

植物細胞壁における病原体認識・情報伝達・応答のダイナミズム

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	豊田,和弘 田中,佳織 稲垣,善茂 一瀬,勇規 白石,友紀
発行元	日本植物病理學會
巻/号	80巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 146-151
発行年月	2014年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



植物細胞壁における病原体認識・情報伝達・応答のダイナミズム

豊田 和弘^{1*}・田中 佳織¹・稲垣 善茂¹・一瀬 勇規¹・白石 友紀^{1,2}

ABSTRACT

TOYODA, K.^{1*}, TANAKA, K.¹, INAGAKI, Y.¹, ICHINOSE, Y.¹ and SHIRAISHI, T.^{1,2} (2014). Dynamics of signal perception, signaling and regulation of defenses in plant cell walls. Jpn. J. Phytopathol. 80: 146–151.

The plant cell wall is well known to act as a physical barrier against invading pathogens. However, our recent studies have suggested that the plant cell wall can perceive pathogen signals and is involved in signaling and regulation of cell wall-based defenses. Here we will focus on a recently discovered role(s) of the plant cell wall in plant-pathogen interactions to unravel the complicated system underlying plant immunity.

(Received October 7, 2013; Accepted March 6, 2014)

Key words: cell wall, ecto-ATPase (apyrase), elicitor, *Mycosphaerella pinodes*, suppressor, susceptibility

はじめに

ほとんどの植物は大地に根を張り、その場所で様々な環境ストレスに適応して生活環を全うする。病原微生物による感染が生存を脅かす生物的要因の1つであり、植物がこれにさまざまな手段で対峙していることは言うまでもないが、その対抗手段の一つとして植物の細胞壁は、感染を未然に防ぐ単なる物理的な障壁であると長く考えられてきた。多くの病原体が植物の細胞壁を容易に化学分解することなどから、細胞壁は細胞膜や細胞内部を保護する補助的な構造であるとの認識は、現在でも大きく変わっていない。このような状況の中、植物細胞壁が外界からの生物学的あるいは化学的な情報を受容し、それらを正確に伝達して細胞・組織全体の防御機構を成立させる動的な小器官（オルガネラ）であることが最近の著者らの研究から明らかとなっていった。自然免疫については動植物において共通のメカニズムが知られているが、細胞壁での病原体認識や情報伝達に関する機能は、陸上へと適応し、移動能力のない植物が独自に発達させてきた、脊椎動物とは明らかに異なる能力と言えるであろう。本総説では、細胞の外側で行われる高次

の情報処理システムの分子基盤に病理学の視点からメスを入れ、細胞および組織の恒常性の維持を図る植物細胞壁の新たな機能の面から、病原糸状菌の「ビオトロフ感染」に迫ってみたい。

1. エンドウ褐紋病菌が分泌するエリシターとサプレッサー

エンドウ褐紋病菌 *Mycosphaerella pinodes* の柄胞子発芽液の中から、宿主植物（エンドウ）のファイトアレキシンであるピサチンの生産を抑制する因子が発見されて以来、本物質はサプレッサーと称されてきた（Shiraishi *et al.*, 1978）。当初、サプレッサーの作用については、エリシターの構造の一部が切り出され、その分解産物による拮抗阻害の結果という見方もあったが、1980年代後半から、同菌が生産する2種のサプレッサー（Fig. 1; Shiraishi *et al.*, 1992）とエリシターの構造の一部が決定された（Matsubara and Kuroda, 1987）。同菌が生産するエリシター（Glc-Man-Man糖鎖がセリン残基にO-グルコシド結合した分子量約70 kDaの糖タンパク質）で処理したエンドウでは、ピサチンの生合成が転写レベルから活性化されるのに対し、サプレッサーの共存下ではこれが抑制・遅延され、非病原菌による感染が成

¹ 岡山大学大学院環境生命科学研究科（〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中1-1-1） Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan

² 現：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所（〒716-1241 岡山県加賀郡吉備中央町吉川7549-1） Research Institute of Biological Sciences, Okayama, 7549-1 Yoshikawa, Kibichuo-cho, Kaga-gun, Okayama 716-1241, Japan

* Corresponding author (E-mail: pisatin@cc.okayama-u.ac.jp)

