

# ウリ科植物はどのように疎水性化合物を地上部に蓄積するのか？

神戸大学  
バイオシグナル総合研究センター  
乾 秀之

## はじめに

殺虫剤ディルドリンやヘプタクロルは、1972年に農業登録が失効したにもかかわらず、環境中で分解されにくい性質を持つため、長期間圃場に残留している。汚染圃場でキュウリやカボチャ植物が栽培されると、これら果実に残留基準値を超えて検出される (Hashimoto 2005; 板垣 2018)。また、ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ダイオキシン (PCDD) やポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) を含むダイオキシン類も、ズッキーニの果実に蓄積することが報告された (Hülster *et al.* 1994)。その後、殺虫剤 DDT の分解物である *p,p'*-DDE (White *et al.* 2003) やクロルデン (Mattina *et al.* 2004)、ドリ系殺虫剤 (Otani *et al.* 2007)、工業化学品として使用されていたポリ塩化ビフェ

ニル (PCB) (Inui *et al.* 2008) など、残留性有機汚染物質 (POPs) に分類される多くの化合物がウリ科植物の地上部に蓄積することが報告された (表-1)。ウリ科植物に蓄積するこれら化合物に共通する特徴として、疎水性が極めて高いことが挙げられる。疎水性化合物の地上部蓄積は、ウリ科以外の植物の地上部ではほとんど見られないことから、そのメカニズムは不明であるものの、潜在的な汚染圃場におけるウリ科植物の栽培では、残留基準値を超える果実の汚染に注意を払う必要があることが認識されてきた。

疎水性化合物の植物への取り込み、地上部への蓄積は、(1) 土壌有機物と結合した疎水性化合物の脱離・可溶化、(2) 疎水性化合物の根細胞への取り込み、(3) 疎水性化合物の根から地上部への移行、(4) 疎水性化合物の代謝を経て起こると考えられ

る (図-1)。本総説では、疎水性化合物の植物地上部への蓄積に最も重要と考えられる (3) のステップについて、これまで明らかとなっている分子メカニズムを紹介する。さらに、疎水性化合物の体内輸送タンパク質の生理機能と機能制御による研究展開について議論する。

## 1. 植物に蓄積する化合物の性質

根を介した植物地上部への化合物の蓄積に重要な要因は、さまざまな報告において議論されてきた (Collins *et al.* 2006; Fujisawa 2002)。Briggs らは、水-オクタノール分配係数 ( $K_{ow}$ ) が異なる化合物を水耕液に添加し、培養した大麦の地上部に蓄積する化合物量から地上部に蓄積しやすい化合物の  $\log K_{ow}$  の最大値が 1.78 であること

表-1 残留性有機汚染物質とウリ科植物に蓄積する化合物

農業	意図的生成物		非意図的生成物
		工業化学品	
アルドリ	ポリ塩化ビフェニル		ポリ塩化ジベンゾ- <i>p</i> -ダイオキシン
ディルドリン	テトラ (ペンタ) プロモジフェニルエーテル		ポリ塩化ジベンゾフラン
エンドリン	ヘキサプロモビフェニル		
DDT	ヘキサ (ヘプタ) プロモジフェニルエーテル		
クロルデン	ペルフルオロオクタンスルホン酸 (フルオリド) とその塩		
ヘプタクロール	ペルフルオロヘキサンスルホン酸とその塩と関連化合物		
マイレックス	ポリ塩化ナフタレン		
トキサフェン	ヘキサクロロプタジエン		
クロルデコン	ヘキサプロモシクロデカン		
リンデン	短鎖塩素化パラフィン		
ペンタ (ヘキサ) クロロベンゼン	デカプロモジフェニルエーテル		
ペンタクロロフェノールとその塩とエステル	ペルフルオロオクタニ酸とその塩と関連化合物		
エンドスルファンとその関連異性体			
ジコホル			
$\alpha$ -ヘキサクロロシクロヘキサン			
$\beta$ -ヘキサクロロシクロヘキサン			

