

野菜類ウイルス病ワクチンの現状と今後の展開方向

京都府農業資源研究センター 小坂 能 尚

はじめに

各種の農作物において、ウイルス病が発生している。その経済的被害は、特に野菜類において大きく、媒介生物の防除、抵抗性品種やウイルスフリー種苗の利用などの回避策が講じられてきた。我が国では、1960年代から、ワクチン（本稿では、作物への病原性が弱い「弱毒ウイルス」または「弱毒株」を、それぞれワクチン、ワクチン株と称する）の利用は、ウイルス病に対する最も有効な防除手段の一つとして期待され、その実用化研究が国立研究機関を中心に進められてきた。

本稿では、我が国の野菜類ウイルス病ワクチンについて、最近の利用状況や開発動向を明らかにするとともに、筆者が現在取り組んでいる産学公連携による実用化研究の一端を紹介し、今後の展開方向を探ってみたい。

I 野菜類ウイルス病ワクチンの利用状況と開発動向

我が国の野菜類ウイルス病に対するワクチンの開発と普及の現状を明らかにするため、各都道府県や独立行政法人の農業研究機関および民間企業を対象として、2005年3月から4月にかけて、メールと電話によるアンケート調査を実施した。なお、民間企業によって生産・販売されたワクチン苗（本稿では、ワクチンを接種した苗あるいは感染母本から栄養繁殖した種苗をいう）がいくつかの県においてまとめて利用されているようであったが、これらは民間企業の出荷苗として集約した。

現在利用されているワクチンは、表-1に示したように、*Carlavirus*、*Cucumovirus*、*Potyvirus* および *Tobamovirus* に属する8種であった。これらのワクチン苗の供給・販売体制について、大きく三つのタイプに類別してみた。

まず、最も多い事例として、府県と生産者団体の連携型（現在は生産現場が主体であっても、実用化や普及に至る過程で国立研究機関が関わった事例も含む）が挙げられる。静岡県のみもろん（対象ウイルス：スイカ緑斑モザイクウイルス）、千葉県と宮崎県のピーマン（トウガ

ラシマイルドモットルウイルス）、千葉県のミニトマト（トマトモザイクウイルス ToMV）、山口県のイチヨウイモ（ヤマノイモモザイクウイルス）では、いずれもワクチン苗の利用栽培面積は10haに満たない。鳥取県のナガイモ（ヤマノイモえそモザイクウイルス）および京都府のエダマメ（ダイズモザイクウイルス SoyMV）では、それぞれ40、50haと比較的多い。

次に、全国にワクチン苗を販売展開している民間企業単独型が挙げられる。キュウリモザイクウイルス（CMV）を対象にして、トマト、ピーマン、トウガラシやパプリカと幅広く扱っている日本デルモンテ（株）およびToMVを対象にミディトマトの挿し木苗を生産している日華化学（株）である。

もう一つは、府県と民間企業の連携型である。京都府と複数の民間企業が技術提携して、ズッキーニ黄斑モザイクウイルス（ZYMV）のワクチン苗を生産している事例がある。この概要については後述する。

一方で、1989年（平成元年）以降に開発され、実用化試験にまで至ったワクチン株（ダイズを対象にしたSoyMVも含む）の中には、一定の実用的評価を受けながらも、生産現場に普及・定着しなかったものが、3属10種のウイルスにおいて見受けられる（表-2）。その主な要因として、対象作物の栽培面積や被害の減少、抵抗性品種の普及などによってワクチンの必要性が低下したことやワクチンの増殖・接種・供給体制が整備されなかったことが挙げられる（表-2）。

また、現在、3属6種のウイルスにおいて開発中あるいはほぼ実用化できたワクチンがある。新しい種としては、ジャガイモYウイルスとサツマイモ斑紋モザイクウイルスが対象になっている（表-3）。

II 産学公連携によるワクチンの実用化

ワクチンの実用化研究は30年以上にわたって取り組まれてきた。しかし、それにもかかわらず、民間企業2社が販売しているトマトなどのワクチン苗を除けば、生産者が容易に利用できる状況にはいまだ至っていない。それは、ワクチンそのものが少ないという根本的な問題に加えて、表-2に示されるように、その開発のほとんどを担っている府県にあっては、単独ではワクチン苗を安定して大量供給できるシステムが構築し難いという体

表-1 我が国における野菜類ウイルス病ワクチンの普及状況 (2003～04年)

