

## 7. 植物ウイルスの拡散：農業史及び人類移動との時間的関連

大 島 一 里

佐賀大学農学部応用生物科学科  
生物資源制御学講座植物ウイルス病制御学分野

ベイズ法に基づいた分岐年代推定ソフトウェアを用いて、ウイルスの年代推定が最近盛んに行われている。筆者は世界中から3種の代表的な植物ウイルスを独自に採集し、それらのゲノム塩基配列情報を決定後、ウイルスの拡散経路が農業史や人類移動にどのように関連しているのか、時間軸（タイムスケール）について解析した。農業が開始する以前の世界では雑草などにウイルスが潜んでいたと思われるが、現在は食用作物、特用作物、牧草・芝草、草花、果樹そして野菜と様々な農作物に感染し、現代の人類生存に大きな影響を及ぼしている。野菜は食料として重要であるが、中でも大きな割合を占めるのがアブラナ科の野菜である。多くのアブラナ科植物の起源は地中海沿岸地方を含んだヨーロッパ南部や小・中央アジアと言われている。アブラナ科の野菜に大きな被害を与えている代表的な3種のウイルス、ポティウイルス科ポティウイルス属のカブモザイクウイルス、カリモウイルス科カリモウイルス属のカリフラワーモザイクウイルスそしてプロモウイルス科ククモウイルス属のキュリモザイクウイルスを取り上げ、植物ウイルス分子進化に纏わる時間軸に関連した新しい知見を解説する。

### 1. はじめに

今からおおよそ175年前の1840年にEdward Hitchcockが初めて生物の系統樹を描き、そしてあのCharles Darwinも簡単な樹形のイラストを残した。系統樹とは、生物の進化やその分かれた道筋を枝分かれした図として示したものが、1866年にErnst Haeckelが描いた系統樹は今もなお教科書などに取り挙げられている。その100年後の1969年にAdrian Gibbsが、植物ウイルスの塩基組成をもとに系統樹<sup>19)</sup>を描いたが、その後塩基配列を用いて分子系統樹として発展し、しばらくは分子分類のために用

いられた。ウイルス研究者は、2000年頃までは代表的なウイルス種のゲノム塩基配列を決定することにエネルギーを費やしたが、その後シーケンサーの急速な発展により地球規模で採集した同一ウイルス種のゲノム情報を大量に調査するようになり、分子進化や分子疫学的研究が急速に発展した<sup>20,22)</sup>。それと並行してバイオインフォマティクスも急速な発展みせ、分子系統関係だけでなく組換え、選択、集団遺伝そして最近では時間軸（タイムスケール）について様々な分野のウイルス研究者により精力的に検討されている。

ベイズ法に基づいて系統樹探索と分岐年代推定を行うソフトウェア BEAST 1.8 (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees)<sup>11,12)</sup> がオックスフォード大学のAlexei DrummondとAndrew Rambautの研究グループにより2006年に開発されてから、様々なウイルス科、属そして種で時間軸の報告がされてきた。同グループの出身者であるEdward Holmes（その後ペンシルベニア大学に移り現在はシドニー大学に在籍）らにより更に多くの動物ウイルスで時間軸について報告がなされた。最近ではBEAST 1.8とSpread<sup>2)</sup>を用いてGoogle Earth上でウイルスの拡散(移動)が視覚化<sup>32)</sup>できるようになっている。

筆者らが2002年に報告したポティウイルス科ポティウ

#### 連絡先

〒840-8502

佐賀県佐賀市本庄町1番地

佐賀大学農学部

応用生物科学科生物資源制御学講座

植物ウイルス病制御学分野

TEL: 0952-28-8730

FAX: 0952-28-8709 (農学部総務)

E-mail: ohshimak@cc.saga-u.ac.jp

イルス属のカブモザイクウイルス (*Turnip mosaic virus*, TuMV) の研究<sup>40)</sup> は、植物のウイルスとして分子進化的研究の先駆けとなったが、その後筆者らも複雑な BEAST ソフトウェアを習得し、植物ウイルスで農作物に最も被害を及ぼしているポティウイルス全体の時間軸を検討した。本稿では、その中でも 20 年余り研究してきた TuMV の時間軸について、さらに本ウイルスの宿主が主にアブラナ科植物であることから研究を進展させ、それらを宿主とする主要な病原ウイルス<sup>3,30)</sup> であるカリフラワーモザイクウイルス (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) とキュウリモザイクウイルス (*Cucumber mosaic virus*, CMV) についても時間軸を解析した。なお TuMV は一本鎖 RNA, CaMV は二本鎖 DNA をゲノムに持つパラレトロウイルス, CMV は一本鎖 RNA の分節ゲノムを持つことからそれぞれのゲノム様式はまちまちであり<sup>30)</sup>、このようなウイルスを用いて包括的にアプローチをすることは様々な角度から新しい情報を与えてくれると期待する。

## 2. 動植物ウイルス拡散と時間軸の先行研究

動物ウイルスの時間軸の研究については、ここ数年オックスフォード大学の研究グループが中心となり盛んに解析され、特にインフルエンザウイルス<sup>8,32,37,54)</sup> については多くの報告がされている。その他に狂犬病ウイルス<sup>32)</sup>、B 型や C 型肝炎ウイルス<sup>50,64)</sup>、ブルータンクウイルス<sup>6)</sup>、デングウイルス<sup>1,51)</sup>、ヒト免疫不全ウイルス<sup>25,33)</sup>、天然痘ウイルス<sup>17)</sup> など様々なウイルス<sup>10,53,55,63)</sup> でも報告され、そして最近では世界を震撼させたエボラ出血熱流行のためにエボラウイルス<sup>5)</sup> についても時間軸について解析された。

植物ウイルスでは、世界の農作物に最近大きな被害を与えている一本鎖環状 DNA ウイルスのジェミニウイルス科ベゴモウイルス属のトマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)<sup>13,31)</sup> や *Maize streak virus* (MSV)<sup>26,36)</sup> の解析が知られている。両ウイルスは共に新興ウイルスであり、TYLCV の時間軸の推定から、中東諸国のある地域から 1930 ~ 50 年代にこのウイルスが発生し、その後の 1980 年代に世界中に拡散したことが示唆されており、MSV は 1850 年頃アフリカ南部で初発生したと推測されている。また一本鎖 RNA ウイルスで、アフリカ大陸のイネに大きな被害を与えているソベモウイルス属やその属の *Rice yellow mottle virus* (RYMV)<sup>14,15)</sup>、タバコモザイクウイルス (TMV)<sup>24,48)</sup> そしてルテオウイルス<sup>49)</sup> の時間軸の研究がなされているが、遺伝子の一部領域の解析や分離株数が不十分であったりして、今後さらなる精度の高い解析が望まれるウイルスもある。筆者らもポティウイルス属ポティウイルス種について、外被タンパク質 (CP) 遺伝子の一部配列を用いて、ポティウイルス系統樹に示されている星状系統樹、つまりこれらのウイルスが突発的に

