

被害を受けた仲間の香りを取り込んで身を守る！

— 植物間の化学コミュニケーション解明に向けて

杉本貢^{1,2}・松井健二³・高林純示²

¹日本学術振興会特別研究員・²京都大学生態学研究センター・³山口大学大学院医学系研究科

身 近な仲間が発した香りを察知し、迫りくる危険に自らも身構える……。植物どうしもコミュニケーションを行っており、それを担う化学物質やしくみの一端が明らかにされつつある。動物のように嗅覚受容器官をもたない植物は、どうやって信号を感知しているのだろうか？

植物が揮発性の化学物質、いわゆる「香り」を利用したコミュニケーションを行っている例はさまざまな植物種で報告されている。これらの報告では、植食性節足動物（昆虫やハダニなど）の攻撃を受けた植物からの香りが、周囲に生育している未被害の植物に受容され、被害前から誘導的な防衛を開始することが明らかになっている。合成化合物の曝露による植物間コミュニケーションの模擬実験によると、その化学構造や混合比などの違いによって植物の反応が異なる場合も報告されており、なんらかの香り受容機構の存在が示唆される^{1,2)}。しかし、動物における「鼻」に相当する特異的な嗅覚受容器官をもたない植物は、どのようにしてさまざまな香り

すぎもと・こういち ● 日本学術振興会特別研究員（京都大学、ミシガン州立大学派遣研究員）、2008年東京薬科大学大学院生命科学研究科博士課程修了、＜研究テーマ＞植物の害虫に対する防衛能力とそのしくみの解明、＜趣味＞日に当たる

まつい・けんじ ● 山口大学大学院医学系研究科（農学系）教授、1986年京都大学大学院農学研究科修士課程修了、博士（農学）、＜研究テーマ＞植物の香りの生化学、生態学

たかばやし・じゅんじ ● 京都大学生態学研究センター教授、1986年京都大学大学院農学研究科博士課程修了、＜研究テーマ＞揮発性物質が駆動する植物-植食者-捕食者三者相互作用・情報ネットワークおよび植物間コミュニケーションの化学生態学的研究、＜趣味＞読書、空手、碁（もっぱら鑑賞）、居酒屋めぐり

を認識しているのだろうか。

最近筆者らは、未被害トマトの葉が、食害を受けたトマトの葉から放散される揮発性物質のなかの(Z)-3-ヘキセノール（青葉アルコール）を細胞内に取り込み、配糖体化するという現象を見いだした。さらにこの配糖体が、その後の食害に対する防衛物質として働いていることもわかった。これらの結果から、配糖体化がトマトの香りコミュニケーションに必要な揮発性物質認識メカニズムの一つであることが明らかになったのである。ここでは、新たに解明された植物体のあいだで行う化学コミュニケーションについて解説する。

食害された植物から放散される香り

植物はさまざまな香りを放散するが、害虫による食害を受けた葉から放散されるおもな化合物群は、「みどりの香り」と揮発性のテルペンである³⁾。これらの物質は、食害という物理的な刺激と、害虫の唾液成分などの二つの因子によって誘導的に生産される。

みどりの香りは、リノレン酸がリポキシゲナーゼによる酸化およびリアーゼによる開裂の2段階の酵素反応を受けることによって生成する(Z)-3-ヘキセノールとその関連化合物であり、いわゆる草刈りの際に感じるような「青臭い」匂いがする（図1a）。一方、揮発性テルペンはイソプレン骨格を基本ユニットとする一連の化合物群で、テルペンシターゼによる骨格形成とP450による修飾によって、ゲラニルピロリン酸やファルネシルピロリン酸などから生産される（図1b）。テルペンは、その多様な立体構造によってさまざまな香りをもつ。

