

植物の免疫システムをかいくぐる病原性カビの「ステルス戦略」

農業生物資源研究所 ^{ふじかわ たかし にしむら まりえ} 藤川 貴史・西村 麻里江

はじめに

日本の稲作における二大病害は被害額の順にいもち病、次いで紋枯病である。農林水産省(2010)の統計によると2008年における国内の水陸稲作付面積は162万7千ヘクタール、収穫量は882万3千トンであるが、それに対していもち病被害面積は27万4千4百ヘクタール、いもち病被害量は6万7千トンであり、いもち病被害面積は近畿・中国・四国地方の合計作付面積に匹敵する。毎年、いもち病による被害量は平均して収穫量の約1%にのぼり、今日においてもいもち病による被害は決して少なくはない。いもち病防除には様々な薬剤が開発され使用されているが、環境への影響や消費者の嗜好といった観点から、高い防除効果に加え、安全かつ環境低負荷型の新たな病害防除法の開発が好ましい。

従来の細胞学・遺伝学的研究に加え、近年はゲノム情報を基盤に分子生物学研究の進展が加速しており、いもち病菌の感染機構やいもち病菌に対するイネの防御機構が遺伝子レベルで明らかになりつつある。このような背景の中、我々はいもち病菌がイネの侵入菌に対する防御機構(自然免疫)をかいくぐって感染することを世界に先駆けて発見した。感染戦略の発見は植物病原カビとしては初めてであり、これを糸口とした様々な植物病原菌に対する新たな病害防除法の開発が期待できると考えている。そこで本稿では、我々が発見したいもち病菌の感染戦略とその応用について概要を紹介する(FUJIKAWA, 2009)。

I 植物病原性カビの細胞壁と植物の自然免疫

いもち病は糸状菌(カビ)であるいもち病菌(学名 *Magnaporthe oryzae* あるいは *M. grisea*) により引き起こされる。一般的にカビの細胞の外側は分岐した β -1,3-グルカンとキチン/キトサンやマンナンといった多糖類を主要構成成分とする細胞壁という強固な構造体で覆われている。植物細胞も細胞壁をもつがカビのものとは構成多糖が異なる。細胞壁は細胞の保護や形状保持とい

った基本的な役割に加えて、センサータンパク質と共同して外環境からの様々なストレスや刺激を速やかに細胞内へ情報伝達する役割ももつ。

動・植物細胞にはいろいろな微生物が共通にもつ構造(MAMPs: microbe-associated molecular patterns)により侵入菌を認識し攻撃する防御機構があることが知られている。この防御機構は「自然免疫」と呼ばれ、広範囲の微生物に対して最初に発動するものである。動物における抗原への接触により後天的に獲得される免疫や植物における抵抗性遺伝子産物の応答は特定の病原菌に対する防御応答であり、この点が自然免疫とは大きく異なっている。自然免疫が活性化すると動物細胞では炎症反応の誘導、植物では抗菌酵素(キチナーゼ、 β グルカナーゼ)や抗菌物質等の生産が誘導される(van LOON et al., 2006; van de VEERDONK et al., 2008)。カビの細胞壁多糖はMAMPsとして動・植物細胞に認識されることが知られており、これまでに動物細胞では β -1,3-グルカンやマンナンを認識するレセプター、また植物ではキチンレセプター、マメ科植物で分岐 β -グルカンの認識にかかわるレセプター複合体の構成因子が見つかった(BITTEL and ROBATZEK, 2007; van de VEERDONK et al., 2008)。奇妙なことに、病原性カビの細胞壁にもMAMPsとして認識される多糖があるにもかかわらず、病原性カビはその宿主に感染することができる。このことから、病原性カビには宿主細胞の自然免疫攻撃を回避して感染することができるなんらかの機構があることが推測されてきた。

これまで、一部の植物病原菌では侵入菌糸細胞壁でキトサンが検出されたことから、細胞壁のキチンの一部を脱アセチル化してキトサンに変換することで、宿主細胞におけるキチン認識を妨害している可能性があると考えられてきた(El GUEDDARI et al., 2002)。しかしキトサンはカビの主な細胞壁成分の一つであり、植物病原菌が感染時に宿主の自然免疫を回避するための因子であるかどうかは不明であった。そこで筆者らはイネいもち病菌を用いて、病原性カビの宿主植物への感染時の細胞壁構成多糖について詳細に検討を行った。

Stealth Technology of the Rice Blast Fungus. By Takashi FUJIKAWA and Marie NISHIMURA

