

コケ植物におけるニッチ戦略のための細胞分化 -銅苔における無性芽の分化-

野村 俊尚¹, 馳澤 盛一郎², 榊原 均^{1,3}

¹理化学研究所環境資源科学研究センター

〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22

東研究棟 E-714

²東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻

〒277-8562 千葉県柏市柏の葉5-1-5

東京大学柏キャンパス生命棟701

³名古屋大学大学院生命農学研究科

〒464-8601 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院生命農学研究科生物化学研究室

Toshihisa Nomura¹, Seiichiro Hasezawa², Hitoshi Sakakibara^{1,3}

Cell differentiation for niche strategy in bryophytes

-Gemma differentiation in copper mosses-

Keyword: bryophytes, copper moss, gemma, niche, *Scopelophila cataractae*

¹RIKEN Center for Sustainable Resource Science, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi,
Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

²Department of Integrated Biosciences, Graduate School of Frontier Sciences,
The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8562, Japan

³Department of Biological Mechanisms and Functions, Graduate School of
Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furo, Chikusa, Nagoya, 464-8601,
Japan

1. はじめに

生物は、各々の特性に適した部分的な環境、生態的地位（ニッチ）を有し、そこで生存するために、栄養源、行動、細胞分化や形態、代謝系、環境ストレス耐性などを巧みに変化させ、各環境に適応している。この生物学で用いる用語とは少し異なる意味で、本稿のタイトルには、ニッチ戦略という言葉を使用させて頂いた。ニッチ戦略とは、経営戦略の一つである。ここでのニッチという言葉の意味は、例えば“ニッチな業種”と言うように“特殊な”という意味合いで使われる。即ち、ニッチ戦略とは、中小企業などが独自の技術や知識などを武器に、大企業が手を出さない分野（いわゆるすきま産業）の業種に独占的展開を図るといった経営戦略のことである。これと類似した生き残り戦略をとる種は、生態学ではスペシャリストと呼ばれる。スペシャリストは、様々な生物種内においてみられるが、陸上植物においてコケ植物では、特殊な生育地を選択するタイプのスペシャリストが目立つ印象がある。例えば、生きた葉の上に着生するカビゴケ、道路脇などに生育するギンゴケやホソウリゴケ、

鉾山など銅や鉄が豊富に存在する環境に生育するホンモンジゴケやイワマセンボンゴケ、洞窟など低照度環境を好むヒカリゴケといった種が挙げられる。このようなコケ植物たちは、何かしらの工夫を凝らして、特殊環境を見つけ、定着し、適応していると推測される。残念ながら多く場合、その仕組みは分かっていないが、細胞分化が生態的地位の獲得に關与する例を、ヒカリゴケ *Schistostega pennata* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr において見ることができる。

ヒカリゴケは、洞窟や岩間など低照度環境を生態的地位とする原始的な蘚類の一種である。この種は、低照度環境に適応するために、レンズ状細胞という特殊な細胞を、蘚類の発達初期にみられる糸状の組織である原糸体に分化させる。レンズ状細胞は、光源に対して方向性のある形状をした細胞で、その名の通りレンズの役割で弱い光を集光し、葉緑体に集める働きを持つ (図1B)。このとき、光合成に利用されない緑色の光は再帰的に反射するため緑色に光って見えてしまう (図1A)。

