解説

イネファイトアレキシンとジャスモン酸

田 母 神 繁

秋田県立大学 生物資源科学部

(平成 12 年 11 月 20 日受理)

Phytoalexins and Jasmonic Acid in Rice Plants

Shigeru TAMOGAMI

*Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University, 241-7, Kaidobatanishi, Shimoshinjo-nakano, Akita 010-0195, Japan***Key words:** ジャスモン酸 (jasmonic acid), ファイトアレキシン (phytoalexins), イネ (rice plants).

はじめに

ジャスモン酸 (1, 図 1) とそのメチルエステルは, 植物に対しきわめて興味深い活性を示す天然生理活性物質であり, その生理作用について様々な方面から研究がなされている。ここでは, 広範囲な生理作用の中から, ジャスモン酸がファイトアレキシンと呼ばれる抗菌活性を示す植物 2 次代謝産物の蓄積を促進させる活性についての知見を紹介する。

植物はストレスや病害に対する自己防御反応の一つとしてファイトアレキシンと呼ばれる低分子量の 2 次代謝産物を生産することが知られている。ファイトアレキシンは植物病原菌に感染した部位から単離されたのが研究の発端であるが, それ以外のエリシターと呼ばれる塩化銅や多糖類などの化合物, あるいは紫外線照射ストレスによってもその生産が促進されて蓄積されることが知られている¹⁾。茨城大学の児玉らはイネ葉からジテルペノイドやフラボノイドに属する数多くのファイトアレキシンを単離・構造決定し²⁾, さらにファイトアレキシンの蓄積機構について研究

を進めた。その過程で, イネ葉の病原菌感染時において脂肪酸やその過酸化物の生成がファイトアレキシンの蓄積に関与することが示唆され, 次いで, 脂肪酸過酸化物のより下流に位置する代謝産物であるジャスモン酸が高いエリシター活性を有することを見いだした³⁾。以下, 茨城大学・児玉研究室で進められた, イネファイトアレキシン蓄積におけるジャスモン酸の役割についての研究結果を紹介する。

ジャスモン酸のエリシター活性

イネファイトアレキシンの一つであるサクラネチン (2, 図 1) は, イネ健全葉にはほとんど存在しないが, ジャスモン酸を処理すると (数 μ モルから数 m モル濃度のジャスモン酸水溶液の液滴をイネ葉上に静置する), 処理部あたり数百ナノグラムにも達するサクラネチンの蓄積が引き起こされる (図 2[I])。ジテルペノイドのファイトアレキシンであるモミラクトン A の蓄積も同様に促進されるが, ここではサクラネチンの蓄積に絞って述べる。フェニルアラニン以降の, サクラネチンの推定生合成経路を図 3 に示した。サクラネチン生合成の鍵ステップであると思われるフェニルアラニンから桂皮酸への変換や, ナリンゲニンの 7 位水酸基のメチル化反応を触媒する酵素活性を調べた結果, 前者を触媒するフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL), 後者を触媒するナリンゲニン 7-O-メチルトランスフェラーゼ (NOMT) の酵素活性が, ジャスモン酸処理によって著しく高まっていることが明らかにされた⁴⁾。このイネ葉におけるサクラネチンの蓄積は, その分解が阻害される

図 1 ジャスモン酸 (1) とサクラネチン (2) の化学構造

図2 [I]: ジャスモン酸(0.5 mM)を処理したイネ葉でのサクラネチン蓄積量の経時変化(●: ジャスモン酸処理, ○: 水処理), [II]: ジャスモン酸とアミノ酸結合型ジャスモン酸とのエリシター活性の相対比較(72時間後のイネ葉中のサクラネチン量を比較し, ジャスモン酸=100とした). [A]: ジャスモン酸(0.25 mM), [B]: フェニルアラニン結合型ジャスモン酸(0.25 mM), [C]: ロイシン結合型ジャスモン酸(0.25 mM), [D]: コントロール(水).

図3 フェニルアラニン以降のサクラネチン生合成推定経路

3: フェニルアラニン, 4: 桂皮酸, 5: ナリンゲニン, 2: サクラネチン, PAL: フェニルアラニンアンモニアラーゼ, NOMT: ナリンゲニン-7-O-メチルトランスフェラーゼ.

といった単純な理由ではなく, サクラネチンの生合成が活性化されていることが示された. 前者の PAL については, イネ以外の植物においてもジャスモン酸による活性化が報告されている. 一方, ナリンゲニンはイネいもち病菌に対してほとんど抗菌活性を示さず, メチル化されたサクラネチンとなつてはじめて高い抗菌活性を示す. サクラネチン生合成の要であるナリンゲニンがジャスモン酸によって活性化されることは興味深い.