(キーワード: いもち病菌, イネ, 自然免疫, 細胞壁, MAMPs)

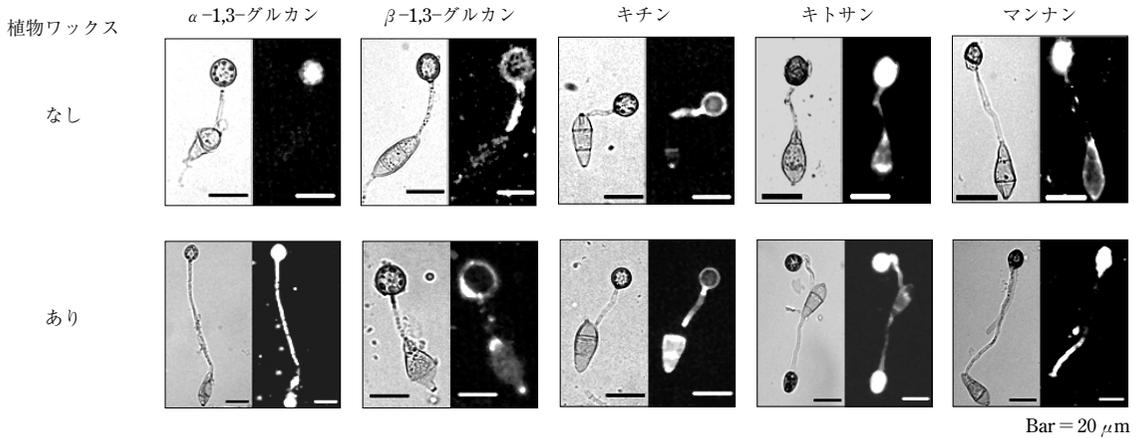


図-1 植物ワックスの有無によるイネいもち病菌細胞壁成分の比較

カバーガラス上で付着器形成させたイネいもち病菌胞子を固定し、糖鎖特異的な蛍光検出剤処理（各図右側）によって細胞壁成分を検出した。植物ワックスの添加により α -1,3-グルカンの蓄積が誘導される。

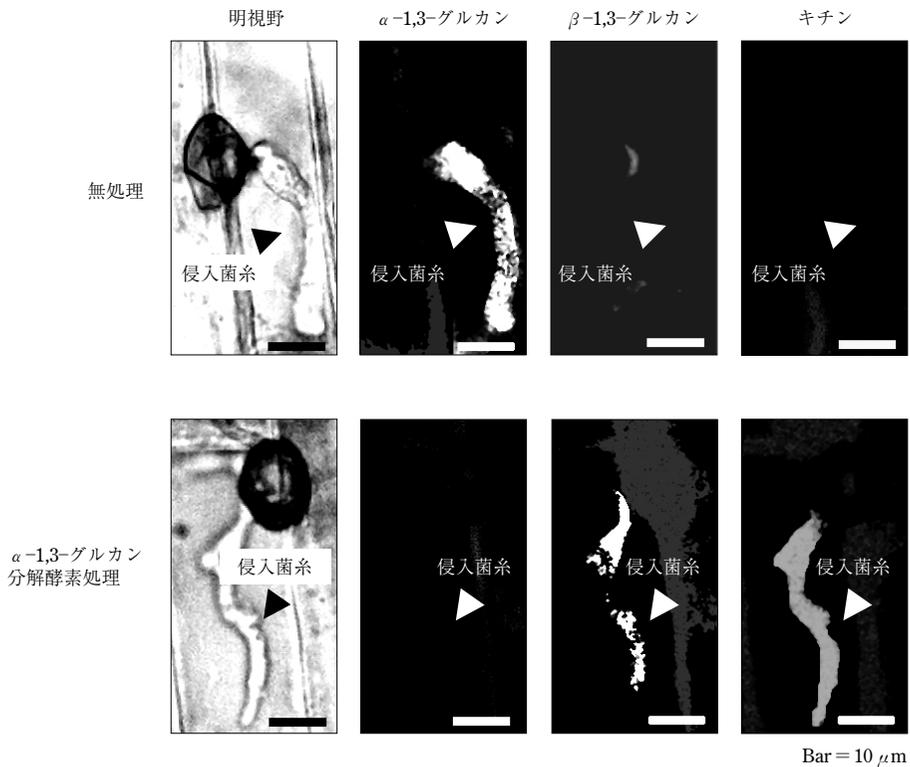


図-2 イネいもち病菌の侵入菌糸における細胞壁成分の染色

イネ組織に感染したいもち病菌の侵入菌糸細胞壁成分を、糖鎖特異的な抗体および染色剤を用いて検出した。通常の染色では、侵入菌糸（矢印）は α -1,3-グルカンのみ検出されるが、染色時に α -1,3-グルカン分解酵素を処理すると α -1,3-グルカンは検出されず、 β -1,3-グルカンやキチンが検出されるようになる。

