

シストセンチュウの植物細胞リモデリング機構解明を目指して

大津 美奈^{1,2}

¹奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域

²科学技術振興機構 さきがけ

〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

Toward to understand how cyst nematodes remodel host plant cells

Mina Ohtsu^{1,2}

¹Division of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology

²JST, Sakigake

Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

Keywords: Cell wall, cyst nematode, plant-microbe interaction,
plant parasitic nematode, 3D imaging

DOI: 10.24480/bsj-review.14a5.00240

1. はじめに

自身が芽吹いた場所から移動することのない植物は、外部環境からの様々な刺激を柔軟に受け入れ、時には反抗しながら生活している。中でも、微生物による刺激は植物に大きな変化をもたらす。宿主植物に組織変化が起こす微生物として、植物の様々な部位に『こぶ』の形成を誘導する根頭がんしゅ病の原因となる細菌、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) が良く知られる (De Cleene and De Ley 1976)。菌類だけでなく、動物が植物に顕著な形態変化を引き起こすことがある。その一例として、植物寄生性線虫のシストセンチュウ (*Globodera* and *Heterodera* spp.) が誘導する『シンシチウム』が挙げられる。シンシチウムは、シストセンチュウが感染した宿主植物の細胞同士が細胞融合を繰り返すことによって形成される多核の巨大な細胞である (Golinowski et al. 1996)。この細胞融合という現象は、多細胞生物において非常に重要な役割を持つ。動物では、卵子と精子が融合する受精の他に、骨格筋や胎盤の形成など様々な現象に細胞融合が関与していることが知られている (Aguilar et al. 2013; Rochlin et al. 2010)。動物細胞において、細胞融合は触れ合っている膜間での融合因子のやりとりを介して細胞融合が起こる。しかし、一つ一つの細胞が分厚い細胞壁で覆われている植物細胞では、細胞膜同士が接触しないため、細胞融合が起こることはほとんどない。これまでに報告のある植物における細胞融合は、重複受精の過程とシストセンチュウの引き起こすシンシチウム形成過程のみであり非常に珍しい現象である (Maruyama et al. 2016)。

これまでの研究では、シストセンチュウは細胞融合を起こすために、細胞融合の障壁となる宿主植物の細胞壁を無作為に壊していると考えられていた。しかし、筆者らによるシンシチウムの 3D ホールマウントイメージング (以下、3D イメージング) から、細胞融合の繰り返

返しによって形成されるシンシチウムは、多数の柱状の構造を持つユニークな細胞壁を形成していることがわかった (Ohtsu et al. 2017)。この発見から、シストセンチュウは、宿主植物の細胞内構造を無作為に「破壊」するのではなく、秩序立って「再構築」することによって感染細胞を形成することが明らかとなった。本稿では、シストセンチュウが細胞融合によって宿主の組織を変化させて作り出す巨大な感染細胞、シンシチウムの構造や成り立ち、特徴についてクラシカルな切片観察と近年の 3D イメージングの知見を合わせて抱括的に考察したい。

2. 多核な巨大細胞シンシチウム

シストセンチュウの幼虫は、宿主である植物の根端付近から根の内部に侵入し、植物の細胞と細胞の隙間を通りながら維管束付近まで移動する。そして、シンシチウムの起点となる一つの細胞 (ISC: Initial syncytium cell) を選び、頭部にある注射針のような Stylet を差し込む。Stylet は口のような役割を持っており、差し込んだ Stylet からエフェクターと呼ばれる病原性タンパク質を分泌する。そして、植物細胞の形態や二次代謝を変化させることで、Stylet を差し込んだ細胞を感染細胞、シンシチウムへと作り変える (大津 2019; 図 1)。ISC を選択すると、24 時間以内に宿主細胞の細胞質の体積が増加し、それと同時に液胞の体積が減少する。そして、細胞壁の部分的な分解や、細胞膜の融合が引き起こされ、隣接する細胞がシンシチウムに取り込まれる (Golinowski et al. 1996)。

