

令和 7 年 6 月 18 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2024

課題番号：21K14829

研究課題名（和文）高湿度環境におけるアブシジン酸を介した植物-病原細菌間相互作用の解明

研究課題名（英文）Elucidation of abscisic acid-mediated plant-bacterial pathogen interactions under high humidity

研究代表者

安田 盛貴 (Yasuda, Shigetaka)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：60749670

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：高湿度に曝されたシロイヌナズナの葉では、細胞質カルシウムイオン濃度の上昇により、カルモジュリン結合型転写因子CAMTA3を介してアブシジン酸代謝酵素CYP707A3の遺伝子発現が誘導されることを明らかにした。これにより気孔開口が促進され、葉内の病原細菌による水浸漬の発生が抑制される。さらに、病原細菌Pst DC3000は、エフェクターを介してCYP707A3の発現誘導を抑制することで、水浸漬抵抗性を阻害することを明らかにした。これらの成果から、植物は高湿度環境に応じて水浸漬抵抗性を誘導する仕組みを備えており、一方で、病原細菌はその抵抗性を打破する感染戦略を獲得していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

降雨などによって生じる高湿度環境は、病原菌による植物の病害を誘発する主な要因である。しかし、高湿度における植物と病原菌の相互作用の実態については、未だ不明な点が多い。本研究の成果により、植物が備える高湿度環境に応じた病害抵抗性と、それに対する病原菌の感染戦略の存在が明らかとなった。これは、植物と病原菌が高湿度環境への適応をめぐる攻防を繰り広げ、共進化してきたことを示唆する重要な知見である。本コンセプトの検証と、その分子メカニズムの解明をさらに進めることで、高湿度が植物病害を助長する仕組みの理解が深まり、これに対する新たな防除技術の開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In Arabidopsis leaves exposed to high humidity, cytosolic calcium ion levels increase, leading to the induction of the abscisic acid catabolic enzyme gene CYP707A3 via the calmodulin-binding transcription factor CAMTA3. This promotes stomatal opening and suppresses the development of water-soaked lesions caused by bacterial pathogens. Furthermore, it was revealed that the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 promotes water-soaking by suppressing CYP707A3 induction through the action of effectors. These findings demonstrate that plants possess a mechanism to sense elevated humidity and induce resistance to water-soaking, while bacterial pathogens have evolved strategies to overcome this resistance.

研究分野：植物微生物相互作用

キーワード：高湿度環境 シロイヌナズナ 病原細菌 アブシジン酸 気孔 水浸漬 エフェクター

## 1. 研究開始当初の背景

植物のバイオマス量は、葉の光合成・蒸散に大きく依存している。したがって、葉の機能を健全に保つことは、農作物の収量を向上させるために極めて重要である。葉の表面および内部には多様な微生物が生息しており、これらは葉圏と呼ばれる生態系を形成している。なかでも細菌は最も優先的な微生物であり、葉面積 1 cm<sup>2</sup> 当たり約 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> 個体が存在すると推定されている (Lindow and Brandl, Appl Environ Microbiol, 2003)。これらの細菌の中には、宿主植物に病害を引き起こす病原細菌も含まれている。

病原細菌は、気孔などを介して葉内に侵入後、細胞間隙で水分と栄養を獲得しながら増殖し、病気を引き起こす。植物は、細胞膜上の免疫受容体を通じて病原細菌が有する分子パターンを認識し、防御応答を誘導することで病原細菌の感染から身を守っている。この応答はパターン誘導免疫 (PTI) と呼ばれ、病原細菌に対する基礎的抵抗性を担っている。一方で、病原細菌はエフェクターと呼ばれるタンパク質を植物細胞内に分泌し、PTI を抑制することで感染を成立させる。これに対抗して植物は、細胞内の免疫受容体によりエフェクターを認識し、細胞死を伴う強力な防御応答を誘導する。この応答はエフェクター誘導免疫と呼ばれ、病原細菌に対する特異的抵抗性を担う。PTI と ETI は総称して植物免疫と呼ばれている。

こうした植物免疫を回避して感染に成功した病原細菌は、自らが置かれた環境条件に応じて宿主植物に病気を引き起こす。植物の葉は光・温度・湿度などの環境変化に常に晒されており、葉内の病原細菌にとって好ましい条件が整うことで病害が誘発される。中でも、降雨などによって生じる高湿度環境は、葉における細菌性病害の主な誘因となる。

