇所ほとんどから暗色系の *Acremonium* sp. が検出され, 僅かに *Penicillium* sp. も検出されるという結果であった(国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会, 第6回資料)²⁾。

暗色系の *Acremonium* sp. は, 2004年5月19日の調査で高松塚古墳の石室内から一株分離されているほか, キトラ古墳からは, 複数株分離されている(杉山純多委員)。このほか, 2001年12月に高松塚石室壁面にカビが発生した際にも, 培養すると暗色系になるカビとして検出されている³⁾。

2006年5月17日の調査では, 西壁女子群像だけでなく, 西壁の白虎の上など, 複数箇所にも黒いカビが新たに発生しており(写真3-7), 同日, 緊急に殺菌処理が行われた。しかし, 現



写真3 2006年5月17日 西壁女子群像付近の黒いカビ



写真4 2006年5月17日 西壁白虎上部の黒いカビ



写真5 2006年5月17日 西壁の黒いカビ

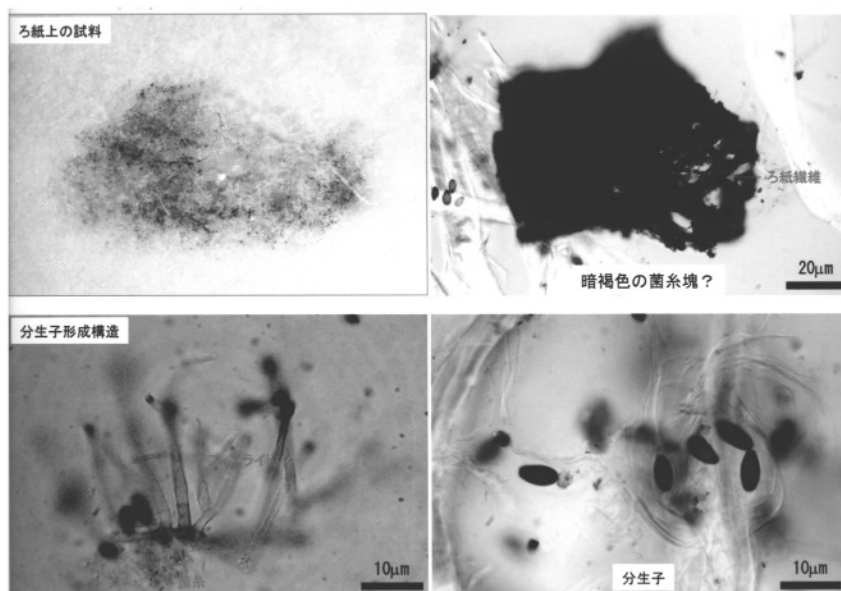


写真6 高松塚古墳西壁左女子頭部後方の黒色部分から採取された試料（2006年5月17日）の顕微鏡写真（写真提供:杉山純多博士）

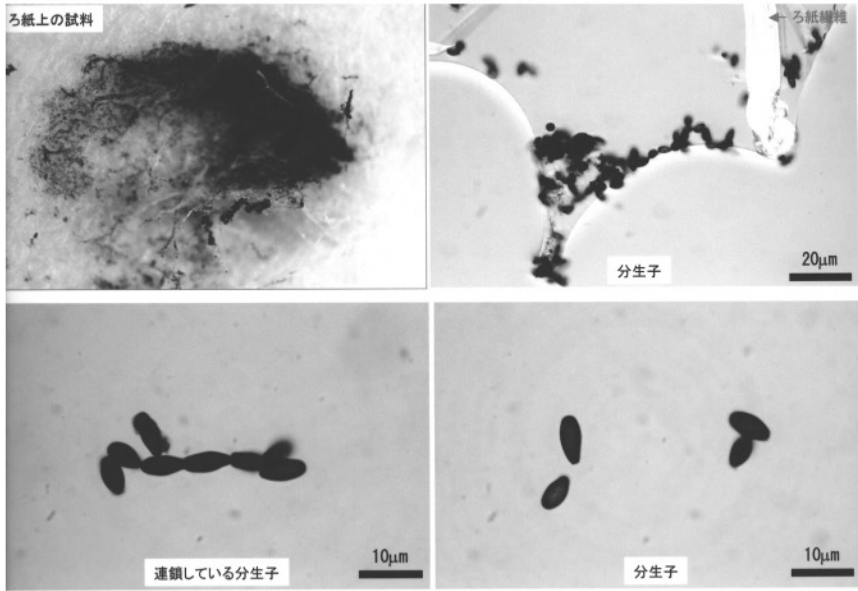


写真7 高松塚古墳西壁白虎頭上の黒色部分から採取された試料(2006年5月17日)の顕微鏡写真
(写真提供: 杉山純多博士)