筆者らの行ったダイズシストセンチュウ (*Heterodera glycines*) のシンシチウムの 3D イメージングでも同様に、感染から 48 時間後 (ISC 決定から 24 時間前後) には、すでに細胞壁の多数の穴や、シンシチウム形成の特徴の一つである核の肥大化が観察されている (図 2a)。また、3D 構築した感染 14 日後のシンシチウムの画像から、皮層細胞に形成された感染後期のシンシチウムは、多数の柱状の構造を持つ、パルテノン神殿様のユニークな細胞壁を形成していることが明らかになった (図 2b)。シンシチウムは、寄主植物の多数の細胞 (最大で 300 細胞ほど) が融合したものであり、肥大化した核やプラスチドに溜まったデンプン粒、細胞質の増加など (Hofmann and Grundler FMW 2006; Ohtsu et al. 2017)、通常の植物細胞とは大きく異なる特徴を持つ。また、シンシチウムでは

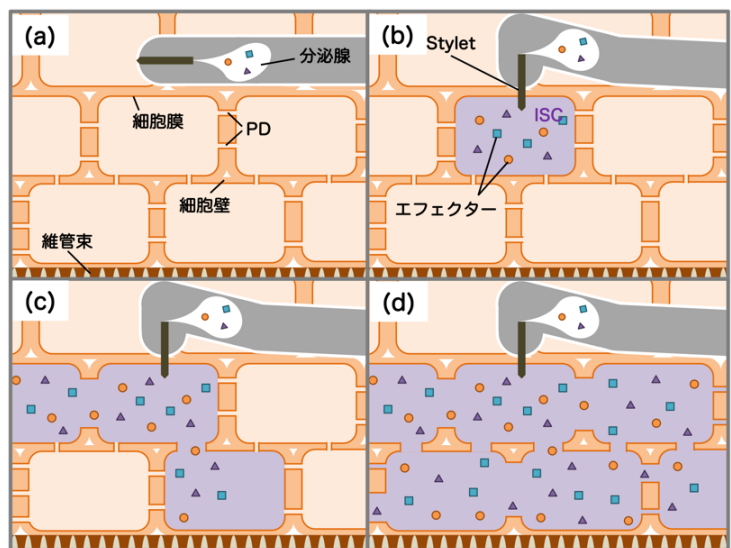


図 1. シストセンチュウ感染のモデル

(a) 根端から侵入したシストセンチュウは、宿主根の維管束付近まで侵入する。(b) シンシチウムを誘導する細胞 (ISC; Initial syncytium cell) を選び、その細胞に Stylet を突き刺し、エフェクターを分泌する。(c) シストセンチュウが分泌する細胞壁分解酵素などのエフェクターにより、細胞壁が部分的に分解され、隣り合う細胞同士が細胞融合を起こす。(d) 細胞融合を繰り返すことで、多核の巨大なシンシチウムが宿主組織内に形成される。PD; プラズモデスマータ

シヨ糖輸送体や、デンプン代謝関連遺伝子の発現が上昇していることが知られている

(Juergensen et al. 2003; Hofmann and Grudler FMW 2006)。シンシチウムはシストセンチュウの唯一の栄養源であるため、上記のように、形態的にも性質的にも、シストセンチュウの成長に必要な養分を貯蔵するために最適な組織へと変化しているのである。

