

微生物情報伝達制御による病害防除の可能性

(独)野菜茶業研究所 篠原 まさと 信

はじめに

数多くの細胞からなる生命体は、多細胞生物と呼ばれる。ヒトならば脳・心臓・筋肉、植物ならば葉・茎・根といった複雑な組織や器官を多数の細胞が構成している。それぞれの器官の細胞は多種多様なホルモンを分泌し、変化の激しい外部環境への適応や、体内調整を行っている。ホルモンは、体内の細胞間を行き来する重要な情報伝達物質である。また、昆虫では餌の存在や配偶者の存在を伝えるフェロモンが知られ、個体の活動を劇的に変化させる重要な情報伝達物質として働く。ホルモンやフェロモンは、多細胞生物にとってなくてはならない重要な情報伝達物質なのである。しかし、このような化学物質による情報伝達は「高等な」多細胞生物にのみよくなし得ることで、「下等な」単細胞生物には、情報伝達物質があったとしてもごく限られたものでしかないだろう、という誤解がつい最近まで支配的であった。

しかし、典型的な単細胞生物である細菌に、興味深い現象が明らかにされ始めた。細胞単体でバラバラに行動すると思われていた細菌が、実は集団行動をとるものである。そしてその際、細胞間で情報伝達物質により交信しているというのである。

例えば病原性細菌は、仲間の菌の密度が低い間はムダに毒素（毒性物質や分解酵素など）を生産したりはしない。餌を求めて動き回り、増殖することに専念する。しかしやがて菌密度が一定以上に達すると、それを感知した各細胞がバイオフィルム（菌体外多糖などの粘性の高い物質で包み込まれた菌叢）を形成して外部からの攻撃から身を守り、一斉に毒素を大量生産して宿主への攻撃を開始する。

このような集団的な行動様式の変化は、なにも病原性細菌ばかりではない。有用細菌にも集団となって初めて示す性質の変化が多数報告されている。植物の根に共生する窒素固定菌、PCBなどの有害物質を分解する細菌などにも同様の現象が続々報告されている。

Opening the Possibility of Pest Control by Regulating Cell-to-Cell Communication in Bacteria. By Makoto SHINOHARA

(キーワード：菌体密度感知機構、菌体密度感知シグナル、クオルモン、クオラム・センシング、オートインデューサー、微生物フェロモン)

このように、菌密度に応じて行動様式を変化させるメカニズムを菌体密度感知機構（=クオラム・センシング quorum sensing：クオラムは日本語で閾値、定足数と訳される）という。この菌体密度感知機構は近年、細菌に普遍的に認められるメカニズムであることが明らかにされ、注目を集めている。このメカニズムにとって中心的な役割を果たす情報伝達物質が、クオルモン quormone（菌体密度感知シグナル）と呼ばれるものである。

細菌がクオルモンによって菌密度を感知する仕組みは次のとおりである。クオルモンは細胞外に分泌され、菌の増殖に比例してクオルモンの濃度が高まる。菌密度が $10^6 \sim 10^7 \text{ cells/ml}$ を超える辺りでクオルモンの濃度が限界値（約1 nM）を超え、各細胞に特定の遺伝子群を発現するよう促す（図-1）。病原性細菌ならば、クオルモンが病原性遺伝子発現を誘導する。つまり、クオルモ