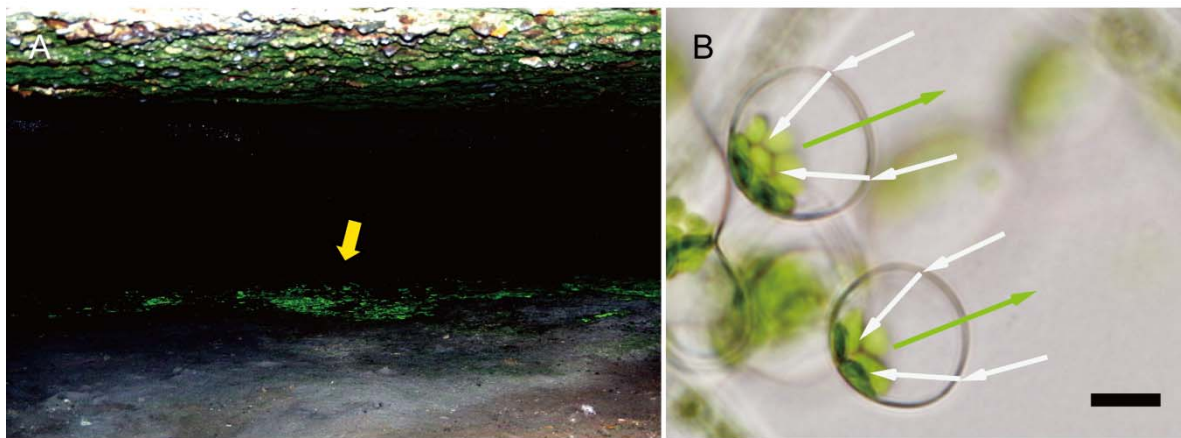


図 1. ヒカリゴケにみられる低照度環境に適応するための細胞分化

A. 暗闇で光って見えるヒカリゴケ (黄矢印, 長野県岩村田の自生地にて撮影)

B. ヒカリゴケのレンズ状細胞, (白矢印: 入射光, 緑矢印: 反射光) スケールバーは, 10 μm

一方、我々が研究材料としているホンモンジゴケ *Scopelophila cataractae* (Mitt.) Broth. は、他の植物種の生育が困難な高濃度の銅が存在する環境のみを生態的地位とする。本種がどのように、そのような場所を見出し、定着するのかは不明であったが、我々は、そこにも細胞分化が關与していることを見出している。本稿ではこれらについて紹介すると共に、今後の展望について述べたい。

2. 銅が豊富な環境を生態的地位とするホンモンジゴケ

ホンモンジゴケは、神社仏閣における銅葺き屋根の下や銅鉾山周辺など、高濃度の銅を含む環境を生育地とする蘚類に属するコケ植物である (Satake et al. 1988)。本種は、世界中の銅が豊富な環境にみられるが (Show 1989)、日本においては、東京の池上本門寺で初めて確認されたため、この和名が付けられている (Sakurai 1934, 図2A)。

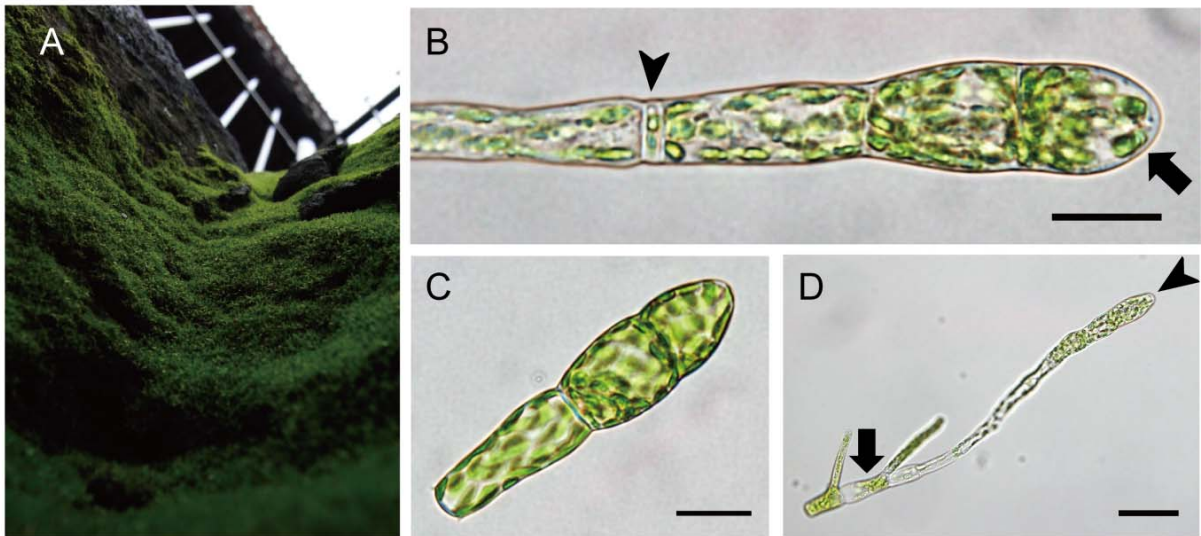


図2. ホンモンジゴケについて

- A. 池上本門寺五重塔下のホンモンジゴケ
 B. ホンモンジゴケの原糸体先端部に形成された無性芽, 矢印: 無性芽, 矢尻: 脱離細胞, スケールバーは, 20 μm
 C. 切り離された無性芽, スケールバーは, 20 μm
 D. 無性芽の発芽, 矢印: 発芽した無性芽, 矢尻: 新たに形成されている無性芽, スケールバーは, 50 μm