II イネいもち病菌の感染特異的細胞壁成分： α -1,3-グルカン

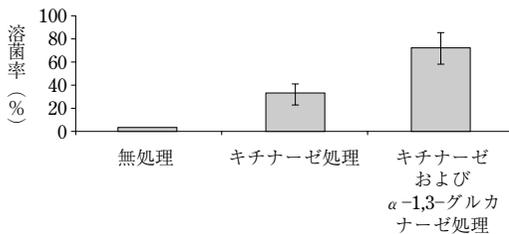
イネいもち病菌の孢子（分生子）がイネ葉に付着すると、湿潤下で菌糸の発芽が起き、次いで発芽菌糸先端から付着器と呼ばれる感染器官が分化されるのが観察される。菌は付着器を介して宿主細胞に侵入し、宿主組織内に感染特異的な菌糸（侵入菌糸）をまん延する。これまでの研究から、菌が付着した宿主表面の「植物ワックス（植物クチクラ層）」といった化学成分や「植物表面の硬さ」等の物理特性が、付着器分化の誘導因子として菌に認識されることが明らかになっている。

筆者らが細胞壁多糖に特異的に結合する蛍光検出剤を用いて、人工基盤（カバーガラス）上と宿主イネ上で付着器形成をさせたいもち病菌の細胞壁の構成多糖の分布を比較したところ、 α -1,3-グルカンの分布パターンが両者で異なっていた。そこで、さらに植物由来の成分（例えば植物ワックス）が α -1,3-グルカンの分布パターンに影響している可能性について検討を行った。

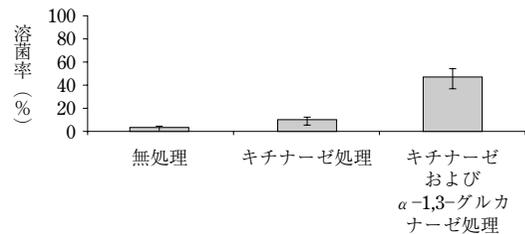
カバーガラス上で付着器を形成させた孢子では、 β -1,3-グルカンやキチン、キトサン、マンナンが菌糸全体で検出されるが、 α -1,3-グルカンは付着器のみで検出

される（図-1 上段）。一方、付着器形成時に「植物ワックス」を添加した場合はカバーガラス上であっても、 β -1,3-グルカン、キチン、キトサン、マンナンに加えて α -1,3-グルカンも菌糸全体で検出されるようになった（図-1 下段）。この結果は、植物ワックスが付着器分化だけでなく、細胞壁への α -1,3-グルカンの特異的な蓄積をも誘導していることを示す。さらにいもち病菌をイネに感染させ、イネ細胞の侵入菌糸の細胞壁成分を調べたところ、 α -1,3-グルカンは検出されたが、 β -1,3-グルカンやキチンは検出されなかった（図-2 上段）。しかし、検出時に α -1,3-グルカン分解酵素を処理して細胞壁から α -1,3-グルカンを除去すると、侵入菌糸でも β -1,3-グルカンやキチンが検出されるようになった（図-2 下段）。つまり、 α -1,3-グルカンは細胞壁の表層に蓄積しており、 β -1,3-グルカンやキチンを隠していたことがわかる。これらの結果から、植物表面に付着したいもち病菌では表面のワックス成分により付着器形成が誘導され感染が開始されるが、それと同時に植物ワックスにより α -1,3-グルカンの細胞壁表層への蓄積が誘導され細胞壁の β -1,3-グルカンやキチンを覆い隠すことが明らかになった。

(A) 植物ワックス無添加



(B) 植物ワックス添加 = α -1,3-グルカン蓄積誘導



(C)

溶菌していない菌体



溶菌した菌体



図-3 植物ワックスの有無におけるキチナーゼによる溶菌率の比較

カバーガラス上で付着器形成させたいもち病菌をキチナーゼおよび α -1,3-グルカナゼで4時間処理した後、菌糸（付着器形成した孢子）当たりの溶菌率を測定した。無処理時（A）に比べて、植物ワックス添加時（B）では溶菌率が低下しており、キチナーゼに対する耐性が増加したことがわかる。（C）キチナーゼ処理により溶菌していない菌体と溶菌した菌体。

