



## ◇◇◇ コラム ◇◇◇

糸状菌は糸状の菌糸をつくっている真核微生物の総称であり、一般的にはカビと呼ばれることが多い。具体的には子囊菌（注：麹菌など）、担子菌（注：カサをつくるものはキノコと呼ばれる）、酵母、接合菌などが含まれる。糸状菌のうち子囊菌や接合菌などは色のついた粉のような胞子（の集合体）を果物などの養分があって湿った場所上で作り、人間の生活環境でも見つけやすい。糸状菌は光学顕微鏡で形態が観察できる最小の生物であり、本稿で紹介したイネいもち病菌などでも菌が外部環境に应答して形態を

変化させているのがリアルタイムで観察できる。糸状菌はサイズもあいまって「生物」というよりは「静物」という印象を与えがちだが、実際に宿主植物由来の因子の認識後、分単位で感染モードをオンにし、時間単位で感染（戦闘）の準備を整えている菌の姿を見ると、非常にアグレッシブな生き物という印象を受ける。動物の病原菌でも、体温、宿主由来のホルモンなどの因子を認識して感染行動を開始する例が明らかになっており、宿主因子の認識がさまざまな病原性糸状菌の感染開始準備に非常に重要であることがわかる。

する。付着器は植物表面上だけではなく、カバーガラスやプラスチック表面上でも形成される。また、スライドガラス上では付着器は形成されないが、植物表層の特定のワックス成分を添加するとスライドガラス上でも付着器が形成されるようになる。これらのことからイネいもち病菌の付着器形成はカバーガラス、プラスチック、ワックス等で共通する物理化学的特性をもった、ある程度の硬さの表面（以後、誘導表面と呼ぶ）で誘導されると考えられている<sup>(2,3)</sup>。では、イネいもち病菌において、誘導表面の特性の認識と付着器形成をつなぐものは何だろうか？ 真核生物において、外界の環境をシグナルとして細胞内に伝達する仕組み（シグナル伝達経路）の1つとしてヘテロ3両体Gタンパク質を介するものがある。ヘテロ3両体Gタンパク質は $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ サブユニットからなる膜タンパク質であり、膜センサーから細胞外のシグナルを受け取ると $\alpha$ サブユニットと $\beta\gamma$ サブユニットが乖離し、それぞれもしくは両方が細胞内にシグナルを伝達する。ヘテロ3両体Gタンパク質により伝達される細胞外シグナルは生物種により異なるが、パン酵母であればフェロモン、ヒトであれば味や光などである。イネいもち病菌ではヘテロ3両体Gタンパク質 $\beta$ サブユニット（ $G\beta$ ）欠損株では誘導表面上であっても付着器形成が全く見られないことから（図1）、誘導表面の表面特性の認識シグナルの伝達にヘテロ3両体Gタンパク質シグナルが必須で

あることが明らかになった<sup>(4)</sup>。

### 植物病原性糸状菌における植物因子の認識

イネいもち病菌の付着器はカバーガラス等、イネではない表面上でも形成される。しかし、以下に述べるような組織化学的手法を用いた顕微鏡観察から、イネいもち病菌がイネとカバーガラスを区別していることが明らかになった。

#### 1. 感染時特異的な細胞壁多糖分布の再構成

糸状菌（子囊菌、担子菌）において、キチンや $\beta$ -1,3-グルカンが細胞壁の必須構成多糖であり、菌体のコア構造を形成している。これに対して、植物はキチンや $\beta$ -1,3-グルカンの分解酵素をもち、これらの酵素により体内に侵入してきた糸状菌を直接攻撃する。さらに植物には、植物にはない病原菌由来の非自己物質（たとえば、細胞壁キチンの分解産物など）を異物として認識する自然免疫（PTI: pattern-triggered immunity）が備わっており、病原菌の侵入に対して抗菌物質・酵素などの生産を誘導して妨害する。イネいもち病菌は、付着器からイネ体内に侵入するが、侵入菌糸を無事に形成するためには上記のような植物の防御システムから身を守る必要がある。イネいもち病菌侵入菌糸の細胞壁を構成す