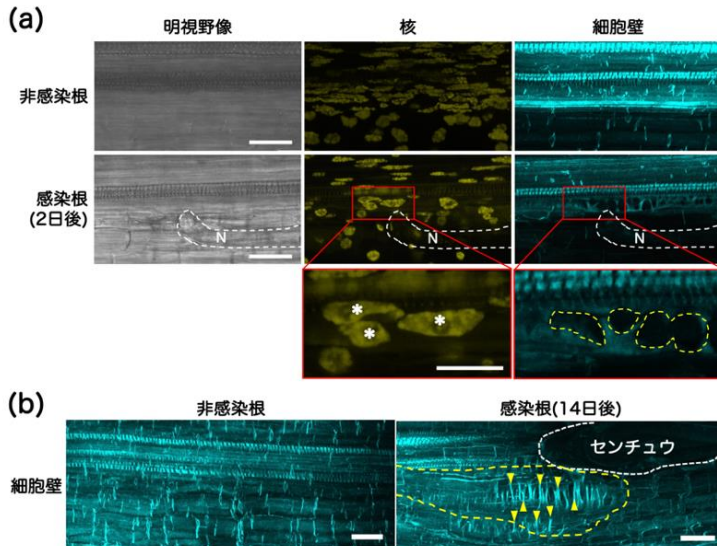


図 2. ダイズシストセンチュウによって誘導される細胞構造変化

(a), (b) 透明化したダイズシストセンチュウ接種 2 日および 14 日後の感染根および非感染根の核を SYTOX Orange, 細胞壁を Fluorescent Brightener 28 でラベルし、二光子顕微鏡を用いて観察した。白い点線はシストセンチュウを示している。アスタリスク(*)は肥大化した核, 黄色の点線は細胞壁上の穴を示している。スケールバーは, 50 μm 。(Ohtsu et al. 2017 より改変して抜粋)

3. シンシチウムは形成位置によってその形態が異なる

シストセンチュウは、根の様々な細胞を起点にシンシチウムを形成することが知られている。起点となる細胞はシストセンチュウ種によって様々であり、ダイズシストセンチュウは、宿主植物の根の皮層細胞の他に、維管束内部の柔細胞を起点としてシンシチウムを形成することが知られている (Endo 1971; 図 3a)。筆者らが確立した 3D イメージング法を使用して、根の内部におけるシンシチウムの形成位置とシンシチウムの形態に関係があるかどうか調べたところ、皮層細胞を起点に形成されたシンシチウムの細胞壁では、多数の穴と細い柱状のバルテノン神殿様の細胞壁がシンシチウムの全ての細胞において観察された (図 2b)。さらに、シンシチウムの細胞壁を様々な角度から観察したところ、シストセンチュウによって誘導される柱状の細胞壁は、ある一定の方向にのみ観察されることがわかった (図 3b; Ohtsu et al. 2017)。一方で、維管束内部に形成されたシンシチウムの細胞壁では、多数の穴は観察されるが、皮層細胞を起点として形成されたシンシチウムで観察された細い柱状の細胞壁はほとんど見られず、板状に広がった細胞壁がみられた (図 3c)。これらの知見から、シンシチウムの誘導される位置によって、シンシチウムの細胞壁の構造パターンに違いがあることがわかった。また、細胞壁のパターンだけでなく、シンシチウム形成位置によって、根の内部でのシンシチウムの広がり方にも違いが見られる。皮層細胞を起点として形成されたシンシチウムは、一部分のみが木部に接している一方で、柔細胞を起点に形成されたシンシチウムは維管束に沿って広がっており、どの部分も木部に接していた。シストセンチュウは、栄養を効率よく獲得できるように、シンシチウムを維管束に向かって拡大させることが報告されている (Jones 1982)。また、メスのシストセンチュウは卵を生産するため、オスと比べてより多くの栄養を取り込む必要があり、1日にシンシチウムの質量の 4 倍に相当する