日本植物病理学会平成25年度植物感染生理談話会からの投稿

Suppresscin A

Suppresscin B

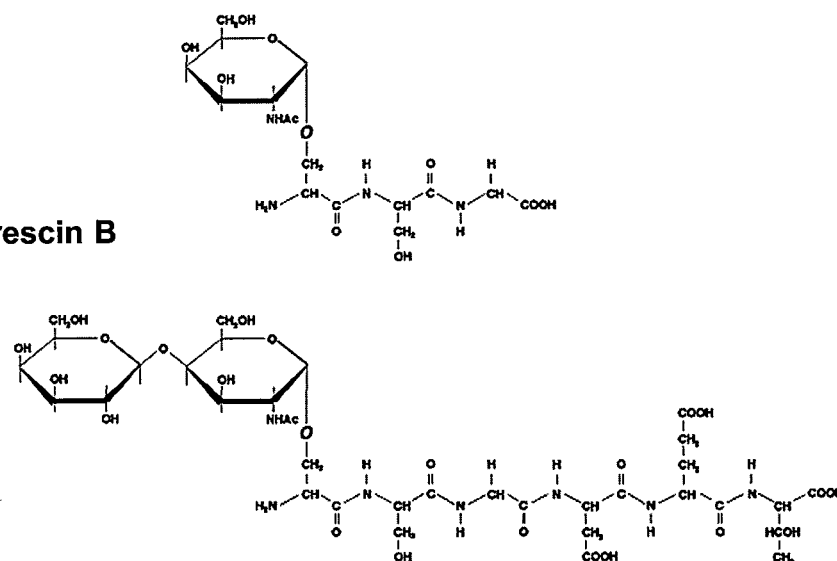


Fig. 1. Two suppressors, suppresscins A and B, secreted by pea pathogen *Mycosphaerella pinodes*. The common moiety, O-glycosyl attached to the serine (GalNAc-Ser-Ser-Gly), is proposed to be essential for suppressor activity (Kato *et al.*, 1993; Shiraishi *et al.*, 1992).

立する (Oku *et al.*, 1980; Yamada *et al.*, 1989). エリシターで処理されたエンドウでは、ピサチン生産以外にも、PR-タンパク質 (キチナーゼおよび β -1,3-グルカナーゼ) の活性化 (Yoshioka *et al.*, 1992b) や、ピサチンとは異なる抗菌物質 (感染阻害物質) の生成 (Yamamoto *et al.*, 1986) など複数の防御応答が階層的に誘導されるが、これらのいずれもがサプレッサーの共存下では抑制・遅延される (Shiraishi *et al.*, 1997). しかし、興味深いことに、褐紋病菌が生産するサプレッサーは、ササゲ、ダイズやインゲンなどの非宿主には全く作用せず、むしろ、逆にエリシターとして作用する (Amano *et al.*, 1997; Yoshioka *et al.*, 1992b). このように、サプレッサーの作用には厳密な種特異性があり、さらにエリシターとの構造上の類似性がみられないことから、その作用はエリシターの作用部位 (受容体) に対する拮抗の結果ではなく、褐紋病菌による宿主感染への積極的な寄生戦略を示している (後述). したがって、Jones and Dangl (2006) が示した「ジグザグモデル」に当てはめれば、本因子は病原体分子パターン (PAMP) 誘導性の免疫機構を回避する宿主特異的なエフェクターであり、ETS (Effector-triggered susceptibility) を担うものである.

2. 植物細胞壁に存在するエクト型 ATPase

細胞内のエネルギー通貨として知られるアデノシン 3 リン酸 (ATP) は、細胞膜に存在する H^+ 輸送性 ATPase によって利用され、この反応が生命活動に必須なプロセスである

ことは周知の事実である. しかし、著者のグループは、1995 年、細胞壁中に分子量、基質特異性、至適 pH およびカチオン要求性などの点で細胞膜 ATPase とは明らかに異なる ATP 加水分解活性を見出した (Kiba *et al.*, 1995). 当時、この活性を担う酵素の存在については多くの研究者が懐疑的であったが、その後、著者らによって精製・クローン化された. すなわち、暗所生育したエンドウ芽生えの細胞壁画分から ATP の加水分解を担う酵素を均一精製し、活性を担うタンパク質が NTP/NDPase (EC3.6.1.5; NTP diphosphohydrolase) であることを明らかにした (Kiba *et al.*, 2006a). 興味深いことに、本活性は病原菌由来のエリシター処理で活性化し、逆にサプレッサーで著しく阻害される (Kawahara *et al.*, 2003; Kiba *et al.*, 1995). 細胞壁に存在する ATP 加水分解活性は、エンドウだけでなく、ササゲ、インゲンやダイズにも認められ (Kiba *et al.*, 1995)、現在ではエクト型 ATPase (ecto-ATPase/apyrase) として知られる細胞外酵素によるものである.

