

2021年度博士学位論文

Doctor Theses in the 2021 Academic Year
(April 2021 - March 2022)

博士（学術）学位論文 8名

課程修了による博士学位

共生環境学専攻

氏名	唐 海紅 (TANG HAIHONG)
学位記番号	生博 甲第335号
学位記授与の日付	令和3年9月15日
学位論文題目	Deep Learning Based Intelligent Diagnosis Methods for Rotating Machinery Using Vibration Signal -Approach by Signal Preprocessed SAE and Improved CNN- (ディープラーニングと振動信号に基づく知的回転機械診断法— SP-SAEとI-CNNによるアプローチ)
論文審査委員	主査 教授・陳山 鵬 教授・村上 克介 教授・王 秀崙 教授・森尾 吉成 准教授・福島 崇志

要 旨

「安全と安心」及び「自然環境を考慮した持続可能な経済発展」が人類にとって重要な共通課題であることは言うまでもなく、人類は生活や社会活動に欠かせない生産設備などの人工物や人工システムの安全性を確保する必要がある。回転機械は農業生産、工業生産に最も多く使用される設備であり、その重大なトラブルや事故は経済的や人的な被害だけでなく、時には環境にも悪影響をもたらす。スマート設備診断技術は、情報工学などの手法を用いて設備状態を自動的に監視・診断する技術であり、今後、生産設備の大型化、高速化、知能化、無人化および複雑化の進行に伴って、生産設備の重大なトラブルや事故を未然に防止する重要な技術としてますます注目される。

本論文は、回転機械の異常を早期に発見し、異常種類を早期に判明するために、ディープラーニ

ングと振動信号による回転機械設備のスマート状態診断法に関する研究成果をまとめたものであり、その内容を要約すると次の通りである。

(1) すべり軸受を含む回転軸系（以下、すべり軸受系と略称）は高速回転機械によく用いられる重要な部分である。現場で滑り軸受系の異常を検出するために測定した振動信号のSNR（信号対雑音比）が低いため、従来の方法では高精度の診断結果を得ることが困難である。そのために、ディープラーニング (Stacked Auto-encoder: SAE) と統計フィルタに基づく逐次的な診断法が提案された。まず、統計フィルタによりSNRを向上するための自動的な雑音除去を行い、次に、SAEを用いて滑り軸受系の状態の特徴を逐次的に抽出・学習し、各異常状態を自動的かつ精密に識別することができた。提案した方法を他の方法と比較した結果、本方法は最も高精度にすべり軸

受系の異常を検出・識別できることを示した。

(2) 低速（100rpm 以下）軸受の状態診断では、診断のために計測した振動信号の SNR が中・高速回転軸受診断時の信号に比べ低いので、異常検出が困難である。そのために、改良モード分解法 (IEMD)、グラミアン・アンギュラー・サンメーション・フィールド (GASF) および畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を組み合わせることにより低速軸受状態を自動的に識別する方法を提案した。提案した方法の有効性を検証するために、低速回転機械の正常状態と軸受異常状態において測定した、強いノイズを含む振動信号を用いて、診断精度と汎用性について評価した結果、本方法は従来の機械学習法に基づく自動診断法より優れていることを示した。また、本方法の高い診断精度の原因を分析して、さまざまな運転条件に対応できる適応型分類・診断器のために最適なシステム係数の構成も検討・決定した。

(3) 深層学習法による設備診断の汎用性を高めるために、ロバスト主成分分析 (RPCA) とマルチカーネル・ディープ・ニューラル・ネットワーク (MDNN) という新しい自動診断法が提案された。まず、RPCA を用いて診断信号から微弱な異常信号を抽出し、次に、MDNN を用いて抽出

した異常信号の特徴を適応的に学習・抽出し、異常信号に含まれる非線形性に対してもロバスト性をもつため、異常検出・識別の汎用性を高めることができた。提案した方法は、回転機械実験装置で測定した微小な軸受傷信号とインターネット上で公開されている診断データを用いて検証した結果、従来の機械学習や伝統的な深層学習方法より優れることがわかった。さらに、深層学習におけるネットワークの中間層に隠された情報を可視化して、その高性能の原因も分析した。

(4) 振動信号は測定することが容易なので、現場で回転機械診断に広く用いられているが、現場では、振動信号の計測が困難な場合、電流信号を用いて状態監視・診断を行っている。畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を利用して、振動信号と電流信号による回転機械診断の比較実験を行い、両者の特徴と利点・欠点を明らかにした。比較評価の結果、振動信号は構造系異常においても衝撃系異常においても電流信号より診断性能が優れていることがわかったが、ノイズをよく除去して CNN のパラメータを適切に調整すれば、電流信号も比較的高い診断精度をもつことも示した。

