

植物における免疫誘導と病原微生物の感染戦略

Plant immunity and inhibitory mechanism of host immunity by pathogens

川崎 努

Tsutomu Kawasaki

近畿大学農学部 バイオサイエンス学科植物分子遺伝学研究室

要約

植物は細胞膜に存在する病原微生物の認識にかかわる受容体により、侵入してきた病原微生物の構成成分を検出し、さまざまな免疫応答を誘導する。近年、病原微生物の認識にかかわる受容体の構造と機能が明らかにされるとともに、それら受容体と複合体を形成するタンパク質が同定され、病原微生物の認識にもなう免疫誘導の分子機構が明らかになってきた。一方、病原微生物は植物の免疫誘導を抑制するため、エフェクターとよばれる自らのタンパク質を植物の細胞内に分泌し、病原微生物の認識にかかわる受容体を介した免疫反応の誘導を阻害していることがわかってきた。ここでは、受容体を介した植物の免疫誘導の分子機構と、エフェクターを利用した病原微生物の感染戦略に関して、最新の知見を解説する。

はじめに

毎年、世界の作物生産の約 15%は病害により失われている。一方で、世界的に爆発的な人口の増加が予測されており、国連食糧農業機関の発表によると、2050年には世界の人口は90億人をこえ、現在より食糧の60%の増産が必要であると試算されている。しかし、単位面積あたりの作物の生産量を大幅に向上させることは非常にむずかしく、病害による15%の損失をいかに抑えるかが今後の重要な課題のひとつになっている。

野菜や庭木などを育てていると、いろいろな病気が発生しその対策に悩まされる。植物を侵している病原微生物も、細菌、カビ、ウイルスなど、さまざまである。病気になった植物をみていると、あたかも植物が病原微生物から一方的な攻撃を受けているようにみえるが、本当にそうだろうか。地球上には多くの病原微生物が存在しているが、それらがすべての植物に感染できるわけではなく、個々の病

原微生物は特定の植物にしか感染できない。つまり、植物は多くの病原微生物の感染を阻止しているのである。では、植物はどのようにして病原微生物の感染を阻止しているのだろうか。動物では一般に“免疫”として、病原微生物の感染にともない防御応答を誘導することが知られている。植物も動物の免疫と同じような方法で病原微生物に対し防御応答を誘導しているのだろうか。

動物の免疫応答は自然免疫と獲得免疫とに大別される。獲得免疫は古くからよく知られている抗原抗体反応にもとづく免疫反応であり、病原微生物の感染から抗体ができるまで数週間を要する。一方、自然免疫は病原微生物の感染にともない迅速に誘導される免疫応答である。自然免疫反応では、宿主（感染をうける側を宿主という）の細胞膜に存在する受容体が、病原微生物の構成成分（PAMP: pathogen-associated molecular pattern, 病原微生物関連分子パターン）を検出することにより誘導される¹⁾(図1)。代表的なPAMPとして細菌のべん毛タンパク質やリポ多糖などが知られている。動物の細胞の表面にはこのようなPAMPを認識するセンサー（受容体）が存在し、それらは総称してパターン認識受容体（pattern recognition receptor: PRR）とよばれている。また、パターン認識受容体がPAMPを検出することにより誘導される免疫反応をPAMP誘導免疫（PAMP-triggered immunity: PTI）とよぶ。動物のパターン認識受容体の代表としてToll様受容体（Toll-like receptor: TLR）が知られており、Bruce A. BeutlerとJules A. HoffmannはToll様受容体の発見により2011年にノーベル生理学・医学賞を受賞している。ヒトには11個のToll様受容体が存在し、それらがさまざまな種類のPAMPを認識しそのシグナルを細胞内に伝達することにより、病原微生物の感染に対し迅速な免疫反応の誘導を可能にしている。

一方、植物には動物の獲得免疫のような抗原抗体反応にもとづく防御応答は存在しない。しかし、植物も動物と同

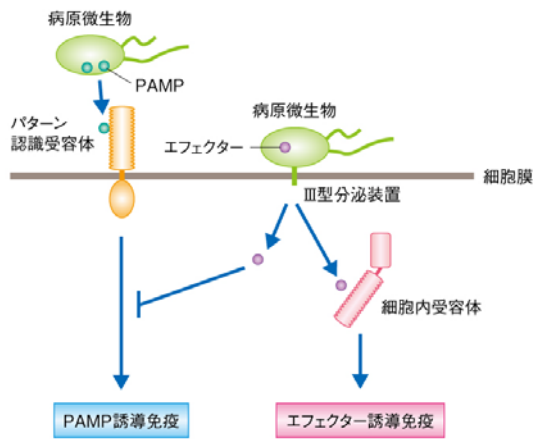


図1 植物の免疫応答の概念

植物は細胞膜にパターン認識受容体をもち、病原微生物の構成成分 PAMP を検出して免疫反応を誘導する (PAMP 誘導免疫)。一方、病原微生物は免疫反応を阻害するため宿主の細胞内にエフェクターを分泌する。一部のエフェクターは細胞質受容体により検出され、免疫反応が誘導される (エフェクター誘導免疫)。

様にパターン認識受容体をもち、PAMP を検出して防御応答を誘導することができる。その反応は動物の自然免疫に非常に似ていることから、近年、“植物免疫” とよばれている。わが国ではまだこの植物免疫という言葉にはなじみがないように思われるが、国際的には“plant immunity” という用語はすでに定着している。

病原微生物にとり、感染した細胞において自らの PAMP

が宿主のパターン認識受容体に検出されてしまうと防御応答をうけることになり、増殖することができなくなる。しかし、病原微生物はただ手をこまねているわけではない。病原微生物は進化により宿主の免疫応答を阻害することのできるタンパク質 (エフェクターとよばれる) を獲得し、それを宿主の細胞内に送り込むことにより防御応答からまぬがれている (図 1)。それに対しさらに植物は、病原微生物が送りこんできたエフェクターを検知する細胞内受容体を獲得し、PAMP 誘導免疫と比較してより強い免疫反応を誘導する。この反応はエフェクター誘導免疫 (effector-triggered immunity: ETI) とよばれている (図 1)。では、このような植物の免疫反応と病原微生物による免疫反応の阻害はどのように行われているのだろうか。くわしくみてみよう。

