病原菌シグナルと植物の防御応答†

白石友紀, 山田哲治, 一瀬勇規

(岡山大学農学部)

植物感染病の 80% 以上は糸状菌 (カビ) によって引き起こされ, 残りは細菌, ウイルス, マイコプラズマ様微生物, リケッチア様微生物, 線虫などが原因である. 自然界には, 膨大な数の病原体が存在するにもかかわらず, 1つの種あるいは系統や品種に感染して病気を起こす病原体の数は極端に限られている. これを宿主-寄生者の特異性 (host-parasite specificity) と呼んでいる. 糸状菌病を中心に話を進めると, 10 数万種といわれるカビのなかで, 植物を加害するものは約 8 千種である. しかし, これらのうち, たとえばイネを加害するカビは約 50 種, さらに大きな被害をもたらすものは 10 指にも満たない. このことは, ある植物種や品種は大多数の病原菌に対して抵抗性ないし免疫性であるというのが, 自然の姿であることを示している. 実際に, 植物は病原菌に対してさまざまな防御システムを備えている. ワックス層やクチクラ, 細胞壁の硬さや厚さ, フェノール等の先天的抗菌性物質など感染を受ける前から備えている抵抗性 (静的抵抗性) と感染を受けた後に発現するファイトアレキシン, スーパーオキシド, PR タンパク質, カロース, リグニン, パピラなどの物理的・化学的障壁の生成 (動的抵抗性) がよく知られている. これらは階層的に植物自身を保護しているものと考えられるが, タンパク質や核酸の合成阻害剤処理, 熱処理, あるいは, 親和性菌をあらかじめ接種して動的抵抗性の発現を抑制しておくと, 本来感染できない病原体の感染が成立するようになる. これは抵抗性の主体が後者にあることを示している. いったん障壁が形成された組織には, 病原菌といえども定着することはできない. したがって, 病原菌にとってはこれらの障壁の形成を回避する仕組みを備

えることが必至となるであろう.

1. 植物防御応答を制御する病原菌シグナル エリシターとサプレッサー

病原菌として適応するためには, 1) 植物に侵入する能力, 2) 宿主の抵抗性に打ち勝つ能力, 3) 宿主を発病させる能力を備えなくてはならないと考えられている⁽¹⁾. 病原菌はいずれも第 1 の能力を備えているので, 宿主への定着 (栄養関係の確立) に成功するためには第 2 の能力が欠かせない. では, 病原菌はどのように, 動的抵抗性を回避するのであろうか. 病原菌が動的抵抗性の誘発因子 (elicitor あるいは inducer, 以下エリシター) を生産することはよく知られている. これらには, グルカン, 多糖類, キチン, キトサン, ペプチド, 糖ペプチド, 脂質など多種多様な代謝産物が含まれている. エリシターを感染の現場に生成・分泌しない病原菌は抵抗性を誘導しないと想像できるが, 著者らの知る限り, 実際にそのような病原菌は存在しない. むしろ, 病原菌はエリシターによって誘導される抵抗性を積極的に抑制する仕組みを備えていることが 1970 年代になってわかってきた⁽²⁾. この機能を担う物質はサプレッサー (suppressor) と呼ばれており, 現在までに 8 種の植物病原菌から見出されている (表 1)⁽³⁾. これらは, エリシターによって宿主植物に誘導される防御応答, たとえば, 過敏細胞死, スーパーオキシド (本シリーズの道家氏のレビュー参照) やファイトアレキシン生産, PR タンパク質の増高などを種あるいは品種特異的に抑制する. また, あるものは生産菌の宿主組織を感受化 (受容化) して, 非病原菌の感染さえも成立させる. これらの構造については, 長年不明であったが, 1992 年にエンドウ褐紋病菌 (*Mycosphaerella pinodes*) の生産するサプレッサー中 2 種の構造が明らかとなり (図 1)⁽⁴⁾, 詳細な研究が始まっている.