エンドウ褐紋病菌が生産するサプレッサーは、エンドウ (宿主) の細胞壁に存在する ATPase 活性は阻害するが、非宿主 (ササゲ、インゲン、ダイズ) から調製した細胞壁画分の ATPase 活性に対しては、むしろエリシターの様に活性化した (Kiba *et al.*, 1995). このことは、エンドウ褐紋病菌が宿主の細胞表層にある ATPase を標的としていることを示すと同時に、ATPase が宿主特異性を決定 (反映) する重要な植物側の初期因子であることを意味している (Shiraishi,

2013; Shiraishi *et al.*, 1997, 2005; Toyoda *et al.*, 2011, 2014). 事実, エンドウ由来の組換え ATPase (PsAPY1) の活性はエリシターで活性化し, サプレッサーの処理で著しく阻害された (Kawahara *et al.*, 2003). さらに, ビオチン標識したエリシターとサプレッサーを用いた結合アッセイから, PsAPY1 に対する結合サイトはそれぞれ異なっており, サプレッサーに対する結合の K_d 値はエリシターより約 3 倍高いことが示された (Kiba *et al.*, 2006b). すなわち, PsAPY1 はアロステリック酵素であり, 病原菌由来の代謝産物と直接結合することによって触媒活性が調節されるものと考えられた. 類似の事例として Etzler *et al.* (1999) は, ドリコス豆から根粒菌の Nod factor 結合タンパク質としてエクト型 ATPase を精製し, その活性が Nod factor の添加によって調節されることを報告している. また, 著者らが調べた限りでは, 例外はあるが, ササゲ由来エクト型 ATPase (VsNTPase1) の組換えタンパク質は, 糸状菌だけでなく病原細菌由来のエリシター (フラジェリン, ゲノム DNA) の処理によって活性化することが示されている (Takahashi *et al.*, 2006).

3. エクト型 ATPase による細胞外オキシダティブバースト反応の制御

エンドウのエクト型 ATPase (PsAPY1) を例として, その一次構造を眺めてみると, 動植物に共通して保存される ACR1 ~ 5 (apyrase conserved regions) や核移行シグナルはみられるものの, 情報伝達関連タンパク質一般に認められる既知のドメインや領域は存在しない. ACR 領域がヌクレオシド 3 リン酸 (NTP) や 2 リン酸 (NDP) の加水分解に深く関わることを考えると, ATP の加水分解を通して他のタンパク質と協調的に相互作用して情報伝達や応答が行われている可能性が高い (Kawahara *et al.*, 2006; Shiraishi *et al.*, 2005). 実際, 健全植物から調製した細胞壁タンパク質には, ATPase 活性と同調するペルオキシダーゼ (Kiba *et al.*, 1997) やジアミン酸化酵素 (Toyoda *et al.*, 2012) が見出された. 前者は, NADH, p -クマル酸, Mn^{2+} の存在下で O_2^- を生成し, 後者はプトレシンを酸化してピロリンや H_2O_2 を生成する細胞外酵素である. エンドウから調製された細胞壁タンパク質を用いて *in vitro* で調べてみると, いずれの活性もエリシターで活性化するが, サプレッサーの処理で阻害される (Kiba *et al.*, 1997; Toyoda *et al.*, 2012). Blue-Native PAGE による解析では, エクト型 ATPase (PsAPY1) がジアミン酸化酵素などの細胞外酵素との 450 ~ 750 kDa の巨大複合体として存在することが明らかとなっている (Toyoda *et al.*, 2012). さらに, プトレシンから生成するピロリンの派生物 (ジヒドロマレイミド) が病原菌の付着器からの侵入を阻害するこ

とから (飯尾ら, 2012), エクト型 ATPase がエリシターと結合して病原菌を認識すると, 複合体を構成する近傍の酵素と協調して細胞壁での防御応答を成立させているものと考えられている.