近年、アブラナ科植物シロイヌナズナとトマト斑葉細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) DC3000 を用いた研究により、高湿度が葉の細菌病を誘発する仕組みの一端が明らかにされた (Xin et al., Nature, 2016)。高湿度条件 (95% RH) では、葉内に侵入した *Pst* DC3000 がエフェクターを利用して細胞間隙に水を蓄積し、増殖を促進することで病原性を発揮することが示された (図 1)。この現象は「水浸漬」と呼ばれ、葉の細菌病における初期症状として広く知られている。一方、葉の蒸散が活発な通常栽培湿度条件 (60% RH) や、エフェクターを分泌できない非病原性株 *Pst hrcC* では、水浸漬は誘導されない (図 1)。しかし、エフェクターによって水浸漬が誘導される分子機構については未解明であった。

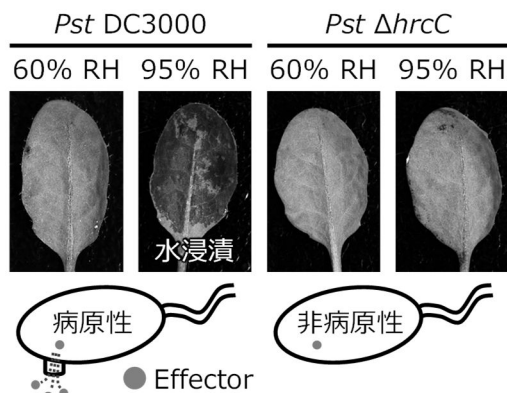


図 1. 病原細菌が誘導する葉の水浸漬

研究代表者は、シロイヌナズナの細胞膜アクアポリン PIP2;6 が水浸漬に対する抵抗性に関与することを明らかにした (Yasuda, Hirase et al., 投稿準備中)。高湿度に曝されたシロイヌナズナでは、受容体キナーゼ BAK1 を介して PIP2;6 のリン酸化が誘導され、水輸送活性が増強されることで、水浸漬の発生が抑制される。一方、病原細菌 *Pst* DC3000 は、エフェクターで PIP2;6 の機能を阻害し、水浸漬を誘導することが示された。これらの知見から、高湿度環境において植物と病原細菌は、葉内の水環境の制御をめぐる攻防を繰り返していることが示唆された。

これまでの研究により、高湿度におけるシロイヌナズナの水蓄積抵抗性の分子実体が明らかとなった。そこから新たに浮かび上がった課題は、高湿度に応じて PIP2;6 の水輸送がどのように制御されているかという点である。その手がかりとして、研究代表者は植物ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) に着目した。先行研究により、高湿度に曝されたシロイヌナズナの葉では、ABA 代謝酵素 CYP707A1 および CY707A3 の遺伝子発現が上昇し、それに伴い ABA 蓄積量が減少することが示されている (Okamoto et al., Plant Physiol, 2009)。

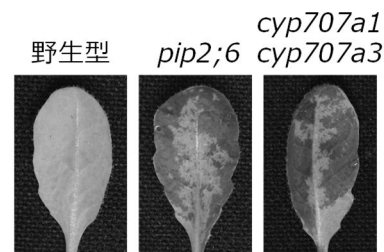


図 2. *Pst hrcC* 接種葉の水浸漬

実際に、PIP2;6 欠損変異体 (*pip2;6*) と同様に、CYP707A1/CYP707A3 二重欠損変異体 (*cyp707a1 cyp707a3*) も、*Pst hrcC* の接種により顕著な水浸漬を示すことが観察された (図 2)。このことから、高湿度に応じた ABA 量の減少が、PIP2;6 の水輸送活性を促進し、水浸漬抵抗性に寄与するかの可能性が示唆された。一方で、*Pst* DC3000 は、エフェクターを介して宿主シロイヌナズナの ABA 蓄積量を増加させ、感染を促進することが報告されている (de Torres-Zabala M., EMBO J, 2007)。これらの知見は、高湿度環境においてシロイヌナズナと *Pst* DC3000 が、ABA 制御を介して葉内の水浸漬をめぐる攻防を繰り返している可能性を強く示している。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、高湿度環境における植物と病原細菌の水浸漬をめぐる攻防において、植物ホルモン ABA が果たす機能の解明することである。

## 3. 研究の方法

本研究では、アブラナ科植物シロイヌナズナと病原細菌 *Pst* DC3000 を用いて、以下の解析を行った。まず、高湿度環境における PIP2;6 のリン酸化誘導に ABA が関与するか検証した。次に、水浸漬抵抗性における ABA 代謝酵素 CYP707A の機能とその発現制御機構を解析した。さらに、*Pst* DC3000 が CYP707A を介した水浸漬抵抗性をいかにして阻害するか、その分子機構についての解析を行った。

## 4. 研究成果

### 高湿度誘導性の PIP2;6 リン酸化は ABA 非依存的に制御される

リン酸化 PIP2;6 特異的抗体を用いたイムノブロッティング解析により、ABA 代謝酵素 *CYP707A1/CYP707A2/CYP707A3* の三重欠損変異体および ABA 生合成酵素 *AAO3* 欠損変異体においても、高湿度処理後の PIP2;6 リン酸化誘導が認められた。すなわち、PIP2;6 のリン酸化は ABA に依存せずに制御されることが示された。この結果から、CYP707A は PIP2;6 を介さずに水浸漬を抑制していることが明らかとなった。