太字はウリ科植物での蓄積報告がある化合物

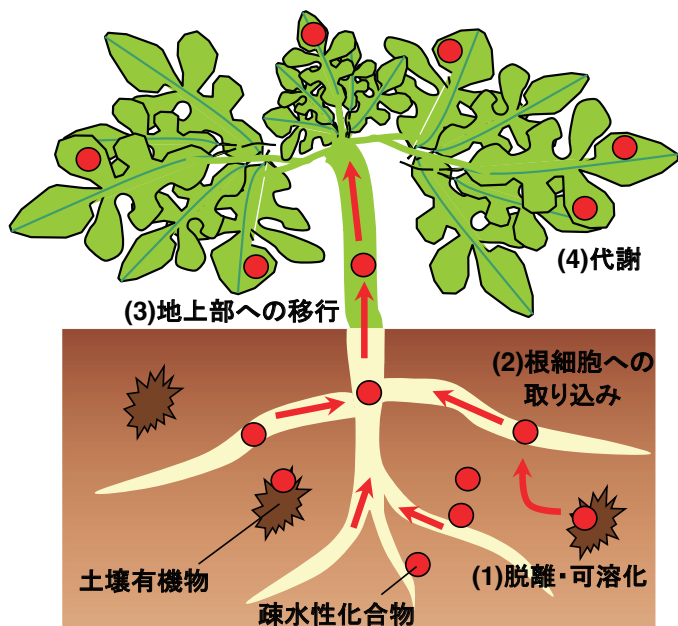


図-1 植物による疎水性化合物の取り込み、蓄積ステップ



図-2 ズッキーニの栽培と導管液（白矢印）

を示した (Briggs *et al.* 1982)。Hsuらは大豆を用いて、その最大値は3.07であることを示した (Hsu *et al.* 1990)。これらの結果から、 $\log K_{ow}$  が2～3付近の化合物は、根からの蒸散流に乗って植物の地上部に移行しやすいと考えられる。したがって、 $\log K_{ow}$  値が4以上の一般的に疎水性が高いと言われる化合物は根から地上部に輸送されにくく、そのほとんどが根を含む地下部に留まったままとなる。しかし、ウリ科植物は前述の通り、PCDDやPCBをはじめとする $\log K_{ow}$  値が7前後の高疎水性化合物であっても地上部に蓄積することができる。

## 2. ウリ科植物が持つ疎水性化合物の体内輸送タンパク質の同定

17科32種の植物の地上部におけるディルドリン蓄積量を比較したところ、ウリ科植物において高濃度に蓄積されることが示された (Otani *et al.* 2007)。Mattinaらは、ヘプタクロルエポキシドとクロルデンの複数の

異性体で汚染された土壌でズッキーニとキュウリを栽培したところ、根、導管液、地上部に含まれる各異性体の検出パターンは、土壌中の異性体存在パターンと類似していることを示した (Mattina *et al.* 2004)。このことは、土壌中の疎水性化合物が根から導管液を通る経路により地上部に輸送・蓄積されることを示している (図-1)。ディルドリン (Murano *et al.* 2010b) やPCB (Goto *et al.* 2019) もウリ科植物の導管液から検出されたことから、疎水性化合物は導管液を介した経路で地上部に輸送されることが示唆された。導管液は、土壌から取り込んだ水分とともに各種ミネラルを地上部に輸送している (図-2)。したがって、疎水性化合物であっても導管液に溶解される必要があることを示している。Muranoらは、ディルドリンがズッキーニとキュウリの導管液中で可溶化することを示し、これはディルドリンが約14kDaの導管液タンパク質と結合するためであることを明らかにした (Murano *et al.* 2010a)。我々のグループも、ズッキーニ導管液中のタンパク質成分による疎水性化合物の可溶化が