ペルオキシダーゼによる O_2^- 生成については, ササゲで詳細に調べられており, エリシター誘導性の O_2^- 生成は, Salicylhydroxamic acid (SHAM), Superoxide dismutase (SOD) ならびにカタラーゼ感受性で, さらに, NADH inhibitor I-1 (NADH の構造類似体) ではほぼ完全に阻害されたことから, クラス III 型の細胞外ペルオキシダーゼによる NADH の酸化によるものと考えられている (田中ら, 2012). また, O_2^- 生成に伴って細胞外に生成する防御因子について調べたところ, 付着器からの侵入を阻害する感染阻害物質が新たに生成されていることが明らかとなった (内沖ら, 2012). 事実, エクト型 ATPase 遺伝子 (VsNTPase1) の発現を抑制したササゲでは, ペルオキシダーゼ依存性の O_2^- 生成が阻害され, 本来感染しない非病原菌による感染を許し, 病斑が形成されるようになる (田中ら, 2012). 同様の結果は, エクト型 ATPase の特異的阻害剤 NGXT-191 で処理したエンドウやササゲでも認められ, エリシター誘導性の O_2^- 生成や下流の防御関連遺伝子の発現が著しく阻害された (Amano *et al.*

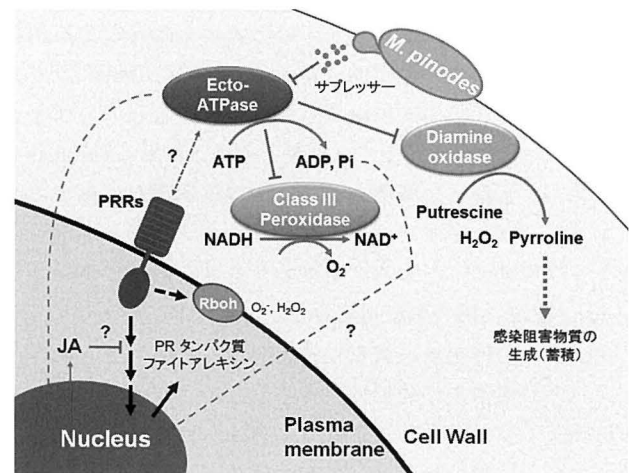


Fig. 2. A proposed model for perceiving pathogen signals, signaling and regulating defenses in the pea-*Mycosphaerella pinodes* interaction. The suppressors from *M. pinodes* attenuate O_2^- generation by extracellular peroxidase(s) (Kiba *et al.*, 1997) and H_2O_2 production by copper amine oxidase (Toyoda *et al.*, 2012) in the apoplastic space of the host cell through the inhibition of ecto-ATPase, eventually reducing the ability of the host cell to defend itself. *M. pinodes* has an additional way to avoid the salicylic acid (SA)-regulated basal defense of the plant by manipulating the physiology of host cells, in particular JA-mediated cellular process(es) to promote disease susceptibility (Toyoda *et al.*, 2013a, b).

al., 2013). 以上の結果は、細胞壁に局在するエクト型 ATPase は、細胞外ペルオキシダーゼに依存した O_2^- 生成や感染阻害物質の生成などの細胞表層の防御応答を調節し、非宿主抵抗性に深く関与していることを示している (Fig. 2). これらの結果に基づいて、現在著者らは、エクト型 ATPase は、細胞壁での病原体認識と下流の応答を調節するマスター酵素であるとの考えに至っている。

一方、ペルオキシダーゼに依存した O_2^- 生成については、エリシターと 0.1 ~ 10 μ M の ADP を共存させたササゲ葉では促進され、加水分解耐性の ADP[β]S は単独処理で生成を誘導した (田中ら, 2012). これらの結果は、アポプラストにおいて ATP の加水分解によって生成する ADP あるいはその派生物が細胞外オキシダティブバースト反応の開始または維持を担う内生シグナルとして働いている可能性を示唆している。近年、植物においても、細胞外のアデニンヌクレオチド代謝とストレス応答との関連を示す報告が増えてきており (Roux and Steinebrunner, 2007), これらは細胞壁が外界からの異物に積極的に応答する小器官であることを改めて示すものである。

