

令和元年6月19日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15138

研究課題名(和文) 維管束パターン形成での組織対称性および細胞分裂を制御する転写因子HANの解析

研究課題名(英文) Analysis of HAN function during root vascular patterning in Arabidopsis.

研究代表者

宮島 俊介 (Miyashima, Shunsuke)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：20727169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナの根の維管束の発生過程では、予定師部細胞付近での集中的な増殖と、二原型の組織パターンニングが同調的に生じる。本課題では、転写因子HANABA-TARANU (HAN)の機能解析を通じて、細胞増殖と組織パターンとの同調機構の解明を行った。HANは細胞増殖因子PEAR1の発現領域を予定師部細胞に特異化し、予定師部細胞付近に細胞増殖を集中化させる。この集中した細胞増殖は維管束組織内に偏った圧縮応力の場を形成し、結果的に、維管束中央に直線的な木部細胞列が構築される。本研究は、維管束形成において、集中的な細胞増殖に生み出される「機械的な力」とそのパターン構築における機能を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの植物発生研究では、遺伝子またその産物による分子制御機構の解明に主体が置かれてきた。本課題では、植物の組織形成において、細胞増殖が「機械的な力」という物理的な要素を生み出し、細胞パターンの構築に関与するという知見を得た。この研究成果は、今後、本課題が対象とした維管束組織の構築だけでなく、様々な植物の発生現象の研究に対し新たな視点を与える。

研究成果の概要(英文)：In Arabidopsis root vascular development, cells undergo periclinal cell divisions to increase cell file numbers, resulting in a bisymmetric vascular pattern consisting of a central xylem axis and two phloem poles. It has been reported that mobile transcription factors PEAR integrates the positional cues to trigger the periclinal cell divisions during vascular development. However it is unrevealed how the cell proliferation and vascular patterning are orchestrated in this process.

Here I have studied the function of B-GATA transcription factor, HANABA-TARANU (HAN), in vascular development. HAN restricts the expression of PEAR1 in protophloem sieve element (PSE) to concentrate the periclinal cell divisions around PSE. By the theoretical approach, we propose that this polar cell proliferation forms the isotropic mechanical force in the vascular tissue, which could contribute the smooth boundary between xylem and its neighboring tissue, resulting in a bisymmetric vascular pattern.

研究分野：植物発生学

キーワード：細胞間相互作用 植物発生 維管束組織 数理モデル

## 1. 研究開始当初の背景

維管束植物の根の維管束は、木部が放射状に形成され、師部が木部の間に存在する放射維管束パターンを示す。植物種によって放射維管束の「対称性」は多様であり、例えば、シロイヌナズナの根は、木部が維管束の中央を横断し、木部に直行する位置に師部が形成する二原型 (Diarch pattern) を示し、ウリ科のスイカは四原型 (Tetraarch pattern) を示す。この維管束における対称性の多様性は非常に興味深い。

シロイヌナズナの根においては、根の先端に存在する維管束始原細胞から生み出された娘細胞が、並層分裂を繰り返すことで、維管束組織内の細胞数を増加させる。また、同時に、中央に木部細胞列を、また、それに直行する位置に師部細胞を分化させる事で、二原型の維管束パターンを構築する。すなわち、維管束組織の構築過程は、細胞増殖と組織パターン形成が同調的に進行するダイナミックな発生プロセスである。

研究開始当初において、シロイヌナズナの根の二原型維管束パターンをモデルとして、そのパターン形成の分子機構が明らかにされつつあった。特に、植物ホルモンであるオーキシンとサイトカイニンによる相互抑制的な機構が存在し、オーキシンが木部に、また、前形成層と師部にサイトカイニンの活性が特異化する事で、それら組織の分化を誘導する事が明らかにされていた。しかしながら、これらホルモンの下流の分子機構、また、その下流因子群がどのようにして、細胞増殖と組織パターン形成を同調的に進行させているかは全く不明であった。

## 2. 研究の目的

研究開始時点において、GATA 型転写因子 HANABA-TARANU (HAN) が根端メリステムの維管束で発現し、han 機能欠損体では維管束細胞の細胞分裂が亢進する事を見出していた。さらに、han 機能欠損体は、木部軸の湾曲や三原型への転換などの対称性の構築に異常を生じる事を明らかにしていた。加えて、その過剰発現体などの解析から、HAN の機能活性と相関して、維管束の細胞数と組織の対称性が自在に変化する事を見出していた。この事から、HAN は維管束の細胞増殖とパターン形成を統合的に制御する新規因子である事と考えた。本研究では、細胞増殖とパターン形成が同調的に進行するダイナミックな維管束形成プロセスを分子レベルで理解する事を研究目的とし、それを統合的に制御すると考えられる転写因子 HAN の機能解析を通じ、その分子実体に迫る。

## 3. 研究の方法

維管束の形成過程では、細胞増殖とパターン形成が同調的に進行する。このダイナミックなプロセスを分子レベルで理解する事を研究目的とした。そこで、まず第1に、維管束形成過程で起こる細胞増殖、つまり並層分裂の空間的な分配とその制御機構の解明を行った。具体的には、維管束形成過程を3Dレベルで可視化する事で、細胞増殖を定量化した。さらに、この維管束形成過程での細胞増殖を制御する分子ネットワークを明らかにした。

また、上記に記載したように、HAN は細胞増殖と組織パターン形成を統合し、シロイヌナズナの二原型維管束パターンを構築すると考えられる。そこで、細胞増殖の下流因子群の同定から、HAN が如何にして細胞増殖を制御する分子ネットワークに関与しているかの分子基盤を明らかにした。