地上部輸送に重要であることを示した (Inui *et al.* 2013)。すなわち、PCBを地上部に高蓄積するズッキーニ品種の導管液には、17kDa前後のタンパク質が存在し、その量はズッキーニ各品種の地上部へのPCBの蓄積のしやすさと有意な正の相関があった。そこで、17kDa付近のタンパク質が疎水性化合物の地上部蓄積に重要な因子であると考え、そのアミノ酸配列を解読し、データベースで検索したところ、Major latex-like protein (MLP) の一部であることが判明した (Inui *et al.* 2013)。ズッキーニ以外のウリ科植物、例えばカボチャ、キュウリ、スイカ、ヘチマ、ユウガオも同様に導管液中にMLPを有していた (Iwabuchi *et al.* 2020)。

MLPはシラカバ由来のアレルゲンであるBet v1スーパーファミリーの一員であり、特徴的な長い $\alpha$ -ヘリックスとそれを取り囲む $\beta$ -シート、その結果形成された疎水性化合物を収納可能な空洞が存在するという共通の特徴を持つ (図-3) (Fernandes *et al.* 2013; Marković-Housley *et al.* 2003)。MLPもこの空洞に疎水性化合物を結合できると考えられた。そこで、

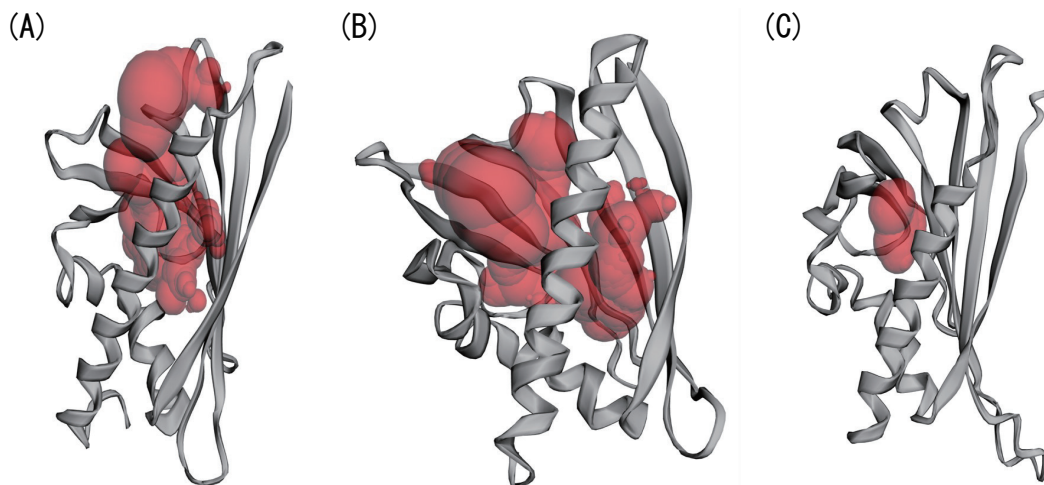


図-3 Bet v1 スーパーファミリーに属するタンパク質の立体構造  
 (A)*Betula pendula* Bet v 1a(CAA33887), (B)*Lupinus luteus* LiPR10.1(AAC12790), (C)*Cucurbita pepo* CpMLP-PG1(BAN14688)  
 AlphaFold2(Jumper *et al.* 2021) で三次元構造を構築し, CASTp(Tian *et al.* 2018) を用いてタンパク質内部の空洞 (赤色) を示した。