4. エンドウ褐紋病菌による細胞内情報伝達系の制御

エンドウ褐紋病菌が生産するサプレッサーの作用機構について、自然宿主 (エンドウ) とモデル宿主 *Medicago truncatula* で解析され (Suzuki et al., 2006; 豊田, 2004; Toyoda et al., 2013a), ジャスモン酸の生合成系に関与する遺伝子群が同調して活性化されることが明らかとなった (Ishiga et al., 2002, 2003; Matsui et al., 2004; Toyoda et al., 2011, 2013a, b). そこで、ジャスモン酸を介した情報伝達とサプレッサーによる防御応答の抑制・遅延との関連について詳細に調べた結果、同菌が生産するエリシターはサリチル酸誘導性の *PR10-1* を活性化するが、サプレッサーとの共存下ではその活性化が著しく抑制された (Toyoda et al., 2013a). これらの結果から、サプレッサーは宿主のジャスモン酸合成を転写レベルから亢進させ、生成するジャスモン酸を介してサリチル酸に依存した防御機構を一時的に阻害しているものと考えられた。事実、サリチル酸合成に関与する *Isochorismate synthase* (ISC) や情報伝達調節因子の 1 つである *NPR1* (*Nonexpressor of PR1*) の発現を抑制したエンドウ葉では、褐紋病菌による宿主細胞への侵入率が大幅に増加する (豊田ら, 2013). これに対して、ジャスモン酸の合成に関与すると考えられる *13-Lipoxygenase* (LOX), *Allene oxide synthase* (AOS), *Allene oxide cyclase* (AOC) ならびに *12-oxo-PDA reductase* (OPR) の発現抑制個体では、コロナチンによる壊死誘導が阻害されるとともに、褐紋病菌に対する罹病性が大き

く低下した (Toyoda et al., 2013b). また、ジャスモン酸の受容と情報伝達の鍵とされる *COI1* を欠損した *M. truncatula* では、褐紋病菌による侵入が著しく阻害されることが確認されている (未発表). これらの結果は、エンドウ褐紋病菌が生産するサプレッサーが宿主のジャスモン酸合成を転写レベルから亢進し、サリチル酸依存性の防御機構を一時的に抑制しているという考えを強く支持する。エンドウ褐紋病菌については、半活物寄生の様式で宿主感染するとされており (Clulow et al., 1991), 感染初期における宿主の基礎的抵抗性を未然に回避する上で有効な戦略として理解できるであろう。

5. 細胞壁から細胞内部への情報発信—細胞表層の機能障害によって活性化する情報伝達機構—

エンドウ褐紋病菌が生産するサプレッサーの分子標的の 1 つが宿主のエクト型 ATPase であることはすでに述べてきたが、では、ATPase の阻害とジャスモン酸を介した情報伝達の亢進はどのように関連しているのでしょうか? 最近、著者らは、ATPase の強力な阻害剤であるバナジン酸が、サプレッサーと同様に *M. truncatula* におけるジャスモン酸を介した情報伝達系を活性化することを見出した (山本ら, 2012). 同様の応答は、バナジン酸で処理したシロイヌナズナでもみられ、ATPase の阻害とジャスモン酸を介した情報伝達の亢進には何らかの関連があるものと考えられた。バナジン酸の防御応答に対する作用についてはこれまで、エリシター誘導性のファイトアレキシン生成や PR-タンパク質 (キチナーゼおよび β -1,3-グルカナーゼ) の活性化を著しく阻害することをすでに明らかにしてきている (Yoshioka et al., 1990, 1992a, b). 古くから、傷あるいは食害などを受けた植物は、傷害ホルモンであるジャスモン酸の内生量を増加させ、下流の応答遺伝子を活性化して自身をまもることがよく知られている (Ryan and Pearce, 1998). 最近では、シロイヌナズナを中心に変異体の解析が進められ、細胞壁の主要繊維であるセルロースを合成する酵素遺伝子 *CeSA3* が欠損した *cev1* では、ジャスモン酸が構成的に生成され、下流の応答遺伝子が常に高いレベルで維持されることが報告されている (Ellis and Turner, 2001). 加えて、シロイヌナズナの野生型にセルロース合成酵素阻害剤を処理すると *cev1* と同様の表現型が観察されるという (Ellis et al., 2002). これらを総合すると、植物は生物的、化学的、物理的あるいは遺伝的要因によって細胞表層の機能が低下すると、傷害ホルモンとしてのジャスモン酸を利用して細胞 (組織) の恒常性を維持する仕組みを本質的に備えているものと考えられるであろう。この考え方に立てば、エンドウ褐紋病菌は、宿主の ATPase を阻害する物質を生産し、この恒常性を維持する

