

植物免疫システムによる内生・共生微生物の制御

Host Immunity-mediated Control of Endophytic/Symbiotic Microbes in Plants

李 泰洪¹, 北川のぞみ¹, 晝間 敬¹, 西條 雄介^{1*}
TAE-HONG LEE¹, NOZOMI KITAGAWA¹, KEI HIRUMA¹ and YUSUKE SAJO^{1*}

¹ 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

* TEL: 0743-72-5690

* E-mail: saijo@bs.naist.jp

¹ Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, 8916-5, Takayamacho, Ikoma, Nara 630-0912, Japan

キーワード: シロイヌナズナ, 内生菌, 共生, 植物免疫, リン欠乏

Key words: *Arabidopsis thaliana*, endophyte, symbiosis, plant immunity, phosphate starvation

(原稿受付 2017年3月31日/原稿受理 2017年4月11日)

1. はじめに

植物は、日々変動する土壌環境中から生存に必須の様々な栄養素を獲得している。例えば、リンは植物の3大栄養素の一つであり、光合成やエネルギー輸送など多くの生体内反応において中心的な役割を果たしている。しかし、植物が栄養素として利用できるソースは無機リン酸の一部の可溶性リン酸だけであり、土壌中に多く存在する金属イオンと結合した不溶性リン酸は利用できない^{1,2)}。また、根の根毛や表皮細胞のリン酸トランスポーターによる可溶性リン酸の能動的な吸収の結果、根の周りからは無機リン酸が失われてしまっている³⁾。そのため、リン欠乏時のリン酸吸収のためには、植物は土壌微生物との相互作用が極めて重要な役割を果たしている。植物のリン酸吸収に役立つ微生物として、特にアーバスキュラー菌根菌の研究が精力的に行われてきた。アーバスキュラー菌根菌は植物の根に共生して菌糸を土壌中に張りめぐらせることで植物のリン酸吸収域を広げる²⁾。一方で植物は菌根菌に光合成産物である糖類を供給する。アーバスキュラー菌根菌は80%の陸上植物と共生関係を築いている⁴⁾一方で、分子遺伝学的研究に優れたモデル植物であるシロイヌナズナを含むアブラナ科植物などは宿主としない⁵⁾。したがって、植物の微生物共生の分子制御メカニズムに関して、シロイヌナズナにおいて集積している最先端の植物科学の知見を十分に活用できないでいる。また生きた植物組織内でしか増殖できない絶対共生菌であるため、遺伝子操作がほぼ不可能であることから、共生関係を支える菌側のメカニズムも明らかではなかった。近年、スペイン中心部の原野に自生するシロイヌナズナから *Colletotrichum tofieldiae* という糸状菌が単離された⁶⁾。*C. tofieldiae* は、顕著な病徴を起こすことなく植物に感染する(以降、単純化のために「共生」と呼ぶ)内生糸状菌であり、シロイヌナズ

ナのリン酸吸収を補助する⁷⁾。しかしながら、特定の抗菌性物質を合成できないシロイヌナズナ変異体においては、*C. tofieldiae* が過剰に増殖することで植物が枯死することが報告されている⁷⁾。このことから、*C. tofieldiae* とシロイヌナズナとの共生関係の樹立には宿主免疫システムによる微生物制御が重要であることが窺える。同時に、内生糸状菌を宿主が制御することが菌の有益な性質を引き出すためには必要であることが示唆される。そこで、本稿では主に植物による内生菌の制御機構について、シロイヌナズナと *C. tofieldiae* を用いた新しい微生物共生のモデル実験系により明らかになったことを中心に概説する。

2. *C. tofieldiae* はリン欠乏条件下でシロイヌナズナの成長を促す

アーバスキュラー菌根菌は、8割の陸上植物と共生しており、植物の陸上への適応放散に貢献したと考えられている。一方、アブラナ科植物はアーバスキュラー菌根菌やマメ科植物に特有の根粒細菌と共生関係を結ばないことが知られており、アブラナ科植物の微生物共生に関してはよくわかっていなかった。

C. tofieldiae は、貧栄養土壌で生育する野外の健康なシロイヌナズナから分離された糸状菌である。本菌は、近縁の炭疽病菌である *Colletotrichum incanum* とつい880万年前に分離したことが比較ゲノム解析から推定されている⁸⁾。しかしながら、*C. tofieldiae* はシロイヌナズナの根に未分化な菌糸を用いて侵入した後、皮層細胞層において活物共生関係を樹立し目に見える病徴を引き起こさない。また、リン欠乏環境下において植物成長を促進する。その際、菌糸を介して宿主の根へとリン酸を輸送する活性を持つ。ところが、リン充分条件下においては、*C. tofieldiae* によるリン酸輸送活性は検出されず、

