

植物体内の酸化還元のバランスと成長 — 毒を制して薬となす —

岡山県生物科学総合研究所 (RIBS Okayama)
細胞工学部門 細胞機能解析研究室 小川健一

はじめに

呼吸できない状況では窒息死してしまう私たち人間にとって、酸素が毒であるということはしばしば忘れられがちなことである。酸素毒と呼ばれる毒性の正体は、活性酸素である。活性酸素は、酸素が水へと還元される過程で生じる中間体分子種の総称であり、狭義にはスーパーオキシドアニオンラジカル (O_2^-)、および過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシルラジカル ($\cdot OH$)、一重項酸素 (1O_2) を指す。この活性酸素に対する解毒機構 (抗酸化系) は、多少の違いはあるにせよ、(一部の絶対嫌気性菌を除いて) 大腸菌などの原核生物から動・植物などの高等生物に至るまで普遍的に存在する。好気性生物はこの解毒機構のおかげで酸素毒性を回避し、呼吸によって効率的に生体エネルギーを生産できるのである。植物の場合、光合成に伴い葉緑体内の酸素濃度は過飽和状態となり、他の生物よりもさらに事態は深刻となるため、その解毒機構が高度に発達したと考えられている。特に、葉緑体における活性酸素の解毒機構は、植物が光を安全に利用するために必要不可欠なメカニズムとして認識されている。

しかしながら、このような認識は、活性酸素の濃度がある閾値よりも高いときに成り立つ話であることは意外と知られていない。これは「解毒」という表現が強調されて用いているこ

とが原因かもしれない。実際、 O_2^- 自体は、アコニターゼのような活性阻害をもたらす場合もあるが、生体膜の過酸化などの甚大なダメージを直接引き起こすことはない。また、強力な酸化力をもつ 1O_2 による細胞死も直接的な酸化的ダメージの結果ではない。さらに、 H_2O_2 は、その毒性にもかかわらず、植物の成長の過程で積極的に作り出され、適当な濃度 (植物種ごとに濃度は異なる) では、植物に図-1に示すような成長促進効果をもたらす。

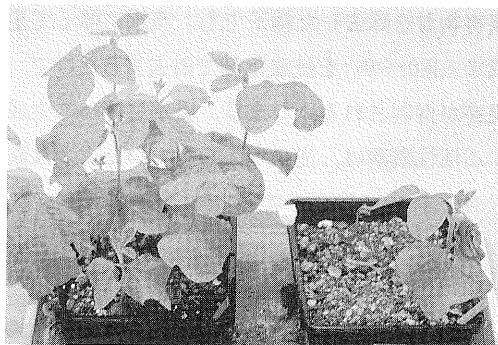


図-1 活性酸素処理による生育促進。
クロダイズを H_2O_2 を処理した様子。 H_2O_2 処理した方は、発芽率が向上し、成長も促進される (左、活性酸素処理; 右、水処理)。

本稿では、どうして活性酸素が植物をこんなに元気に成長させるのか、そのメカニズムに迫りたい。

種子の発芽と活性酸素生成

種子発芽の際、活性酸素が生成することが広

く知られている。これまで、その生成は呼吸活性の高まりによる副次的な事象だと理解され、発芽における活性酸素消去系の役割は、副次的に生じる活性酸素から植物体を防御するという意味で捉えられてきた。しかしながら、呼吸阻害剤によって内生の活性酸素量が上昇するような処理を施すと、種子の発芽率が高められることから、実際にはその生成が副次的であると考えられる根拠はない。むしろ、積極的に発芽に関与すると考えるほうが無理がない。

