

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：14603

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19266

研究課題名（和文）近縁種交配ゲノムによる植物個体死の定義および制御系の理解

研究課題名（英文）Understanding the definition of plant mortality and its regulatory systems

研究代表者

伊藤 寿朗（Ito, Toshiro）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授

研究者番号：90517096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：一年草であるシロイヌナズナの茎頂において、時間軸に沿った形態観察およびトランスクリプトーム解析を行った。活性酸素種関連遺伝子の発現が茎頂幹細胞の加齢にともない変化し、プログラム細胞死関連遺伝子が誘導されることを見いだした。実際に活性酸素種である過酸化水素の量が茎頂において加齢に伴い上昇した。さらに過酸化水素の外的な塗布により幹細胞の決定因子の発現が抑制され、早期加齢が観察された。また、幹細胞が異常増殖する突然変異体においては、幹細胞の加齢と死のプロセスが遅れていた。これらのデータに基づいて、一年草の茎頂における活性酸素シグナルが茎頂幹細胞のプログラム細胞死を制御しているモデルを提案した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物にとっての「個体死」は、はっきりと定義されておらず、実際に個体死に至るシグナル因子の実態や分子機構は未解明のままである。これまでの植物細胞の死に関する研究は、病原性微生物や環境ストレスによって引き起こされる現象として主に解析が行われてきた。そのため植物の寿命に伴う個体死の研究は、今後の進展が望まれる挑戦的かつ新規性の高い研究テーマである。本研究において植物個体死を幹細胞のプログラム細胞死の制御機構として捉えた成果は、植物のみならず、動物同分野にもインパクトをもつと期待される。さらに植物個体死は農作物の収量に直接影響するものであり、食料の安定的供給にとっての社会的意義も深い。

研究成果の概要（英文）：Morphological observations and transcriptome analyses were performed in the stem apex during the senescence of the annual plant *Arabidopsis thaliana* plant. We found that the expression of reactive oxygen species (ROS)-related genes changes with aging in stem apex stem cells, and programmed cell death-related genes are induced. In fact, the amount of hydrogen peroxide, a reactive oxygen species, increased with aging in the stem apex. Furthermore, the external application of hydrogen peroxide suppressed the expression of a stem cell determinant gene, and premature aging was observed. In mutants with aberrant stem cell proliferation, the process of stem cell aging and death was delayed. Based on these data, we proposed a model in which ROS signaling at the stem apex regulates programmed cell death of stem apex stem cells in *Arabidopsis*.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：植物幹細胞 一年草 老化 個体死

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物は、動物と比べて強い幹細胞増殖能を持ち、環境ストレスに対して非常に強い回復力、再生能力を持つため、植物にとっての「個体死」は、はっきりと定義されていない。これまでの植物の寿命や死に関する研究は、植物に感染する病原性微生物や環境ストレスによって引き起こされる現象として解析が行われてきた。また、植物が開花結実形成後に分裂組織の増殖が止む過程については、近年オーキシンの関与が示唆されている (Ware et al. *Nature Plants* 6: 699, 2020)。一方、ドイツの G. Coupland のグループは多年草の *A. Alpina* において、腋芽分裂組織では MIR156 により発生段階が進まないように休眠状態を維持していると報告している (Hyun et al. *Science* 363: 409, 2019)。しかし、実際に老化に伴う植物個体死に至るシグナル因子の実態や個体死をもたらす分子機構は未解明のままである。

### 2. 研究の目的

本研究では、植物においてあいまいな「個体死」を定義し、さらにそこにある制御系を理解することを目的とする。多くの植物は、器官の枯死は季節ごとの開花、受精に伴って起こり、毎年決まった時期に地上部の一部が失われる。一年草では開花結実後に種子を除いた個体全体が枯死して個体死を迎える一方、多年草においては、地下部の根や地上部の腋芽分裂組織が維持されることで、同じ株から何年も枯れずに、続けて花を咲かせる。本提案では、植物が寿命に伴い「死ぬ仕組み」を明らかにすることで、個体死に至る制御系を解明し、植物の個体死そのものを再定義する。