ワクチン株の種類 ^{a)}	対象野菜類	府県または企業	面積または苗数
<i>Carlavirus</i> 属	CYNMV	ナガイモ	鳥取県 40 ha
<i>Cucumovirus</i> 属	CMV	トマト	日本デルモンテ(株) 170 万本
		ピーマン トウガラシ パプリカ	
<i>Potyvirus</i> 属	JYMV	イチョウイモ	山口県 1 ha
	SoyMV	エダマメ	京都府 50 ha ^{b)}
	ZYMV	キュウリ	京都府 1.5 ha
<i>Tobamovirus</i> 属	CGMMV	メロン	静岡県 9.2 ha
	PMMoV	ピーマン	千葉県 0.15 ha
	ToMV	ミデイトマト	日華化学(株) 70 万本 ^{c)}
		ミニトマト	千葉県 0.3 ha

^{a)} CYNMV = ヤマノイモエそモザイクウイルス, CMV = キュウリモザイクウイルス, JYMV = ヤマノイモモザイクウイルス, SoyMV = ダイズモザイクウイルス, ZYMV = スッキーニ黄斑モザイクウイルス, CGMMV = スイカ緑斑モザイクウイルス, PMMoV = トウガラシマイルドモットルウイルス, ToMV = トマトモザイクウイルス. ^{b)} ワクチン接種苗と無接種苗を 1:9 の割合で混植栽培. ^{c)} ワクチン感染母本からの挿し木苗.

表-2 普及・定着していないワクチン株とその要因^{a)}

ワクチン株 ^{b)}	対象作物	開発機関	主要因 ^{c)}
<i>Cucumovirus</i> 属	CMV (SH208)	メロン	山形県 ③
<i>Potyvirus</i> 属	BYMV (901C2)	ソラマメ	宮城県 ③
	JYMV (JYMV-M)	ヤマノイモ	愛知県 ①
	LYSV (3mE17)	ニンニク	青森県 ②
	OYDV (G79)	ニンニク	青森県 ②
	SoyMV (MG16)	ダイズ	宮城県 ②
		(2-21-19)	ダイズ
	WMV (W I-9)	カボチャなど	農業研究センター ^{d)} ②
ZYMV (2S142a6)	カボチャ	沖縄県 ②	
<i>Tobamovirus</i> 属	CGMMV (No. 12)	ユウガオ	栃木県 ②
	PMMoV (T219)	ピーマン	大分県 ②

^{a)} 1989年(平成元年)以降に食用作物を利用対象として開発され、実証試験にまで至ったワクチン株。花き・果樹を対象としたワクチン株を除く。 ^{b)} BYMV = インゲンマメ黄斑モザイクウイルス, LYSV = リーキーエローストライブウイルス, OYDV = ネギ萎縮ウイルス, WMV = カボチャモザイクウイルス, ほかは表-1を参照. ^{c)} 主要因: ①弱毒性が不安定, ②栽培面積や被害の減少, 抵抗性品種の普及などで必要性が低下, ③増殖・接種・供給体制が未整備. ^{d)} 現: 中央農業総合研究センター.

制的な課題が解消されていないからであろう。

京都府では、萎凋症 (IWASAKI and INABA, 1988) が常発している府内のキュウリ産地に ZYMV ワクチン苗を供給する体制を確立するため、1996年から民間企業との共同研究を進めた。その結果、現在では、生産農家が無接種苗と同じ価格のワクチン苗をどの作型でも入手でき

るようになり、約 1.5 ha において利用されている (表-1)。この技術提携で用いた ZYMV ワクチン株 ZY95 (KOSAKA and FUKUNISHI, 1997) は、農林水産省・第二期地域バイオテクノロジー研究開発促進事業 (1991～95年度) で得られ、植物用ワクチン製剤として我が国では初めてとなる微生物農薬登録 (2003年5月) に至ったも

表-3 ワクチンの実用化研究が取り組まれているウイルス^{a)}

ウイルス ^{b)}	対象野菜類	実施機関
CMV	トウガラシ, トマト	京都府
CGMMV	スイカ	熊本県
PMMoV	ピーマン	中央農業総合研究センター 鹿児島県
PVY	ジャガイモ	長崎県
SPFMV	サツマイモ	大分県
ZYMV	キュウリ	京都府

^{a)} 花き・果樹を対象としたワクチン株を除く. ^{b)} PVY = ジャガイモYウイルス, SPFMV = サツマイモ斑紋モザイクウイルス, ほかは表-1を参照.