MLP と PCB やディルドリン,  $17\beta$ -エストラジオールなどの多様な構造の疎水性化合物との結合を調べたところ, MLP や化合物の種類によって異なる結合強度を示した (Goto *et al.* 2019)。また, 疎水性化合物の低蓄積, 高蓄積性能にかかわらず, MLP はズッキーニの根に存在していたのに対し, 導管液では高蓄積性能を示す品種により多く存在していた (Goto *et al.* 2019)。さらに, 高蓄積ズッキーニ品種の導管液には, 総導管液タンパク質の 85% にものぼる MLP が含まれていることが明らかとなった (Inui *et al.* 2023)。このことは, 導管液における MLP の存在が疎水性化合物の地上部蓄積に重要であることを示している。一方, 非ウリ科のタバコ植物において MLP 遺伝子を過剰発現させると, 地上部に PCB がより多く蓄積する可能性があることが示された (Stoykova and Inui 2021)。これらの結果から, 土壌中に存在する疎水性の高い化合物が根に取り込まれると, 疎水性化合物は細胞で合成された MLP と結合して可溶化される。形成された MLP-疎水性化合物複合体は細胞外に分泌することで導管に移行し, 蒸散流に従って地

上部に輸送され, 蓄積すると考えられた (図-1)。

### 3. MLP の生理的機能

ウリ科植物における MLP の本来の機能として, 疎水性汚染物質の体内輸送を担っているとは考えにくいことから, 他の機能を担っている可能性が高い。MLP 遺伝子の発現は, 病原菌の感染による生物ストレスや乾燥, 高温等による非生物ストレスによって影響を受けることが明らかにされている (Fujita and Inui 2021)。例えば, 植物病原菌 *Verticillium dahliae* を接種するとワタの MLP 遺伝子の発現が増加し (Yang *et al.* 2015), シロイヌナズナでは低温処理や塩処理によって MLP 遺伝子の発現レベルが低下する (Wang *et al.* 2016)。また最近, 我々を含めた複数のグループが, 病原菌への抵抗性付与に MLP が関係していることを報告している (Fujita *et al.* 2022a; Yang *et al.* 2015)。これは病原菌の感染を抑制する働きを持つ感染時特異的タンパク質クラス 10 (PR-10) と MLP が共に Bet v 1 スーパーファミリーの一員であり, 類似の立体構造

を有することと関連があるかもしれない (図-3) (Fernandes *et al.* 2013)。これらの結果は, MLP 遺伝子の発現やそれに伴う MLP の存在量の変化を通じた, 植物が生育する環境の変化への応答・適応と考えられる。ズッキーニのゲノムには 21 の MLP 遺伝子が存在しており, シロイヌナズナや他の植物種においても十数から数十遺伝子の存在が明らかにされている (Fujita *et al.* 2022b; Zhang *et al.* 2018)。これらを考え合わせると, MLP は環境応答・適応に関して重要な生理機能を担っている可能性がある。さらに, MLP の根から地上部への体内移動は, 根で受容した何らかの環境シグナルを地上部に伝達する役割を示しているのかもしれない。

### 4. MLP を利用した疎水性化合物の輸送制御

MLP は根において疎水性汚染物質と結合する (図-1)。この結合を阻害することは, MLP による汚染物質の地上部輸送の阻害につながり, 汚染低減をもたらす可能性がある。そこで, 理研が有するケミカルライブラリー約

2万種の化合物の中から、MLPと結合する化合物の探索を行った (Fujita *et al.* 2020a)。MLPと結合する約200種の化合物を同定し、これら化合物の構造の一部と類似する構造を、既存の農薬から探索した。市販されている農薬はすでに安全性が確認されているため、汚染低減のために使用しやすいと考えられる。殺菌剤アミスルブロムと殺虫剤ピリフルキナゾンがMLPと結合する可能性がある農薬として見出され、これら農薬は狙い通りMLPとディルドリンの結合を阻害することができた。さらに、ディルドリン人工汚染土壌でズッキーニを栽培し、ピリフルキナゾンを活性成分とする殺虫剤コルトを散布したところ、導管液中のディルドリン濃度が低下した。

