

植物がウイルス感染によって発症するしくみ

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 望^{もち}月^{つき}知^{とも}史^{ふみ}

はじめに

植物ウイルスはその名の通り植物細胞内で生存するウイルスであり、自身の代謝系を持たない絶対寄生性の植物病原体である。植物ウイルス感染による病気には、モザイク病、退緑病、黄化病、えそ病、萎縮病等がある。また、ウイルスに感染した植物すべてが発病するわけではなく、ウイルス種と宿主植物種との組合せによっては発病を伴わない潜在感染もある。

多くの植物ウイルス粒子は、ウイルス本体ともいえる遺伝物質の核酸（DNAかRNA）が外被タンパク質から成る外殻（キャプシド）に包まれた構造である。ウイルスは感染に必要なほぼ最小限のタンパク質（先ほどの外被タンパク質、ウイルス核酸を複製するタンパク質、ウイルスが植物内を移動するためのタンパク質、そして、植物の防御機構を阻害するタンパク質など）のみをもっている。ウイルス粒子が宿主細胞内に侵入すると、ウイルス核酸からウイルスタンパク質が合成されてウイルスの増殖や宿主植物内での移動が起こり、感染が成立する。特定の宿主植物種においては、これら感染に必要な不可欠なウイルスタンパク質が働いて病気を引き起こす。このような病気を引き起こすウイルスタンパク質を毒性因子と呼ぶ。

現在、植物の防御機構に関する研究は精力的に行われており、大きな成果がもたらされている。一方、植物が発病するしくみについての理解は必ずしも進んでいるとはいえない。しかしながら、ウイルス病のような難防除感染症を克服するためには、ウイルス感染によって植物が発病するしくみの理解が不可欠なと思われる。私たちは、植物ウイルス感染による代表的な病気である「えそ」と「退緑」が発症するしくみについて、それぞれ、メロンえそ斑点ウイルス（MNSV）によるえそ斑点病とキュウリモザイクウイルス（CMV）によるモザイク病について、それらの症状が現れるしくみの解明を試みている。分子生物学的手法による植物の遺伝子発現解析に

加え、光学顕微鏡や電子顕微鏡により植物の病変を観察する病理病態学にも力を入れ、植物の遺伝子発現から細胞、組織までを対象とした広い視点で研究を行っている。本稿では、これまでの私たちの研究成果をわかりやすく解説するつもりである。常日頃、「なぜ植物はウイルス感染により病気になるのだろうか?」と疑問に思われていた方々にとって、本解説が少しでも役立てば幸いである。

I メロンえそ斑点ウイルス（MNSV）感染によるえそ症状

MNSVはトンプスウイルス科カルモウイルス属に分類される約30 nmの球形ウイルスであり、土壌に生息するオルピディウム菌により土壌伝搬されて感染を拡大させる。MNSVはウリ科植物にのみ感染する宿主範囲の狭いウイルスであるが、メロンやスイカに感染すると葉や果実にえそ症状を引き起こす（図-1A, 口絵①A）。この「えそ」は細胞や組織が死んだ状態であるが、その犯人はMNSVのウイルス核酸を増殖させる「複製タンパク質」の単独犯行である。MNSVそのものを感染させなくても、複製タンパク質を単独で発現させるだけで、植物にえそを引き起こすことができる（望月, 2009）。

では、MNSVの複製タンパク質はどのようにえそを引き起こしているのか。MNSVの複製タンパク質が植物細胞内のどこで何をしているのかを調べた（望月, 2009）。MNSV感染メロンのえそを起こした近辺の細胞では、呼吸をつかさどる細胞内小器官であるミトコンドリアに形態異常が見られ、ウイルス核酸を増殖するための工場である小胞構造が多数形成されていた（図-1B, 口絵①B）。ウイルス複製タンパク質は増殖工場で働く主役であり、単独発現させた植物細胞内でミトコンドリアに局在していた。さらに、複製タンパク質が局在したミトコンドリアはその生理活性が低下していることがわかった。興味深いことに、ミトコンドリアに局在しないようにMNSVの複製タンパク質を改変すると、ミトコンドリアの生理活性低下がなくなり、えそも引き起こさなくなった。