ハスモンヨトウ(*Spodoptera litura*, 写真1)は、本稿の主役であるトマトをはじめ、さまざまな作物の重要害虫である。

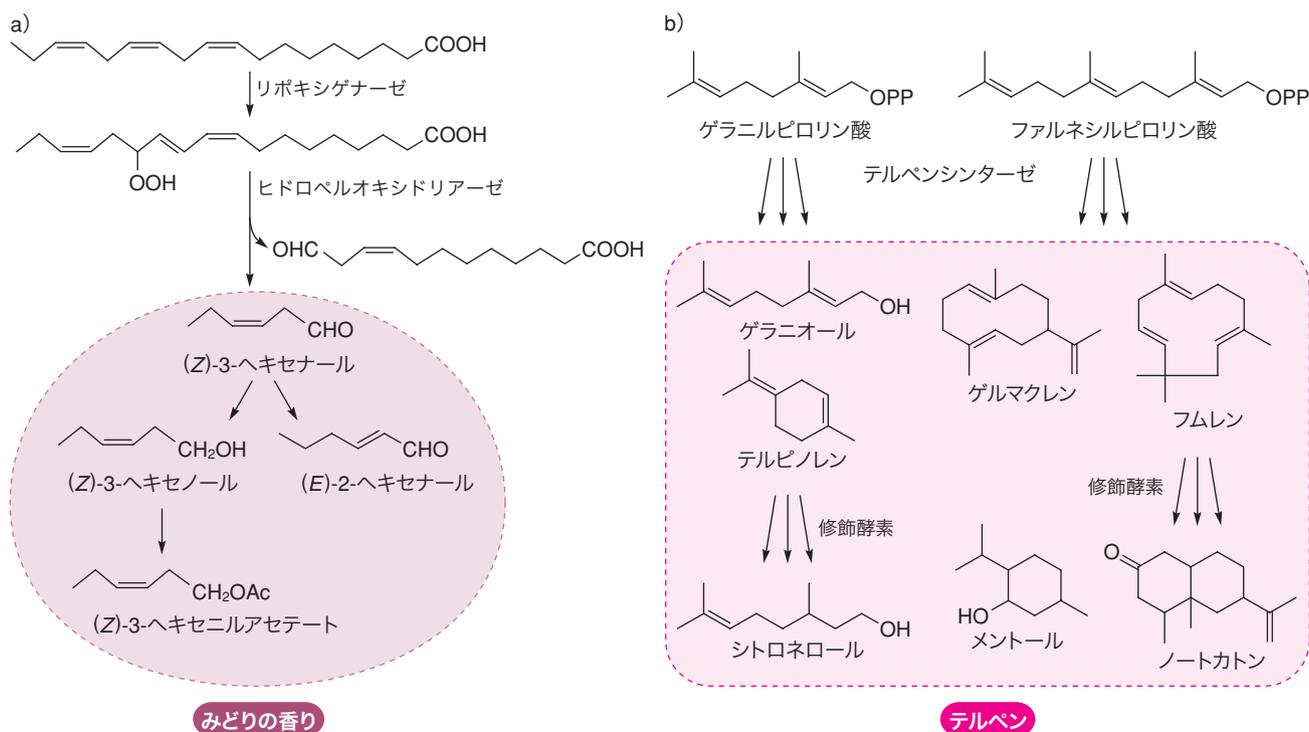


図1 主要な香りの生合成経路

a) リノレン酸を出発材料とするみどりの香り生合成経路. リノレン酸がリポキシゲナーゼによる酸素添加とヒドロペルオキシドリアーゼによる開裂を受けることで (Z)-3-ヘキセナールが生成する. b) ゲラニルピロリン酸とファルネシルピロリン酸を出発材料とするテルペン生合成経路. ゲラニルピロリン酸やファルネシルピロリン酸はそれぞれテルペン合成酵素の作用でさまざまなモノテルペン, セスキテルペンへと変換される. 生合成されたみどりの香りやテルペンは, さらにさまざまな形態へと代謝され, 化合物の多様性をもたらす.