このような重金属汚染環境を生態的地位とする植物種は, **Metallophytes** と呼ばれ, 金属の豊富な環境にのみ生育する **Obligate metallophytes** と, 金属が豊富でない環境でも生育が見られる **Facultative metallophytes** とに区別される。コケ植物の中には, 特に銅の豊富な環境を好むいくつかの種があり, それらは銅苔 (Copper mosses) と総称されている (Persson 1956, Shaw 1994)。このようなコケ植物種が, どのようにして銅の豊富な環境を探し, 定着しているのかは生態および生理学的に興味深い, その実態は明らかになっていない (北川 1987)。また, ホンモンジゴケでは, 有性生殖が非常に稀であり (鶴沢 & 佐竹 2010, Show 1989), 2-4細胞 (主には3細胞) から構成される無性芽 (図2B, C, Nomura & Hasezawa 2011, Rumsey & Newton 1989) を用いて無性的に分布を拡大させていると考えられている。従って, ホンモンジゴケは, クローナル植物の生態研究の対象としても興味深い種である。

3. ホンモンジゴケ原糸体における銅による細胞分化

前述のとおり, ホンモンジゴケが, 高濃度の銅汚染環境にのみ定着する仕組みは謎であった。そこで, 我々は, ホンモンジゴケの培養株を作出し, 発達初期における銅添加の影響を調べた。まず, 無性芽の発芽への銅添加の影響を検証したが, 銅の有無による影響は見られなかった。しかし, 発芽した原糸体を培養し続けると, 高濃度の銅添加培養条件下ではクロロネマ細胞から, より発達した段階のカウロネマ細胞 (Nomura et al. 2015, 図3A, C) への分化が促進されることが明らかになった。一方, 低濃度の銅存在条件では, 本種が主に分布拡大に用いとされる無性芽の形成が誘導された (Nomura & Hasezawa 2011, Nomura et al.