III α -1,3-グルカンによる分解酵素からの細胞壁の保護

植物感染時に細胞壁表層に蓄積した α -1,3-グルカンの役割として、「感染中の外界ストレスからの細胞壁の保護」が推察できる。植物への侵入時にいもち病菌が植物の細胞壁分解酵素（キチナーゼ）などに曝されることから、細胞壁への α -1,3-グルカンの蓄積といもち病菌菌糸のキチナーゼに対する耐性の相関関係の有無について調べた。カバーグラス上で付着器分化させたいもち病菌にキチナーゼを処理すると、4時間後には全胞子数の32%が溶菌していたが、キチナーゼと α -1,3-グルカナーゼの両酵素を処理した場合には、溶菌率は72%に上昇していた（図-3A）。一方、植物ワックスを添加し、 α -1,3-グルカンの蓄積を誘導させたいもち病菌では、キチナーゼ処理のみではわずか9%しか溶菌せず、キチナーゼと α -1,3-グルカナーゼの両方で処理しても、ようやく46%が溶菌したに過ぎなかった（図-3B）。このことから、 α -1,3-グルカン蓄積したいもち病菌菌糸ではキチナーゼ分解に対する耐性が増加していることがわかった。また、 α -1,3-グルカン蓄積できない変異株をキチナーゼ単独で処理すると、ほとんどの菌糸で溶菌が見られた。すなわち、細胞壁表層に蓄積した α -

1,3-グルカンはイネのキチナーゼなどの溶解酵素からいもち病菌菌糸を守っていることが推測された。

興味深いことに、イネをはじめ多くの植物では、 α -1,3-グルカナーゼをコードする遺伝子は現在までに見つかっていない。これらの植物では、病原菌の細胞壁MAMPs（キチンや β -グルカン）が α -1,3-グルカンにより覆い隠されていると、菌の侵入が認識できないと予想される。筆者らはこれまでに得られた研究結果から、いもち病菌は感染時に α -1,3-グルカンを細胞壁表層に蓄積することにより、菌糸をイネの細胞壁分解酵素から守ると同時に、キチンなどの細胞壁MAMPsがイネにより認識されるのを回避しているのではないかと考えている。

おわりに

いもち病菌が宿主に侵入するとき、 α -1,3-グルカンによって細胞壁表面を覆い、宿主に悟られずに感染していく様は「ステルス戦闘機」を連想させる。近年Rappleyeらはヒト病原性酵母である*Histoplasma capsulatum*においても、感染時に α -1,3-グルカンが細胞壁表層に分布して β -1,3-グルカンを覆うことにより、細胞のMAMPs認識を妨害して自然免疫による攻撃を回避していることを報告している（RAPPLEYE et al., 2007）。

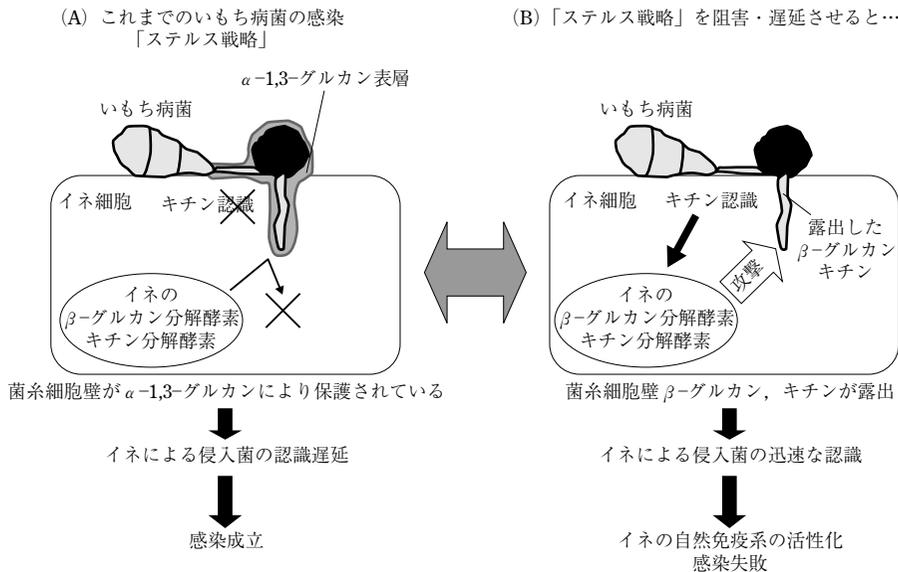


図-4 いもち病菌のステルス戦略と新規防除法のモデル図

いもち病菌は、 α -1,3-グルカンを感染時特異的に細胞壁表層に蓄積することで宿主に悟られないように感染する（「ステルス戦略」）(A)。細胞壁表層への α -1,3-グルカンの蓄積を阻害・遅延させることができれば、宿主が本来もつ自然免疫系の活性化によって感染を防ぐ「新規防除法」の開発につながる。

