



Title	(みにれびゅう) トレードオフを利用した植物のウイルス防御戦略
Author(s)	中原, 健二
Citation	生化学, 89(3), 436-440 https://doi.org/10.14952/SEIKAGAKU.2017.890436
Issue Date	2017-06-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67319
Rights	© 2017 公益社団法人日本生化学会
Type	journal article
File Information	Text for Huscap2017.pdf



みにれびゅう

タイトル: トレードオフを利用した植物のウイルス防御戦略

中原 健二

北海道大学大学院農学研究院

Email: knakahar@res.agr.hokudai.ac.jp

Phone: 011 706 2490

Fax: 011 706 2483

和文住所:

北海道札幌市北区北9条西9丁目

英文タイトル:

Paired immunities that impose trade-offs on viruses secure durability of the immunities in plants

英文氏名:

Kenji Nakahara

英文所属:

Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University

英文住所:

Kita 9, Nishi 9, Kitaku, Sapporo, Hokkaido, 060-8589 Japan

和文ダイジェスト

一つの防御機構を克服するための変異が、もう一つ別の防御機構による制御をより強く受けるトレードオフを強いることで、進化の速い病原ウイルスに対抗する植物の防御戦略を概説する。

1. はじめに

動植物のウイルス防御機構は、病原ウイルスとの進化的な軍拡競争を繰り広げていると言われている。しかし、ウイルスは動植物に比べゲノム複製での変異頻度が高く、世代間隔も短く、集団が大きいためにはるかに進化が速いことから、動植物の免疫機構を完全に打ち負かせるようにも思える。本稿ではなぜウイルスが覇者にならないのかを考えてみたい。植物では主に2種類の自然免疫受容体、受容体様リン酸化酵素（receptor-like kinase : RLK）と優性抵抗性（R）遺伝子の多くがコードする NB-LRR（nucleotide-binding site-leucine-rich repeat）型免疫受容体（以下、NB-LRR タンパク質）がウイルスを含む種々の病原体の侵入を認識する。RLK は動物の自然免疫受容体と同様に病原微生物に共通/必須の分子パターン（pathogen-, または microbe-associated molecular patterns : PAMPs または MAMPs）を認識することで広範囲の病原体に対して防御反応（pattern-triggered immunity : PTI）を誘導する。一方、NB-LRR タンパク質の認識は特異的で、病原体の一部の種や系統だけが発現するタンパク質を認識する。この場合、上記のように進化が速く、NB-LRR タンパク質による認識を逃れる変異を獲得しやすいと思われる病原微生物に対しても、特異的な認識を介した防御が有効に働くのはなぜなのだろうか。上記 PTI と ETI に加えてメカニズムの異なる独立のウイルス防御機構がいくつか知られており、それらの中にも ETI と同様に、PAMPs ではないウイルスタンパク質を特異的に認識したり、結合して不活化するタイプの防御機構がある。これらについてもなぜ防御の有効性が保たれるのであろうか。筆者らのエンドウのウイルス防御機構の研究で^{1,2)}、ウイルスは感染のために一つの防御機構を克服するための変異を獲得すると、変異ウイルスがもう一つ別の防御機構による制御をより強く受けてしまうトレードオフを強いられていることが示唆された。すなわち適

応変異に同時に懲罰を与えるトレードオフの関係により，防御機構を逃れようとウイルスが変異しても防御機構の有効性が保持できていることが示唆された（図 1）．このようなウイルスにトレードオフを強いる関係は他の防御機構の組み合わせでも見いだされることから，進化の速いウイルスに対抗するための植物の一般的な防御戦略と思われる．以下では，それらウイルスにトレードオフを強いるウイルス防御機構の組み合わせに焦点を当てて概説する．

