

植物根頭がんしゅの微細構造,特に核,ミトコンドリアと葉緑体について

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	西沢,良一
発行元	日本植物病理學會
巻/号	43巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 482-486
発行年月	1977年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



植物根頭がんしゅの微細構造, 特に核, ミトコンドリアと葉緑体について

西沢良一*

Ryoichi NISHIZAWA*: Ultrastructure of Crown Gall Cells with Special
Reference to the Nuclei, Mitochondria and Chloroplasts

Abstract

Ultrastructure of tumor cell in *Sedum erythrostictum* leaf inoculated with *Agrobacterium tumefaciens* was observed. Development of lamella system in the chloroplasts of tumor cells was strikingly inferior to that of the normal cells, and many starch grains were contained in the chloroplast of infected cells. In tumor cells, nuclear membrane intruded extensively into the karyoplasm, so that the nuclei, in many cases, became hetromorphic, as has often been observed in animal cancer cells. Mitochondria were polymorphic both in the normal and the tumor cells, but the net-work structure seemed to be more condensed in mitochondria of tumor cells than those of normal cells.

Agrobacterium tumefaciens によって誘起される根頭がんしゅ, いわゆる植物がんの細胞学的ならびに組織学的研究はその数が極めて多いが^{1,2)} いずれも光学顕微鏡による所見である。最近電顕による微細構造についても報告されているが^{3,4,5)}, がんしゅ細胞の核, ミトコンドリア, 葉緑体については, 未だ報告がない。著者は接種によって発生したがんしゅの微細構造を超薄切片法によって観察し, 罹病植物の細胞の核, ミトコンドリアと葉緑体に重点をおきその他発がん初期の組織学的構造も検討したのでここに報告する。

供試菌株 (*Agrobacterium tumefaciens*) は *S*₁ 株⁶⁾ を, 供試植物としてはベンケイソウ (*Sedum erythrostictum*) を用いた。供試菌を針刺法で葉に接種し, 接種後約3ヶ月の新鮮ながんしゅの1×1×3 mm 以内の組織片を6.25%グルタルアルデヒドリン酸緩衝液 (pH 7.3) で4時間低温固定し, リン酸緩衝液で6時間洗滌した。その後, さらに1%オスミッ

ク酸りん酸緩衝液で3時間固定し, エタノール系列で脱水した。これをプロピレンオキシドに置換して, エポキシ樹脂に包埋した。固定・包埋した材料はガラスナイフを用い, JUM 7 型超ミクロトームで薄切り, 酢酸ウラニウム溶液で染色後, JEM-100 S 型 100 KV 電子顕微鏡で観察した。発がん初期の組織学的構造は電顕のほか一部光顕も併用し観察を行なった。

観察の結果は, 対照区 (非接種, 健全葉) 正常組織とがん組織を比較してみると, 細胞の形態, 大きさ, ならびにその配列などが著しく異なっている (Plate I-3)。すなわち, 正常葉組織は一般葉の基本構造と同じく, 表皮, 柵状および海綿状などの組織からなり, これらの組織がおおむね整然と配列されている。しかし, がん細胞ではこのような構造はみられなく, なお, 細胞自体の大きさも大小雑多である。これはがん細胞特有な自律的異常増殖に基づくものと考えられる。

発がん初期の組織的構造は葉に菌を接種した後, 2

* 大阪府立生野高等学校 Ikuno High School, Matsubara, Osaka, Japan.

1) Braun, A. C. and Stonier, T. (1958). Protoplasmatologia X5a. 1-93. 2) Kupila, S. (1958). Ann. Bot. Soc. "Vanamo" 30:1-88. 3) 赤井重恭, 白石雅也 (1971). 日植病報 37:392 (講要). 4) Lipetz, J. (1970). Protoplasma 70:207-216. 5) 向 秀夫, 六浦 勉, 栗原一雄, 中村重正 (1969). 日植病報 35:391 (講要). 6) Nishizawa, R. (1968). Bot. Mag. Tokyo 81:89-99.

