

感染生理研究の展望

岡山大学農学部植物病理学研究室 おく 奥

はち 八 ろう 郎

はじめに

感染生理とは植物の感染の過程に関与する、植物病原の病原性、植物の抵抗性、病原と宿主の相互反応につき、生理、生化学、分子生物学的に研究する分野で、最近目まぐるしく発達しつつある。これらのうち、病原性、植物の病害抵抗性については、筆者の総説（奥，1991，92）があるので、誌面の関係上病原と宿主の相互反応とその機構について、筆者らの研究を含め、糸状菌における研究の現状と未来を展望する。

I 植物における防御反応誘発の機構

植物の病害抵抗性の本質は、微生物、ウイルスの侵入に対して積極的に反応して引き起こされる、一連の動的抵抗性（防御反応）にある。動的抵抗性によって生きた植物組織はほとんどの微生物、ウイルスの侵入を排除する。この防御反応の誘発機構が、現在、世界の感染生理学者の興味の中心となっている。

1 防御反応を誘発する物質、エリシター

ファイトアレキシン発見の当初より、その誘導蓄積は、病原菌の孢子発芽液、金属イオン、病原菌の毒素、代謝阻害剤、紫外線などにより誘導されることが知られていた。病原菌からファイトアレキシン誘導物質として部分純化したポリペプチドを分離したのは CRUICKSHANK と PERRIN (1968) であり、Monilicolin A と命名された。後になって多くの糸状菌の細胞壁成分である糖タンパクや種々の多糖類がファイトアレキシン生合成を誘導することが明らかにされた。

KEEN (1975) は、最初これらのファイトアレキシン蓄積を誘導する物質のことをエリシターと呼んだが、現在ではエリシターの定義はさらに広く、植物に過敏反応などの防御反応を引き起こす物質にも用いられている。ファイトアレキシンとエリシターについては DERVILL と ALBERSHEIM (1984) の総説がある。

エリシターは、大きく内的 (endogenous)、及び外的エリシター (exogenous elicitor) に分けられる。

内的エリシターは宿主植物由来のもので、例えば ASADA (1988) は、べと病に罹病したダイコンの細胞壁に木化を誘導する糖ペプチドを分離したが、これは健全なダイコンの細胞壁に不活性な形で存在するものが菌の感

染の刺激によって活性型となり、遊離してくるものであることを明らかにしている。

外的エリシターは、主として病原菌由来のもので、多くの病原菌から、ポリペプチド、多糖類、糖タンパク、タンパク-脂質-糖複合体、キトサン、さらにエICOSAペンタノイン酸、アラキドン酸などの不飽和脂肪酸が分離されている。

ほかに、KEEN と YOSHIKAWA (1983) は、ダイズと疫病菌の系において、ダイズの β -1,3-endoglucanase の作用によって疫病菌の細胞壁からエリシターが遊離してくることを報告している。

さらに、エリシターは特異的エリシターと非特異的エリシターに分けられる。

特異的エリシターは、病原菌のあるレースによって生産され、宿主の非親和性品種には抵抗反応を誘導するが、親和性品種には誘導しないか、しても弱い。インゲン炭そ病菌のレースは多糖類からなる特異的エリシターを生産する (ANDERSON, 1980; TEPPER and ANDERSON, 1986)。ダイズの β -1,3-endoglucanase によって、疫病菌の細胞壁から遊離されるグルカンエリシターも品種特異的であるという (KEEN and YOSHIKAWA, 1983)。

非特異的エリシターは、宿主植物のすべての品種、ときには非宿主植物にも抵抗反応を誘導する。AYERS ら (1976) がダイズ疫病菌の三つのレースから分離したグルカンエリシターには品種特異性はない。エンドウ褐紋病菌の孢子発芽液から分離した多糖類エリシターにも特異性はなく、また、キク花腐病菌、メロンつる枯病菌の生産する多糖類エリシターによってもエンドウにピサチンが誘導される (YAMAMOTO et al., 1986)。