拡散したのは、7250 年頃と推測した<sup>21)</sup>。従ってウイルス拡散が農業開始直前の時期と一致していたように思われたことから、植物ウイルスの拡散と農業の発展との関連性について示唆した最初の報告となった。

## 3. アブラナ科野菜類の起源と拡散

TuMV, CaMV 及び CMV のウイルスが宿主とする植物について、それらの起源や拡散について理解しておくことは、植物ウイルスの拡散を考える上でとても重要である。そこで、農作物としての代表的なアブラナ科の野菜について紹介する。

### 1) ダイコン (*Radish, Raphanus sativus*)

起源地は地中海沿岸や中東地方と考えられている。トルコ東部のエーゲ海沿岸地方には野生ダイコンが多数みられる。紀元前 2200 年の古代エジプトのピラミッド建設労働者が、ハツカダイコンに近いものを食したとの最古の栽培記録がある。ダイコンはオホネ (於保祢) と昔は呼ばれており、古くから日本で栽培されている野菜であり、その栽培は平安時代の法典、延喜式 (927 年) の時代に遡る。

### 2) キャベツ (*Cabbage, Brassica oleracea var. capitata*)

ケルト人に古代よりイベリア人が利用していた原種が伝わり、その後ヨーロッパに拡まったとされるが、古代ギリシャや古代ローマでは胃腸の調子を整える薬草として知られていた。アテネのエウデモスが書いた「牧場論」にキャベツの最初の記述がみられる。9 世紀頃に野菜としての栽培が拡まった。日本へは幕末に伝わり、明治時代にかけて外国人の居留地で栽培されたが、一般の日本人が食することはなかった。「カンラン」とも呼ばれ、戦後の食糧増産と食の洋風化に伴い生産量は急増した。

### 3) ハクサイ (*Chinese cabbage, Brassica rapa var. pekinensis*)

紀元前の中国に原種のブラッシカ・ラパ (*Brassica rapa*) が伝わると栽培されるようになった。7 世紀の揚州で、華南のパクチョイと華北のカブ (アジア系) が交雑して生じたニウトウソン (牛肚菘) が、最初のハクサイと考えられている。当初は結球が弱くシロナに近かったとみられるが、16~18 世紀にかけ結球するハクサイが現れた。日本で結球種が食べられるようになったのは 20 世紀に入ってからである。

### 4) ブロccoli (*Broccoli, Brassica oleracea var. italica*)

地中海沿岸地方が原産である。花を食用とするキャベツの一種がイタリアで品種改良され現在のブロッコリーの姿になったとされる。和名はメハナヤサイやミドリハナヤサイであり、カリフラワーはブロッコリーの変種である。

世界で最も栽培されているアブラナ科の農作物は、おそらくナタネであり、2013年度の農林水産省農産物生産統計では、収穫面積36,498,656ヘクタール、生産量は72,699,608トンであり、カナダが1位、中国が2位である。日本における2012年の時点での作付面積は、野菜類の中でダイコン3位(34,400ヘクタール)、キャベツ4位(34,100ヘクタール)であり、収穫量は、ダイコン2位(1,469,000トン)、キャベツ3位(1,443,000トン)、ハクサイ5位(927,000トン)であり、日本人にとってアブラナ科野菜類はとても重要な食料資源である。一方日本へは、ダイコン(1,903トン)及びキャベツ(27,731トン)と共に中国から最も輸入しており、そしてハクサイは台湾からの輸入が主だが、戦後食するようになったブロッコリーやカリフラワーはアメリカから輸入が最も多い。

#### 4. カブモザイクウイルス

##### 1) 基礎情報

ポテウイルス科ポテウイルス属のウイルス種は様々な農作物に甚大な被害を与え、被害の30~40%はこれらのウイルス種が原因と言われている。代表ウイルス(タイプ種)としてはジャガイモYウイルス<sup>30,47)</sup>が挙げられる。TuMV<sup>30,40,41,44)</sup>は、5大陸の温帯、亜熱帯など世界中に広く分布しており、1921年にアメリカで初記載<sup>18)</sup>され、その後日本などのアジア諸国でも発見された。和名からもわかるようにカブを宿主とするが、その他にダイコン、キャベツ、ハクサイ、ブロッコリー、カリフラワー、ナタネなどのほとんどのアブラナ科植物に感染し、葉にモザイク症状、えそ症状、時には黄色斑点症状などを呈する。アブラナ科植物以外のユリ科、キンポウゲ科やラン科植物などにも感染する。TuMVはポテウイルスの中でも特に広い宿主域を持つウイルスとして知られており、汁液でも感染するが、自然界では主にアブラムシにより非永続的に伝搬される。

TuMVの粒子長は約720nmで、そのゲノムは一本鎖プラスRNAで約9,833塩基から構成されている。このゲノムから大きなポリタンパク質が翻訳され、第1(P1)、ヘルパー成分プロテアーゼ(HC-Pro)さらに核内封入体αプロテアーゼ(NIa-Pro)タンパク質によりポリタンパク質がプロセッシングされ、最低10種類の成熟したタンパク質、P1、HC-Pro、第3(P3)、6キロダルトン1(6K1)、筒状封入体(CI)、6キロダルトン2(6K2)、ゲノム結合(VPg)、NIa-Pro、核内封入体β(NIb)さらにCPなどのタンパク質が産生される。ほとんどのタンパク質遺伝子は多機能であり、例えばHC-Proタンパク質は、アブラムシの伝搬性とサイレンシングの抑制に関与し、CPは昆虫伝搬性やウイルス粒子の会合に関与している<sup>22,41)</sup>。最近、P3タンパク質上にオーバーラッピングしたpretty interesting *Potyviridae*

