

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2014～2016

課題番号：26520207

研究課題名(和文)植物表皮細胞壁のジグソーパズル構造形成メカニズム

研究課題名(英文)A mathematical model of the jigsaw puzzle appearance of Arabidopsis leaf pavement cells

研究代表者

今村 寿子(滝川寿子)(Takigawa-Imamura, Hisako)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：30523790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナの葉表皮細胞がジグソーパズル状に変形するメカニズムを調べるため数理モデルを構築し、細胞成長に伴い細胞壁が伸展し座屈することにより湾曲が生じるという仮説を検討した。細胞の成長とそれに伴う自由な変形が表現できる数理モデルを用いて、成長に伴う自発的な細胞の突出と陥入の形成が再現できた。細胞内骨格制御によって湾曲が生じるという従来の説に対して、局所的な細胞成長を組み込まないモデルでも突出/陥入のある複雑な細胞変形を説明できることを理論的に示した。この結果は、細胞内骨格制御因子の変異株でも細胞壁湾曲が見られることと符号し、細胞壁湾曲形成への力学的関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the mechanism of the formation of the jigsaw puzzle-like morphology in pavement cells in dicotyledonous plants by using a mathematical model. We developed the mathematical model that considers the balance between cell and cell wall growth, restricted global cell growth orientation, and regulation of local cell outgrowth mediated by a Rho-like GTPase-cytoskeleton system. Our computational simulations suggest that interdigitated patterns form because of mechanical buckling in the absence of Rho-like GTPase-dependent regulation of local cell outgrowth. Our model clarifies the cell wall mechanics influencing pavement cell morphogenesis.

研究分野：数理生物学、発生生物学

キーワード：数理モデル 植物細胞壁 葉表皮細胞 形態形成 座屈 シロイヌナズナ 反応拡散

1. 研究開始当初の背景

植物の細胞壁は、セルロースを主体にキシロース架橋された強固な組織だが、静的な構造物ではない。合成分解が常に調節されているうえ、細胞壁内はオーキシンやペプチドホルモンといった拡散性のシグナル因子が通り、情報処理を行う動的な場として機能が注目されている。

双子葉植物の葉表皮細胞は、発達して体積を増加させると同時に、細胞が相互に入り組んで美しいジグソーパズル様のパターンを示す(図1)。古くから知られるこの現象は生物学的意義のみならずメカニズムが分かっていない。セルロース合成酵素や細胞壁分解のライブイメージングが試みられているものの、細胞壁の合成分解制御が実際に湾曲部で局所的に起きているのか明らかにされていない。細胞膜直下の微小管(表層微小管)が細胞壁の生成を制御しており、細胞湾曲部ではオーキシン依存的に表層微小管の形成が亢進していることも分かってきたが、湾曲形成との因果関係は判然としない。

ここで我々は、「細胞壁の座屈」として湾曲が形成される可能性を考えた。形態形成現象を力学的な自己組織化過程として説明できれば、応力発生による生体機能調節機構として、また力学的なパターン形成問題として、新しい問題提起になると考えた。

研究代表者はこれまで、一つ一つの動物細胞の挙動が、組織全体の変形に及ぼす効果を記述するモデルを発表している(図2, Takigawa-Imamura *et al.*, *Journal of Theoretical Biology*, 2015)。細胞を弾力のある球と見なし、隣接する球間の結合を組み込むことで、上皮シート構造とそれに囲まれた細胞集団を記述した。このCollective particle modelはシート部分の曲げ弾性をはじめとする力学特性などを組み込んだうえで、成長と自由な変形を扱うモデルとして、広く応用できる。

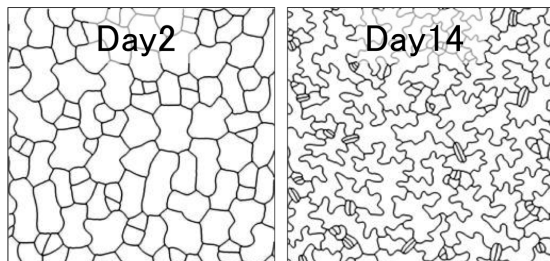


図1 シロイヌナズナの葉表皮細胞パターンが成長とともに示す変化。

2. 研究の目的

細胞成長により、細胞体積と細胞壁面積との比が崩れた場合に、細胞壁が力学的に座屈

し湾曲が起きるという可能性を、数理モデルを用いて調べる。力学的メカニズムについての実験的検証が難しい状況において、数理モデルは自由度の高い仮説を扱える効果的なアプローチになりうる。細胞間の情報処理インターフェイスである植物細胞壁の動的制御を解明することは、植物細胞機能の理解につながるかと期待される。

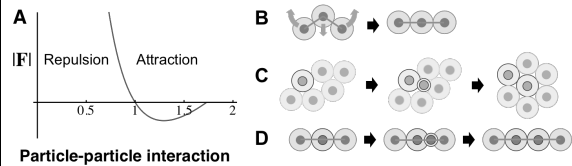


図2 Collective particle modelの枠組み。A, 質点間の相互作用(距離に依存した斥力と引力)により質点間距離を保つ。B, 細胞壁には曲げ弾性による復元力が働くと仮定する。C, 細胞面積の成長を質点の追加で表現する。D, 細胞壁の成長を質点の追加で表現する。