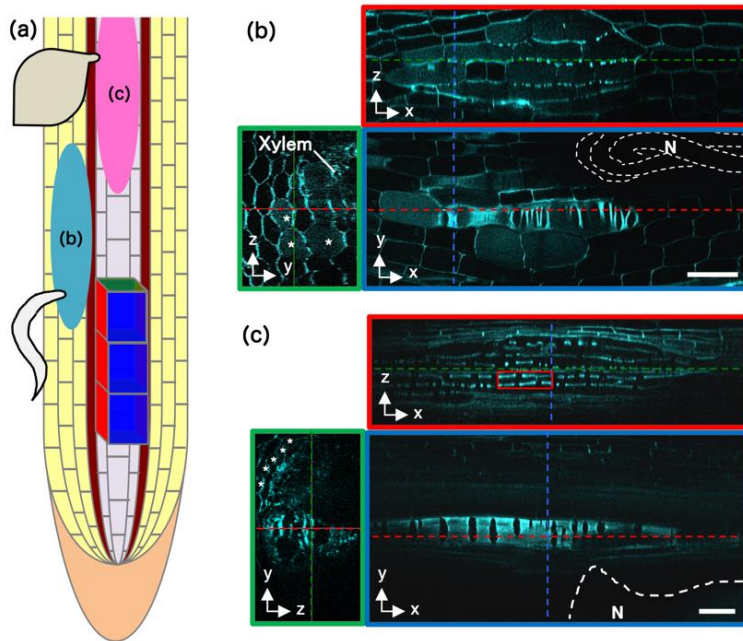


図 3. 皮層および維管束内部に形成されたシンシチウム細胞壁の 3D イメージング

(a) ダイズシストセンチュウの誘導するシンシチウムの位置および細胞壁の方向 (x-y 平面; 青, x-z 平面; 赤, y-z 平面; 緑) を示す模式図。皮層細胞 (b) および維管束内部 (c) に形成されたシンシチウムの細胞壁 z スタック画像の x-y, x-z および y-z 平面の投影像。白い点線 (N) はシンシチウムを形成するシストセンチュウ, アスタリスク (*) は皮層細胞を示す。スケールバー (b) および (c) は 50 μm 。

量のシンシチウム内容物を体内に取り込むと考えられている (Sijmons et al. 1991)。テンサイシストセンチュウ (*Heterodera schachtii*) では、オスが内鞘細胞を ISC として選び、シンシチウムを誘導する一方で、メスは形成層または前形成層の細胞を ISC に選び、維管束に沿ってシンシチウムを誘導すると報告されている (Golinowski et al. 1996; Sobczak et al. 1997)。また、近年、ムギシストセンチュウ (*Heterodera avenae*) によって誘導されるシンシチウムの形態と広がり方が、抵抗性品種に寄生した場合と罹病性に寄生した場合には異なることが明らかになっている。罹病性品種のシンシチウムは、後生木部に接するように形成されており、複雑な網目状構造の細胞壁を持つ一方で、抵抗性品種に形成された場合は、シンシチウムが原生木部に接することはない (Levin et al. 2021)。以上のことから、シンシチウムの形態と宿主植物内部での広がり方は、抵抗性や罹病性、または雌雄の決定といったシストセンチュウの感染や形態形成に非常に密接に関与することが示唆される。

4. シンシチウムは植物の様々な細胞の特徴を併せ持つ

シンシチウムに似た特徴的な細胞壁パターンを持つ植物細胞として木部の導管細胞や仮導管といった管状要素の細胞壁が挙げられるが、管状要素の網目状やリング状の独特なパターンは表層微小管によって決定されている (Paredez et al. 2006)。これまでに、シストセンチュウ非感染根と比較して、シンシチウムの内部では α -tubulin と β -tubulin 遺伝子、シンシチウムの周辺では γ -tubulin 遺伝子が高発現していることが明らかになっている。また、微小管の重合阻害剤であるタキソール処理によって、シンシチウムの形成が抑制されることがわかっており (de Almeida Engler et al. 2004)、シンシチウムの特殊な細胞壁の形成には微小管のリアレンジメントが関与することが示唆される。さらに、ムギシストセンチュウの形成するシンシチウムの 3D イメージングから、シンシチウムに隣接する後生木部は、通常の伸長方向である長軸方向ではなく放射状に細胞が拡張していること、そしてそれらの細胞はリグニン化が遅延することが明らかになっている (Levin et al. 2020)。これらの知見から、シストセンチュウは、シンシチウムの細胞壁形成に管状要素の細胞壁パターン制御メカニズムを利用するだ