ミトコンドリアで行われている呼吸は、生命活動に必要なエネルギーを生産する。ミトコンドリアの生理活性

Symptom Induction Mechanisms upon Plant Virus Infection.
Tomofumi MOCHIZUKI

(キーワード: キュウリモザイクウイルス, メロンえそ斑点ウイルス, 退緑, えそ, 葉緑体, ミトコンドリア)

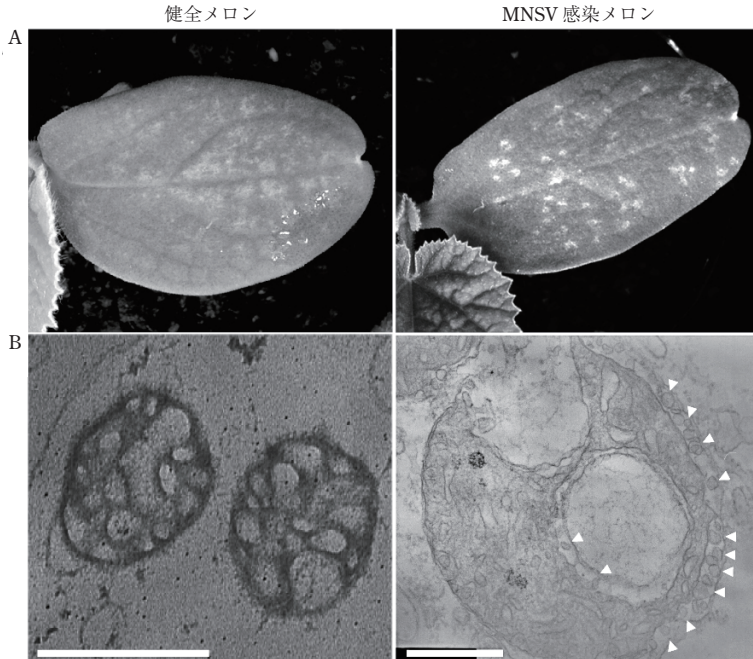


図-1 A: 健全メロンの子葉 (左) と MNSV 感染によりえそ斑が多数形成された感染メロンの子葉 (右). B: 健全メロンの細胞内のミトコンドリア (左) と MNSV が感染したメロンの細胞内のミトコンドリア (右). MNSV 感染細胞のミトコンドリアは膨張し、外膜に多数のウイルス複製複合体様小胞 (矢印) が形成されている. 白線は 500 nm を示す.

が低下してエネルギーが十分に生産されなくなると、細胞は生命活動を維持できなくなり死に至る。MNSV の複製タンパク質は、ウイルス核酸を増殖させるためにミトコンドリアの膜構造を改変する (GÓMEZ-AIX et al., 2015)。その結果、ミトコンドリアの生理活性が低下して細胞死が引き起こされ、えそ症状として現れるのである。

ウイルスは生細胞でのみ増殖できる絶対寄生性の病原体であるので、宿主細胞が死に至ると MNSV も生存できなくなるのではないかと思われるかも知れない。しかしながら、MNSV の増殖とミトコンドリアの生理活性低下が起こるタイミングをメロン細胞で比べてみると、ミトコンドリアの生理活性低下はウイルスの増殖より遅れて起こることがわかった (望月, 2009)。感染細胞が死に至る前にウイルスはその増殖を完了し、一部を残して隣の生細胞へ、そして他の組織へと移動しているであろう。また、先に述べたように MNSV は土壌伝染性のウイルスである。媒介者であるオルピディウム菌は土壌中で遊走子表面にウイルス粒子を吸着させて、新たな植物の根へと MNSV を運ぶ (望月, 2007)。えそを発症して土壌に枯れ落ちた葉はオルピディウム菌により伝搬されるウイルス伝染源となりえる。植物をえそさせるこ

