

# 植物の病害虫防衛戦略：免疫(1)

東京農業大学総合研究所 <sup>みつ</sup> 井 <sup>い</sup> <sup>たかし</sup> 香

植物は、病害虫の攻撃に対していろいろな機能を発揮してこれに応戦する。まず第一は、植物に遺伝的に備わった抵抗性機構で、感染あるいは食害部位で各種酵素活性を高め、活性酵素を発生して病原体や害虫に耐性を示す。第二は感染や食害を受けた部位の周辺で直ちに達成される防御機構で、それ以上の害を受けないようにするものである。これには、細胞壁や表皮の強化、ファイトアレキシンのような抗菌性物質の合成、摂食忌避物質や天敵を誘引するSOS物質などの二次代謝産物の生産があり、このような部分的な抵抗性は比較的早く達成される。第三で最終の段階は、PRタンパク質(感染特異的タンパク質、Pathogenesis Related Proteins、で抗菌作用を持つ)やProteinase inhibitors(タンパク質消化酵素の阻害剤で、昆虫などの消化作用を弱める)のような遺伝子産物の合成で、比較的ゆっくり達成され、感染あるいは食害部位のみならず全植物で、時によっては他個体まで、引き起こされる抵抗性である。ここでは遺伝子産物の合成とそのメカニズムについて解説する。

## I 全身獲得抵抗性 (Systemic Acquired Resistance, SAR)

動物では、抗原-抗体反応に基づく免疫機構が病気の防御に働いていることはよく知られているが、植物もこれと同じように病原菌や害虫に対して免疫を獲得して病害虫に抵抗する。植物が病原菌の感染を受けて生き延びると、その後の感染に対して抵抗性を持つようになることは、100年も前に認識されていた。CHESTER (1933) は、これらの現象を整理し、Physiological Acquired Immunityと名づけた。しかし、Physiological Acquired Immunityには少なくとも三つの異なる過程が含まれていた。すなわち、ウイルスのcross protection(弱毒ウイルス)、カビと細菌のantagonismと、ここに述べる全身獲得抵抗性である。1982年、VAN LOONは植物が病原菌の感染を受けると、植物細胞内にPRタンパク質が蓄積し、これが抵抗性と関連している

ことを生化学的に証明した。その後、植物が病原菌や害虫の攻撃を受けたとき、植物が潜在的に持っている遺伝子を発現して、その産物で発揮される抵抗性を全身獲得抵抗性、Systemic Acquired Resistance (SAR)、と定義することが提唱された (RYALS et al., 1994)。病原体のSARは、感染を受けた部位にネクロシスを起こした後に発現し、植物全体に広い範囲にわたって病原微生物に対する耐性を高める。例えば、ネクロシスを起こさせるウイルスで誘導される抵抗性は、感染2~3日後に未感染組織に現れる。そして、数週間抵抗性は続き、病原体から身を守る。昆虫の食害に対するSARは、病原体に対するSARほどよく研究されていないが、そしゃく口昆虫による食害でproteinase inhibitorsが誘導されることが観察された。しかし、食害で誘導されるSARは特異性がなく、機械的損傷によっても誘導されることが示されている。(GREEN and RYAN, 1972)。

病原体が誘導するSARは、PRタンパク質といわれる少なくとも五つのファミリーのタンパクが部分的に、あるいは全身に現れることと関連している。これが現れる組織の位置、出現のタイミング、機能(例えば、病原体の細胞壁を消化するキチナーゼやグルカナーゼは、PRタンパク質の一種である)から考えて、PRタンパク質は抵抗性の原因であると考えられている。昆虫が食害して全身に誘導されるタンパク質は物理的損傷でも誘導される。そのうち、proteinase inhibitorsは最もよく研究されたタンパク質で、昆虫の消化機能を抑制することによって抵抗性となる。ここで起こる第一の疑問は、感染や食害を受けた部位から遠く離れた組織がどのようにして抵抗性を得るか? ということである。動物と違って植物は、病原耐性物質やタンパクを細胞や他の器官に大量輸送する循環系がない。そこで植物は、植物体中を移動可能なシグナル物質を利用して、感染または食害部位から健全部位へ情報を伝えているのである。このシグナル物質は、低濃度で感染や食害を受けていない部位に抵抗性メカニズムを活性化させることができる分子で、次のような条件を満たさなければならない。