### CYP707A3 は気孔開口を促すことで高湿度での水浸漬の発生を抑制する

シロイヌナズナの CYP707A 遺伝子ファミリーは 4 つのメンバーから構成されており、そのうち *CYP707A1* と *CYP707A3* が高湿度に応答して発現誘導されることが知られている (Okamoto et al., Plant Physiol, 2009)。*CYP707A1* および *CYP707A3* 欠損変異体を用いた解析により、水浸漬抵抗性において *CYP707A3* が主要な役割を果たすことが示された。さらに、恒常的に気孔が開いている *ost2-3D* 変異体の背景では、*CYP707A3* 欠損による水浸漬抵抗性の低下は認められなかった。これらの結果から、高湿度では *CYP707A3* を介して葉の ABA 蓄積量が低下し、それに伴って気孔開口が促進されることで、水浸漬の発生が抑制されることが明らかとなった。

### CYP707A3 高湿度誘導発現は Ca<sup>2+</sup>チャネル CNGC2/4/9 と転写因子 CAMTA3 を介して制御される

Ca<sup>2+</sup>レポーター-GCaMP3 を発現するシロイヌナズナを用いたライブイメージング解析により、高湿度処理により葉の細胞質 Ca<sup>2+</sup>濃度が速やかに上昇することが示された。さらに、Ca<sup>2+</sup>チャネル阻害剤の処理により、*CYP707A3* の高湿度誘導発現が抑制されたことから、湿度上昇に伴う Ca<sup>2+</sup>シグナルが *CYP707A3* の発現誘導に関与することが明らかとなった。

RNA-seq によるトランスクリプトーム解析では、(1) 高湿度応答性の高い Ca<sup>2+</sup>チャネルとして CNGC ファミリーを、(2) 高湿度誘導遺伝子のプロモーターに高頻度で存在するシス配列として、カルモジュリン結合型転写因子 CAMTA の結合配列をそれぞれ同定した。これらの知見に基づき、シロイヌナズナ変異体を用いた解析を行った結果、*CYP707A3* の高湿度誘導発現は Ca<sup>2+</sup>チャネル CNGC2/4/9 と転写因子 CAMTA3 を介して制御されることが示された。

### 病原細菌 *Pst* DC3000 はエフェクターを用いて *CYP707A3* の高湿度発現誘導を抑制する

エフェクターを分泌できない *Pst* DC3000 変異株を用いた解析により、*Pst* DC3000 はエフェクターを介して *CYP707A3* を含む高湿度誘導性遺伝子の発現を抑制することが示された。さらに、*CYP707A3* の発現誘導を特異的に抑制するエフェクターとして、AvrPtoB を同定し、このエフェクターが *CYP707A3* を介した水浸漬抵抗性を阻害することを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yasuda Shigetaka, Shinozawa Akihisa, Hirase Taishi, Weng Yuanjie, Ishizaki Haruka, Suzuki Ryuji, Ueda Shioriko, Sk Rahul, Yotsui Izumi, Toyota Masatsugu, Okamoto Masanori, Saijo Yusuke	4. 巻 -
2. 論文標題 Humidity-driven ABA depletion determines plant-pathogen competition for leaf water	5. 発行年 2025年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2025.01.04.631318	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Okada Kentaro, Yachi Koei, Nguyen Tan Anh Nhi, Kanno Satomi, Yasuda Shigetaka, Tadaï Haruna, Tateda Chika, Lee Tae Hong, Nguyen Uyen, Inoue Kanako, Tsuchida Natsuki, Ishihara Taiga, Miyashima Shunsuke, Hiruma Kei, Miwa Kyoko, Maekawa Takaki, Notaguchi Michitaka, Saijo Yusuke	4. 巻 120
2. 論文標題 Defense-related callose synthase PMR4 promotes root hair callose deposition and adaptation to phosphate deficiency in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 2639 ~ 2655
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/tpj.17134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Luo Yongming, Yasuda Shigetaka, Takagi Junpei, Hasegawa Yoko, Chiba Yukako, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 636
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 regulate carbon/nitrogen-nutrient stress responses by interacting with the membrane-localized ubiquitin ligase ATL31 in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 55 ~ 61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.10.089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Luo Yongming, Takagi Junpei, Claus Lucas Alves Neubus, Zhang Chao, Yasuda Shigetaka, Hasegawa Yoko, Yamaguchi Junji, Shan Libo, Russinova Eugenia, Sato Takeo	4. 巻 23
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 stabilize the brassinosteroid receptor BR11	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e53354
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embr.202153354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Yoko, Huarancca Reyes Thais, Uemura Tomohiro, Baral Anirban, Fujimaki Akari, Luo Yongming, Morita Yoshie, Saeki Yasushi, Maekawa Shugo, Yasuda Shigetaka, Mukuta Koki, Fukao Yoichiro, Tanaka Keiji, Nakano Akihiko, Takagi Junpei, Bhalerao Rishikesh P, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 34
2. 論文標題 The TGN/EE SNARE protein SYP61 and the ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate plant responses to carbon/nitrogen conditions in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 1354 ~ 1374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koac014	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 高澤 天馬, 安田 盛貴, 西條 雄介
2. 発表標題 シロイヌナズナの湿度誘導免疫を阻害する病原細菌エフェクターの同定
3. 学会等名 第66回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2025年

