ミニレビュー

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.64, No.6, pp.1151~1154, 1990]

= シリーズテーマ =

植物毒素研究の動向と展開

植物毒素研究の動向と展開	市原 耿民	1151
<i>Acromonium</i> 属菌-イネ科植物間共生における生物活性	吉原 照彦	1155
生物農薬拮抗細菌とその生産する生理活性物質	小林 喜六	1159
植物病原糸状菌のペクチン質分解酵素と病徴発現	宮入 一夫・奥野 智旦	1163
植物病原糸状菌類の生産する自己生育阻害物質	佐々 武史	1167
植物病原細菌の病原性とプラスミド	佐藤 守	1170

植物毒素研究の動向と展開†

市 原 耿 民

(北海道大学農学部)

植物病原微生物である細菌、放線菌、糸状菌は膜壁分解酵素のほかポリケチド、テルペン、アルカロイド、ペプチド、ステロイド、糖類などさまざまな植物毒性二次代謝産物を生産している。本来これらの植物毒性物質は病原菌の病原性にかかわる重要因子の解明という立場から研究されており、事実植物毒素は植物の典型的病徴とされる萎凋 (wilting)、黄化 (chlorosis)、壊死 (necrosis)、水浸状 (water soaking)、生育障害 (growth distortion) などの生理活性を示すことが明らかにされている。一方病原菌の感染に際して植物自身が生産する抗菌性物質はファイトアレキシンと称し、本質的に植物の防御物質と考えられる。特徴的なことはファイトアレキシンは菌侵入前の健全な植物組織には含まれず、感染により初めて多量に生成するもので、動的な防御機構とされている。以上のような植物-微生物間に関与する物質は多くの場合生態化学的立場から研究が進められている。本レビューでは観点を変え生物資源、生物機能、環境とのかかわりについて概説したい。

† New Trend and Development of Phytotoxin Research.

Akitami ICHIHARA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060)

1. 生物資源としての植物病原菌産生生理活性物質

最近の植物毒素研究の動向として注目すべき点は本来の植物病理化学的、生態化学的な立場からさらに積極的な関心が寄せられているのは病原微生物を有用物質の給原とみなす方向である。すなわち植物毒素の有する本来的な植物に対する毒性を除草剤として利用しようとする試みがある⁽¹⁾。例をあげるとテントキシンは *Alternaria* 属菌から単離された非選択的毒素であるが、畑の主要雑草類に毒性を示し、作物であるトウモロコシ、大豆にはほとんど影響がなく、除草剤として有望である。しかし供給の面では発酵法、化学合成とも問題があり実用化には至っていない。今後有用なリード化合物として、活用されることが望まれる。

植物毒素はしばしば植物ホルモン様作用を示すこともめずらしくない。フシコシンAは生長促進作用のほか、アブジン酸処理による冬眠中のレタス種子の発芽促進活性を有することから、逆に作物種子の播種前に、雑草の発芽を促進させ除草剤の効果を高める研究も試みられている⁽²⁾。植物毒素を用いた耐病性植物の選択は育種上期待されている分野であり、多くの結果が報告されている。宿主特異的毒素による抵抗性細胞の選択は病害抵抗性個体の育成につながるもので、最も効果的な選抜法と

されている⁽³⁾。アスパラガス茎枯病菌 (*Phoma asparagi*) は植物毒素としてアルチロキシン A (1), B (2) を生産している⁽⁴⁾。本菌の培養液抽出物および合成関連物質ケトール (3)⁽⁵⁾ を用い、アスパラガス培養細胞の選抜を行い、毒素耐性カルスを選抜した。毒素耐性は品種間でかなりの差異が認められ、培養液抽出物とケトールによる品種間耐性差がほぼ同じ傾向を示したことは同族体による選抜の可能性を示唆するもので興味深い⁽⁶⁾。

2. 新しい生物機能の開発

一般の天然生理活性と同様に植物毒素もその生合成過程で多くの酵素系が関与して生産されるものである。したがって毒素の構造が生合成経路の解明された既知物質と近縁であればその生合成経路 (biogenesis) は容易に推察できよう。しかしその植物毒素の構造が珍奇であったり、未知の構造を有している場合は特有の酵素系が関与した生合成経路が想定され、その鍵段階の反応の究明は新しい生物機能の開発につながる問題である。