2 宿主細胞によるエリシターの認識機構

宿主細胞によるエリシターの認識機構については、二つの仮説がある。その一つは、エリシターが直接宿主細胞核内の DNA に結合してファイトアレキシン生合成をつかさどる遺伝子の転写を活性化するという説である (HADWIGER and SCHWOCHAW, 1969)。この説は、DNA に結合することが知られているアクチノマイシン D や DNA に pyridine dimer を形成する紫外線がファイトアレキシンを誘導するという事実に基づいている (BRIDGE and KLARMANN, 1973)。しかしながら、多くの菌の生産する高分子エリシターが植物細胞内の核の中まで浸透していくとは考え難い。

もう一つの説は、植物の原形質膜にエリシターと結合

するリセプターが存在するというものである。事実、植物の原形質膜分画には放射性同位元素でラベルしたエリシターと特異的に結合する部位が存在する。ラベルしないエリシターによってその結合が阻害され、また、エリシター活性のない類似多糖類には結合能はない (SCHMIDT and EBEL, 1987; YOSHIKAWA et al., 1983, 88)。

宿主一病原体の接触場面では、後者の説のほうが可能性が高いと考えられるが、エリシターとリセプターの結合から、防御反応をつかさどる遺伝子の活性化までの機構については現在のところ不明である。多くの実験結果から、エリシターとリセプターの結合の結果できるいくつかのシグナル分子が関与しているものと考えられ、その詳細は世界の植物病理学者、生化学者の興味を中心であり、研究が進行中である。

植物の感染初期や、エリシター処理によってエチレンが生産され、また植物組織をエチレンで処理すると、ファイトアレキシン生成に関与するフェニールアラニン脱アンモニア酵素やカルコン合成酵素が活性化し、ハイドロキシプロリンに富む糖タンパクの合成も活性化される (ECKER and DAVIS, 1987)。反対に、感受性の組合せにおいてエチレンが生産されるという報告もある (GENTILE and MATTA, 1975)。培養細胞を用いた実験では、 Ca^{2+} がエリシターで誘導される抵抗性に関与しているといわれる (SCHEEL and PARKER, 1990; STAB and EBEL, 1987) が、組織レベルでは Ca^{2+} はエンドウのシグナル伝達に関与していないとする報告もある (KENDRA and HADWIGER, 1987; SHIRAIISHI et al., 1991b)。

我々の研究室では、エンドウの抵抗反応の発現にタンパクリン酸化酵素 (SHIRAIISHI et al., 1990) や膜脂質のリン酸化 (TOYODA et al., 1992) が関与していることを明らかにした。しかしながら、これらがいかに関連しあって抵抗性遺伝子を活性化するかは今後に残された重要な課題であろう。いずれにしても、エリシターとリセプターが結合した結果、なんらかのシグナル因子が生産され、いくつかの段階を経て真性抵抗性遺伝子が活性化され、その産物である第二のシグナル因子が、*cis*-に、あるいは *trans*-にファイトアレキシン生成を含めた抵抗性発現に関与する多くの酵素をコードする遺伝子を活性化するのであろう (図-1)。事実、エリシター処理後非常に短時間内にファイトアレキシン生成に関与する PAL-, CHS-, CHI-遺伝子が一斉に活性化してくることが Northern blot hybridization によって証明されている。

II 親和性病原菌による宿主の抵抗反応誘発の抑止

植物体内に侵入した病原の第二の重要な仕事は、上述の幾重もの宿主の抵抗性をいかにして回避するかである。

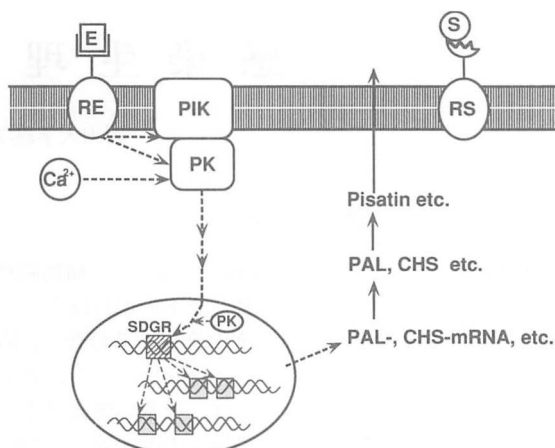
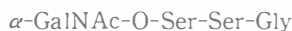


図-1 防御反応発現の図解

E: エリシター, RE: エリシターのリセプター, S: サブレッサー, RS: サブレッサーのリセプター, PK: タンパクリン酸化酵素, PIK: フォスファチジルイノシトールキナーゼ, []: 防御反応に関与する遺伝子, SDGR []: 真性抵抗性遺伝子