2. 病原菌シグナルと防御応答

エリシター・サプレッサーによる防御応答の制御につ

† Regulation of Plant Defense Responses by Signals from Fungal Pathogens.

Tomonori SHIRAISHI, Tetsuji YAMADA, and Yuki ICHINOSE (College of Agriculture, Okayama University, Okayama 700)

表 1 今までに発見された植物病原糸状菌サプレッサー

病原菌 (由来)	化学的性質	供試植物 (特異性)	受容性誘導能	阻害される抵抗性	作用点	発見年
<i>Ascochyta rabiei</i> (培養濾液)	glycoprotein	ヒヨコマメ (品種)	?	phytoalexin (PA)	?	86
<i>Botrytis</i> sp. (分生孢子発芽液)	peptide + ?	タマネギなど (属/種)	有	感染阻害因子 (I. I.)?	膜系?	89
<i>Mycosphaerella pinodes</i> (柄孢子発芽液)	glycopeptide (mucin-type)	エンドウ (種)	有	PA, I. I., PR-タンパク質	原形質膜 ATPase PI 代謝系	77
<i>M. ligulicola</i> (柄孢子発芽液)	glycopeptide?	キク (種)	有	I. I.?	?	87
<i>M. melonis</i> (柄孢子発芽液)	glycopeptide?	ウリ類 (種/属)	有	I. I.?	?	87
<i>Phytophthora infestans</i> (遊走子発芽液)	glucan, β -glucan	ジャガイモ (品種・種)	?	HR, superoxides, PA	原形質膜 NADPH-オキシダーゼ?	75
<i>P. infestans</i> (遊走子発芽液)	glucan?	トマトカルス (品種?)	?	HR, PA	?	88
<i>P. megasperma glycinea</i> (培養濾液)	mannan-glycoprotein (invertase)	ダイズ (品種)	?	PA	?	82
<i>Uromyces phaseoli</i> var. <i>typica</i> (Infection structure)	?	インゲン (種)	有?	silicon-deposit	?	81

表からは植物体内に見出されたサプレッサーや毒素は除いた。

図 1 エンドウ褐紋病菌の生産するサプレッサー

いて、褐紋病菌シグナルとエンドウ組織を例に述べてみたい。エンドウの葉や上胚軸組織に傷を与え、褐紋病菌エリシター (柄孢子発芽液中に分泌される分子量約7万, Glc, Man を含む多糖類) で処理すると、6~9時間後にはエンドウの主なファイトアレキシンであるピサチンの蓄積が始まる。これに先立って、1時間以内に、ピサチン生合成系の鍵酵素であるフェニルアラニンアン

モニアラーゼ (PAL) やカルコン合成酵素の mRNA の蓄積が誘導され、さらに、3時間後には PAL の活性が増高する⁽⁵⁾。しかしながら、サプレッサー (発芽液中に分泌され、suppressin A と B を含む) の共存下には、これらの応答は3時間以上遅れることがわかった。これらの結果は、褐紋病菌シグナルが防御応答を遺伝子発現レベルから制御していることを示している。褐紋病菌サ

プレッサーは、エリシター処理エンドウ組織における PR タンパク質 (endo- β -1,3-glucanase や endochitinase) の活性増加も遅延させる。しかし、サブプレッサーは、ササゲ、インゲン、ダイズなど褐紋病菌の非宿主組織にエリシターで誘導される防御応答 (ファイトアレキシン生産や PR タンパク質の活性増加) を抑制できないだけでなく、逆にサブプレッサー単独でこれらの防御応答を誘導した。すなわち、褐紋病菌サブプレッサーは非宿主組織にはエリシターとして作用する⁽⁶⁾。