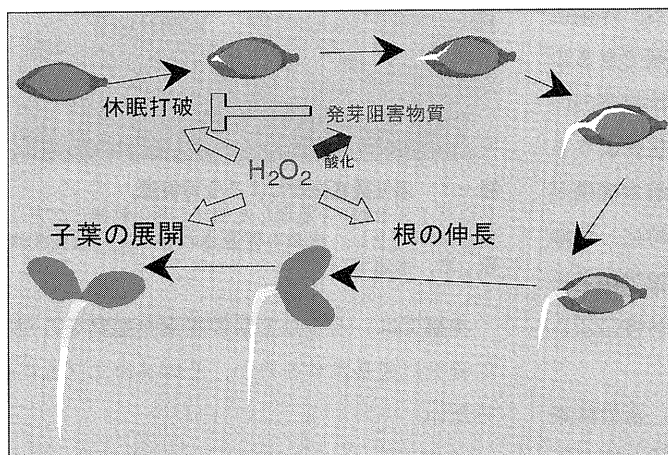
種子は、発芽阻害物質（休眠促進物質）によって休眠状態に保たれている。実は、活性酸素の生成はこの発芽阻害物質と関係が深い。休眠状態の解除（休眠打破）は、果皮や種皮中に含まれる発芽阻害物質が効力を失うか、物理的に除去されることによっておきる。吸水直後から植物自らが生成する活性酸素は、この発芽阻害物質を失活させるのである。そればかりか、発芽阻害物質を除去した種子でも、吸水に伴って生成する H_2O_2 や O_2^- を抗酸化剤で消去するだけで、発芽が抑制される。つまり、吸水に伴って生成する活性酸素は、従来考えられていたような副

産物なのでなく、発芽自体を正常に進行させるために不可欠な存在なのである。発芽阻害物質の多くは抗酸化物質であることを考え合わせると、果皮や種皮に元来含まれている発芽阻害物質は、生成した活性酸素を抗酸化物質として消去することで休眠を促しているのである（図－2）。

植物ホルモンによる活性酸素生成

発芽は植物ホルモンであるジベレリン（発芽促進効果）とアブシジン酸（休眠促進効果）のバランスで決まるとされている。大麦などの単子葉植物の種子では、吸水時にジベレリンがアリューロン層に働きかけ、 α -アミラーゼを誘導することで、発芽が開始されることが知られている。この際、アリューロン層は細胞死を起こすのであるが、ジベレリンや H_2O_2 はこの細胞死を促進する。この細胞死に伴い、酸素吸収が一過的に高まり、抗酸化酵素の活性が誘導されることが示されており、ジベレリンの下流に H_2O_2 が関与する経路が介在すると考えられる。しかし、筆者らの研究では、イネやコムギに対して

H_2O_2 処理がもたらす効果は、ジベレリン欠乏変異体では野生型に比べて減少するか、もしくは認められなかった。イネのDNAマイクロアレイによって遺伝子発現レベルでの解析を行ったところ、 H_2O_2 自体がジベレリン制御遺伝子の発現に影響を与えており、ジベレリン欠乏変異体ではその影響が消失もしくは低下することが明確になった。これらのことから考えると、ジベレリン情報伝達において H_2O_2 はセカンドメッセンジャーとして



図－2 活性酸素による発芽制御の概念図。
図はジャコウソウ種子の発芽の様子を模式化したものであり、その様子を示す矢印以外の矢印は促進的経路を示している。また、T印は抑制的経路を示す。

機能するばかりでなく、ジベレリンと強制的に作用することで、発芽時の成長制御因子として機能していると考えられる。このような観点でいえば、活性酸素消去系の役割は、解毒というよりは、成長制御にとって重要である。

発芽と活性酸素消去系

植物の場合、 H_2O_2 はアスコルビン酸-グルタチオン回路(図-3)で消去されるが、アスコルビン酸とグルタチオンは、通常、ほとんどが還元型である。しかし、種子中のグルタチオンは多くが酸化型であり、アスコルビン酸は存在しない。つまり、種子中の細胞は極度の酸化状態にあるのである。吸水に伴い、アスコルビン酸の合成が開始され、グルタチオンも酵素的な還元や新規な合成によって、還元型の比率が高くなる。実は、グルタチオンの新規合成は、発芽にとって重要な問題なのである。というのは、還元型グルタチオンは、活性酸素を消去するための電子供与体として働くだけでなく、成長の制御物質でもあるからだ。還元型グルタチオン