植物に親和性の病原菌を接種すると、感染細胞付近にもともと非親和性の、ときにはその植物の非病原菌が感染できることが 1970 年代から多く証明された (KUNOH et al., 1988; OKU and OUCHI, 1976; OUCHI et al., 1974a, b; TSUCHIYA and HIRATA, 1973; VERNIS and KUĆ, 1971)。このことは、親和性の病原菌は自身の宿主の抵抗反応発現を抑止する機構を有することを示している。

抵抗性発現の研究例に比べるとその数は多くないが、病原菌が宿主の抵抗性発現を抑止する物質を生産することが知られており (DOKE et al., 1980; KESSMANN and BARZ, 1986; OKU et al., 1987; OKU et al., 1980; SHIRAIISHI et al., 1991; SORTI et al., 1988; ZIEGLER and PONTZEN, 1982), それらの物質はサブレッサーと呼ばれている。ジャガイモ疫病菌の生産するサブレッサーはレース品種間に特異性があるという (GARAS et al., 1979)。筆者らが、エンドウ褐紋病菌の胞子発芽液から分離したサブレッサーは、糖ペプチドであり、最近その二種類の化学構造が決定された (SHIRAIISHI et al., 1992)。それらは、次のような化学構造を有し、それぞれを、サブレスチン A, サブレスチン B と呼んでいる。



サブレスチン A



サブレスチン B

サブレスチン B はエンドウのピサチン合成を阻害するほか、原形質膜のプロトンポンプ ATPase を阻害する。*in vitro* においては、サブレスチン B の阻害効果に特異性はみられない、すなわち、エンドウ以外の植物の ATPase をも阻害するが、組織レベルにおいてはエンド

ウのATPaseのみを阻害することが、電顕を用いた鉛沈殿法により確かめられた (SHIRAIISHI et al., 1991a)。エンドウには病原性のないキク花腐病菌もサプレスチン B とともに接種するとエンドウに感染する。

サプレスチン A にはピサチン生合成阻害作用はあるが、原形質膜 ATPase を阻害しない。ただし、エリシターと共存すると ATPase を阻害する。

化学合成したサプレスチン B のペプチド部分も ATPase を阻害するが、その活性は B に比較して弱い。その理由は、サプレスチン B はペプチドと糖の結合部を底に V 字型をしていて、その底の部位が強い+チャージを帯び、-にチャージした原形質膜と電気的に結合しやすいためと考えられる (OKU et al., 1992)。

宿主特異的毒素にも毒素として働く前に、サプレッサーと同様、宿主の抵抗反応発現を抑制する時期がある (甲元, 1990)。筆者の考えでは、一つの分子でサプレッサーと毒素の二つの機能を備えたものが宿主特異的毒素であろう。

III 今後の課題

まず、エリシターが真性抵抗性遺伝子を活性化するまでの情報伝達の詳細な機構が、今後も世界の学者の興味の中心であろう。また、真性抵抗性の遺伝子の本体を明らかにすることが重要である。そのためには、transposon tagging 法も一つの有効な手段であろう。古典的な遺伝学的手法によって染色体上の位置まで決定されているこれらの遺伝子の正体が、いまだに明らかにされていないことを奇異に感ずる。

次に、抵抗性の機構に関する研究が多いのに比べ、病原性の機構に関する研究例が少ない。サプレッサーは他の多くの病原菌の戦略として役立っていると思われる。感染生理学の究極の目的も病害防除にあるので、病原菌の正体をさらによく知ることが重要である。さらに、全身誘導抵抗性の機構を明らかにし、それに関与する物質を同定すれば、無公害農薬が開発される可能性が高い。病害抵抗性品種の作出に、遺伝子工学の手法が役立つであろうことはいうまでもない。

現今は、一人の秀才の力で学問を大きく発展させる時代ではない。感染生理学の進歩も他の分野の専門家といかにうまく共同研究の体制を組むかによるであろう。

引用文献

- 1) ANDERSON, A. J. (1980) : Can. J. Microbiol. 26: 1473~1479.
- 2) ASADA, Y. (1988) : Abstr. 5th ICPP, Kyoto, pp. 216.
- 3) AYARS, A. R. et al (1976) : Plant Physiol. 57: 766~774.
- 4) BRIDGE, M. A. and W. L. KLARMANN (1973) : Phytopathology 63: 606~608.
- 5) CRUICKSHANK, I. A. M. and D. R. PERRIN (1968) : Life