ORF (P3-PIPO, +2の読み枠に存在)<sup>9)</sup>が見つかった。

##### 2) 起源

TuMVの詳細な分子進化研究<sup>58-60)</sup>を進めて行く過程で、ヨーロッパ諸国を含んだ世界中の分離株について解析すると、分子系統学上、下記に述べる外群のウイルス種に最も近く、また祖先集団に位置するTuMV分離株を発見した。それらは、ドイツの個人庭園で保存されていた3種の野生のラン科植物(*Orchis*属植物;*Orchis militaris*, *O. morio*さらに*O. simian*)に感染していた。この庭園ではドイツ国内で採集した野生ラン科植物だけでなく地中海沿岸地方などヨーロッパ諸国からも輸入していたため、ヨーロッパ原産であることは間違いがないが、厳密な意味での原産は定かでない。野生ラン科植物から分離した3種のTuMVの病原性について実験室(温室)内で調べてみると、一般的なTuMV分離株がアブラナ科植物(栽培植物)に容易に全身感染し症状を呈するのに対して、これらの分離株は感染しないこと(カブとカラシナでは接種葉から二枚上葉までウイルスが検出される場合があるが、それ以上の葉からは検出されない)から、広く分布している現代のTuMV分離株とは病原性が違うように思われた。TuMV分子系統グループに属するヤマノイモモザイクウイルス(JYMV, *Japanese yam mosaic virus*)<sup>16)</sup>、*Scallion mosaic virus*(ScaMV)<sup>4,46)</sup>、スイセン黄色条斑ウイルス(NYSV, *Narcissus yellow stripe virus*)<sup>7)</sup>や*Narcissus late season yellows virus*(NLSYV)<sup>34)</sup>に最も近縁のウイルス種とTuMV集団の間に位置したことから、それらのウイルス種とTuMVの橋渡しをしている集団と考えられた。従って当初これらの分離株がTuMVであるか否かを疑ったが、ゲノム構造、各遺伝子長、塩基配列の相同性、タンパク質の切断部位などの遺伝学的性質、さらに古代から存在したと言われている野生アブラナ科植物のルッコラ(*キバナズシロ*, *Eruca sativa*)やアマナズナ(*Camaria sativa*)にこれらの分離株が感染したことから、筆者は起原型のTuMVと結論している。なおTuMVの詳細な分子進化については筆者の以前の総説も参照にされたい<sup>44)</sup>。

##### 3) 分子系統グループ

これまでの結果をまとめると、TuMVには①起原型の*Orchis*分子系統グループの他に、②basal-B(basal-*Brassica*)グループ;アブラナ科植物以外の栽培植物や野生植物から主に採集され、アブラナ(*Brassica*)属植物(ハクサイ、カブ、キャベツ、ナタネなど)に稀に病原性を持ち地中海沿岸地方そして小アジアから中東諸国を含めた南西ユーラシア大陸地方で採集された分離株から構成される祖先型グループ、③basal-BR(basal-*Brassica/Raphanus*)グループ;日本で2000年頃から突発的に発生した分離株が含まれ、アブラナ属のみならずダイコン属植物に病原性

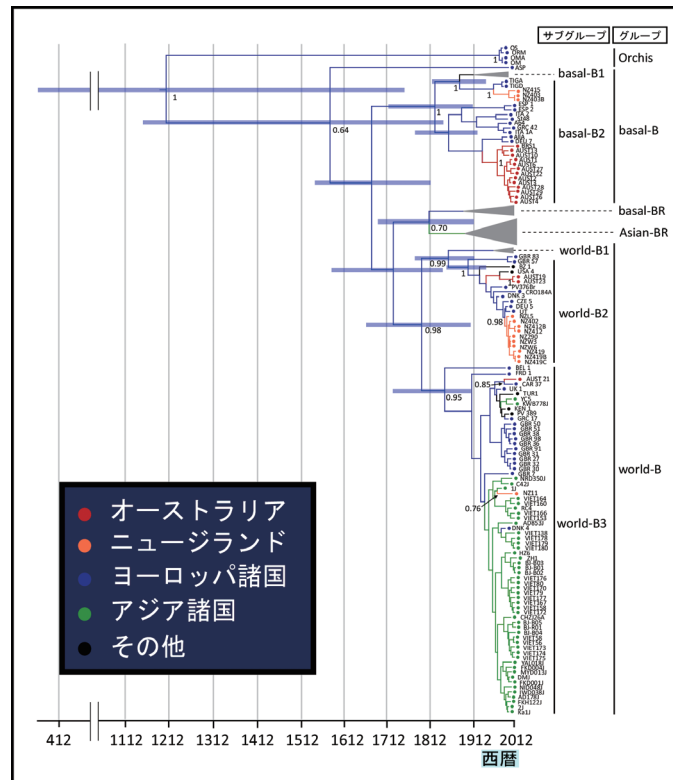


図1 カブモザイクウイルスのP3遺伝子一部配列によるMaximum clade credibility系統樹。青い横線は、95%信頼区間(CI)を示す。

を持ちヨーロッパや東アジアのダイコン属或いはキク科植物に宿主適応した分離株から構成されるグループ、④ Asian-BR (Asian-*Brassica/Raphanus*) グループ；アブラナ属植物だけでなくダイコン (*Raphanus*) 属植物に病原性を持ちアジア分離株から構成されるグループ、さらに⑤ world-B (world-*Brassica*) グループ；アブラナ属に病原性を持ちアブラナ植物に宿主適応したと考えられヨーロッパやアジアなどの世界中の分離株から構成されるグループ、の最低5分子系統グループが病原性や地理的な隔離と関連して存在することが明らかとなった<sup>38,39)</sup>。また basal-B グループは basal-B1 と basal-B2 サブグループに、world-B グループは world-B1, world-B2 および world-B3 サブグループに現時点で分けられる。TuMV の分子進化には組換え<sup>35,40,42,56)</sup> が深く関与していることも既に明らかとなっており、従って、今から1000年以前にはもともとアブラナ科植物に感染しにくかったTuMVが、850年前頃にアブラナ属野生植物、その後アブラナ属栽培植物(農作物)に感染できるようになり、宿主適応やボトルネック現象などにより4分子系統グループに分かれ、起源地と考えられる地中海沿岸地方、小・中央アジアの南西ユーラシア大陸から突然変異と組換えを繰り返しながら、おおよそ500年前に農業の発達(農作物の拡がり)と共に、世界中

のアブラナ属植物栽培地域に拡散し、またアジア地方へは最近アブラナ属植物だけでなくアジアで広く栽培されているダイコン属栽培植物に感染できるようになったと考えられた。

#### 4) 拡散と時間軸解析

筆者らは、ヨーロッパ集団とオーストラリアやニュージーランドのオセアニア集団との関係を明らかにした<sup>62)</sup>。それらの国々のTuMV集団のゲノムについて塩基配列を決定後、組換え部位のコルドスポットである3タンパク質遺伝子(HC-Pro, P3及びNIb)を用いて解析した。オーストラリアやニュージーランドの集団は、地理的に近い東南アジア集団よりも、遠く離れたイギリスやドイツのヨーロッパ集団と分子系統的に近いことが明らかとなった。HC-Pro, P3及びNIbタンパク質遺伝子の進化スピードは、 $1.30\sim 1.47\times 10^{-3}$ 置換/部位/年であった。なおP3タンパク質遺伝子から作成したMaximum clade credibility(MMC)系統樹を例として図1に示す。進化速度解析及び最も近い共通祖先年代(time of the most recent common ancestor, TMRCA)から時間軸を解析すると、祖先型と思われるbasal-B2グループが、おおよそ80年前(95%信頼区間119-52)にヨーロッパの国々から侵入してきたこ