1. 植物のパターン認識受容体と免疫反応の誘導

植物の細胞膜に存在するパターン認識受容体は、受容体型キナーゼ (receptor-like kinase: RLK) と受容体型タンパク質 (receptor-like protein: RLP) とに大きく分類される²⁾ (図 2)。受容体型キナーゼは PAMP を検出する細胞外ドメインと細胞内にタンパク質キナーゼドメインをもつ受容体であり、一方、受容体型タンパク質は細胞外ドメインをもつものの細胞内の領域は短く特徴的なドメインをもたない。2000 年以降、植物では細菌のべん毛タンパク質に由来するペプチド (flg22)、翻訳伸長因子に由来するペプチド (elf18)、細胞壁成分であるペプチドグリカン、そして、真菌のもつキチンを検出するパターン認識受容体が明らかになり先行して研究が進められているが、

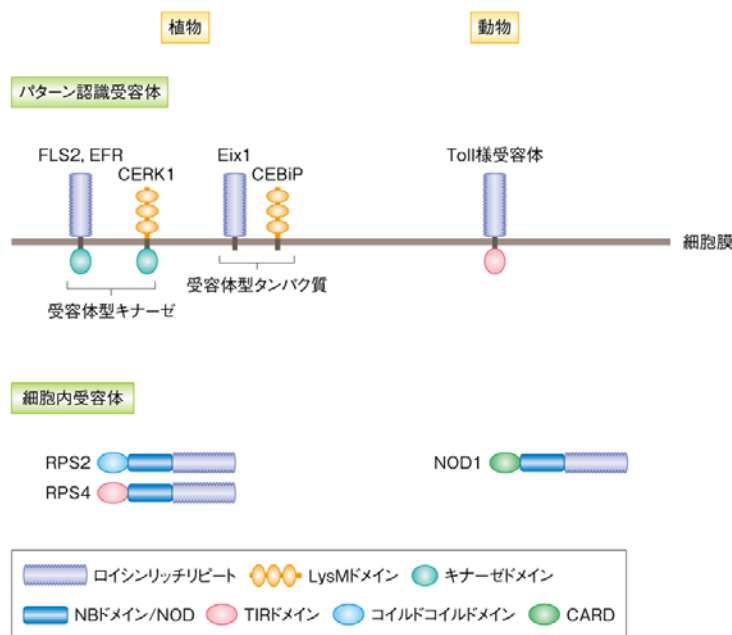


図2 植物および動物におけるパターン認識受容体と細胞内受容体の構造

パターン認識受容体のうち、FLS2 は flg22 を、EFR は elf18 を認識する。CERK1 と CEBiP はキチンを認識し、Eix1 はキシラナーゼの認識にかかわる。

現在でも、パターン認識受容体と PAMP との組合せが明らかになっているものはそれほど多くない。パターン認識受容体のもつ代表的な細胞外ドメインとしては、ロイシン残基のくり返し配列であるロイシンリッチリピート (leucine rich repeat : LRR), キチンやペプチドグリカンなどのオリゴ糖と結合する LysM ドメインなどがある。植物のパターン認識受容体とヒトの Toll 様受容体の構造をみてみると、Toll 様受容体のもつ細胞外ドメインはロイシンリッチリピートであり、植物のパターン認識受容体と非常によく似ていることがわかる (図 2)。

つぎに、このようなパターン認識受容体がどのように PAMP を検出し、そのシグナルを細胞内に伝達するかをみてみよう。植物でもっともよく解析されているパターン認識受容体は、モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の FLS2 である。FLS2 は細胞外にロイシンリッチリピートを、細胞内にタンパク質キナーゼドメインをもち、細菌のべん毛タンパク質の N 末端領域に高度に保存されている 22 個のアミノ酸残基からなるペプチド flg22 を検出する (図 3)。FLS2 は flg22 の非存在下では細胞膜においてホモ複合体を形成しているが

3), flg22 を検出するとやはり細胞外にロイシンリッチリピートをもつ受容体型キナーゼである BAK1 と相互作用する 4)。この FLS2 と BAK1 との相互作用は、細胞に flg22 を処理したのち数分以内に起こることが報告されている。この相互作用により FLS2 と BAK1 は相互にリン酸化され活性化状態になると考えられる。そのうち、FLS2 からのシグナルは受容体型細胞質タンパク質キナーゼ (RLCK : receptor-like cytoplasmic kinase) ファミリーに属する BIK1, PBS1, PBL1, PBL2, BSK1 に伝達される 5,6)。これら RLCK ファミリータンパク質は flg22 の処理にともないリン酸化されることが明らかになっているが、FLS2 と BAK1 のどちらが RLCK をリン酸化しているかについては議論があり最終的な結論は得られていない。いずれにしても、これらの RLCK ファミリータンパク質が受容体からのシグナルを受け取り、そのシグナルを細胞内に伝達していることはまちがいないと考えられる。ほかの植物にも FLS2 や BAK1 のホモログは存在するが、同様な機構により flg22 を認識しているのかどうかはわかっていない。また、ヒトの Toll 様受容体である TLR5 はべん毛タンパク質を検出するが、flg22 とは異なる