2015, 図3E, F)。この結果は、ホンモンジゴケが発達の初期段階において、環境中の銅濃度に応じた細胞分化の制御機構を有することを示唆する。

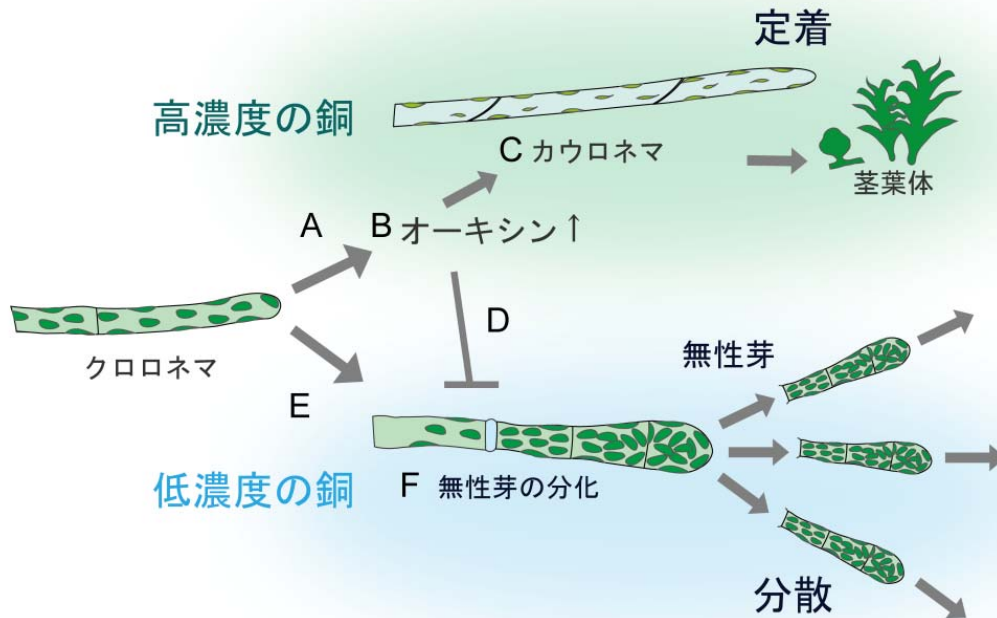


図3. ホンモンジゴケ原糸体における環境中の銅濃度に応じた細胞分化

蘚類の原糸体における細胞分化調節には、オーキシシンやサイトカイニン、アブシジン酸などの植物ホルモンが、関与することが知られている (Cove et al. 2006)。そこで、ホンモンジゴケでみられた銅依存的な細胞分化の機構を明らかにするため、本種の原糸体を銅添加条件下で培養した際の各種植物ホルモン内生量の変化を解析した。その結果、高濃度の銅添加条件下では、特にオーキシシン内生量が上昇することが明らかになった (Nomura et al. 2015, 図3B)。また、低濃度の銅存在条件においても、オーキシシンの添加は、銅添加と同様の細胞分化への効果を引き起こした。加えて、高濃度の銅により誘導されるカウロネマ細胞分化の促進は、オーキシシン作用阻害剤 (PEO-IAA) や、オーキシシン生合成阻害剤 (L-キヌレニン) の処理により抑制された (Nomura et al. 2015)。これらの結果から、ホンモンジゴケ原糸体における銅濃度に応じた細胞分化の調節には、オーキシシンが関与することが明らかになった。ホンモンジゴケは、自身の持つ高い銅耐性能を最大限に活かせる生態的地位にのみ定住できるように、このような環境に応じた細胞分化の機構を獲得したのではないかと考えられる。

他方で、ホンモンジゴケと類似した原糸体における無性芽形成の例が、岩の割れ目など薄暗い環境を好む数種の蘚類でも報告されている (Whitehouse 1980)。これらの種の場合、暗条件下において、原糸体における無性芽形成が誘導され、これはあまりにも暗すぎる環境に到達してしまった場合の逃避策ではないかと考えられている。銅に対して高い耐性能を有す

るホンモンジゴケの場合、高濃度の銅がない環境は、競争相手が存在するため、生育に不利な状況となる。誘導の要因は異なるが、上記の例と類似した機構により、無性芽形成が誘導されるものと推測される。また、ヒョウタンゴケなどの原糸体を同一の培地で長期間培養すると、原糸体細胞の間に脱離細胞 (Tmema cell) と呼ばれる小さな細胞の形成がみられることがある (図4)。この細胞はやがて死滅し、原糸体が分断化するため、その環境から移動する機会を増やすと考えられている。この脱離細胞の分化は、オーキシン内生量の低下した変異株で亢進し、オーキシン処理により抑制されることが報告されており (Bopp et al. 1991)、ホンモンジゴケと同様に、原糸体細胞におけるオーキシン濃度の低下が、不適な環境からの逃避のための細胞分化誘導に関与する可能性が示唆される。



図4. ヒョウタンゴケ原糸体に形成された脱離細胞
矢尻：脱離細胞, スケールバーは, 20 μm

4. ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成

茎葉体や、ゼニゴケなどの葉状体に形成される無性芽では、植物体が立体的であるために生細胞イメージングでの形成過程の観察には技術や設備が必要となる。そのため、その形成過程についての知見は、切片を作成して見られた発達段階別の像から得られている

(Ligrone et al. 1996, Barnes & Land 1908)。一方、蘚類の原糸体に形成される無性芽の場合、原糸体が2次元的に成長し、無性芽は通常、原糸体の先端部に形成されるため、誘導の条件が分かっている観察が容易である。最近、ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成過程のタイムラプス撮影を行い、無性芽分化時の動態を捉えたので、これを紹介する。

