

植物病原性糸状菌をモデルに用いた糸状菌における環境認識と応答に関する研究



国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）西村 麻里江

はじめに

糸状菌（いわゆるカビ）と人との関わりは、人、家畜、農作物の病気に始まり、発酵食品・調味料の生産への利用、さらには近代の酵素等の工業生産まで人間の生活の歴史と重なっている。

日本のように温暖、湿潤な環境下では様々な場所で糸状菌が増殖する。なかでも、農作物での糸状菌の増殖（植物病害）や住環境や機械・設備等での糸状菌の増殖（カビ汚染）等は食料の損失、アレルギー、劣化等の大きな問題を引き起こしており、人体に安全な糸状菌の制御技術の開発は社会ニーズが高い。現状の抗菌技術は直接的な殺菌が中心であるが、菌の生育を異なる方法で制御できればより望ましい。

糸状菌の発芽や増殖や孢子形成が水分、浸透圧、栄養素、特定の光に応答することは知られている。しかし多くの植物病原性糸状菌は感染する植物が決まっており（宿主特異性）、さらに感染器官形成にも誘導条件があることから、それ以外の環境因子も菌はセンシングして厳密に応答しているのではないかと推測した。この推測を確認するために、環境への応答が明確なイネ病原性糸状菌であるイネいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*) をモデルに用いて研究を行い、得られた知見を新たな抗菌技術に展開することを試みた。

1. 糸状菌における表面認識と形態形成

1-1. イネいもち病菌における付着器形成

イネいもち病菌はイネ科植物に深刻な被害をもたらす糸状菌であり、世界のコメ生産の約30%に損失をもたらすとされている¹⁾。

イネ葉に対してイネいもち病菌は付着器と呼ばれる感染期に特異的に形成される球形の器官を形成し、付着器を介して植物体に侵入する。付着器はいもち病菌孢子から伸長した発芽管（菌糸）の先端に形成される。付着器は植物表面上だけでなくプラスチック表面や植物ワックスの存在や cAMP の添加により形成が誘導されることから、本菌には表面特性を認識して細胞内にその認識シグナルを伝達する機構があり、cAMP が関与していると考えられた。そこで、当時研究が先行していたパン酵母やヒトでのシグナル伝達経路の研究成果を参考に、イネいもち病菌において環境認識シグナルや cAMP シグナルに関係するシグナル経路に含まれる遺伝子の探索を行った。ヘテロ3両体Gタンパク質は α , β , γ サブユニットからなる膜タンパク質であり、センサーを介して外界からフェロモン等のシグナルを受け取ると α サブユニット、 $\beta\gamma$ サブユニットの片方もしくは両方が細胞内にシグナルを伝達する。イネいもち病菌ではヘテロ3両体Gタンパク質 β サブユニット欠損株では付着器形成が全く見られないことから、表面特性の認識シグナル伝達にヘテロ3両体Gタンパク質 β サブユニットが必須であることが植物病原性糸状菌で初めて明らかになった²⁾。