資源循環学専攻

氏名	岡田 経太
学位記番号	生博 甲第 336 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	Community structure and spatial distribution of ectomycorrhizal fungal spore banks in endangered <i>Pseudotsuga japonica</i> forests (絶滅に瀕したトガサワラ林における外生菌根菌胞子バンクの群集構造と空間分布)
論文審査委員	主査 教授・松田 陽介 教授・木佐貫博光 教授・中島 千晴 准教授・鳥丸 猛 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授・奈良 一秀

要 旨

マツ科トガサワラ属トガサワラは、絶滅危惧Ⅱ

類 (VU) の常緑針葉樹であり、紀伊半島と高知県東部の限られた地域に分布する。トガサワラの

生育は、細根に定着する外生菌根菌による養水分の吸収に部分的に依存する。そのため、外生菌根菌はトガサワラの成長や生残、実生の定着にとって必要不可欠である。トガサワラ林の土壌には多様な外生菌根菌が存在することが知られており、中でも、トガサワラショウロはトガサワラ属樹木に対して特異的に感染、定着することからトガサワラの天然更新において重要な役割を担っていると示唆される。外生菌根菌の胞子の中には、土壌中で他の菌種よりも長い休眠期間と高い環境ストレス耐性を持つものがある。このような胞子を胞子バンクといい、新しく参入したトガサワラ実生にいち早く反応する感染源として機能することで、残存トガサワラ個体群の維持に寄与すると考えられる。そこで本学位論文では、トガサワラ林における外生菌根菌の胞子バンク群集と空間分布パターンの解明を目的とした。

まず、トガサワラ林の土壌に潜在する外生菌根菌を対象とした胞子バンクの群集構造を明らかにするため、紀伊半島に位置するトガサワラ林内と周囲のスギ・ヒノキ人工林から土壌を採取し、そこに植物を育成して釣菌するバイオアッセイ法に供試した。7~13か月育成したダグラスファーに形成された外生菌根のITS領域を対象に塩基配列を決定した結果、13分類群が検出された。*Cenococcum geophilum* やトガサワラショウロ、クルミタケ属の一種、*Delastria* 属の一種が優占した。トガサワラと関係する胞子バンクは、菌核や埋土胞子といった耐久性のある感染源をつくる少数の菌で特徴づけられた。胞子バンクの群集構造は植生の種類がトガサワラ林か、アーバスキュラー菌根性樹種が優占する人工林かによらず、調査地間で有意に異なった。このことは、胞子バンクは外生菌根性の森林内に制限されず、周囲の人工林にも広がっていることを示した。

トガサワラショウロの胞子は、子実体が生産されるトガサワラ林から林内および周囲の人工林へ散布される。そこで本種胞子の分散距離と胞子バンクの空間分布を明らかにするため、紀伊半島と高知県東部に位置するトガサワラ林の林内から周囲のスギ・ヒノキ人工林にわたる範囲から土壌を

採取し、本種をバイオアッセイ法により検出した。トガサワラショウロはトガサワラ林の林内または林縁から50 m以内の宿主樹木から比較的近い地点の土壌で高頻度に検出され、一方で、林縁から数百 m離れた土壌からも検出された。トガサワラショウロの出現頻度は林縁からの距離が大きくなるにつれて有意に減少した。これらの結果はトガサワラショウロが宿主の森林の外へ胞子バンクを広げる分散能力を持つことを示唆した。

バイオアッセイ法は外生菌根菌の実生への感染、定着にもとづきそれらの存在を明らかにする手法である。しかし、実生の育成期間や感染の有無が感染源の密度の影響を受ける点に課題がある。そこで、より迅速で蓋然性の高い種特異的プライマーを用いたPCR法によるトガサワラショウロの検出をおこなった。トガサワラショウロのITS領域に対するプライマーを新たに設計した。本種への特異性およびPCRにおける増幅性を *in silico* および *in vitro* 実験によって検証し、5対のプライマーを選抜した。これら5プライマー対を用いたトガサワラ林土壌から抽出されたゲノム溶液に対するPCR増幅の結果、バイオアッセイ法では検出がなかったサンプルから明瞭なバンドが得られた。以上より、開発されたプライマーおよびPCR法のプロトコルは野外土壌に対して有効であり、バイオアッセイ法より高い感受性でトガサワラショウロの胞子バンクを検出できる可能性が示された。ただし、2対のプライマーで非特異的な増幅が疑われ、別の1対のプライマーは増幅能力が低いと推定された。したがって、設計したプライマー対のうち、結果として2対がトガサワラショウロの胞子バンクの検出に適用可能だと考えられた。