植物成長も促さないことが報告されている⁷⁾。このことから、*C. tofieldiae* と植物の共生関係は、植物が利用可能なリン酸のレベルに応じて調節されていると考えられる。

アーバスキュラー菌根菌との共生に伴い、宿主植物において特定のリン酸トランスポーターの発現が顕著に誘導される⁴⁾。*C. tofieldiae* のシロイヌナズナへの感染時においても同様の現象が観察されている⁷⁾。また、シロイヌナズナにおいてリン欠乏時に誘導される適応応答(リン欠乏応答: Phosphate Starvation Response (PSR))のマスター制御転写因子である PHR1 (PHOSPHATE STARVATION RESPONSE 1) およびそのホモログである PHL1 (PHR1-LIKE 1) が *C. tofieldiae* による成長促進効果に必要であることが判明している⁷⁾。以上の研究から、シロイヌナズナは菌根菌と類似した機能を持つ *C. tofieldiae* との共生関係を活かし、貧栄養土壌での適応に役立っていたことが推察される。*C. tofieldiae* が病原菌と極めて近縁な関係にあることから、病原菌と共生菌の違いは、これまで考えられていたよりも小さいことが示唆される。今後、互いに近縁な微生物間のわずかな差異に着目することで、一方は病原型、他方は共生型の感染様式となるメカニズムに関して解明が進むと期待される。

3. *C. tofieldiae* による成長促進効果には植物による感染制御が必要である

植物の PHR1 および PHL1 は、*C. tofieldiae* による成長促進効果が発揮されるために必要である。興味深いことに、PHR1 と PHL1 の両方を欠損した *phr1 phl1* 二重変異体においては、リン欠乏時に *C. tofieldiae* の感染量が増大することが判明している⁷⁾。このことは、植物のリン欠乏応答が正常に働くことが共生微生物の過度の感染(ひいては病害)の抑止に重要であることを示唆している。このことに関連して、*C. tofieldiae* は常に植物の成長を促す共生菌として振舞うのではなく、植物免疫に

欠陥のある変異体(抗菌性のトリプトファン由来の二次代謝物を合成できない変異体)では過剰に感染し、植物を枯死させることが知られている⁷⁾(図1)。したがって、*C. tofieldiae* と共生関係が樹立され植物の成長が促進されるためには、植物が免疫システムを駆使して菌の感染量を適切な範囲に制御することが重要であると考えられる。

さらに、*C. tofieldiae* が感染したシロイヌナズナの根における遺伝子発現応答をゲノムワイドで詳細に調べたところ、リン欠乏時にはリン充分条件と比較してトリプトファン代謝関連遺伝子を含む防御応答関連遺伝子の発現が有意に低下していた。すなわち、リン欠乏条件では植物は共生菌の感染を許容・推進する方向に防御応答を弱めることが示唆された。一方で、病原菌である *C. incanum* に対する防御応答はリン欠乏条件においてもリン充分条件と同等に保持されていることが示されている⁸⁾。

植物は、細胞膜表面に局在する免疫センサーを介して微生物に広く保存される構成成分(microbe-associated molecular pattern: MAMP)を感知することにより微生物の存在を認識する。MAMPの代表例には、糸状菌の細胞壁成分であるキチンや細菌の鞭毛タンパク質フラジェリンなどが含まれ、これらを特定の受容体で認識すると植物は一連の防御応答を活性化することが知られている⁹⁻¹²⁾。共生菌 *C. tofieldiae* と病原菌 *C. incanum* はともに糸状菌であり、キチンなどのMAMPを共有していると想定される。しかしながら、上で述べたような植物の防御応答の違いはMAMPの認識のみでは説明できない。特に両菌への応答の違いが際立つリン欠乏時には、植物が菌の感染様式に応じて免疫応答を制御するメカニズムを働かせていることが予想される。実際に、*C. tofieldiae* と *C. incanum* が感染した植物の根を比較すると、*C. incanum* 感染時には根の組織が激しく破壊されていることが報告されている⁸⁾。植物は、MAMPに加えて植物自身の細胞ダメージによって生成される分子パターン(damage-associated molecular pattern: DAMP)を感知することによって防御応答を活性化させることも