トマトの葉がハスモンヨトウに食害された場合も, おもにみどりの香りとテルペンが放散される⁴⁾. 筆者らの実験では, ハスモンヨトウ若齢幼虫に食害されたトマトから (Z)-3-ヘキセナール, (Z)-3-ヘキセノール, (E)-2-ヘキセナール, (Z)-3-ヘキセニルイソブチレート, (Z)-3-ヘキセニルアセテート, α -ピネン, β -フェランドレン, β -ピネン, β -カリオフィレン, α -フムレン, γ -テルピネン, カンフェン, α -テルピノレン, サビネンそして α -フェランドレンが未被害のものよりも多

く放散していた (図2). 被害株から特異的に放散されるこれらの香りは, 植食者誘導性揮発性物質 (herbivore-induced plant volatiles; HIPVs) と呼ばれ, 食害に対する防衛の一環として放散されていると考えられているが, 実際にどのようにして植物の防衛に働いているのだろうか.

香りを用いた植物の防衛システム

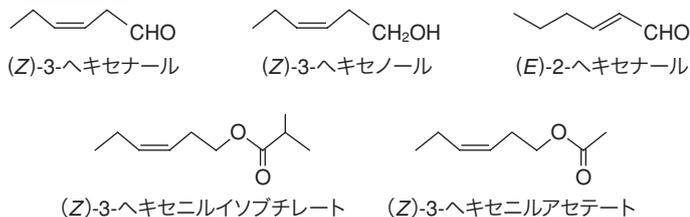
みどりの香りグループの揮発性物質は複数成分があるが, そのなかの主成分の一つである (E)-2-ヘキセナールは α, β -不飽和カルボニル構造をもち, 化学的に反応性の高い化合物であるため, 生体成分に求核攻撃を仕掛けることができる⁵⁾. このため, 植食者や病気に対する防衛物質として機能する可能性が高い. みどりの香り生合成に必須の酵素, ヒドロペルオキシドリアーゼをコードする遺伝子を抑制させたジャガイモでは, アブラムシの成長・増殖が高まる報告があり⁶⁾, みどりの香りがアブラムシに対する生育抑制物質として直接作用している可能性が考えられる.

さらに HIPVs は, 害虫を捕食する天敵生物にも利用され



写真1 トマトの葉を食べるハスモンヨトウ

みどりの香り



テルペン

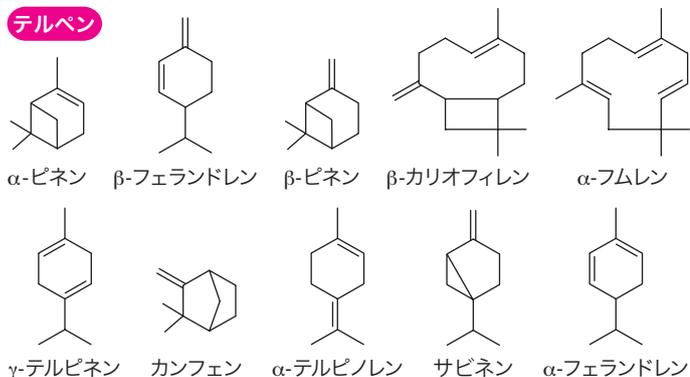


図2 食害を受けたトマトから多く放散される香り化合物
 ハスモンヨトウの食害を受けたトマトは、未被害のトマトに比べてみどりの香りやテルペンの放散が増加する。

る。食害特異的な HIPVs は、害虫の居場所を示す情報となるため、天敵生物が餌を探索する際に利用して効率よく餌となる害虫を発見している(図3)。たとえば、もっぱらアブラナ科植物を食べるモンシロチョウ (*Pieris rapae*) の幼虫(アオムシ)には、体長2mmほどの小さな天敵寄生蜂アオムシサムライコマユバチ (*Cotesia glomerata*, 以下コマユバチ)が日本中どこにでもいる。コマユバチはアオムシの主要な天敵であり、寄生率は高いときで90%以上に達する⁷⁾。このハチはアブラナ科植物がアオムシの食害を受けた際に放出するHIPVsのなかでも、みどりの香りグループに誘引される⁸⁾。この機能はさまざまな植物-植食性害虫-天敵生物の系で報告されていることから、植物は香りの放散によって天敵生物の行動を変化させ、間接的に害虫を撃退していると一般的に考えられている。