サブプレッサーは宿主植物に壊死を誘導せず、また、防御応答を遅延させる点からみても毒素とは考えにくい。しかし、宿主特異的毒素においても、宿主の防御応答を抑制することが次第に明らかとなっている (甲元・尾谷氏のレビュー参照)。したがって、「病原菌は宿主の膜系に存在するホメオスタシス、エネルギー生産や情報伝達にかかわる基本的な代謝系を攪乱する物質を感染に先立って生産・分泌することによって、宿主の抵抗性の発現を回避して、感染に成功する」⁽³⁾ と考えられるであら

う。

3. 防御応答に至る情報伝達と病原菌シグナル

エンドウ組織の遺伝子応答から考えるならば、褐紋病菌シグナルは、遺伝子発現に至る認識から情報伝達の過程に作用することが予想された。胚軸組織や水性 2 層分配法で調製した原形質膜を用いて、防御応答に関与する情報伝達系を検索したところ、ポリホスホイノシチド代謝系 (PI 代謝系) が浮かび上がった。エンドウ上胚軸をエリシターで処理すると 5 秒以内にホスファチジルイノシトール 2 リン酸 (PIP_2) の増加が起こり、30 秒および 10 分以内に 2 相性の IP_3 の増加が認められた⁽⁷⁾。エリシターは原形質膜内在性のホスファチジルイノシトール (PI) やホスファチジルイノシトール 1 リン酸 (PIP) のリン酸化酵素の活性を 5 秒以内に上昇させた⁽⁸⁾。一方、サブプレッサー共存下にはこれら PIP_2 や IP_3 の増加や PI・PIP リン酸化酵素の活性上昇は顕著に阻害された。エンドウ組織の防御応答を抑制するネオマイシン、バナジン酸、K 252a などの薬剤によっても PIP のリ

図 2 エンドウ防御応答にかかわる病原菌シグナル伝達の推定経路。実線は実際にエリシターで活性化しサブプレッサーで抑制される系、点線はその可能性のある系を示した。RS, サブプレッサー受容体; RE, エリシター受容体; PI-K, ホスファチジルイノシトールリン酸化酵素; PIP-K, ホスファチジルイノシトール 1 リン酸リン酸化酵素; PKC, プロテインキナーゼ C; PLC, ホスホリパーゼ C; PLA, ホスホリパーゼ A; lyso-PA, リゾホスファチジン酸; DAG, ジアシグリセロール; IP_3 , イノシトール 3 リン酸; LOX, リボキシゲナーゼ。

ン酸化は顕著な阻害を受けた^(7,8)。また、ホスホリパーゼCの産物の1つである DAG をエンドウ組織に与えると、エリシター刺激はなくともピサチンの生産が誘導された⁹⁾。ダイズ、ニンジンの培養細胞系やイネ組織においてもイノシトールリン酸代謝系と防御応答の関連が明らかにされており^(10~12)、これらの結果を総合すれば、防御応答に至る情報伝達系に PI 代謝系が深くかかわっていることは間違いのないであろう。

また、エリシター処理エンドウ組織ではリゾ型の PIP やホスファチジン酸も増加し、サプレッサー共存下ではこれらの生成も抑制される⁽¹³⁾。この結果は、ホスホリパーゼAも PI 代謝系と同調的に制御を受けることを示している。得られた結果をもとに、エンドウにおける防御応答にかかわる情報伝達系のスキームを図2に示した¹³⁾。

4. 今後の研究

今後の研究の焦点の1つは、これら病原菌シグナルの受容体の分離と機能の解明であろう。紙面の都合上、詳細な論議は行えないが、原形質膜上にエリシター結合タンパク質が存在することは明らかとなっており^(14,15)、これらのクローニングも進められている。また、昨年開催された国際植物分子生物学会議において抵抗性遺伝子産物が次々と明らかにされ、あるものは、動物細胞の成長因子レセプターがチロシンキナーゼ活性を持つようにセリン/スレオニンリン酸化ドメインを持つことも示されている。一方、サプレッサーは原形質 ATPase を阻害し^(16~19)、これとクロストークする PI 代謝系を阻害すると考えられているが⁽¹³⁾、最近になって特異的な受容体が細胞壁にある可能性が指摘された⁽²⁰⁾。今後の研究の進展が待たれるところである。今までベールに覆われていた特異性決定の仕組みが次第に見え始めてきている。