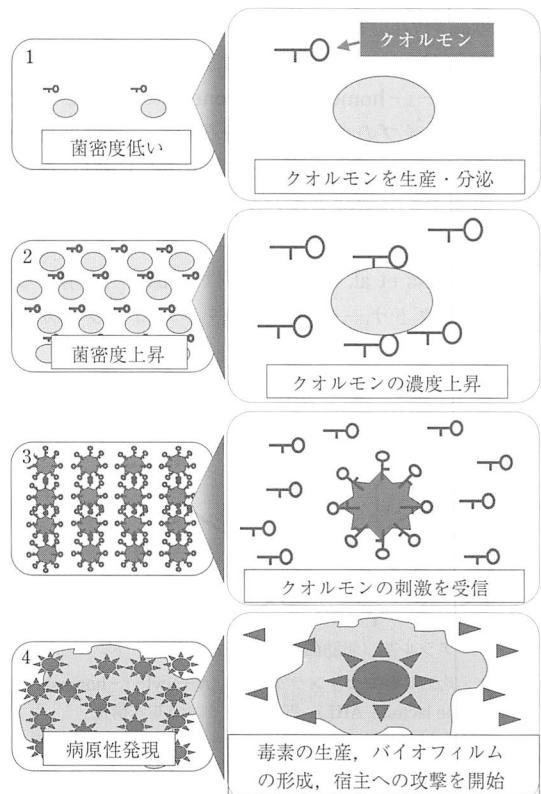


図-1 病原性細菌における菌体密度感知機構

ンは病原性細菌にとって、宿主攻撃を号令する情報伝達物質として働くのである。

単細胞生物である細菌にも、多細胞生物におけるホルモンやフェロモンのように、環境に適応するための細胞間の情報伝達物質、クオルモンの存在が見いだされたことは、植物病害を目の前にするわれわれに、大変大きな手掛かりを与えてくれる。本稿では、細菌に認められる情報伝達の世界を紹介し、それが病害防除にどのように貢献するのかを見ていこうと思う。

I 病気を防ぐ

クオルモンによる菌体密度感知機構は最初、ミミイカなどの海洋生物に共生する発光細菌で発見された。発光細菌 *Vibrio fischeri* の菌密度が高まると発光に必要な遺伝子群がクオルモンによって誘導を受け、生物発光を行うのである。最初の発見が生物発光というロマンチックともいえる現象であったためか、当初特殊な事例と受けとめられる傾向があったのだが、病原性細菌の多くに菌体密度感知機構のメカニズムが働いていることが明らかにされ、ついに細菌病抑止への応用に成功したという報告がなされると、クオルモンの研究は世界的に注目を浴びることになった。

1 軟腐病の防除

軟腐病菌 *Erwinia carotovora* はアシルホモセリンラクトン *N*-acyl-L-homoserine lactone (以下 AHL, 図-2) と呼ばれるタイプのクオルモンを分泌し、菌密度に比例してクオルモン濃度が上昇し一定値（約 1 nM）を超えると、ペクチン分解酵素などを大量に生産し宿主を攻撃する。

そこで ZHANG et al. のグループは、AHL を分解する酵素、AHL ラクトナーゼの遺伝子をタバコとジャガイモ

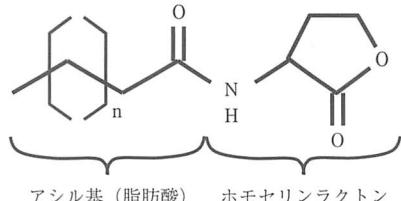


図-2 アシルホモセリンラクトン (*N*-acyl-L-homoserine lactone, AHL) 型クオルモンの基本構造

AHL はクオルモンの代表的なもので、グラム陰性細菌の多くが生産している。ホモセリンラクトン（右側の環状の部分）と脂肪酸（左側直鎖状の部分）がアミド結合した基本骨格をもつ。

に導入し、軟腐病に対する強い抵抗性を付与することに成功した (DONG et al., 2001)。これは AHL ラクトナーゼが軟腐病菌のクオルモンである AHL を分解し、軟腐病菌がクオルモン濃度の上昇を感じできなくなり、その結果ペクチン分解酵素などの病原性遺伝子が誘導されなかつたためである (図-3)。

2 クオラム・クエンチング

クオルモンが分解されれば病原性細菌は病原性を発現しなくなる。ZHANG et al. は、病原性細菌のクオルモン濃度を低下させ、病原性発現を抑制するこの手法をクオラム・クエンチング quorum-quenching と呼んでいる。この手法は病原性の発現を抑えるが細菌の生存を直接脅かすことではないので、抗生物質治療で見られるような耐性菌の出現が生じにくいものと期待される。病原性細菌を殺さずに病気の発生を防ぐ、「病憎んで菌を憎まず」ともいえるこの新手法は、菌体密度感知機構を備える各種病原性細菌に広く応用できる可能性がある。

クオルモンをカギにする防除法は、われわれにこれまでとは全く異なるアプローチが可能であることを示してくれる。どのようなアプローチがあり得るのかを知るためにも、もう少しこの現象を詳しく見ていく。

II 菌体密度感知機構のしくみ

菌体密度感知機構のメカニズムに関してはいくつかの種類が知られており、まだ未解明の部分も存在する。その詳細は優れた総説 (Von Bodman, 2003) が多数著述されているので、それをご覧いただきたい。ここでは、共通する原理だけを簡単に説明する。