以上のことから、トガサワラ林の内外にトガサワラショウロをはじめとする外生菌根菌の胞子バンクが存在することが明らかになった。さらに、トガサワラショウロの胞子分散距離が数百 mに及ぶことから、胞子バンクを形成する外生菌根菌は宿主の存在する範囲を越えて分散する能力を有する可能性が示唆された。

資源循環学専攻

氏名	NI DIANXIA
学位記番号	生博 甲第 337 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	中国内水面養殖における家族経営の経営展開と新しい経営モデルの構築に関する研究 (A Study on Family-owned Business Development and Construction of the New Business Model in Chinese Inland Aquaculture)
論文審査委員	主査 教授・常 清秀 教授・松村 直人 教授・松田 浩一 准教授・野中 章久

要 旨

本研究は、中国の内水面養殖生産の 9 割以上を担っている家族経営に着目し、近年の著しい経済発展に伴い、家族経営組織における変化、経営展開における特徴を明らかにし、持続可能な内水面養殖生産の実現に向けて、中国内水面養殖の経営展開の方向性（＝新しい経営モデル）を提示することを目的としている。

生産組織の小規模性と零細性は中国内水面養殖における大きな特徴の一つである。2018 年の時点で、内水面養殖生産者の 9 割以上が家族経営である。それに加え、2017 年の時点では、国民一人当たりの年間水産物消費量の 9 割以上は淡水魚介類である。内水面養殖が中国国内水産物供給において依然として重要な役割を果たしており、特に内水面養殖生産を担っている家族経営の健全な発展が極めて重要である。しかし一方、内水面養殖業者の所得水準が極めて低いという現状がある。中国国家统计局のデータによれば、2018 年の内水面養殖業者の平均年収（約 23 万円）は中国国民の平均年収（約 44 万円）半分程度である。養殖業者の所得向上は国内水産物の安定供給の実現における最も重要な課題である。

漁業・農業経営者の所得向上を目指す先行研究は、中国と日本と同様、農業経営分野では盛んであるが、漁業経営分野での議論が非常に少ない。なぜ、養殖業者の小規模性が維持されているのか。また、小規模経営を前提とするなら、どのような経営スタイルが最適であるのかなどの諸課題の解

明が持続可能な漁家経営の実現に不可欠である。本研究はこうした問題意識の下で、内水面養殖が盛んに行われている東南沿岸地域の江蘇省蘇州市、泰州市と浙江省嘉興市の 3 地域の計 13 経営体を対象として実証研究を行った。調査手法はヒアリング調査、分析手法は定性分析である。

本研究で明らかにしたことは下記の通りである。

I. 実態の解明について

- (1) 中国の農地利用に関する政策規制と内水面水域の環境状況により、養殖業者の経営規模の拡大による収益向上は困難である。
- (2) すべての養殖業者が経営の多様化により収益増を目指している傾向がある。
- (3) 経営展開が多様である。
経営展開のパターン（類型）
 - ① 養殖対象魚類の多様化（大衆魚類→高級魚種・他品種へ）による経営展開
 - ② 流通の多チャネルによる経営展開
 - ③ 複合的経営による経営展開（「農家菜」、レストラン経営など）
 - ④ 業種転換による経営展開（生産→加工・流通業への転換）
- (4) 電子商取引と 6 次産業化による経営展開が顕著である。

II. 経営展開の方向性について

実態分析の結果を踏まえて、電子商取引による流通チャネルの多様化と 6 次産業化による経営展開のケースに絞って、経営展開によりもたらされた経済効果についてさらに分析を行った。これら

の分析により以下の点を明らかにした。

- (1) 養殖業者による電子商取引への取組みについては、電子商取引実績がある7事例のそれぞれ利用しているプラットフォームの種類、プラットフォーム別の取引の仕組み、流通過程にかかる費用構成（流通コスト）およびすべてのケースにおいて、電子商取引による流通チャンネルの多様化が収益増につながったことを明らかにした。
- (2) 6次産業化による経営展開については、まず、養殖業者の取組みの実態を踏まえ、6次産業化の定義に照らし合わせて、事例を類型した。次に、類型した事例に対して、LASTS（日本農研機構が開発された6次産業化シミュレーションソフト）を用いて、6次産業化への取組による得られた経済効果を確認した。一連の分析により分析対象事例の経営展開について次のように評価できると考えている。
 - (1) 養殖業者による経営展開が経営規模により一定の差異があるが、いずれも収益増につながったこと。
 - (2) 養殖業者（生産者）による独自ブランドの構

