



島根大学生物資源科学部生命科学科准教授 丸田 隆典

植物環境順応におけるアスコルビン酸と活性酸素種の相互作用に関する研究

はじめに

移動の自由を持たない植物は常に環境変化(ストレス)に曝されている。ストレス条件では光合成などの一次代謝が攪乱され、その結果として活性酸素種(ROS)の生成が高まり、酸化障害の引き金となる。一方、ROSは防御遺伝子の発現やプログラム細胞死を制御するシグナルとしても重要な機能をもつ。ROSの細胞毒性作用とシグナル機能のバランスは抗酸化システムによって制御されており、特に中心的な役割を果たすのがアスコルビン酸である。植物は独自のアスコルビン酸生成、利用および再生機構を進化過程で獲得し、当該分子の高蓄積と優れたレドックスバッファーとしての利用を可能にしてきた。アスコルビン酸とROSの相互作用は植物の環境順応の根幹を担っており、その分子機構の解明は食糧増産や環境問題解決にも繋がると思われる。

そこで筆者らは、主にモデル植物のシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用いてアスコルビン酸代謝の分子機構や生理学的意義について、特に同代謝によるROS作用のバランス制御への観点から明らかにしてきたので、以下にその概要を紹介する。

1. アスコルビン酸生成および再生の分子制御機構

1-1. アスコルビン酸および光による生合成の制御

動物や微生物とは異なり、植物はL-ガラクトースを中間体とする独自経路(Smirnoff経路)によりアスコルビン酸を合成する。本経路の出発段階を触媒するホスホマンノースイソメラーゼ(PMI)を植物から初めて同定し、アスコルビン酸による同酵素の阻害を介したSmirnoff経路のフィードバック調節機構を明らかにした。また、Smirnoff経路の律速段階がGDP-L-ガラクトースホスホリラーゼ(VTC2)反応であることを遺伝学的に証明し、VTC2遺伝子の発現が光および光合成依存的なシグナル伝達経路によって調節されることを見出した(図1)。

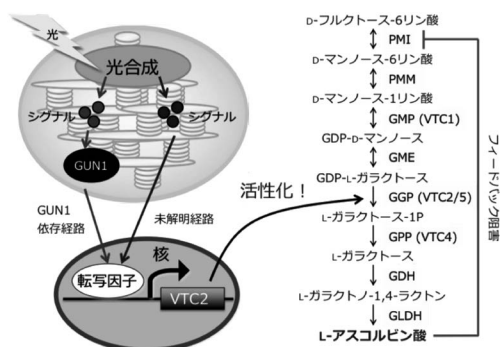


図1. 植物のアスコルビン酸生成の分子機構と調節

1-2. 再生の仕組みと環境順応

アスコルビン酸は、その抗酸化反応の結果として酸化型のモノデヒドロアスコルビン酸(MDHA)およびデヒドロアスコルビン酸(DHA)となる。植物はそれぞれの酸化型に対する還元酵素(MDARおよびDHAR)を独自に有する。これらのアイソフォームは各細胞内区画に効果的に配置され、高濃度で存在するアスコルビン酸の維持に重要であると考えられていた。in vitro生育条件(培地)では、主要アイソフォームの欠損株においてアスコルビン酸濃度の低下とストレス感受性の増大が認められたが、生理学的なin vivo生育条件(土耕)では影響が見られなかった。そのため、再生酵素の機能を相補しうる仕組みの存在について検討し、還元型グルタチオン(GSH)による非酵素的なDHA還元とDHAR酵素反応の協働が還元型アスコルビン酸の維持とストレス耐性に不可欠であること、さらに生合成と再生の両方がストレス下でのアスコルビン酸高蓄積を可能にしていることを初めて明らかにした。