機構を巧みに利用して宿主の防御機構を回避し侵入初期の「ビオトロフ感染」を成立させていると考えることができる。

おわりに

植物の細胞表面にあるエクト型 ATPase を分子標的とする病原糸状菌由来のサプレッサーの作用機構の解析を通して、細胞壁が独自に備えた異物認識・免疫システムとその回避の仕組みが次第に明らかになりつつある。つまり、外環境に常に曝されながらも、種と多様性を維持してきた植物の卓越した環境適応能力を保障する植物細胞壁の機能と、その仕組みを巧みに利用する病原菌の強かさが垣間見えるようになってきた。特に、本総説では、エクト型 ATPase を免疫応答のマスター酵素と位置付け、これを起点とする情報伝達と応答、さらには細胞内部への情報発信の動態について、最近の生理・生化学的な解析結果を基にして詳述してきた。しかしながら、その全体像は依然ブラックボックスの部分が少ない。今後、免疫反応の成立・不成立を司る細胞壁情報分子の解析に加え、分子間相互作用のイメージングやモデリングなどの解析を通して、植物細胞壁がもつ潜在的な機能についてさらに明らかにされることを期待したい。

謝 辞

本研究は、岡山大学植物病理学研究室の多くの卒業・修了生との共同研究の成果である。また、研究成果の一部は独立行政法人日本学術振興会・科学研究費助成事業の支援によって実施したものである。ここに記して深謝したい。

引 用 文 献

- Amano, M., Toyoda, K., Ichinose, Y., Yamada, T. and Shiraishi, T. (1997). Association between ion fluxes and defense responses in pea and cowpea tissues. *Plant Cell Physiol.* 38: 698–706.
- Amano, M., Toyoda, K., Kiba, A., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2013). Plant cell walls as suppliers of potassium and sodium ions for induced resistance in pea (*Pisum sativum* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *J. Gen. Plant Pathol.* 79: 12–17.
- Clulow, S.A., Lewis, B.G., Parker, M.L. and Matthews, P. (1991). Infection of pea epicotyls by *Mycosphaerella pinodes*. *Mycol. Res.* 95: 817–820.
- Ellis, C. and Turner, J.G. (2001). The Arabidopsis mutant *cev1* has constitutively active jasmonate and ethylene signal pathways and enhanced resistance to pathogens. *Plant Cell* 13: 1025–1034.
- Ellis, C., Karafyllidis, I., Wasternack, C. and Turner, J. (2002). The Arabidopsis mutant *cev1* links cell wall signaling to jasmonate and ethylene responses. *Plant Cell* 14: 1557–1566.
- Etzler, M.E., Kalsi, G., Ewing, N.N., Roberts, N.J., Say, R.B. and Muuphy, J.B. (1999). A nod factor binding lectin with apyrase activity from legume roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 5856–5861.
- 飯尾賢太郎・鎌田智絵・渡辺智和・泉 実・稲垣善茂・一瀬勇規・豊田和弘・白石友紀 (2012). エンドウ細胞壁で生成される感染阻害物質. *日植病報* 78: 209–210. (講要)
- Ishiga, Y., Funato, A., Tachiki, T., Toyoda, K., Shiraishi, T., Yamada, T. and Ichinose, Y. (2002). Expression of the *12-oxophytodienoic acid 10,11-reductase* gene in the compatible interaction between pea and fungal pathogen. *Plant Cell Physiol.* 43: 1210–1220.
- Ishiga, Y., Inagaki, Y., Toyoda, K., Shiraishi, T. and Ichinose, Y. (2003). Expression of allene oxide synthase and allene oxide cyclase in the interactions between pea and fungal pathogens. *J. Gen. Plant Pathol.* 69: 351–357.
- Jones, J.D.G. and Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature* 444: 323–329.
- Kato, T., Shiraishi, T., Toyoda, K., Saitoh, K., Satoh, Y., Tahara, M., Yamada, T. and Oku, H. (1993). Inhibition of ATPase activity in pea plasma membranes by fungal suppressors from *Mycosphaerella pinodes* and their peptide moieties. *Plant Cell Physiol.* 34: 439–445.
- Kawahara, T., Toyoda, K., Kiba, A., Miura, A., Ohgawara, T., Yamamoto, M., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2003). Cloning and characterization of pea apyrases: Involvement of *PsAPY1* in response to signal molecules from the pea pathogen *Mycosphaerella pinodes*. *J. Gen. Plant Pathol.* 69: 33–38.
- Kawahara, T., Namba, H., Toyoda, K., Kasai, T., Sugimoto, M., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2006). Induction of defense responses in pea tissues by inorganic phosphate. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 129–136.
- Kiba, A., Toyoda, K., Yamada, T., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (1995). Specific inhibition of cell wall-bound ATPases by fungal suppressor from *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 36: 809–817.
- Kiba, A., Miyake, C., Toyoda, K., Ichinose, Y., Yamada, T. and Shiraishi, T. (1997). Superoxide generation in extracts from isolated plant cell walls is regulated by fungal signal molecules. *Phytopathology* 87: 846–852.
- Kiba, A., Ohgawara, T., Toyoda, K., Inoue-Ozaki, M., Takeda, T., Rao, U.S., Kato, T., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2006a). A binding protein for fungal signal molecules in the cell wall of *Pisum sativum*. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 228–237.
- Kiba, A., Toyoda, K., Yoshioka, K., Tsujimura, K., Takahashi, H., Ichinose, Y., Takeda, T., Kato, T. and Shiraishi, T. (2006b). A pea NTPase, *PsAPY1*, recognizes signal molecules from microorganisms. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 238–246.
- Matsubara, M. and Kuroda, H. (1987). The structure and physiological activity of glycoprotein secreted from conidia of *Mycosphaerella pinodes* II. *Chem. Pharm. Bull.* 35: 249–255.
- Matsui, H., Nakamura, G., Ishiga, Y., Toshima, H., Inagaki, Y., Toyoda, K., Shiraishi, T. and Ichinose, Y. (2004). Structure and expression of 12-oxophytodienoate reductase (subgroup I) genes in pea, and characterization of the oxidoreductase activities of their recombinant products. *Mol. Gen. Genomics* 271: 1–10.
- Oku, H., Shiraishi, T., Ouchi, S., Ishiura, M. and Matueda, R. (1980).