ジャスモン酸はリノレン酸から生合成され, 12-oxo-PDA と呼ばれる中間体を経ることがマメ科植物において明らかにされている⁵⁾. また, ジャスモン酸の下流に位置するとされる代謝物として糖やアミノ酸との結合型ジャスモン酸の存在も知られている. リノレン酸はエリシター活性を示さないが, この中間体 12-oxo-PDA はサクラネチンの蓄積を引き起こす活性を示した. さらに興味あることに, アミノ酸結合型ジャスモン酸はジャスモン酸よりも高い活性を示した(図2[II])⁴⁾. アミノ酸結合型ジャスモン酸の重要性は

図4 フェントン反応とアスコルビン酸(AsA)の作用

マメ科植物における天敵誘引物質の生合成においても示唆されている⁶⁾. 一方, 他に数種のジャスモン酸アナログについてのエリシター活性が調べられたが, どれもジャスモン酸よりも弱いエリシター活性を示すに過ぎなかった⁴⁾.

ジャスモン酸のエリシター活性に対する 種々の化合物の効果

このジャスモン酸によるサクラネチン蓄積を指標としたエリシター活性について, どのような化合物が影響を与えるかを調べた結果, 植物ホルモンであるカイネチンやゼアチンなどのサイトカイニンがジャスモン酸の活性を完全に阻害することが見いだされた⁷⁾. また, 低濃度のアスコルビン酸がジャスモン酸のエリシター活性を抑制し, 逆に, 高濃度では著しく促進することが見いだされた⁷⁾. 一般に, アスコルビン酸はラジカルのスカベンジャーとして機能することが知られているが, アスコルビン酸が過剰に存在すると逆にヒドロキシラジカルなどの生成を促進させることが知られている. このヒドロキシラジカルの生成は, 還元型の鉄イオンが介在するフェントン反応(図4)によるものであり, アスコルビン酸は還元型の鉄イオンを再生させることで, このフェントン反応を促進させようと考えられる⁸⁾. また, グルタチオンやトコフェロールなどの過酸化を阻害する物質もアスコルビン酸と同様にジャスモン酸の活性を促進する活性を示した⁹⁾. 鉄イオンなどの金属イオンのキレート化合物であるエチレンジアミン四酢酸(EDTA)によって, アスコルビン酸の効果やジャスモン酸のエリシ

ター活性自体が阻害されたことから、ジャスモン酸によって処理されたイネ葉がサクラネチンを蓄積させる過程には、活性ラジカルやフェントン反応に関与する鉄イオンなどの金属イオンが介在する可能性も示唆された⁹⁾。ジャスモン酸処理によってペルオキシダーゼ活性が増加することは数種の植物において示されており¹⁰⁾、イネ葉におけるサクラネチンの蓄積においても、ペルオキシダーゼによる生成物、あるいはペルオキシダーゼが引き起こす作用がその活性に関与しているのかも知れない。

サイトカイニンがジャスモン酸のエリシター活性を阻害する活性は強く、0.25 mM濃度のジャスモン酸による活性は、数 μ M のカイネチンで完全に阻害された⁷⁾。ジャスモン酸の黄化作用がサイトカイニンによって阻害されること¹¹⁾は以前から知られていたが、ジャスモン酸のエリシター活性もまたサイトカイニンによって著しく阻害されることは興味深い。一般に、植物体に外部から化合物を与えてその効果を評価するときには、内生の植物ホルモン量や、その他の細胞内物質の効果を考慮すべきなのは当然であり、ジャスモン酸もまた例外ではなく、イネ葉に外部からジャスモン酸を処理してその活性を評価する場合にも内生サイトカイニンの効果を考慮する必要があると思われる。なお、ジャスモン酸と同様な黄化作用を有するアブシジン酸はエリシター活性をまったく示さず、黄化作用とエリシター活性とは結びついていないと考えられる。ジャスモン酸のエリシター活性に関与する化合物と関与の推定機構について、図5にまとめた。このサイトカイニンの作用機構の解析については今後の興味ある課題の一つであろう。

以上のように、ジャスモン酸によるイネ葉でのサクラネチンの蓄積について紹介してきた。一方、モミラクトン A などイネ葉が生産する他のファイトアレキシンもジャスモン酸処理によって多量に蓄積するが、その蓄積はサイトカイニンによって阻害されることはなく、サクラネチンの蓄積メカニズムとは異なる点が多い。それらの結果はここでは省いた。

図5 ジャスモン酸のエリシター活性（イネ葉におけるサクラネチンの蓄積）に影響をあたえる化合物

細胞内シグナル物質としてのジャスモン酸

イネ葉に外部からジャスモン酸を与えた場合のエリシター活性については図5のような結果が得られたが、植物の自己防御機構の一つとしてイネ葉が病原菌の感染に対してサクラネチンを蓄積する過程において、内生のジャスモン酸がどのように関与しているかについては別な研究を進める必要がある。イネ葉中でのジャスモン酸、およびアミノ酸結合型ジャスモン酸の含有量を LC-MS/MS 分析により調べたところ、傷害ストレスに呼応する鋭敏な増加と減少が観察された¹²⁾。トマト葉では、病害感染や傷害ストレスとそれに対応するタンパク質の生成において、ジャスモン酸を細胞内のシグナル物質として位置づけるモデルが考えられているが¹³⁾、イネ葉における内生ジャスモン酸の役割についてもそれがそのままあてはまるかどうかは、まだ不確定であろう。少なくとも、イネ葉においてはサイトカイニンの関与についての研究が必要であるように思う。また、イネ葉にはロイシンやバリン結合型のアミノ酸が存在し、かつ、これらの化合物も高いエリシター活性を示すことから、ジャスモン酸だけではなく、その代謝産物の働きも無視できないように思える。