築が地域全体のブランド力の向上につながったこと。

- (3) 電子商取引が内水面養殖物の流通・販売の多チャンネル化の推進とつながったこと。

しかし一方、一部の事例においては、経営主体が経営展開における意思決ができる定余地が少ない傾向が見られるという課題が残されている点も明らかにした。さらに、本研究の事例の経営展開のモデルは、農業経営分野で議論されてきた「ファームファミリービジネス」と「リーディングファーマー」に類似していることも明らかにした。

これらの分析結果を踏まえ、今後の内水面養殖業における家族経営（漁家経営）の方向性について、農業経営分野で提示された理論とモデルを参照しながら考察を加え、以下の三つのモデルを提示した。

モデル1：「家庭農場」（「ファームファミリービジネス」に類似したモデル）

モデル2：「専業大戸」（ファームファミリービジネスに類似したモデル）

モデル3：「リーディングファーマー」

共生環境学専攻

氏名	山本 真人
学位記番号	生博 甲第 338 号
学位記授与の日付	令和4年3月25日
学位論文題目	国際比較可能な分類に基づいた地域スケールでの生態系サービスの評価—三重県を例にして— (Assessment of Ecosystem Services at the Regional Scale Based on Internationally Comparable Classification -The Mie Prefecture Exemplar)
論文審査委員	主査 教授・立花 義裕 教授・大野 研 教授・葛葉 泰久 教授・飯島 慈裕

要 旨

日本では各地で過疎化が進行している。三重県では、振興施策として道路建設といった開発施策が採用されることがある。一方で、地域資源の保護や里山・里海の生態系サービスへの影響を考える動きもある。

また、2020年までの欧州連合（European Union, EU）における生物多様性戦略（EU Biodiversity Strategy to 2020）の行動5では生態系サービスの地図化を呼びかけている。

三重県は地域格差の観点からは日本の縮図となっている。生態系サービスの地図化を含む評価

事例はいくつか存在するが、三重県では行われてこなかった。

そこで本論では、以下の2つのセクションに分けて評価を行った。

1) 5つの指標による生態系サービスの評価

三重県において包括的に生態系サービスを地図化する初の試みを行った。

供給サービスとしての農業産出額、調整サービスとしての森林率、文化的サービスとしての観光客数および都市公園率、基盤サービスとしての植物群落の多様性およびそれらの変化を、原則、合併前の市町村ごとに地図化した。

その結果、供給サービスは北部で高かったが、近年、その状況に変化が生じていることが示唆された。また、全体に減少傾向にあったが、近年では増加したと推測される市町村もあった。調整サービスは、南部の山間部において高かった。また、多くの市町村で、平成9年度を境に減少から増加に転じていた。文化的サービスとしての観光客数は北部に位置する自然公園で多かった。また、北部・南部それぞれで減少した自然公園があったが特に南部で減少していた。近年は北部・南部ともに観光客数が多い市町村が散在しており、北部と南部における差が小さくなってきた可能性があるといえる。文化的サービスとしての都市公園率は北部で高かった。基盤サービスとしての植物群落の多様性は南部よりも北部で高かった。基盤サービスはすべての生態系サービスに影響すると考えられ、南部における自然植生の保全などが求められることが示唆された。

2) CICESのGroupに基づく生態系サービスの評価

三重県において土地利用や森林の種類と、多くの情報に基づく生態系サービスのホットスポットとの関係をみた研究は少ない。

そこで、国際的に共通の生態系サービスに関する分類(Common International Classification of Ecosystem Services, CICES)に対して、生態系と生態系サービスのマッピングと評価(Mapping and Assessment of Ecosystems and their Services, MAES)、日本の里山・里海評価(Japan Satoyama-Satoumi Assessment, JSSA)、生物多様性及び生態系サービスの総合評

価(Japan Biodiversity Outlook 2, JBO2)および独自の考案に基づく指標、合計17の指標により、生態系サービスの地図化を行った。そして、ホットスポット分析を行い、それと植生調査結果との関係をみた。

