C. 総 括

平 井 篤 造*

Tokuzo HIRAI: Summary of the Symposium on Mechanism of Infection in Plant Diseases

討 論 要 旨

(1) シンポジウム「植物病害の感染機構」

i. 毒素と酵素の役割 (玉利) について

討論は主として毒素の宿主植物内での生物学的役割について向けられた。すなわち、宿主と寄生菌間の抵抗性または罹病性の逆転現象は毒素の立場から説明されるだろうか (高桑), ピリクラリン (Pir.) は生体内でクロロゲン酸と結合するものか (南川), 病原性の初期発現には毒素よりもペクチン分解酵素やセルラーゼなどが主体をなすのではないか (浅田) などの意見である。また Pir. と蛋白との結合について, Pir. 蛋白結合物がイネ体に入り, そこで蛋白 (銅酵素) が遊離されるとすると, ポリフェノールを酸化して褐変を生ずる説明となる (奥) の推論や, Pir. がイネの原形質蛋白と結合して害を起こすのか, あるいは蛋白合成系を阻害するのか (西村) などの疑問が提出された。その他, 菌の系統による Pir. の生産, とくにそれが菌の病原性と平行関係にあるか (浅田, 高桑) などの発言があつた。以上のように毒素の生物学的役割と意義について, 生物学者の側からの討議が盛んであつた。

ii. Phytoalexin (植原) について

まずフィトアレキシン (PA) の定義について話された。PA は抗菌性の特異性を持つ (野中), 宿主の外部のみでなく, 内部で生産されたものも PA に入るべきである (高桑) に対して, もつと幅のある定義をすべきで, 菌の侵害によつて生ずる健全植物になり抗菌性物質を PA と称すべきである (富山) という意見が出された。PA が生産される時間的経過から, PA は植物体表で菌の附着器形成以後, 侵入初期に作られるのではないか。そうだとすれば, PA の産生には宿主自身の反応も関与していると考えられる (佐藤, 安盛)。これらのことから, PA は病原性の説明

より抵抗反応と結びつけて考えるべきである (山本)。また寄生性の問題を PA の作用 (菌の発芽率が宿主上と非宿主上で異なること) のみから説明するのは無理である (福富) という意見も出された。

PA は菌が存在しないと生産されないのか。たとえば菌の毒素では PA はできないか。 *Helminthosporium victoriae* では菌の存在で PA ができるが, 毒素 victorin では PA はできない (西村)。これに対して, *Ascochyta fabae* の毒素 ascochitine ではエンドウのさやに pisatin (PA) ができる (奥)。またピリクラリンの刺激作用で PA 類似のものが生じた (玉利)。

PA に関する将来の研究方向として, PA の産生は無細胞系ではできないか (佐藤), PA は試験に用いる菌の胞子の細胞膜を透過するか, この点をさらに検討すべきである (酒井)。PA を精製して純粹にとり出すことが, 現象を理解する上でも必要である (樋浦), 精製のために PA を大量に作る方法を考案すべきである (野中) など貴重な討論が重ねられた。

iii. 過敏感細胞死 (富山) について

菌の侵入部周辺にミトコンドリアが集積し, そのなかの ATP が過敏感死をおこすという富山の仮説に対して, 抵抗性のあらわれる場合に ATPase がかえつて増加することがみられるが, これとの関連はどうか (山本), 過敏感死で呼吸の高まりがあるとすれば, ATP は減少し, ADP がそれに比して増加すべきだと考えるがどうか (瓜谷), またミトコンドリアの数量的な増加がみられるが (瓜谷) などの意見が出された。

過敏感死は感染直後の早い時期におこり, 時間的にみてフィトアレキシン (PA) の形成は考えられないとする富山の意見に対して, 玉利, 植原から反論が出された。過敏感死の最も大きな特徴はその高度の特異性である。これに対して遺伝学の立場から, PA や毒素

* 名古屋大学農学部

が過敏感死ほど高度の特異性がないとすれば、それらはかなり感染の後期に働くものでないか（清沢）、の発言があつた。また人工培養の可能な疫病菌による抵抗性を過敏感死によつて十分に説明できるだろうか（浅田）の疑問が提出された。

iv. 隣接組織における代謝活性（瓜谷）について

菌の侵入隣接組織において酵素蛋白の合成が高まっているという瓜谷の発言に対して、酵素蛋白以外の蛋白合成能はどうなっているのか、また phenylalanine deaminase の活性が高いとすると、phenylalanine は蛋白合成に使用されないと考えてよいのか（大谷）の質問があつた。隣接組織におけるミトコンドリアの活性増加に対して、ミトコンドリアの数の増加を起因するものは何か、またその増加過程をどのように考えてよいのか（高橋）、の発言があつた。大内はこれらの実験においては、供試植物の遺伝因子型をはつきりしておくべきだという提言をした。

v. 総合討論

以上のように毒素—フィトアレキシン—過敏感死—隣接部の代謝高揚といった、宿主と寄生者の相互関係の場合における一連の生物学的・生化学的現象に対して、司会者はまずそれらの現象をつなぐモデルのスキームを提出し、これを中心に総合討論が呼び起こされた。