とにより自身の分布を拡大しているのではないだろうか。

II キュウリモザイクウイルス (CMV) による退緑症状

CMV はプロモウイルス科ククモウイルス属に分類される約 29 nm の球形ウイルスであり、単子葉植物と双子葉植物の両方を含む 1,000 種以上の植物に感染する宿主範囲の非常に広いウイルスである。CMV 感染による代表的な病気はモザイク病である。モザイク病は、濃い緑色の健全組織 (濃緑色部) と退色して黄色や淡緑色になった組織 (退緑部) が一枚の葉の中に混在する症状で (図-2A)、CMV の場合、退緑部は奇形を伴っている。ウイルスは濃緑色部にはほとんど感染しておらず、退緑部に多量に存在する。

私たちはナス科のタバコ (*Nicotiana tabacum*) を使い、モザイク病が発症するしくみを調べてきた。CMV に感染する主要な作物のキュウリやトマト等やモデル植物であるシロイヌナズナではなく、タバコを使う理由はいくつかあるが、タバコが最も明瞭なモザイク症状を示すことが一番の理由である。キュウリやトマトでは退緑部と濃緑色部を切り分けて解析することが難しく、シロイヌ

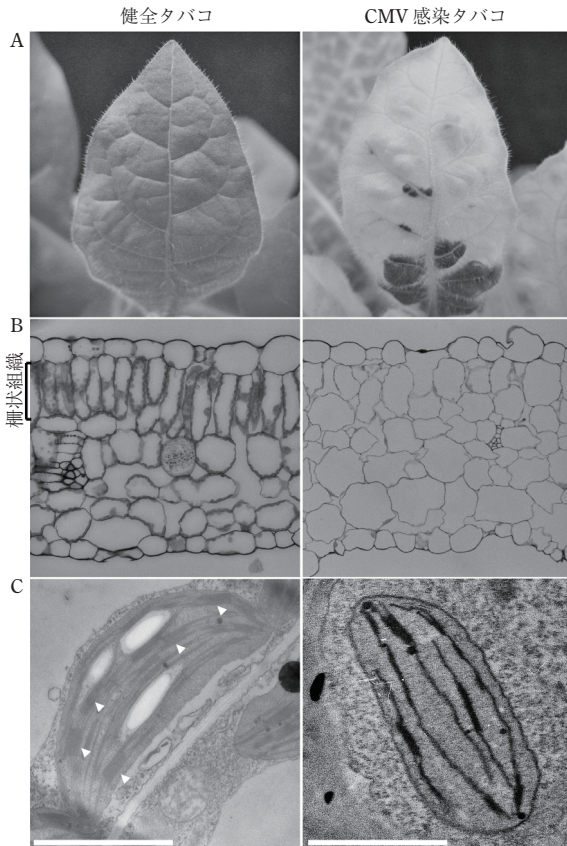


図-2 A: 健全なタバコ葉 (左) と CMV の白色株に感染してモザイク症状を示したタバコ葉 (右). B: 健全タバコ (左) と CMV 白色株感染タバコ退緑部 (右) の横断切片写真. 健全葉には表側に柵状組織が観察されるが, 白色株感染タバコでは明瞭な柵状組織が観察されない. C: 健全タバコの細胞内の葉緑体 (左) と CMV 白色株が感染したタバコの退緑部 (右) の細胞内の葉緑体. 健全細胞の葉緑体には多数の膜構造 (チラコイド膜) とチラコイド膜が重層したグラナ構造 (矢印) が観察されるが, CMV 白色株感染タバコの退緑細胞ではグラナ構造はほとんど見られなく, チラコイド膜も減っている. 白線は 1.5 μ m を示す.

ナズナは激しい萎縮を起こすため, モザイク症状の研究には使いにくい. さらに私たちは, 退緑部が淡い緑色になる CMV (淡緑株) と完全に白色化する CMV (白色株) を研究に使っている. 外被タンパク質のたった一つのアミノ酸が変わるだけで退緑の激しさが劇的に違うのだが, 退緑の激しさが異なる二つの CMV 株を比較することにより発症のしくみが理解できる.