その結果、CICESに基づく生態系サービスの地域的な分布状況の違いが明らかになった。また、供給サービスのホットスポットは主として北部から中部にかけて、コールドスポットは紀勢・東紀州の紀伊山地に分布していた。調整サービスのホットスポットは主として紀勢・東紀州の紀伊山地周辺、コールドスポットは北部・中部・伊勢志摩・伊賀に位置する伊勢平野や上野盆地にあった。文化的サービスのホットスポットは主として中部・伊勢志摩に、コールドスポットは北部・中部・伊勢志摩の海岸部、紀勢・東紀州の紀伊山地などの山間部と中部・伊賀の上野盆地から布引山地にかけて広がっていた。

生態系サービスのホットスポットでは森林の面積が大きかった。特に植林地は全サービスのホットスポットにおいて広がっていた。このことから、三重県の生態系サービスには植林地を含む森林が重要であることが示唆された。

1) で明らかになった生態系サービスが高い部分と2) で明らかになった生態系サービスのホットスポットはある程度一致した。このことは、1) の指標の選定方法に関する妥当性を示している。

1) では、基盤サービスとしての植物群落の多様性は南部で低く、スギ・ヒノキ以外の植生の保全も必要であることが考えられた。一方、より多くの指標による評価である2) では、すべてのホットスポットで植林地が最も大きな面積率を占めた。このことは、植林地が生態系サービスに寄与することを示唆している。

以上の研究により、三重県の生態系サービスの状況が明らかになった。また、当該地域での生態系サービスへの支払い(Payment for Ecosystem Services, PES)類似制度の裏付けや、それらを重点的に適用する地域を把握するための材料を提供することができた。

生物圏生命科学専攻

氏名	林（榎津） 晨子
学位記番号	生博 甲第 339 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	完全水中適応した哺乳類のあくびに関する行動学的研究 (Behavioural studies on yawning in fully aquatic mammals)
論文審査委員	主査 教授・吉岡 基 副査 教授・神原 淳 教授・塚田 森生 准教授・森阪 匡通 准教授・淀 大我 京都大学野生動物研究センター 特任教授・幸島 司郎

要 旨

あくびは、口を開けて吸気を行い（フェーズ 1）、口の大きさが極大に達し、それを維持し（フェーズ 2）、呼気を行いながら口を閉じる（フェーズ 3）という、3つの段階で定義される行動であり、ヒトを含む多くの脊椎動物で確認されている。上記の定義において、あくびは呼吸を伴うものであるとされるが、完全に水中で生活している鯨目においても、あくびのような行動（以下、あくび様行動）が観察されている。これがヒトと同様のあくびであるならば、呼吸を伴わないあくびが存在することになり、上記の定義を変更する必要がある。本研究では、進化系統が異なり、ともに完全水中適応した鯨目と海牛目（以下、完全水中適応種）においてあくび様行動を観察し、これがヒトのあくびと同様の行動であるかを調べた。そして、その結果を含め、哺乳類におけるあくびの進化的考察を行い、完全水中適応種の特徴を検討した。

第 1 章では、鯨目 6 種においてあくび様行動の観察を行った。まず、飼育下のハンドウイルカで 119 時間の観察を行い、5 例のあくび様行動を抽出した。それらは休息時に起こり、①口をゆっくり開け、②極大に達してそれを保ち、③素早く閉じるという 3 段階に分けられたことから、呼吸は伴わないが、陸上であくびをする哺乳類（以下、陸上種）のあくびと同様の行動であると考えられた。さらに 24 時間観察により、あくび様行動が時間

単位では、不活発・活発の遷移時に起こることがわかった。また、野生下のミナミハンドウイルカでもあくび様行動がみられたことから（水中映像 1816 時間中 5 例）、この行動が飼育下に特有の行動ではないことがわかった。飼育下の他の 4 種、すなわち、イロワケイルカ（49 時間中 6 例）、シャチ（84 時間中 6 例）、シロイルカ（97 時間中 6 例）、スナメリ（126 時間中 5 例）では、あくび様行動は、いずれも主に不活発・活発の遷移時に起こっていた。陸上種においても、あくびは同様の状況下で起こることから、4 種のアくび様行動もあくびであると考えられた。上記の鯨目 6 種におけるあくびの持続時間は平均 1.10～6.11 秒、発生頻度は 1 時間 1 個体あたり 0.001～0.07 回であった。

第 2 章では、海牛目のジュゴンを対象に飼育下でのあくび様行動の観察を行った。20 時間中 14 例（平均 4.63 秒、発生頻度：0.8 回 / 時間 / 個体）のあくび様行動が観察された。これらも主に休息と関連していたため、陸上種のアくびと同様の行動であると考えられた。本章と前章の結果より、あくびが鯨目だけではなく、海牛目にもみられ、呼吸を伴わないあくびの存在が認められた。また、あくびは「口をゆっくり開け、極大に達してそれを保ち、素早く閉じる」という口の開閉の仕方のみで定義できることが明らかになった。