週間めのやや隆起した材料を用いた。所見中注目すべきは葉の表裏両面膨大部内部組織の所々、A, B, Cなどに分裂組織状構造が観察された点である。そして、葉の表皮組織細胞ならびに海绵状組織などの基本構造はすでに崩壊していた(Plate I...1-1, 1-2)。おそらく、この段階ではすでに細胞の自律的異常分裂が始まったものと推定される。

非接種の正常な組織内の葉緑体はラメラ系の発達が顕著でデンプン粒の含有が認められるものもあった(Plate I...2)。これに対してがん細胞内の葉緑体はそれを構成するグラナラメラ、インターグラナラメラなどの発達が極めて悪く、むしろアミロプラストに近い状態を示した。また、がん細胞の葉緑体内には類円形、楕円形、その他いろいろな形態のデンプン粒の蓄積が多く認められた(Plate I...4)。一般にデンプンの蓄積は、植物の老化や病害をうけたときなどに起こりやすい傾向がある。例えば、チャヤツツジのもち病、モモの縮葉病などでも葉緑体の形成は不完全で、そこにはがん細胞と同様にデンプンが蓄積し、特にチャ、ツツジではアミロプラストの様相を呈することが報告されている^{7, 8)}。がん細胞では代謝系が正常に回転しないためにデンプンが低分子の糖類に分解されにくく、同化デンプンのままで異常に蓄積するものと考えられる。

対照区非接種組織、核の基本構造は一般の細胞のそれと同様であった。核は若い細胞では球形であるが、液胞の発達した老化細胞では楕円形～長楕円形で細胞壁周辺に偏在していた。これと比較してがん細胞の核は、核膜が核質内に陥入し、さまざまな異型核として存在した(Plate II...6, 7)。すなわち、核の外表面は不規則となり、核膜の所々から核質内への陥入が生じる。陥入は当初は細い溝状であるが、核質内ではしばしば溝の先端が膨れて小胞状を呈する(Plate II...6)。核膜の数ヶ所からこの種の小胞を生じ、これが分枝発達し核内に深く縊れこみ、そのため核は著しく異型を呈する(Plate II...7)。核の大きさは、50個体の長径と短径の平均値で示すと、正常細胞では $6.8 \times 3.4 \mu\text{m}$ 、がん細胞では $9.2 \times 5.4 \mu\text{m}$ で後者の方がかなり大きい。

異型核を生ずる一因として、Bernhard⁹⁾は核質内の変化について記載しているが、異型核を生じる直接

の誘因となる核膜の核質内への陥入については触れていない。植物のがん細胞において著しい異型核を生じるのは、動物がん細胞¹⁰⁾の場合と同じであると考えられるが、その機構は不明である。ミトコンドリアは、正常細胞およびがん細胞のいずれにおいても、長桿形、球形、糸状形、くの字型などが観察され、いわゆる多形性であった。50個体のミトコンドリアについて長径の大きさを測定すると、正常細胞では最大 $3.1 \mu\text{m}$ 、平均 $0.7 \mu\text{m}$ 、がん細胞では最大 $3.5 \mu\text{m}$ 、平均 $1.1 \mu\text{m}$ でがん細胞の方がやや大きかったが、両者とも径 $0.3 \mu\text{m}$ の小球型も観察された。Fogelberg¹¹⁾らは *Agrobacterium tumefaciens* によるがん細胞ではミトコンドリアが種々な形態的变化を示し、球形から糸状に変わることを報告した。しかし、ミトコンドリアは多形性で変異にとむため、Fogelberg らのような形態変化の過程は追認できなかった。

本実験では、正常細胞およびがん細胞のいずれのミトコンドリアにも典型的な櫛歯状のクリステは認められず、すべて網状構造を呈していた(Plate II...8, 9)。

Hackenbrock¹²⁾によると、同一個体でも種々な生理的条件下により正常な櫛歯状構造から凝縮した網状構造に変わり得ることが実証されている。細胞の生理的障害、特にエネルギー代謝系の支障はミトコンドリアの膨潤を来し、病的変化もまた構造上の変化を引き起こす事は成書にも記載されている^{13, 14)}。小田はミトコンドリアの網状構造はクリステ膜間腔の拡大に由来するもので、一般に呼吸基質の欠乏した状態において *in vitro* で分離した場合に認められ、これに呼吸基質を加えると正常なクリステ構造にもどると説明している。