2. ジグザグモデルが示唆するウイルスのトレードオフ

植物免疫と病原微生物の関係については，両者間の進化的軍拡競争を概念的にモデル化したジグザグモデル³⁾が有名である．このジグザグモデルは，ウイルスではなく細菌や糸状菌と植物の相互作用に関する研究に基づいて提唱され，なぜ植物では RLK と NB-LRR タンパク質の 2 種類の免疫受容体を介した防御機構が発達したのかを明快に説明する⁴⁾．すなわち，はじめに記述したとおり，【植物は】RLK による病原体の PAMPs/MAMPs の感知により，初めて侵入してくる病原体や病原体ではない微生物も含め広範囲に PTI を誘導することができる．これに対して，病原性のある微生物はエフェクターと呼ばれる PTI を阻害する遺伝子を獲得していて，侵入した植物細胞にエフェクターを分泌することで PTI を抑えて感染増殖する．そこで病原微生物のエフェクターに対抗するために，植物は NB-LRR タンパク質でエフェクター分子を特異的に感知して過敏感反応（hypersensitive response : HR）と呼ばれるプログラム細胞死を含む強い防御反応（effector-triggered immunity : ETI）を誘導して感染を阻害する．ジグザグモデルでは，さらに，病原微生物が NB-LRR タンパク質に認識されるエフェクターを捨て去り，代わりに新たなエフェクターを獲得して病原性を回復する．植物側も

その新たなエフェクターを認識する NB-LRR タンパク質を進化させて対抗という関係が示されている。この進化上の攻守の入れ替わりがジグザグの名前の所以である。

このジグザグモデルをウイルスと植物の相互作用に当てはめて考えるとウイルスにトレードオフを強いる関係がみえてくる（図 1）。すなわち、植物ウイルスの多くは RNA をゲノムに持つ RNA ウイルスで、植物に感染する DNA ウイルスを含めてゲノムサイズは小さく（<20 kb）、3~13 個の遺伝子しか持たない。だから、それぞれの遺伝子がコードするタンパク質は複数の機能を果たし、ウイルスの感染・増殖を成立させるために必須の働きを担う。そのため、あるウイルスタンパク質がエフェクターとして NB-LRR タンパク質に認識される場合、ウイルスはその認識を逃れるためにウイルスエフェクターを捨てるわけにはいかず、NB-LRR タンパク質が認識する部位に変異を獲得して認識を逃れようとする。このとき、もし NB-LRR タンパク質がエフェクターの PTI を抑制するために重要な活性領域を認識すると、ウイルスはエフェクターの変異により NB-LRR タンパク質認識による ETI を逃れられても PTI を抑制できずに、今度は PTI による制御をより強く受けることになる（図 1A）。このウイルスエフェクターの変異に強いられるトレードオフにより、PTI を完全に阻害し、かつ ETI を完全に逃れるようなウイルスの強毒化は起きえないため、結果としてウイルスに対する PTI と ETI による防御の有効性を維持できているのではないかという解釈である。

では実際に、植物の PTI と ETI の組合わせで、ウイルスにトレードオフを強いる関係が成り立っていると思われる過去の研究について例示する。残念ながら、これまでにウイルスを認識して PTI を誘導する RLK は同定されていないが、最近、二本鎖 RNA をウイルス PAMPs として認識する RLK の存在が示唆されている⁵⁾。二本鎖 RNA をウイルス PAMPs として認識することは理にかなっていて、上記したように、ウイル

スの多くが RNA ウイルスであるため、ゲノム RNA の複製過程や分子内高次構造として二本鎖 RNA が感染細胞内で形成されるからである。実際、RLK を介した PTI ではないが、二本鎖 RNA により誘導され、二本鎖 RNA に相同な配列を持つ RNA を分解する RNA サイレンシング (RNA 干渉, RNAi と呼ばれる) がウイルスに対する植物の PTI と考えられている⁶⁾。これを裏づけるようにほとんどの植物ウイルスが RNA サイレンシングを抑制するエフェクター因子 (RNA silencing suppressor : RSS) をコードしている。これら RSS を認識する NB-LRR タンパク質が同定されるか、同定されていなくても ETI, つまり HR が誘導される例が複数報告されている⁶⁾。そして、これら RSS を認識する受容体 (おそらく NB-LRR タンパク質) が、RSS の RNA サイレンシング抑制活性を認識する例が報告されていることから⁷⁾、ウイルス RSS の適応変異にトレードオフが強いられることが考えられる (図 1B)。