### 3. 研究の方法

一年草であるシロイヌナズナの茎頂幹細胞の一生にわたる形態学的な実体顕微鏡による観察、走査型電子顕微鏡による細胞レベルでの観察、レポーター遺伝子によるマーカーの発現の時系列変化の解析、時間軸に沿ったシロイヌナズナ茎頂のトランスクリプトーム解析を行う。また、トランスクリプトーム解析によって同定された鍵因子の操作によって寿命の影響を解析する。

### 4. 研究成果

研究代表者らは、一年草であるモデル植物シロイヌナズナの茎の先端にある体作りの元となる分裂組織を時間軸に沿って解析することにより、加齢とともにサイズが小さくなり、やがて成長が止まることを記述した (Wang et al., 2020 *Front. Plant Sci.* doi: 10.3389/fpls.2020.600726)。分裂組織の幹細胞では、液胞が徐々に大きくなり、プログラム細胞死のマーカーである DNA 分解酵素やプロテアーゼの発現が上昇してきた。すなわち、個体死に向かうプロセスとは「自らの分解を抑制しない状態」といえる。さらに、一年草であるシロイヌナズナの茎頂が死ぬ機構解明を進めた。時間軸に沿ったシロイヌナズナ茎頂のトランスクリプトーム解析を行い、活性酸素種関連遺伝子の発現が茎頂幹細胞の加齢にともない変化し、プログラム細胞死関連遺伝子が誘導されることを見いだした。トランスクリプトームデータと呼応して、活性酸素種である ROS のうち、過酸化水素の量がシロイヌナズナの茎頂部において加齢に伴い上昇すること、同時にフリーラジカルである超酸化物質スーパーオキシドアニオン量は減少することを見いだした。さらに過酸化水素の外的な塗布により幹細胞の決定にかかわる遺伝子の発現が抑制されることを見いだした。また、幹細胞が異常増殖する突然変異体においては、幹細胞の加齢と死のプロセスが遅れることも見いだした。これらのデータに基づいて、一年草シロイヌナズナの茎頂における活性酸素シグナル系が幹細胞のプログラム細胞死を制御しているモデルを提案し、論文として発表した (Wang, Y., Shirakawa, M., and Ito, T. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 3864. doi.org/10.3390/ijms23073864, 2022)。さらに茎頂幹細胞の死について、*Plant & Cell Physiology* 誌においてにてこれまでの知見と今後の課題についてまとめた総説を発表した (10.1093/pcp/pcac1552023)。また、幹細胞の終結過程、終末分化、環境からのインプットなどについての論文を *PNAS* (118, e2102826118, doi:10.1073/pnas.2102826118, 2021), *NATURE COMMUNICATIONS* (12, 3480 doi: https://doi.org/10.1038/s41467-021-23766-w, 2021) 誌などに計 12 報の責任著者論文を報告した。