けでなく、シンシチウムに接する宿主植物の木部の発達も同時に制御していることが示唆された。

また、シンシチウムにみられる一次細胞壁の内側突出や、原形質の増加、核の肥大化といった特徴は、篩部の伴細胞など植物の輸送細胞の特徴とも類似しているといわれている (Rodríguez et al. 2014)。さらに、シロイヌナズナにおいて篩部で高発現するショ糖トランスポーターをコードする *SUC2* 遺伝子の発現量が、テンサイシストセンチュウの誘導するシンシチウムで非常に高いことも報告されており (Juergensen et al. 2003)、シストセンチュウがシンシチウムの形成の際に、植物の持つ篩部の形態形成メカニズムも利用している可能性が示唆された。これらのことをふまえると、シンシチウムは非常に緻密なコントロールによって、植物の木部と篩部の両方の形態的・機能的な特徴を併せ持つユニークなキメラ組織であることが示唆される。

5. シンシチウムの細胞壁は緻密な制御によって再構築されている

これまでの報告から、シストセンチュウは *Stylet* を介して、細胞壁を分解する酵素を植物体内に送り込むことが明らかになっている (Bohlmann and Sobczak 2014)。さらに、宿主植物が持つ細胞壁分解酵素等の遺伝子発現もシストセンチュウの感染によって上昇することから、シストセンチュウと宿主植物、両者の分泌する細胞壁分解酵素の働きによって寄主植物も細胞壁が分解されることが知られている (Bohlmann and Sobczak 2014)。一方で、興味深いことに、シストセンチュウの誘導する特徴的な細胞壁のセルロース含有量は通常の細胞壁よりも増加している (図 4; Ohtsu et al. 2017)。また、シンシチウムの細胞壁から通常の一次細胞壁には含まれていないメチル化ペクチン-ホモガラクトンやアラビナン、アラビノガラクトタンタンパク質が検出されることも報告されており (Davies et al. 2012; Zhang et al. 2017)、シンシチウムにおける柱状細胞壁の形成過程では細胞壁成分の分解だけでなく、新たな細胞壁成分の合成が行われていることが示唆される。植物では、細胞壁は体を支持するために重要な役割を持つ。

細胞融合を繰り返したシンシチウムは、栄養を溜め込んで肥大化するが、そのためには細胞壁をなくす(緩める)ことが必要である。しかし、シンシチウム内部では膨圧が 10,000 hPa にも達することが示されており

(Böckenhoff and Grundler 1994)、シンシチウムの細胞壁はこ

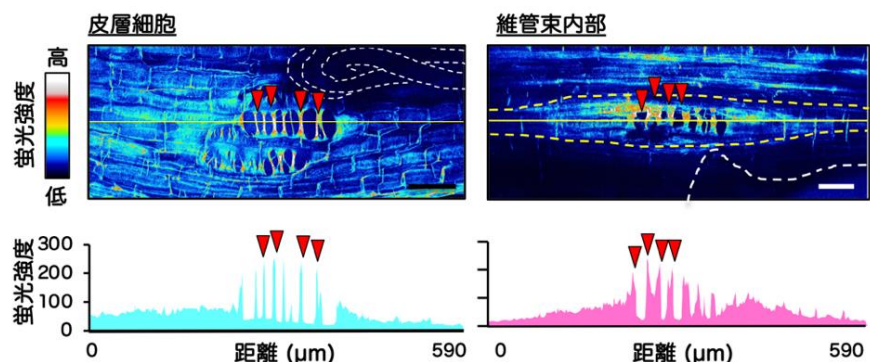


図 4. 異なる組織に形成されたシンシチウムの特殊な細胞壁の蛍光強度

カラースケールは、蛍光強度を示している。下のグラフは、Fluorescent Brightener 28 染色された細胞壁の蛍光強度を画像解析ソフトウェアによって数値化したもの。赤色の矢印は、シンシチウムに見られる特殊な細胞壁を、黄色の矢印は正常な細胞壁を示している。白い点線はダイズシストセンチュウを示している。スケールバーは、50 μm 。

