ジャスモン酸とファイトアレキシン†

山 根 久 和

(東京大学生物生産工学研究センター)

Key words: jasmonic acid; phytoalexins; elicitors; plant defence mechanisms; secondary metabolites

1. はじめに

植物は動物のような免疫系をもたないが、カビ、細菌、ウィルスなどの病原体の感染を受けた場合、種々の生体防御反応を示し生存を図っている。このような植物の生体防御反応を誘導するものを一般にエリシターと呼ぶ。病原体の感染を受けた植物では、病原体や植物の細胞表層由来の断片などがエリシターとなって(これら生物起源のエリシターを biotic elicitor と呼ぶ)ファイトアレキシンのような抗菌物質、リグニン、PR (pathogenesis-related) タンパク質などの合成を誘導することが示されている。なお、紫外線や重金属など生物起源でないものがエリシターとして機能する場合があり、これらは abiotic elicitor と呼ばれている⁽¹⁾。

近年、オーキシシン、ジベレリン、サイトカイニン、アブシジン酸、エチレン、ブラシノステロイドに続く第7の植物ホルモンと考えられているジャスモン酸(JA)が植物の培養細胞におけるエリシター誘導の二次代謝産物の生産においてシグナル伝達物質として機能している例が数多く報告されている^(2~4)。これらの二次代謝産物は、ファイトアレキシンおよびその関連物質であることが少なくないことから、無傷植物においてもエリシター誘導のファイトアレキシン生産にはJAがシグナル伝達物質として機能している可能性が高いものと考えられる。また、傷害によってもJAの生合成が誘導され、その結果、プロテイナーゼインヒビター、PR タンパク質、二次代謝産物の誘導など

種々の反応が引き起こされることが示されている^(5~8)。

以上のようにJAは植物における病傷害刺激の伝達物質として種々の生体防御反応を制御していると考えられるが、本稿では、JAとファイトアレキシンおよびその関連物質の生産との関連に焦点を絞って、現在までに得られている知見を紹介する。なお、タバコでは、タバコモザイクウィルスに感染して壊死病斑ができるような場合、シグナル伝達物質としてサリチル酸、JAが機能して生体防御反応を誘導すること(そのシグナル伝達系には、サイトカイニン、アブシジン酸、エチレンなどの関与も示唆されている)、さらにその際サリチル酸とジャスモン酸の間にクロストークがあることなど興味深い事象が明らかにされているが、それらについては、他に優れた総説⁽⁶⁾があるのでそれを参照していただきたい。

2. ジャスモン酸によるファイトアレキシン生産の誘導

1992年 Gundlach らは、数種の植物培養細胞において、エリシター(この場合、酵母の細胞壁分解物が用いられた)処理でもジャスモン酸メチルエステル(JAMe)処理でも同様の二次代謝産物の生産が誘導されることを見いだした⁽²⁾。さらに、*Rauvolfia canescens* 培養細胞ではエリシター処理した場合、二次代謝産物の生産に先立ってJA内生レベルが極大を示すこと、ダイズ培養細胞ではJAMe処理により二次代謝産物生合成系の鍵酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ、およびそのmRNAレベルが増大することを示し、JA類がこれらの植物細胞におけるエリシター誘導の二次代謝産物生産においてシグナル伝達物質として機能していると考察した⁽²⁾。JA類によるこのような二次代謝産物の誘導例は、表1に示すように、他の広範囲の植物(裸子植物、単子葉、双子葉植物)において認められた。また、表2に示すように、*R. ca-*

† Involvement of Jasmonic Acid in Phytoalexin Production in Higher Plants
Hisakazu YAMANE (Biotechnology Research Center, The University of Tokyo)

表 1 植物培養細胞においてジャスモン酸 (JA) 処理により生産誘導された二次代謝産物
12-Oxo-PDA, 12-oxo-phytodienoic acid; 3-IMG, 3-indolylmethyl glucosinolate.