まず毒素と過敏感死の関係について、過敏感死の研究に毒素は利用できる。したがつて両者の協同研究が必要である（玉利）。それに対して毒素だけでそのような特異性を説明できない。たとえばもち病抵抗性には8遺伝子が考えられるが、毒素で説明するには8種の毒素を考えねばならない（清沢）。もちろん毒素だけでは解決されない。いもち病抵抗性ではPir. と原形質蛋白の結合、クマリン集積、ピコリン酸の無毒化能、その他種々の要因がある（玉利）。山本は相互関係の場を説明するためにも、まず宿主の基本構造をさらに化学的に解明する必要があると発言した。

次にミトコンドリアの過敏感死や代謝高揚における役割の重要性に鑑み、ミトコンドリア分画の分離とその性質についての研究の必要性が確認されたが、それ以外にゴルジ体についても研究すべきだ（山本）という意見が出された。またフィトアレキシンの化学的構造が早急に解決されるようにとの要望があつた。

最後に宿主・寄生者相互関係の場を解明する新しい

実験系の設定について、地衣類（藻と菌）、組織培養の利用（浅田）、や無細胞系での分子レベルの解析の必要性などについて提言があつた。以上を要約すると、生化学的な実験結果と生物学的現象との間に、いまだにある程度のへだたりがあり、これを早急に埋めること、そのためにも強力な協同研究の必要性が痛感された。

（2）本シンポジウムの成果

感染機作の問題は宿主と寄生者の相互関係（host-parasite interaction）に集約される。従来この問題に関するわが国の研究の発展を回顧すると、まず昭和25年5月東北大学農学研究所において「雪腐病シンポジウム」が持たれた。これは主として北海道・東北・北陸地方の研究者を中心として開かれ、全国的なものではなかつたが、表題の表類雪腐病の研究はその当時抵抗性の機作の解明を最終の目的としていた以上、本問題における戦後の最初の研究会であつたといえる。次に昭和30年11月名古屋大学農学部創設にあたり「抵抗性機作のシンポジウム」が開かれた。当時この問題に関する生化学的研究が急激に台頭しつつあつた現況に鑑み、この名古屋シンポジウムは病理学における生化学研究の立場と比重を評価する上で、大きな役割を果たしたものと見える。

以上を通じてわれわれは感染あるいは抵抗機作の研究に、宿主のみあるいは寄生者のみの生理の開拓ではなしに、両者の相互関係を明らかにする必要性を十二分に感得してきたわけである。その立場に立つ以上、方法としては生物学的であれ、解剖学的であれ、あるいは生化学的であつても、いずれも正しい解決の道を指向しうるのである。

しかるにそれ以後、相互関係の研究はわが国においては定常状態（stationary phase）に突入した。つまり急激な進歩は望まれなかつたのである。この原因は病理学の研究の多くが土壤病害あるいはウイルス病へと転換したという不可避の事実以外に、相互関係の研究者側においても自己批判すべき点が残されていたと思う。つまり方法としての生化学の無批判的な採用、さらに世界の現況が分子レベルの解析を旨としているにもかかわらず、抵抗性・感受性・感染などを物質レベルで解明すべき努力が不十分であり、依然として抽象的な概念で説明しつづけようとしていたことなどである。そのためひとりよがりの理論のこねまわしが多

く、一般にアピールする点が少なかつたのではなからうか。このような中絶状態のなかで、世界の研究が大きく飛躍していったことは、宿主寄生者相互関係の研究の本家が日本であつたことを想うとき、まことに悲しまざるをえない。

まず最近におけるアメリカの若手研究者の *host-parasite interaction* の研究、とくに分子生物学的なアプローチが注目される。ハンガリーにおいては Király, Farkas などの研究、彼らはこの問題について 1964 年に国際シンポジウムを持つた（日本からは奥が参加）。このような背景を荷つて、われわれは今回病理学会の大会において「感染機作」のシンポジウムを持つたのである。そこでは何が得られたか。