3. 研究の方法

細胞の水平断面の二次元形状を質点の集合として表現する系を構築した。まず細胞壁を連続する質点で表現し、弾力のある数珠に弦を通したようなものを想定する。すなわち質点の並びおよび質点間の距離は保たれており(図2A)、3つの質点があす角度を180度に近づける力(曲げ弾性)が働くとする(図2B)。これにより張りのあるシート構造が表現できる。次に、細胞壁の内部にも質点を詰め、同様の質点間相互作用を仮定すると、質点が隙間なく押し合いへし合いし、細胞面積を維持したまま変形を表現することができる。このような系で細胞面積(図2C)と細胞壁(図2D)の成長を質点の増加により表す。

葉表皮細胞の成長過程を観察すると、葉の長軸方向の成長が優位であり、表層微小管の配向により制御されることが示唆された。このような表層微小管の効果を表すために、細胞壁を表現する質点の間で葉の短軸方向の引力が働くと仮定した(図3A)。5つの長方形の細胞が配置したものを初期状態とした(図3C)。各質点の運動は粘性極限を取り、力と速度が比例する形を採った。

このモデル系を用いて、東京大学朽名夏磨特任准教授(連携研究者)および同学松垣匠特任准教授らの実験観察結果と比較するためのモデルの改変や条件による形態の比較を行った。

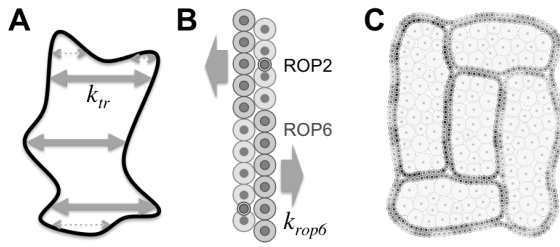


図3 A, 異方成長を引き起こす表層微小管の作用。B, ROP2によるアクチン重合促進とROP6による表層微小管形成促進の作用。C, 細胞集団形状の初期状態例。

4. 研究成果

細胞成長により形態の変化する様子を計算機シミュレーションにより調べたところ、細胞面積に対して細胞壁が長くなると共に細胞壁の湾曲が起こり、自発的に細胞の突出と陥入が生じることを再現できた。細胞成長の異方性を仮定した場合には、細胞が細長く伸びるほど、湾曲構造の振幅が小さくなり、葉柄細胞様の形状が得られた。また細胞壁の曲げ弾性を変えると、柔らかい場合には湾曲構造の波長が短くなり細胞形状が複雑化するが、極端に柔らかい場合には細胞壁が短く厚くなり細胞形状が単純化することが示された。3つの細胞が接する細胞壁の交点では、細胞壁がほぼ120度ずつ交わるが、細胞壁が極端に柔らかい場合にはこの均衡が崩れた。これらの結果は、実験的にシロイヌナズナの細胞壁を軟化処理した場合の細胞形状の特徴と一致した(学会発表③-⑥)。

数理モデルをより現実的なものに発展させるため、細胞の局所的成長を制御するROP GTPaseの機能をモデルに組み込んだ(図3B)。2種のROPが、相互抑制により細胞壁の両側に背中合わせに分布し、隣接する細胞のどちら側に突出が起こるかが決まる様子を表現した(図4)。一方、連携研究者の観察から、ROP6の局在化を司るric1の機能欠失変異株でも細胞変形が起きることが観察され、従来のROP機能を軸としたメカニズムでは説明できないことが明らかとなってきた。本モデルからは、ROPの局在化が見られない場合にも、細胞壁の座屈として細胞変形が起きることが予測され、ric1変異株での表現型を説明すると共に、座屈が細胞変形の根本原理になりうる可能性を示唆した(図5、雑誌論文②、学会発表①, ②)。

上述の成果において、湾曲の波長は、野生株ではROPの局在により決定し、ric1機能欠損株では細胞の力学的特性により決まる。実際には、ROPの相互抑制と細胞変形とが相互作用しあいながら決定すると考えられる。そこで、細胞壁を反応拡散場とし、場の変形と相互作用によりROP2とROP6の分布が変化することを表現した改変モデルに取り組んでいる。細胞形状が多角形を示す成長初期には

ROP分布の波長が短く、成長と共に波長が長く変化していくことや、様々な変異株の細胞形状を説明することができる。今後各パラメータがどのように湾曲パターンを変化させるか詳細に調べていく。

他方、シグナル因子の濃度分布に応じて再構築された細胞内骨格が、細胞壁を押し出すことで湾曲が起きる可能性についても、反応拡散モデルにより調べた(雑誌論文③)。このモデルからは、セルラーゼ処理によって見られる細胞壁の肥厚を、シグナル因子拡散の促進によるものとして説明することができた。

本研究課題で構築した数理モデルのフレームワークを発展させて、動物肺組織の分岐形成に関する数理モデルを発表した(雑誌論文①)。また葉表面の隆起、茎や根の形状変化を説明するモデルを構築しており、それぞれ異なる共同研究として論文執筆中である。