このウイルス RSS の適応変異へのトレードオフは、この後に述べる別の側面からも強固な仕掛けになっているのではないかと思われる。RNA サイレンシングは真核生物の多くの内生遺伝子もマイクロ RNA (miRNA) と呼ばれる内生の小 RNA を介して制御されていることが知られる。最近、この miRNA により多くの NB-LRR タンパク質遺伝子の発現が制御 (抑制) されていることが報告された^{8,9)}。ウイルス RSS を認識する NB-LRR タンパク質が miRNA に制御されている場合、miRNA を介した RNA サイレンシングが RSS に阻害されると RSS を認識する NB-LRR タンパク質の発現が増して防御反応が増強することになる。この場合、たとえ NB-LRR タンパク質が RNA サイレンシングを抑制する活性の強弱とは無関係に RSS を認識するとしても、miRNA による NB-LRR タンパク質の発現制御を介して、結果的に RNA サイレンシングを抑制する活性の強いウイルス RSS ほどより強く認識されより強い防御反応が誘導され

ることになる (図 1B) . さらにいえば, たとえ NB-LRR タンパク質がウイルス RSS を認識せずに別のウイルスタンパク質を認識する場合でも (むしろ, ウイルスの外被タンパク質など RSS ではないタンパク質を認識する例の方が多く見つかっている), RNA サイレンシングとの協働によりウイルス RSS の適応変異にトレードオフが強いと筆者は考えている (図 2A) . なぜなら, 一般にウイルス RSS の RNA サイレンシングを抑制する活性が強いほど, ウイルスは感染細胞でより多く増殖するため, 結果として NB-LRR タンパク質に認識されるタンパク質の発現量も多くなる. そして, 認識されるウイルスタンパク質の発現量の違いが NB-LRR タンパク質に認識されるかされないかを決定することが我々や他のグループの研究で示唆されている. すなわち, エンドウの NB-LRR タンパク質の一つと思われる Cyn1 ~~は~~はクローバ葉脈黄化ウイルス (CIYVV) の RSS である HC-Pro ではないウイルスタンパク質 (後述する P3N-PIPO) を認識するが, 筆者らは CIYVV の自然変異株の中に, HC-Pro の RSS 活性を弱める変異を持つことで Cyn1 を介した HR による防御を逃れる変異ウイルスを見いだしている ^{2,10,11}) (図 2A) . このように NB-LRR タンパク質が直接認識する RSS の部位がどこであれ, さらには認識するウイルスタンパク質が何であれ, RNA サイレンシングと NB-LRR タンパク質を介した ETI によりウイルス RSS の適応変異にトレードオフを強いることになるのであれば, RNA サイレンシングと NB-LRR タンパク質による協働で思いの外広範囲のウイルス RSS にトレードオフを強いる仕掛けがなされていると考えられそうである.

3. トレードオフを強いるのは RNA サイレンシングと ETI に限らない

最近, 筆者らは, RNA サイレンシングとは関係のないエンドウの劣性ウイルス防

御機構と ETI が協働して、CIYVV にトレードオフを強いることを見いだした。この劣性は、遺伝的に表現型が劣性形質を示すという意味である。上記のように植物ウイルスがコードする遺伝子は少なく、感染・増殖に宿主側の遺伝子を多く利用していることが示唆されている。この劣性ウイルス防御は多くの場合、翻訳開始因子などウイルスが感染・増殖に利用している宿主因子に変異が生じて、ウイルスのために機能しなくなることによって起因する防御機構であり、ウイルス感染を阻害するためには変異遺伝子をホモに持つ必要があるため劣性形質となる。筆者らはエンドウの一部の品種が持つ CIYVV に対する遺伝的に劣性の防御機構 *cyv1* が、CIYVV の P3N-PIPO タンパク質をコードする遺伝子の変異で打破されることを解明した。つまり、P3N-PIPO が *cyv1* による劣性防御に対してエフェクターとして働くということである。そしてエフェクター P3N-PIPO は、*Cyn1*（おそらく NB-LRR タンパク質をコードする）を持つエンドウで認識され、全身 HR と呼ばれる ETI が誘導される。P3N-PIPO とエンドウの *cyv1* と *Cyn1* の関係についてさらに解析した結果、*cyv1* 防御を打破する作用の強い P3N-PIPO ほど *Cyn1* により全身 HR がより強く誘導されるというトレードオフの関係であることがわかった（図 2B）。