- A new determinant of pathogenicity in plant disease. *Naturwissenschaften* 67: 310–311.
- Roux, S.J. and Steinebrunner, I. (2007). Extracellular ATP: an expected role as a signaler in plants. *Trend. Plant Sci.* 12: 522–527.
- Ryan, C.A. and Pearce, G. (1998). Systemin: a polypeptide signal for defensive genes. *Annu. Rev. Cell Biol.* 14: 1–17.
- Shiraishi, T., Oku, H., Yamashita, M. and Ouchi, S. (1978). Elicitor and suppressor of pisatin induction in spore germination fluid of pea pathogen, *Mycosphaerella pinodes*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 44: 659–665.
- Shiraishi, T., Saitoh, K., Kim, H.M., Kato, T., Tahara, M., Oku, H., Yamada, T. and Ichinose, Y. (1992). Two suppressors, suppressins A and B, secreted by a pea pathogen, *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 33: 663–667.
- Shiraishi, T., Yamada, T., Ichinose, Y., Kiba, A. and Toyoda, K. (1997). The role of suppressors in determining host-parasite specificities in plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 172: 55–93.
- Shiraishi, T., Toyoda, K., Kiba, A., Kawahara, T., Takahashi, H., Inagaki, Y. and Ichinose, Y. (2005). Defense signaling and the plant cell wall—A new signaling pathway dependent upon inorganic phosphate. In *Genomic and genetic analysis of plant parasitism and defense* (Tsuyumu, S., Leach, J.E., Shiraishi, T. and Wolpert, T., eds.), pp. 114–125, APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Shiraishi, T. (2013). Suppression of defense response related to plant cell wall. *JARQ* 47: 21–27.
- Suzuki, T., Maeda, A., Hirose, M., Ichinose, Y., Toyoda, K. and Shiraishi, T. (2006). Ultrastructural features of *Mycosphaerella pinodes* infection and differences in host susceptibility responses among *Medicago truncatula* ecotypes. *J. Electr. Microsc. Technol. Med. Biol.* 20: 167–168.
- Takahashi, H., Toyoda, K., Hirakawa, Y., Morishita, K., Kato, T., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2006). Localization and responsiveness of a cowpea apyrase VsNTPase1 to phytopathogenic microorganisms. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 143–151.
- 田中佳織・豊田和弘・稲垣善茂・一瀬勇規・白石友紀 (2012). アピラーゼはATPの加水分解を介して細胞外ペルオキシダーゼに依存したO₂⁻生成を調節し、細胞壁での防御応答に関与している。日植病報 78: 210. (講要)
- 豊田和弘 (2004). 糸状菌による植物疾病の分子機構解明へ向けたタルウマゴヤシ解析システム—サプレッサーが介在する植物感染病の謎に迫る。化学と生物 42: 291–293.
- Toyoda, K., Kawamoto, Y., Kawanishi, Y., Niwa, M., Takahashi, H., Suzuki, T., Kasai, T., Takahara, H., Amano, M., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2011). Suppression of defense—The role of fungal suppressors in conditioning plant susceptibility. In *Genome-enabled analysis of plant-pathogen interactions* (Wolpert, T., Shiraishi, T., Collmer, A., Akimitsu, K. and Glazebrook, J., eds.), pp. 139–147, APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Toyoda, K., Yasunaga, E., Niwa, M., Ohwatari, Y., Nakashima, A., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2012). H₂O₂ production by copper amine oxidase, a component of the ecto-apyrase (ATPase)-containing protein complex(es) in the pea cell wall, is regulated by an elicitor and a suppressor from *Mycosphaerella pinodes*. *J. Gen. Plant Pathol.* 78: 311–315.