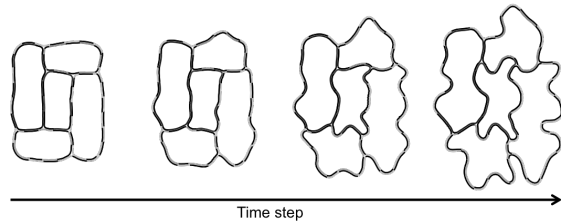


図4 数理モデルにより再現された細胞壁湾曲形成過程。

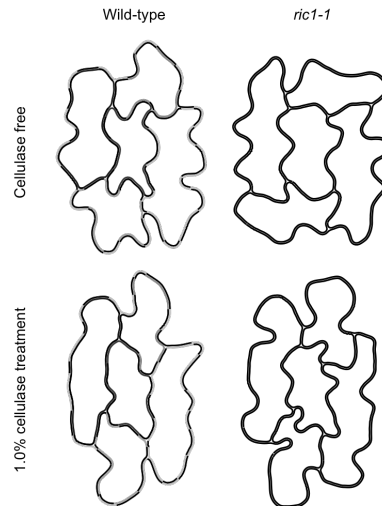


図5 (左) 野生株における湾曲形成の再現。ROPの分布に応じて細胞の突出と陥入が起きる。(右) ric1変異株における湾曲形成の再現。ROP6発現量が低い場合でも細胞壁が湾曲することを座屈により説明した。(下段) 薬剤処理により表層微小管配向の規則性が高まった場合、異方成長が強化されると、周長と面積の不均衡が解消されるため、結果として湾曲形成が抑制される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕（計 3 件）

- ① Fumoto K, Takigawa-Imamura H, Sumiyama K, Kaneiwa T, *Kikuchi A. Modulation of apical constriction by Wnt signal is required for the lung epithelial shape transition. *Development*. 144, 151–162, 2017（査読有り）doi: 10.1242/dev.141325
- ② *Takumi H, Takigawa-Imamura H, Akita K, Kutsuna N, Kobayashi R, Hasezawa S, Miura T. Exogenous cellulase switches cell interdigitation to cell elongation in a RIC1-dependent manner in *Arabidopsis thaliana* cotyledon pavement cells. *Plant Cell Physiology*, E-00504, 2016（査読有り）doi: 10.1093/pcp/pcw183.
- ③ Takumi H, Kutsuna N, Akita K, Takigawa-Imamura H, Yoshimura K, *Miura T. A Theoretical model of jigsaw-puzzle pattern formation by plant leaf epidermal cells. *PLoS Computational Biology*, 12(4), e1004833, 2016（査読有り）doi: 10.1371/journal.pcbi.1004833

〔学会発表〕（計 6 件）

- ① 今村（滝川）寿子, 朽名夏麿, 桧垣匠, 秋田佳恵, 三浦岳. 葉表皮細胞のジグソーパズル構造形成の数理モデル. 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015 年 12 月 2 日, 神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）
- ② （招待講演）今村（滝川）寿子, 朽名夏麿, 桧垣匠, 秋田佳恵, 三浦岳. 葉表皮細胞のジグソーパズル構造形成の数理モデル. 第 56 回日本植物生理学会年会, 2015 年 3 月 16 日, 東京農業大学（東京都世田谷区）
- ③ Takigawa-Imamura H, Kutsuna K, Higaki T, Akita K, Miura T. Jigsaw Puzzle Pattern in the Epidermal Cell Wall of Leaves. The 62nd NIBB Conference, 2014 年 11 月 17 日, 基礎生物学研究所 岡崎コンファレンスセンター（愛知県岡崎市）
- ④ （招待講演）今村（滝川）寿子. 「押し合いへし合い」からできる形態:動物組織と植物細胞. 第 4 回複雑系科学シンポジウム, 2014 年 9 月 13 日, 西南学院

大学（福岡県福岡市）

- ⑤ 今村（滝川）寿子, 朽名夏麿, 桧垣匠, 秋田佳恵, 三浦岳. Jigsaw puzzle pattern in the epidermal cell wall of leaves. The Joint Annual Meeting of the Japanese Society for Mathematical Biology and the Society for Mathematical Biology, 2014 年 7 月 28 日, 大阪府立国際会議場（大阪府大阪市）
- ⑥ 今村（滝川）寿子, 朽名夏麿, 桧垣匠, 秋田佳恵, 三浦岳. Jigsaw puzzle pattern in the epidermal cell wall of leaves. 第 47 回日本発生生物学会大会, 2014 年 5 月 28 日, ウィンクあいち（愛知県名古屋）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.anat1.med.kyushu-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今村（滝川）寿子（TAKIGAWA-IMAMURA, Hisako）
九州大学・大学院医学研究院・助教
研究者番号：30523790

(2) 連携研究者

朽名 夏麿（KUTSUNA, Natsumaro）
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任准教授
研究者番号：70578559

小林 亮（KOBARASHI, Ryo）
広島大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：60153657

三浦 岳（MIURA, Takashi）
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：10324617