

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 農 学 )	氏名	藤井 夏鈴												
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当														
<p>論 文 題 目</p> <p>ミズクラゲのストロビレーションにおける分節形成機構の解析 (Molecular analyses on segmentation in strobilation of <i>Aurelia coerulea</i>)</p>															
<p>論文審査担当者</p> <table border="0"> <tr> <td>主 査</td> <td>准教授</td> <td>国吉 久人</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教 授</td> <td>堀内 浩幸</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教 授</td> <td>矢中 規之</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>准教授</td> <td>荒川 賢治</td> </tr> </table>				主 査	准教授	国吉 久人	審査委員	教 授	堀内 浩幸	審査委員	教 授	矢中 規之	審査委員	准教授	荒川 賢治
主 査	准教授	国吉 久人													
審査委員	教 授	堀内 浩幸													
審査委員	教 授	矢中 規之													
審査委員	准教授	荒川 賢治													
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>刺胞動物ミズクラゲの生活環は、雌雄異体の成体クラゲが有性生殖を行う有性世代と出芽や分裂によって無性的に増殖するポリプの無性世代から成る。ポリプは、冬季に海水温が低下すると、触手のすぐ下の位置にくびれが形成され、ストロビラとなる。そのくびれの下に次のくびれが形成され、これを繰り返して口側から反口側に向かって複数の分節が形成される。分節の形成が終わると触手が退縮し、それぞれの分節は8個の弁を持った盤に変化し、拍動をはじめめる。その後、各盤は1枚ずつ遊離してエフィラとなる。この過程はストロビレーションと呼ばれる。本論文は、ミズクラゲのストロビレーションにおける分節形成過程に注目し、その分子機構について解析したものである。</p> <p>本論文は4章から構成される。</p> <p>1章では、ストロビレーション中の経時的な外部形態の変化を詳細に観察し、ストロビレーションにおける発生ステージを明確に定義した。次に、組織学的手法を用いて上記のストロビレーション各ステージの内部形態の特徴を記載し、分節形成過程は、上皮細胞層が外胚葉性細胞層と内胚葉性細胞層の二層構造を保ったまま、等間隔に胃腔側へ陥入する現象であることを明らかにした。</p> <p>2章では、分節形成過程の特徴を調べた。はじめに、ストロビレーションの各ステージにおける細胞増殖の役割について解析した。BrdU ラベリング法および抗 PCNA 抗体染色によりストロビレーション中の細胞増殖を可視化した結果、分節形成期では、既に形成された分節に加えて、次の分節が形成される予定領域で細胞増殖が起きていた。また、細胞増殖阻害剤の投与実験により、分節形成には細胞増殖が必要であることを明らかにした。以上の結果から、新たな分節を形成するためには、上皮細胞層の陥入に先立って、細胞が増殖する必要があることが示唆された。一方、ストロビラの外科的処理により、既に形成されている分節から次の分節が形成される予定領域に向けて「分節形成誘導因子」が分泌されることが示唆された。</p> <p>3章では、分節形成機構の研究ツールとしての分節形成阻害物質の探索を行った。分節形成阻害活性を定量的に評価するバイオアッセイ系を確立し、各種化合物の活性を調べた結果、tryptamine (TAM)を含む3種の分節形成阻害物質を得た。TAMについて活性の特</p>															

徴づけを詳細に行い、分節形成過程においては細胞増殖の後のステップに作用することで分節形成を阻害していることが示唆された。次の 4 章の実験では、TAM を分節形成阻害剤として利用することとした。

4 章では、内因性の分節形成誘導因子の同定を目指して、次世代シーケンサーを用いた transcriptome 解析を行った。正常ストロビラと TAM 処理したストロビラのそれぞれについて口側部分と反口側部分の RNA sequencing を行い、先行研究で得られたポリプおよびストロビラの配列データも加え、バイオインフォマティクス解析を行った。発現差異解析とシグナルペプチド/膜貫通領域予測を組合わせて、分節形成誘導因子の候補となりうる分泌タンパク質の遺伝子群を絞り込んだ。その中から既知の増殖因子群 (Wnt, BMP, FGF) に注目し、それぞれのシグナル伝達経路の活性化剤・阻害剤の投与実験を行って分節形成への関与を調べた。その結果、Wnt タンパク質が分節形成における細胞増殖を誘導することなどが示唆された。

総合考察では、本研究の結果に基づいて、ストロビレーションにおける分節形成過程の分子機構モデルを提示されている。すなわち、既成の分節から Wnt タンパク質が分泌され、次の分節の予定領域での細胞増殖を誘導し、それらから分化した細胞群の働きにより上皮陥入が起こる、というモデルである。

以上、審査の結果、本論文は統合生命科学研究科学学位論文評価基準を満たし、著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。