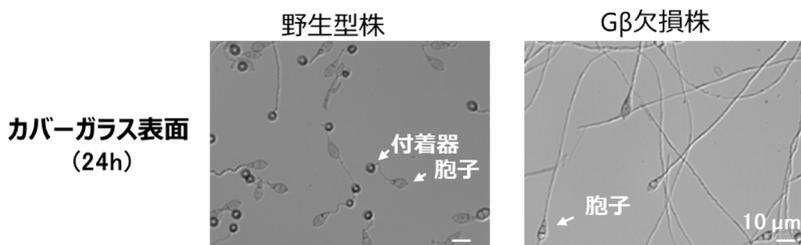


図1 ■ カバーガラス上での付着器形成

ヘテロ3両体Gタンパク質 $\beta$ サブユニット欠損株では付着器形成欠損する。Nishimura et al., Mol. Microbiol., 2003より図を改変。

る多糖の分布を組織化学等の手法を用いて観察しところ、カバーガラス上で発芽したイネいもち病菌では細胞壁のキチンと $\beta$ -1,3-グルカンがはっきりと検出できるが(図2A), 侵入菌糸では $\alpha$ -1,3-グルカンが顕著に検出されるもののキチンと $\beta$ -1,3-グルカンが検出されなくなっていた。ところが、侵入菌糸を $\alpha$ -1,3-グルカン分解酵素で処理すると、キチンと $\beta$ -1,3-グルカンが再び検出されるようになった(図2B)。さらに侵入菌糸の細胞壁中の $\beta$ -1,3-グルカンと $\alpha$ -1,3-グルカンの位置関係を免疫電顕法で解析したところ、 $\alpha$ -1,3-グルカンが $\beta$ -1,3-グルカンに比べ、細胞壁のより外側に位置することが確認された。また、 $\alpha$ -1,3-グルカン合成遺伝子が破壊されたイネいもち病菌では付着器からの侵入菌糸の形成に失敗した。これらの結果は、植物感染時に特異的に $\alpha$ -1,3-グルカンが細胞壁表面に蓄積して細胞壁のキチンと $\beta$ -1,3-グルカンを

覆い隠すということ、イネへの最初の侵入には $\alpha$ -1,3-グルカンが必要であるということを示す<sup>6)</sup>。さらに、感染時特異的に細胞壁表層に $\alpha$ -1,3-グルカンが蓄積しキチンを覆い隠すという現象はイネの重要病害である子囊菌類のゴマ葉枯病菌 (*Bipolaris oryzae*) および担子菌類の紋枯病菌 (*Rhizoctonia solani* AG1-1A) でも観察され、分類学上の門を越えて共通した機構であることが分かった(図3)<sup>6)</sup>。

イネをはじめとした多くの植物ゲノム中に、 $\alpha$ -1,3-グルカン分解酵素遺伝子は見つかっていない。そこで、バクテリア由来の $\alpha$ -1,3-グルカン分解酵素遺伝子をイネに導入し、イネいもち病菌、ゴマ葉枯病菌、門枯病菌を接種したところ、感染が抑制されることが確認された。以上の知見を総合し、さまざまなイネ病原性糸状菌がイネにとって難分解性の $\alpha$ -1,3-グルカンで鎧のように細胞壁