これらの機能に加えて、HIPVsは植物間コミュニケーションを媒介する(図3)。植物間でのコミュニケーション研究では、受け手の植物の防衛能力の評価や遺伝子発現変化などさまざまな解析がなされてきたが、どのようにして香り化合物を受け取っているのかは明らかになっていなかった。次に、香りを配糖体化することが植物による匂い受容メカニズムの一つであることを示した最新の研究成果について紹介する。

揮発性化合物に曝露されたトマトの代謝変化

植物間コミュニケーションにおける香り受容機構の研究を始めるにあたって、まずどのような植物、害虫、そして実験システムを用いるのがよいかを検討した。植物間コミュニケーションの研究例⁹⁾が多いリマメを使用した実験系では、遺伝子発現の調節領域を単離することやタンパク質の発現変化を解析することができたが^{10,11)}、より詳細な解析にはゲノム配列や染色体マップ、遺伝子組換え技術など遺伝的リソースが利用できることが有利となる。トマトはゲノム解読がすでに完了し¹²⁾、分子遺伝学的なリソースが充実している。さらに、食害の程度を調査するのに十分な個体サイズをもっていたことから、筆者らは植物間コミュニケーションの分子機構を解析するモデルシステムとしてトマトを採用することに決めた。

はじめに、ハスモンヨトウに食害されているトマトからの香り化合物に曝露された未被害のトマトで、どのような代謝変化が起こっているのかを調べた。代謝物の網羅的な解析には、(公財)かずさDNA研究所と協力して最新機器による解析を行った。LC-QTOF-MSおよびLC-FT/ICR-MSを用い、約7000個のイオンピークのなかから根気よく調べていくと、曝露植物においてのみ顕著に蓄積する化合物の一つを見出すことができた。この化合物が植物間コミュニケーションの鍵化合物になると考え、その構造解析に着手した。

この化合物は保存していた植物体サンプル、抽出液サンプル

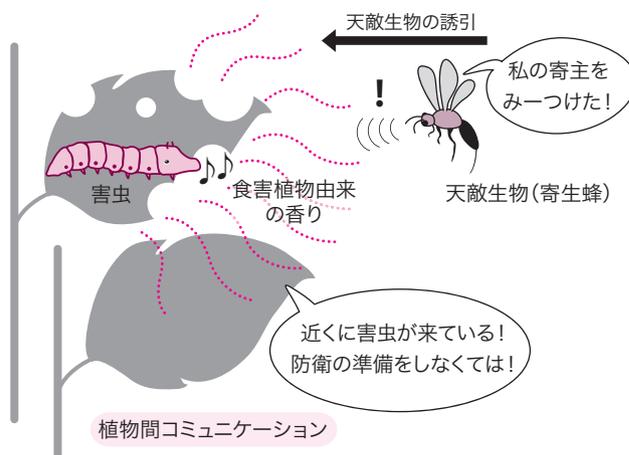


図3 食害を受けた植物からでる香り化合物の機能
 害虫に食害された植物は、害虫を捕食する天敵生物を誘引することで間接的に害虫を退治する。また、食害されている植物の周囲に生育している未被害植物は、香りを手掛かりにして害虫の接近を察知し、近づきつつある害虫に対する防衛の準備をする。