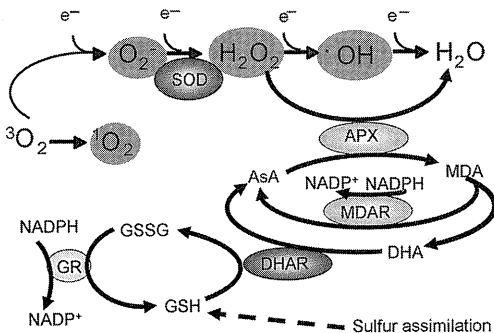


図-3 アスコルビン酸-グルタチオン回路。

植物において活性酸素の消去を担う回路。APX, アスコルビン酸ペルオキシダーゼ; AsA, アスコルビン酸; DHA, DHAR, デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ; GSH, グルタチオン; GSSG, 酸化型グルタチオン; GRase, グルタチオンレダクターゼ; H_2O_2 , 過酸化水素; MDA, MDAR, 1O_2 , 一重項酸素; O_2^- , スーパーオキシド; $\cdot OH$, ヒドロキシラジカル; SOD, スーパーオキシドジスムターゼ。

の投与だけで発芽が促進されることを考えても、その重要性は理解できるであろう。グルタチオンの合成の鍵段階は還元的条件で抑制される(図-4)ため、新規合成のためには酸化的条件が必要となるわけである。種子中の細胞が吸水直後は酸化的であったり、その吸水に伴い活性酸素が生成したりするのは、グルタチオンの新規合成を促すためと考えられる。

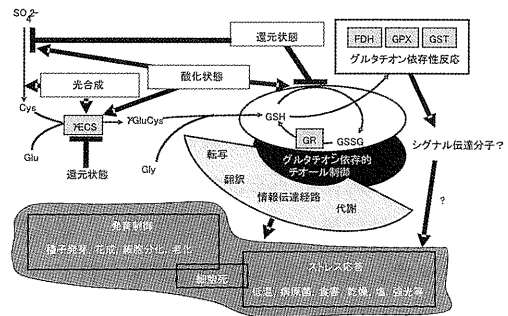


図-4 植物におけるグルタチオンによる成長制御メカニズム。グルタチオンを介した代謝およびシグナル伝達のネットワークの概略図。

グルタチオン合成の速度は、鍵酵素である γ -ECSを介して酸化的刺激もしくは光合成によって制御され、合成されたグルタチオンが多くの成長生理の制御に関わる。例えば、花成や細胞分化、ストレス応答などである。それぞれの生理的制御にはレドックス感受性のシステイン残基を有する鍵タンパク質がいくつも存在し、そのタンパク質の機能はグルタチオンによって同時に制御されている。結果的に、グルタチオンを介する複雑な代謝とシグナル伝達のネットワークが形成されている。フォルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ(FDH)やグルタチオンペルオキシダーゼ(GPX), グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)などの酵素が触媒するようなグルタチオン依存性の反応によって、成長生理制御に必要なシグナル伝達分子が作り出されている可能性もある。太い矢印およびT印は、それぞれ促進的および抑制的な制御を示している。細い矢印は代謝系または物質の移動を示す。

筆者らの作業仮説では、活性酸素が生成するような酸化的条件や光合成によってGSH合成の速度が調節を受け、そこで合成されたGSHを介して花成や発芽などの成長制御が調節を受ける。また、同時にストレス応答等の制御にもその影響が与えられ、全体としてグルタチオンを介し複雑な制御ネットワークが形成されている。グルタチオン合成の律速段階は γ -グルタミルシステインシセターゼ(γ -ECS)によって触媒される反応であり、その反応の速度が成長の調節のためのターゲットになっていると考えられる。図中の太い矢印は制御する側とされる側の関係を示しており、細い矢印は代謝の流れ、点線の矢印は、物質の移動を示している。

