

植物の細胞死を制御する液胞プロセッシング系の解明

Vacuolar processing system responsible for programmed cell death in plants

西村 いくこ (Ikuko Hara-Nishimura)

京都大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要

プログラム細胞死は生物の基本的な生理プロセスであるが、植物の細胞死の機構は動物のものと大きく異なる。細胞壁に囲まれた植物細胞は、多様な分解酵素を含む液胞を利用して、細胞死を完結させる。本研究では、液胞に焦点を当てながら、また、動物の細胞死の機構と比較しつつ、植物が独自の細胞死のシステムを明らかにしようとするものである。

研究分野：生物学（植物分子細胞生物学）

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：液胞プロセッシング酵素、プログラム細胞死、カスパーゼ、珠皮、液胞

1. 研究開始当初の背景・動機

プログラム細胞死は基本的な生理プロセスであり、植物と動物に共通した分子機構が存在するとされてきた。しかし、細胞死の実行因子として知られる caspase 1 の活性を示す酵素の実体が液胞プロセッシング酵素 (VPE) であるという私達の発見 (Science, 2004) から、液胞を利用した植物独自の細胞死の機構の存在が浮上してきた。

2. 研究の目的

「植物細胞は、液胞を中心とした細胞内膜系を利用してプログラム細胞死を実行している」という視点から、この植物独自の細胞死の分子機構を明らかにすることが本研究の目的である。植物の細胞死を発生過程における細胞死と病原体感染による細胞死（罹病性細胞死と過敏感細胞死）に大別し、それぞれの細胞死における細胞内膜系の関与とその分子機構を探る。

3. 研究の方法

発生過程の細胞死（葉の老化と胚発生に伴う珠皮の退化）および病原体感染による細胞死（カビ毒接種による罹病性の細胞死および菌感染による過敏感細胞死）について解析を行う。解析方法としては、シロイヌナズナの VPE 遺伝子の欠損変異体を用いた逆遺伝学的方法と独自に開発・作製した液胞選別輸送不全変異体プールから過敏感細胞死を起こせない変異体を単離するという正遺伝学的手法を適用する。購入した電子顕微鏡と蛍光顕微鏡は細胞死の過程における細胞内膜系の微細構造の観察に用いる。

4. これまでの成果

本研究では、発生過程の細胞死と病原体感染後の細胞死（罹病性細胞死と過敏感細胞死）に大別して研究を行い、下記の成果を得た。

発生過程の細胞死：

シロイヌナズナの胚発生の初期過程で、内珠皮が液胞膜崩壊を伴う細胞死を起こすことと、この細胞死に δ VPE が関与していることを示した (Plant Cell, 2005)。この細胞死を制御する転写制御因子 (NARS1 と NARS2 と命名) を同定し、*nars1 nars2* 二重変異体では、内珠皮の細胞死が遅延のために胚発生が止まることを見出した (図1)。親組織 (珠皮) の因子が細胞死を通して、子の組織 (胚) の成長を制御しているという結果は、世代を超えた組織間コミュニケーションという観点からも大変興味深い。

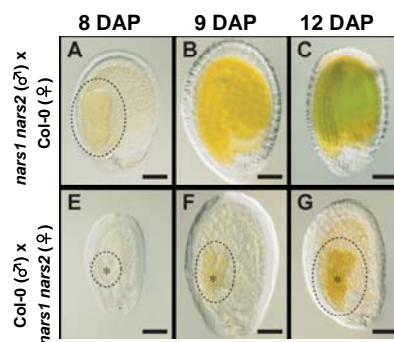


図1. 親組織 (胚珠) の転写因子 NARS1 と NARS2 は細胞死を通して、子の組織 (胚) の成長を促している。DAP, days after pollination.