ルからも検出することができるため、比較的安定な化合物であると考えられた。そこでカラム分離による単離・精製を目指すことにした。約2kgのトマトの葉を出発材料として用いたが、準備するのはただのトマトの葉ではなく、香りを曝露した葉である。今回の研究で最も苦勞したのは、この出発材料の準備であった。葉を香りに一定時間曝露しては冷凍し、粉碎・80%メタノールによる抽出を続けた。得られた抽出物は、クロロホルムによる液-液分配で脂溶性物質を除去し、HP20 合成吸着材のカラムを用いて粗分画した。さらに逆相のフラッシュクロマトグラフィーにより精製を進めたが、十分な精製度が得られなかったため、さらに逆相 HPLC および順相 TLC による分画を経て、構造解析が可能な精製品を得た(図4)。この化合物は二次元 NMR の相関解析によって (Z)-3-ヘキセニルピシアンシド [(Z)-3-ヘキセニル α -L-アラビノピラノシル- β -D-グルコピラノシド] であることを明らかにできた。

興味深いことに、この化合物はアグリコンとして食害トマトから放散される化合物の一つである (Z)-3-ヘキセノールと同じ構造をもっていた(図5)。そこで筆者らは、(Z)-3-ヘキセノールが被害植物から未被害植物へと受け渡される因子そのものではないかと考えた。(Z)-3-ヘキセノールはトマトが

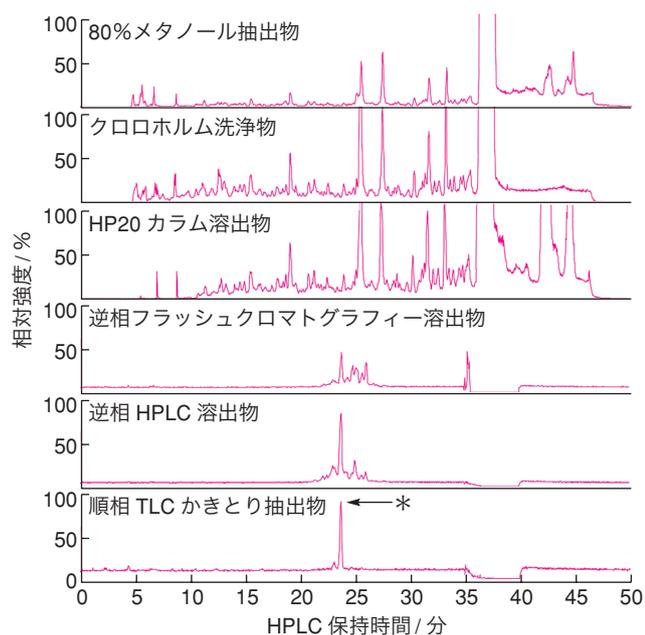


図4 香りに曝露されたトマトに見られる特異的な代謝物の精製 HPLC-MS によるトータルイオンクロマトグラムを示す。葉の80%メタノール抽出物から5段階の精製段階を経て、ほぼ単一の化合物(*)が得られた。

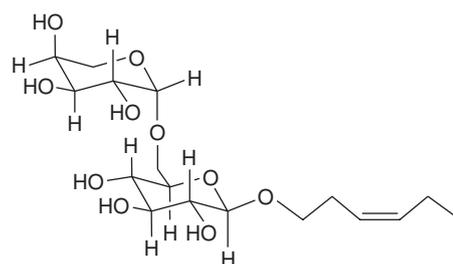


図5 (Z)-3-ヘキセニルピシアンシドの化学構造

つくりだすことのできる香り化合物である。そこで、曝露植物に蓄積した (Z)-3-ヘキセニルピシアンシドのアグリコンが、被害植物から放散された (Z)-3-ヘキセノールに由来するのか、それとも曝露植物が新たに合成したものに由来するのかを明らかにするために、標識した (Z)-3-ヘキセノールを用いて実験を行った。3-ヘキシノールを重水素雰囲気下においてリンドラー触媒によりシス体特異的に還元することで、重水素標識した (Z)-3-ヘキセノールを合成し、これを未被害トマトに曝露したところ、重水素標識の入った (Z)-3-ヘキセニルピシアンシドが蓄積した。蓄積した (Z)-3-ヘキセニルピシアンシドの99%が標識体であったことから、香りに曝露された植物が、大気中に漂う香り化合物そのものを取り込み、葉内で配糖体へと変換していることが明らかになった。いわゆるレセプターを介した情報伝達とは異なる形態ではあるものの、植物による香り化合物を受け取るメカニズムの一つとして配糖体化というシステムを見いだすことができた。