一方、MLP遺伝子は根で発現し、合成されたMLPは取り込まれた疎水性汚染物質と結合し、複合体を形成して導管液を介して地上部に輸送される(図-1)。MLP遺伝子の発現抑制は、MLP量の減少につながり、これは結合する汚染物質の減少をもたらして、地上部の汚染を抑制すると予想される。そこで我々は、MLP遺伝子の発現を抑制する化合物を、農薬から選定した。ディルドリンを混合した人工汚染土壌において、高汚染されるズッキーニ品種を栽培し、ウリ科作物に適用のある殺菌剤ダコニールを散布したところ、導管液中のディルドリン濃度が低下することが判明した (Fujita *et al.* 2020b)。根に存在するMLP量が減少していたことから、散布した農薬

によりMLP遺伝子の発現が抑制され、輸送されるディルドリンが減少したと考えられる。このように、二つの異なるアプローチによりMLPの機能を制御することで、疎水性汚染物質の輸送を抑制し、作物汚染の低減が可能であることを示した。

## おわりに

ダイオキシン類や有機塩素系殺虫剤によりウリ科作物の果実が汚染されるという現象の発見から始まった研究は、ウリ科植物が導管液に持つMLPが疎水性化合物の体内輸送タンパク質として働くことで、地上部汚染が引き起こされることが明らかとなり、一応の決着を見た。しかしながらMLPは、ウリ科植物だけが保有する特殊なタンパク質ではなく、広く植物に存在し、さらにゲノム中に多くの遺伝子を持つことが明らかとなった。したがって、ウリ科植物で特徴的に見られる疎水性化合物の蓄積は、MLP遺伝子を持つことだけでは説明できない。疎水性化合物の低蓄積ズッキーニ品種の根においてもMLPは存在していることから、根の細胞内で合成されたMLPが細胞外に分泌され、導管に到達する過程にウリ科植物特有のメカニズムがあるものと考えられる。疎水性化合物を高蓄積するズッキーニ品種の導管液タンパク質のうち85%を占めるMLPは、細胞外分泌タンパク質が保有するシグナル配列をそのN末端に持たない (Inui *et al.* 2023)。これは、ウリ

科植物が疎水性化合物を蓄積する性能を獲得した要因を明らかにする手掛かりになるかもしれない。

我々の研究成果により、導管液におけるMLPの量やMLPと疎水性化合物の結合親和性が、地上部汚染の程度や汚染化合物の種類を決定することが明らかとなった。これに関わる分子メカニズムを利用することにより、作物汚染を抑制する技術を開発できる可能性を示した。一方、MLP遺伝子の発現を促進する化合物を見出すことができれば、効率の良いファイトレメディエーション(植物を利用した環境浄化)技術の開発にも展開できる可能性がある。

## 参考文献

- Briggs, G.G. *et al.* 1982. Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. *Pestic. Sci.* 13, 495-504.
- Collins, C. *et al.* 2006. Plant uptake of non-ionic organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.* 40, 45-52.
- Fernandes, H. *et al.* 2013. Structural and functional aspects of PR-10 proteins. *FEBS J.* 280, 1169-1199.
- Fujisawa, T. 2002. Model of the uptake of pesticides by plant. *J. Pestic. Sci.* 27, 279-286.
- Fujita, K. *et al.* 2020a. Pesticide treatment reduces hydrophobic pollutant contamination in *Cucurbita pepo* through competitive binding to major latex-like proteins. *Environ. Pollut.* 266, 115179.
- Fujita, K. *et al.* 2020b. Suppression of the genes responsible for transporting hydrophobic pollutants leads to the production of safer crops. *Sci. Total Environ.* 741, 140439.