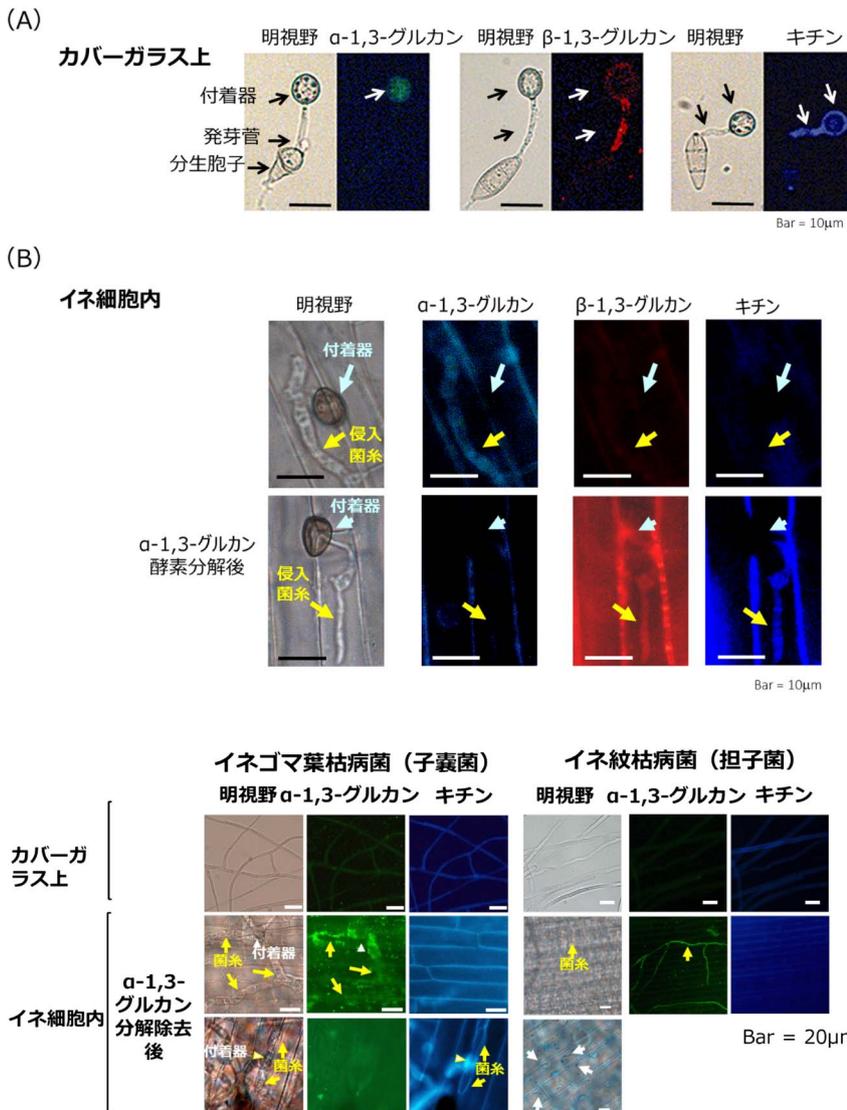


図2 ■ イネいもち病菌細胞壁の構成多糖の分布

(A) カバーガラス上, (B) イネ細胞内イネの細微内では菌糸細胞壁の表面を $\alpha$ -1,3-グルカンが覆う。Fujikawa et al., Mol. Microbiol., 2009より図を改変。

図3 ■ イネゴマ葉枯病菌, イネ紋枯病菌における細胞壁多糖の分布

Fujikawa et al., Plos Pathogen, 2012より図を改変。

表層を覆うことにより、植物の細胞壁分解酵素から菌体を保護するとともに植物の事前免疫 (PTI) を回避して植物体内に忍び込むと考えられた<sup>(5,6)</sup>。