1. Wang, Y., Shirakawa, M., and **Ito T.** (2022) "Arrest, Senescence, and Death of Shoot Apical Stem Cells in *Arabidopsis thaliana*." *Plant and Cell Physiology*, 10.1093/pcp/pcac155
2. Maruoka T, Gan E-S, Otsuka N, Shirakawa M, **Ito T.** "Histone Demethylases JMJ30 and JMJ32 Modulate the Speed of Vernalization Through the Activation of FLOWERING LOCUS C in *Arabidopsis thaliana*," *Frontiers in Plant Science*, 13, 837831, 2022
3. Wang, Y., Shirakawa, M., and Ito, T. (2022) "Dynamic changes in reactive oxygen species in the shoot apex contribute to stem cell death in *Arabidopsis thaliana*." *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 3864. doi.org/10.3390/ijms23073864
4. Shirakawa M, Tanida M, and Ito T. (2022) "The cell differentiation of idioblast myrosin cells: similarities with vascular and guard cells," *Frontiers in Plant Science*, doi.org/10.3389/fpls.2021.829541
5. Shang E, Wang X, Li T, Guo F, **Ito T.**, Sun B. (2021) "Robust control of floral meristem determinacy by position-specific multifunctions of KNUCKLES," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118, e2102826118, doi:10.1073/pnas.2102826118
6. Yamaguchi N and **Ito T.** (2021) Expression profiling of H3K27me3 demethylase genes during plant development and in response to environmental stress in *Arabidopsis* *Plant Signaling & Behavior* doi.org/10.1080/15592324.2021.1950445
7. Yasuda S, Kobayashi R, **Ito T.**, Wada Y, Takayama S (2021) Homology-Based Interactions between Small RNAs and Their Targets Control Dominance Hierarchy of Male Determinant Alleles of Self-Incompatibility in *Arabidopsis lyrata*. *Inter J of Mol Sci* 22, 6990; doi.org/10.3390/ijms22136990
8. Yamaguchi N, Matsubara S, Yoshimizu K, Seki M, Hamada K, Kamitani M, Kurita Y, Inagaki S, Suzuki T, Gan E-S, To T, Kakutani T, Nagano AJ, Satake A, **Ito T.** (2021) H3K27me3 demethylases alter HSP22 and HSP17.6C expression in response to recurring heat in *Arabidopsis* *Nature Comm* 12, 3480 doi: https://doi.org/10.1038/s41467-021-23766-w
9. Yamaguchi, N., and **Ito, T.** (2021) JMJ Histone Demethylases Balance H3K27me3 and H3K4me3 Levels at the HSP21 Locus during Heat Acclimation in *Arabidopsis*. *Biomolecules* 11, 852.
10. Umeda M, Ikeuchi M, Ishikawa M, **Ito T.** Nishihama R, Kyozuka J, Torii K, Satake A, Goshima G, Sakakibara H. (2021) "Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth" *Plant J.* doi.org/10.1111/tpj.15184

11. Pelayo M A, Yamaguchi N, **Ito T.** (2021) “One factor, many systems: the floral homeotic protein AGAMOUS and its epigenetic regulatory mechanisms” *Current Opinion in Plant Biology* 61:1020009
  
12. Shirakawa M, Morisaki Y, Gan E-S, Sato A, **Ito T.** (2021) “Identification of a devernalization inducer by chemical screening approaches in *Arabidopsis thaliana*” *Front. Plant Sci.* 12: 634068, doi: 10.3389/fpls.2021.634068