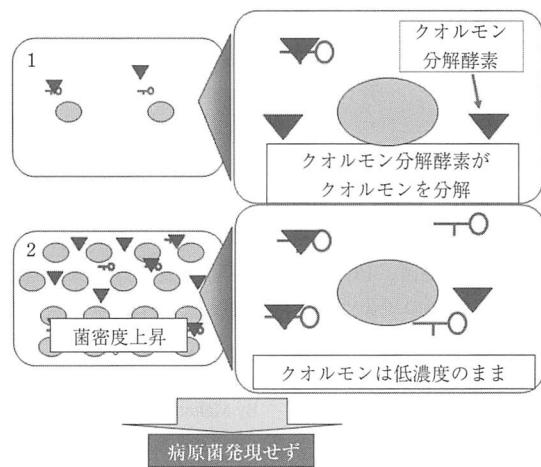


図-3 クオラム・クエンチングの原理

まず、細菌細胞の内部にあるクオルモン生合成酵素がクオルモンを生産する。クオルモンは細胞膜を抜け、細胞外へと拡散する。このため、菌密度が低い間は菌体外のクオルモン濃度も低いままである。しかし菌密度が高まるとクオルモンの濃度も上昇し、限界値を超えるとクオルモンが細胞膜を通過して細胞内に戻り、クオルモン受容体と結合する。クオルモンと結合した受容体は構造や性質が変化し、直接または間接に各種遺伝子の発現を誘導する（遺伝子によっては抑制する）。

クオルモン分解能をもった組換えタバコなどが軟腐病菌に侵されなくなったのは、軟腐病菌のクオルモンが組換え植物の生産するクオルモン分解酵素によって分解され、クオルモンがクオルモン受容体と結合せず、病原性遺伝子が誘導されなかつたためである。

III クオルモンの種類

クオルモンの化学構造は細菌の種類によって異なり、また一つの菌種が複数のクオルモンを生産することが知られている（図-4）。

1 AHL

最も広く知られているクオルモンは、AHL（図-2）である。最初に発見された発光細菌のクオルモンもこのタイプであり、ZHANG et al. がクオルモンを分解することで細菌病抑止に初めて成功したのも AHL タイプのクオルモンであった。

グラム陰性細菌では AHL タイプのクオルモンを生産するものが多い。AHL は環状化したアミノ酸のホモセリンラクトンに、脂肪酸が結合する基本構造を示す。AHL には脂肪酸の部分（アシル基）の長さや構造に違いのあるものが複数知られており、菌種によって、または誘導する遺伝子によってクオルモンの種類が異なっている。

2 グラム陰性細菌のその他のクオルモン

グラム陰性細菌のクオルモンには、その他に脂肪酸エステル型や AI-2 と通称されているフラノシリルホウ酸ジエステル furanosyl borate diester などが判明している。AI-2 は、グラム陽性細菌と共にクオルモンと考えられている。また、大腸菌 O-157 の病原性を制御するクオルモン AI-3 の存在が知られているが、化学構造の決定には至っていない。クオルモンは約 1 nM 前後の超低

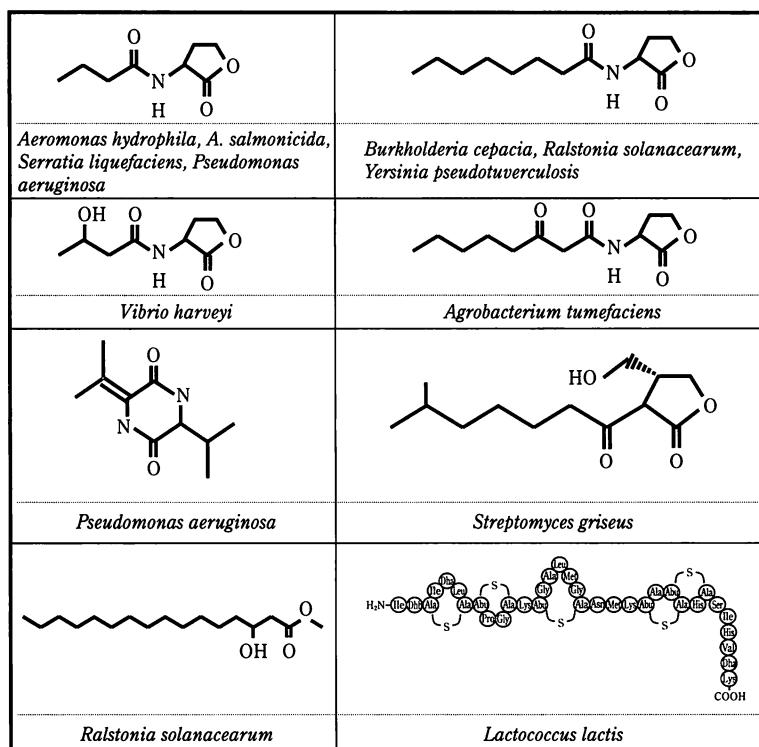


図-4 クオルモンの化学構造とその生産菌

濃度で働くため、抽出・精製が困難であり化学構造の不明のものが多い。植物病害の防除に結びつけるためにも、それぞれの病原性細菌のクオルモンを同定することは不可欠な研究であるといえる。