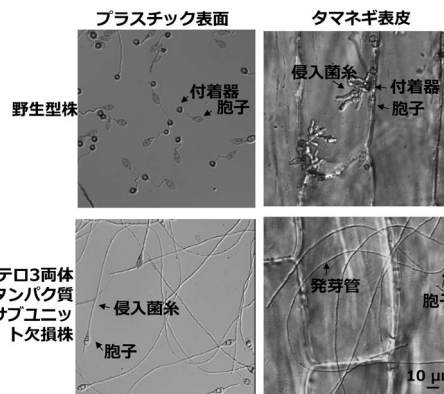


図1. 付着器形成誘導表面上でのヘテロ3両体Gタンパク質 β サブユニット欠損株

ヘテロ3両体Gタンパク質 β サブユニット欠損株では誘導表面であっても付着器は形成されない（文献2より図を改変）

1-2. 付着器形成に関わる表面特性の解析と応用

これまでイネいもち病菌の付着器形成誘導には、表面の疎水性と硬さが認識のカギとなると考えられてきた^{3,4)}。そこで、金を蒸着したシリコンに対して自己組織化法で表面を分子修飾した基板を用いて、表面の化学的特性がイネいもち病菌の接着に及ぼす影響を検証した。ほぼ同じ疎水性を示すが異なる官能基により修飾された基板でイネいもち病菌の付着器形成を観察したところ、疎水性と付着器形成率には相関がないことが明らかになった。また、水酸基やメトキシオリゴエチレングリコール修飾などの分子修飾表面上ではイネいもち病菌は発芽するものの、発芽管の接着と付着器の形成が阻害された。さらにメトキシオリゴエチレングリコール修飾表面ではイネいもち病菌のみならず、多くの糸状菌カビの接着性が大きく低下することを見出した⁵⁾。本結果は、表面特性により糸状菌の接着を制御できることを示しており、殺菌性のない抗菌コーティング技術への応用が期待できると考えている。

2. 植物病原性糸状菌における植物因子の認識

2-1. 感染時特異的な細胞壁多糖分布の再構成

糸状菌（子嚢菌、担子菌）において、キチンや β -グルカン は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。一方、植物はキチンや β -グルカンの分解酵素を持ち、これらの酵素により体内に侵入してきた糸状菌を直接的に攻撃すると考えられている。さらに近年、植物には非自己（異物）を認識する自然免疫があり、キチンのような菌細胞壁の必須構成多糖の分解産物がこの自然免疫の発動させることが知られている。しかし植物病原菌はこのような植物の防御システムを回避して植物体内に侵入（感染）する。そこで、イネいもち病菌を用いて病原性糸状菌がどのような機構で植物免疫を回避して侵入を

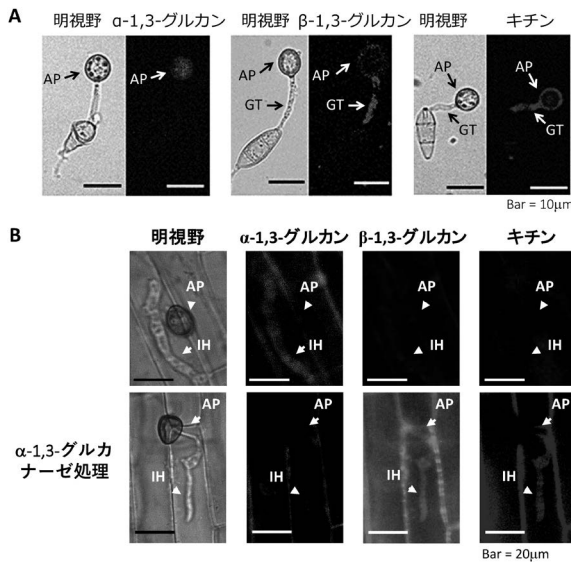


図2. イネいもち病菌の細胞壁多糖分布
(A) スライドガラス上で培養した菌体 (B) イネ侵入後の菌糸 (文献6より図を改変) AP: 付着器, GT: 発芽管, IH: 侵入菌糸

成功させるのか解析を行った。組織化学等の手法を用いて菌の細胞壁の構成を観察しとて、イネいもち病菌では植物感染時に特異的に α -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 β -1,3-グルカンを覆い隠すことを発見した⁷⁾。

感染時特異的な細胞壁表面層への α -1,3-グルカンの蓄積は、イネの重要病害であるゴマ葉枯病菌 (*Bipolaris oryzae*) だけではなく、分類学上門の異なる担子菌の紋枯病菌 (*Rhizoctonia solani* AG1-1A) においても観察された⁶⁾。

いずれの菌においても α -1,3-グルカンの細胞壁表面への蓄積により、菌体がキチナーゼに分解されにくくなり、 α -1,3-グルカンが欠損したイネいもち病菌ではイネへの感染能を失った。イネは α -1,3-グルカン分解酵素を持たない。そこで、バクテリア由来の α -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。以上の発見から、多様なイネ病原性糸状菌が植物難分解性の α -1,3-グルカンで鎧のように細胞壁表面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し、さらには植物免疫を回避してこっそり忍び込むするという「ステルス感染戦略モデル」を提唱した^{6,7)}。