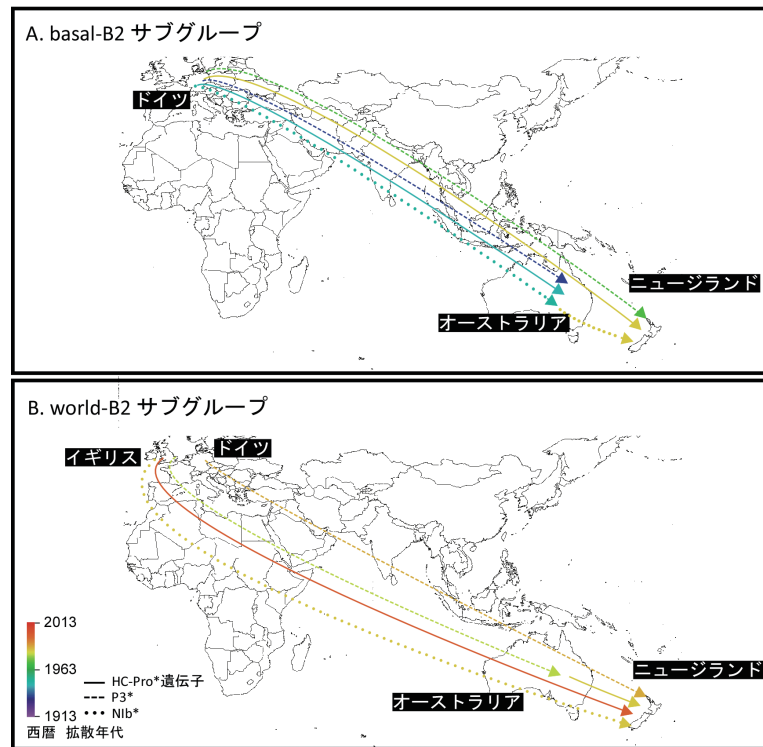


図2 カブモザイクウイルスの時間軸を伴った拡散。組換え部位のコールドスポット領域であるヘルパー成分プロテアーゼ (P3), 第3タンパク質 (P3) 遺伝子および核内封入体bタンパク質 (Nib)の一部配列から解析した。ヨーロッパ諸国, オーストラリア及びニュージーランド間で10以上のベイズ因子で支持された拡散経路のみ矢印で示した。(A) basal-B2 サブグループ, (B) world-B2 サブグループ。

とが明らかになった (図2)。これらは, おおよそヨーロッパ人がオーストラリアやニュージーランドに移住した時期, そして移住後にドイツやイギリスなどのヨーロッパ諸国から球根植物などの園芸植物を輸入した時期とも一致していた。以上から, 植物ウイルスの侵入が人類の移動そしてそれらの国々での農業の確立と一致していることを示しており, 植物ウイルスとしてそれらの関係を明らかにした最初の報告でもある。

##### 5) 残されている課題

TuMVの拡散と時間軸を調査してみると, 農業の発達(農作物の拡がり)とTuMVの拡散が一致しているように思われる。交易として発展したシルクロードが本ウイルスの拡散に関与していると筆者は推測し, 海上貿易に関連した南ルートと北ルートに分け, 現在検討中である。これまで, ギリシャ, トルコ, イラン, インド, ミャンマー, タイ, ベトナム, 中国の新疆や昆明などの国々から共同研究者らと共にTuMVを採集・分離, そして既にそれらゲノムの全塩基配列を決定しており, 現在時間軸について解析中である。なおシルクロードに関係すると思われるアフガニスタン, イラク, パキスタン, カザフスタン, ウズベキスタ

ンなどの分離株については, 諸事情により採集できていない。また我が国における侵入時期の特定も膨大なシーケンスデータを用いて現在解析中である。

残されているもう一つの課題は, TuMVの時間軸だけではなく, TuMV分子系統グループのウイルス種毎の時間軸を解明することである。ポテトウイルスの分子系統樹を作成すると, 幾つかの種がクラスターを形成し, 分子系統グループに纏められる。系統樹の位相は宿主植物と関連しているようにも思えるが, 必ずしもそうではない。これまでポテトウイルスの突発的拡散は, 7250年頃と推測しているが, CP遺伝子の一部領域のみを用いて解析しているため, 今後更なる全長ゲノムによる解析, また後述する発展させた同義置換部位による解析などにより, 一層正確な年代推定の解析が必要である。TuMVグループには, アブラナ科植物から分離されるTuMVの他に, ヤマノイモ科の自然薯などから分離されたJYMV, ネギ科から分離されたScaMV, ヒガンバナ科のスイセンから分離されたNYSVやNLSYVなどが含まれ, ウイルスが分離される宿主は様々である。TuMVは現代のアブラナ科の農作物に感染し被害を及ぼしているが, それ以前の起源型は野生ラン植物に感染するウイルスであったことから, TuMVグ