写真8 2006年5月17日 取り合い部(東側)の様子

地は照明や設備が十分ではなく、精密な作業を行うのが非常に困難であり、この状況下で効果的な殺菌作業をいかに行うかが苦慮された。

また、取り合い部についても、土の上に黒いカビ様のもの(主に*Oidiodendron* sp.)が発生しており²⁾(写真8)、こちらも緊急にしかるべき殺菌処置と、汚染部の除去が必要であった。この状況を受け、2006年6月6に取り合い部処置および、樹脂処置が実施された。

4. 2006 年 7 月の状況

2001年以降、数年にわたって、石室内温度が20℃程度まで上昇する時期にカビが壁面に大発生する事態が起きていた。そこで、解体までの緊急対策として、2005年9月に墳丘冷却が開始された。この結果、石室内の温度は徐々に下がり、2006年3月にはほぼ10℃まで下がった。その後、これまでのような中温性のカビの大発生はみられていないが、従来の主要種にかわって暗色系の*Acremonium* sp. などがみられるようになった。その変遷を注視していくために、2006年7月13日、杉山純多委員による石室内の微生物調査が再度実施された。なお、調査の際には、従来から石室内のいくつかの定点、および新たに調査が必要になった箇所からサンプリングを行うことを原則としており、結果を経時的に比較できるようにしている。

墳丘部冷却以前（2004年5月～9月）の石室内菌類相の主要なカビは*Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp. の3属であった。冷却を開始して以降とくに*Fusarium* sp., *Trichoderma* sp. のカビが衰退したが、*Penicillium* sp. は冷却以降も主要なカビとして出現している。

冷却以降の2006年5月採取の西壁女子群像の黒い染み状のサンプルからは、暗色系の*Acremonium* sp. が検出された。この暗色系の*Acremonium* sp. は7月の調査でも、ひきつづき主要なカビとして検出されており、石室内温度低下に伴い*Fusarium* sp., *Trichoderma* sp. と交代して出現したものと推定される（国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会、第7回資料）⁴⁾。

冷却以降、石室内壁面は冷却以前に比較して目的には乾いた状態にある。しかし、丁寧に観察すると、7月時点でも壁面にはバイオフィルム状に展開している部分があった。

墳丘部を冷却して石室内を低温（約10℃）に維持することによって冷却前に懸念されていた中温性微生物の爆発的出現は抑制されている。しかし、10℃付近の温度では一部の中温性微生物は死滅せず、中には繁殖したり増殖する微生物や微小動物（トビムシ、ダニなど）が生息していることに十分留意する必要がある。

5. 石室内の冷却と石室解体までの対策

高松塚古墳では、壁画の解体修理まで微生物の壁面での増殖を遅くするために、緊急対策として2005年9月以降冷却が実施され、石室内の温度が10℃程度に保たれるように制御されてきた。その結果、石室が高温（20℃前後）になる時期にここ数年大発生していたカビが顕著に発生する状況は2005年には抑制されていた。しかし、2006年2月以降、再度、カビによる壁画のしみが発見され、2006年5月には壁面で暗色系の*Acremonium* sp. がみられるようになった。

暗色系の*Acremonium* sp. については、最適生育温度は25℃付近にあると考えられるが、10℃でも生育し、分生子を形成することができる（杉山純多博士、表1参照）⁴⁾。以前、顕著であったカビが抑えられた分、このようなカビが相対的に目立ってきたと考えられる。

高松塚石室でカビはもはや常在化しており、しかも高湿かつ狭隘な環境であるためにカビ除去は困難を極める。長期作業が困難なため、カビ処理効率は低く、使用する薬剤等も壁画への影響と作業員への健康被害の問題から制限されざるを得ない、という高松塚古墳石室の特殊性がある。

低温にしているとはいえ、環境に存在する細菌、カビ、酵母等の微生物の発育はまったく阻止できるわけではなく、低温で馴化できる微生物の適応が危惧されるため、長期間にわたった低温の制御は困難である。時間の経過に伴い低温性微生物の出現も懸念される。結論として、石室壁面の微生物の発生・生育の速度は冷却以前より遅くなったものの、現状では生物劣化の

表1 高松塚古墳から分離された *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. T6517-7-1の生育温度予備試験*
(杉山純多博士による)