第 3 章では、あくびの進化的考察として、鯨目と海牛目に近縁な陸上種 3 種のアくびの観察を新たに行い、本研究で観察した全動物種と既報の

総計 83 種のあくびの持続時間について解析した。飼育下の観察により、アジアゾウ (42 時間中 7 例) では活発・不活発の遷移と、カバ (29 時間中 5 例) では休息と、ケープハイラックス (35 時間中 5 例) では休息や警戒と関連してあくびが起こった。鯨目に近縁なカバでは、あくびの持続時間 (平均 6.01 秒) が鯨目より長く、かつ頻度も高かった (0.17 回) が、海牛目に近縁なアジアゾウとケープハイラックスでは、持続時間が海牛目より短く、かつ頻度も低かった (それぞれ、3.35 秒 -0.01 回, 0.99 秒 -0.02 回)。このことから、完全水中適応があくびの持続時間や頻度に一方向の変化を与えていないと考えられた。さらに、あくびの持続時間と体重や系統の影響を取り除いた脳重量が正の相関を示す既往知見をもとに、完全水中適応種のおくびの持続時間の特徴を系統的な比較法を組み込んだベイズマルチレベル系統発生モデルを用いて調べたところ、シャチを除く鯨目は体重から予測されるよりも脳重量に対するあくびの持続時間が短

かった。また、肉食哺乳類 15 種のデータにおいて、フェーズ 1 および 3 の持続時間が最大口開け角度と正の相関を示した。肉食哺乳類では、口開けの大きさは餌サイズによって決定されるが、多くの鯨目では陸生肉食哺乳類に比べて、餌サイズが小さいことから、口開けの大きさも小さいと考えられる。そこでこのずれを補正して解析したところ、鯨目も陸上種のおくびの持続時間と脳重量の関係内に収まったことから、最大口開け角度が鯨目のおくびの持続時間を短くしていると考えられた。これらのことから、陸上種と完全水中適応種のおくびは同じ機序で成り立っていると考えられた。

以上、本研究において、完全水中適応種における呼吸を伴わないあくびを初めて報告するとともに、従来の定義を覆し、あくびが口の開閉の仕方のみで定義できることを示した。また、進化の観点から、鯨目に特異な身体の構造的・生理的な変化があくびの持続時間の短縮に繋がったことを示唆した。

生物圏生命科学専攻

氏名	早川 琢也
学位記番号	生博 甲第 340 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	抗がん剤ストレス、エピジェネティクス修飾、細胞分化刺激による哺乳類ゲノム複製制御 (Mammalian genome replication reprogrammed by anti-cancer drug stresses, epigenetic modifications, and cell-differentiation stimuli)
論文審査委員	主査 教授・奥村 克純 教授・木村 哲哉 教授・田丸 浩 准教授・竹林慎一郎

要 旨

DNA 複製は細胞周期の S 期に行われ、全遺伝情報を娘細胞に継承するため厳密な制御のもとで行われる必要がある。哺乳類細胞では数百万塩基単位で DNA 複製が制御されており、複製起点の活性化を介して各単位の複製される順番 (複製タイミング) が決まっているが、複製タイミング制御のメカニズムや意義については未解明な点が多い。この複製タイミングをゲノム網羅的に解析す

る技法として、近年、複製中の DNA にハロゲン化ヌクレオシドを取り込ませ、その領域を次世代シーケンサー (NGS) で解析する Early and Late replication timing regions analyzed by DNA sequencing, E/L Repli-seq 法が開発された。そこで、本研究では E/L Repli-seq 法を用い、抗がん剤ストレス、エピジェネティクス修飾、細胞分化刺激が複製タイミングに与える影響をゲノム網羅的に解析し、複製タイミング制御のメカニズムや

意義を明らかにすることを目指した。

第一章では、抗がん剤ストレスが複製タイミングに及ぼす影響を調べるため、抗がん剤の一種であるカンプトテシンで処理したヒト RPE 細胞の複製タイミングを E/L Repli-seq 法を用いてゲノム網羅的に解析した。その結果、抗がん剤ストレスを与えて複製速度が低下した細胞では、通常使われる染色体上の複製開始場所に加えて、新たな場所からも複製が開始されていることが明らかになった。このことから、抗がん剤ストレスによる複製阻害を補うためのバックアップ機構として新たな複製開始場所が活性化されることが示唆された。また、抗がん剤ストレスに対して特異的な複製タイミング変化が検出されるという結果は、E/L Repli-seq 法を応用して細胞が受けているストレスの種類や程度を推測できる可能性を示した。