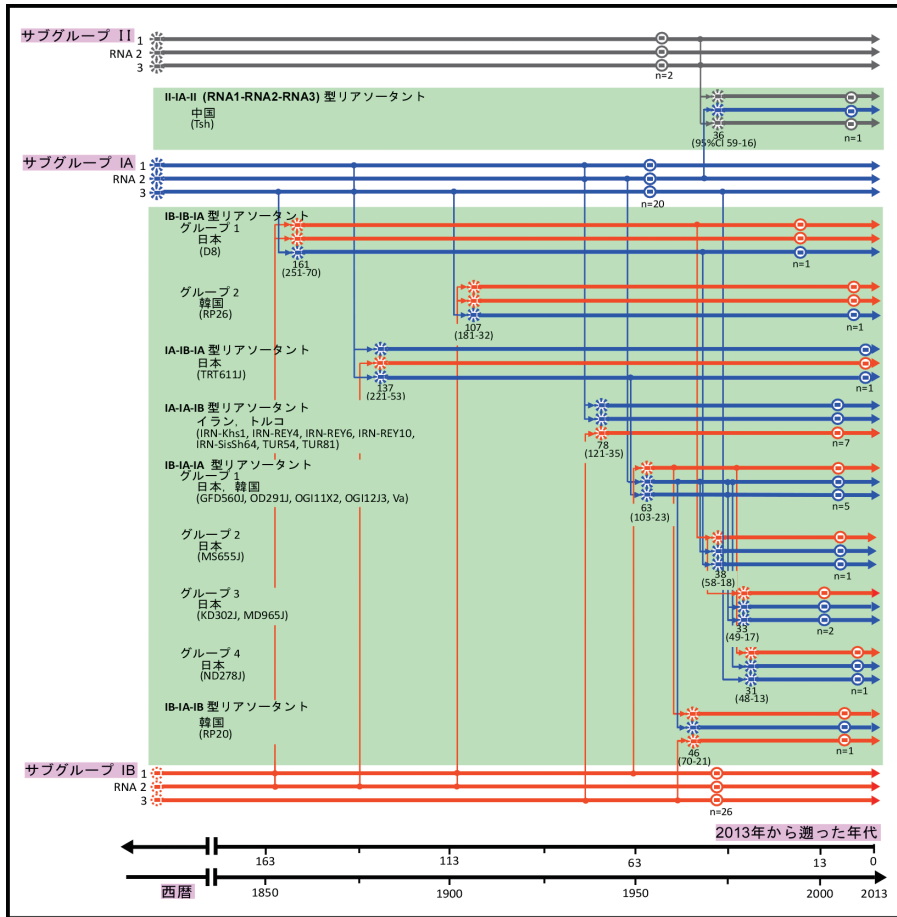


図3 キュウリモザイクウイルスのリアソータントの出現時期の推定. 出現時期については、同義置換部位から算出した. 各リアソータントの下に、推測された出現時期と括弧中に95%信頼区間を示す.

ループのウイルス種が分離される宿主の共通点が、全て単子葉植物であることが明らかになった。まずはこれらのグループのウイルス種について詳細な年代推定も試みる予定であるが、それらウイルスの分離株をこれまで継時的に採集し十分に解析できる分離株数に達したので、現在それらのゲノム構造を決定している。その後ポテトウイルス全体を解析しより正確な時間軸を再調査したい。

### 5. カリフラワーモザイクウイルス

#### 1) 基礎情報

カリモウイルス科カリモウイルス属のCaMVは、二本鎖環状DNAをゲノムとして持つ<sup>30)</sup>。逆転写酵素を持ち増殖過程でRNAを介して複製することからパラレトロウイルスと呼ばれている。アブラナ科野菜には主にモザイク症状を起こし、地中海沿岸地方での野菜に被害が大きく、非永続的にアブラムシにより媒介される。ウイルス粒子にはエンベロープがなく、直径約52nmの正二十面体のカプシドからなる。一般的に、片側のゲノム鎖(α鎖)には一箇所、その相補鎖には2箇所のギャップがあり、それによっ

て分断された2本のDNA鎖がβ鎖とγ鎖と呼ばれている。ゲノムの上流側には7個のオープンリーディングフレーム(ORF)があり、これらは隣り合う場合や重なりあう場合(読み枠が異なる)がある。下流側にはもう1つのORF(ORF VI)があり、これは19S RNAから発現される。CaMVはORF I産物により植物体内を移動し、ORF II産物によりアブラムシへの移動を行う。ORF III産物はDNA結合能を持ち、ORF IVはCPをコードする。ORF Vは逆転写酵素をコードするが、アスパラギン酸プロテアーゼおよびRNaseHの保存配列も有し、これによりゲノムの複製が行われる。ORF VIタンパク質は35S RNA上のORFの翻訳を制御し、新たなウイルス粒子を蓄える封入体を形成する。ORF VIIの機能は未知であり、感染に必修ではない。

#### 2) 拡散と時間軸解析

CaMVの拡散、分子進化の歴史そして時間軸を調査するために、ギリシャ、イラン、トルコそして日本から58分離株を採集し全ゲノムの塩基配列を決定後、国際塩基配列

データベースに登録されている分離株の全長ゲノムの塩基配列と共に、合計 67 分離株について塩基配列の解析を行った<sup>61)</sup>。組換え部位は ORF VI と他の ORF との境界に主にみられ、組換えは CaMV の進化には当たり前の現象のように思われた。ORF I~V 領域は ORF VI 領域とは異なる進化の歴史を持っているようであった。分子系統樹では、CaMV には地理学的に隔離されたりネーじも認められた。組換え部位を含んだ配列を除いた残りの塩基配列を用いて、BEAST 1.8 により置換速度や分岐年代の時間軸解析を行うと、2つの ORF 領域の進化速度は、 $1.71\sim 5.81 \times 10^{-4}$ /置換/部位/年であり、他の RNA ウイルスや一本鎖 DNA ウイルスとほぼ同じ進化速度であった。CaMV では一つの集団からおおよそ 400~500 年前に世界中に拡散し、そして現在ヨーロッパやアジア諸国を含んだユーラシア大陸の国々で分布していると思われた。主な宿主はキャベツ、ブロッコリーそしてカリフラワーである。結球しないキャベツやケールは紀元前にはユーラシア大陸には存在したと推測されているが<sup>29)</sup>、アメリカや日本には 17~19 世紀まで持ち込まれなかった。ブロッコリーやカリフラワーはイタリアから 16~19 世紀に拡まったとされている。CaMV の世界中への拡散年代と農作物の各地への拡がりは、良く一致していた。この研究はパラレトウイルスとしての最初の報告となった。

## 6. キュウリモザイクウイルス

### 1) 基礎情報

CMV はプロモウイルス科クモウイルス属の代表ウイルス (タイプ種) である<sup>30)</sup>。CMV は、世界中で 1000 種以上の単子葉植物と双子葉植物に感染する。またどのウイルスよりも宿主域が広く、宿主には越冬植物も多く、野菜、花卉類やタバコなどに大きな被害を与えており、アブラナ科野菜だけでなく他の野菜のウイルスとして最も重要な病原ウイルスである。アブラムシによって非永続的に伝搬される。CMV には宿主域や病徴が異なる数多くの系統あるいは分離株が報告されている。我が国では宿主植物の分類上の科、属に対する寄生性の差異から普通系統群、マメ科系統群、アブラナ科系統群、ラゲナリア属系統群などに類別されることもあるが、自然界には突然変異に基づく数多くの変異株が存在するようであり、すべての分離株が必ずしも上記の類別に明確に対応するとは限らない。塩基配列ならびに血清型の違いから、CMV はサブグループ I とサブグループ II に大別される。

3 分節のプラス鎖の一本鎖 RNA をゲノムとして持つ小球状粒子である。CMV 粒子は約 18% の RNA を含み、精製ウイルス粒子からは分子量の順に RNA1, RNA2, RNA3 及び RNA4 の 4 種の一本鎖 RNA が得られる。いずれの RNA の 5' 末端にもキャップ構造がある。1a タンパク質は約 110kDa で、N 末端側にキャップ構造付加に関わ