要するに、網状構造の疎密はクリステの多少とマトリックス膜間腔の容積の大小に関係している。本実験におけるがん細胞のミトコンドリアの網状構造は正常細胞のそれに比してがいて網の目が密な傾向が、縦横両断面切片像に観察された(Plate II...10, 11)。

一般にミトコンドリアの Condensed conformation いわゆる網状構造は呼吸基質の欠乏によるもので、植物根頭がんしゅによるがん細胞の代謝系が異常となって、上記のような同化デンプンの蓄積が起る。おそらく、網状構造もこのような代謝系の異常を反映

7) 野津幹雄 (1970). 島根大学農学部研究報告 4, 19~24. 8) 野津幹雄 (1970). 日本菌学会会報 11 : 76~80.

9) Bernhard, W (1969). Handbook of Molecular Cytology, Ultrastructure of the Cancer Cell, pp. 688-714. North Holland Publ. Co., Amsterdam. 10) 武内忠男 (1970). ミクロの生物学 月刊細胞 p. 1. 9月号.

11) Fogelberg, S. O., Struckmeyer, B. E and Roberts, R. H. (1957). Amer. J. Bot., 44, 454~459. 12)

Hackenbrock, C. R. (1963). 37 : 345~369. 13) 新家浪雄, 重永道夫 (1967). 細胞の構造, pp. 73~219 (共

立出版, 東京). 14) 小田琢三 (1966). 蛋白質, 核酸, 酵素 11 : 64~80.

するものと思われる。

元来、ミトコンドリアは多形性かつ複雑な構造を示す三次元的微細構造体であるから、常に **Condensed conformation** を示すか否かは今後さらに追求する必要がある。

要するに *Agrobacterium tumefaciens* による根頭がんしゅ細胞では発がんの初期（菌接種後14日め）にすでに、膨大部の所々に、分裂組織状構造が生じ、その異常分裂によって葉の正常な組織構造は失われて、がん細胞特有な無規律的な構造が生じるものと推定される。がん細胞の葉緑体はラメラ系の発達が著しく不良で葉緑体内には多くのデンプン粒が含まれている。核は核膜が核質内に陥入し、かつ分岐するため、動物がんの場合と同じく、種々な外観的異型を生じ、

核の大きさは概して正常核より大きい。

ミトコンドリアは多形性で、対照として用いた非接种植物の正常細胞のそれと較べて顕著な差異は見られなかった。しかし、本実験では、いずれにおいてもいわゆる網状構状が観察された。

本研究の実施に当っては、東京大学応用微生物研究所田中健治博士、島根大学野津幹雄博士、ならびに日本電子昭島製作所星野徹氏の方々に御協力と御教示頂いた。なお、岡山大学癌源研究施設化学部小田琢三教授からも有益な御助言を賜った。ここに厚く謝意を表する。

(1977年6月8日受理)

Explanation of Plates

Plate I

- 1) 1-1 Transverse section of a *Sedum* leaf at an early stage of tumorigenesis (14 days after inoculation). In swollen leaf-parts, normal structure becomes disorganized, and meristematic structures are seen at the part, A, B and C.
1-2. Magnification of part A in Fig. 1. The arrow shows meristem-like structure.
- 2) Standard structure of the chloroplast in *Sedum erythrostictum*.
- 3) A section of a tumor tissue. The shape is irregular, and size and arrangement of the cells are abnormal due to autonomous proliferation.
- 4) Reserve starch granules in a chloroplasts of tumor cells

Plate II

- 5) Nucleus of a standard cell.
- 6-7) Intrusion of nuclear membrane into the karyoplasm, in the tumor cells.
- 8) Longitudinal section of a mitochondrion in normal cell.
- 9) Transverse section in normal cell.
- 10) Longitudinal section of a mitochondrion in a tumor cell.
- 11) Transverse section in tumor cell. Tumor cell mitochondria appears to have more condensed conformation than the normal ones.