コロナチン (4) はライグラスかき枯病菌 (*Pseudo-*

monas syringae pv *atropurpurea*) の代謝毒素であり、コロナファシン酸 (5) とコロナミン酸 (6) と命名した2つの新規物質がアミド結合した特異な構造を有している⁽⁷⁾。最近4の生合成研究が進められ、5は5個の酢酸と1個のビルビン酸から誘導される、新しいポリケチド経路が提出された⁽⁸⁾。また、標識したイソロイシンがコロナチンに取り込まれること、同菌の代謝産物としてコロナファコイルイソロイシンが単離されたことなどを考え合わせ⁽⁹⁾、4の生合成経路に Scheme 1 が提出されている⁽¹⁰⁾。しかしコロナファコイルイソロイシンから4への環化の過程がどのような機構で進むかは不明であり、今後この段階で関与する酵素系の解明に興味が持たれる。

ベータネオン B (9) は甜菜じゃのめ病菌 (*Phoma betae*) の生産する植物毒素で近縁のベータネオン C および A は RNA および蛋白質合成阻害作用を有する⁽¹¹⁾。生合成研究により、9は5個の C₁ 単位および8個の酢酸からポリケチド経路により生成されること⁽¹²⁾、また [1-¹³C, ¹⁸O₂] 酢酸ソーダの取り込み実験により、C-16, C-18 酸素が酢酸由来であることから⁽¹³⁾、8のようなデヒドロデカリン骨格が生合成中間体として推定された。中間体の確認のため、水酸化酵素 (チトクローム p-450) 阻害剤である ancymidol または S-3307 D を培養液に添加し、蓄積した中間体を検討したところ、プロベータニン I (8) が好収量で得られた⁽¹³⁾。8の化学構造は分光学

Scheme 1

Scheme 2

Scheme 3

的手法ならびに全合成⁽¹⁴⁾により確認した。次に $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸ナトリウムでラベルした 8 を調製し、これを培養液に添加したところ、6.02% の取り込み率で 9 が生成した⁽¹⁵⁾。以上の結果より Scheme 2 に示したトリエン 7 を経由する生合成経路を提出した。トリエン 7 が分子内 Diels-Alder 反応を経て 9 に変換される経路は未確認であるが、他の多くの Diels-Alder 型天然物とも考え合せその可能性は高い⁽¹⁶⁾。

ソラナビロン A (10) はアレシニョ夏疫病菌 (*Alternaria solani*) の代謝産物として単離された植物毒素で、構造は絶対配置を含め、10 のように決定されている⁽¹⁷⁾。各種標識酢酸ソーダの取り込み実験で 10 がポリケチド経路で生合成されることが確認された。アルデヒドおよびメトキシ炭素は $[\text{CH}_3\text{S}-^{13}\text{C}]$ メチオニンの取り込み実験により、ポリケチド鎖のアルキル化により生成することが確かめられた⁽¹⁸⁾。さらに $[1-^{13}\text{C}, ^2\text{H}_3]$ -酢酸からは C-5 が重水素化された 10 が生成すること、10 のジアステレオマーで光学活性なソラナビロン D (11) が新たに単離されたことを考え合わせ、Scheme 3 に示した分子内 Diels-Alder 反応を伴う生合成経路を提出した⁽¹⁹⁾。光学活性な複数のジアステレオマーが生合成される例として桑根皮の成分クワノン類が知られているが、微生物の代謝産物では 10, 11 が初めての例である。これらの結果は分子内 Diels-Alder 反応の酵素認識がエナチオ選択性ではあるが、ジアステレオ選択性ではないことを示しており、酵素機能の観点から注目に値する結果である。

3. 環境にかかわる植物毒素

貯蔵農産物のカビ汚染は食中毒の原因ともなるのでその防除はとくに発展途上国において食品衛生上重要な課題となっている。また、貯蔵穀物を飼料とするときは家畜の集団中毒にもつながるが、中毒の原因はマイコトキシンと呼ばれる菌の二次代謝産物である。カビは貯蔵農産物のみならず、生育中の作物を犯し植物毒性物質を生産し植物を倒すが、この罹病植物を飼料として与えられたときには植物毒性物質がマイコトキシンとして働く場合もあるので十分な配慮が必要とされる。

牧草は優れた家畜飼料であるが、病原菌に犯されやすく、またその防除には残留農薬の問題もからみ、容易に殺菌剤が散布できない状態にある。罹病牧草は飼料として低品位のものとなるのみならず、病原菌の代謝産物として毒性物質が混在すれば家畜に及ぼす影響も無視できなくなる。

アルファルファ黒あし病の病徴部より単離した原因菌 (*Cylindrocladium floridanum*) をシロ糖添加アレシニョ煎汁培地を用いて、22°C, 14 日間暗所に静置培養した。培養濾液を濃縮後酢酸エチル抽出し、抽出物を濃縮し、シリカゲルカラムで分画した。アルファルファの芽生えに対する各画分の生育阻害活性試験を行った結果、100 ppm で幼根、胚軸の生育を完全に阻害する画分をさらに各種クロマトグラフィーで精製を行い、トリコセシ系化合物二種、4-アセトキシシルベノールとモノアセトキシシルベノール、ケトグロボシン系化合物三種、ケ