ヘキセニルピシアンシドの生合成

それでは、トマトの葉で起こる香り化合物の変換は、どのように制御されているのだろうか。大気中から葉内に取り込まれた (Z)-3-ヘキセノールがまずグルコースと結合し、続いてアラビノースが転移することで (Z)-3-ヘキセニルピシアンシドへと変換されるのか、それともピシアンシドがつくられ、(Z)-3-ヘキセノールが結合するのかはまだわからない。ただ、(Z)-3-ヘキセノールの配糖体にターゲットを絞って香りに曝露されたトマト葉の成分を調べてみると、ごくわずかながら (Z)-3-ヘキセニルグルコシドが認められたことは前者の可能性を示唆しているのかもしれない。なお、トマトの主要な糖アルカロイドであるトマチンがもつ糖鎖は、一つひとつの糖ユニットが順序よく付加されていくことが報告されている¹³⁾。

この香り化合物の配糖体化システムは、植物の主要な防衛ホルモンであるジャスモン酸の影響を受けるのだろうか？

ジャスモン酸を処理したトマトは(Z)-3-ヘキセノールを放散しはじめるものの、自身の葉内に(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドを蓄積させない。続いて、ジャスモン酸により防衛関連遺伝子が活性化されたトマトに(Z)-3-ヘキセノールを曝露し、(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドへの変換速度を調べたが、ジャスモン酸処理の有無にかかわらず(Z)-3-ヘキセニルビシアノシド変換速度は変化しなかった。これらの結果は、(Z)-3-ヘキセノール配糖体化システムが通常的环境下においてすでに準備されており、ジャスモン酸による活性化は起こらないことを示唆している。

揮発性化合物の配糖体化による防衛応答

最後に、はたして(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドは実際に防衛に貢献しているのかを見ていこう。香り化合物に曝露されたトマトを食べたハスモンヨトウは成長が抑制されることから、香りがトマトの防衛を高めていることはまちがいない。(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドの効果を直接評価するために、人工飼料に精製した(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドを混合し、ハスモンヨトウに食べさせたところ、混合していないコントロール餌を食べたハスモンヨトウと比較して有意な生育抑制および新生幼虫の生存率低下が観察された。これらの結果から、被害トマトと健全トマト間のコミュニケーションの結果、健全株がハスモンヨトウに対してより防衛的になった事実は、(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドの蓄積で一部説明できると考えている。

これまでの結果から、食害された植物から放散されるさまざまな香り化合物のなかで、(Z)-3-ヘキセノールが周囲の未被害植物に取り込まれ、害虫の生育抑制活性をもつ配糖体に変換されることが明らかになった。この成果は、植物が大気中の香り化合物を受け取る経路を明らかにしたはじめての報告である。しかしながら、よりミクロな視点では、(Z)-3-ヘキセノールを受け取るメカニズムの中心的役割を担う(Z)-3-ヘキセノール配糖体化酵素はいまだ明らかにされていない。この酵素は誘導性ではなく、通常の生育段階で常に準備されている酵素と考えられることが先の実験で明らかになっている。また、マクロな視点では、このようなシステムが実際の生態系における生物群集構造の維持においてどのように貢献しているのかは今後の課題である。現在、トマトの(Z)-3-ヘキセノール配糖体化酵素を明らかにしつつあり、今後はこ