まず, 退緑部に見られる葉の奇形についてである. 退緑部の横断面を観察してみると, 葉の表側にある柵状組

織と呼ばれる構造が見られなかった (図-2B). この柵状組織の異常は, 植物がもつウイルス防御機構を阻害するウイルスタンパク質 (2b タンパク質と呼ばれている) が引き起こしている. この 2b タンパク質の機能を破壊した CMV 株の感染では柵状組織は正常に形成され, 葉の奇形は起こらないので, 葉の奇形は 2b タンパク質による柵状組織の形成異常が原因であることがわかった (Mochizuki et al., 2014 a). 2b タンパク質がどのようにして柵状組織の形成異常を引き起こしているのかについては, 現在解析中である.

続いて, 退緑するしくみについてである. 結論から述べると, CMV による退緑症状は葉緑体の異常が原因である. 葉緑体は光合成を行う植物に存在する細胞内小器官で, 太陽からの光エネルギーを葉緑素で受け取り生命活動に使える化学エネルギーに変換し, 水と二酸化炭素から炭水化物を作り出している. 葉緑体の中にはチラコイドと呼ばれる膜構造があり, そこに緑色色素である葉緑素が含まれている. 植物の葉が緑色に見えるのは, 葉緑体のチラコイド膜に葉緑素が含まれているからであり, 健全なタバコの葉緑体中には多数のチラコイド膜とグラナと呼ばれるチラコイド膜が重なった構造が見られる (図-2C). 一方, CMV に感染したタバコの退緑部の細胞では, 葉緑体中のチラコイド膜の数が減っており, 先に述べた白色株ではグラナ構造が見られなかった (図-2C, Mochizuki and Ohki, 2011). このように, CMV 感染タバコでは, 葉緑素を含むチラコイド膜に異常をきたすため葉が退緑する.

ウイルス感染は植物の遺伝子発現を変化させる. CMV 感染によって発現量が変化するタバコ遺伝子の中には葉緑体の異常に深くかかわっている遺伝子が含まれているはずである. そこで, 健全タバコ, 淡緑株感染タバコ, 白色株感染タバコを使ってマイクロアレイ解析を行った (Mochizuki et al., 2014 b). マイクロアレイ解析は, 約 4 万個のタバコ遺伝子の中で CMV 感染によって発現量が変化する遺伝子を網羅的に探索する方法であり, CMV 感染により発現量が変化していたタバコの遺伝子を「その遺伝子が働く場所」でグループ分けした. CMV 感染により発現量が健全タバコの 2 倍以上に増加していた遺伝子では核で働く遺伝子が最も多く (約 30%), 次いで葉緑体, 細胞質, 細胞膜 (それぞれ約 10%) で働く遺伝子であり, 発現量が健全タバコの半分以下に減少していた遺伝子には, 葉緑体で働く遺伝子が最も多く (約 35%), 次いで核で働く遺伝子 (約 20%) であった. 注目してほしいのは, 健全タバコの半分以下しか発現していない遺伝子の多くが葉緑体で働く遺伝子

表-1 CMV 感染により発現量が減少していた代表的な葉緑体で働く遺伝子

遺伝子名 [Gene ID]	Fold change*	
	淡緑株	白色株
葉緑素合成酵素		
Mg protoporphyrin IX chelatase (Chl H) [AF014051]	0.262	0.112
NADPH : protochlorophyllide oxidoreductase (POR1) [AB074570]	0.312	0.098
NADPH : protochlorophyllide oxidoreductase (POR2) [AB074571]	0.479	0.188
アンテナタンパク質		
Photosystem I light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein [TA12484_4097]	0.575	0.169
Chlorophyll a/b binding protein Cab36 (Lhcb2) [AY219853]	0.425	0.126
Chloroplast pigment-binding protein CP24 (Lhcb6) [TA12003_4097]	0.499	0.122
光化学反応系複合体 I, II		
Photosystem I reaction center subunit X (psaK) [TA11940_4097]	0.371	0.181
Photosystem I subunit XI [EB681816]	0.269	0.063
Photosystem II 23 kDa polypeptide [X55354]	0.465	0.167
Photosystem II Oxygen evolving 33 kDa protein (PsbO) [AY220076]	0.458	0.234