次に、NB-LRR タンパク質を介した ETI ではない防御機構と RNA サイレンシングの組合わせで、ウイルスにトレードオフを強いていると考えられる過去の研究について紹介する。一つは、トバモウイルス属のウイルスに対する非宿主抵抗性の原因となっているトマトの *tm-1* 遺伝子である。非宿主抵抗性とは、種全般が示すウイルスの感染を完全に阻害する強い抵抗性で、石橋らにより *tm-1* がコードするタンパク質が同定された。*tm-1* タンパク質はトバモウイルス属の複製酵素（RNA ポリメラーゼ）に結合し、複製を邪魔することでウイルスの増殖を阻害する¹²⁾。実は、ウイルスの複

製酵素は、多機能で RSS としても働き、tm-1 はその RNA サイレンシングを抑制する機能に重要な領域に結合する．そのため、ウイルスが *tm-1* による抵抗性を逃れるために複製酵素に変異を獲得すると、同時に、変異複製酵素は RNA サイレンシングを抑制する活性を失うことが報告された¹³⁾．つまり、*tm-1* による複製酵素を阻害するウイルス抵抗性と RNA サイレンシングが協働することでウイルス複製酵素の適応変異にトレードオフが仕掛けられているということが考えられる．

もう一つの例は、筆者らのカルモジュリン様タンパク質についての研究である．植物は脊椎動物の獲得免疫のような防御機構を持たないが、病原体の二次感染に対して抵抗性が高まる現象が古くから知られ全身獲得抵抗性と呼ばれている．この全身獲得抵抗性が誘導された植物で増強するキュウリモザイクウイルス（CMV）の抵抗性にタバコのカルモジュリン様タンパク質の一つ rgs-CaM が関わることを見いだした¹⁴⁾．rgs-CaM は CMV 2b を含むいくつかのウイルス RSS に結合して、RSS をオートファジーによる分解に導き RNA サイレンシングによるウイルス防御活性を高める働きを持つ¹⁵⁾．この rgs-CaM によるウイルス防御は普段、あまり働かず、一次感染で生じるサリチル酸シグナリングにより全身獲得抵抗性が誘導された植物で活性化するよう相変化することでウイルスに対する全身獲得抵抗性の増強に貢献している．rgs-CaM は RSS の二本鎖 RNA 結合領域に親和性を持つことで RSS に結合することが示唆された．RSS はさまざまなやり方で RNA サイレンシングを抑制するが、最も多いのは、二本鎖 RNA に結合して RNA サイレンシング機構から隔離することで、RNA サイレンシングの誘導やその後のターゲット RNA の特異的な分解を阻害するタイプである．このタイプの RSS は二本鎖 RNA に結合することが必須で、たとえば CMV 2b は変異で二本鎖 RNA 結合能を失うと、同時に RNA サイレンシングを抑制する能力も失う．そ

して、この変異で CMV 2b の rgs-CaM との親和性も低下したことから、rgs-CaM も RSS の活性を感知している、つまり rgs-CaM によるウイルス防御と RNA サイレンシングの組み合わせでも、ウイルス RSS の適応変異にトレードオフを強いるといえそうである。

この他にも、一つのウイルスタンパク質が独立した二つの防御機構もしくは防御関連タンパク質と相互作用している例はいくつかあり（ベゴモウイルス属の NSP1、カブクリンクルウイルスの外被タンパク質、トマトブッシースタントウイルスの P19、CMV の 2b、ポティウイルスの HC-Pro など⁷⁾）、今後の研究で、それらの組み合わせでもウイルスにトレードオフを強いる関係が明らかになるかもしれない。このように、多様なウイルス防御機構の組み合わせで、ウイルスエフェクターの適応変異にトレードオフを強いる関係が見いだされたことから、進化が速いウイルスに対して防御機構の有効性を維持するための植物の一般的な防御戦略ではないかと考えている（図 1C）。