の遺伝子が欠損することで(Z)-3-ヘキセノール配糖体化ができない植物を用いて、その生理・生態学的重要性を明らかにしていきたいと考えている。

植物間コミュニケーションを媒介する香りは、今回紹介した(Z)-3-ヘキセノールだけではない。さまざまな植物-植食間相互作用の結果放出されるHIPVsの混合物には、共通していくつかの揮発性のテルペン炭化水素群が含まれている。これらの物質もまた単独で植物に曝露すると、普段は発現しない防衛に関する遺伝子などが発現することが知られている^{1,14)}。官能基のない炭化水素を植物がどのように認識し受容しているのかはまだ未解明である。今回の(Z)-3-ヘキセノールの例は、植物間コミュニケーションにおける香り受容機構の氷山の一角といえる。今後さらに研究を続け、その全体像を描いてみたい。

謝辞：今回紹介した(Z)-3-ヘキセニルビシアノシドに関する研究は、飯島陽子博士、青木考博士、柴田大輔博士〔(公財)かずさDNA研究所〕による代謝物解析およびIvan Galis教授、Kabir Md. Alamgir博士(岡山大学)による植物ホルモン解析に関する助力により行うことができました。また、文部科学省科学研究費基盤研究S、日本学術振興会拠点形成事業(20004)、日本学術振興会特別研究員奨励費(24-841)、植物科学最先端研究拠点ネットワークおよび奈良先端大学院大学・植物科学研究教育推進プロジェクトの支援を受けて行われました。この場をお借りして、御礼申し上げます。

参考文献

- 1) K. Kishimoto, K. Matsui, R. Ozawa, J. Takabayashi, *Plant Cell Physiol.*, **46**, 1093 (2005).
- 2) Y. Kikuta, H. Ueda, K. Nakayama, Y. Katsuda, R. Ozawa, J. Takabayashi, A. Hatanaka, K. Matsuda, *ibid.*, **52**, 588 (2011).
- 3) G.-i. Arimura, K. Matsui, J. Takabayashi, *ibid.*, **50**, 911 (2009).
- 4) K. Sugimoto, K. Matsui, Y. Iijima, Y. Akakabe, S. Muramoto, R. Ozawa, M. Uefune, R. Sasaki, K. Md. Alamgir, S. Akitake, T. Nobuke, I. Galis, K. Aoki, D. Shibata, J. Takabayashi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 7144 (2014).
- 5) E. E. Farmer, C. Davoine, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **10**, 380 (2007).
- 6) G. Vancanneyt, C. Sanz, T. Farmaki, M. Paneque, F. Ortego, P. Castañera, J. J. Sánchez-Serrano, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 8139 (2001).
- 7) N. Ohsaki, Y. Sato, *Ecol. Entomol.*, **15**, 169 (1990).
- 8) K. Shiojiri, R. Ozawa, K. Matsui, K. Kishimoto, S. Sugimiya, J. Takabayashi, *J. Chem. Ecol.*, **32**, 969 (2006).
- 9) M. Heil, J. C. Silva Bueno, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 5467 (2007).
- 10) K. Sugimoto, K. Matsui, R. Ozawa, J. Takabayashi, *J. Plant Interact.*, **6**, 163 (2011).
- 11) K. Sugimoto, K. Matsui, R. Ozawa, Y. Kuramitsu, J. Klej, A. David, A. Muck, K. Nakamura, W. Boland, J. Takabayashi, *ibid.*, **8**, 219 (2013).
- 12) The Tomato Genome Consortium, *Nature*, **485**, 635 (2012).
- 13) M. Itkin, U. Heinig, O. Tzfadia, A. J. Bhide, B. Shinde, P. D. Cardenas, S. E. Bocobza, T. Unger, S. Malitsky, R. Finkers, Y. Tikunov, A. Bovy, Y. Chikate, P. Singh, I. Rogachev, J. Beekwilder, A. P. Giri, A. Aharoni, *Science*, **341**, 175 (2013).
- 14) K.-A. Godard, R. White, J. Bohlmann, *Phytochemistry*, **69**, 1838 (2008).