- Toyoda, K., Ikeda, S., Morikawa, J., Hirose, M., Maeda, A., Suzuki, T., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2013a). The *Medicago truncatula*–*Mycosphaerella pinodes* interaction: a new pathosystem for dissecting fungal-suppressor-mediated disease susceptibility in plants. *J. Gen. Plant Pathol.* 79: 1–11.
- Toyoda, K., Kawanishi, Y., Kawamoto, Y., Kurihara, C., Yamagishi, N., Yoshikawa, N., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2013b). Suppression of mRNAs for *lipoxygenase* (LOX), *allene oxide synthase* (AOS), *allene oxide cyclase* (AOC) and *12-oxo-phytodienoic acid reductase* (OPR) in pea reduces sensitivity to the phytotoxin coronatine and disease development by *Mycosphaerella pinodes*. *J. Gen. Plant Pathol.* 79: 321–334.
- 豊田和弘・石井寛子・山岸紀子・吉川信行・稲垣善茂・一瀬勇規・白石友紀 (2013). エンドウにおけるサリチル酸を介した防御応答は褐紋病菌に対する侵入抵抗性に関与している。日植病報 79: 42–43. (講要)
- Toyoda, K., Kawakami, E., Nagai, H., Shiobara-Komatsu, T., Tanaka, K., Inagaki, Y., Ichinose, Y. and Shiraishi, T. (2014). Expression of *Medicago truncatula* ecto-apyrase *MtAPY1;1* in leaves of *Nicotiana benthamiana* restricts necrotic lesions induced by a virulent fungus. *J. Gen. Plant Pathol.* 80: 222–229.
- 内沖真紀・豊田和弘・田中佳織・高木麻衣・稲垣善茂・一瀬勇規・白石友紀 (2012). エリシター処理したササゲで生成される感染阻害因子。日植病報 78: 210. (講要)
- Yamada, T., Hashimoto, H., Shiraishi, T. and Oku, H. (1989). Suppression of pisatin, phenylalanine ammonia-lyase mRNA, and chalcone synthase mRNA accumulation by a putative pathogenicity factor from the fungus *Mycosphaerella pinodes*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2: 256–261.
- 山本智樹・豊田和弘・稲垣善茂・一瀬勇規・白石友紀 (2012). エンドウ褐紋病菌は宿主のATPaseを標的とし、ジャスモン酸シグナル伝達系を介して定着や病斑形成を促進している!?. 日植病報 78: 210. (講要)
- Yamamoto, Y., Oku, H., Shiraishi, T., Ouchi, S. and Koshizawa, K. (1986). Non-specific induction of pisatin and local resistance in pea leaves by elicitors from *Mycosphaerella pinodes*, *M. melonis* and *M. ligulicola* and effect of suppressor from *M. pinodes*. *J. Phytopathol.* 117: 136–143.
- Yoshioka, H., Shiraishi, T., Yamada, T., Ichinose, Y. and Oku, H. (1990). Suppression of pisatin production and ATPase activity in pea plasma membranes by orthovanadate, verapamil and a suppressor from *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 31: 1139–1146.
- Yoshioka, H., Shiraishi, T., Kawamata, S., Nasu, K., Yamada, T., Ichinose, Y. and Oku, H. (1992a). Orthovanadate suppresses accumulation of phenylalanine ammonia-lyase mRNA and chalcone synthase mRNA in pea epicotyls induced by elicitor from *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 33: 201–204.
- Yoshioka, H., Shiraishi, T., Nasu, K., Yamada, T., Ichinose, Y. and Oku, H. (1992b). Suppression of the activation of chitinase and β -1,3-glucanase in pea epicotyls by orthovanadate and a suppressor elicitor from *Mycosphaerella pinodes*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 58: 405–410.