植物種	処理に用いた JA 類 (植物材料)	二次代謝産物	文献
<i>Brassica napus</i>	JA/JAMe (子葉, 葉)	3-IMG	(7)
<i>Brassica napus</i>	JAMe (葉)	3-IMG, 1-methoxy-3-IMG	(8)
<i>Brassica rape</i>	JA (子葉, 葉)	4-Hydroxy-3-IMG	(7)
<i>Brassica juncea</i>	JA (子葉, 葉)	3-IMG, 4-hydroxy-3-IMG	(7)
<i>Catharanthus roseus</i>	JAMe (芽ばえ)	Vindoline, tabersonine, catharanthine	(9)
<i>Centrium erythraea</i>	JAMe (培養細胞)	1-Hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxyxanthone	(10)
<i>Centrium littorale</i>	JAMe (培養細胞)	1-Hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxyxanthone	(10)
<i>Cinchona ledgeriana</i>	JAMe (芽ばえ)	Chinchonine, dihydrochinchonine	(9)
<i>Crotolaria cobalticola</i>	JAMe (培養細胞)	Isobavachalcone	(2)
<i>Eschscholtzia californica</i>	JAMe (培養細胞)	Benzo[c]phenanthridine alkaloids	(2)
<i>Glucine max</i>	JAMe (培養細胞)	Genistein	(2)
<i>Glycine max</i>	JAMe (芽ばえ)	Anthocyanins	(11)
<i>Lactuca sativa</i>	JAMe (培養細胞)	Lettucenin A	(2)
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	JAMe (培養細胞)	Rosmarinic acid	(12)
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	JA/JAMe (培養細胞)	Shikonin, dihydroechinofuran	(13)
<i>Oryza sativa</i>	JA (培養細胞)	Momilactone A	(4)
<i>Oryza sativa</i>	JA (葉)	Sakuranetin, momilactone A	(14)
<i>Oryza sativa</i>	Amino acid conjugates of JA (葉)	Sakuranetin	(15)
<i>Petroselinum crispum</i>	12-Oxo-PDA (培養細胞)	Apiin	(16)
<i>Rauvolfia canescence</i>	JAMe (培養細胞)	Raucaffricine	(2)
<i>Rubia tinctorum</i>	JAMe (培養細胞)	Rubiadin	(2)
<i>Ruta chalepensis</i>	JAMe (培養細胞)	Rutacridone	(2)
<i>Solanum tuberosum</i>	JAMe (培養細胞)	Steroid glycoalkaroids	(17)
<i>Taxus cuspidata</i>	JAMe (培養細胞)	Taxol	(18)

表 2 エリシター処理により内生ジャスモン酸量が増加する例

植物種	植物材料	文献
<i>Agrostis tenuis</i>	培養細胞	(3)
<i>Eschscholtzia californica</i>	培養細胞	(3)
<i>Oryza sativa</i>	培養細胞	(4)
<i>Oryza sativa</i>	葉	(14)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	培養細胞	(3)
<i>Rauvolfia canescence</i>	培養細胞	(2)
<i>Taxus baccata</i>	培養細胞	(3)

nescens だけでなく他の植物においてエリシター処理後に内生 JA レベルが極大を示すことも明らかにされた。なお、エリシター処理により誘導される JA の大部分は、以下の実験結果に基づき、酢酸残基と C5 側鎖が *cis* である形で存在しているものと考えられている⁽³⁾。*cis*-JA は、2 位の C5 側鎖が精製過程で容易に反転し、*trans* 型の JA と約 1:9 の比で平衡状態になるが、エリシター処理した細胞の内生 JA の *cis/trans*

の比は、反転になるべく起こらないように注意深く精製・分析したところ、3:1~1:1 であった。一方、コントロールの植物細胞における内生 JA の *cis/trans* の比は 1:9 で平衡比と同じであった。このことは、*cis* 型で生合成された JA が、コントロールの植物細胞ではすでに *cis/trans*, 1:9 の平衡状態になっていることを示すものと考えられる。*cis*-JA は、種々の生物検定系において *trans* 型の JA より高活性であることが示されており⁽¹⁹⁾、ファイトアレキシン生産の誘導においても、活性型の JA として機能している可能性が高いものと考えられる。