2. アスコルビン酸ペルオキシダーゼの生理機能

2-1. アスコルビン酸ペルオキシダーゼの獲得と進化

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は真核光合成生物に特有のH₂O₂消去酵素であり、電子供与体としてアスコルビン酸を用いる。高等植物には複数のアイソフォームが存在し、細胞質、ミトコンドリア、ペルオキシソームおよび葉緑体のストロマとチラコイド膜上にそれぞれ局在する(図2)。ゲノムワイドな解析により、緑色植物における最初のAPXはストロマ型(sAPX)として単細胞真核藻類で出現し、チラコイド膜型(tAPX)を含む他のアイソフォームは、陸上植物に近縁である淡水性のシャジクモで一斉に獲得されたことが示された(図2)。陸上植物では全アイソフォームが高度に保存されていることから、APXのマルチアイソフォーム化は植物の陸上進出に重要であったと考えられた。

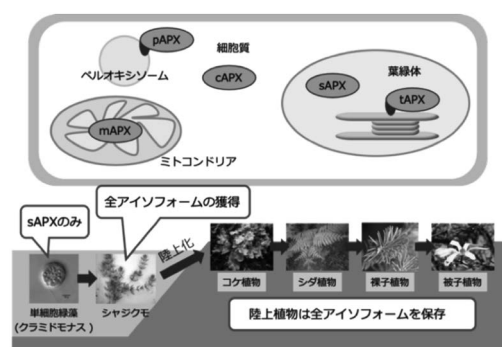


図2. 進化過程におけるAPXアイソフォームの獲得

2.2. 細胞質型の生理機能

APX アイソフォームの中で、細胞質型 (cAPX) の発現はストレス応答性であり、光合成電子伝達系のレドックス状態に由来する葉緑体から核への逆行性シグナルにより調節されることを明らかにした。また、このシグナル伝達経路では熱ショック転写因子が cAPX 発現制御に重要な役割を担うことを見出した。遺伝子欠損株を用いた解析から、cAPX は細胞全体の H_2O_2 バッファーとしてオルガネラの保護に重要であり、物理的傷害などの種々のストレス耐性に不可欠であることを明らかにした。

2.3. 葉緑体型の生理機能

葉緑体型 (sAPX および tAPX) の機能は光合成電子伝達系と共役する。過剰な光エネルギー存在下では、チラコイド膜の光合成電子伝達系より大量の ROS が生成されるため、sAPX および tAPX 欠損株の強光ストレス耐性について調べた。その結果、sAPX または tAPX の欠損により、強光条件における H_2O_2 および酸化タンパク質の蓄積が顕著となり、酸化ストレスマーカーであるグルタチオンの増加も亢進された。これらのレドックス異常は光合成電子伝達活性の阻害と一致したことから、葉緑体型 APX の強光耐性への生理学的重要性が示された。

3. アスコルビン酸代謝による H_2O_2 シグナル伝達系の制御

ROS、特に H_2O_2 はシグナルとして核コード遺伝子の発現を制御する。光合成組織における主要な H_2O_2 の発生源は葉緑体 (光合成) であることから、葉緑体型 APX は光合成由来の H_2O_2 シグナル制御に関与すると予期された。このアイデアを詳細に検討するために、エストロゲン誘導性 RNAi 法によって tAPX の発現を抑制する形質転換株を作出した。これにより、ストレス処理を必要とせず、葉緑体内の H_2O_2 レベルをコンディショナルに増加させることが可能となった。tAPX のコンディショナルな発現抑制に伴い、葉緑体タンパク質の酸化修飾が亢進することが確認され、さらに 774 個もの核コード遺伝子の発現量に有意な変化が認められた。興味深いことに、同定した遺伝子群は既知の酸化ストレス応答性遺伝子を含んでおらず、耐病性やホルモン応答に関与する遺伝子で構成されていた。したがって、葉緑体由来の H_2O_2 は核への逆行性シグナルとして特異的な役割を担うこと、その制御に APX が重要であることが明らかになった。

