

特別講演要旨

植物ウイルス病の化学療法

平 井 篤 造

(名古屋大学農学部)

ウイルスと癌の化学療法は現在医療界の謎であり、研究の花形である。それには、ペニシリン、ストマイなどの抗生物質の躍進もさることながら、後に述べる抗代謝物質（アンチメタボライト）の研究が進んだからである。

農学はここでも遅れをとつている。それでも、植物ウイルス病の化学療法は、最近やつとその必要性が叫ばれ、次第に基礎的な研究が行われるようになってきた。それは偶然ではない。そのような研究のもり上がりを可能にしたのは、1) 医薬工業、ひいては化学工業の発達であり、2) ウイルスの微量定量法の確立である。更に後者を可能にしたのは、超遠心器、分光光電光度計、電子顕微鏡などの実験技術の進歩であつた。

薬剤のスクリーニングの方法 殺菌剤でもスクリーニングの方法が問題となる。抗生物質におけるカップ法のように、確立したものが現在ウイルス病にはない。さらに、細菌や糸状菌のように、*in vitro* (試験管内)の実験ができず、ウイルスは*in vivo* (生体内)においてのみ増殖するから、必ず生体を用いなければならない点にウイルス病の困難がある。なるべく簡単に実用から離れないということもスクリーニングの方法の重点であるが、われわれが採用したのは次のような方法である。これを「切取り葉培養法」と呼んでいる。

タバコの葉を茎から切取つて、中肋から左又は右半分(半葉)に、タバコモザイクウイルス(TMV)を汁液で接種する。他の半葉は対照として水をすりつける。これは中肋から半葉に切断し、おのおの、窒素、リン酸、糖などを含んだ培養液上に浮べ、蛍光灯連続照射下、25°C 附近で約6日間培養する。接種葉では、ウイルスが目を追つて、一つの曲線を書いて増殖することが知られている。培養液中に供試薬剤を入れた場合、ウイルスの増殖がどのように押えられるか。それからその薬剤の一定濃度における、ウイルス(増殖)阻害度が算出される。

この方法は薬液がたえず葉に浸透している状態で、薬剤としては最もよい条件である(浸漬法)。これに対して薬液を切取葉面に撒布する方法も第二次スクリーニングとして考えている。これらの試験に合格したものが、第三次のポット試験にまわされる。

ウイルス定量法の問題 タバコの葉にウイルスを接種した場合、接種したその局所の葉では、病徴は絶対に現われない。それで、スクリーニングの効果を判定するのに、病徴にたよることはできないから、接種葉内にできたウイルスを定量することが必要である。これには生物的方法と化学的方法とがある。前者は、培養6日後で、ウイルスがある程度増殖したと思われる葉をすりつぶして、インゲン又はグルチノーズタバコの葉に汁液で接種する方法である。その時接種葉にできた病斑数が、用いた病汁液のウイルス濃度を示すことになる。この方法は割に簡便ではあるが、インゲンなどへの接種時の環境、又葉の老幼、葉位などによつて、病斑数及び病斑の型が大きくふれることが欠点である。

化学的方法とは、6日間培養の葉から、ウイルス核蛋白を分離し、その蛋白又は核酸を定量する方法である。現在定量法が非常に進歩しているから、極く少量の材料で間に合い(10mm直径の円形のdisk 5~6枚で実験ができる)、又はつきりした数字が得られることが特徴である。しかし操作に化学的技術と、高価な機械が必要であり、さらに定量にかけたものが、すべて感染性のあるウイルスかどうかの点に問題がある。というのは、最近感染性のない、ウイルス様の異常高分子蛋白或は核蛋白が次第に発見せられているからである。

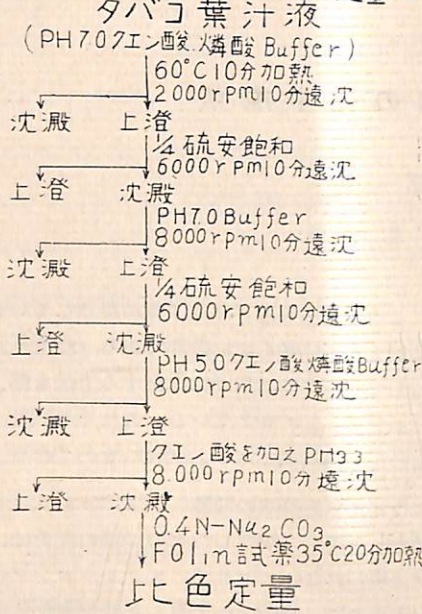
われわれは一応化学的方法にたよっている。その方法は第1図に示すようである。

抗生物質 スクリーニングの方法とウイルス定量法が確定すると、後は労力と根気の問題である。

第1表は主として未知の抗生物質約70種を用いて

上記の方法で第一次スクリーニングを行った結果である。ここに呼吸の阻害又は促進とは供試抗生物質の液に健全なタバコの葉を浸漬した場合葉のdiskの示す呼吸が、対

オ1 図ウイルスの分離定量法



照(抗生物質を含まない培養液に葉を浸漬した場合)とどのように違うかを、ワールブルグ検圧計を用いて測定したものである。これは一種の葉害の指標と考えられる。つまり、呼吸阻害又は促進は、外観的な変化がなくとも、葉が葉害を受けている証拠と見てよいと思う。