## 植物由来の化合物による植物免疫 (PTI) 回避機構の発動

### 1. イネいもち病菌の認識する植物由来の化合物

イネ病原性糸状菌では $\alpha$ -1,3-グルカンによる細胞壁保護が植物感染時に特異的に起きたことから、植物由来の因子の認識が $\alpha$ -1,3-グルカンの蓄積誘導に関与していると考えられた。イネいもち病菌では、スライドガラスは付着器の誘導表面ではないが、クチクラワックスの構成成分の1つである1,16-hexadecanediol (以下、クチクラワックス) を添加すると、付着器形成を誘導する。そこで、イネ病原性糸状菌におけるクチクラワックス添加による $\alpha$ -1,3-グルカンの細胞壁表面への蓄積誘導を確認した。カバーガラス上では図3に示したようにイネいもち病菌、イネゴマ葉枯病菌、イネ紋枯病菌のいずれの菌においても $\alpha$ -1,3-グルカンの細胞壁表層への蓄積が検出できない。しかし、イネいもち病菌ではクチクラワックスの添加により $\alpha$ -1,3-グルカンの蓄積が検出された (図4)。

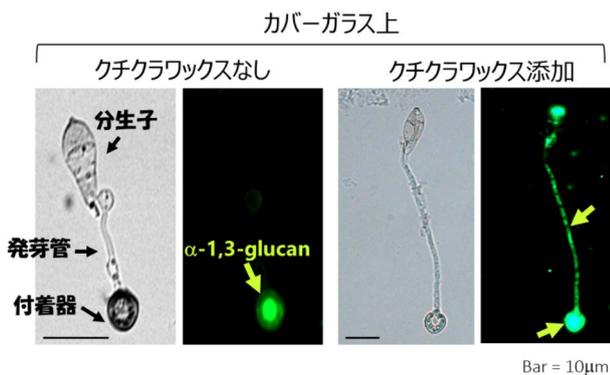


図4 ■ イネいもち病菌における、クチクラワックスによる $\alpha$ -1,3-グルカン蓄積の誘導

Fujikawa et al., Mol. Microbiol., 2009より図を改変。

さまざまなシグナル伝達経路にかかわる遺伝子を欠損もしくは変異させたイネいもち病菌の菌株を用いた解析から、付着器形成に誘導にかかわるヘテロ3両体Gタンパク質シグナルは $\alpha$ -1,3-グルカンの蓄積には関与せず、CWI (Cell Wall Integrity) MAPキナーゼ (MAPK) に属するMps1 MAPK経路がクチクラワックスの添加により活性化し、1,3-グルカンの蓄積を誘導することが見いだされた<sup>(6)</sup>。CWI MAPKは酵母や糸状菌などの真核微生物において細胞壁の異常を感知すると活性化し、細胞壁の修復などを促す役割をもつ<sup>(7)</sup>。これらの結果から、イネいもち病菌はクチクラワックスをもったものを認識すると感染の準備をする、すなわち植物由来の化合物で宿主植物かどうかを見分けているのではないかと推測した。

### 2. 多犯性植物炭疽病菌 (*Colletotrichum fioriniae*) の認識する植物由来の化合物

さらに、さまざまな双子葉植物に感染できる多犯性の植物炭疽病菌 (*C. fioriniae*) を用いて、 $\alpha$ -1,3-グルカン蓄積誘導活性をもつ植物因子の探索を行った。イネ科植物にしか感染しないイネいもち病菌と異なり、宿主範囲が広い多犯性炭疽病菌では植物が共通してもつ因子を認識している可能性が高い。*C. fioriniae*もイネいもち病菌同様、カバーガラス上で付着器を形成するが、 $\alpha$ -1,3-グルカンの蓄積はみられない。カバーガラス上での $\alpha$ -1,3-グルカンの蓄積を指標に、宿主植物の1つであるニンジンから*C. fioriniae*に対して誘導活性をもつ化合物を単離したところ、植物が広くもっているカロテノイドであるルテインが強い誘導活性を示すことを見いだした。しかし、ルテインに近い化学構造をもつ $\beta$ -カロテンや、イネいもち病菌に対して $\alpha$ -1,3-グルカン蓄積誘導活性を示すクチクラワックスに対しては*C. fioriniae*での $\alpha$ -1,3-グルカン蓄積誘導は見られなかった (図5)。つまり、病原性糸状菌には植物由来の特定の化合物の化学構