本稿は、奥 八郎名誉教授・専攻生諸氏との共同研究によるものであり、記して深謝したい。また、研究の一部は文部省科学研究費補助金に拠った。

- (1) H. Oku : *Proc. Jpn. Acad. Ser. B*, **56**, 367—371 (1980).
- (2) 白石友紀, 山田哲治 : 植物細胞工学, **5**, 16—22 (1993).
- (3) T. Shiraishi, T. Yamada, H. Oku, and H. Yoshioka : in "Molecular Strategies of Pathogens and Host Plants," ed. by S. S. Patil

et al., Springer-Verlag, New York, 1991, pp. 151—162.

- (4) T. Shiraishi, K. Saitoh, H.-M. Kim, T. Kato, M. Tahara, H. Oku, T. Yamada, and Y. Ichinose : *Plant Cell Physiol.*, **33**, 663—667 (1992).
- (5) T. Yamada, H. Hashimoto, T. Shiraishi, and H. Oku : *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **2**, 256—261 (1989).
- (6) H. Yoshioka, T. Shiraishi, K. Nasu, T. Yamada, Y. Ichinose, and H. Oku : *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, **58**, 405—410 (1992).
- (7) K. Toyoda, T. Shiraishi, Y. Ichinose, T. Yamada, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **34**, 729—735 (1993).
- (8) K. Toyoda, T. Shiraishi, H. Yoshioka, T. Yamada, Y. Ichinose, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **33**, 445—452 (1992).
- (9) 小山昌志, 水越留美, 吉岡博文, 豊田和弘, 瀬勇規, 山田哲治, 白石友紀 : 日植病報, **60**, 315 (1994).
- (10) F. Kurosaki, Y. Tsurusawa, and A. Nishi : *Plant Physiol.*, **85**, 601—604 (1987).
- (11) M. R. Stab and J. Ebel : *Arch. Biochem. Biophys.*, **257**, 416—423 (1987).
- (12) H. Kanoh, M. Haga, M. Iwata, and Y. Sekizawa : *J. Pestic. Sci.*, **18**, 299—308 (1993).
- (13) T. Shiraishi, T. Yamada, K. Toyoda, T. Kato, H.-M. Kim, Y. Ichinose, and H. Oku : in "Host-Specific Toxin : Biosynthesis, Receptor and Molecular Biology," ed. by K. Kohmoto and O. C. Yoder, Tottori Univ. Press, Tottori, 1994, pp. 169—182.
- (14) M. Yoshikawa, N. T. Keen, and M. C. Wang : *Plant Physiol.*, **73**, 497—506 (1983).
- (15) E. G. Cosio, T. Frey, and J. Ebel : *FEBS Lett.*, **264**, 235—238 (1990).
- (16) H. Yoshioka, T. Shiraishi, T. Yamada, Y. Ichinose, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **31**, 1139—1146 (1990).
- (17) T. Shiraishi, M. Araki, H. Yoshioka, I. Kobayashi, T. Yamada, Y. Ichinose, H. Kunoh, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **32**, 1067—1075 (1991).
- (18) H. Yoshioka, T. Shiraishi, S. Kawamata, K. Nasu, T. Yamada, Y. Ichinose, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **33**, 201—204 (1992).
- (19) T. Kato, T. Shiraishi, K. Toyoda, K. Saitoh, M. Tahara, T. Yamada, and H. Oku : *Plant Cell Physiol.*, **34**, 439—445 (1993).
- (20) A. Kiba, K. Toyoda, Y. Ichinose, T. Yamada, and T. Shiraishi : *Plant Cell Physiol.*, **35** (Suppl.), s 65 (1994).