会長講演・学会賞受賞者講演

植物ウイルスの感染と移行*

三 沢 正 生**

Tadao MISAWA**: Studies on the Infection and the Movement of Plant Viruses

植物ウイルス一般論としてではなく、これまで実験してきた Cucumber mosaic virus (CMV) を中心に本問題を論じた。

媒体により、あるいは物理的傷害によりウイルスが宿主生細胞に挿入または取り込まれることにより感染が始まることは確かなことである。CMV も例外ではない。CMV は、アブラムシによる媒介かまたは負傷細胞が門戸となり感染する。ここでは虫媒の場合を除き、負傷細胞を経由する場合のみに限るが、負傷細胞としては表皮細胞を選択する。

I. 第1次感染細胞

A. 細胞壁の損傷

a. 細胞壁表層のみの損傷

クチクラ層のみが損傷すれば、その下端に接する Ectodesmata を経由してウイルスが取り込まれるとの説がある。宿主の感受性の多少と Ectodesmata の発現頻度の多少とが相関することを唯一の根拠とする。否定的報告もあるが、いずれも具体的証明を欠いている。意識的に目的の傷を与え難いこともあるが、電顕的にもウイルス粒子との関係が全く不明である。しかし可能性を無視することは出来ない。

B. 細胞壁の裂開・穿孔

細胞壁が裂開または穿孔した場合、ウイルスが直接細胞膜 (cell membrane) と接触し取り込まれ感染するとの考えは古くから一般に考えられてきた。しかしこの現象を解析的に証明した報告はまことに少ない。したがって自然下での有傷感染・接触感染の現象は、自明のことのように思われているが、論理的に説明し

得る資料はない。

表皮細胞に極微細な先端を持つガラス毛细管を挿入し、引き抜くと細胞内液が溢出し、直ちに再び細胞内に吸い込まれる現象がある。溢出液にウイルスが混入すれば、ウイルスは細胞内に取り込まれ高率の感染がおきる。しかし毛细管の径を大にするに伴い感染率は低下する。細胞表面積の3割以上を占める断面積を持つ毛细管を用いた場合には、殆んど感染しない。負傷は表皮細胞壁に開口部を作るが、一方細胞自体も影響を受ける。核の行動・原形質流動・細胞膜の染色性等から影響の強さが窺われる。要するに細胞壁に開口部の出来ることは感染への必須条件ではあるが、充分条件ではない。負傷細胞が感染を支持し得る生理を或る時間維持し得ることが充分条件となる。傷の程度と細胞機能とは密接に関連することは当然のことであるが、生理的に明示することが今の所出来ないの、抽象的表現に止まらざるを得ない。Lindner 等 (1959) は、感染条件として次の3点を推論した。すなわち(1) 1細胞に1個の傷であること、(2) 傷がウイルスの増加を支持し得ぬ程の Damage を与えぬこと、(3) 細胞が直ちに死んでではない。彼等の推論は、現在でも妥当である。しかしその後の研究から傷の程度と感染成立との関係を次のように論者は考えている。(1) 細胞機能が極めて短時間で停止しない。(2) 機能が影響されても、ウイルスの増加を或る程度支持し得る。(3) 機能が影響されても、ウイルスまたはウイルス核酸が隣接細胞へ移行し得る生理作用がある。以上3項目のいずれかが満足されれば、感染は成立すると推定される。

II. 感染成立に必要なウイルス粒子数

Infectivity dilution curve から数学的処理によ

* 昭和48年3月26日、本大会で行なわれた会長講演並びに学会賞受賞者講演の要旨。

** 東北大学農学部 Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan.

り、1個のウイルス粒子で感染し得ると推定されている。最近 Furumoto 等 (1967) もこの説に同意した。しかし現在一般論としては、one particle は one set of viral genom と言い換えねばならない。CMV についても Kaper 等 (1972) は、ウイルス RNA を6種の Component に分別し、2~3個の粒子に分かれ含まれていると推論している。したがって CMV においても one particle ではなく、one set of viral genom が細胞内に取り込まれねば感染は成立し得ない筈である。いずれにしても one particle-one lesion 説は数学的解析を論拠にしている。第1次感染細胞は負傷により何等かの生理的变化を生じているにしても、1個の粒子の message に無条件にしたがうものか疑問が残る。植物には感受性の異なる品種が存在するので、この問題は Cytopathic message を明らかにしつつ今後さらに検討されるべきものである。他方機械的接種は、極めて非効率なものではあるが、TMV の場合1個の local lesion を作らせるには、 $10^3 \sim 10^5$ 個の粒子が必要とされている。この粒子数は、接種液のウイルス粒子数と形成した local lesion 数の比より得た数字であり、Mathews (1970) の挙げた非効率さの6種の理由からも one particle 説に対しては勿論、感染成立に必要なウイルス粒子数を論ずる資料とはなり得ない。今後明らかにすべき命題として残される。