春化（バーナリゼーション）と活性酸素刺激によるグルタチオン合成

植物には、一定期間の低温（冬）を経験することでその種子の発芽が開始（促進）されるものも多い。同様に湿潤状態での種子を低温処理することで、発芽後の花成を早めることができることも知られている。たとえば、コムギの秋蒔きは、種子を冬場の低温にさらすことで発芽および出穂を促しているのである。ある一定期間の低温を経験することで、その植物の花成が早められる現象を春化（バーナリゼーション）と呼ぶが、この現象と活性酸素およびグルタチオンは密接な関係にある。植物が低温刺激を受けると、それに伴い活性酸素が生成し、還元型グルタチオン量が上昇することが知られているが、これらの現象は発芽時に見られるグルタチオン合成の促進のパターンと類似している。実は、花成を早めるための春化处理と発芽促進を起こすための低温処理は、酸化刺激によってグルタチオンの新規合成を促進するという意味で同意義的なものである。また、ロゼット性の強いトルコギキョウに対する春化处理効果がこの新規合成の阻害によって無効化されることに加えて、春化处理なしでも、発芽の場合と同様、還元型グルタチオンの投与によってロゼット打破を可能にできることから、活性酸素の酸化刺激による植物の成長調節は還元型グルタチオンに依存していることが分かる。

抗酸化物質グルタチオンは、環境ストレスや生物学的ストレスによってもたらされる酸化ストレスに適応するために細胞内のレドックス（酸化還元）状態を維持すると考えられている。さらに、グルタチオンは薬剤の解毒や重金属耐性に重要な役割を担う。しかし、グルタチオンの機能に関しては最近になって異なった観点の知

見が多くなった。グルタチオンは細胞周期のG1期からS期への移行に必要であることが見出された。さらに、グルタチオンは、細胞分裂の制御ばかりでなく、管状要素形成などの細胞レベルの分化から花芽形成などの器官分化までの成長制御の様々な場面で重要な役割を担うことも明らかにされた。つまり、グルタチオンの役割は、酸化的ストレス下ばかりでなく、非ストレス条件下でも成長全般を制御する重要な因子であることが明らかになってきたのである。

グルタチオンによる成長制御機構と活性酸素

グルタチオン合成の制御機構は、まだ未解明な点もあるが、概略は理解できたと思う。しかし、グルタチオンがどのようにして成長を制御するのか、という疑問はまだ完全には解明できていない。その鍵となる事象として、（1）投与した還元型グルタチオンの効果は総じて酸化刺激の共存下で強く、（2）ジチオスレイトール（DTT）などの強力なチオール還元試薬ではグルタチオンによる成長調節効果を代替できないことが多い、という2点が挙げられる。つまり、これらのことから、活性酸素の生成はグルタチオン合成ばかりでなく、成長に関するグルタチオンの作用機構にも関与すること、およびレドックス調節剤としてのグルタチオンでなく、グルタチオン分子そのものが重要であること、が示唆される。

それでは、どのような制御機構が想定されるのであろうか？（詳しくは、参考文献を参照）

グルタチオンは、アスコルビン酸—グルタチオン回路で機能する以外に、原核生物から真核生物まで広く存在が認められるグルタレドキシンを介して、タンパク質の特定のジスルフィド基を還元することができる。このような還元反

応は、グルタチオンの代わりにNADPHを電子供与体として利用するチオレドキシンによっても行われている。こうしたジスルフィド基の還元酵素によって葉緑体の代謝系や呼吸系の酵素は、その活性が調節されている。また、 C_3 植物ばかりでなく、トウモロコシなどの C_4 植物やベンケイソウなどのCAM植物に独特に認められる経路においても、同様の制御があり、 CO_2 濃縮に重要な役割を担うフォスフォエノールピルビン酸カルボキシラーゼを活性化するキナーゼは、そのような制御を受ける標的タンパク質である。しかしながら、グルタレドキシンがグルタチオンによる成長調節機構の主要な経路に関与すると考え、(2)のような事実とは明らかに矛盾する。もしそうなら、グルタレドキシンやチオレドキシンの電子供与体として働くことができるDTTでも、グルタチオンと同様の効果が期待できるからである。

ジスルフィド結合を介した標的タンパク質とグルタチオンの結合 (S -グルタチオン化) は、そのタンパク質の機能を制御することも知られている。活性酸素によって S -グルタチオン化は促進されることを考え合わせると、このような制御は上記の(1)および(2)の要件を満たす。また、グルタチオンを基質に使う酵素がシグナル物質を作り出す可能性についても、その酵素が活性酸素により活性化もしくは誘導される場合には、(1)および(2)の要件を満たす。たとえば、多くのグルタチオン- S -トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子は H_2O_2 刺激で誘導されるうえ、植物ホルモンであるオーキシンと関係のあるGSTも存在する。グルタチオンによる成長制御機構には、こうしたGSTのような酵素が産生する分子が成長制御のシグナルとして関わるのかもしれない。