ホンモンジゴケ原糸体における無性芽は、分裂と伸長成長を行うクロロネマ頂端幹細胞 (石川 2015) が、分化することで形成される。形成のスイッチ (ホンモンジゴケの場合、低濃度銅添加培地での培養条件) が入ると分裂および先端成長していた頂端細胞が、短軸方向に少し膨らむと共に、分裂する (図5A, B, 矢尻)。その分裂後、先端から見て後方の細胞では核が細胞の基部側に移動し、不等分裂により脱離細胞が形成される (図5C, 矢尻)。一方、1回目の分裂後に、先端側の細胞は伸長し、脱離細胞の形成に遅れて再び分裂することで (図5D, 矢尻)、3細胞からなる無性芽が形成される。

その後、無性芽の細胞内構造に変化が起こり、無性芽が成熟する（おそらくこの時に澱粉や油滴の蓄積が生じていると推測される。）。最後に、脱離細胞が膨潤化した後、細胞死を起こすことで、無性芽が原糸体から切り離される（図5F, 矢尻）。無性芽が切り離された原糸体は幹細胞となり、先端伸長を始める（図5G, 矢尻）。無性芽を最適な条件で培養すると、各々の無性芽細胞からクロロネマ細胞が発芽する（図2D, 矢印）ホンモンジゴケ原糸体を、液体培養していると、無性芽から発芽した原糸体に再び無性芽が形成され、上述の過程を繰り返す様子が観察される（図2D, 矢尻）。

このように、ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成の過程では、栄養繁殖器官である無性芽細胞の分化、不等分裂による脱離細胞の形成とプログラム細胞死、切り離された無性芽からの原糸体細胞の再分化など、様々な細胞の変容を、数細胞から構成されるシンプルな形態形成プロセスの中で、観察することが可能である（図6）。

5. 今後の展望

前述のようにホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成の過程では、様々な細胞分化の振る舞いを観察できるため、細胞生物学研究の材料として興味深い材料であると考えられる。また、植物の栄養繁殖器官形成に関する知見を取得するための材料としても有用である。