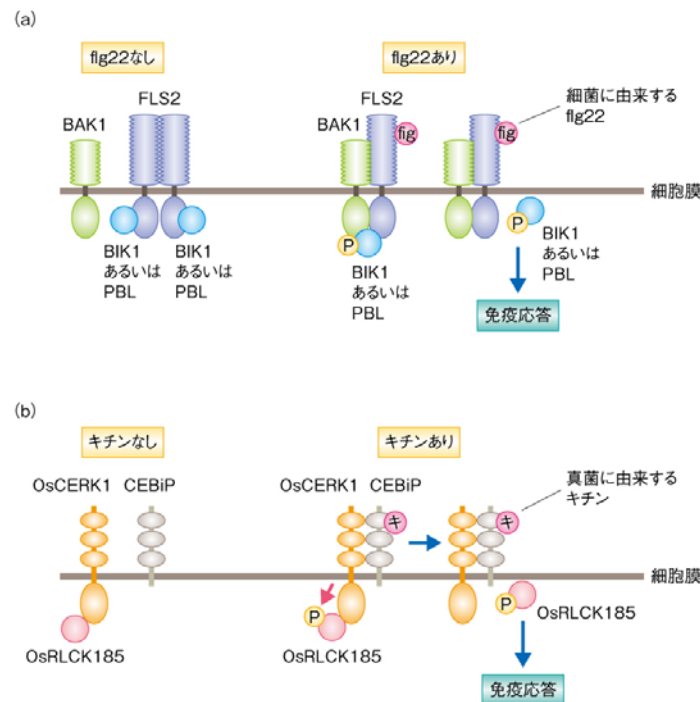


図 3 パターン認識受容体による PAMP の認識機構

(a) シロイヌナズナの FLS2 複合体。FLS2 は flg22 の非存在下ではホモ複合体を形成し、細胞内ドメインには BIK1 や PBL などの RLCK ファミリータンパク質が結合している。FLS2 は flg22 を検出すると BAK1 とヘテロ複合体を形成し、互いにリン酸化すると同時に、BIK1 あるいは PBL もリン酸化される。そのうち、BIK1 あるいは PBL は複合体から離れ、シグナルを下流に伝達し免疫反応を誘導する。

(b) イネの OsCERK1 複合体。キチンの非存在下では OsCERK1 と OsRLCK185 は複合体を形成している。キチンを検出すると OsCERK1 は CEBiP と結合し、OsCERK1 は OsRLCK185 をリン酸化する。そのうち、OsRLCK185 は複合体から離れ、免疫応答を誘導する。

P : リン酸化。

るべん毛タンパク質の領域を検出することが明らかになっている。

真菌の成分であるキチンは代表的な PAMP として植物に強い免疫応答を誘導する。イネにおけるキチンの検出にはパターン認識受容体である OsCERK1 と CEBiP が関与している (図 3)。OsCERK1 は細胞外に LysM ドメイン、細胞内にタンパク質キナーゼドメインをもち、CEBiP は細胞外に LysM ドメインをもつものの、細胞内の領域は短く特異的なドメインはもたない⁷⁾。CEBiP はキチンとの強い結合活性をもち、キチンを検出した CEBiP は OsCERK1 と相互作用する。このことから、OsCERK1 がキチンを検出した CEBiP からシグナルをうけ、そのシグナルを細胞内に伝達していると考えられていたが、その詳細は不明であった。筆者らは、OsCERK1 の細胞内のタンパク質キナーゼドメインに結合するタンパク質として、RLCK ファミリーに属する OsRLCK185 を同定した⁸⁾ (新着論文レビュー でも掲載)。そして実際に、細胞膜において OsCERK1 と OsRLCK185 とが相互作用していることを示した。さらに、OsRLCK185 の発現をノックダウンしたイネの培養細胞ではキチンに応答した免疫応答が抑制され、OsRLCK185 が OsCERK1 からのシグナルを伝達する役割をはたしていることが明らかになった。

OsRLCK185 は OsCERK1 のタンパク質キナーゼドメインと結合していたことから、OsCERK1 から OsRLCK185 へのシグナル伝達は OsCERK1 が OsRLCK185 をリン酸化することにより行われている可能性が考えられた。そこで、キチンに応答した OsRLCK185 のリン酸化について調べてみると、イネの培養細胞にキチンを処理したのち約 5 分で OsRLCK185 はリン酸化されていた。さらに、OsCERK1 および OsRLCK185 の組換えタンパク質を用いた解析により、OsCERK1 が OsRLCK185 を直接にリン酸化することが明らかになった。また一般に、RLCK ファミリータンパク質は活性化ループとよばれる領域をもち、その活性化ループに存在するセリン残基とスレオニン残基のリン酸化が活性化に重要であると報告されている。そこで、OsRLCK185 のもつ活性化ループのセリン残基とスレオニン残基をアラニン残基に置換したうえで、OsCERK1 によるリン酸化実験を行ったところ、この OsRLCK185 変異体はリン酸化されなかった。すなわち、OsCERK1 は OsRLCK185 の活性化ループに存在するセリン残基とスレオニン残基をリン酸化することにより OsRLCK185 を活性化していると考えられた。

このように、キチンにより誘導される免疫応答では、キチンを受容した CEBiP が OsCERK1 にシグナルを伝達し、OsCERK1 は OsRLCK185 を直接にリン酸化することにより細胞内にシグナルを伝達していることが明らかになった。このように、FLS2 や OsCERK1 などのパターン認識受容体からのシグナルは RLCK ファミリータンパク質

に伝達されていることから、ほかのパターン認識受容体においても同様に RLCK ファミリータンパク質を介して細胞内にシグナルが伝達されている可能性が考えられる。イネには 379 個の RLCK ファミリー遺伝子が存在し⁹⁾、シロイヌナズナにも 200 個の RLCK ファミリー遺伝子が存在しているが¹⁰⁾、ほとんどの RLCK ファミリータンパク質の機能は明らかになっておらず、今後の研究が期待される。

最近、OsCERK1 から細胞内シグナル伝達には、低分子量 G タンパク質である OsRac1 を介したシグナル伝達も寄与していることが明らかになった¹¹⁾ (新着論文レビュー でも掲載)。これまでの研究により、OsRac1 はさまざまな免疫応答を誘導するシグナル伝達タンパク質と機能していることが示されており、OsCERK1 は、OsRac1 を活性化する GDP-GTP 交換因子 (GDP-GTP exchange factor: GEF) を直接にリン酸化することにより、OsRac1 を介したシグナル伝達を活性化していることが明らかになった。