ジャスモン酸は動物におけるアラキドン酸カスケードにおけるプロスタグランジンノイドとしばしば比較される。しかし、リノレン酸代謝産物においては、ジャスモン酸以外の類縁化合物の存在や生理機能については未知の部分が圧倒的に多く、リノレン酸カスケードが存在するとは言えない。イネ葉におけるジャスモン酸の生合成経路がマメ科植物で明らかにされている経路と同様であるのか、あるいは大きく異なるのかという点も不確定であり、大いに研究の余地があると思われる。

ジャスモン酸類似化合物のエリシター活性

先に述べたように、アミノ酸が結合したジャスモン酸は高い活性を示すが、ジャスモン酸の側鎖の二重結合に水素を付加させたジヒドロジャスモン酸や、カルボニル基を還元した化合物では活性が大きく低下した。一方、微生物毒素として単離されたコロナチンは化学構造がジャスモン酸に類似しているだけではなく、その生理作用もジャスモン酸と共通することが知られている。イネ葉におけるエリシター活性を調べたところ、やはり、ジャスモン酸と同様の高い活性を示し、興味あることに、コロナチンによるサクラネチンの蓄積はカイネチンによって阻害され、高濃度のアスコルビン酸によって著しく促進された¹⁴⁾。このジャスモン酸と同じ性向は、コロナチンがジャスモン酸と同じ機構で作用することを示唆している。いかにコロナチンの化学構造がジャスモン酸やアミノ酸結合型ジャスモン酸に類似しているとはいえ、植物毒素が植物体内に存在する植物

ホルモン様物質と同じ機構で作用することは興味深い。

お わ り に

ジャスモン酸の生理活性の中から、イネのファイトアレキシン蓄積を引き起こすエリシター活性に絞って研究結果を紹介した。これらの研究結果は筆者が茨城大学児玉研究室にて行ったものの一部である。改めて児玉治教授に感謝するとともに、共同研究者の方々にもお礼申し上げる。ここ数年、ジャスモン酸の生理機能に関する研究は盛んに行われている。その基礎的な生理作用についての研究から、細胞内シグナル物質としての役割、さらに特定の2次代謝産物やタンパク質の誘導、あるいはジャスモン酸の結合蛋白の単離についても研究されている。冒頭にも述べたようにジャスモン酸の生理作用は多岐に渡っている。他の研究領域における進捗については他の文献等にあたっていただきたい¹⁵⁾。

引 用 文 献

- 1) J. W. Manfield: "Phytoalexin," ed. by J. A. Bailey & J. W. Manfield, John and Wiley and Sons, New York, pp. 253-288, 1982
- 2) O. Kodama, J. Miyakawa, T. Akatsuka & S. Kiyosawa: *Phytochemistry* **31**, 3807 (1992) and references cited therein
- 3) R. Rakwal, S. Tamogami & O. Kodama: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **60**, 1046 (1996)
- 4) S. Tamogami, R. Randeep & O. Kodama: *FEBS Lett.* **401**, 239. (1997)
- 5) M. Hamberg & H. W. Gardner: *Biochim. Biophys. Acta* **1165**, 1 (1992)
- 6) T. Kurum, K. Bandemer & W. Boland: *FEBS Lett.* **377**, 523 (1995)
- 7) S. Tamogami, R. Randeep & O. Kodama: *FEBS Lett.* **412**, 61 (1997)
- 8) B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge: フリーラジカルと生体, 松尾光芳, 嵯峨井勝, 吉川敏一訳, 学会出版センター, '1988
- 9) S. Tamogami, Ph. D. Thesis, The United Graduate School Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan, 1998
- 10) T. Kato, Y. Shirano, H. Iwamoto & D. Shibata: *Plant Cell Physiol.* **34**, 1063 (1993)
- 11) J. Ueda & J. Kato: *Plant Physiol.* **66**, 246 (1980)
- 12) S. Tamogami & O. Kodama: *J. Chromatogr. A* **822**, 310 (1998)
- 13) E. E. Farmer & C. A. Ryan: *Plant Cell* **4**, 129 (1992)
- 14) S. Tamogami & O. Kodama: *Phytochemistry* **54**, 689 (2000)
- 15) 高橋信孝, 増田芳雄編: 植物ホルモン・ハンドブック, 培風館, 1994