動物の発生過程において、組織と組織の境界部形成や器官の形状の構築において、細胞同士の間を生じる「機械的な力」である応力の機能が多数方向されている。シロイヌナズナの根の維管束の二原型維管束では、維管束の中央部に直線的な木部細胞列が構築されるが、han 機能欠損体では、この木部細胞列が、湾曲したりするなど、直線性が低下する。そこで、維管束形成過程での細胞増殖と組織パターンを繋げる要因として、「機械的な力」を仮定し、その機能について解析した。

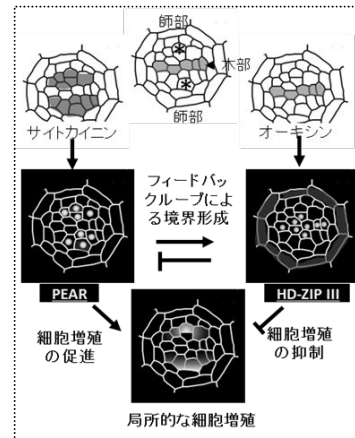
## 4. 研究成果

(1) 細胞間を移動する転写因子 PEAR は細胞間シグナルを統合し維管束の細胞増殖を制御する。

シロイヌナズナ根の維管束形成過程では、これまでに、植物ホルモンであるオーキシンとサイトカイニン(CK)との間の相互抑制的な制御機構が、細胞増殖およびパターン形成に機能する事が知られていた。しかしながら、その下流現象の分子実体に関しては、全く分かっていなかった。その理由の1つとして、維管束形成過程での、細胞増殖、つまり並層分裂の空間的な理解がなされていなかったことが挙げられる。

そこで、根の維管束形成が起こる根端分裂組織の細胞パターンを3Dレベルで可視化し、維管束組織の中での並層分裂の空間配置を定量化した。その結果、維管束形成において、並層分裂は予定師部細胞周辺に集中する事を見出した。また、

この予定師部細胞で特異的に発現する遺伝子群の網羅的な機能解析を通じて、細胞増殖を誘引する分子として、サイトカイニン(CK)により発現誘導され、細胞非自律的に機能するDOF型転写因子群 PHLOEM EARFLY DOF (PEAR) を同定した。さらに、PEAR とそれに拮抗的な作用を持つHD-ZIP III との制御ネットワークの解明を通じ、PEAR 転写因子がホルモンシグナルを統合することで、維管束形成過程における局所的な細胞増殖を制御することを明らかにした(Miyashima et al., 2019、右図)。



### (2) 転写因子 HAN は CK-PEAR モジュールを制御する事で、局所的な細胞増殖を制御する

上記の様に、HAN は細胞増殖と組織パターン形成を統合し、シロイヌナズナの二原型維管束パターンを構築すると考えられる。HAN の下流因子の探索のため、han 機能欠損体を用いたトランスクリプトーム解析を行った。その結果、han 変異体では、PEAR1 遺伝子の発現レベルの上昇が確認された。PEAR1 は、予定師部細胞特異的に転写され、PEAR1 タンパク質の細胞間移動を経て、予定師部細胞付近での細胞増殖を促進する。実際に PEAR1 遺伝子は、han 変異体内において、その転写領域が拡大していた。そこで、PEAR1 の上流因子にあたる CK シグナルと HAN 遺伝子との遺伝学的な関係性を確かめたところ、HAN は CK シグナルを抑制的に制御する事で、PEAR1 遺伝子の発現領域を予定師部細胞に特異化する事が明らかになった。これらの結果から、HAN は転写抑制因子として、CK-PEAR モジュールを制御する事で、維管束形成過程での細胞増殖を制御する事を見出した。

### (3) 維管束形成過程に働く「機械的な力」の検証

維管束形成過程では、根の内鞘および内皮に囲まれた限られた領域で、維管束細胞が上記の PEAR- HD-ZIP III モジュールによる制御機構によって、局所的な細胞分裂が起こる。このように限られた空間内で、細胞が成長および分裂する事は、細胞間もしくは組織内に、圧縮力や引張力などの「機械的な力」を生み出す。動物の発生においては、この機械的な力が組織および器官の形状やパターンの形成に影響を与えることが知られている。

そこで、実際に維管束形成過程で働く機械的な力の存在を検証するために、パルスレーザーを用いた細胞破壊実験を行った。その結果、中央に存在する木部細胞列に対し、その両側の前形成層細胞からの圧縮応力の存在を確認した。今後、この圧縮応力の発生メカニズムおよびその機能について、維管束形成過程を再現する数理モデルを構築から検証を進める予定である。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

[査読 有]

著者 \*Miyashima S, \*Roszak P, \*Sevilem I, Toyokura K, Blob B, Heo JO, Mellor N, Help-Rinta-Rahko H, Otero S, Smet W, Boekschoten M, Hooiveld G, Hashimoto K, Smetana O, Siligato R, Wallner ES, Mähönen AP, Kondo Y, Melnyk CW, Greb T, Nakajima K, Sozzani R, Bishopp A, De Rybel B, Helariutta Y. (\*Equal contribution)

題名 Mobile PEAR transcription factors integrate positional cues to prime cambial growth.  
雑誌名,発表年 Nature. 2019 Jan;565(7740):490-494. doi: 10.1038/s41586-018-0839-y

〔学会発表〕(計 1件)

発表者名: Shunsuke Miyashima, Pawel Roszak, Motohiro Fujiwara, Koichi Fujimoto, Keiji Nakajima and Yka Helariutta

発表表題: A regulatory mechanism triggering localized cell proliferation in Arabidopsis root vascular tissue.

学会名: 第 59 回 日本植物生理学会 2017 年度年会

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等: 無し

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 無し

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2)研究協力者

研究協力者氏名: 無し

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。