第一に生物学者と生化学者の対決があつたと思う。生物学者として植原と富山は、それぞれフィトアレキシンおよび過敏感死の問題をとり上げ、現象をくわしく説明した。両者とも生化学にも造詣が深くまた理解も大であるが、両者の研究とも生物学的であつたことは事実である。換言すれば現象の背後に完全な物質感が欠けていた。フィトアレキシンはその努力はなされているが、まだ純粋に物としてとり出されていない。また過敏感死の要因として宿主のマイトコンドリア、特にそれに内在する ATP がとり上げられたが、その物質レベルでの説明が不十分であつた。そのためにはマイトコンドリア分画の分離、感染によるその活性の増加、宿主の原形質の死亡（過敏感死）を無細胞系において組み立てること、などの実証が必要なはずである。しかしそれにもかかわらず、多くの抵抗現象においてフィトアレキシンの果たしている役割の重要性という事実の集積と、見事に定量化された過敏感死の成立の時間的経過はともに貴重な発見であつた。フィトアレキシンを宿主体表の出来事か、あるいは宿主体内で新生する物質までに拡大解釈するかは議論があるとしても、感染により特異的に生ずるこれら物質が、最近ウイルス病を含めて、広く感染症に認められつつあることを考えると、これを生産する系の確立は貴重であつた。

生化学者として玉利と瓜谷はそれぞれ毒素および代謝の活性をとり上げた。この両者とも生物現象にはなみなみな興味をもっているが、皮肉なことにその研究は全く生化学的であつた。なるほど毒素の性質は確定し、またその生体内の作用についても精密な実験が繰返された。問題はそれらの作用が生体内において、つまり抵抗や罹病の現場において、実現し回転しているかということである。代謝の活性は主として酵

素化学的に掘り下げられたが、ここでも生物現象、つまり barrier 形成との関連に不安が残る。代謝活性が感染の隣接部で起こるとすれば、そのときなんらかの barrier の形成があるはずであり、その規定がないかぎり、何が代謝活性をもたらししているかの解答は与えられないであろう。

以上のように生物学者と生化学者とのよい意味での対決は、両者の間隙と境界をはつきりさせ、それは将来への新しい研究課題を提供した点で意欲的であつた。すなわち毒素とフィトアレキシン生成、毒素と過敏感死、代謝産物中に含まれるフィトアレキシン様物質（たとえばイボメアマロン）、過敏感死成立のための代謝活性と感染隣接部における代謝活性など、魅惑的な未来が開かれたのである。これらについてはさらに後述する。

第二の成果は抵抗場面におけるマイトコンドリアの役割の認識であつた。富山は過敏感死の基礎をマイトコンドリアに求めたし、瓜谷は代謝活性増加の説明にマイトコンドリアの net な増加（数の増加）をとり上げた。その点で両者は一致したが、富山のいうマイトコンドリアはヤヌス緑に染まるものであり、瓜谷のマイトコンドリアは一定の遠心力で沈殿する粒子である。マイトコンドリアはその電顕像とその有する酵素系で他の細胞内顆粒成分と区別されるが、光学顕微鏡で見たどの粒子をマイトコンドリアと規定するかは異論がある。かつて著者は抵抗性で発現される褐変反応の物質の基盤を宿主細胞質の顆粒成分に求めたが、光顕で認められる顆粒はスフェロソームに所属し、マイトコンドリアはさらに細長く、位相差顕微鏡ではじめて認知できるという説もある。ただしこれらの顆粒がすべて 10,000 g 附近の遠心力で沈殿するいわゆる生化学的な意味でのマイトコンドリアと全く一致するかどうかは不明である。

従来、宿主の反応あるいは宿主の代謝と、きわめて漠然として不確定な言葉でいい表わされていた現象が、宿主マイトコンドリアの反応あるいは代謝と、より物質的な規定の方向へと向つたことは進歩であつた。その意味で玉利のピリクラリンの宿主に対する作用が宿主の細胞質の蛋白に対する作用など、かなりはつきりした形で語られたことも賢明であつた。望むらくは、その蛋白が 105,000 g 沈殿粒子（いわゆるリボソーム）の蛋白か、あるいは全く可溶性の（105,000 g 上澄）蛋白か、また葉緑粒蛋白、マイトコンドリア蛋白、核の蛋白などの受ける影響がすべて明らかであれば、事態はさらに進展したであろう。このように本シ

ンポジウムは、現象の物質レベルの把握に一步近づいた点で有効であった。

第三に特異性の解析で議論が闘わされたことである。宿主と寄生者の相互関係では特異性を除外することはできない。この微妙な生物現象は、永久に化学の鋭利なメスをさえぎる城塞のようにもみえる。富山はそれを品種対レースのレベルにまで下げて実現した。それに対して品種のもつ遺伝子構成が話題となり、つまり遺伝子対遺伝子のレベルで話し合う必要性が強調された。フィトアレキシンは特異性の解析に好適な材料を与える。その性質は菌によつてではなく、宿主によつて規定されることが報告され、またその作用によつてその宿主に対する寄生菌と非寄生菌が区別されることが注意を引いた。このように特異性の研究が次第に物質レベルで話し合われる以上、生化学がその解明に寄与するように、実験系の確立（遺伝子レベルまで下げて）を生物学者は志すべきであろう。