- Sci. 7: 449~458.
- 6) DERVILL, A. G. and P. ALBERSHEIM (1984) : Ann. Rev. Plant Physiol. 35: 243~275.
- 7) DOKE, N. et al. (1980) : Phytopathology 70: 35~39.
- 8) ECKER, J. R. and R. W. DAVIS (1987) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5202~5206.
- 9) GARAS, N. A. et al. (1979) : Physiol. Plant Path. 15: 117~126.
- 10) GENTILE, A. and A. MATTA (1975) : Physiol. Plant Path. 5: 27~35.
- 11) HADWIGER, L. A. and M. E. SCHWOCHAW (1969) : Phytopathology 59: 223~227.
- 12) KEEN, N. T. (1975) : Science 187: 74~75.
- 13) ——— and M. YOSHIKAWA (1983) : Plant Physiol. 71: 460~465.
- 14) KENDRA, D. F. and L. A. HADWIGER (1987) : Physiol. Plant Path. 31: 337~348.
- 15) KESSMANN, H. and W. BARZ (1986) : J. Phytopath. 117: 321~335.
- 16) 甲元啓介 (1990) : 植物感染生理学, 西村正陽, 大内成志編, 文永堂, 東京, 172 pp.
- 17) KUNOH, H. et al. (1988) : Physiol. Mol. Plant Path. 33: 81~93.
- 18) 奥 八郎 (1991) : 農薬誌 16: 109~114.
- 19) ——— (1993) : 岡山大農学報 81: 51~59.
- 20) OKU, H. and S. OUCHI (1976) : Rev. Plant Prot. Res. 9: 58~71.
- 21) ——— et al. (1987) : Molecular Determinants of Plant Diseases (Nishimura, S. et al. eds.), pp. 145, Japan Sci. Press, Tokyo/Springer Verlag, Berlin.
- 22) ——— et al. (1980) : Naturwissenschaften 67: 310~311.
- 23) ——— et al. (1992) : Abstr. 2nd EFPP Conference, Strasbourg, p. 12.
- 24) OUCHI, S. et al. (1974a) : Phytopath. Z. 79: 24~34.
- 25) ——— et al. (1974b) : Phytopath. Z. 79: 142~154.
- 26) SCHEEL, D. and J. E. PARKER (1990) : Z. Naturforsch. 45c: 569~578.
- 27) SCHMIDT, W. E. and J. EBEL (1987) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 4117~4121.
- 28) SHIRAIISHI, T. et al. (1991a) : Plant Cell Physiol. 31: 1139~1146.
- 29) ——— et al. (1990) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 56: 261~264.
- 30) ——— et al. (1992) : Plant Cell Physiol. 33: 663~667.
- 31) ——— et al. (1991b) : Molecular Strategies of Pathogen and Host Plants (PATIL, S. et al. eds.) pp. 151, Springer-Verlag, New York.
- 32) STAB, A. R. and J. EBEL (1987) : Arch. Biochem. Biophys. 257: 416~423.
- 33) TEPPER, C. S. and A. J. ANDERSON (1986) : Physiol. Mol. Plant Path. 24: 411~420.
- 34) TOYODA, K. et al. (1992) : Plant Cell Physiol. 33: 445~452.
- 35) TSUCHIYA, K. and K. HIRATA (1973) : Ann. Phytopath. Soc. Japan 39: 396~403.
- 36) VERNIS, J. L. and J. KUĆ (1971) : Phytopathology 61: 178~181.
- 37) YAMAGUCHI, I. et al. (1982) : J. Pestic. Sci. 7: 523~529.
- 38) YAMAMOTO, Y. et al. (1986) : J. Phytopath. 117: 136~143.
- 39) YOSHIKAWA, M. et al. (1983) : Plant Physiol. 73: 497~506.
- 40) ——— et al. (1988) : Abstr. 5th ICPP, Kyoto, pp. 216.
- 41) ZIEGLER, E. and R. PONTZEN (1982) : Physiol. Plant Path. 20: 321~331.