シロイヌナズナでは OsCERK1 のホモログである AtCERK1 がキチンを認識することが明らかになっている。イネの OsCERK1 のもつ LysM ドメインはキチンとは結合しないためキチンに結合した CEBiP からシグナルを受け取るが、シロイヌナズナの AtCERK1 のもつ LysM ドメインはキチンと強く結合し、ホモ複合体を形成することによりキチンを認識していることが明らかになった¹²⁾。また、CEBiP と似た構造をもつシロイヌナズナの AtLYM1 と AtLYM3 は、PAMP のひとつである細菌の細胞壁成分ペプチドグリカンと結合し、そのシグナルを AtCERK1 を介し細胞内に伝達していることが明らかになった¹³⁾。イネにおいても、AtLYM1 および AtLYM3 のホモログである OsLYP4 および OsLYP6 がペプチドグリカンと結合することが明らかになっており¹⁴⁾、シロイヌナズナと同様に、OsLYP4 と OsLYP6 がペプチドグリカンを検出し、そのシグナルを OsCERK1 を介して細胞内に伝達していると推測されているが、実際に、OsCERK1 がペプチドグリカンの認識にかかわるかどうかは証明されていない。しかし、OsRLCK185 のノックダウン株ではペプチドグリカンに応答した免疫応答が抑制されており、OsCERK1 がペプチドグリカンの認識に関与することが強く示唆されている。このように、CERK1 は真菌の PAMP であるキチンおよび細菌の PAMP であるペプチドグリカンを検出するパターン認識受容体であり、真菌と細菌の両方に対し免疫応答を誘導していると考えられる。

筆者らは、OsRLCK185 のシロイヌナズナにおけるオソログとして AtRLCK1 を同定している。AtRLCK1 は、イネの OsRLCK185 と同様に CERK1 に結合し、AtRLCK1 の機能欠損変異体ではキチンに応答した免疫応答は阻害されていることがわかった (未発表)。このように、イネとシロイヌナズナにはキチンに対する応答に関

与する共通のシグナル伝達系が存在していると思われる。

2. 植物の免疫応答を阻止するエフェクター

植物はパターン認識受容体により病原微生物の感染を認識し、さまざまな免疫応答を誘導して病原微生物の増殖を阻止している。では、病原微生物はこの植物の免疫応答にどのように対抗しているのだろうか。病原微生物は宿主への感染過程において自らのタンパク質を宿主の細胞内に分泌し免疫応答を抑制している (図 1)。このような分泌タンパク質は総称してエフェクターとよばれている。病原微生物の種類によりエフェクターの分泌の様式は異なるが、ここでは、一部の病原細菌が利用する III 型分泌装置について紹介したい。*Pseudomonas* 属や *Xanthomonas* 属の病原細菌は針状の構造をした III 型分泌装置を用いて宿主の細胞内にエフェクターを分泌している。III 型分泌装置を構成するタンパク質をコードする遺伝子は *hrp* (hypersensitive response and pathogenicity) 遺伝子とよばれ、この *hrp* 遺伝子は植物へ感染するときのみ発現する。つまり、病原細菌は宿主の組織内の環境を感知して III 型分泌装置を構築し、宿主の細胞内にエフェクターを送り込んでいるのである。

Pseudomonas 属や *Xanthomonas* 属の細菌は 30~50 個のエフェクターをもち、III 型分泌装置を使いこれを宿主の細胞内に送り込んでいる。しかし、アミノ酸配列から機能を推定できるエフェクターは少なく、作用機作のわかっているエフェクターの数も少ない。また、エフェクターの多くは既知の機能ドメインをもたないことから、進化的に新しいタンパク質であると考えられている。実際、近年になり、エフェクターの研究から新規な酵素活性が見出されている。また、多くのエフェクターは宿主の細胞内で発現させるとその免疫応答を強く阻害する。このことは、宿主において免疫応答の誘導に重要な因子の機能をエフェクターが阻害していることを示唆している。そのため近年、エフェクターが標的とする因子を探索することにより、免疫応答において重要な役割をはたしている因子を同定

しようという試みが行われている。その具体例について紹介していこう。

斑葉細菌病をひき起こす *Pseudomonas syringae* はグラム陰性細菌であり、古くからシロイヌナズナを用いた免疫の研究において代表的な病原微生物として利用されている。*P. syringae* のエフェクター HopM1 の標的となる因子として、シロイヌナズナの *MIN7* 遺伝子がクローニングされた¹⁵⁾。*MIN7* 遺伝子は ARF の GDP-GTP 交換因子をコードしており、PAMP 誘導性免疫やエフェクター誘導免疫に関与する小胞輸送を制御することが示唆されている¹⁶⁾。また、*P. syringae* のエフェクター HopU1 の標的となる因子として、シロイヌナズナにおいて RNA 結合タンパク質をコードする *GRP7* 遺伝子がクローニングされた¹⁷⁾。HopU1 は GRP7 の RNA 認識モチーフに存在するアルギニン残基を ADP リボース化することにより、GRP7 の RNA 結合活性を阻害していることが報告された¹⁸⁾。さらに最近、GRP7 はパターン認識受容体である FLS2 の転写産物や翻訳関連タンパク質と相互作用することにより転写後制御に関与しており¹⁹⁾、HopU1 は GRP7 と FLS2 の転写産物とのあいだの相互作用を阻害することにより、FLS2 のタンパク質量を減少させていることが報告された。

FLS2 や CERK1 による免疫誘導機構の解析から明らかになったように、RLCK ファミリータンパク質はパターン認識受容体からのシグナルを細胞内に伝達する重要なタンパク質である。近年、エフェクターが相互作用するタンパク質の探索により、RLCK ファミリータンパク質がさまざまなエフェクターの標的となることも明らかになってきた。*P. syringae* のエフェクター AvrPphB はシステインプロテアーゼ活性をもち、免疫応答に関与する RLCK ファミリータンパク質である BIK1 や PBS1, PBL1, PBL2 を切断することにより免疫応答を抑制していることが明らかになった⁵⁾ (図 4)。また、*Xanthomonas campestris* のエフェクターである AvrAC は、RLCK ファミリーに属する RIPK および BIK1 を標的としていることが明らかに

