

論文審査および最終試験結果報告書

論文提出者氏名： 多米 晃裕

論文題目： 深海産共生二枚貝類のシンカイヒバリガイにおける食食機構

審査の概要：

本論文は、化学合成生態系における優占種である二枚貝シンカイヒバリガイ類の細胞内共生菌の獲得に関わる食食機構を明らかにする独創的な研究の成果が記されたものである。シンカイヒバリガイ類は、鰓上皮細胞内に化学合成細菌(以後、共生菌と呼ぶ)が共生し、その生存を共生菌に依存している。シンカイヒバリガイ類は、環境中から共生菌を獲得すると考えられているが、共生菌の獲得メカニズムの詳細は不明である。二枚貝類では、体内に侵入した微生物に対して、主に血球が食食機構により微生物を細胞内に取り込み、消化、排除する働きがある。そのため、シンカイヒバリガイ類は血球の食食機構により他の微生物と共生菌を区別することで、共生菌を獲得する可能性が考えられた。そこで本論文は、シンカイヒバリガイ類の食食機構に着目し、シンカイヒバリガイの血球および鰓細胞の食食機構を介した共生菌の獲得方法を探索し、共生系成立のメカニズムに関して考察を行ったものである。

申請された論文は下記の5つの章にまとめられている。

序章では研究の背景が説明されると共に、これまでの知見等を基にシンカイヒバリガイの共生菌獲得に、血球および鰓細胞の食食機構がどのように関与するのかを明らかにするという本研究の目的が述べられている。

第一章では「シンカイヒバリガイを含む5種の深海産共生二枚貝類の血球の生体防御」と題して、シンカイヒバリガイ類3種とシロウリガイ類2種を対象に、血球の種類と食食能を解析し考察を行った。シンカイヒバリガイ類の血球は、無顆粒球(Agranulocyte、以下、AG)、好塩基性顆粒球(Basophilic granulocyte、以下、BG)、好酸性顆粒球(Eosinophilic granulocyte、以下、EG)の3種類から構成され、シロウリガイ類は赤血球(Erythrocyte、以下、ERC)、BG、EGの3種類から構成されていた。5種の二枚貝のAGやERCに食食能はなく、一方、BGとEGは食食能を持つが、食食活性や食胞ーリソソーム融合活性はBGよりもEGの方が高いことが明らかになった。これらの結果から、それぞれ3種類の血球は機能分化していることが示唆された。他の二枚貝類との比較から、BGとEGは二枚貝類の血球の中でも食食による異物排除に関わる血球であると考察している。

第二章では、「シンカイヒバリガイにおける共生菌獲得経路の探索」と題して、血球および鰓による共生菌の獲得経路を明らかにするため、シンカイヒバリガイ個体へ、単離し蛍光標識した共生菌を含む微生物(死菌、生菌)の添加実験を行い、それらの微生物が二枚貝のどの器官に局在するかを解析した。体腔内に流入した極少数の微生物は血球のBGやEGに局在し食食されていた。また、添加した微生物の多くは鰓細胞内に局在した。切り出した鰓片を用いた実験においても同様の結果が得られ、鰓細胞が単離共生菌を含め微生物の種類や生死に関わらず食食する可能性を示唆した。また、既に共生菌が共生する鰓の細胞(菌細胞と呼ぶ)では、菌細胞内共生菌と食食した微生物の間で細胞内消化への進行に違いがあることを明ら

かにした。

第三章では、「血球と鰓細胞の食食機構における食胞成熟過程」と題して、食食機構の食胞成熟に着目し、血球が食食した微生物、および鰓細胞での菌細胞内共生菌と食食された微生物の食胞成熟過程を、初期ファゴソーム因子 (Rab5, EEA1)、後期ファゴソーム因子

(Rab7, Rab9, EEA1, M6PR) に対する抗体を用いて免疫染色を行い解析した。血球や鰓細胞に食食された単離共生菌を含む微生物は、用いた抗体全てで染色が確認されたことから、一連の食胞成熟を経てその後細胞内消化されることが示唆された。しかし、菌細胞内共生菌を内包する膜は、M6PR 以外で染色されたことから、共生菌は食食により取り込まれ、後期ファゴソームに局在することを明らかにした。菌細胞内共生菌が消失する過程での M6PR の局在を調べたところ、共生菌が消失すると共に M6PR が集積した鰓細胞が増加し、共生菌の消失は食胞の細胞内消化によって引き起こされることが明らかとなった。

最終章では、総合考察として、食食機構による共生細菌の獲得と共生系成立について本研究で明らかになった知見を基に考察している。体腔内に僅かに流入した微生物や共生菌は血球の BG や EG により食食、消化されることから、血球は共生菌の獲得に関与しないと結論した。一方、鰓細胞は食食能を持ち、菌細胞内共生菌は後期ファゴソーム内に局在することから、鰓細胞の食食機構により共生菌が獲得されると考察している。

以上、多米晃裕氏による本論文は、化学合成生態系のシンカイヒバリガイの共生菌は食食により獲得されることを初めて明らかにしたものである。これらの知見は、化学合成生態系の共生系を理解する上で重要であり大いに評価できる。同時に、細胞内共生系の研究に新たなブレークスルーを与えた点で独創的であり、これからの海洋生命科学に大きく寄与するものと考えられる。

平成 30 年 1 月 29 日に実施した最終試験において、論文内容ならびに関連分野に関して本人が学位を受けるに必要な学識を持つことを認め、合格と判定した。

以上の結果から、審査員一同は本受審者を北里大学・博士（水産学）の学位を授与するに値するものと判定した。

論文審査担当者：

主 査 北里大学教授

奥村 誠一



副 査 福岡女子大学教授

瀧下 清貴



北里大学教授

朝日田 卓



北里大学准教授

神保 充



北里大学客員准教授

吉田 尊雄