シロイヌナズナ VPE null 変異体の解析から、液胞プロセッシング系が葉の老化に関与していることを示した (図 2). VPE null 変異体では、複数の液胞タンパク質の分解が遅れることから、VPE が選択的にタンパク質のターンオーバーを制御していることが示唆された。このことは、私たちが作製した VPE/AEP 欠損マウスの解析結果からも支持される (共同研究, Mol. Cell, 2008)。



図 2. 野生型シロイヌナズナ (左) と VPE null 変異体 (右) の 29 日目の植物体。VPE null 変異体では葉の老化が遅れる。

病原体感染による細胞死

VPE が、ウイルス感染による過敏感細胞死だけでなく、カビ毒による罹病性の細胞死にも関与していることが分かった (J. Biol. Chem., 2005)。この成果から、液胞プロセッシング系による液胞膜崩壊が植物の様々な細胞死の鍵となっているという視点が生まれた。

病原菌 *Pseudomonas syringae* の感染後に液胞膜が原形質膜と融合し、原形質膜と細胞壁との間隙部分が液胞内部と連続することを見出した (図 3)。このような現象はこれまでに報告例がない。この結果は液胞膜崩壊型とは異なるタイプの細胞死としても面白い。

過敏感細胞死に関与する液胞関連の因子を同定する目的で、私たちが独自に作製した「液胞タンパク質の選別輸送変異体プール」の中から、菌感染による過敏感細胞死に異常を示す変異体を複数単離した。この正遺伝学的なアプローチで新たな因子が浮上してくると期待している。

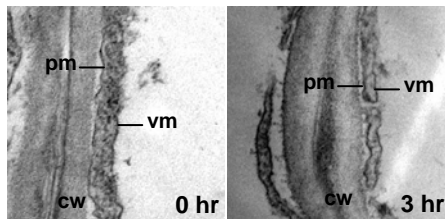


図 3. *Pseudomonas syringae* (avrRpm1) の感染による過敏感細胞死の過程の細胞内膜系の変化。菌感染直後 (0 hr, 左) と 3 時間目 (3 hr, 右) のシロイヌナズナ葉の電子顕微鏡写真。感染後に内膜系の大きな変化がおり、3 時間後には細胞膜 (pm) と液胞膜 (vm) の融合が見られるようになる。cw, 細胞壁。

5. これまでの進捗状況と今後の計画
上記の通り、発生過程の細胞死や病原体感染時の細胞死における液胞の関与について新たな知見が順調に得られている。一方、当初予想しなかった発見もあった。即ち、親世代の珠皮の細胞死が子世代の胚の成長に必須であるという発見と菌感染によって液胞膜と細胞膜が融合するという発見である。今後は、これらの新たな視点も取り入れつつ、研究を展開していく計画である。

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

Fuji, K., Shimada, T., Takahashi, H., Koumoto, Y., Utsumi, S., Nishizawa, K., Maruyama, N. and **Hara-Nishimura, I.** (2007).

Vacuolar-sorting mutants

(green-fluorescent seed) can be efficiently identified by secretion of vacuole-targeted GFP in their seeds. *Plant Cell*, 19, 597-609.

Tamura, K., Takahashi, H., Kunieda, T., Fuji, K., Shimada, T. and **Hara-Nishimura, I.**

(2007). Arabidopsis KAM2/GRV2 Is required for proper formation of endosomes involving vacuolar sorting and determination of embryo axis. *Plant Cell*, 19, 320-332.

Hatsugai, N., Nishimura, M. and

Hara-Nishimura, I. (2006). A cellular suicide strategy of plants: vacuole-mediated cell death. *Apoptosis*, 11, 905-911.

Kuroyanagi, M., Hatsugai, N., Nishimura, M. and **Hara-Nishimura, I.** (2006). Vacuolar processing enzyme, a key molecule in both pathogen-induced and phytotoxin-induced cell death in higher plants. *Mol. Plant Microbe Interaction*. 208-214.

Kuroyanagi, M., Yamada, K., Hatsugai, N., Kondo, M., Nishimura, M. and **Hara-Nishimura, I.** (2005). Vacuolar Processing enzyme is essential for mycotoxin-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.*, 280, 32914-32920.

Nakaune, S., Yamada, K., Kondo, M., Kato, T., Tabata, S., Nishimura, M. and **Hara-Nishimura, I.** (2005). A novel-type VPE, δ VPE, is involved in seed coat formation at the early stage of seed development. *Plant Cell*, 17, 876-887.

Hara-Nishimura, I., Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Nakaune, S. and Nishimura, M. (2005). Vacuolar processing enzyme: an executor of plant cell death. *Curr. Opin Plant Biol.*, 8, 404-408.

<http://smsb.bot.kyoto-u.ac.jp/index-j.html>

平成 18 年 4 月 文部科学大臣表彰

平成 18 年 5 月 中日文化賞

平成 15 年 3 月 日本植物生理学会論文賞