第二章では、エピジェネティクス修飾の1つである DNA メチル化と複製タイミングの関係について検討した。マウス ES 細胞の DNA メチル基転移酵素遺伝子をノックアウトすることで誘導される DNA の低メチル化が複製タイミングに与える影響について調べるために、E/L Repli-seq によるゲノム網羅的な解析を行った。その結果、複製タイミングが変化したゲノム領域を変異体細胞で多数同定することができた。さらに、この複製タイミングが変化した領域の遺伝子転写活性について調べたところ、複製タイミングが早まった領域では転写活性が上昇し、遅くなった領域では転写活性が低下していた。これらの結果から、エピジェネティクス修飾と複製タイミング制御の密接な関係が明らかになった。

第三章では、細胞分化刺激の複製タイミングへの影響を調べるため、マウス 3T3-L1 細胞株の脂

肪細胞分化誘導時に見られる 1-2 回の細胞分裂 (Mitotic Clonal Expansion: MCE) に着目した。この MCE 中に起こる DNA 複製は、脂肪細胞分化へのエピゲノム情報の書き換えがおこる重要なステップであると考えられており、この際におこる複製タイミング変化についてゲノム網羅的に調べた。脂肪細胞への分化誘導は細胞集団内で完全に同調して進むわけではないため、従来の E/L Repli-seq 法に加えて、1 細胞でゲノム網羅的な解析ができる single-cell DNA replication sequencing, scRepli-seq 法も併用した。得られた NGS データから複製タイミングを求めるために、解析プログラムを確立し、それに従って複製タイミング解析を行った。その結果、未分化の細胞と比較して MCE 中の細胞では、ゲノムの約 3% の領域で複製タイミングが変化していることが明らかになった。MCE 中の 1 回目の S 期において、既に複製タイミングが変化する領域が多く存在していることも判明し、これは分化中の個々の細胞における複製タイミング変化の瞬間を捉えた貴重な例である。さらに、複製タイミングが変化した領域の遺伝子転写活性について調べ、複製タイミングが早まった領域では複製タイミングが遅くなった領域と比較して転写活性が上昇する傾向を見出した。この結果から、MCE 中の複製タイミング変化と遺伝子発現制御に関連性がある可能性を示した。

本研究により、抗がん剤ストレス、エピジェネティクス修飾、細胞分化刺激が複製タイミング制御に及ぼす影響が明らかになっただけでなく、複製タイミング変化の意義を考察する上で重要な遺伝子発現との関連性についても手掛かりが得られた。これらの成果は、今後の複製タイミング研究にとって重要な知見となるであろう。

生物圏生命科学専攻

氏名	GUNAWWAN MUHAMMAD
学位記番号	生博 甲第 341 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	Nacre tablet characteristics of pearls and shells of <i>Pinctada fucata martensii</i> and its influence on the pearl quality related to luster, interference color, and body color (アコヤガイ貝殻と真珠における結晶微細構造の光沢, 干渉色, 実体色等の真珠品質に及ぼす影響)
論文審査委員	主査 教授・古丸 明 教授・神原 淳 教授・河村 功一

要 旨

Color -consisting of body color and interference color- is an essential category in grading the quality of pearls. Nacre -CaCO₃ deposit in the form of aragonite crystal- is also crucial in determining pearl quality. The present study focused on finding out the factors influencing the deposition of nacre on pearls and shells, which further affect the quality of pearls. Three experiments have been conducted: 1) the first experiment, *saibo* from red- and blue-line donors were implanted with a round nucleus into the red- and blue-line recipient oysters from the same batch in four treatments which were referred to as DRMR (red-donor, red-recipient), DRMB (red-donor, blue-recipient), DBMR (blue-donor, red-recipient), and DBMB (blue-donor, blue-recipient) oysters. 2) In the second experiment, 70 Japanese and 70 hybrids (between Japanese and Chinese *P. fucata*) oysters were selected as recipient oysters and submerged in an alizarin complexone (ALC) solution monthly to estimate the monthly nacre deposition rates. 3) In the third experiment, *saibo* from the Anterior, Middle, and Posterior sites of the pallial mantle portion of the donor oysters were excised and implanted into recipient oysters.