* 国宝高松塚壁画恒久対策検討会(第7回)資料4より引用
分離源:高松塚古墳 西壁白虎頭上, 黒色部分(2006.5.17採取)
培養条件:ポテトデキストロース寒天培地(PDA), 暗黒下, 6段階温度条件下, 10日間培養

培養温度	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	37℃
コロニー直径 (mm)	4-7	11-15	18-20	45-50	28-45	—
分生子形成量* (相対量)	±	+	+	++	+	—

* 肉眼および光学・実体顕微鏡観察において, 黒色化の度合いを分生子形成量として, 相対的に評価した。
±:わずかに形成, +:形成, ++:より多く形成, -:形成なし。

進行を止めることはできない。従って, 可能な限り早急に石室を解体し, 石室壁面・壁画のクリーニングと恒久的な保存処置を施す必要がある。

<方策について>

(1) 定期的点検と殺菌処理

現在, 高松塚古墳に主にみられるカビについては, どのような殺菌剤が有効か調べられており(高鳥浩介博士, 資料1)⁴⁾, 今後も維持管理を続けていくために最初に重要なことは, 一定期間毎の点検を定期的実施することと, カビの発生が確認された場合は速やかな薬剤対応をすることである。

暗色系の *Acremonium* sp. の殺菌には, 種々の消毒薬が有効であることがわかっている(高鳥浩介博士, 資料1)⁴⁾。高松塚古墳石室からの分離株を用いた消毒薬の効果についてのデータ(高鳥浩介博士, 資料1)⁴⁾に基づき, 石室内のカビを殺菌するには, 高濃度(99.5%)のエタノール, あるいは状況に応じて約3%のホルマリンを使用することとした。なお, 塩化ベンザルコニウムなどの4級アンモニウム塩については, その特性から直接壁面に施薬することはできないが, 施設消毒など, 使用できる場合に使用している。

(2) 施設全体の清浄度管理

石室につづき取り合い部, 前室, 作業室, 低温前室などの空間があるが, これらの空間の清浄度を高く管理することは, 石室へのさらなるカビの汚染を防ぐという点で非常に重要である。結露に対して, 定期的なふき取り作業や除菌作業を行うことはもとより, 作業用の機材は消毒をして持ち込み, 使用しない機材や使用済みの用具などを取り合い部, 前室, 作業室, 低温前室などに置かないように基本的ルールを今一度徹底する必要がある。また, 入室時には無塵衣, マスクを必ず装着し, 退出の際も, 床, 壁, 扉などを消毒薬でふき取り退出するなどのルールを徹底する。また, 石室へ入る際は, かならず新しい無塵衣を装備し, 前室などの除菌作業などで使用したものは分けるようにルールを明文化する。

以上のような点検, 作業の際のルールを明文化し, 全関係者に徹底周知する必要があるため, 入室マニュアルの原案を作成した。また, 前室, 準備室の施設については, 全域について塩化ベンザルコニウムを使用しての大々的な除菌清掃を行った(2006年8月)。

<資料 1>

高松塚古墳分離カビ等に対する消毒薬試験結果*

(2006年7月, 高鳥浩介博士による)

* 国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会, 第7回資料より引用

高松塚古墳の石室等を汚染する主要カビについて, 3種消毒薬による殺カビ試験を検討した。

使用菌株: 高松塚古墳石室等由来カビ

Penicillium spp. (ペニシリウム) 4株

暗色系 *Acremonium* sp. (アクレモニウム) 1株

Trichoderma sp. (トリコデルマ) 1株

キトラ取合部由来カビ

Paecilomyces lilacinus (ペシロミセス) 1株

生活環境由来

Penicillium spp. (ペニシリウム) 2株

消毒薬: 1) 消毒用エタノール : 70%

2) イソプロピルアルコール : 70%

3) ホルマリン : 1, 3, 5%

試験方法: 各カビを1週間前培養して増殖期にあるカビの胞子液を調整した。

上記濃度とした消毒薬に胞子を接種し, 浸漬処理した。

所定時間浸漬後, 速やかに消毒薬の胞子を取り出し, 後培養を行った。

培養により発育の有無を確認判定した。

表中の判定表示

+ : カビの発育を認める (生残)

- : カビの発育を認めない (死滅)