4. おわりに

二つの事柄について言及して、本稿を終えたいと思う。一つは、NB-LRR タンパク質によって PAMPs ではないウイルスタンパク質を特異的に認識する防御機構の有効性が維持される理由は、上記の二つの防御機構が強いるトレードオフだけではないということである。むしろ、こちらの方が以前から語られてきたことであるが、NB-LRR タンパク質がウイルス粒子の安定性や複製酵素のポリメラーゼ活性など、ウイルスの生存や生活能力に重要な部位を認識している場合にも、その認識を逃れる変異がウイルスに不利に働くため、NB-LRR タンパク質による防御が有効に維持されると考えられる^{16,17)}。

もう一つは、現存するウイルスを認識できず明らかな防御反応は誘導されない隠れた NB-LRR タンパク質がかなり存在するのではないかとすることである。これらの NB-LRR タンパク質はいらなくなった残骸であろうか？ そうではない。たとえば、RNA サイレンシングと協働でウイルスにトレードオフを仕掛けている場合、ウイルス RSS が RNA サイレンシングをより強く抑制するような変異を獲得したときには、再度、変異 RSS を認識して防御反応を誘導すると思われる。つまり、隠れた NB-LRR タンパク質もウイルスが変異で強毒化することを防ぐために依然として役立ち、備えられているのではないかと考えている。今後、ウイルス防御機構を研究したり、ウイルス抵抗性作物を育種したりする上で、トレードオフや隠れた抵抗性遺伝子についても考慮する必要があるのではないかとと思われる。

謝辞

本文は、北海道大学 上田一郎先生と農学部・農学院の学生・院生と行った共同研究をもとに執筆した。日本学術振興会の科学研究費補助金（25450055, 16H04879）、ノバルティス科学振興財団、旭硝子財団などの助成により研究を遂行した。

文献

- 1 Choi, S. H., Hagiwara-Komoda, Y., Nakahara, K. S., Atsumi, G., Shimada, R., Hisa, Y., Naito, S. & Uyeda, I. (2013) *J. Virol.* **87**, 7326–7337.
- 2 Atsumi, G., Suzuki, H., Miyashita, Y., Cho, S. H., Hisa, Y., Rihei, S., Shimada, R., Jeon, E. J., Abe, J., Nakahara, K. S. & Uyeda, I. (2016) *J. Virol.* **90**, 7388–7404.
- 3 Jones, J. D. & Dangl, J. L. (2006) *Nature* **444**, 323–329.
- 4 Boller, T. & Felix, G. (2009) *Annu. Rev. Plant Biol.* **60**, 379–406.
- 5 Niehl, A., Wyrsh, I., Boller, T. & Heinlein, M. (2016) *New Phytol.* **211**, 1008–1019.
- 6 Nakahara, K. S. & Masuta, C. (2014) *Curr. Opin. Plant Biol.* **20C**, 88–95.
- 7 Miyashita, Y., Atsumi, G. & Nakahara, K. S. (2016) *Mol. Plant-Microbe Interact.* **29**,

