

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02157

研究課題名（和文）糖シグナルを介した植物の免疫調節機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of sugar-mediated defense system in plants

研究代表者

山田 晃嗣（YAMADA, Kohji）

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部（生物資源産業学域）・准教授

研究者番号：40587672

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：植物の免疫応答に関与する遺伝子/タンパク質が数多く単離されているが、細胞内環境などがどのように免疫応答に作用するのかが不明な点が多い。本研究では、細胞内の糖が植物の免疫応答に影響を与える分子機構について解析した。グルコースは細胞内でヘキソキナーゼによってリン酸化され、グルコース6リン酸（G6P）となる。G6Pはタンパク質脱リン酸化酵素ABI1の活性を抑制し、その結果ABI1が抑制しているタンパク質リン酸化酵素CPK5の活性が増強され、免疫応答の活性化に繋がることを見出した。本結果より、細胞内の代謝物によって免疫応答が制御されていることと、その分子機構の一端が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物は階層的で複雑かつ強固な免疫ネットワークを備えていることが近年の研究から明らかにされており、それらの知見を利用した耐病性育種も行われている。しかし植物の免疫応答の強度は様々な要因によって影響を受けており、安定的に高い免疫活性を維持させることは難しい。本研究では、細胞内の糖が免疫応答に作用する分子機構を明らかにした。本結果より、植物の免疫応答を強化させるためには、抵抗性遺伝子などの導入のみならず、免疫応答に適した細胞内環境を整える必要があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Although many proteins involved in plant immune responses have been isolated, how cellular environments affect plant immune systems remains unclear. This study analyzed the molecular mechanisms by which sugars affect plant immune responses. Glucose is phosphorylated by hexokinase to glucose 6-phosphate (G6P). We found that G6P suppresses the activity of the protein phosphatase ABI1, which dephosphorylates the protein kinase CPK5. It resulted in the derepression of CPK5, leading to the activation of the immune response. These results revealed a molecular mechanism by which cellular metabolites contribute to plant immune systems.

研究分野：植物生理

キーワード：植物免疫 糖

1. 研究開始当初の背景

爆発的に増加する人口を支えるために、食糧の安定供給は喫緊の課題である。特に病害被害は穀物生産の15%近くを損失する要因であることから、それを低減することで大幅な食糧の増産が期待できる。病原体から身を守るために、植物は階層的で複雑かつ強固な免疫ネットワークを備えていることが近年の研究から明らかにされており、それらの知見を利用した耐病性育種も行われている。しかし植物の免疫応答の強度は様々な要因によって影響を受けており、安定的に高い免疫活性を維持させることは難しい。そこで、病原菌の認識から免疫応答の出力に至る一連の分子の単離の他に、その他の細胞内因子がどのように免疫応答に作用するかを理解する必要があった。

2. 研究の目的

本研究では、糖が植物の免疫応答に与える影響とその分子メカニズムについて解析することを目的とした。本研究代表者は、これまでに糖トランスポーターが植物の細菌抵抗性に寄与することを解析してきた。植物の糖トランスポーターは細胞外の糖を吸収し、糖摂取を阻害することで最近の増殖を抑えることを見出している (Yamada et al., *Science*, 2016)。一方で、糖トランスポーターによって吸収された糖は、植物細胞内においてエネルギー源や糖シグナルの活性化を介して免疫応答へ貢献しているのではないかと推測した。実際に糖トランスポーター変異体では免疫マーカー遺伝子の発現の減少が見られ、細胞内の糖の量が免疫応答の出力に影響を及ぼしていることが推測された。そこで、細胞内に吸収された糖は免疫応答を活性化する、すなわち「糖による免疫調節機構」の着想に至り、本研究ではその分子メカニズムの解明に挑んだ。

3. 研究の方法

本研究では、モデル植物のシロイヌナズナを用いて、糖と免疫応答の関連性を調べた。糖としては、グルコースなどの他に、非代謝性のグルコースアナログの2-デオキシ-グルコース (2DG) や3-O-メチル-グルコース (3OMG) を用いることで、糖の影響がエネルギーの生産を介したものであるかの検討を行った。

4. 研究成果

(1) 糖誘導性の免疫応答の解析

シロイヌナズナの実生にグルコースまたはスクロースを処理したところ、免疫関連遺伝子 *NHL10* の発現上昇が検出された (図1)。さらに、非代謝性の2DGを処理した場合においても強い *NHL10* の誘導が見られ (図1)、糖誘導性の *NHL10* の発現は糖代謝によるエネルギー生産を介したのではなく、糖の認識を介したものだと考えられた。また、2DG処理により抗菌性物質のカムレキシンや植物ホルモンのサリチル酸の蓄積が観察された。2DGはヘキソキナーゼによって2DG6リン酸となるが、解糖系によるその後の代謝は受けないとされている。一方で、2DGと比べてヘキソキナーゼとの親和性が低い3OMGを処理した際には *NHL10* の誘導が見られないこ