* Fold change は健全タバコの何倍量発現しているかを示している。

であったことで、その中には、葉緑素を生合成する酵素遺伝子、太陽光を受け取るアンテナタンパク質遺伝子、光化学反応系の遺伝子等が含まれていた。興味深いことに、その減少程度は淡緑株と白色株間で異なり、白色株では健全タバコの10分の1以下しか発現していない葉緑体遺伝子もあった(表-1)。以上のように、CMV感染による葉緑体の形態異常は、葉緑体で働く遺伝子の発現そのものが抑制されることが原因であり、その発現抑制程度と退緑の激しさが一致することがわかった。

残されている大きな疑問は、CMV感染によってなぜ葉緑体で働く遺伝子の発現量が減少するのか、そして、CMV株間でなぜ減少程度が異なるのかである。私は、タバコ自らがCMV感染に应答して葉緑体活性を低下させているのではないかと考えている。前述したように、葉緑体は太陽からの光エネルギーを化学エネルギーに変換する重要な細胞内小器官である。一方で、植物が使い切れない過剰な光エネルギーは活性酸素種生成などの酸化ストレスを引き起こし、植物自身に害を及ぼす。CMVが感染した細胞では光エネルギーを消費しきれなくなり強い酸化ストレスにさらされるため、植物自らが葉緑素やアンテナタンパク質を減少させて過剰な光エネルギーを吸収しないよう調整しているのではないだろうか。先に述べたように、淡緑株と白色株とはCMVの毒性因子として働く外被タンパク質のアミノ酸残基がたつ

た一つ違うだけである。毒性因子である外被タンパク質のアミノ酸残基一つの違いにより、タバコがCMV感染に应答する度合いが違っているのだろう。以上の仮説を検証していくことが今後の課題である。

おわりに

植物がウイルス感染により発病するしくみは、宿主植物種とウイルス種あるいはウイルス株の組合せによって様々である。例えば、CMVのDサテライトRNAやオオバコモザイクウイルスが引き起こす全身枯死症状は、植物の抵抗性反応の一つである過敏細胞死と類似していることが報告されている(Xu and Roossinck, 2000; 小松ら, 2013)。さらに、どのウイルスタンパク質が毒性因子として働くかも宿主植物種とウイルス種・ウイルス株の組合せによって異なる。私たちは、CMVの2bタンパク質と外被タンパク質の毒性因子としての働きに着目して研究を進めているが、植物種によっては、CMVの複製タンパク質や移行タンパク質も毒性因子となる(モチズキ and オヒキ, 2012)。

葉緑体は多くの植物ウイルスの標的となっており、例えば、カブ黄斑モザイクウイルス(ティモウイルス)、ムギ斑葉モザイクウイルス(ホルデイウイルス)、タバコモザイクウイルス *flavum* 系統(トバモウイルス)、カブモザイクウイルスやウメ輪紋ウイルス等のポテイウ

ルスで葉緑体の形態異常や光合成活性の低下が報告されている。しかしながら、葉緑体異常が起こるしくみは、ウイルスタンパク質が直接的に葉緑体膜を改変したり、葉緑体タンパク質と直接的に結合して阻害したり、CMVのように葉緑体で働く遺伝子の発現を低下させたりと、ウイルス種により様々である (Li et al., 2016)。

私たちは多種多様な植物を栽培して利用しているため、研究対象となる宿主種は多岐にわたる。したがって、植物が発病するしくみの研究は様々なウイルス種との膨大な組合せが必要となる。しかしながら、多くの組合せで共通している部分と異なっている部分を地道に明らかにしていくことにより、植物ウイルス病を克服する道が開けることを期待している。