トグロボシン A, C, M (12) とデカロン誘導体フロリダノン (13) を得た⁽²⁰⁾。これらの中でケトグロボシン M とフロリダノンは新規化合物である。トリコテセン系化合物は元来植物病原菌として知られる *Fusarium* 属菌の代謝するマイコトキシンとして良く知られており、汚染したコメ、コムギ等穀類から検出され、ヒトおよび動物に対し吐気、下痢、食欲減退を示し、ときには死に至る中毒症状を引き起こしている。またケトグロボシン系化合物は毒性ではサイトチアラシン系化合物と同一とされ、主な毒作用は微細血管壁の障害による体液の浸出によるもので、チアノーゼ、肝臓、腎臓等に壊死を誘発する。ケトグロボシン関連化合物はすべて強い細胞毒性を示し、細胞分裂を阻止するので多核細胞を生じる。14 のマウスに対する LD₅₀ は 6.5 mg/kg である。フロリダノンの動物毒性は現在のところ、不明であるが、いずれにせよアルファルファ黒あし病菌から、二系統の強力なマイコトキシン類が見出されたことにより、本病罹病のアルファルファは飼料として不適切なことが示唆され、飼料の品質管理、さらには環境汚染との関連からも、重要な知見を得ることができた。

植物病の病徴の原因となる毒素は毒作用の発現機構との関連でさらに究明されるべき課題であるが、以上述べたさまざまな方向への展開も今後ますます盛んになることが予想される。

- (1) A. R. Lax and H. S. Shepherd : "Biologically Active Natural Products", ed. by H. G. Cutler ACS, 1988, p. 24.
- (2) A. Graniti, R. D. Durbin and A. Ballio : "Phytotoxins and Plant Pathogenesis," Springer-Verlag, Berlin, 1989, p. 337.
- (3) R. I. S. Brettell and D. M. Ingram : *Biol. Rev.*, **54**, 329 (1979).
- (4) A. Ichihara, S. Sawamura and S. Sakamura : *Tetrahedron Lett.*, **25**, 3209 (1984).
- (5) A. Ichihara, Y. Kawakami and S. Sakamura : *Tetrahedron Lett.*, **27**, 61 (1986).
- (6) 荒木 肇, 市原耿民, 八鍬利郎 : 組織培養, **14**, 7 (1988).
- (7) A. Ichihara, K. Shiraishi, H. Sato, S. Sakamura, K. Nishiyama, R. Sakai, A. Furusaki and T. Matsumoto : *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 636 (1977).
- (8) R. J. Parry and R. Mafoti : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 468 (1986).
- (9) R. E. Mitchell and H. Young : *Phytochemistry*, **24**, 2716 (1978).
- (10) R. E. Mitchell : "Phytotoxins and Plant Pathogenesis," Springer-Verlag, Berlin, 1989, p. 23.
- (11) A. Ichihara, H. Oikawa, K. Hayashi, S. Sakamura, A. Furusaki and T. Matsumoto : *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 2907 (1983).
- (12) H. Oikawa, A. Ichihara and S. Sakamura : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 814.
- (13) H. Oikawa, A. Ichihara and S. Sakamura : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 600.
- (14) S. Miki, Y. Sato, H. Tabuchi, H. Oikawa, A. Ichihara and S. Sakamura : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1990**, 1228.
- (15) 及川英秋, 横田朋宏, 三木正敬, 佐藤義弘, 市原耿民, 坂村貞雄 : 第 30 回天然有機化合物討論会講演要旨集, 福岡, 1988, p. 37.
- (16) A. Ichihara : "Studies in Natural Products Chemistry," Vol. 4, ed. by Atta-ur-Rahman, Elsevier, 1989, p. 579.
- (17) A. Ichihara, H. Tazaki and S. Sakamura : *Tetrahedron Lett.*, **24**, 5773 (1983); A. Ichihara, M. Miki and S. Sakamura : *Tetrahedron Lett.*, **26**, 2453 (1985).
- (18) H. Oikawa, T. Yokota, T. Abe, A. Ichihara, S. Sakamura, Y. Yoshizawa and J. C. Vederas : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1989**, 1282.
- (19) H. Oikawa, T. Yokota, A. Ichihara and S. Sakamura : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1989**, 1284.
- (20) 手島 洋, 市原耿民, 坂村貞雄, 佐藤倫造, 但見明俊 : 日本農芸化学会東北支部・北海道支部合同学術講演会 講演要旨集, 札幌, 1987, p. 19.