の圧力に耐える強度が必要となる。細胞壁に無作為に大きな穴を無数に開けてしまうと、肥大化した際に細胞の形を保つのが困難になると考えられる。そこで、シストセンチュウは、パルテノン神殿の支柱のように、柱状に細胞壁を残し、それらを新たに合成した細胞壁成分でコーティングすることで強化し、肥大化したシンシチウムの形態を保持していると考えられる。

6. 展望

1990年台に盛んに行われていた電子顕微鏡を用いた切片観察と、近年確立された植物専用の透明化試薬を用いた3Dイメージングによって、シストセンチュウが形成するシンシチウムの形態や詳細な内部構造についての全容が明らかになりつつある。また、ダイズシストセンチュウ (*H. glycines*)、ジャガイモシストセンチュウ (*Globodera rostochiensis*)、テンサイシストセンチュウ (*H. schachtii*) といった主要なシストセンチュウ種の全ゲノムがここ数年で解読され (Masonbrink et al. 2021; Van Steenbrugge et al. 2021; Siddique et al. 2022)、シストセンチュウに関する研究はますます加速することが予想される。ゲノム情報を利用した今後の研究によって、シンシチウムの伸展方向をどのように定めているのか、複雑な細胞壁構造を生み出しているのかなど、これまで謎に包まれていたシストセンチュウが誘導するシンシチウムの形成メカニズムの全容が明らかになるだろう。そして、シストセンチュウによる植物細胞のリモデリング機構が明らかになれば、植物の発達において見落とされてきた知られざる細胞融合現象の発見につながることを期待される。

引用文献

- Aguilar PS, Baylies MK, Fleissner A, Helming L, Inoue N, Podbilewicz B, Wang H, Wong M (2013) Genetic basis of cell-cell fusion mechanisms. *Trends Genet.* 29: 427–437. doi: 10.1016/j.tig.2013.01.011.
- Bohlmann H, Sobczak M (2014) The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes. *Front. Plant Sci.* 5: 89. doi: 10.3389/fpls.2014.00089.
- Böckenhoff A, Grundler FMW (1994) Studies on the nutrient uptake by the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* by in situ microinjection of fluorescent probes into the feeding structures in *Arabidopsis thaliana*. *Parasitology* 109: 249–254. doi: 10.1017/S003118200007637X.
- Davies LJ, Lilley CJ, Knox PJ, Urwin PE (2012) Syncytia formed by adult female *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis thaliana* roots have a distinct cell wall molecular architecture. *New Phytol.* 196: 238–246. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04238.x.
- de Almeida Engler J, Van Poucke K, Karimi M, De Groodt R, Gheysen G, Engler G, Gheysen G (2004) Dynamic cytoskeleton rearrangements in giant cells and syncytia of nematode-infected roots. *Plant J.* 38:12-26. doi: 10.1111/j.1365-313X.2004.02019.x.
- De Cleene M, De Ley J (1976) The host range of crown gall. *Bot. Rev.* 42: 389–466
- Endo BY (1971) Synthesis of nucleic acids at infection sites of soybean roots parasitized by *Heterodera glycines*. *Phytopathology* 61: 395–399.