おわりに

上述のことを理解すれば、「活性酸素を成長調節剤として利用し、植物を元気にすくすくと育てる」ための基本的な概念を改めてまとめる必要もないかもしれないが、最後に簡単にそのメカニズムを記すことにする。たとえば、発芽であるが、外生的な活性酸素処理は、元来、内生の活性酸素で行われる発芽阻害物質の失効を速め、しかも、内生のグルタチオンの新規合成を促進させる。活性酸素は、ストレス応答のシグナルとしても機能しているため、外生的な活性酸素処理はストレス適応に必要な応答も予め引き起こすことができ、発芽時の病原菌感染による枯死も減少させることができる。また、新規グルタチオン合成を促進することで成長を早めるとともに、発芽勢をそろえる効果も期待できる。植物種毎に多少の工夫をする必要があるかもしれないが、基本的な原理さえ理解していれば、いろいろな植物に適応は可能である(筆者が40種以上の植物について試験した限り、効果の大なり小なりはあるが、活性酸素処理は有効であった。発芽以降、例えば、花成誘導のためには、処理のための有効濃度は3~4桁程度低いので注意が必要かもしれない)。筆者らのようなグルタチオンによる成長制御機構に関する研究は、その標的分子がさらに解明できると、その標的を利用した分子育種が期待できるであろう。そうした植物を分子育種できれば、処理のノウハウや手間をさらに省くことができ、集約農業に有利であろうし、日本のように土地の限られた国の農業を劇的に変えることも可能になるかもしれない。

参考文献 (総説)

浅田浩二 (2003) 化学と生物 41, 254-262.

小川健一 (2004) レドックス制御を介した植物の代謝ネットワークと生長制御. 農芸化学会誌 78, 965-969.

小川健一 (2002) 植物の生長調節 37, 126-138.

小川健一 (2002) 化学と生物 40, 752-756.

小川健一, 逸見健司 (2001) 生物工学会誌 79, 314-319.

K. Asada (1999) *Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol. Biol.* 50, 601-639.

K. Asada and M. Takahashi (1987) *In Photo-inhibition* (D. J. Kyle, C. B. Osmond and C. J. Arnzen eds), pp. 227-287, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

K. Ogawa (2005) *Antioxid. Redox Signal.*,

in press.

K. Ogawa (2004) *In Advances in Biological Chemistry 2003* (R.M. Mohan eds), Vol. 2, pp. 21-29, Global Research Network, Kerala.

K. Ogawa, A. Hatano-Iwasaki, M. Yanagida and K. Henmi (2002) The redox-dependent regulation in the bolting and flowering of plants. *Flowering Newslett.* 34, 45-51.

M. Yanagida, K. Henmi and K. Ogawa (2005) *In Recent Research Developments in Biochemistry*, in press. Research Signpost, Kerala,

選べる3剤型!! 早めにつかって長く効く!

安心がプラス!

アゼナ、ホタルイ等への効果をプラス。

水稲用一発
処理除草剤

TREDDY
トレディシリーズの
トレードマーク



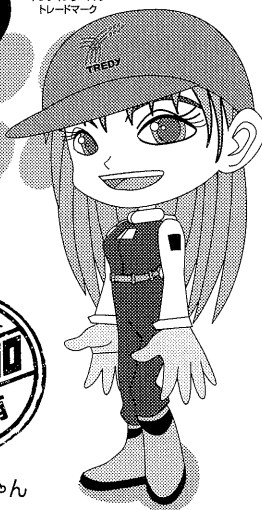
トレディプラス[®] 顆粒

トレディプラス[®] ジャンボ[®]

トレディプラス[®] 1キロ 粒 剤



トレフィちゃん



JAグループ
農 協 | 全 農 | 経済連
登録商標 第1902445号

★ 日産化学工業株式会社
〒101-0054 東京都千代田区神田錦町3-7-1 (興和一橋ビル)
TEL 03 (3296) 8141 <http://www.nissan-nouyaku.net/>