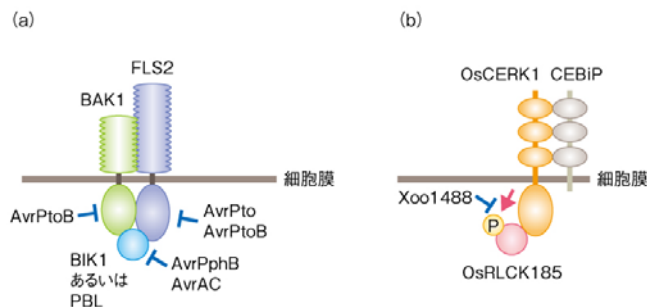


図 4 エフェクターの標的となるパターン認識受容体と RLCK ファミリータンパク質

(a) シロイヌナズナの FLS2 複合体。

(b) イネの OsCERK1 複合体。

P: リン酸化。

なった²⁰⁾. RLCK ファミリータンパク質の活性化においてその活性化ループに存在するセリン残基やスレオニン残基のリン酸化が重要であると考えられるが, AvrAC はそのリン酸化部位にウリジル酸を付加することにより RIPK および BIK1 の活性化を阻害していた. また, RLCK ファミリーのほかのタンパク質においても活性化ループのリン酸化部位は高度に保存されており, それらが AvrAC の標的となる可能性も考えられる. また, 筆者らは, イネ白葉枯病菌 *Xanthomonas oryzae* のエフェクターである Xoo1488 が OsRLCK185 を標的としていることを明らかにした. OsCERK1 は OsRLCK185 をリン酸化することによりシグナルを伝達しているが, Xoo1488 は OsCERK1 による OsRLCK185 のリン酸化を阻害していた⁸⁾ (新着論文レビュー でも掲載). このように, 複数のエフェクターが RLCK ファミリータンパク質を標的としていることが明らかになり, このことは, RLCK ファミリータンパク質が免疫応答において重要な役割をはたしていることを裏づけるものと考えられる.

P. syringae のエフェクター HopZ1 は抗菌性物質であるダイドゼインの合成に関与する 2-ヒドロキシイソフラバノンデヒドラターゼを標的としていることが明らかになった²¹⁾. 免疫応答の際に産生される抗菌性物質はファイトアレキシンとよばれ, その産生は免疫応答における重要な反応のひとつである. HopZ1 はファイトアレキシンの産生を抑制することにより免疫応答を阻害していると考えられる²¹⁾.

また, エフェクターがパターン認識受容体を直接に抑制することも報告されている (図 4). *P. syringae* のエフェクターである AvrPto および AvrPtoB は, FLS2 や EFR, CERK1 と直接に相互作用し免疫誘導を阻害していることが示された²²⁻²⁵⁾. さらに, AvrPtoB は BAK1 も阻害していることが明らかになった²⁶⁾. BAK1 は複数のパターン認識受容体と協調して機能していることから, 病原微生物にとり BAK1 の機能を抑制することにより複数のパターン認識受容体を阻害することが可能になり, 免疫応答を効率的に抑制することができるものと考えられる.

Xanthomonas 属の細菌は TAL (transcription activator-like) とよばれるエフェクターをもつ. この TAL エフェクターは宿主のもつ DNA 配列を特異的に認識する反復配列と, 核移行シグナルおよび転写活性化ドメインをもつ転写因子である. 反復配列は 34 アミノ酸残基からなり, その 12 番目と 13 番目のアミノ酸残基が認識する塩基配列の特異性を決めている. 最近, *X. oryzae* の TAL エフェクターである AvrXa7 は, SWEETS とよばれる糖輸送体 Os8N3 および Os11N3 の遺伝子の転写を活性化することが報告された²⁷⁾. AvrXa7 は自らの増殖に必要な養分を得るため, 宿主のもつ糖輸送体を活性化していると考えられる. また, TAL エフェクターの DNA 結合領域を利用すると, 任意の塩基配列に結合する DNA 結合タンパク質

を構築することができる. これを使い人工酵素である TAL エフェクターヌクレアーゼ (transcription activator-like effector nuclease : TALEN) を作製し, それを細胞に導入することにより目的の遺伝子を改変した生物が作出できるようになった. このように, TAL エフェクターは宿主において転写を制御することにより免疫応答の抑制, あるいは, 自らの増殖に適した環境をつくりだしている.

以上のように, 個々のエフェクターの機能が少しずつ明らかになり, さらに, エフェクターを分子プローブとした新規な因子の探索により, これまで明らかにされていなかった免疫にかかわる因子が同定されている. しかし, 解析されたエフェクターはまだ一部にすぎず, いまだ, 多くのエフェクターの機能, あるいは, 宿主における標的は不明である. 宿主と病原微生物との攻防を分子レベルで解明するためには, さらなる研究が必要である.

3. 細胞内受容体と免疫誘導

植物および動物の細胞膜にはパターン認識受容体が存在し PAMP を検出して防御応答を誘導していることを説明してきたが, 植物および動物は細胞内にも共通の構造をもつ細胞内受容体をもつ (図 2). この細胞内受容体は中心部に核酸結合ドメイン, C 末端側にロイシンリッチリピートをもつ. この核酸結合ドメインは, 植物では NB ドメイン (NB : nucleotide-binding), 動物では NOD (nucleotide-binding oligomerization domain, スクレオチド結合オリゴマー形成ドメイン) とよばれている¹⁾. 植物の細胞内受容体の多くは N 末端側にコイルドコイルドメインあるいは TIR ドメインをもつ. 一方, 動物の細胞内受容体の N 末端側にはカスパーゼ結合ドメイン (caspase recruitment domain : CARD) などが存在する. これら N 末端側の領域はタンパク質間相互作用に関係し, 下流にシグナルを伝達するためのドメインとして機能していると考えられており, 動物では CARD を介した免疫応答の活性化機構が明らかにされている. しかし, 植物では細胞内受容体から下流にどのようにシグナルが伝達されているか, ブラックボックスのままである.