2.2. 植物成分による細胞壁再構築の誘導

イネ病原性糸状菌では α -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 α -1,3-グルカンの蓄積誘導に関与していると推測した。そこで、いもち病菌を用いて解析を行ったところ、イネいもち病菌では、イネククラワックスの構成成分の1つである1,16-hexadecanediolがMAPキナーゼシグナル伝達経路の1つであるMps1 MAPK経路を活性化し、 α -1,3-グルカンの蓄積を誘導することを見出した。しかし1,16-hexadecanediolはゴマ葉枯病菌、紋枯病菌に対しては α -1,3-グルカン蓄積誘導活性を示さなかった。そこで、様々な植物に感染できる多犯性の植物炭疽病菌 (*Colletotrichum fioriniae*) を用いて、 α -1,3-グルカン蓄積誘導活性を持つ植物因子の探索を行ったところ、植物カロテノイドであ

るルテインが強い誘導活性を示すことをみいだした。さらにルテインは複数の *Colletotrichum* 属菌だけではなくゴマ葉枯病菌に対しても誘導活性を示したが、いもち病菌には活性を示さなかった。一方、ルテインに近い化学構造を持つ β -caroteneに対して *Colletotrichum* 属菌は α -1,3-グルカン蓄積誘導活性を示さなかった。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 α -1,3-グルカンが表面に蓄積され、植物への感染準備を行うことが強く示唆された。

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。菌の環境認識をより詳細に解析し、理解することにより、菌の環境応答を利用した安全かつ効果的な糸状菌盛業技術の開発に貢献できるのではないかと考えている。

(引用文献)

- Nally et al. Economic and Environmental Impact of Rice Blast Pathogen (*Magnaporthe oryzae*) Alleviation in the United States. PLoS ONE, 11, e0167295, (2016)
- Nishimura M, Park G, Xu JR The G-beta subunit MGB1 is involved in regulating multiple steps of infection-related morphogenesis in *Magnaporthe grisea*. Molecular Microbiology, 50, 3, p 231-244, (2003)
- Lee YH, Dean R Hydrophobicity of contact surface induces appressorium formation in *Magnaporthe grisea*. FEMS Microbiology Letters, Vol. 115, 1, p 71-75, (1994)
- Xiao J-Z, Watanabe T, Kamakura T, Ohshima A, Yamaguchi I Studies on cellular differentiation of *Magnaporthe grisea*. Physicochemical aspects of substratum surfaces in relation to appressorium formation. Physiognical and Molecular Plant Pathology, Vol. 44, p 227-236, (1994)
- 中野美紀, 三宅晃司, 西村麻里江 基体表面を有機分子で修飾することにより、菌体を除去できる表面処理剤及び該有機分子による表面処理方法並びに抗菌処理した基体, 特許6294443, (2018)
- Fujikawa T, Kuga Y, Yano S, Yoshimi A, Tachiki T, Abe K, Nishimura M. Dynamics of cell wall components of *Magnaporthe grisea* during infectious structure development. Molecular Microbiology, 73, p 553-570, (2009)
- Fujikawa T, Sakaguchi A, Nishizawa Y, Kouzai Y, Minami E, Yano S, Koga H, Meshi T, Nishimura M. Surface α -1,3-glucan facilitates fungal stealth infection by preventing innate immunity in plants. PLoS Pathogens, 8, e1002882, (2012)
- Otaka J, Seo S, Nishimura M Lutein, a natural carotenoid, induces α -1,3-accumulation on the surface of the cell wall in fungal plant pathogens. Molecules, 21, 980, (2016)

謝辞 本研究の成果は農研機構生物機能利用部門(旧 農業生物資源研究所)における研究から得られました。研究を支えてくれた研究室のメンバー、共同研究者の皆様、研究所の同僚に心より感謝いたします。特に様々な御助言とサポートをくださった東北大の五味勝也先生、阿部敬悦先生、金沢工大の町田雅之先生、Purdue大JinRong Xu先生をはじめ、糸状菌研究者の皆様にお礼申し上げます。卒業後も見守ってくださった別府輝彦先生、堀之内末治先生、吉田稔先生、西山真先生にお礼申し上げます。本研究は生研センター、科研費、JST、農林水産省からの支援を受けて実施されました。