α -1,3-グルカン欠失による菌の病原性低下は *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis* と いった他のヒト病原性酵母でも見られており, おそらくこれらの菌でも同様に α -1,3-グルカンにより β -1,3-グルカンなどの MAMPs が自然免疫系から隠されているのではないかと考えられている (RAPPEYE et al., 2007)。進化した上で遠い関係にある *H. capsulatum* とイネいもち病原菌で α -1,3-グルカンをステルス因子として利用していることから, おそらく他の病原菌でも同じような「ステルス戦略」をとって感染しているものがあると想像される。このステルス因子を利用した感染戦略は極めて合理的であり, どのように病原菌が宿主と共進化しこの感染戦略を確立したのかは興味深い。

我々はこのステルス戦略を阻害や遅延させられるような技術 (例えば α -1,3-グルカンの合成阻害もしくは分解 (促進) するような薬剤の開発, α -1,3-グルカン分解能を付与した植物の作出等) が開発できれば, 宿主植物による病原菌の侵入認識を早め, 植物が本来もつ自然免疫系の活性化により病原菌を迅速に攻撃するという新

しいコンセプトに基づく防除法になると考えている (図-4)。これらの防除法では病原カビのステルス戦略を阻むことを直接の目的としており, その結果として植物本来がもつ分解酵素や抗菌物質によって病原菌が駆除されたり静菌化されたりするため, 高い防除効果に加えて環境や人にやさしいものになることが予想される。特に α -1,3-グルカン分解を主体にした防除法では耐性菌が出ない可能性が高い。筆者らのグループは植物病原性カビのステルス戦略を標的にした新しい防除法の開発に向けてさらに研究を進めているところである。

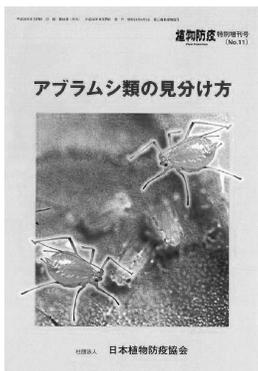
引用文献

- 1) BRITTEL, P. and S. ROBATZEK (2007): *Curr. Opin. Plant Biol.* **10**: 335 ~ 341.
- 2) EL GUEDDARI, N. et al. (2002): *New Phytologist* **156**: 103 ~ 112.
- 3) FUJIKAWA, T. et al. (2009): *Mol. Microbiol.* **73**: 553 ~ 570.
- 4) 農林水産省 (2010): 平成 20 年農林水産統計データ. <http://www.maff.go.jp/j/tokei/index.html>
- 5) RAPPEYE, C. et al. (2007): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**: 1366 ~ 1370.
- 6) van de VEERDONK, F. et al. (2008): *Curr. Opin. Microbiol.* **11**: 305 ~ 312.
- 7) van LOON, L. et al. (2006): *Annu. Rev. Phytopathol.* **44**: 135 ~ 162.

植物防疫特別増刊号 No.11 アブラムシ類の見分け方

社団法人 日本植物防疫協会 編 B5判 103 ページ 口絵カラー
価格 2,520 円 (本体 2,400 円 + 税) 送料 100 円

◆ 農作物を加害するアブラムシ類の見分け方を詳しく解説。薬剤感受性の検定法も掲載。



- § 1. 農作物のアブラムシの見分け方<総説> (宗林 正人)
- § 2. 水稲・畑作物のアブラムシ類 (鳥倉 英徳)
- § 3. 野菜のアブラムシ類 (高橋 滋)
- § 4. 果樹のアブラムシ類 (宗林 正人)
- § 5. 花きのアブラムシ類 (木村 裕)
- § 6. 緑化樹木のアブラムシ類 (宗林 正人)
- § 7. 主要アブラムシの有翅虫による見分け方 (杉本俊一郎)

付録

1. 果樹のアブラムシの見分け方 (宮崎 昌久)
2. 「果樹のアブラムシの見分け方」への補足 (宮崎 昌久)
3. 薬剤感受性検定法 (西東 力)

お問い合わせとご注文は

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753

ホームページ <http://www.jpapa.or.jp/> メール: order@jpapa.or.jp