①植物によって合成される。②攻撃を受けると全身に増加する。③植物中を移動する。④防御関連タンパクや化学物質生産を誘導する。⑤その産物は病害虫耐性を示す。

Defensive Strategies of Plants Against Pathogens and Insects: Systemic Acquired Resistance (1). By Takashi MITSUI

(キーワード: 全身獲得抵抗性, PRタンパク質, 過敏反応, サリチル酸, nahG遺伝子)

これらの条件を満たす分子として、サリチル酸 (Salicylic acid), システミン, ジャスモン酸 (Jasmonic acid), ジャスモン酸メチル (Methyl jasmonate), エチレンなどが現在知られているので、これらの分子によるシグナル伝達経路について、ENYEDIら (1992) によるレビューを参考に、以下に述べる。

## II サリチル酸 (Salicylic acid, SA)

サリチル酸は、単子葉、双子葉植物に広く分布する。Salicylates を多く含む植物が病虫害からの治癒力が高

いことは、古くから知られているが、SA が全身獲得抵抗性に関与する機能を持つことがわかったのは、ごく最近のことである。

図-1 に示すように、植物は SA を cinnamic acid から合成する。Cinnamic acid は、Phenylalanine から酵素、Phenylalanine-ammonia lyase (PAL), の作用によって生じる。PAL は、生物的、非生物的ストレスによって活性化され、防御機能を持つフェノールやリグニンの生産のカギを握る重要な酵素である (MAUCHMANI and SLUSARENKO, 1996)。全身獲得抵抗性がサリチ