- 595–598.
- 8 Shivaprasad, P. V., Chen, H. M., Patel, K., Bond, D. M., Santos, B. A. & Baulcombe, D. C. (2012) *Plant Cell* **24**, 859–874.
 - 9 Zhai, J., Jeong, D. H., De Paoli, E., Park, S., Rosen, B. D., Li, Y., Gonzalez, A. J., Yan, Z., Kitto, S. L., Grusak, M. A., Jackson, S. A., Stacey, G., Cook, D. R., Green, P. J., Sherrier, D. J. & Meyers, B. C. (2011) *Genes Dev.* **25**, 2540–2553.
 - 10 Atsumi, G., Kagaya, U., Kitazawa, H., Nakahara, K. S. & Uyeda, I. (2009) *Mol. Plant-Microbe Interact.* **22**, 166–175.
 - 11 Atsumi, G., Nakahara, K. S., Wada, T. S., Choi, S. H., Masuta, C. & Uyeda, I. (2012) *Arch. Virol.* **157**, 1019–1028.
 - 12 Ishibashi, K., Naito, S., Meshi, T. & Ishikawa, M. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 8778–8783.
 - 13 Ishibashi, K., Meshi, T. & Ishikawa, M. (2011) *J. Virol.* **85**, 1893–1895.
 - 14 中原健二, 忠村一毅 & Jeon, E. J. (2014) 植物感染生理談話会論文集 第49号, pp. 59–68, 日本植物病理学会.
 - 15 Nakahara, K. S., Masuta, C., Yamada, S., Shimura, H., Kashiwara, Y., Wada, T. S., Meguro, A., Goto, K., Tadamura, K., Sueda, K., Sekiguchi, T., Shao, J., Itchoda, N., Matsumura, T., Igarashi, M., Ito, K., Carthew, R. W. & Uyeda, I. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 10113–10118.
 - 16 García-Arenal, F. & Fraile, A. (2013) *Plant Pathol.* **62**, S2–S9.
 - 17 Elena, S. F., Fraile, A. & Garcia-Arenal, F. (2014) *Adv. Virus Res.* **88**, 161–191.

著者寸描



中原 健二 (なかはら けんじ)

北海道大学大学院農学研究院講師。博士(農学)。

■略歴 1993年北海道大学農学部農業生物学科を卒業し同農学研究科に入学。学位取得後、農林水産省果樹試験場リンゴ支場、秋田県立大学助手、ノースウェスタン大学博士研究員を経て、2004年北海道大学大学院助手、12年から現職。

■研究テーマと抱負 植物のウイルス防御機構の分子メカニズムについて研究しています。それをもとに、ウイルス抵抗性を新たに作物に付与する実用的な成果をあげたいと思っています。

■ウェブサイト <http://www.agr.hokudai.ac.jp/rfoa/abs/abs1-4.html>

■趣味 テニス。

図の説明

図 1 進化の速いウイルスに対抗するための植物の防御戦略. (A) ウイルスエフェクターは PAMPs 誘導免疫を阻害するが NB-LRR タンパク質などの免疫受容体/阻害因子によりウイルスエフェクターが認識される場合には、エフェクター誘導免疫によりウイルスの感染が抑制される. 免疫受容体/阻害因子はウイルスエフェクターが防御機構 1 を抑制するために重要な領域や活性を認識するように仕組みられているため、免疫受容体/阻害因子の認識を逃れようとウイルスがエフェクターに変異を獲得しても、今度は PAMPs 誘導免疫により感染を抑制されるトレードオフを強いられる. (B) 特に, RNA サイレンシングによる PAMPs 誘導免疫と NB-LRR を介したエフェクター誘導免疫によるウイルスの RNA サイレンシング抑制タンパク質 (RSS) に強いられるトレードオフは、より強固に仕組みられている. NB-LRR タンパク質の発現が miRNA を介した RNA サイレンシングにより制御されているからである. (C) この植物の戦略を比喩的に表した変則ジャンケン. ウイルスは後出しする権利 (進化が速い) を持つが、その代わり植物は一度に二つの手を出す権利 (同じウイルスエフェクターに対する二つの防御機構) を持つ. このとき、ウイルスは引き分け (強毒化しない) しか手がない.

図 2 クローバ葉脈黄化ウイルス (CIYVV) にトレードオフを強いるエンドウの防御機構. (A) エンドウは, Cyn1 により P3N-PIPO タンパク質を感知することで CIYVV の感染をして認識して全身 HR を誘導する. この時, Cyn1 が感知する P3N-PIPO は CIYVV の RNA サイレンシング抑制タンパク質 (RSS) ではないが, Cyn1 を介した全身 HR と RNA サイレンシングにより CIYVV の RSS である HC-Pro の適応変異にトレードオフが強いられる. なぜなら, HC-Pro が変異により RSS 活性を失うと RNA サイレンシングによるウイルス防御が増強して, CIYVV 増殖が抑えられ, 結果として Cyn1 に感知されない程度まで P3N-PIPO の発現量が低下するからである. (B) 一方で, P3N-PIPO は cyv1 による遺伝的に劣性のウイルス防御を打破するエフェクターとして働く. そして, Cyn1 を介した全身 HR と cyv 1 劣性防御により P3N-PIPO の適応変異にもトレードオフが強いられる.