のである (小坂・安原, 2005)。

さらに, 2001年から大学も参画し, この研究体制を産学公連携とした (2001～03年度文部科学省・科学技術振興調整費)。すなわち, 京都府 (京都府農業資源研究センター) が, キュウリやトマトにおいてそれぞれ実用性の高いZYMVとCMVのワクチンを作製, 選抜し, (株)微生物化学研究所がこれらを独自の製剤化技術によって保存性の高いワクチン製剤にした。次に, タキイ種苗(株)がワクチン製剤を接種した接ぎ木苗の安定生産技術を確認し, さらにワクチン苗の量産化を目指して自動接種装置のプロトタイプも開発した。その一方で, 基礎的な研究も進み, 宇都宮大学がこれらワクチン株の遺伝子とその機能を解析した。その結果, それぞれの特異的検出法が確立されるとともに, 弱毒性にかかわる遺伝子領域も特定され, ワクチン株を効率的に選抜できる手法が開発された。

このように, 本研究は, それぞれの特徴を生かした産学公連携体制が構築できれば, ワクチンを早期に実用化できることを実証したものと見える。以下に, 各機関が連携して取り組んだ研究のうち, キュウリを対象としたZYMVワクチンの実用化の概要について紹介する。

1 ワクチン株の作製 (京都府農業資源研究センター)

京都府内のキュウリから分離されたZYMVに対して低温処理を繰り返した結果, キュウリ, カボチャやズッキーニなどのウリ科作物に示す病徴が軽微で, 干渉効果も高いワクチン株2002を選抜した (口絵①)。このワクチン株はキュウリに接種しても, 収量や品質への影響はほとんど認められず, 圃場では実用的な防除効果を発揮した (口絵②)。ワクチンとしての性質は, 既存のZY95よりも優れていたため, 2003年から現地では2002を利用することとした。

2 ワクチン株の安定性 (宇都宮大学)

ワクチン株およびその元株の全塩基配列を決定し, そ

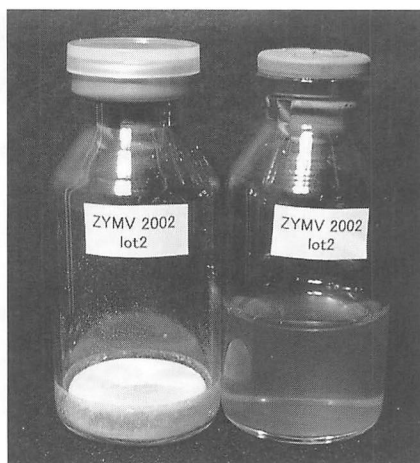


図-1 ZYMVワクチン株2002製剤
凍結乾燥製剤 (左) とその溶解接種液 (右)。

れぞれの感染性全長cDNAクローンを構築した。両クローンの間でキメラを作製し, さらにワクチン株のHC-Pro領域に生じた四つのアミノ酸変異を導入して検討したところ, これらのすべてがキュウリにおける弱毒性にかかわっていること, 仮にこのうちの一つに復帰変異が起こったとしても, 実用的にはほとんど問題がない優秀なワクチン株であることが検証された。

3 ワクチン株の製剤化 (微生物化学研究所)

植物用ワクチンでは初めてとなる中空糸膜型フィルター (ポアサイズ400KD) を用いた限外ろ過法により, ワクチン株の感染カボチャ葉汁液を省力的かつ効率よく濃縮できた。このワクチン液をポリペプトン1%, ショ糖5%およびL-リシン2.5%濃度になるように調製後, 凍結乾燥して製剤化した (図-1)。得られた製剤の感染価は, 少なくとも12か月以上安定して維持されることが確認された。

4 ワクチン苗の大量育苗法 (タキイ種苗)

大量のワクチン苗を省力的に生産するため, セル成型苗 (128穴) を対象に, 噴霧ノズルと葉を下から支える2本のアームを具備したワクチン自動接種装置を製作した (図-2)。ワクチン製剤の溶解液を供して接種条件 (希釈濃度, 噴霧の圧力, 量および距離) を検討し, キュウリ苗に噴霧接種したところ, 高い感染率が得られ, 1トレーを約5分で処理できた。また, ワクチンを接種した接ぎ木苗に適した育苗法も確立された。

この産学公連携体制は, 今後のワクチンの研究開発と実用化のために維持しつつ, ZYMVワクチン苗の生産と販売では民間企業主導にシフトすることで, その経営ノウハウを生かして全国に展開していく予定である。