- Fujita, K., Inui, H., 2021. Review: Biological functions of major latex-like proteins in plants. *Plant Sci.* 306, 110856.
- Fujita, K. *et al.* 2022a. MLP-PG1, a major latex-like protein identified in *Cucurbita pepo*, confers resistance through the induction of pathogenesis-related genes. *Planta* 255, 10.
- Fujita, K. *et al.* 2022b. Genome-wide identification and characterization of *major latex-like protein* genes responsible for crop contamination in *Cucurbita pepo*. *Mol. Biol. Rep.* 49, 7773–7782.
- Goto, J. *et al.* 2019. Uptake mechanisms of polychlorinated biphenyls in *Cucurbita pepo* via xylem sap containing major latex-like proteins. *Environ. Exp. Bot.* 162, 399–405.
- Hashimoto, Y. 2005. Dieldrin Residue in the Soil and Cucumber from Agricultural Field in Tokyo. *J. Pestic. Sci.* 30, 397–402.
- Hsu, F.C. *et al.* 1990. Study of root uptake and xylem translocation of cinmethylin and related compounds in detopped soybean roots using a pressure chamber technique. *Plant Physiol.* 93, 1573–1578.
- Hülster, A. *et al.* 1994. Soil-Plant Transfer of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans to Vegetables of the Cucumber Family (*Cucurbitaceae*). *Environ. Sci. Technol.* 28, 1110–1115.
- Inui, H. *et al.* 2023. *Cucurbita pepo* contains characteristic proteins without a signal peptide in the xylem sap. *J. Plant Physiol.* 287, 154038.
- Inui, H. *et al.* 2013. A major latex-like protein is a key factor in crop contamination by persistent organic pollutants. *Plant Physiol.* 161, 2128–2135.
- Inui, H. *et al.* 2008. Differential uptake for dioxin-like compounds by zucchini subspecies. *Chemosphere* 73, 1602–1607.
- Iwabuchi, A. *et al.* 2020. Factors regulating the differential uptake of persistent organic pollutants in cucurbits and non-cucurbits. *J. Plant Physiol.* 245, 153094.
- Jumper, J. *et al.* 2021. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596, 583–589.
- Marković-Housley, Z. *et al.* 2003. Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the major birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier. *J. Mol. Biol.* 325, 123–133.
- Mattina, M.I. *et al.* 2004. Plant uptake and translocation of highly weathered, soil-bound technical chlordane residues: Data from field and rhizotron studies. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 2756–2762.
- Murano, H. *et al.* 2010a. Dieldrin-dissolving abilities of the xylem saps of several plant families, particularly *Cucurbita pepo* L. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 2269–2277.
- Murano, H. *et al.* 2010b. Dieldrin uptake and translocation in plants growing in hydroponic medium. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 142–148.
- Otani, T. *et al.* 2007. Differential uptake of dieldrin and endrin from soil by several plant families and *Cucurbita* genera. *Soil Sci. Plant Nutr.* 53, 86–94.
- Stoykova, P., Inui, H. 2021. Transport enhancement of hydrophobic pollutants by the expression of zucchini major latex-like protein genes in tobacco plants. *J. Plant Physiol.* 263, 153464.
- Tian, W. *et al.* 2018. CASTp 3.0: Computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Res.* 46, W363–W367.
- Wang, Y. *et al.* 2016. Major latex protein-like protein 43 (MLP43) functions as a positive regulator during abscisic acid responses and confers drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 67, 421–434.
- White, J.C. *et al.* 2003. Subspecies-Level Variation in the Phytoextraction of Weathered *p,p'*-DDE by *Cucurbita pepo*. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4368–4373.
- Yang, C.L. *et al.* 2015. Cotton major latex protein 28 functions as a positive regulator of the ethylene responsive factor 6 in defense against *Verticillium dahliae*. *Mol. Plant* 8, 399–411.
- Zhang, N. *et al.* 2018. Genome-wide evolutionary characterization and expression analyses of major latex protein (MLP) family genes in *Vitis vinifera*. *Mol. Genet. Genomics* 293, 1–15.
- 板垣英祐 2018. かぼちゃ栽培におけるヘプタクロル汚染農耕地土壌の対策技術. *農薬環境科学研究* 49–57.