植物の細胞内受容体はもともと, 病原微生物の感染にともない強い抵抗性反応を誘導する抵抗性遺伝子座にコードされるタンパク質 (抵抗性タンパク質, あるいは, R タンパク質ともよばれる) として同定された. のちの研究により, 抵抗性タンパク質として機能する細胞内受容体は病原微生物のエフェクターを特異的に認識し, 過敏細胞死をとともなう強い免疫反応 (エフェクター誘導免疫) を誘導することが明らかになった (図 1). 植物の細胞内受容体の認識においては, 細胞内受容体とエフェクターとが直接的に相互作用する場合と, エフェクターと宿主のほかのタンパク質との相互作用を細胞内受容体が検出することによりエフェクターを間接的に認識する場合とがある. たとえば, シロイヌナズナの細胞内受容体である RPS5 は *P.*

*syringae*のエフェクターAvrPphBがRLCKファミリータンパク質であるPBS1を切断するのを検出して免疫反応を誘導する²⁸⁾。また、*P. syringae*のエフェクターAvrBはRLCKファミリータンパク質であるRIPKによるRIN4のリン酸化を促進し、細胞内受容体であるRPM1はリン酸化されたRIN4を検出することにより免疫応答を誘導している²⁹⁾。このように、植物の細胞内受容体はエフェクターを検出して免疫を誘導しているが、動物の細胞内受容体ではエフェクターではなくPAMPを検出して免疫応答を誘導することが知られている。今後、研究が進むにつれ、植物の細胞内受容体によるPAMPの認識、あるいは、動物の細胞内受容体によるエフェクターの認識が明らかになるかもしれない。

4. MAPキナーゼを介した免疫誘導機構

MAPキナーゼは酵母から植物あるいは動物にいたるまで真核生物に広く保存されたセリン/スレオニンキナーゼである。MAPキナーゼは免疫応答を含むさまざまな生理反応において活性化され、活性化されたMAPキナーゼは転写因子や酵素などをリン酸化することにより細胞内シグナル伝達を担うモジュールとして機能している。MAPキナーゼはMAPキナーゼキナーゼ(MAPKK)がキナーゼサブドメインVIIとキナーゼサブドメインVIIIとのあ

いだにあるTxYモチーフのスレオニン残基およびチロシン残基をリン酸化することにより活性化される。さらに、MAPKKはMAPキナーゼキナーゼキナーゼ(MAPKKK)がキナーゼサブドメインVIIとキナーゼサブドメインVIIIとのあいだにあるSxxxS/Tモチーフのセリン残基およびスレオニン残基をリン酸化することにより活性化される³⁰⁾。これら3種類のタンパク質キナーゼのリン酸化によるシグナル伝達はMAPキナーゼカスケードとよばれている(図5)。シロイヌナズナには60個のMAPKKK、10個のMAPKK、20個のMAPキナーゼが、イネには75個のMAPKKK、8個のMAPKK、15個のMAPキナーゼが同定されており、その数の多さから複雑なカスケードが想像できるが、どのようにシグナルが伝達されているかについて、その詳細は不明である。

flg22やキチンなどのPAMPに応答してMAPキナーゼであるMPK3、MPK4、MPK6が活性化されることが知られている³⁰⁾(図5)。MPK4の上流にはMAPKKであるMKK1とMKK2、MAPKKKであるMEKK1が存在し、MEKK1-MKK1/2-MPK4というシグナル伝達経路の存在が示唆されている。一方、MPK3とMPK6の上流にはMAPKKであるMKK4とMKK5が位置していることが報告されているが、MAPKKKに関しては不明である。このようなMAPキナーゼカスケードの活性化はflg22やキ

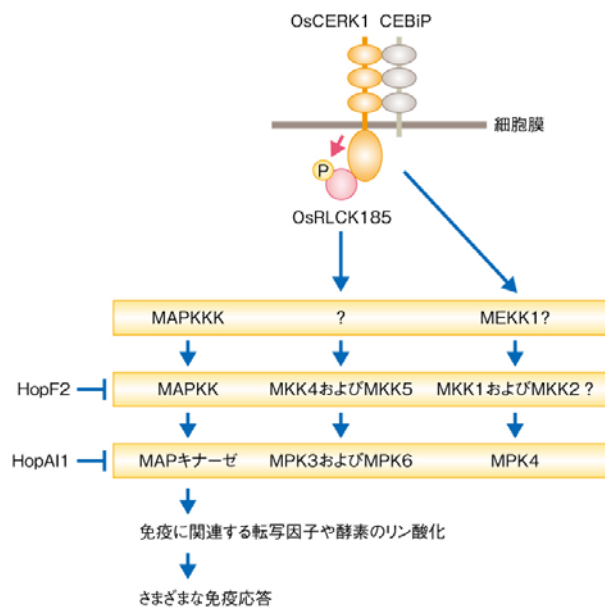


図5 パターン認識受容体によるPAMPの認識にともなうMAPキナーゼカスケードの活性化

イネのOsCERK1複合体において、OsCERK1の下流でMPK3、MPK6、MPK4が活性化される。OsRLCK185の下流にはMPK3とMPK6が存在し、MKK4がMPK3およびMPK6のMAPKKとして機能していることが報告されている。シロイヌナズナでは、MKK5もMPK3およびMPK6のMAPKKとして機能している。MKK4およびMKK5の上流のMAPKKKは不明である。MPK4はOsRLCK185とは異なる経路で活性化され、シロイヌナズナではMEKK1-MKK1/MKK2-MPK4シグナル伝達経路の存在が明らかになっているが、イネではこれは証明されていない。HopF2とHopA1は、それぞれ、MAPKKとMAPキナーゼを標的としていることが報告されている。