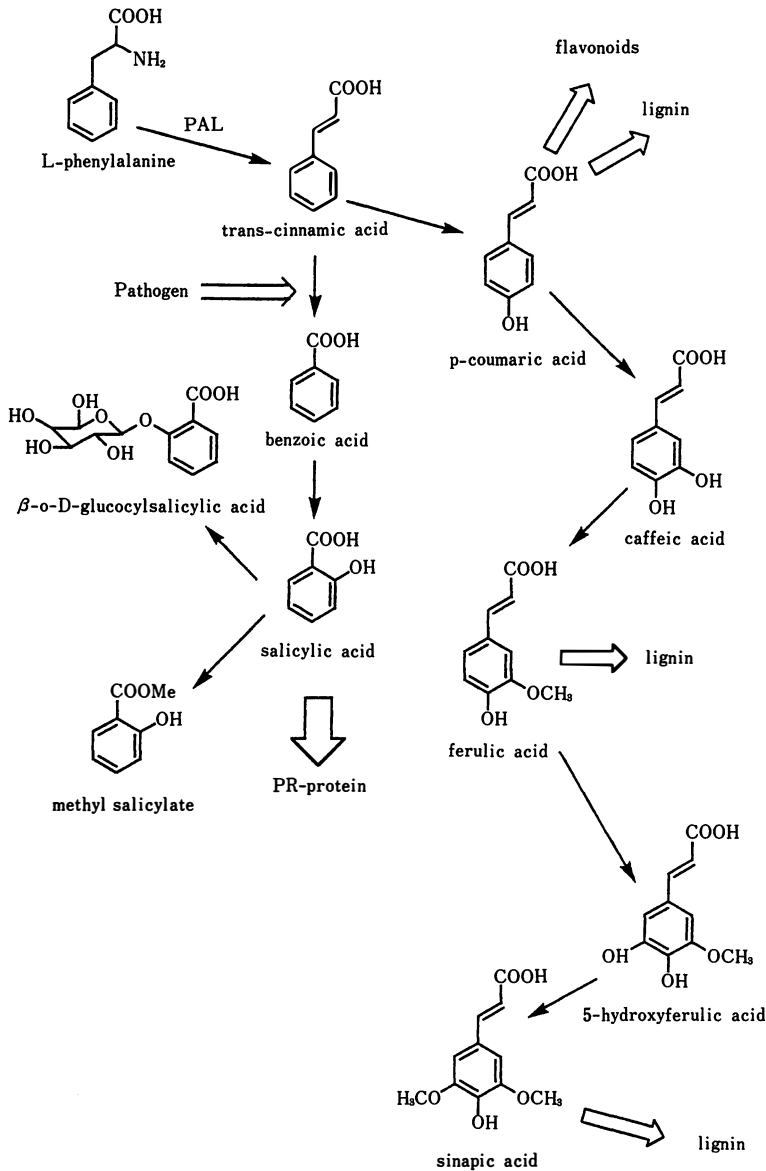


図-1 植物体中での PR タンパク質の合成とその経路

ル酸を介して発現するとを証明するには、次の三つの疑問に答えなければならない。

### 1 SAは植物体中でSARのシグナル分子として本当に働いているであろうか？

キュウリ、タバコ、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) で、SARの初めに植物体中にSA濃度が高まることが観察されている。また逆に、SAを植物に与えると、多くの病原菌に対して抵抗性となることもよく知られている。例えば、SAをタバコに処理すると、タバコモザイクウイルス (TMV) の症状は、感受性、抵抗性系統共に減少する。そしてSAによって抵抗性になったタバコではPRタンパク質遺伝子の転写の活性化が伴うことが観察されている。タバコにTMVを処理すると、 $\beta$ -1,3-glucanasesやchitinaseなどのPRタンパク質のmRNAが誘導される。

SAはグルカナーゼやキチナーゼのほかにperoxidase, superoxide dismutase (SOD), glycine rich細胞壁タンパクなども誘導し、これらSAが誘導する遺伝子セットはすべて病原体によって誘導される遺伝子セットと同じである。

SARにSAが関与している決定的な証拠は、TMV感染した抵抗性タバコ (Xanthi-nc, NN-genotype) の葉に少なくとも20倍のSAが検出されることである。この増加は、感染部位に過敏感反応が現れるのと一致しており、そのタバコのTMV感染していない葉にも5倍SAが増えている。SAの増加は、mock感染タバコやTMVに感受性の系統 (Xanthi, nn-genotype) では見られない。同じように、SAの増加は、細菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) を感染させたダイズ、タバコ (XanthiおよびXanthi-nc) 等にみられる。逆に、遺伝子導入によってSAが蓄積しない組換え体タバコが作出され、これがSARを示さないことが確認されている。バクテリア由来のsalicylate hydroxylaseは、SAのカルボキシル基をヒドロキシ基に置換し、カテコールを生産する。この酵素は、*pseudomonas putida* のnahG遺伝子にコードされている。このnahG遺伝子を導入したタバコはSAを蓄積せず、SARを示さない (RYALS et al., 1995)。これらの事実から、SAはSAR誘導のシグナル伝達に重要な役割を持つと結論されるに至った。

### 2 感染部位から非感染部位へシグナルを伝える分子はSA？

METRAUX (1990) はカビ (*Colletotrichum lagenarium*, 炭そ病) またはタバコネクロシス・ウイルスを感染させたキュウリの師管液にSAが著しく増加してい

ることを見いだした。この増加は、一時的なものではあるが、SAR獲得前の10倍に達する。師管液のSAの蓄積は、過敏感反応が激しければ多く、感染濃度に比例する。このことから、SAは師管を通過して植物全体に移動すると考えられた。

また、TMVに感染したタバコ (Xanthi-nc) の組織にSAが蓄積するのと平行してPR-1 mRNAが感染葉のみならず、未感染葉中でも増加しているのが観察された。TMV感染病斑の付近でSAレベルは最高となり、この部分は、次の病原体を接種しても非常に強い抵抗性を持ち、PR-1タンパクが最高レベルに蓄積している。このとき、未感染葉にもSAが蓄積し、PR-1タンパクが発現している。これらの事実から、感染部位で発生したSAは遠く離れた未感染部位に移動すると考えられた。

TMV処理したタバコの組織を用いた加水分解実験からSAのconjugate, 恐らく $o$ - $\beta$ -glucosylsalicylic acidであろう、の存在が明らかになった。このようなconjugateは、TMV処理したタバコの師管や未感染組織には検出できない。このconjugateは植物中を移動できないので、SA濃度の調節をしているのであろう。植物体中のSAの移動は、フリーの酸として輸送されることを示している。(図-2)。

前述のように、SAは病原耐性のシグナルとして働いていることは確かであるが、本当にSAが植物体中を移動するかどうか疑問が残る。他の動きやすい物質が、感染後直ちに放出されて、これがSA合成を増すとも考えられる。この疑問を解くために、接ぎ木実験が行われた。すなわち、前述のnahG遺伝子を導入したタバコ (SAが蓄積しないので、抵抗性にならない) を台木として、これに正常タバコを接ぎ木し、台木にTMVを処理すると、台木には抵抗性は誘導されないが、接ぎ穂は抵抗性になる。このことから、SAは植物体中を移動する情報伝達分子ではなく、移動する分子はSAが十分蓄積されなくても放出される。しかし、SARが誘導されるためには十分量のSAの蓄積が必要であると結論されている (RYALS et al., 1995)。SAの蓄積は害虫による食害や機械的損傷によって誘導されることはなく、病原体に特異的な反応である。