植物のファイトアレキシン生産において、興味深い点の一つは、刺激の種類によって生産される物質が異なる場合があることである。例えば、セイヨウアブラナ (*Brassica napus*) の葉において JAMe 処理では 1-methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate が主に誘導されたが、サリチル酸処理では主に 2-phenylethyl glucosinolate が誘導された⁽²⁰⁾。ジャガイモの塊茎デ

イスクにおいては、病原菌 *Phytophthora infectans* 由来のエリシターであるアラキドン酸処理により、ri-shitinin や lubimin などのセスキテルペノイドのファイトアレキシンが誘導されたが、JAMe 処理によって streroid glycoalkaloids が誘導され、*P. infectans* への抵抗性を賦与するファイトアレキシンの誘導は認められなかった (JA/JAMe 処理によりプロテイナーゼインヒビターの誘導は認められる)⁽¹⁷⁾。また、ダイズ (*Glycine max*) の子葉において JAMe は、光照射下で malonylglucosyl genistein (MGG), グルカンエリシター存在下では malonylglucosyl daidzein (MGD) の集積を促進した⁽²¹⁾。以上のように、誘導条件の違いによって異なる二次代謝産物が生産されることが明らかになった、このことがいかなる生理学的な意味を有するかを解明することは今後の課題である。

ところで、上述したように、ダイズ子葉においては JAMe により MGG や MGD の生産が促進されたが、JAMe 単独で処理した場合、それらの生産誘導効果は極めて微弱であった。一方バセリの培養細胞においては、JAMe は *Phytophthora sojae* 由来のエリシターに誘導されるクマリン生産を著しく促進した⁽²²⁾。これらの事実に基づいて、Graham らは JA 類はエリシターの共力物質 (synergists) であって、シグナル伝達物質ではない可能性もあると考察した⁽²¹⁾。筆者らのイネ培養細胞を用いた実験系でも、JA 単独処理では誘導されるファイトアレキシン (momilactone A) のレベルは低く、エリシターによって誘導されるレベルの数分の一にすぎなかった。しかしながら、エリシター処理による momilactone A の生産誘導は、JA の生合成阻害剤 (リポキシゲナーゼ阻害剤) であるイブプロフェン処理により阻害され、その阻害はイブプロフェンと JA (10^{-4} M) を同時処理することにより完全に解除された。また、その際の momilactone A の生産量は、エリシター単独処理の場合の数倍にも達していた。さらに、エリシター処理したイネ培養細胞における JA 内生量の変動と momilactone A の生産量との関連を調べたところ、JA はエリシター処理後 30 分から増加し始め、2 時間後に極大を示し、培地中に分泌された momilactone A は処理後 8~10 時間にかけて増加し始めた。一方、JA (10^{-4} M) 処理によるモミラクトン A の生産は処理後 6~8 時間後に始まることが示された。すなわち、JA 処理の場合はエリシター処理の場合

より momilactone A の生産が約 2 時間早く誘導されており、この 2 時間の差はちょうどエリシター処理後イネ培養細胞の内生 JA レベルが極大を示すまでの時間に相当した。以上のようなイネ培養細胞を用いた実験結果は、JA がエリシターの共力物質ではなくエリシターシグナルの伝達物質として重要な機能を果たしていることを示している⁽⁴⁾。また、実験系によっては、エリシター処理は、単に JA 類の生合成を誘導するだけでなく、JA 類によるファイトアレキシン生産を促進強化しているものと考えられる。