- Golinowski W, Grundler FMW, Sobczak M (1996) Changes in the structure of *Arabidopsis thaliana* during female development of the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *Protoplasma* 194: 103–116. doi: 10.1007/BF01273172.
- Hofmann J, Grundler FMW (2006) Females and males of root-parasitic cyst nematodes induce different symplasmic connections between their syncytial feeding cells and the phloem in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. Biochem.* 44:430–433 doi: 10.1016/j.plaphy.2006.06.006.
- Jones MGK (1982) Host cell responses to endoparasitic nematode attack: Structure and function of giant cells and syncytia. *Ann. Appl. Biol.* 97: 353–372
- Juergensen K, Scholz-Starke J, Sauer N, Hess P, van Bel AJ, Grundler FMW (2003) The companion cell-specific *Arabidopsis* disaccharide carrier *AtSUC2* is expressed in nematode-induced syncytia. *Plant Physiol.* 131: 61–69. doi: 10.1104/pp.008037.
- Levin KA, Tucker MR, Bird DM, Mather DE (2020) Infection by cyst nematodes induces rapid remodelling of developing xylem vessels in wheat roots. *Sci. Rep.* 10: 9025. doi: 10.1038/s41598-020-66080-z.
- Levin KA, Tucker MR, Strock CF, Lynch JP, Mather DE (2021) Three-dimensional imaging reveals that positions of cyst nematode feeding sites relative to xylem vessels differ between susceptible and resistant wheat. *Plant Cell Rep.* 40: 393–403. doi: 10.1007/s00299-020-02641-w.
- Masonbrink RE, Maier TR, Hudson M, Severin A, Baum T (2021) A chromosomal assembly of the soybean cyst nematode genome. *Mol Ecol Resour.* 21: 2407–2422. doi: 10.1111/1755-0998.13432.
- Maruyama D, Ohtsu M, Higashiyama T (2016) Cell fusion and nuclear fusion in plants. *Semin. Cell Dev. Biol.* 60:127–135. doi: 10.1016/j.semcd.2016.07.024.
- Ohtsu M, Sato Y, Kurihara D, Suzaki T, Kawaguchi M, Maruyama D, Higashiyama T (2017) Spatiotemporal deep-imaging of syncytium induced by the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. *Protoplasma* 254: 2107–2115. doi: 10.1007/s00709-017-1105-0.
- 大津 美奈 (2019) 線虫の感染戦略に迫る新たな植物の深部イメージング アグリバイオ 3 (2)
- Paredes AR, Somerville CR, Ehrhardt DW (2006) Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science* 312:1491–1495. doi: 10.1126/science.1126551.
- Rochlin K, Yu S, Roy S, Baylies MK (2010) Myoblast fusion: when it takes more to make one. *Dev. Biol.* 341: 66–83 doi: 10.1016/j.ydbio.2009.10.024.
- Rodiuc N, Vieira P, Banora MY, de Almeida Engler J (2014) On the track of transfer cell formation by specialized plant-parasitic nematodes. *Front. Plant Sci.* 5: 160. doi: 10.3389/fpls.2014.00160.
- Siddique S, Radakovic ZS, Hiltl C, Pellegrin C, Baum TJ, Beasley H, Bent AF, Chitambo O, Chopra D, Danchin EGJ et al. (2022) The genome and lifestage-specific transcriptomes of a plant-parasitic nematode and its host reveal susceptibility genes involved in trans-kingdom synthesis of vitamin B5. *Nat. Commun.* 13: 6190. doi: 10.1038/s41467-022-33769-w.
- Sijmons PC, Grundler FMW, Vonmende N, Burrows PR, Wyss U (1991) *Arabidopsis thaliana* as a new model host for plant-parasitic nematodes. *Plant J.* 1: 245–254. doi: 10.1111/j.1365-313X.1991.00245.x

- Sobczak M, Golinowski W, Grundler FMW (1997) Changes in the structure of *Arabidopsis thaliana* roots induced during development of males of the plant parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *European Journal of Plant Pathology* 103: 113–124.
- van Steenbrugge JJM, van den Elsen S, Holterman M, Sterken MG, Thorpe P, Govere A, Smant G, Helder J (2021) Comparative genomics of two inbred lines of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* reveals disparate effector family-specific diversification patterns. *BMC Genomics*. 22: 611. doi: 10.1186/s12864-021-07914-6.
- Zhang L, Lilley CJ, Imren M, Knox JP, Urwin PE (2017) The Complex Cell Wall Composition of Syncytia Induced by Plant Parasitic Cyst Nematodes Reflects Both Function and Host Plant. *Front. Plant Sci.* 21:1087. doi: 10.3389/fpls.2017.01087.