るメチルトランスフェラーゼ、C 末端側にはヘリカーゼの保存配列をもつ。約 95kDa の 2a タンパク質には、GDD モチーフや NTP 結合モチーフなどの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼに特徴的な幾つかの保存配列が存在する。両タンパク質はウイルス RNA 複製に関わる。2b タンパク質は RNA サイレンシングを抑制するサプレッサー能を持つ。3a タンパク質は約 30kDa の一本鎖核酸結合タンパク質で、CMV の細胞間ならびに長距離移行に関与する。

### 2) 拡散と時間軸解析

これまで情報がなかった中東諸国のイランやトルコ、そして日本のアブラナ科植物から 40 分離株を採集しゲノム解析後、国際 DNA 塩基配列データベースに登録されている塩基配列と共に本ウイルスの進化と拡散の時間軸について解析した<sup>45)</sup>。CMV については、全 ORF の全塩基配列を使うだけでなく、同義置換部位 (サイレント部位) のみを選抜した配列を用いて時間軸についても検討した。この試みはウイルスの時間軸の解析としては初めての試みであり、今後どのような部位を用いて解析するのが最適なのかを提案した報告でもある。同義置換部位による解析の結果、1a, 2a, 3a 及び CP 遺伝子の進化スピードは、 $2.32\sim 4.66 \times 10^{-4}$  置換/部位/年であり、現代の CMV 集団は 1550~2600 年の CMV の子孫集団であるが、現代拡散している CMV 集団はおおよそ 300~550 年前から急速に世界に拡散し現在の様に分布していると考えられた。本報告では、植物ウイルスとして世界で初めてリアソータント (再集合体) の時間軸についても検討した。CMV の分子系統樹のリネージを見ると、地域に隔離されていないように見えるが、組換え体とリアソータントは地域に隔離されたような位相を示しており、最も古いリアソータントは 250 年を遡らないことも明らかとなった。このことは今日のような貿易により CMV 集団が簡単に混じり合っているのに対して、250 年以前は CMV 集団が混じり合う機会がほとんどなかったことを示している。或いは 250 年以前のリアソータントが淘汰されたことを示しているのかもしれないが、さらに多くの国々から分離株を集めてリアソータントの時間軸について引き続き検討する必要がある。

### 7. おわりに

世界中のアブラナ科植物に大きな被害を与えている 3 大重要病原ウイルス、TuMV, CaMV そして CMV について、それらの分子進化、拡散と時間軸について解説してきた。どのウイルスの拡散年代も農業が世界中に発達した時代 (農作物が拡がった時代) と一致していた。しかしそれらの一致とは異なり、それぞれのウイルスの拡散パターンは違うように思われた。例えば TuMV の系統樹は、明瞭な系統地理学的なシグナルがあり、南東ヨーロッパや小アジアのアブラナ科植物で出現し世界各国に拡散したようにみ

えた。これに対して、CMVは系統地理学的なシグナルがなかった。これは両ウイルスの拡散方法の違いが影響したのかもしれない。両ウイルスは共に昆虫（アブラムシ）で非永続的伝搬（数秒から数分の獲得吸汁によりウイルスを獲得し、数秒から数分で伝搬を可能とする口針型ウイルス）するが、CMVはしばしば種子伝染するのに対してTuMVは種子伝染は報告されていない。このような伝染方法が、それぞれのウイルスの拡散パターンに影響しているのかもしれない。

人間に感染する幾つかのウイルスでは、人類の移動との関連性について報じられている<sup>55,63</sup>。一方植物ウイルスでは、上記の結果から農業の発達や農作物の移動と深く関係しているように思えるが、どの農作物を栽培するのか人類が決めていることを考えると、当然ウイルスは栽培作物や人類の移動などにも強い影響を受けて今日まで進化し拡散してきたと容易に想像できる。本稿ではウイルスの分子進化に関連した宿主適応戦略研究<sup>23,43,57</sup>や抵抗性植物育成<sup>27,28,52</sup>に関する研究については紹介できなかったのですが、興味がある方はそれらの報告を参照して頂きたい。

なお本稿の一部の結果は、Huy Duc Nguyen博士（現ベトナム国家農業大学）そして博士課程在学中の八坂亮祐氏の学生諸君を始め、多くの卒業生と共に築いたデータである。これらの一連の研究には、特にAdrian Gibbs博士（オーストラリア国立大学名誉教授）とSimon Ho博士（シドニー大学）にはバイオインフォマティクスのご指導とご助言を頂いた。動物ウイルスは各国の大学や保健機関に過去のそして現在流行している分離株が継時的に大量に保存されているのに対して、植物ウイルス分離株を保存している農業関係の大学や機関は少ないため、国内外からウイルスを収集するのに筆者自身の足で歩き採集するしかない。これまで、ギリシャ、トルコ、イラン、インド、ミャンマー、タイ、ウクライナ、中国などの海外の圃場からのウイルス採集に膨大な時間を費やしたことも事実であるが、一方海外の多くの研究者にも採集と分譲に多大なるご協力を頂き、また様々な研究費のサポートを受けて採集そしてゲノム構造を解析してきた。本研究の一部はJSPS科研費基盤研究(B)18405022と24405026の助成、さらにJSPS二国間交流事業共同研究の助成を受けた。心から厚くお礼申し上げる。