3. おわりに

トマトやジャガイモなどでは、JA/JAMe は傷害誘導のシグナル伝達物質として機能し、プロテイナーゼインヒビターなどを誘導するが、ファイトアレキシンは誘導しない。したがって、これらの植物においては JA 類は傷害刺激の伝達物質として機能していると考えられている⁽²³⁾。また、タバコ、キュウリ、シロイヌナズナにおいては、サリチル酸が病原体感染のシグナル伝達物質として機能していることが示され⁽⁶⁾、植物種によっては、病原体感染と傷害刺激では異なるシグナル伝達系が機能していると考えられる。しかしながら、本稿で示すように多種類の植物で病原体の感染に起因するエリシターによりファイトアレキシンが誘導され、その際にエリシターシグナルの伝達物質として JA 類が機能していることが明らかになったことから、植物種によっては、JA 類が傷害刺激だけでなく病原体感染のシグナル伝達物質として機能しているものと考えられる。植物における種々の生体防御反応と JA 類との関連については、現在、多くの研究者が注目しており、JA 類によるファイトアレキシン生産の制御メカニズムについても今後急速に明らかになるものと期待される。

最後になりましたが、本稿をまとめるのに当たり、ご助言いただきました茨城大学農学部資源生物科学科児玉治教授に感謝致します。

- (1) 渋谷直人, 伊藤ユキ, 賀来華江: 植物の化学調節, **31**, 125-133 (1996).
- (2) H. Gundlach, M. J. Muller, T. M. Kutchan, and M. H. Zenk: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **89**, 2389-2393 (1992).
- (3) M. J. Muller, W. Brodschelm, E. Spannagl, and M. H. Zenk: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 7490-7494 (1993).

- (4) H. Nojiri, M. Sugimori, H. Yamane, Y. Nishimura, A. Yamada, N. Shibuya, O. Kodama, and T. Omori: *Plant Physiol.*, **110**, 387-392 (1996).
- (5) E. E. Farmer and C. A. Ryan: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 7713-7716 (1990).
- (6) 瀬尾茂美, 佐野 浩, 大橋祐子: 植物の化学調節, **32**, 37-48 (1997).
- (7) R. P. Bondnaryk: *Phytochemistry*, **35**, 301-305 (1994).
- (8) K. J. Doughty, G. A. Kiddle, B. J. Pye, R. M. Wallsgrove, and J. A. Pickett: *Phytochemistry*, **38**, 347-350 (1995).
- (9) R. J. Aerts, D. Gisi, E. De Carolis, V. De Luca, and T. W. Baumann: *Plant J.*, **5**, 635-643 (1994).
- (10) L. Beerhues and U. Berger: *Planta*, **197**, 608-612 (1995).
- (11) V. R. Franceschi and H. D. Grimes: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 6745-6749 (1991).
- (12) H. Mizukami, Y. Tabira, and B. E. Ellis: *Plant Cell Report*, **12**, 706-709 (1993).
- (13) K. Yazaki, K. Takeda, and M. Tabata: *Plant Cell Physiol.*, **38**, 776-782 (1997).
- (14) R. Rakwal, S. Tamogami, and O. Kodama: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1046-1048 (1996).
- (15) S. Tamogami, R. Rakwal, and O. Kodama: *FEBS Lett.*, **401**, 239-242 (1997).
- (16) H. Dittrich, T. M. Kutchan, and M. H. Zenk: *FEBS Lett.*, **309**, 33-36 (1992).
- (17) D. Choi, R. M. Bostock, S. Avdiushko, and D. F. Hildebrand: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **91**, 2329-2333 (1994).
- (18) N. Mirjalili and J. C. Linden: *Biotech. Prog.*, **12**, 110-118 (1996).
- (19) 山根久和: 植物ホルモンハンドブック (下), 高橋信孝, 増田芳雄編, 培風館, 1994, pp. 279-297.
- (20) R. N. Bennett and R. M. Wallsgrove: *New Phytol.*, **127**, 617-633 (1994).
- (21) T. L. Graham and M. G. Graham: *Plant Physiol.*, **110**, 1123-1133 (1996).
- (22) H. Kaus, K. Krause, and W. Jeblick: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **189**, 304-308 (1992).
- (23) Y. Cohen, U. Gisi, and T. Niderman: *Phytopathology*, **83**, 1054-1062 (1993).