P:リン酸化。

チンを処理したのち 10 分以内と非常に早期に起こるため、パターン認識受容体からのシグナルは転写を介することなくタンパク質間相互作用によりすぐに MAP キナーゼカスケードに伝達されていると考えられる。FLS2 からのシグナルは BIK1, PBL1, PBL2, PBS1, BSK1 などの RLCK ファミリータンパク質を介して細胞に伝達されるため、それら RLCK ファミリータンパク質が MAP キナーゼカスケードの活性化に関係していると考えられる。そのうち、BIK1, PBL1, BSK1 のノックアウト変異体およびダブルノックアウト変異体について解析されたが、flg22 に応答した MAP キナーゼの活性化に変化はみられず^{6,20)}、現在のところ、FLS2 と MAP キナーゼカスケードとのあいだに存在するタンパク質はみつかっていない。

OsRLCK185 は OsCERK1 からのシグナルを細胞内に伝達しているため、筆者らは、OsRLCK185 のノックダウン株を用いてキチンに応答した MAP キナーゼの活性化を解析した⁸⁾ (新着論文レビュー でも掲載)。その結果、OsRLCK185 のノックダウン株ではキチンに応答した MPK3 および MPK6 の活性化が抑制されていたが、MPK4 の活性化は影響をうけないことがわかった。MPK3 および MPK6 と MPK4 は異なるカスケードにより活性化されると考えられたことから³¹⁾、OsRLCK185 は MPK3 および MPK6 のカスケードの上流に位置しているが、MPK4 のカスケードの上流には存在しないことがわかった。OsCERK1 と MPK4 のあいだには未同定の RLCK ファミリータンパク質が存在していると思われた。いずれにしても、パターン認識受容体と MAP キナーゼカスケードを結ぶはじめてのタンパク質として OsRLCK185 が同定された。今後、OsRLCK185 による MAP キナーゼカスケードの活性化機構を解析することにより、これまで不明であったパターン認識受容体から MAP キナーゼカスケードの活性化にいたるシグナル伝達系を解明できるとも期待している。

パターン認識受容体の下流では MAP キナーゼカスケードが活性化され、それにともない転写因子の活性化や活性酸素の産生など、さまざまな免疫応答が誘導される。したがって、病原微生物にとって MAP キナーゼカスケードの活性化を抑制することは宿主の免疫応答を阻止するために非常に重要であると考えられる。*P. syringae* のエフェクター HopAI1 はリン酸化スレオニンリアーゼというまったく新しい酵素活性をもち、MAP キナーゼのもつ活性化ループにあるリン酸化スレオニン残基からリン酸基を非可逆的に取り除くことがわかった (図 5)。HopAI1 はこの反応により活性化した MAP キナーゼをすぐに不活性化することで、MAP キナーゼを介したシグナル伝達系を阻害していると考えられる³²⁾。HopAI1 と同じ酵素活性をもつエフェクターは動物に感染する赤痢菌からもみつかっており³³⁾、植物と動物において同じ活性により MAP キナーゼの活性は抑制されていた。また、HopF2 は MAPKK

である MKK5 の機能発現のため必要なアルギニン残基を ADP リボース化することにより、MAP キナーゼカスケードを阻害していることが報告されている³⁴⁾。

おわりに

近年の研究により、植物および動物において病原微生物の認識にかかわる受容体が明らかにされ、病原微生物の感染にともなう免疫応答の誘導機構が少しずつ解明されてきた。なかでも、植物と動物が同じタンパク質ドメインから構成されるパターン認識受容体および細胞内受容体をもち、きわめて似たシステムにより病原微生物を認識し免疫応答を誘導していることは驚きである。まだ解析されている受容体はほんの一部にすぎないが、今後、さらに研究が進むにつれ、植物と動物における病原微生物の認識機構の相違点が明らかにされてくるであろう。

また、病原微生物が宿主の細胞内にエフェクターを送り込み免疫応答を抑制していることも明らかになってきた。ここでは、III 型分泌機構により分泌されているエフェクターについて紹介したが、細菌、真菌、ウイルスなどさまざまな病原微生物が多様なエフェクターをもち、それらの機能はほとんど明らかになっていない。エフェクターの多くは既知のタンパク質との相同性がみられず、エフェクターの解析により新たなタンパク質の活性が見い出される可能性もあり、タンパク質科学への貢献も期待できる。また、エフェクター自体あるいはその分泌システムを抑制できれば、病原微生物の感染の拡大を阻止することにもつながることが期待できる。

作物の生産において病害による損失は非常に大きな問題である。植物免疫の研究により得られた成果を利用して、本来、植物自体がもつ免疫活性を増強し、病害を抑える技術が開発されることを期待している。

文献

- 1) Jones, J. D. & Dangl, J. L.: The plant immune system. *Nature*, 444, 323-329 (2006)
- 2) Monaghan, J. & Zipfel, C.: Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 15, 349-357 (2012)
- 3) Sun, W., Cao, Y., Jansen Labby, K. et al.: Probing the *Arabidopsis* flagellin receptor: FLS2-FLS2 association and the contributions of specific domains to signaling function. *Plant Cell*, 24, 1096-1113 (2012)
- 4) Chinchilla, D., Zipfel, C., Robatzek, S. et al.: A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature*, 448, 497-500 (2007)
- 5) Zhang, J., Li, W., Xiang, T. et al.: Receptor-like

- cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector. *Cell Host Microbe*, 7, 290-301 (2010)
- 6) Shi, H., Shen, Q., Qi, Y. et al.: BR-signaling kinase1 physically associates with Flagellin Sensing2 and regulates plant innate immunity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25, 1143-1157 (2013)
- 7) Shimizu, T., Nakano, T., Takamizawa, D. et al.: Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice. *Plant J.*, 64, 204-214 (2010)
- 8) Yamaguchi, K., Yamada, K., Ishikawa, K. et al.: A receptor-like cytoplasmic kinase targeted by a plant pathogen effector is directly phosphorylated by the chitin receptor and mediates rice immunity. *Cell Host Microbe*, 13, 347-357 (2013) [新着論文レビュー]
- 9) Viji, S., Giri, J., Dansana, P. K. et al.: The receptor-like cytoplasmic kinase (OsRLCK) gene family in rice: organization, phylogenetic relationship, and expression during development and stress. *Mol. Plant*, 1, 732-750 (2008)
- 10) Jurca, M. E., Bottka, S. & Feher, A.: Characterization of a family of *Arabidopsis* receptor-like cytoplasmic kinases (RLCK class VI). *Plant Cell Rep.*, 27, 739-748 (2008)
- 11) Akamatsu, A., Wong, H. L., Fujiwara, M. et al.: An OsCEBiP/OsCERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity. *Cell Host Microbe*, 13, 465-476 (2013) [新着論文レビュー]
- 12) Liu, T., Liu, Z., Song, C. et al.: Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. *Science*, 336, 1160-1164 (2012)
- 13) Willmann, R., Lajunen, H. M., Erbs, G. et al.: *Arabidopsis* lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 19824-19829 (2011)
- 14) Liu, B., Li, J. F., Ao, Y. et al.: Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell*, 24, 3406-3419 (2012)
- 15) Nomura, K., Debroy, S., Lee, Y. H. et al.: A bacterial virulence protein suppresses host innate immunity to cause plant disease. *Science*, 313, 220-223 (2006)
- 16) Nomura, K., Melotto, M., He, S. Y.: Suppression of host defense in compatible plant-*Pseudomonas syringae* interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 8, 361-368 (2005)
- 17) Fu, Z. Q., Guo, M., Jeong, B. R. et al.: A type III effector ADP-ribosylates RNA-binding proteins and quells plant immunity. *Nature*, 447, 284-288 (2007)
- 18) Jeong, B. R., Lin, Y., Joe, A. et al.: Structure function analysis of an ADP-ribosyltransferase type III effector and its RNA-binding target in plant immunity. *J. Biol. Chem.*, 286, 43272-43281 (2011)
- 19) Nicaise, V., Joe, A., Jeong, B. R. et al.: *Pseudomonas* HopU1 modulates plant immune receptor levels by blocking the interaction of their mRNAs with GRP7. *EMBO J.*, 32, 701-712 (2013)
- 20) Feng, F., Yang, F., Rong, W. et al.: A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nature*, 485, 114-118 (2012)
- 21) Zhou, H., Lin, J., Johnson, A. et al. *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1 targets a host enzyme to suppress isoflavone biosynthesis and promote infection in soybean. *Cell Host Microbe*, 9, 177-186 (2011)
- 22) Xiang, T., Zong, N., Zou, Y. et al.: *Pseudomonas syringae* effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases. *Curr. Biol.*, 18, 74-80 (2008)
- 23) Xiang, T., Zong, N., Zhang, J. et al.: BAK1 is not a target of the *Pseudomonas syringae* effector AvrPto. *Mol Plant Microbe Interact.*, 24, 100-107 (2011)
- 24) Gohre, V., Spallek, T., Haweker, H. et al.: Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Curr. Biol.*, 18, 1824-1832 (2008)
- 25) Gimenez-Ibanez, S., Hann, D. R., Ntoukakis, V. et al. AvrPtoB targets the LysM receptor kinase CERK1 to promote bacterial virulence on plants. *Curr. Biol.*, 19, 423-429 (2009)
- 26) Shan, L., He, P., Li, J. et al.: Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe*, 4, 17-27 (2008)
- 27) Chen, L. Q., Hou, B. H., Lalonde, S. et al.: Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature*, 468, 527-532 (2010)
- 28) Shao, F., Golstein, C., Ade, J. et al.: Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a bacterial type III effector. *Science*, 301, 1230-1233 (2003)
- 29) Liu, J., Elmore, J. M., Lin, Z. J. et al.: A receptor-like cytoplasmic kinase phosphorylates the host target RIN4, leading to the activation of a plant innate immune receptor. *Cell Host Microbe*, 9, 137-146

(2011)

- 30) Tena, G., Boudsocq, M. & Sheen, J.: Protein kinase signaling networks in plant innate immunity. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 14, 519-529 (2011)
- 31) Kishi-Kaboshi, M., Okada, K., Kurimoto, L. et al.: A rice fungal MAMP-responsive MAPK cascade regulates metabolic flow to antimicrobial metabolite synthesis. *Plant J.*, 63, 599-612 (2010)
- 32) Zhang, J., Shao, F., Li, Y. et al.: A *Pseudomonas syringae* effector inactivates MAPKs to suppress PAMP-induced immunity in plants. *Cell Host Microbe*, 1, 175-185 (2007)
- 33) Li, H., Xu, H., Zhou, Y. et al.: The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family. *Science*, 315, 1000-1003 (2007)
- 34) Wang, Y., Li, J., Hou, S. et al.: A *Pseudomonas syringae* ADP-ribosyltransferase inhibits *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinases. *Plant Cell*, 22, 2033-2044 (2010)

著者プロフィール

川崎 努 (Tsutomu Kawasaki)

略歴: 1996年 九州大学大学院農学研究科にて博士号取得, 同年 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 助手, 2000年 米国 North Carolina 大学 Chapel Hill 校 博士研究員, 2002年 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 助教授を経て, 2010年より近畿大学農学部 教授.

研究テーマ: 植物免疫における病原微生物の認識とシグナル伝達の分子機構, 病原微生物による感染戦略の分子機構.

抱負: 植物において病原微生物の認識から抵抗性の発現にいたる過程ではたらくタンパク質を単離し, そのタンパク質間ネットワークを明らかにすることにより植物免疫の全貌の解明をめざす. また, 研究により得られた植物免疫の基礎情報をもとに, 植物自体がもつ免疫反応を増強させた“環境にやさしい耐病性植物”を開発したい.

研究室 URL :

<http://kawasakirice.web.fc2.com/index.html>