3 グラム陽性細菌のクオルモン

グラム陽性細菌では、A-factorと呼ばれるクオルモンが早くから知られている（グラム陽性細菌では、オートレギュレーター autoregulatorという呼称が一般的である）。これは放線菌の胞子形成・抗生物質生産などの二次代謝を誘導することで知られている。ジャガイモとうか病菌もA-factorと類似の構造のクオルモンを生産している。ペプチド型のクオルモンを生産するものでは、乳酸菌などが知られている。乳酸菌の生産するこのペプチド型のクオルモンには抗菌性の性質を示すものが知られ、バクテリオシンと呼ばれており、医療への応用が期待されている。

IV 細菌の情報伝達の例

菌体密度感知機構は、既に50種以上の細菌で確認されている。最初にこの機構が発見された発光細菌をはじめ、病原性細菌、乳酸菌、抗生物質生産菌、有害有機化合物分解菌等、多種多様な性質の発現にかかわっている。

1 病原性細菌について

<植物の病原菌> 軟腐病菌 *E. carotovora*, 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum*, 黒腐病菌 *Xanthomonas campestris*, 根頭がんしゅ病菌 *Agrobacterium tumefaciens*等が知られている。*A. tumefaciens*は植物バイオテクノロジーにおいて重要な微生物としても知られている。

<人間や動物の病原菌> コレラ菌 *Vibrio cholerae*, 緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa*, セラチア菌 *Serratia* sp., サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*, 虫歯の原因菌 *Streptococcus mutans*等。その他、一時、日本でも大きな被害を及ぼした大腸菌 O-157 *Escherichia coli* O-157でも菌体密度感知機構が働いている。

2 有用細菌について

菌体密度感知機構が機能するのは病原性細菌だけではない。有用細菌でも続々その証拠が報告されている。

<窒素固定> 根粒菌 *Rhizobium* sp.

<有機化合物分解> PCB 分解菌 *Ralstonia eutropha* で、菌体密度感知機構に関する遺伝子が発見されている。

<抗生物質生産> 融光性シードモナス *Pseudomonas aureofaciens* のフェナジン phenazine 生産、ストレプトマイシン生産菌 *Streptomyces* sp.による抗生物質生産

<発光細菌> 菌体密度感知機構が最初に報告された発光細菌 *Vibrio fischeri*は、特に研究が進んでいる。その他の発光細菌でも、*Vibrio harveyi*などで細胞間情報伝達が報告されている。

V クオルモンを分解する菌

1 AHLの分解菌とその酵素

細菌がクオルモンによって細胞間の情報伝達を行っているのだとすれば、それを阻害することで自らの勢力拡大を図る別の細菌が存在することも容易に予想される。事実、クオラム・クエンチングを成功させた ZHANG et al. は、AHL（軟腐病菌のクオルモン）を失活させる微生物を探索し、*Bacillus* sp.に強い活性をもつものを見いだした。この菌は AHL の環状の部分（図-2）を開環する AHL ラクトナーゼ AHL lactonase 活性をもっている。さらに、本菌を拮抗菌として利用することも可能であるという報告もなされている。

AHL を分解する菌として、ZHANG et al. はほかにも *Variovorax paradoxus* を見いだしている。この菌は、AHL 内のアミド結合を切断し、AHL の活性を失わせる。

2 クオルモン分解菌の戦略

筆者は AHL とは別のタイプのクオルモンを分解する菌 *Ideonella* sp.を見いだし、本菌により青枯病菌の病原性発現が抑制されることを報告した。これは AHL 以外のクオルモンでは最初の報告である。クオルモンを分解するこれらの菌は、異種細菌の菌体密度感知機構をかく乱することで、自らの勢力を拡大する戦略をとっているものと思われる。土壤中や植物体上で起きる微生物相のめまぐるしい変化を理解するには、このクオルモン分解がヒントとなるだろう。

VI 環境クオルモン

環境ホルモンという言葉は既に多くの人々に知られるようになっている。化学合成された物質や異種の生物が作る物質がある生物にとってホルモンのような作用を示すことを指すのだが、細菌のクオルモンにも同様の現象が確認されている。植物や動物がクオルモン様物質を生産し細菌に影響を与えているらしい証拠が、複数報告されている。

紅藻タマイタダキ *Delisea pulchra* はフラノン furanone と呼ばれる物質を生産する。フラノンは AHL と化学構造がよく似ており、AHL 依存性の菌体密度感知機構を阻害する。これは、フラノンが AHL 受容体に結合することで AHL の受信を阻害するためであると考えられている。