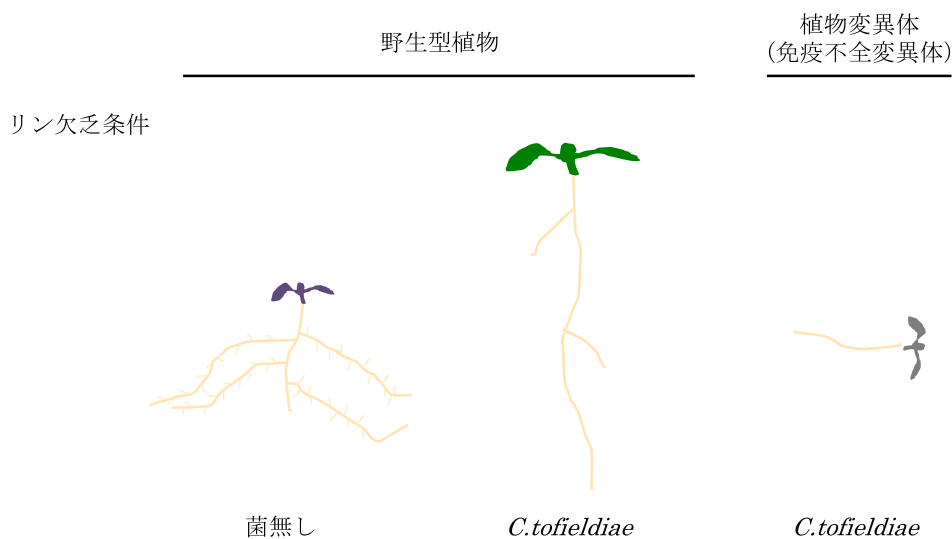


図1. *C. tofieldiae* の植物成長促進には植物免疫応答が必要である

C. tofieldiae は、リン欠乏時にシロイヌナズナの成長を促す。一方で、トリプトファン由来の抗菌性二次代謝物が合成できない免疫不全変異体においては、*C. tofieldiae* は成長を阻害し植物を枯死させる。

知られており¹³⁾, リン欠乏条件下における病原菌への防御応答の維持には DAMP 応答が関与している可能性が考えられる。あるいは, 病原菌の中には自身のキチンを隠すことで植物免疫センサーによる認識を防ぐ戦略をとるものも知られており¹⁴⁾, 共生菌はキチン等の MAMP をより効果的に隠すことで植物による認識を逃れている可能性も考えられる。実際に, *C. tofieldiae* のゲノム上にはキチンを隠すのに役立つキチン結合性のタンパク質をコードする遺伝子が, 病原菌 *C. incanum* と比較してかなり多く存在している⁹⁾。

今後, PHR1 と PHL1 などによって制御されるリン欠乏応答と, 植物の防御応答を制御するメカニズムがどのように統合されているかを紐解くことで, 環境条件に応じて微生物との相互作用を巧みに調節する植物の環境適応戦略が明らかになってくると期待される。

4. 植物微生物共生の成立メカニズムの解明に向けて

環境条件によって植物が共生微生物の感染を制御することを示唆する知見は上記のシロイヌナズナと *C. tofieldiae* の相互作用以外にも報告されている。例えば, アーバスキュラー菌根菌が感染した植物の根に可溶性リン酸を与えると, 新たな菌根形成が著しく阻害され, 菌根を介したリン吸収が低下する^{15,16)}。この背景には, リン酸供給による宿主免疫の活性化が菌根菌の感染阻害につながると考えられるが, 分子制御メカニズムは不明である。また, シロイヌナズナの成長を促進する他の内生糸状菌である *Piriformospora indica* についても, 共生関係の維持にはトリプトファン由来の二次代謝産物による菌の感染制御が必要であることも報告されている¹⁷⁾。菌側においても, 牧草であるペレニアスライグラスに感染する *Epichloë festucae* においては, 活性酸素を生成できない変異菌は植物葉内で過剰に増殖し宿主の成長を阻害することが報告されている¹⁸⁾。このことから, 植物と共生関係を維持するためには植物・菌双方が菌の植物内感染を適切な範囲に制御することの重要性が窺える。