- 結果:
- 1) 高松塚由来カビに対して, 3種の消毒薬ともに効果が確認された。
 - 2) アルコール系での消毒効果はエタノールがより有効であった。
 - 3) ホルマリンでは3%以上で有効であった。
 - 4) アルコール系の消毒効果を比較をすると石室に多い *Penicillium* (ペニシリウム) に対してエタノールがイソプロピルアルコールより優れていた。
 - 5) ホルマリンは一般使用濃度域の高濃度で有効であった。
 - 6) 暗色系 *Acremonium* sp. に対して消毒薬はいずれも有効であった。
 - 7) 作業時での安全性等を考慮した場合, エタノールが最も有効な消毒薬といえた。

所見: 今回使用した3種の消毒薬は石室壁面等で使用可能とする気化性の強い消毒薬である。その場合カビに対する有効性はもちろん望まれるものであるが, さらにいくつか考慮すべき注意点がある。例えば,

- (1) 作業環境が狭隘であることから薬剤の安全性が高い
- (2) 有機物等の残留性がない
- (3) 短時間で有効であるためには気化性が強くかつ消毒効果が優れている
- (4) 壁画等への影響がない
- (5) *Penicillium* を含めた広範囲なカビに有効である

このような状況から高松塚古墳石室壁面等でのカビを制御する薬剤には制約がある。重要な点は安全かつ消毒効果が期待されることであり, 気化性の強い薬剤の場合, 少なくとも短時間で殺カビ性を有することである。高松塚古墳石室には, 長年にわたって *Penicillium* が広範囲に生息していることから, 現状では完全に除去できる方法は望めないであろう。そのため, ここに示したエタノール及びホルマリンが有効とされることから, 消毒作業を必要に応じてする必要がある。その消毒作業に関して, 考慮しておかなければならないことは, 石室内は高湿であり壁面の湿気が強いことから薬剤濃度を高めにして処理することも重要である。

高松塚古墳分離株等 消毒薬の効果試験結果

70%エタノール

供試菌	時間 (分)									
	0.5	1	1.5	2	5	10	20	30	60	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 8	+	-	-	-	-	/	/	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 13	+	-	-	-	-	/	/	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Acremonium</i> sp.	-	-	-	-	/	/	/	/	/	
<i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部	-	-	-	-	/	/	/	/	/	

70%イソプロパノール

供試菌	時間 (分)									
	0.5	1	1.5	2	5	10	20	30	60	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 8	+	+	+	-	-	-	-	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 9	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 13	+	+	-	-	-	-	-	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
<i>Acremonium</i> sp.	-	-	-	-	/	/	/	/	/	
<i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部	-	-	-	-	/	/	/	/	/	

1%ホルマリン水^{※1}

供試菌	時間 (分)				
	0.5	1	1.5	2	3
<i>Acremonium</i> sp.	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部	+	+	+	+	+
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 8	+	+	+	+	/
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 13	+	+	+	+	/

3%ホルマリン水^{※2}

供試菌	時間 (分)				
	0.5	1	1.5	2	3
<i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 8	-	-	-	-	/
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 13	-	-	-	-	/

5%ホルマリン水^{※3}

供試菌	時間 (分)				
	0.5	1	1.5	2	3
<i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 8	-	-	-	-	/
<i>Penicillium</i> sp. 高松塚 13	-	-	-	-	/

+: 発育を認める (生残)
 -: 発育を認めない (死滅)
 /: 未実施

※1 ホルマリン (ホルムアルデヒド36～38%含有) を35倍希釈したもの

※2 ホルマリン (ホルムアルデヒド36～38%含有) を10倍希釈したもの

※3 ホルマリン (ホルムアルデヒド36～38%含有) を7倍希釈したもの

＜参考試料＞

70%エタノール

供試菌	時間（分）									
	0.5	1	1.5	2	5	10	20	30	60	
<i>Penicillium</i> sp. 空中真菌	—	—	—	—	—	/	/	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. ダスト	—	—	—	—	—	/	/	/	/	
<i>Paecilomyces lilacinus</i> キトラ古墳	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

70%イソプロパノール

供試菌	時間（分）									
	0.5	1	1.5	2	5	10	20	30	60	
<i>Penicillium</i> sp. 空中真菌	—	—	—	—	—	/	/	/	/	
<i>Penicillium</i> sp. ダスト	—	—	—	—	—	/	/	/	/	
<i>Paecilomyces lilacinus</i> キトラ古墳	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

6. 壁面養生材のカビ発育及び阻止性試験について

石室解体に伴い、壁画や石材の養生に使用する可能性のある材料について、東京文化財研究所修復技術部と共同で、高鳥浩介検討会委員、相原真紀博士（国立医薬品食品衛生研究所）にご協力いただき、カビ発育及び阻止性試験を行った。