また、化学構造は不明であるが、エンドウ、クラウンベッヂ、トマト等の高等植物の破碎液がセラチア菌にAHL型クオルモンと同様の活性を示すことが知られている。

さらに、大腸菌O-157は人間のホルモンであるエピネフリン（アドレナリン）をクオルモンとして受信し、病原性遺伝子を誘導するという報告がなされている。

クオルモンは細菌間の情報伝達ばかりではなく、植物や動物などの多細胞生物との情報伝達にも働いているらしいということは、興味深い知見である。細菌はクオルモンを介して植物などの多細胞生物とのコミュニケーションを図っている可能性があるということである。

VII アンタゴニスト物質によるクオラム・クエンチング

クオルモンと類似の構造の化学物質を合成し、クオルモンの受信を妨げるアンタゴニスト物質として利用して細菌病を抑制しようという研究も始まっている。*Pseudomonas aeruginosa*は動植物に共通して病原性を示す細菌として知られ、特にヒトに対しては免疫機能の低下した患者に深刻な症状をもたらす日和見感染菌として問題視されており、アンタゴニスト物質合成の研究が積極的に進められている。

また、乳酸菌の生産するバクテリオシンは抗菌性物質として研究が進められているが、バクテリオシンはクオルモンとして機能するものがあることが判明している。バクテリオシンが抗菌性を示すのは、別の細菌のクオルモン情報伝達を阻害することによるものである可能性がある。

おわりに

クオルモンによる細菌間の情報伝達という知見は、病害防除を目指すうえでこれまでにない展望を示してくれる。ある細菌が別の細菌を駆逐して優占したり、または異種の細菌同士で棲み分けたりする現象を理解するには、クオルモンによる情報伝達が大きな手掛かりとなることは間違いない。病害防除を目的にした拮抗菌のスクリーニングにも、これまでにないアプローチが必要となるだろう。これまででは病原菌を死滅させる抗生物質の生産が拮抗菌探索のメルクマールとなってきたが、何もそのような殺菌作用を有することが拮抗菌の絶対の条件ではないことになる。病原性細菌のクオルモン交信を妨げ

る性質の菌を探索することは、新たな拮抗菌探索法として有望である。

また、もし植物にクオルモンを分解する、あるいは生産する機能が存在すると仮定すれば、その性質を積極的に利用した抵抗性品種の育成が可能となるだろう。しかし植物のクオルモン分解などの基本的な知見がほとんどない現状では、基礎研究がさらに必要である。

一方、微生物では既にクオルモン分解菌が得られているように、様々なクオルモン分解活性や合成能をスクリーニングすることは容易である。これを有効に活用することで新たな病害防除に結びつけることが可能であろう。

だが、クオルモンが同定されている植物病原性細菌はまだわずかである。クオルモンには化学構造が不明のものが多く、十分な証拠もなしに病原性細菌のクオルモンを想定することは早計である。クオルモン研究を防除に確実に役立てるためには、病原性細菌の主要な病原性遺伝子を特定し、その遺伝子を誘導するクオルモンを突き止め、化学構造を決定することが不可欠である。そうした基礎研究の積み重ねが、防除への実用化の早道であるといえる。クオルモンに関する基礎研究は、通常の基礎研究とは異なり、実用化にかなり接近した研究であるといえる。性急な実用化より、科学的で着実な研究が求められる。

研究が進めば、クオルモンの化学構造の違いを利用して、有用細菌の活性を高め、病原性細菌の活性のみを抑制する微生物選択的な手法を開発することも可能となるだろう。有用細菌の死滅が避けられない抗生物質とは異なり、有害な細菌の活動だけを選択的に抑えるクオルモン研究は、微生物相を貧困にすることで起きてくる様々な不都合を避けることを可能にする。

クオルモン研究は以上のように、病害防除を目指すうえでこれまでにないユニークなアプローチを可能にするだろう。ところが世界中で研究が急速に進むなか、日本では医学研究を別として、農業分野でのクオルモン研究が十分進んでいないのが現状である。今からでも遅くはない、日本がクオルモン研究の先進地となることを、筆者は願っている。

引用文献

- 1) DONG, Y. H. et al. (2001) : Nature 411 : 813 ~ 817.
- 2) 篠原 信 (2004) : 施肥管理と病害発生, 博友社, 東京, p. 3 ~ 40.
- 3) Von Bodman, S. B. et al. (2003) : Annu. Rev. Phytopathol. 41 : 455 ~ 482.