III. 細胞膜接触から細胞内への侵入

ウイルスが固形物に付着して細胞内に直接物理的に挿入される場合を除けば、細胞膜に接触したウイルスが細胞質内に取り込まれる機構は明らかではなかった。Cocking (1966)、Otsuki 等 (1972)、Hibi 等 (1972) により Protoplast の場合、Plasmalemma の Pinocytotic action により細胞質内に取り込まれることが明らかにされた。その際 Poly-L-ornithine の存在が必要とされる。Poly-L-ornithine が Pinocytotic action を促進するためと推定された。Shaw (1972) は、有傷接種のさい接種液 (TMV) に Poly-L-ornithine を混用すれば、感染率が增加する結果を得、Poly-L-ornithine がウイルス粒子の電荷に変化を与えることと Pinocytotic action を促進するためと推論した。両種の報告は、Pinocytotic action による取り込みを推定させはするが、組織細胞でこの機構が働いている確証はなく、電顕観察による証明が残される。もし Pinocytotic action による取り込みが明らかとなれば、Ectodesmata 面でも行なわれるであろう。

IV. 感染が成立する内部要因

一般に細胞は、蛋白、核酸合成機構を保有するので細胞質内にウイルスが取り込まれた場合、次の要因が感染の成立を左右するであろう。(1) Receptor の有無、(2) Endogenous inhibitor の有無、(3) assembly の成否、(4) cell to cell 移行の有無。これ等の要因については、Receptor 以外に見るべき成果はない。

V. 細胞間の移行形態

細胞間移行の通路は、Plasmodesmata であることは明らかである。問題は、ウイルスの移行形態である。形態として粒子と核酸の可能性が存在する。電顕像によれば、Plasmodesmata 内に確かにウイルス粒子の存在を示すので粒子形態での移行は確かである。移行するウイルス粒子は、新・旧の可能性はある。移行形態をウイルス核酸とする意見は、殆んど見当たらない。電顕で細胞を撮影する場合の技術上の困難さにも由るであろう。高橋 (1972) は、TMV を用い、第1次感染細胞 (表皮細胞) から隣接細胞への移行は新生 RNA によるものと報告した。CMV の場合、粒子を Plasmodesmata 内に見出していないが、今後明らかにされるであろう。したがって、粒子の移行を否定するのではないが、CMV-RNA による移行も行なわれる印象が強い。タバコ葉 (全身感染系) を用いての実験から次の理由が挙げられる。(1) 感染細胞の増加速度が早い。つまり移行速度が早く、表皮細胞から反対側表皮細胞へ10時間内に到達する。(2) ウイルスの Bio-assay による検出は24時間後である。(3) 1感染部の約70%の細胞が感染した後、ウイルスは直線的に急増する。(4) 壞疽斑点の前駆症状である細胞萎縮が10時間前後にのみ集中しておきる。CMV が各細胞で一連の合成過程を完了しつつ、粒子のみで移行することは、移行速度とウイルス合成時間との関係から考え難い。CMV-RNA の移行がウイルス粒子の移行に先行して行なわれると推論する。

VI. 接種葉でのウイルスの移行

第1次感染葉でのウイルスの移行図型と第2次感染葉でのそれとは全く異なると考えられる。

A. 移行の方向性

感染初期には、第1次感染細胞を中心とし、三次元的に各方向とも同時的に移行すると考えられる。しかし微視的に見れば同時的であるか否かは直ちには断定

し難いが、巨視的には同時に観察される。この同心円状の移行は、間も無く崩れ方向性が生じて来る。

B. 感染部の位置関係

同心円状移行の崩れは、感染部の葉面上の位置に影響される。alfalfa mosaic virus (AMV) の結果によれば、中肋に近い所では中肋および葉基方向に移行が速かになり、感染組織の図形は不整円形になる。この図形は光合成産物の転流図形とよく一致する。葉縁近くでは、長く円形を保っている。

C. 葉脈・中肋と移行の関係

葉脈と中肋は、AMV の移行に重大な影響を与え

る。中肋と第1・2次葉脈は、移行に対する Barrier と考えてよい。これ等を横断移行するには長日時を要するか、全く横断し得ない。組織学的には理解出来ぬ現象である。

D. 篩部での移行

中肋あるいは葉脈に移行したウイルスは、速かに篩部に到達する。長距離移行が篩管であるか篩部の他の細胞であるかは今後さらに検討を要する問題である。経時的電顕所見を積重ねる必要があるだろう。

植物ウイルスの感染と移行の問題は、明かでないことが未だに多く、この面の研究の進歩はウイルスの予防・治療に有用な知見を加えることであろう。