Abbreviation

cm : cell membrane cp : cytoplasm cw : cell wall gls : grana lamella stack m : mitochondria
n : nucleus no : nucleolus nm : nuclear membrane og : osmiophilic granule
s : starch grain v : vacuole t : tonoplast vs : vesicle

Plate I

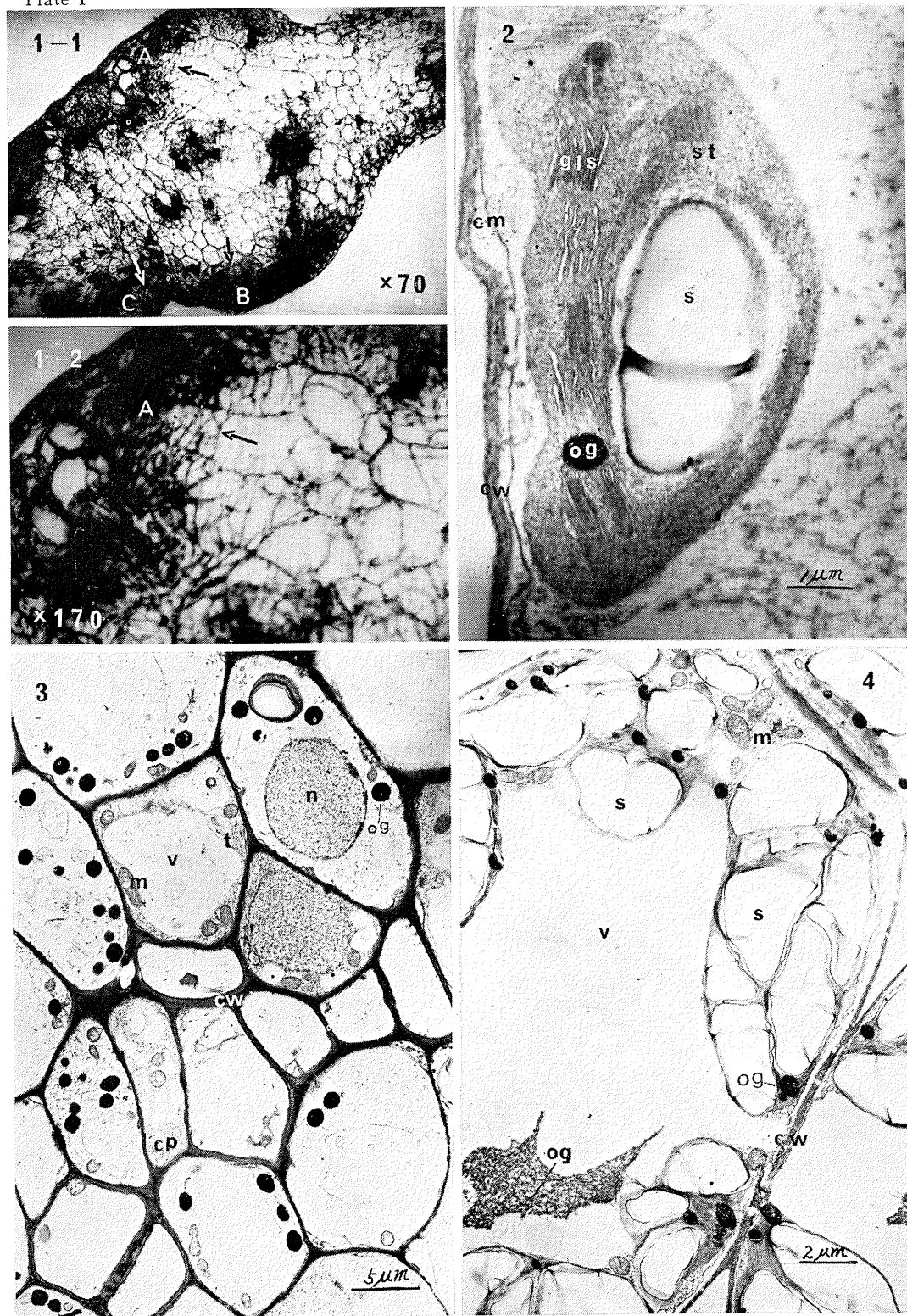


Plate II