次に第一次テストで合格した抗生物質を用いて、切り取り葉への葉面撒布によつて、第二次スクリーニング

第1表 抗生物質の第一次スクリーニング結果

ウイルス阻害度	組織の呼吸ほぼ正常	呼吸阻害	呼吸促進
50%以上	58 (100) 57 (50) 101 (50)	21 (50) 62 (250) 65 (250)	
40~50	29 (500) 36 (100) 26 (100)	13 (500) 51 (30)	50 (200) 22 (50)
30~40	25 (50) 14 (250) 11 (500)	27 (500) 44 (100) 55 (250)	4 (250) 39 (250) 43 (200)
20~30	9 (500) 20 (500) 10 (1000)		28 (500) 47 (200)
10~20	56 (50) 23 (250) ストレプトマイシン (200) 34 (250) オーレマイシン (200) 69 (500) 5 (1000) 71 (250)	59 (50) 24 (500)	3 (1000) 33 (100)

0~10	19 (1000) 2 (1000) 6 (100) 38 (500) 66 (250)	40 (200) 16 (250) 44 (100) 12 (500) 70 (250)	15 (500) 30 (50) 51 (100) 49 (250) 18 (100) 21 (100) 48 (500)	33 (1000)
-10~0	61 (250) 31 (100) 46 (200)	64 (250) 38 (250)		
-10以下	17 (200) クロラムフェニニル (250) ペニシリン (500) 42 (500) 41 (100)	35 (200) 68 (250) 32 (250) 54 (60)	45 (250)	
備考	数字は抗生物質の試験番号 () 内は濃度 (ppm)			

を行った結果は第2~3表である。第2表は TMV をタバコに接種した場合で、左に浸漬法、即ち前回の試験結果を上げ、右に葉面撒布の結果を示してある。ここに化学定量とは、その効果を、葉内にできた TMV を化学定量して判定したものであり、生物定量とは、前に述べたとおり、インゲンの葉に接種して生じた病斑数を測定して判定した結果である。第3表は TMV をトマトに接種した場合である。即ち病徴発現にはほとんど影響がないが、葉内の TMV を定量すると、30~40% ウイルス増殖を阻害するものが見出されている。

第2表 抗生物質の葉面撒布 (タバコ)

浸漬法	ウイルス阻害度 %	葉面撒布法	
		化学定量 抗生物質番号	生物定量 抗生物質番号
65 13 21 29 62 22 26 50 55	40~		25 21 44 20 43 65
25 27 44 39 43 ノフォール マイシン	30~40	20	
10 20 28 オーレオ スライシン	20~30	25 26 44 オーレオ スライシン	26
	10~20	21 39 43 65	
	~10	10 13 22 27 28 29 50 55 62 ノフォール マイシン	22 39 55 62 28

* 25~500 ** 250~1000 P. P. M.

第3表 抗生物質の葉面撒布 (トマト)

ウイルス阻害度	抗生物質* 番号	病徴抑制度	抗生物質* 番号
30~40%	21 44	抑制	
10~20	31	ほとんど影響なし	20 31 21 62 44
~10	20 62 26 39	むしろはげしくなる	26 39

* 500~1000 P. P. M.

チオセミカルバゾン チオセミカルバゾン化合物のあるものは、動物ウイルス、特に牛痘及びインフルエンザウイルスに効果がある。われわれは前述の浸漬法でこれをテストした。その結果は第4表である。即ちNo.217, ベンザルアセトンチオセミカルバゾンが最も効果が認められた。インフルエンザでは、No. 216及No.217が効果があることが知られているが、No. 216は植物では供試濃度では葉害が著しい。No. 217の効果はよく一致した。

次にベンザルアセトンチオセミカルバゾンのパラ置換体を試験した。その結果は第5表である。インフルエンザでは、パラ置換によつて効果が減少するというが、われわれの結果では、No. 235 及No. 67が効果が認められた。目下さらに種々の誘導体を作つてもらつて、試験中である。

抗代謝物質 (アンチメタボライト) ウイルスの増殖は代謝の流れである。例えば最近ウイルス感染性の

第4表 チオセミカルバゾン化合物の

TMVに対する効果
THIOSEMICARBAZONE=N-NH-C-NH₂

NO.	化合物	濃度 PPM	減少率(%)			葉害
			1	2	3	
213		50	-12	+21	+5	+
215		25	+25	+3	-	-
216		50	0	-	-	+++
217		50	-31	-14	-	-
229		10	+7	-7	-	-
224		25	-3	+11	-	-
—		50	-7	-	-	-
237		50	+3	-1	0	-