本稿で紹介した研究は、農研機構中央農業総合研究センター、および、大阪府立大学生命環境科学研究科において行われたものである。

引用文献

- 1) GÓMEZ-AIX, C. et al. (2015): Mol Plant Microb Interact **28**: 387 ~ 397.
- 2) 小松 健ら (2013): 植物ウイルス病研究会レポート **11**: 11 ~ 21.
- 3) Li, Y. et al (2016): Curr Opin Virol **17**: 19 ~ 24.
- 4) 望月知史 (2007): 植物防疫 **61**: 38 ~ 42.
- 5) ——— (2009): 同上 **64**: 24 ~ 27.
- 6) MOCHIZUKI, T. and S.T. OHKI (2011): Arch Virol **165**: 881 ~ 886.
- 7) ——— (2012): Mol Plant Pathol **13**: 217 ~ 225.
- 8) MOCHIZUKI, T. et al. (2014 a): Virology **456**: 292 ~ 299.
- 9) ——— et al. (2014 b): Mol Plant Pathol **15**: 242 ~ 254.
- 10) Xu, P. and M.J. ROOSSINCK (2000): Plant Cell **12**: 1079 ~ 1092.

新しく登録された農薬 (28.1.1 ~ 1.31)

掲載は、**種類名**、登録番号：**商品名**（製造者又は輸入者）登録年月日、有効成分：含有量、**対象作物**：対象病害虫：使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**、**適用雑草**等を記載。

〔殺虫剤〕

● 燐酸第二鉄粒剤

23760: スラゴ X (ノイドルフ社) 16/1/6

燐酸第二鉄水和物: 3.0%

ナメクジ類, カタツムリ類, アフリカマイマイが加害する農作物等 (温室, ハウス, 圃場, 花壇): ナメクジ類, カタツムリ類, アフリカマイマイ: 発生時

● ギファブラバチ剤

23771: ギファール (アリストライフサイエンス) 16/1/20

ギファブラバチ羽化成虫: 250 頭 / 瓶

ピーマン, とうがらし類 (施設栽培): アブラムシ類: 発生初期

〔除草剤〕

● 塩素酸塩粒剤

23761: デンプレート AZ 粒剤 (日本カーリット) 16/1/6

塩素酸ナトリウム: 50.0%

開墾後に栽培する農作物等 (開墾地): 一年生及び多年生雑草, 雑かん木, ササ類, ススキ

すぎ, ひのき, まつ, からまつ, えぞまつ, とどまつ: 一年生及び多年生雑草, 雑かん木, ササ類, ススキ (地ごしらえ又は下刈り)

ぶな, かんば: 一年生及び多年生雑草, 雑かん木, ササ類, ススキ (地ごしらえ又は下刈り)

樹木等 (公園, 堤とう, 駐車場, 道路, 運動場, 宅地, のり面等): 一年生及び多年生雑草又は竹類

水稻 (水稲刈取跡): 一年生雑草, 多年生イネ科雑草

● ピラクロニル・フルセトスルフロン・メソトリオン粒剤

23766: センイチ MX ジャンボ (石原産業) 16/1/20

23767: フルパワー MX ジャンボ (石原バイオサイエンス) 16/1/20

23768: タンボパワー・ジャンボ (石原テクノ) 16/1/20

ピラクロニル: 4.0%

フルセトスルフロン: 0.40%

メソトリオン: 1.8%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離

● イプフェンカルバゾン・テフリルトリオン粒剤

23769: キマリテ 1 キロ粒剤 (北興化学工業) 16/1/20

イプフェンカルバゾン: 2.5%

テフリルトリオン: 3.0%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, クログワイ, オモダカ, ヒルムシロ, セリ

〔植物成長調整剤〕

● 炭酸カルシウム水和剤

23770: クレント (白石カルシウム) 16/1/20

炭酸カルシウム: 91.0%

みかん: 浮皮の軽減

〔農薬肥料〕

● ウニコナゾール P 複合肥料

23762: 楽一 28N (住友化学) 16/1/18

23763: 登熟一番 28N (日本エコアグロ) 16/1/18

23764: ダブルショット A28N (レインボー薬品) 16/1/18

23765: コープシオート一発ハイチッソ (片倉コープアグリ) 16/1/18

ウニコナゾール P: 0.0030%

水稻: 節間短縮による倒伏軽減