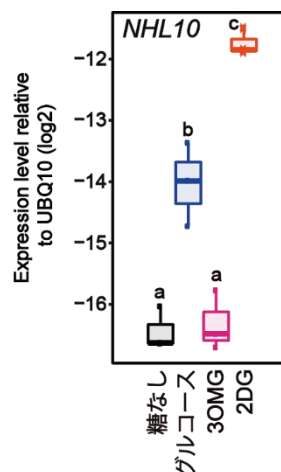


図1、免疫関連遺伝子 *NHL10* の糖誘導性

とから (図 1)、2DG による *NHL10* の誘導はヘキソキナーゼを介したものだと考えられた。そこで、2DG をリン酸化するヘキソキナーゼ *HXK1* および *HXK2* の二重変異体(*hxx1/2* 変異体)を作成し、2DG 誘導性の *NHL10* の発現を調べた。その結果、*hxx1/2* 変異体では、*NHL10* の 2DG 誘導性の低下が観察され、ヘキソキナーゼによる 2DG のリン酸化が免疫応答の誘導には必要であると考えられた。これらの結果より、2DG6 リン酸が免疫応答を誘導していると推測された。

(2) 糖誘導性の免疫応答に関与する因子の探索

免疫関連因子の遺伝子破壊株において、2DG 誘導性の *NHL10* の発現を調べた。その結果カルシウム依存性プロテインキナーゼ *CPK5* の破壊株において、*NHL10* の発現が減少していることが見出された。さらに、*cpk5* 変異体では 2DG 誘導性のカマレキシンの蓄積も減少していたが、一方でサリチル酸の蓄積は増加しており、*CPK5* はカマレキシンを正に、サリチル酸を負に制御していることが明らかとなった (図 2)。

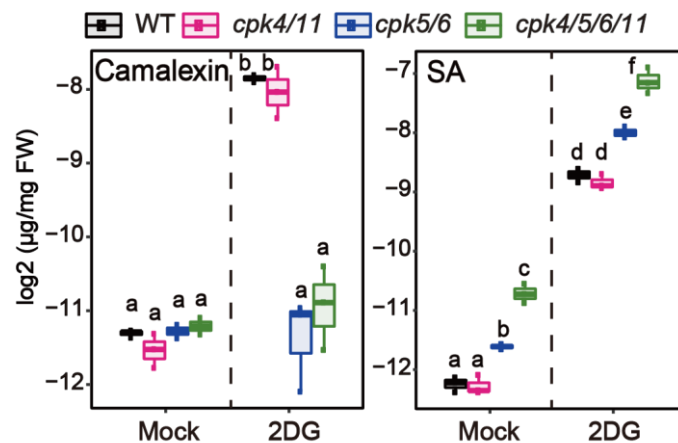


図 2、2DG 処理時の
カマレキシンおよびサリチル酸 (SA) 蓄積量

(3) グルコース 6 リン酸による *CPK5* の活性制御

2DG6 リン酸および *CPK5* が *NHL10* の誘導に関与していることから、2DG6 リン酸が *CPK5* の活性化を行っていることが考えられた。実際に、シロイヌナズナに 2DG を処理したところ、*CPK5* の自己リン酸化の増加が検出された。しかし、*in vitro* 条件における 2DG6 リン酸による *CPK5* の活性化は見られなかったことより、間接的な制御であると考えられた。そこで、*CPK5* を制御している因子の探索を行い、*CPK5* を脱リン酸化しているプロテインフォスファターゼ 2C の *ABI1* を同定した。そして *ABI1* の脱リン酸化活性を調べたところ、2DG6 リン酸およびグルコース 6 リン酸によってその活性が低下したことより (図 3)、それらの分子を介した *ABI1* の活性低下が、*CPK5* の自己リン酸化の増加につながり、*NHL10* の誘導に関与していることが考えられた。これらの結果より、糖が細胞内で免疫応答を活性化する分子機構の存在とそれに関与する因子が明らかとなった。

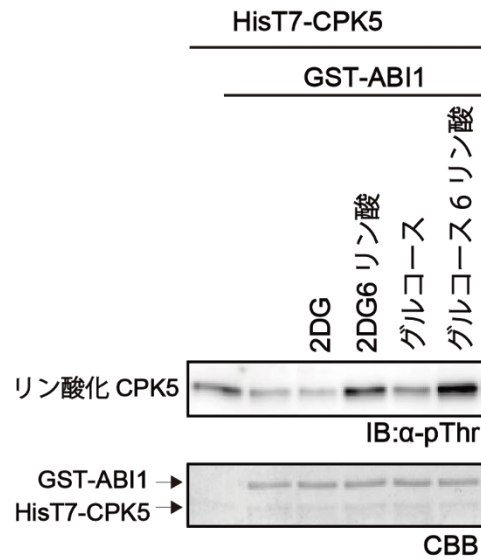


図 3、グルコース 6 リン酸による ABI1 の活性阻害
 プロテインフォスファターゼ ABI1 はプロテインキナーゼ CPK5 を脱リン酸化しているが
 2DG6 リン酸またはグルコース 6 リン酸存在下では ABI1 の活性が阻害されて
 CPK5 の自己リン酸化（上段）が増加された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamada Kohji, Mine Akira	4. 巻 10
2. 論文標題 Sugar coordinates plant defense signaling	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Science Advances	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） 10.1126/sciadv.adk4131	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kohji Yamada, Akira Mine
2. 発表標題 Sugar stimulates defense signaling via the activation of protein kinases
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kohji Yamada
2. 発表標題 Sugar co-ordinates plant defense signaling
3. 学会等名 12th Japan-US Seminar in Plant Pathology（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田晃嗣、峯彰
2. 発表標題 糖は植物免疫の調整機能を持つ
3. 学会等名 植物病理学会関西西部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kohji Yamada, Akira Mine
2. 発表標題 Sugar influx via transporters enhances defense signaling
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------