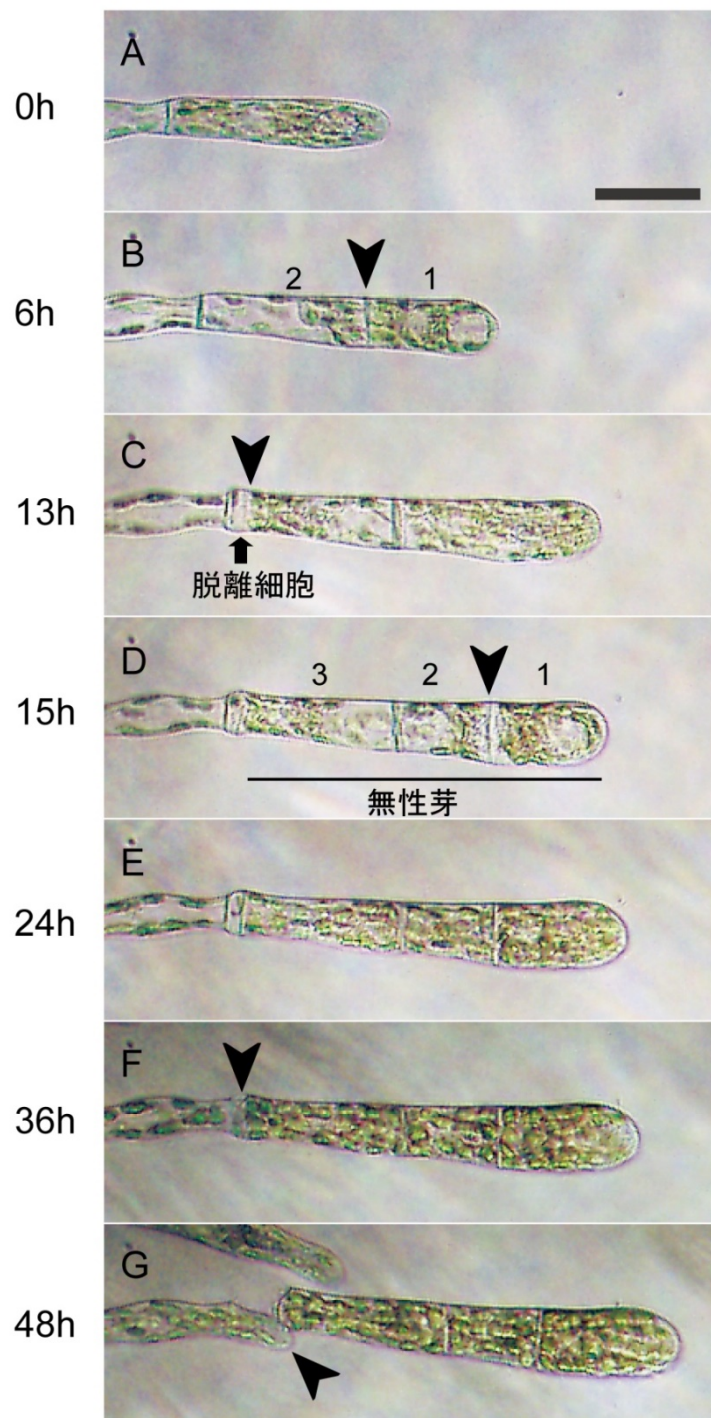


図5. ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成のタイムラプス撮影による観察 スケールバーは、25 μm