(3) 感染機作における将来の問題

この問題における前述した歴史的背景につづいて、次のような組織が考えられている。日本植物病理学会はこの度その所属談話会として、病理化学談話会の設立を許可した。病理化学談話会の志すところは、宿主と寄生者相互関係の主として化学的解析である。同談話会は本年8月北海道シンポジウムを持つことを決定した。これに引き続いて来年4月を期して、host-parasite relationship の分子レベルでの解明をめざして日米合同ゼミナールが開かれる。両会合を通じてウイルスにおける問題も討議される。

このような情勢下においてわれわれの研究は定常期から対数増加期 (log phase) へと、第二の飛躍期を迎えねばならない。この躍進は何によつてもたらされるであろうか。それは生物学と生化学との連合によつてである。文字通りの連合である。生物学者と生化学者がそれぞれ独自に、共通の目的をもつて連合することである。それは決して生物学者による生化学の排撃では達成されない。生物学者の意識的な生化学の無知または無視でもない。それどころか好意的な生化学への理解または理解への努力がそうした連合を可能にするであろう。

こうした両者の連合を基礎として、将来の展望を語ることは楽しみ限りである。

i. 感染過程の解剖学的追究

従来病原菌による宿主感染過程は光学顕微鏡下に精細に追究されてきた。そこでわかつたことは菌の胞子、附着器、発芽管、侵入菌糸と宿主の細胞あるいは細胞内の原形質らしきものとの相互関係であつた。しかし生化学が菌の酵素系について語り、宿主細胞の代謝活性、とくにその代謝の担い手である細胞内諸分画について語る時、従来の所見では完全にそれらの研究に連合することは不可能である。そのためには感染の場の超薄切片と電顕像が必要となる。アメリカではすでにその研究が開始された。すなわち相互関係の場における核、ミトコンドリア、葉緑粒、エンドプラズミック・レティクルなどの構造変化と活性が問題となりつつある。それではじめて生物学と生化学の場が一致するわけである。電顕観察は単に形態に終始するものではなくなっている。種々の組織化学反応やマイクロオートラジオグラフを電顕レベルまで押し拡げることによつて、電顕像は物質の代謝にある種の知見を加えている。最近 RNA も電顕で捕えられるようになり、それは分子オーダーでの形と機能の統一を指向していることは心強いかりである。

ii. 毒素とフィトアレキシンおよび過敏感死の関係

毒素という生化学的課題と、フィトアレキシンまたは過敏感死というきわめて高度な特異性を内蔵する生物現象の関連性は、興味のつきない問題を投げかける。そのみでなく、菌の存在を毒素で置きかえることによつて、相互関係の場がより簡明に、またより物質的にとり扱いうるのは事実である。たとえばウイルスの感染ではその化学組成もはつきりした核蛋白を感染の単位とすることができ、なにかんづく最近の研究で核酸こそが感染性の本体であることが明らかにされた以上、高分子ではあるがヌクレオチドの配列もかなり明確な RNA 分子を寄生者の側におくことができる。このように一方に化学的組成のわかつている物質を置くことによつて、フィトアレキシンまたは過敏感死の内容はより豊富になるであろう。またこの課題は前述の生物学者と生化学者の連合を不可欠とする条件を与えるであろう。

iii. 感染または抵抗におけるミトコンドリアの役割

ミトコンドリアは呼吸酵素系の担い手であり、その微細構造については最近の電顕所見がほぼ余すところなく明らかにしている。その意味でミトコンドリアは現在の生物学での、形と機能の統一の場といえるかもしれない。感染または抵抗時に宿主のミトコンドリアの果たす役割については、本シンポジウムにおいても論議された。要は感染によりミトコンドリアの数の増加があるか、あるいは数は増加せず、単位ミトコンドリアの活性の増加がみられるかである。このことはまず決定しなければならない。次に活性の増加が呼吸酵素系のどのような活性増加か、単位窒素あたりの活性の増加があるのか、基質の増加があるのか

など、種々な問題に当面する。ミトコンドリアは膜をもち、インタクトの状態では透過しえない高分子もあるはずである。またミトコンドリアが蛋白合成を行なうことが、 ^{14}C -アミノ酸のとりこみの増加から最近知られてきたが、これは呼吸酵素蛋白の合成を意味するのか、あるいは膜構造（構造蛋白）の変化を示すものか、このように多くの困難な仕事が将来される。これこそ生物学者と生化学者の連合の問題である。

(4) ま と め

本シンポジウムを契機として、生物学者と生化学者の連合による病理化学が推進することを祈つてやまない。世界の研究の背景はそれを可能にしている。