1. 発表者名 Arullthevan Rajendram, Shigetaka Yasuda, Shioriko Ueda, Akihisa Shinozawa, Rahul Sk, Izumi Yotsui, Yusuke Saijo
2. 発表標題 Spatiotemporal dissection of humidity-triggered immunity in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第66回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2025年

1. 発表者名 安田 盛貴
2. 発表標題 高湿度環境における植物と葉内細菌の相互作用
3. 学会等名 第9回植物の栄養研究会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 安田 盛貴, 篠澤 章久, 平瀬 大志, 上田 栞子, 石崎 遼, 鈴木 隆司, Yuanjie Weng, SK Rahul, 四井 いずみ, 岡本 昌憲, 豊田 正嗣, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度における葉内の水環境制御をめぐるシロイヌナズナとPseudomonas syringae pv. tomato DC3000の攻防
3. 学会等名 令和6年度日本植物病理学会関西支部会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 安田 盛貴
2. 発表標題 高湿度環境における植物と葉内細菌の水をめぐる攻防
3. 学会等名 日本植物学会第88回大会シンポジウム「環境の変化に対する多様な生物の生存戦略に学ぶ」(招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 安田 盛貴, 平瀬 大志, 石崎 遼, 鈴木 隆司, 篠澤 章久, Yuanjie Weng, 四井 いずみ, 岡本 昌憲, 豊田 正嗣, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度誘導性のアブシシン酸不活化は葉内細菌の水獲得を抑制する
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Arullthevan Rajendram, Shigetaka Yasuda, Shioriko Ueda, Akihisa Shinozawa, Izumi Yotsui, Yusuke Saijo
2. 発表標題 Toward dissection of defense-related humidity sensing and signaling in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Shigetaka Yasuda, Taishi Hirase, Haruka Ishizaki, Ryuji Suzuki, Akihisa Shinozawa, Yuanjie Weng, Izumi Yotsui, Masanori Okamoto, Masatsugu Toyota, Yusuke Saijo
2. 発表標題 High humidity triggers plant resistance against bacterial water acquisition
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安田 盛貴, 平瀬 大志, 石崎 遼, 鈴木 隆司, 篠澤 章久, 西山 奏介, 四井 いずみ, 豊田 正嗣, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度における植物と病原細菌のアブシシン酸をめぐる攻防
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 上田 菜子, 安田 盛貴, 篠澤 章久, 四井 いずみ, 西條 雄介
2. 発表標題 シロイヌナズナ高湿度応答のレポーター系構築および遺伝学的解析
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shigetaka Yasuda, Taishi Hirase, Haruka Ishizaki, Ryuji Suzuki, Akihisa Shinozawa, Shioriko Ueda, Izumi Yotsui, Masatsugu Toyota, Yusuke Saijo
2. 発表標題 High humidity-induced abscisic acid catabolism critical for plant resistance against bacterial water acquisition and pathogenesis
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Arabidopsis Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安田 盛貴, 平瀬 大志, 石崎 遼, 鈴木 隆司, 篠澤 章久, 四井 いずみ, 豊田 正嗣, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度におけるアブシシン酸応答の不活化は病原細菌の水獲得を抑制する
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安田 盛貴, 平瀬 大志, 石崎 遼, 鈴木 隆司, 篠澤 章久, 四井 いずみ, 豊田 正嗣, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度環境におけるアブシシン酸の不活性化を介した細菌抵抗性の解析
3. 学会等名 日本植物学会 第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安田 盛貴, 平瀬 大志, 石崎 遼, 西條 雄介
2. 発表標題 高湿度環境におけるアブシジン酸応答の不活化は病原細菌の水獲得を抑制する
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安田盛貴, 石崎遼, 西條雄介
2. 発表標題 高湿度環境が誘起する植物の細菌抵抗性
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 安田 盛貴	4. 発行年 2023年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 4
3. 書名 アグリバイオ	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------