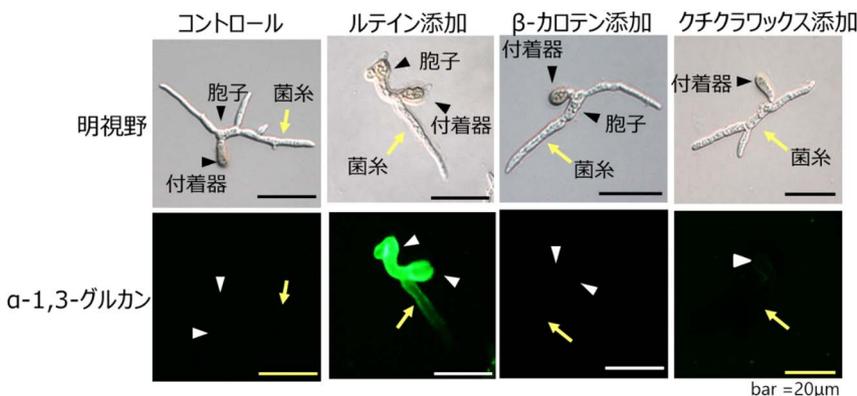


図5 ■ ルテインによる多犯性植物炭疽病菌での $\alpha$ -1,3-グルカン表層蓄積誘導

Otaka et al., Molecules, 2016より図を改変。

造を認識するメカニズムがあり、菌がこの化合物を認識すると $\alpha$ -1,3-グルカンが表層に蓄積され、植物への感染準備を行うことが強く示唆された<sup>(8)</sup>。

### おわりに

植物病原性糸状菌をモデルに用いた研究により、これらの菌が自身の置かれている環境の認識により、ダイナミックに菌の構造を変化させていることが明らかになった。植物—微生物相互作用研究では植物側の立場からストーリーが展開されてきたが、それ以前に、病原菌が「宿主植物を見分けて」、植物の免疫攻撃に備える準備するという段階が感染の成功に重要であるということが菌側に立った研究から見えてきたのではないだろうか。

### 文献

- 1) L. Nalley, F. Tsiboe, A. Durand-Morat, A. Shew & G. Thoma: *PLoS One*, **11**, e0167295 (2016).
- 2) Y. H. Lee & R. Dean: *FEMS Microbiol. Lett.*, **115**, 71 (1994).
- 3) J. Z. Xiao, T. Watanabe, T. Kamakura, A. Ohshima & I. Yamaguchi: *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **44**, 227 (1994).

- 4) M. Nishimura, G. Park & J. R. Xu: *Mol. Microbiol.*, **50**, 231 (2003).
- 5) T. Fujikawa, Y. Kuga, S. Yano, A. Yoshimi, T. Tachiki, K. Abe & M. Nishimura: *Mol. Microbiol.*, **73**, 553 (2009).
- 6) T. Fujikawa, A. Sakaguchi, Y. Nishizawa, Y. Kouzai, E. Minami, S. Yano, H. Koga, T. Meshi & M. Nishimura: *PLoS Pathog.*, **8**, e1002882 (2012).
- 7) A. Yoshimi, K. Miyazawa & K. Abe: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**, 1700 (2016).
- 8) J. Otaka, S. Seo & M. Nishimura: *Molecules*, **21**, 980 (2016).

### プロフィール



西村 麻里江 (Marie NISHIMURA)

<略歴>1993年東京大学大学院(農学系)応用生命工学専攻修士課程修了, 農学博士(2004年)/1993年~農業生物資源研究所(現農研機構生物機能利用研究部門)/1999~2001年米国パデュー大学/2017~2018年新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)技術戦略研究センター/2018年~農研機構本部<研究テーマと抱負>微生物(特に糸状菌)の環境認識とその応用技術開発<趣味>寺社めぐり, 読書, ウォーキング

Copyright © 2022 公益社団法人日本農芸化学会  
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.60.10