試験を行った試料は、レーヨン紙、ポリエステル紙 2 種類、楮紙、HPC（ハイドロキシプロピルセルロース）エタノール溶液乾燥品 2 種類、HPC水溶液乾燥品、MC（メチルセルロース）水溶液乾燥品 2 種類、パラロイドB72酢酸エチル溶液乾燥品、エポキシパテ、デブチューブ、ボンド、タイル接着剤、ビニールテープ、ホーステープ、アセテートクロス粘着テープなど、合計18種類である。高松塚古墳でもっとも主要にみられる*Penicillium* sp. のカビの菌株を使用して、カビの発生のしやすさの試験を実施し、その結果を参考に養生材が検討された。

7. 今後の調査予定について

2006年は、7月13日の微生物調査の後、10月17日、11月14日、12月13日に石室内微生物調査が実施された。12月時点の調査では、やはり、暗色系の*Acremonium* sp. のカビの存在と、*Penicillium* sp. のカビが確認されている（杉山純多博士）。また、発掘時に墳丘で発見された菌類痕跡などについても、12月に試料が採取され、解析を行いつつある。さらに、発掘作業が進むに従い、今後、墳丘の土壌からも微生物を分離し、最終的には石室内微生物との関わりを調査していく予定である。

8. まとめ

ほぼ100% RHという高湿度環境で微生物がみかけ上発育しない平衡状態に保たれるためには、きわめて微妙なバランスが維持される必要がある。高松塚古墳壁画の現地保存は、このような高湿度環境で微生物のバランスを維持する試みであったが、これは、なんらかの急な環境の変化、微生物の持ち込みなどのちょっとした刺激で容易に崩れ、もはや現状での壁画の維持は、非常に困難である。

石室の解体・修理が実施されるまでの間、緊急対応として石室が10℃程度の低温に保たれた結果、中温性のカビの顕著な繁殖は抑えられたものの、これらと交代して暗色系の*Acremonium*

sp. などが石室でみられるようになってきている。一刻も早い解体・壁画の保護と、それまでの間、少しでも微生物の被害が少なくとどめられるよう、努力を行っていく必要がある。

謝辞

本報告中の微生物の調査にあたり、国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会委員の杉山純多（東京大学名誉教授（現テクノスルガ㈱NCIMB事業部学術顧問）、同検討会委員の高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部長）には、ひとかたならぬご援助をいただくとともに、壁画の保存方針につきましても大変貴重なご助言をいただきました。また、国立医薬品食品衛生研究所の相原真紀博士には、カビの試験で多大なご協力をいただきました。古田太郎サラヤ株式会社研究開発担当取締役には、壁画の微生物の除去法、薬剤等につきましても貴重な助言をいただきました。記して心より感謝いたします。

参考文献

- 1) 国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会（第4回）資料，（2005）文化庁
- 2) 国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会（第6回）資料5-2，（2006）文化庁
- 3) 木川りか，佐野千絵，石崎武志，三浦定俊：高松塚古墳の微生物対策の経緯と現状，保存科学，45，33-58（2006）
- 4) 国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会（第7回）資料4，（2006）文化庁

キーワード：古墳(tumuli)；微生物(microorganisms)；生物劣化(biodeterioration)

Circumstances of Microorganisms in Takamatsuzuka Tumulus in 2006

Rika KIGAWA, Chie SANO, Takeshi ISHIZAKI and Sadatoshi MIURA

Takamatsuzuka Tumulus was excavated in 1972. After intensive discussions on the policy of conservation of its beautiful mural paintings at that time, it was determined to maintain the paintings on site in very high humidity. But the tumulus has experienced several outbreaks and damages by microorganisms, and difficulty has been recognized in keeping the paintings in the present condition. Thus relocation and restoration of the mural paintings are being performed now.

While relocation works are being planned and performed, the stone chamber of the tumulus has been kept at low temperature of about 10°C in order to slow down the growth of molds on the mural paintings. The cooling of the mound to control the temperature of the stone chamber started in September 2005. Though severe outbreaks of conventional mold species seemed to be suppressed by the low temperature, different kinds of molds, such as *Acremonium* (section *Gliomastix*) sp., started to be found in the stone chamber after May 2006. A test performed on one isolate identified as *Acremonium* (section *Gliomastix*) sp. showed that it grew more significantly at higher temperature around 25°C, but that it also grew slowly and made conidia at 10°C. It seemed that such species had become more dominant than conventional mold species.

It is very difficult to suppress growth of microorganisms perfectly by low temperature. Immediate relocation and restoration works of the mural paintings are awaited.