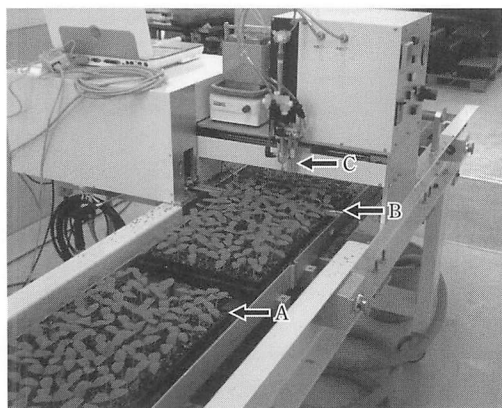


図-2 ワクチンの自動接種装置

キュウリのセル苗がローラーコンベア (A) で運ばれ、2本のアーム (B) で支持された子葉に対し、コンピュータで制御された噴霧ノズル (C) から接種液が高圧噴霧される。

III 今後の展開方向

アンケート調査では、野菜類において、実用的なワクチンが開発されているのはわずか4属のウイルスに限られ、現在普及しているのは8種に過ぎないことが明らかになった。これは、各種のウイルス病が多発している野菜類にあってはあまりにも少ない。この現状を打開するには、ワクチンの迅速な作製法の開発とワクチン苗の効率的な生産・供給システムの構築が重要となろう。

これまでワクチンの作製は偶然性に大きく依存していたために多くの労力と年月を要していたが、この選抜過程を効率化し得る新しい手法が考案された (KOBORI et al., 2005)。これが、今後のワクチン開発にブレークスルーをもたらすことを期待したい。

現在、ワクチン苗を全国展開しているのは民間企業2社に限られている。ワクチンの開発と実用化は企業経営的にはリスクが大きいと思われるが、今後、公的機関がワクチン開発を、民間企業がワクチン苗の生産と販売を担うといった技術提携が円滑に推進されるなら、ワクチン苗を扱う民間企業が増え、ひいては生産者にとってワクチン苗がより身近なものになるはずである。

おわりに

ワクチンは、2003年3月から施行された改正農薬取締法において、新しく制定された「特定防除資材 (特定農薬)」の有力な候補の一つとして挙げられている。ワクチンには、我々人間が長年にわたって食糧としてきた農作物に多くのウイルスが感染しているという事実と、このような植物ウイルスとこれらから作製されたワクチンによる健康被害は皆無という歴史性に基づく一定の安心感があるからであろう。また、ここ数年、消費者の「食の安全・安心」志向は一段と高まりを見せている。そういう意味で、今後は、一般通念として定着しているワクチンへの安心感と信頼感を一層高めるために、ワクチンの安全性に関する科学的な検証データの開示およびこれを踏まえた早急な法的整備が望まれる。

なお、アンケート調査では、都道府県、独立行政法人および民間企業の研究者の方々にご協力いただいた。ここに厚くお礼申し上げる。

引用文献

- 1) IWASAKI, M. and T. INABA (1988): Ann. Phytopath. Soc. Japan 54: 584 ~ 592.
- 2) KOBORI, T. et al. (2005): Plant Dis. 89: (in press).
- 3) KOSAKA, Y. and T. FUKUNISHI (1997): Plant Dis. 81: 733 ~ 738.
- 4) 小坂能尚・安原壽雄 (2005): バイオコントロール研究会レポート 9: 16 ~ 24.

新しく登録された農薬 (17.6.1 ~ 6.30)

掲載は、種類名、登録番号：商品名 (製造業者又は輸入業者) 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。(登録番号：21508 ~ 21520) 下線付きは新規成分。

「殺虫剤」

●サバクツヤコバチ剤

21511：サバクトップ (キャッツ) 2005/06/01
サバクツヤコバチ羽化成虫：60頭/カード
きゅうり (施設栽培)：コナジラミ類，50 ~ 75カード/10 a，
発生初期：放飼

●インドキサカルブ MP 水和剤

21512：ライトニング (デュボンアジア)
インドキサカルブ MP：10.0%
きく：ハスモンヨトウ，オオタバコガ：発生初期

●デンブン水和剤

21513：粘着くん水和剤 (住友化学) 2005/06/22
かんきつ：ミカンハダニ，アブラムシ類，りんご，なし
：ハダニ，アブラムシ類，いちじく：カンザワハダニ
：収穫前日まで

●ハモグリミドリヒメコバチ剤

21517：ミドリヒメ (住友化学) 2005/06/22
21518：ミドリヒメ (琉球産経) 2005/06/22
ハモグリミドリヒメコバチ成虫：25頭/15 ml 容量
野菜類 (施設栽培)：ハモグリバエ類：発生初期：放飼
(12 ページに続く)