また、葉緑体 H_2O_2 シグナル伝達の分子機構および生理学的意義を追求するために、上記 774 遺伝子の欠損株ラインから酸化ストレス感受性が増大または低下する変異株を選抜した。その原因遺伝子の詳細な機能解析により、葉緑体 H_2O_2 の下流で耐病性関連遺伝子の発現を調節する TGA 転写因子を同定するとともに、同シグナル伝達系が γ -アミノ酪酸 (GABA) やアントシアニンの合成を促進することで、酸化ストレス防御に貢献することなどを明らかにした (図3)。

おわりに

本研究により、植物のアスコルビン酸代謝の基本メカニズムが明確化され、生理学的意義の理解も大きく進展した。植物は独自の生合成および再生系を獲得することによって、アスコルビン酸を高蓄積することが可能になった。また、APX の獲得

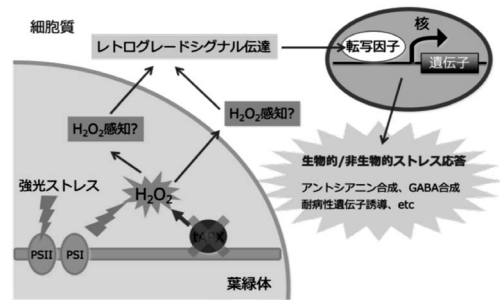


図3. 葉緑体由来の H_2O_2 シグナル伝達機構

により当該化合物の抗酸化剤としてのポテンシャルが飛躍的に高められた。アスコルビン酸代謝系の「ROS制御能力」は、ROSの細胞毒性作用をできるだけ排除し、シグナルとして有効活用する上で極めて重要であることがわかってきた。

アスコルビン酸は我々ヒトの健康を維持する上で不可欠な栄養素であるため、アスコルビン酸代謝系の改変は農作物の環境ストレス耐性能および栄養価の両方を底上げするポテンシャルを秘めている。これを達成するために未解決の課題の一つは、アスコルビン酸代謝系の強化がROSのシグナル機能に及ぼす影響である。ROS消去能力を飛躍的に高めることで、ROSシグナルの必要量を維持できず、環境ストレス耐性や成長などに悪影響をもたらす可能性があるかもしれない。また現在、筆者らの研究を中心として、アスコルビン酸の分解産物の潜在的な毒性が示唆されつつある。今後、これらの課題に特に注目し、アスコルビン酸-ROSの相互作用を介した植物の環境順応機構をより詳細に明らかにすることで、植物代謝生理学の観点から農芸化学の発展に貢献したい。

謝 辞 本研究は近畿大学農学部 (植物分子生理学研究室) および島根大学生物資源科学部 (生物化学研究室) で行われたものです。まず、研究者になるきっかけを与えていただき、公私にわたってご指導、ご鞭撻を賜り、さらに本奨励賞にご推薦くださいました重岡 成先生 (近畿大学教授) に心より感謝申し上げます。また、温かいご指導とサポートを賜りました石川孝博先生 (島根大学教授)、澤 嘉弘先生 (島根大学名誉教授)、(故)柴田 均先生 (島根大学名誉教授)、常日頃より激励をいただいた川向 誠先生 (島根大学教授)、研究の楽しみ方を深く魅せてくださった Frank Van Breusegem 先生 (ゲント大学教授) に心より感謝いたします。すべてのお名前を挙げることはできませんが、日頃からご支援を賜りました島根大学生物資源科学部生命科学科、日本農芸化学会中四国支部の先生方、ならびに共同研究を実施してくださった他大学の研究者の皆様へ厚く御礼申し上げます。最後に、これまでに所属した研究室において共同研究者として多大なご協力をいただきました藪田行哲博士 (現鳥取大学)、野志昌弘博士、小川貴史博士 (現島根大学)、横井彩子博士 (現農研機構)、田部記章博士、吉村和也博士 (現中部大学)、田茂井政宏博士 (近畿大学)、Amna Mhamdi 博士 (ゲント大学)、Pavel Kerchev 博士 (現メンデル大学ブルノ)、ならびに本研究を支えてくれた全ての学生諸氏に感謝申し上げます。