一方で, 共生菌が, 病原菌と同様に小さな分泌タンパク質 (エフェクターと総称される) を植物に注入して植物免疫を抑制する例が, アーバスキュラー菌根菌と外生菌根菌において報告されている^{19,20)}。さらに, マメ科植物の根に根粒を形成し窒素固定を行うことで宿主に窒素源を供給する共生細菌である根粒菌は, Type III 分泌システムの欠損により, 宿主感染機能ひいては共生機能を失うことが報告されている²¹⁾。病原細菌は, Type III 分泌システムを介して, 植物免疫をかく乱するエフェクター因子を分泌することから, 根粒菌も同様にエフェクター因子を用いて植物免疫を操作することで植物に感染していることが示唆される²¹⁾。この例からも, 共生微生物であろうと病原微生物であろうと, まずは宿主植物の免疫システムにどのように対処して感染を成立させるかが鍵であることが明らかである。

以上をまとめると, 植物の微生物共生を支える分子メカニズムについて解明を進めるには, 植物・微生物双方の観点から相互作用戦略を紐解いていくことが重要である。宿主植物は, 往々にして環境条件や感染程度次第で感染微生物に対する応答を柔軟に変化させるため, 病原

菌と共生菌の関係性も二者択一というよりはむしろ連続的なものである。これまで集積された病原微生物に関する研究知見を生かしながら, 新しい共生微生物・内生微生物モデルと宿主植物との相互作用戦略を明らかにしていくことで, 将来的に共生微生物・内生微生物を有効かつ安定的に利用する技術の開発にもつながるものと期待される。

文 献

- Lambers, H., J. Raven, G. Shaver, and S. Smith. 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol.* 23: 95–103.
- López-Arredondo, D., M. Leyva-González, S. González-Morales, J. López-Bucio, and L. Herrera-Estrella. 2014. Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65: 95–123.
- Johri, A. et al. 2015. Fungal association and utilization of phosphate by plants: Success, limitations, and future prospects. *Front Microbiol.* 6: 984.
- Bonfante, P. and A. Genre. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat. Commun.* 1: 48.
- Venkateshwaran, M., J. Volkening, M. Sussman, and J.-M. Ané. 2013. Symbiosis and the social network of higher plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16: 118–127.
- García, E., Á. Alonso, G. Platas, and S. Sacristán. 2013. The endophytic mycobiota of *Arabidopsis thaliana*. *Fungal Divers.* 60: 71–89.
- Hiruma, K. et al. 2016. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent. *Cell.* 165: 464–474.
- Hacquard, S. et al. 2016. Survival trade-offs in plant roots during colonization by closely related beneficial and pathogenic fungi. *Nat. Commun.* 7: 11362.
- Liu, T. et al. 2012. Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. *Science.* 336: 1160–1164.
- Miya, A. et al. 2007. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 19613–19618.
- Wan, J. et al. 2008. A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 20: 471–481.
- Gómez-Gómez, L. and T. Boller. 2000. FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol. Cell.* 5: 1003–1011.
- Huffaker, A., G. Pearce, and C. A. Ryan. 2006. An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103: 10098–10103.
- Sánchez-Vallet, A., J. Mesters, and B. Thomma. 2015. The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. *Fems. Microbiol. Rev.* 39: 171–183.
- Nagy, R., D. Drissner, N. Amrhein, I. Jakobsen, and M. Bucher. 2009. Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated. *New Phytol.* 181, 950–959.
- Kobae, Y. et al. 2016. Phosphate treatment strongly inhibits new arbuscule development but not the maintenance of arbuscule in mycorrhizal rice roots. *Plant Physiol.* 171: 566–579.
- Lahrmann, U. et al. 2015. Mutualistic root endophytism is not associated with the reduction of saprotrophic traits and requires a noncompromised plant innate immunity. *New Phytol.* 207: 841–857.
- Tanaka, A., M. Christensen, D. Takemoto, P. Park, and B. Scott. 2006. Reactive oxygen species play a role in regulating a fungus-perennial ryegrass mutualistic interaction. *Plant Cell.*

- 18: 1052–1066.
- 19) Plett, J. et al. 2011. A secreted effector protein of *Laccaria bicolor* is required for symbiosis development. *Curr. Biology*. 21: 1197–1203.
- 20) Kloppholz, S., H. Kuhn, and N. Requena. 2011. A secreted fungal effector of *glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. *Curr. Biol.* 21: 1204–1209.
- 21) Deakin, W. and W. Broughton. 2009. Symbiotic use of pathogenic strategies: Rhizobial protein secretion systems. *Nat. Rev. Microbiol.* 7: 312–320.