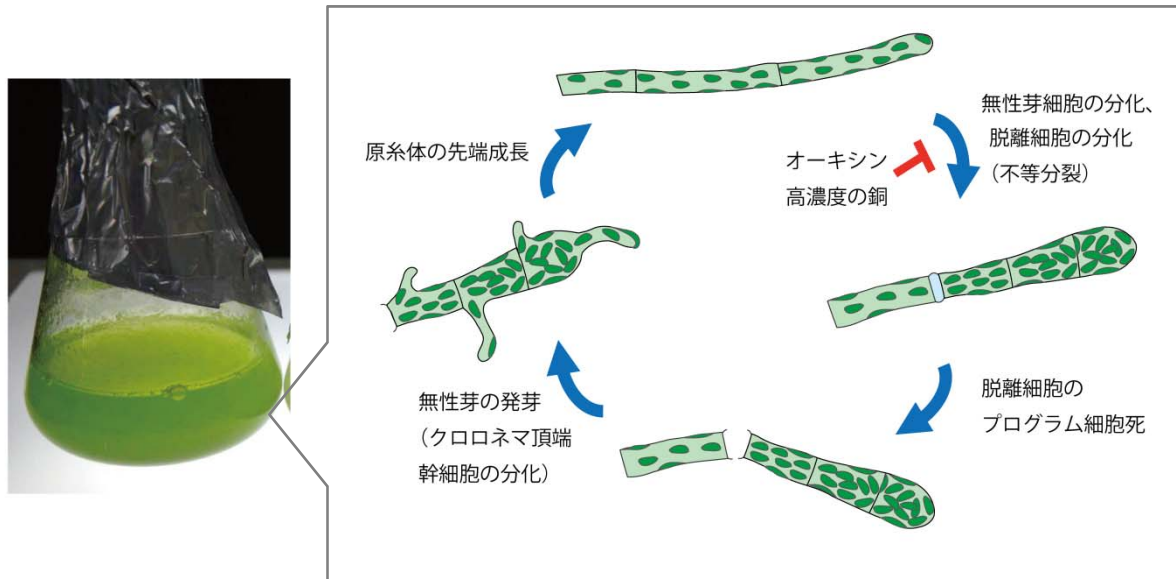


図6. ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成で見られる細胞分化の変容と循環

苔類においては、新興のモデル植物であるゼニゴケを用いた研究から、無性芽形成と被子植物における腋芽形成の分子機構間の保存性が明らかにされつつある（石崎 2014）。一方、蘚類の多くの種において、無性芽形成による繁殖が報告されているが（Imura 1994）、その分子機構は、殆ど明らかになっていない。また、コケ植物の無性芽には油滴や澱粉粒の蓄積がみられ（Ligrone et al. 1996）、それらの合成および蓄積の分子機構に関する新知見が得られる可能性も秘めている。現在、我々は次世代シーケンサを用いたホンモンジゴケのゲノム解読を進めており、最近、ゲノム編集技術を用いた変異導入法の開発にも成功している。さらに、ホンモンジゴケの持つ無性芽の分化誘導を人為的にコントロールできるという特性に着目し、無性芽形成誘導条件（通常培地）と、抑制条件（オーキシシン、高濃度銅添加培地）間での比較トランスクリプトーム解析を実施した。その結果、無性芽形成条件で発現量が亢進していた転写産物群を見出すことができ、中でも特に転写調節因子の機能について現在解析を進めている。これらの解析から、植物細胞の分化調節や、未だ多くが明らかになっていない植物における栄養繁殖器官形成の分子機構について、新しい知見が得られることが期待される。また、ホンモンジゴケ原糸体における無性芽形成誘導の上流因子を辿ることにより、スペシャリストが、自身の生態的地位として適した環境か否かを感知し、ニッチ戦略を実現させる仕組みの一端を解明したいと考えている。

謝辞

本稿で紹介した研究内容の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金（11J06080, 15K18824）、日本科学協会・笹川研究助成金（27-420）の支援を受けて行われた。また本研究の遂行において、支援を頂いた皆様方に厚く御礼を申し上げます。

引用文献

- Barnes, C.R. & Land, W.J.G. 1908. Bryological papers. II. The origin of the cupule of Marchantia. *Bot. Gazette*. 46: 401-409.
- Bopp, M., Quader, H., Thoni, C., Sawidis, T., & Schnepf, E. 1991. Filament disruption in *Funaria protonemata*: Formation and disintegration of tmemma cells. *J. Plant Physiol.* 137: 273-284.
- Cove, D., Bezanilla, M., Harries, P., & Quatrano, R. 2006. Mosses as model systems for the study of metabolism and development. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 57: 497-520.
- Imura, S. 1994. Vegetative diaspores in Japanese mosses. *J. Hattori Bot. Lab.* 77: 177-232.
- Ligrone, R., Duckett, J.G., & Gambardella, R. 1996. Development and liberation of cauline gemmae in the moss *Aulacomnium androgynum* (Hedw.) Schwaegr. (Bryales): an ultrastructural study. *Ann. Bot.* 78: 559-568.
- Nomura, T. & Hasezawa, S. 2011. Regulation of gemma formation in the copper moss *Scopelophila cataractae* by environmental copper concentrations. *J. Plant Res.* 124: 631-638.
- Nomura, T., Itouga, M., Kojima, M., Kato, Y., Sakakibara, H., & Hasezawa, S. 2015. Copper mediates auxin signalling to control cell differentiation in the copper moss *Scopelophila cataractae*. *J. Exp. Bot.* 66: 1205-1213.
- Persson, H. 1956. Studies in "copper mosses". *J. Hattori Bot. Lab.* 17: 1-18.
- Rumsey, F.J. & Newton, M.E. 1989. *Scopelophila cataractae* in North Wales. *J. Bryol.* 15: 519-526.
- Sakurai, K. 1934. Beobachtungen über Japanische moosflora VI. *Bot. Mag. (Tokyo)* 48: 383-399.
- Satake, K., Shibata, K., Nishikawa, M., & Fuwa, K. 1988. Copper accumulation and location in the moss *Scopelophila cataractae*. *J. Bryol.* 15: 353-376.
- Shaw, A.J. 1994. Adaptation to metals in widespread and endemic plants. *Environ. Health Perspect.* 12: 105-108.
- Shaw, A.J. 1989. Metal tolerance in bryophytes. *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. CRC, Boca Raton, FL*, 133-152.
- Whitehouse, H.L.K. 1980. The production of protonemal gemmae by mosses growing in deep shade. *J. Bryol.* 11: 133-138.
- 石川雅樹 2015. ヒメツリガネゴケの幹細胞誘導機構. *BSJ-Review*. 6: 41-50.
- 石崎公庸 2014. 新興モデル植物ゼニゴケを用いた植物における栄養繁殖メカニズムの解析. ひょうご科学技術協会学術研究助成成果報告書.
- 北川尚史 1987. ホンモンジゴケの話. *Nat Stud* 33: 9-11.
- 鶴沢美穂子 & 佐竹研一 2010. 秩父山地で再発見されたホンモンジゴケの孢子体及び生殖器官の形成について. *蘚苔類研究*. 10: 10-12.