## 引用文献

- 1) Allicock OM, Lemey P, Tatem AJ, Pybus OG, Bennett SN, Mueller BA. et al.: Phylogeography and population dynamics of dengue viruses in the Americas. *Mol Biol Evol* 29: 1533-1543, 2012.
- 2) Bielejec F, Rambaut A, Suchard MA, Lemey P.: SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. *Bioinformatics* 27: 2910-2912, 2011.
- 3) Brunt AA, Crabtree K, Dallwitz MJ, Gibbs AJ, Watson L, Zurcher EJ.: Plant Viruses Online, Descriptions and Lists from the VIDE Database. <http://pvo.bio-mirror.cn/refs.htm>
- 4) Chen J, Zheng HY, Chen JP, Adams MJ.: Characterisation of a potyvirus and a potexvirus from Chinese scallion. *Arch Virol* 147: 683-693, 2002.
- 5) Carroll MW, Matthews DA, Hiscox JA, Elmore MJ, Pollakis G, Rambaut A. et al.: Temporal and spatial analysis of the 2014-2015 Ebola virus outbreak in West Africa. *Nature* 524: 97-101, 2015
- 6) Carpi G, Holmes EC, Kitchen A.: The evolutionary dynamics of bluetongue virus. *J Mol Evol* 70: 583-592, 2010.
- 7) Chen J, Lu YW, Shi YH, Adams MJ, Chen JP.: Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of Narcissus yellow stripe virus from Chinese narcissus in Zhangzhou city, China. *Arch Virol* 151: 1673-1677, 2006.
- 8) Chen R, Holmes EC.: The evolutionary dynamics of human influenza B virus. *J Mol Evol* 66: 655-663, 2008.
- 9) Chung BY, Miller WA, Atkins JF, Firth AE.: An overlapping essential gene in the *Potyviridae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 5897-5902, 2008.
- 10) Davis PL, Holmes EC, Larrous F, Van der Poel WH, Tjørnehoj K, Alonso WJ. et al.: Phylogeography, population dynamics, and molecular evolution of European bat lyssaviruses. *J Virol* 79: 10487-10497, 2005.
- 11) Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A.: Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol* 4: e88, 2006.
- 12) Drummond AJ, Rambaut A.: BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* 7: 214, 2007.
- 13) Duffy S, Holmes EC.: Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus*. *J Virol* 82: 957-965, 2008.
- 14) Fargette D, Pinel A, Rakotomalala M, Sangu E, Traoré O, Sérémé D, Sorho F, Issaka S, Hébrard E, Séré Y, Kanyeka Z, Konaté G.: *Rice yellow mottle virus*, an RNA plant virus, evolves as rapidly as most RNA animal viruses. *J Virol* 82: 3584-3589, 2008.
- 15) Fargette D, Pinel-Galzi A, Sérémé D, Lacombe S, Hébrard E, Traoré O, Konaté G.: Diversification of *Rice yellow mottle virus* and related viruses spans the history of agriculture from the neolithic to the present. *PLoS Pathog* 15: e1000125, 2008.
- 16) Fuji S, Nakamae H.: Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of a Japanese yam mosaic virus, a new potyvirus in Japan. *Arch Virol* 144: 231-240, 1999.
- 17) Firth C, Kitchen A, Shapiro B, Suchard MA, Holmes EC, Rambaut A.: Using time-structured data to estimate evolutionary rates of double-stranded DNA viruses. *Mol Biol Evol* 27: 2038-2051, 2010.
- 18) Gardner MW, Kendrick JB.: Turnip mosaic. *J Agric Res* 22: 123-124, 1921.
- 19) Gibbs AJ.: Plant virus classification, *Adv Virus Res* 14: 263-328, 1969.
- 20) Gibbs AJ, Ohshima K, Gibbs M, García-Arenal F.: More



- about plant virus evolution; past, present and future. *In* Origin and evolution of viruses 2nd Edition (Domingo, E., Parrish, C.R. and Holland, J.J. eds). pp. 229-249, Elsevier, Amsterdam. 2008.
- 21) Gibbs AJ, Ohshima K, Phillips MJ, Gibbs MJ.: The pre-history of potyviruses: their initial radiation was during the dawn of agriculture. *PLoS One* 3: e2523, 2008.
  - 22) Gibbs AJ, Ohshima K.: Potyviruses in the digital evolution. *Annu Rev Phytopathol* 48: 205-223, 2010.
  - 23) Gibbs AJ, Nguyen HD, Ohshima K.: The 'emergence' of turnip mosaic virus was probably a 'gene-for-quasi-gene' event. *Curr Opin Virol* 10: 20-26, 2015.
  - 24) Gibbs AJ, Wood J, Garcia-Arenal F, Ohshima K, Armstrong JS.: Tobamoviruses have probably co-diverged with their eudicotyledonous hosts for at least 110 million years. *Virus Evol* in press
  - 25) Gilbert MT, Rambaut A, Wlasiuk G, Spira TJ, Pitchenik AE, Worobey M.: The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104: 18566-18570, 2007.
  - 26) Harkins GW, Martin DP, Duffy S, Monjane AL, Shepherd DN, Windram OP. et al.: Dating the origins of the maize-adapted strain of maize streak virus, MSV-A. *J Gen Virol*. 90: 3066-3074, 2009.
  - 27) Jenner CE, Tomimura K, Ohshima K, Hughes SL, Walsh JA.: Mutations in *Turnip mosaic virus* P3 and cylindrical inclusion proteins are separately required to overcome two *Brassica napus* resistance genes. *Virology* 300: 50-59, 2002.
  - 28) Jenner CE, Wang X, Tomimura K, Ohshima K, Ponz F, Walsh JA.: The dual role of the potyvirus P3 protein of *Turnip mosaic virus* as a symptom and avirulence determinant in brassicas. *Mol Plant-Microbe Interact* 16: 777-784, 2003.
  - 29) Katz SH, Weaver WW.: *Encyclopedia of food and culture* 2. Scribner. p.284, 2003.
  - 30) King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ.: *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses*. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier/Academic Press. 1327 pp, 2012.
  - 31) Lefeuvre P, Martin DP, Harkins G, Lemey P, Gray AJA, Meredith S. et al.: The spread of tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. *PLoS Pathog* 6(10): e1001164, 2010
  - 32) Lemey P, Rambaut A, Drummond AJ, Suchard MA.: Bayesian phylogeography finds its roots. *PLOS Comput Biol* 5: e1000520. 2009.
  - 33) Li Y, Uenishi R, Hase S, Liao H, Li XJ, Tsuchiura T, Tee KK, Pybus OG, Takebe Y.: Explosive HIV-1 subtype B' epidemics in Asia driven by geographic and risk group founder events. *Virology* 402: 223-227, 2010.
  - 34) Lin SQ, Shen JG, Gao FL, Cai W, Huang Z, Xie LY, Wu ZJ.: Complete genome sequence of narcissus late season yellows virus infecting Chinese narcissus in China. *Arch Virol* 157: 1821-1824, 2012.
  - 35) Martin DP, Murrell B, Golden M, Khoosal A, Muhire B.: RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evol* 1: vev003, 2015.
  - 36) Monjane AL, Harkins GW, Martin DP, Lemey P, Lefeuvre P, Shepherd DN. et al.: Reconstructing the history of maize streak virus strain a dispersal to reveal diversification hot spots and its origin in southern Africa. *J Virol* 85: 9623-9636, 2011.
  - 37) Nelson MI, Simonsen L, Viboud C, Miller MA, Taylor J, George KS. et al.: Stochastic processes are key determinants of short-term evolution in influenza A virus. *PLoS Pathog* 2: e125, 2006.
  - 38) Nguyen HD, Tomitaka Y, Ho SYW, Duchene S, Vetter H-J, Lesemann D, Walsh JA, Gibbs AJ, Ohshima K.: Turnip mosaic potyvirus probably first spread to Eurasian brassica crops from wild orchids about 1000 years ago. *PLoS ONE* 8(2): 2013.
  - 39) Nguyen HD, Tran HTN, Ohshima K.: Genetic variation of the *Turnip mosaic virus* population of Vietnam: A case study of founder, regional and local influences. *Virus Res* 171: 138-149. 2013.
  - 40) Ohshima K, Yamaguchi Y, Hirota R, Hamamoto T, Tomimura K Tan Z. et al.: Molecular evolution of *Turnip mosaic virus*; evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread. *J Gen Virol* 83: 1511-1521, 2002.
  - 41) Ohshima K.: *Turnip mosaic virus*. In *Characterization, Diagnosis & Management of Plant Viruses*. G. P. Rao, P. L. Kumar, Holguin-Pena, R. J. eds., Studium Press LLC, Houston, Texas, USA, p313-330, 2007.
  - 42) Ohshima K, Tomitaka Y, Wood JT, Minematsu Y, Kajiyama H, Tomimura K, Gibbs AJ.: Patterns of recombination in turnip mosaic virus genomic sequences indicate hotspots of recombination. *J Gen Virol* 88: 298-315, 2007.
  - 43) Ohshima K, Akaishi S, Kajiyama H, Koga R and Gibbs AJ.: Evolutionary trajectory of turnip mosaic virus populations adapting to a new host. *J Gen Virol* 91: 788-801, 2010.
  - 44) 大島一里: 植物感染性ポテウイルスの進化; 集団遺伝構造の調査. *ウイルス* 2: 151-160, 2012.
  - 45) Ohshima K, Matsumoto K, Yasaka R, Nishiyama M, Soejima K, Korkmaz S. et al.: Temporal analysis of reassortment and molecular evolution of *Cucumber mosaic virus*: Extra clues from its segmented genome, *Virology*, 487: 188-197, 2016.
  - 46) Ohshima K, Muraoka S, Yasaka R, Adachi S, Tokuda M.: First report of *Scallion mosaic virus* on wild Japanese garlic (*Allium macrostemon*) in Japan. *J Gen Pl Pathol* in press.
  - 47) Ogawa T, Tomitaka Y, Nakagawa A, Ohshima K.: Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Res* 131: 199-212, 2008.
  - 48) Pagán I, Firth C, Holmes EC.: Phylogenetic analysis reveal rapid evolutionary dynamics in the plant RNA virus genus *Tobamovirus*. *J Mol Evol* 71: 298-307, 2010.
  - 49) Pagán I, Holmes EC.: Long-term evolution of the *Luteoviridae*: time scale and mode of virus speciation.