図1

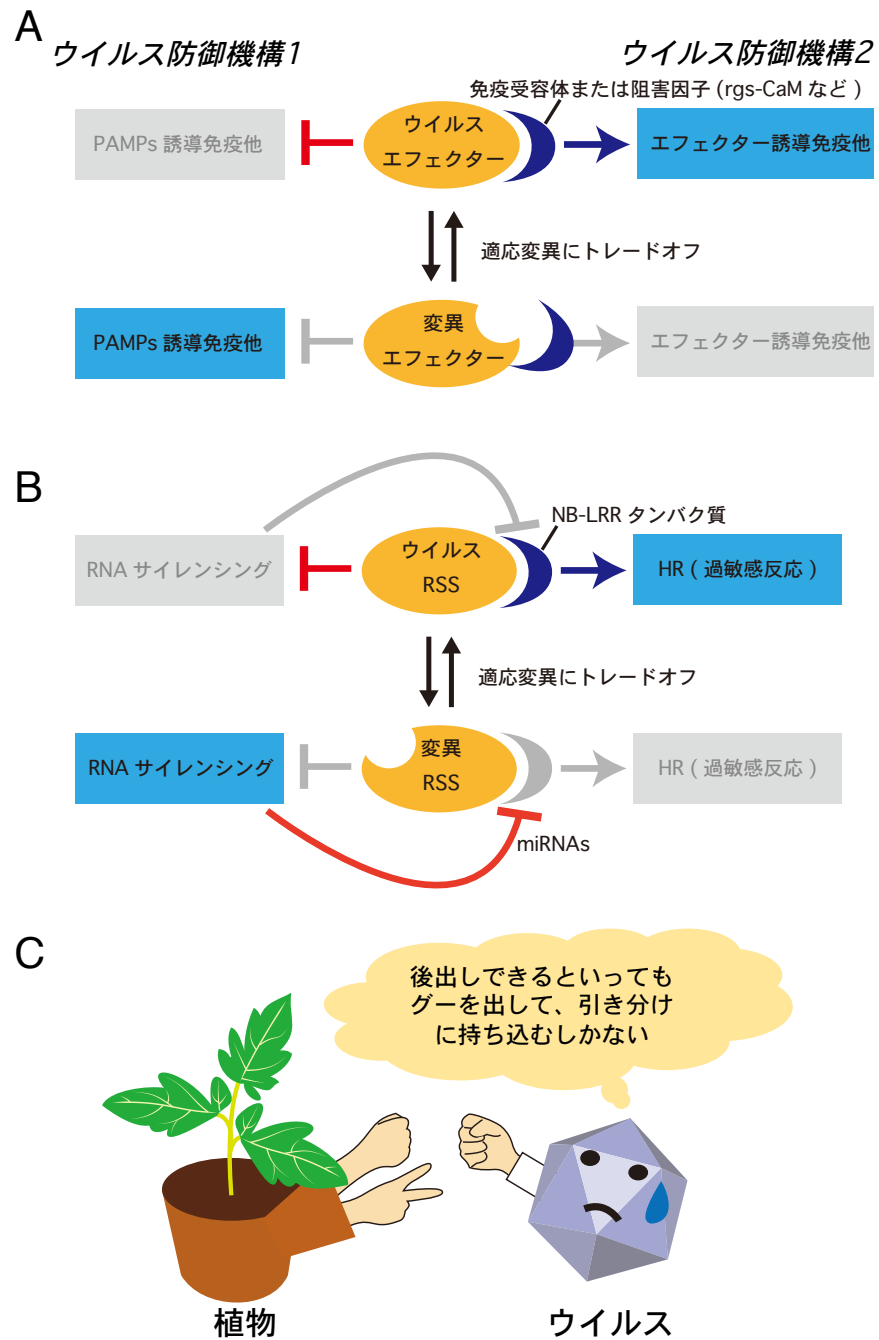


図2

