

氏名	片山寿人
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第491号
学位授与の日付	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 機能科学専攻
学位論文題目	クワ葉における表皮細胞の機能分化と多様性に関する研究 (主査)
審査委員	教授 杉村順夫 教授 遠藤泰久 教授 原田繁春

論文内容の要旨

クワ葉には、アルカロイド、 γ -アミノ酪酸、抗酸化フェノール物質などの生理活性物質に加えて、多量の未同定粘性物質とカルシウムが蓄積している。申請者はこの未同定粘性物質に着目し、第1章において、粘性物質の分離・同定と葉体内での局在性を明らかにし、その生理的役割を考察した。粘性物質はラムノース、グルクロン酸、ガラクチュロン酸からなる酸性ヘテロ多糖であり、これら3糖が(1,4)結合した主鎖構造を有し、側鎖として各糖のC3位にグルクロン酸、ガラクチュロン酸が結合していた。ウロン酸含量は70%に達し、その分子量は約500kであった。さらに、精製した粘性多糖に対する抗体を調製し、免疫組織化学的方法により、この多糖の局在性を調べた。その結果、ある特定の表皮細胞のみに粘性多糖が蓄積していた。その表皮細胞では、粘性多糖が細胞質と細胞壁の間に観察された。これら結果を基に、粘性多糖はゴルジ体で合成され、分泌小胞を介して細胞質外に放出・蓄積していると結論づけた。この粘性多糖がゲル化状態で表皮組織に存在することから、蒸散作用により変動する体内水分環境を調節していると示唆した。

また、申請者は葉体内でのカルシウム動態を明らかにするため、カルシウム蓄積細胞に着目した。第2章では、表皮組織に存在する巨細胞を微細構造学的に観察した。巨細胞では、炭酸カルシウム結晶を蓄積する特異な細胞壁構造 (cell wall sac)が形成されが、その形成因子について、細胞壁多糖の観点から明らかにした。細胞壁多糖成分であるキシログルカン、ホモガラクチュロナンに対するモノクローナル抗体を用いて、cell wall sacの形成と肥大化を調べた結果、キシログルカンはセルロースラメラから分岐した微纖維に検出された。一方、ホモガラクチュロナンはcell wall sacの肥大・成熟化に伴い消失した。これらの結果から、cell wall sacの肥大化は、ホモガラクチュロナンの酵素分解により細胞壁構造に緩みが生じたためであると考察した。加えて、第3章では、導管部を取り巻く周辺組織にカルシウム蓄積細胞を新たに見出し、特性X線分析、結晶の形態的特徴、酸に対する安定性から、蓄積したカルシウム結晶はシュウ酸カルシウムであることを明らかにした。この結晶は細胞内で結晶生長が起こり、細胞壁由来の構造 (cell wall sheathと命名)により封じ込められていた。免疫電顕により、cell wall sheathおよびゴルジ体からキシログルカンが検出されたことから、シュウ酸カルシウムの過度の結晶生長を抑制するために、新たな細胞壁合成が誘導されたと考察した。

これらの結果を基に、根から吸収されたCaイオンは、炭酸カルシウムおよびシュウ酸カルシウム結晶として不溶化することにより、過剰のCaイオンを排除していると考えられる。この観点から、SrイオンもCaイオンと同じアポプラス経路を通じて、炭酸ストロンチウム結晶として

蓄積されると想定した。Sr イオンを単独投与した培養液で栽培したクワ葉では、表皮細胞の cell wall sac にストロンチウム結晶が検出された。また、Sr イオンと Ca イオンを混合投与した場合、cell wall sac 内に結晶が観察され、ストロンチウムとカルシウムが検出された。Sr イオンと Ca イオンは非競合的に取り込まれ、両イオンが共存した状態で結晶化することが明らかになった。その蓄積量は、両元素とも葉乾燥重量当たり 3 %以上であり、cell wall sac の biomineralization 能力が極めて高いことを証明した。このことから、クワは重金属汚染土壌の浄化に貢献できる植物であることを示唆した。

本研究成果から、クワ表皮組織には、生理機能の異なる 2 種類の細胞—粘性多糖蓄積細胞と炭酸カルシウム蓄積細胞—が不規則に配置されていることを明らかにした。同一組織内で、機能の異なる細胞がモザイク状に発生する特異な分化制御機構が働いており、植物表皮細胞での機能発現研究の新しい側面について言及した。

論文審査の結果の要旨

クワ葉には多量の粘性物質が含まれているが、その物質同定および組織局在性についての報告はなかった。申請者の研究から、粘性物質がラムノース、グルクロン酸、ガラクチュロン酸からなるラムノグルクロノガラクチュロナンを主鎖構造とする酸性ヘテロ多糖類であると同定された。この多糖類はある特定の表皮細胞に蓄積していることを見出し、その細胞内では、当該多糖類がゴルジ体で合成された後、分泌小胞を介して細胞質外に放出され、多量に蓄積していることを明らかにした。水分保持能力を有する粘性多糖蓄積細胞が外界と接する表皮組織層に存在することから、蒸散作用により変動する葉体内的水分調節に関与していると考察した。

また、クワ葉のカルシウム含量が極めて高いことに着目し、葉体内でのカルシウム動態について検討した。表皮細胞層にある巨細胞では、cell wall sac が形成され、その構造体に炭酸カルシウムが蓄積することを明らかにした。この cell wall sac の形成と肥大化には、細胞壁多糖成分であるホモガラクチュロナンの酵素的分解が重要な要因であることを明確に示した。さらに、導管部に近接する葉肉細胞にカルシウム結晶を蓄積する細胞を見出し、その結晶がシュウ酸カルシウムであると同定した。シュウ酸カルシウム結晶は細胞内部で形成され、その結晶塊は細胞壁由来の構造体(cell wall sheath)で被覆されていた。cell wall sheath は新たな細胞壁合成により形成されたものであり、過度の結晶生長を抑制するための細胞防御反応であると帰結した。これらの結果を基に、根から吸収された Ca イオンは、別々の細胞群により炭酸カルシウムとシュウ酸カルシウムに不溶化される「カルシウム集積ネットワーク」モデルを導いた。このネットワークの作動により、葉体内的 Ca イオン濃度が調節されていると考察した。さらに、Sr イオンを含む培養液で水耕栽培したとき、Sr イオンは Ca イオンと同じように cell wall sac に転流し、炭酸ストロンチウム結晶が形成された。その蓄積量は、カルシウムと同じレベルであり、乾燥重量当たり 3 %以上に達した。このことから、クワが持つ biomineralization 機能を利用して、重金属汚染土壌を浄化する可能性を示唆した。

細胞生物学、植物栄養学および糖質化学的アプローチを組み合わせた多面的研究を基に、生理機能の異なる細胞がランダムに表皮組織に存在することを実証した新しい知見である。

(公表論文)

- 1) Katayama H, Fujibayashi Y, Nagaoka S, Sugimura Y: Cell wall sheath surrounding calcium oxalate crystals in mulberry idioblasts. *Protoplasma* 231: 245-248 (2007)
- 2) Katayama H, Takano R, Sugimura Y: Localization of mucilaginous polysaccharides in mulberry leaves. *Protoplasma* (in press)
- 3) Katayama H, Fujibayashi Y, Nagaoka S, Sugimura Y: Ultrastructural and immunochemical features of the cell wall

sac formed in mulberry idioblasts. *J. Plant Research* (in press)