第5表 ベンザルアセトンチオセミカルバゾン

P-置換体のTMVに対する効果
X-

NO.	X	濃度 PPM	減少率(%)			葉害
			1	2	3	
37	NO ₂ -	50	+10	-15	-11	-
66	NH ₂ -	50	-10	+1	-7	-
235		50	-27	-7	-12	-
67	CH ₃ CONH-	10	-32	-10	-15	-
240	CH ₃ O-	25	-4	-8	0	-
255	Cl-	25	+1	-14	-17	-

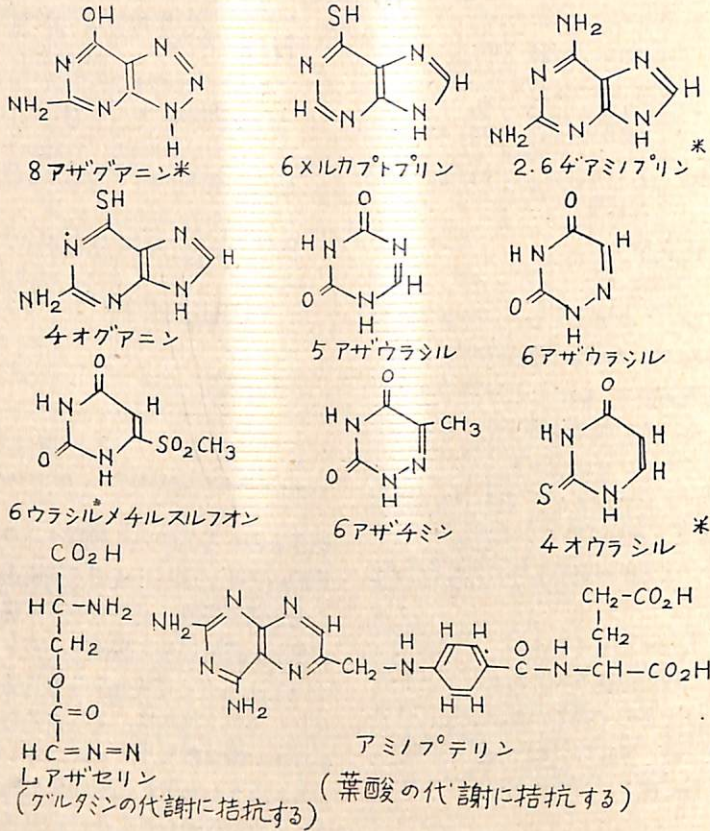
実体と考えられている核酸は、5炭糖(ペントーズ)、
 磷酸、プリン及びピリミジン塩基からできているが、その
 生合成の経路(パスウェイ)は次第に明らかになつてきた。
 特にプリン塩基は、グリシンから出発して、4-アミノイミダ
 ゴールリボチアミドを経て形成され、又ピリミジン塩基は、
 アスパラギン酸から出発して、オロチン酸を経てウラシルに
 至る経路がはつきりしている。こうした正常代謝物質に構
 造的によく似た物質が、生物の代謝のどこかの点をブロッ
 ックするものを、アンチメタボライトと云う。これらの物
 質の代謝阻害は、正常代謝物質の添加によつて、可逆的に
 緩和せられるのが特徴である。

アンチメタボライトは、抗癌性物質として近來華やかに
 登場してきた。そのあるものは既に製品化されているが
 (アザン-田辺製)、それはこれからの学問であり、その使
 用機作の研究は、今や学界の中心をなしている感がある。
 われわれも目下、ピリミジン誘導体のTMVに対する作用を
 試験しているが、まだその発表の域には達していない。
 ここには現在知られている代表的なアンチメタボライト
 (プリン・ピリミジンアナログ)を第2図にまとめてみた。

まとめ ウイルスの化学療法、即ち抗ウイルス
 性物質の研究は確に出発した。しかしそれは単なる出
 発であつて、航路はきまつているが、行先はわからない。
 いわば暗い航海である。しかしこの暗い海に、すでに
 外国の船はひしめいている。日本の小さな伝馬船は
 つぶされそうである。この問題は、ひとり植物ウイルス
 の当面するものでなく、それは直ちに、インフルエン

第2図 代表的なアンチメタボライト (主としてプリン・ピリミジンアナログ)

* はTMVに効果のあるもの



ザ炎, 日本脳炎, 小児痲痺など人間のウイルス病にも通ずるものであり, 又癌の化学療法の解決ともなる。近代の科学は互に孤立しているようでありながら, 実は非常に密接に連繫しているよい例ではなからうか。

荒天の大洋に舟出したこの小さな舟をつぶさぬように, 現場を忠実に, 忍耐強く観察しておられるみなさま方の, 御支援を切にお願いする次第である。