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Wang Yukun, Shirakawa Makoto, Ito Toshiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Dynamic Changes in Reactive Oxygen Species in the Shoot Apex Contribute to Stem Cell Death in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3864 ~ 3864
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23073864	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Shirakawa Makoto, Tanida Mai, Ito Toshiro	4. 巻 12
2. 論文標題 The Cell Differentiation of Idioblast Myrosin Cells: Similarities With Vascular and Guard Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.829541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shang Erlei, Wang Xin, Li Tinghan, Guo Fengfei, Ito Toshiro, Sun Bo	4. 巻 118
2. 論文標題 Robust control of floral meristem determinacy by position-specific multifunctions of KNUCKLES	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2102826118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yamaguchi Nobutoshi, Ito Toshiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Expression profiling of H3K27me3 demethylase genes during plant development and in response to environmental stress in <i>Arabidopsis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15592324.2021.1950445	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Shinsuke, Kobayashi Risa, Ito Toshiro, Wada Yuko, Takayama Seiji	4. 巻 22
2. 論文標題 Homology-Based Interactions between Small RNAs and Their Targets Control Dominance Hierarchy of Male Determinant Alleles of Self-Incompatibility in Arabidopsis lyrata	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6990 ~ 6990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22136990	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Nobutoshi, Matsubara Satoshi, Yoshimizu Kaori, Seki Motohide, Hamada Kouta, Kamitani Mari, Kurita Yuko, Nomura Yasuyuki, Nagashima Kota, Inagaki Soichi, Suzuki Takamasa, Gan Eng-Seng, To Taiko, Kakutani Tetsuji, Nagano Atsushi J., Satake Akiko, Ito Toshiro	4. 巻 12
2. 論文標題 H3K27me3 demethylases alter HSP22 and HSP17.6C expression in response to recurring heat in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-23766-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Umeda Masaaki, Ikeuchi Momoko, Ishikawa Masaki, Ito Toshiro, Nishihama Ryuichi, Kyojuka Junko, Torii Keiko U., Satake Akiko, Goshima Gohta, Sakakibara Hitoshi	4. 巻 106
2. 論文標題 Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 326 ~ 335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.15184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Nobutoshi, Ito Toshiro	4. 巻 11
2. 論文標題 JMJ Histone Demethylases Balance H3K27me3 and H3K4me3 Levels at the HSP21 Locus during Heat Acclimation in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 852 ~ 852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11060852	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Pelayo Margaret Anne, Yamaguchi Nobutoshi, Ito Toshiro	4. 巻 61
2. 論文標題 One factor, many systems: the floral homeotic protein AGAMOUS and its epigenetic regulatory mechanisms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 102009 ~ 102009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2021.102009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maruoka Takashi, Gan Eng-Seng, Otsuka Nana, Shirakawa Makoto, Ito Toshiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Histone Demethylases JMJ30 and JMJ32 Modulate the Speed of Vernalization Through the Activation of FLOWERING LOCUS C in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.837831	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shirakawa Makoto, Morisaki Yukaho, Gan Eng-Seng, Sato Ayato, Ito Toshiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of a Devernalization Inducer by Chemical Screening Approaches in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.634068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wang Yukun, Shirakawa Makoto, Ito Toshiro	4. 巻 64
2. 論文標題 Arrest, Senescence and Death of Shoot Apical Stem Cells in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 284 ~ 290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 古田 優生, 山本 春香, 山口 暢俊, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 シロイヌナズナの花弁脱離を制御するジャスモン酸を介したエピゲノム制御機構
3. 学会等名 第63回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 海老原 諒子, 下保 瑤己, 山田 慧士朗, 山口 翔, 山口 京, 和田 七夕子, 高山 誠司, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 父方インプリント遺伝子欠損株における種子および胚乳発達の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古田 優生, 山口 暢俊, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 シロイヌナズナのNAC102転写因子による花弁脱離の制御機構の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福地 正弥, 白川 一, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 ケミカルバイオロジーによる植物の脱春化を促進する低分子化合物の探索とその構造
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 森下 史, 山口 暢俊, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 花メリステムにおけるSUPERMANのステージ特異的下流遺伝子の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷田 舞, 白川 一, 伊藤 寿朗
2. 発表標題 生体防御を担うミロシン細胞の分化に関わる新規転写因子WASABI MAKERの機能解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiro Ito
2. 発表標題 Chemical manipulation of epigenome towards flowering control
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 宮嶋 渚, 本郷達也, 伊藤寿朗, 山口暢俊	4. 発行年 2023年
2. 出版社 日本農芸化学会	5. 総ページ数 49
3. 書名 化学と生物	

〔産業財産権〕

〔その他〕

奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域 花発生分子遺伝学研究室  
<https://bsw3.naist.jp/ito/>  
挑戦的両性花原理  
<https://www.ige.tohoku.ac.jp/prg/flower/>  
国際会議 “Cold Spring Harbor Asia, Integrative Epigenetics in Plants” 開催, 2022年12月12日-15日, 淡路島夢舞台にてオーガナイザーとして企画・運営

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	和田 七夕子  (Wada Yuko)  (50379541)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教    (14603)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------