- J Virol 84: 6177–6187, 2010.
- 50) Pybus OG, Barnes E, Taggart R, Lemey P, Markov PV, Rasachak B. et al.: Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. J Virol 83: 1071–1082, 2009.
- 51) Sall AA, Faye O, Diallo M, Firth C, Kitchen A, Holmes EC.: Yellow fever virus exhibits slower evolutionary dynamics than dengue virus. J Virol 84: 765–772, 2010.
- 52) Seo JK, Ohshima K, Lee HG, So M, Choi HS, Lee SH. et al.: Molecular variability and genetic structure of the population of *Soybean mosaic virus* based on the analysis of complete genome sequences. Virology 393: 91–103, 2009.
- 53) Shackelton LA, Holmes EC.: Phylogenetic evidence for the rapid evolution of human B19 erythrovirus. J Virol 80: 3666–3669, 2006.
- 54) Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycet SJ, Worobey M, Pybus OG. et al.: Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. Nature 459: 1122–1125, 2009.
- 55) Sugimoto C, Kitamura T, Guo J, Al-Ahdal MN, Shchelkunov SN, Otova B. et al.: Typing of urinary JC virus DNA offers a novel means of tracing human migrations. Proc Natl Acad Sci USA 94: 9191–9196, 1997.
- 56) Tan Z, Wada Y, Chen J, Ohshima K.: Inter- and intra-lineage recombinants are common in natural populations of *Turnip mosaic virus*. J Gen Virol 85: 2683–2696, 2004.
- 57) Tan Z, Gibbs AJ, Tomitaka Y, Sanchez F, Ponz F, Ohshima K.: Mutations in *Turnip mosaic virus* genomes that have adapted to *Raphanus sativus*. J Gen Virol 86: 501–510, 2005.
- 58) Tomimura K, Gibbs AJ, Jenner CE, Walsh JA, Ohshima K.: The phylogeny of *Turnip mosaic virus*; comparisons of 38 genomic sequences reveal a Eurasian origin and a recent 'emergence' in east Asia. Mol Ecol 12: 2099–2111, 2003.
- 59) Tomimura K, Špak J, Katis N, Jenner CE, Walsh JA, Gibbs AJ, Ohshima K.: Comparisons of the genetic structure of populations of *Turnip mosaic virus* in West and East Eurasia. Virology 330: 408–423, 2004.
- 60) Tomitaka Y, Ohshima K.: A phylogeographic study of the *Turnip mosaic virus* population in east Asia reveals an 'emergent' lineage in Japan. Mol Ecol 15: 4437–4457, 2006.
- 61) Yasaka R, Nguyen HD, Ho SYW, Duchene S, Korkmaz S, Katis N, Takahashi H, Gibbs A, Ohshima K.: The temporal evolution and global spread of *Cauliflower mosaic virus*, a Plant Pararetrovirus. PLoS ONE 9(1): 2014.
- 62) Yasaka R, Ohba K, Schwinghamer MW, Fletcher J, Ochoa-Corona FM, Thomas JE, Ho SYW, Gibbs AJ, Ohshima K.: Phylodynamic evidence of the migration of turnip mosaic potyvirus from Europe to Australia and New Zealand. J Gen Virol 96: 701–713, 2015.
- 63) Yogo Y, Zhong S, Suzuki M, Shibuya A, Kitamura T.: Occurrence of the European subgroup of subtype I BK polyomavirus in Japanese-Americans suggests transmission outside the family. J Virol 81: 13254–13258, 2007.
- 64) Zhou Y, Holmes EC.: Bayesian estimates of the evolutionary rate and age of hepatitis B virus. J Mol Evol 65: 197–205, 2007.

## Migration of plant viruses: Time correlations with the agriculture history and human immigration

**Kazusato OHSHIMA**

Laboratory of Plant Virology, Department of Applied Biological Sciences, Faculty of Agriculture, Saga University, 1-banchi, Honjo-machi, Saga 840-8502, Japan

In this review, I made the phylodynamic comparisons of three plant viruses, *Turnip mosaic virus* (TuMV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV), using the genomic sequences of a large numbers of isolates collected worldwide. We analyzed these genomic nucleotide sequences, in combination with published sequences, to estimate the timescale and rate of evolution of the individual genes of TuMV, CaMV and CMV. The main hosts of the viruses are Brassicaceae crops. We also compared these estimates from complete sequences with those from which non-synonymous and invariable codons had been removed. Our analyses provided a preliminary definition of the present geographical structure of three plant virus populations in the world, and showed that the time of migration of three plant viruses correlate well with agriculture history and human immigration.