### 3 SAがPRタンパクを誘導するメカニズムは？

SAと親和性の高い結合タンパク (SABP, SA-Binding Protein) がタバコの葉から分離・精製され、このタンパクは、SAとの親和性、結合特性などからSAの受容体と考えられている。SABPのサブユニットのcDNAがクローニングされた結果、このタンパクは、

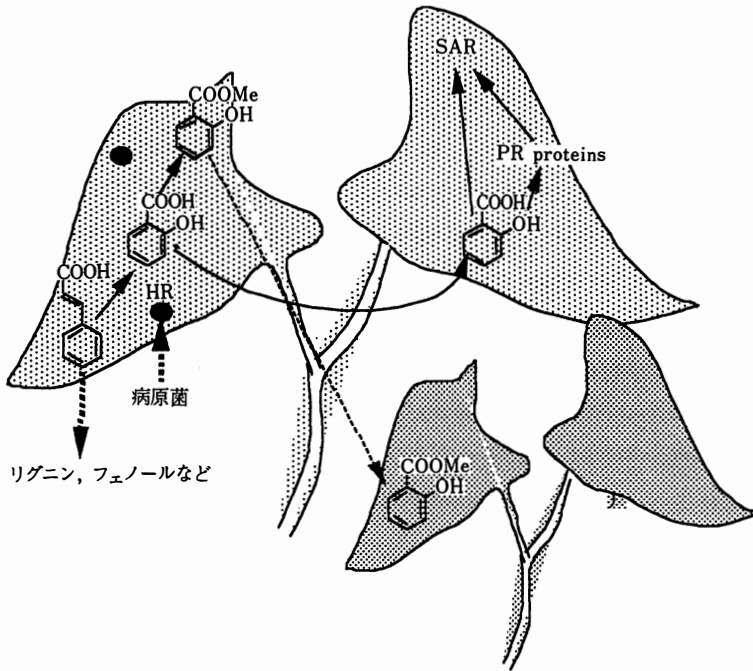


図-2 全身獲得抵抗性におけるサリチル酸の役割

過敏反応が起こると、SAはcinnamic acidからネクロシス部位の周辺で合成される。SAの大部分は、移動性のない $\beta$ -o-glucosylsalicylic acidになる。フリーのSAは、篩管を通して近傍の葉に移る。SAは、PRタンパクの合成を促し、次の攻撃に対して抵抗性となる。

カタラーゼとホモロジーが高く、カタラーゼの一種であることが明らかとなった。実際に純化したSABPは、 $H_2O_2$ を $O_2$ と $H_2O$ に変換するカタラーゼ活性が非常に高いことが確かめられている。SAは、SABPと強く結合することによって、そのカタラーゼ活性を阻害し、 $H_2O_2$ が蓄積することは確かである。パラコートのような $H_2O_2$ を増加させる化合物を植物に処理しても、PRタンパク質遺伝子は発現する (CHEN et al., 1995)。これらの結果から、 $H_2O_2$ が重要なカギを握っているのであろうと考えられているが、それがどのようにPRタンパクを誘導するのか明らかではない。

図-3に示す合成化合物、INA (2, 6-dichloroisonicotinic acid) やBTH (benzo(1, 2, 3)thiadiazol-7-carbothioic acid S-methyl ester)、を植物に処理すると、SARが誘導されるのが最近明らかになった。シロイヌナズナにINAを処理すると、カビや細菌に抵抗性を示し、INAに反応して3種のタンパクが蓄積する。

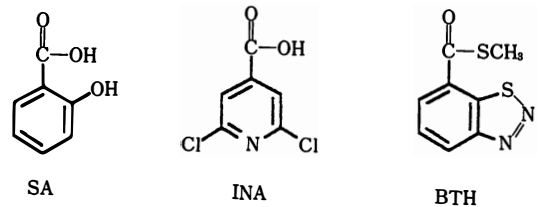


図-3 全身獲得抵抗性を誘導する化合物

このタンパクに対応する遺伝子の発現は、病原体やSAで誘導されるものと一致する (UKNES et al., 1992)。コムギにBTHを散布すると、*Erysiphe graminis* (うどんこ病)、*Puccinia recondita* (赤さび病)、*Septoria* spp. (葉枯病) に抵抗性が誘導される。BTHが誘導する遺伝子の転写物は、病原体、SA、INAでも誘導される (GÖRLACH et al., 1996)。

(つづく、引用文献は次号に記載)