All oysters from the first, second, and third experiments were cultured for six months from July to December in Ago Bay, Mie Prefecture. Body yellowness index (YI) and interference color value

categories, luster value, total nacre and tablet thickness, and surface microstructure for pearls from the first and the third experiments are reported. Moreover, the correlations of water temperature, food availability, and salinity with monthly nacre deposition rate, total nacre, and tablet thickness of pearls, and four positions of the shells -posterior, middle, anterior, and hinge- from the second experiment are also reported.

This study revealed 1) both grade H and grade L pearls deposit irregular layers; only the irregular layer of the grade L pearls showed a significant amount of organic structure and significantly thicker than grade H pearls; 2) pearl interference color to be significantly affected by nacre tablet microstructure. The saturation of pearl interference color is affected by the smoothness of the nacre surface, which is a function of the surface nacre tablet area. In addition, the hue of pearl interference color is affected by the changing pattern of the nacre tablet thickness through the nacreous layer, from surficial to basal regions; 3) *P. fucata martensii* oysters with red shell nacre interference color improve pearl quality, and for the purposes of pearl culture should be selected for; 4) Japanese strain pearl oysters exhibit better nacre deposition than hybrid oysters both in pearls and shells and would be more appropriate as recipient oysters in Ago Bay, Japan, should culture occur in environmental conditions comparable to

those in this study; 5) Water temperature, food availability, and salinity influence shell and pearl nacre deposition and thickness; 6) the pallial mantle

portion influences the shape, flaws, and the color categories on the pearl quality grading.

論文提出による博士学位

氏名	JIMY KALTHER
学位記番号	生博 乙第 98 号
学位記授与の日付	令和 4 年 3 月 25 日
学位論文題目	Impact of sea level rise and conservation strategies in coastal areas, Indonesia (インドネシアの沿岸域における海面上昇の影響と保全戦略)
論文審査委員	主査 教授・石川 知明 教授・松村 直人 教授・松田 陽介 准教授・板谷 明美

要 旨

Coastal communities, infrastructure, and landscapes are already facing threats of flooding and coastal erosion. Climate change has increased the risks to the natural environment due to changes in ecosystems and coastal erosion as a result of rising sea levels. Indonesia is at high risk of coastal erosion. The purpose of this study was (1) to detect coastline changes and their effects on land use and cover in Subang, Indonesia, and (2) to identify priority regencies for coastal protection against sea level rise around Java, Indonesia.

(1) **Coastline changes and their effects on land use and cover in Subang, Indonesia**

It is important to understand the current status over a large area in order to devise protection strategies. This study measured the coastline changes and examined the affected land use and cover in Subang, Indonesia, using Landsat images from 1990 and 2018. The modified normalized difference water index (MNDWI) was used to separate the water and non-water features of the images, and land use and cover were classified using object-based image analysis based on the red, green, and blue bands and normalized difference vegetation index (NDVI). The results revealed considerable coastal erosion in

Legonkulon. In the most extreme case, the coastline had moved 2361.46 m inland, and the total area lost to erosion was 1012.25 ha. This area was mostly covered by fishponds (983.34 ha) in 1990. Given that the fishery sector is the main livelihood of communities in the study area, the disappearance of fishponds might have affected their income and worsened their poverty. We found marked coastal accretion in Blanakan. In the most extreme case, the coastline had moved 1695.61 m seaward from 1990 to 2018, adding a total area of 1856.62 ha. The new areas were used as fishponds (1738.95 ha) in 2018. Although the accretion exceeded the erosion, the distributions differed regionally. Therefore, a regional protection strategy is necessary.

(2) **Identifying priority regencies for coastal protection around Java, Indonesia**

The selection and concentration approach should be applied to minimize the costs of conservation when budgets are limited. Prioritizing is then effective in terms of cost effectiveness. We aimed to identify priority areas for coastal protection against sea level rise around Java, Indonesia, using the Marxan model. The model uses systematic planning to select prioritized areas for coastal protection. Three scenarios were developed based on ecological,

economic, and disaster elements that were exacerbated by sea level rise. A scenario is defined as a particular simulation circumstance based on assumptions about extrinsic drivers, parameters, and the structure of the model. Coastline length, mangrove coverage, low-elevation area, fishpond area, human settlement area, and the area of zones with the potential for annual rainfall increases acquired from DIVA-GIS and WorldClim were set as environmental factors. There were 60 areas facing the coast among 117 areas. For those protection, it

would be fairly costly. We were able to narrow that number down from 18.8% to 62.4% from 117 areas using our method. This might become very cost effective. The most prioritized areas were located in the northern region of Java. These areas can be a focus of preferential effort and funding for conservation. The results of this study will help to make the protection strategy based on not only the magnitude of damage but also the total perspective using public data that is relatively easy to obtain.