

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	尾島 望美 (Miriam Nozomi Ojima)
論文題目	APPLICATION OF ECOLOGICAL THEORIES TO THE GUT MICROBIOME AND BIFIDOBACTERIAL COMMUNITIES (腸内細菌叢およびビフィズス菌群集への生態学的理論の適用)		
(論文内容の要旨)			
<p>近年、腸内細菌が宿主の健康に生涯にわたって影響を及ぼすことが明らかとなっており、特定の細菌種や遺伝子のみならず特定の代謝物を宿主の疾患と関連付けようとする統合オミクス研究が盛んに行われている。しかしながら、そもそも腸内細菌叢がどのようにして形成されるのか、また形成された後に外部環境に応じてどのように維持あるいは変化するかについては不明な点が多く残されており、それらを理解した上でなければ腸内細菌の役割をライフステージと関連付けて研究することは困難であると思われる。本論文の著者は、腸内細菌叢の全体像を把握するには、これをエコシステムとして捉えるアプローチが不可欠であると考えた。すなわち、腸内細菌叢の形成機構および維持機構について生態学的理論を適用させて理解することを試みた。</p> <p>本論文の前半部分では、ヒト乳児腸管において優勢となる <i>Bifidobacterium</i> 属細菌のうち主要な4菌種を用いて、先住効果とそのコミュニティ形成に果たす役割を調べた。先住効果とは、種の移入時期の違いによって最終的に形成されるコミュニティの種構成が異なる現象をさす。母乳オリゴ糖 (人乳に含まれており <i>Bifidobacterium</i> 属細菌が特異的に資化可能な糖質) を単一炭素源として添加した培地に、<i>B. infantis</i>、<i>B. longum</i>、<i>B. breve</i> および <i>B. bifidum</i> を様々な順序で導入し、母乳オリゴ糖資化様式を調べると共にコミュニティ形成の変化を経時的に調べた。得られた結果を生態学的手法で解析した結果、ゲノム情報や単一菌種での培養試験から予測されたコミュニティとは異なり、最も母乳オリゴ糖資化能の低い菌種である <i>B. breve</i> が多くの場合においてコミュニティ内の優勢種となること、また優勢種とならない場合でも培養終了時まで一定の割合で生存し続けることが明らかとなった。また、この現象には母乳オリゴ糖の構成単糖であるフコースが関与していることが示唆された。次に、他グループによって解析されたヒト乳児 (1、4、および12ヶ月) およびその母親 (分娩時) の糞便メタゲノムデータセットから <i>Bifidobacterium</i> 属細菌に該当するリードを種ごとに分類して抽出して多変量解析を行った結果、やはり <i>B. breve</i> が先住効果の恩恵を受けていることが強く示唆された。以上の結果から、乳児における腸内細菌叢形成の初期過程においては、先住効果が強い効果を及ぼしていることが明らかとなった。</p> <p>後半部分においては、外部環境の変化 (攪乱) が腸内細菌叢に与える影響について動物モデルを使用して解析した。具体的には3種の抗生物質の投与および中断・回復のステップを繰り返すことでマウス腸内細菌叢の攪乱を行った。なおこの際、攪乱後に糞便懸濁液やプロバイオティクス (<i>B. bifidum</i>) の投与を行い、コミュニティおよび宿主に与える影響についても解析した。その結果、抗生物質の種類によって多様性 (種の豊富さと均一性) の変化が大きく異なること、過去に同様の攪乱を経験していると多様性変化が減少すること、糞便投与が最も有効な回復手法であること、また、<i>B. bifidum</i> の投与は腸内細菌叢を回復させることなく宿主の炎症応答を抑制することが明らかとなった。これらの結果は、腸内細菌叢の攪乱に対する頑強性を示す一方で、脆弱性も示していた。</p> <p>以上の結果から、腸内細菌叢の形成機構や維持機構を理解する上で生態学的理論が有効に作用すること、また、それらの機構を支える分子基盤を解明する上でも有効に機能することが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

生態学は、もともと動物や植物などの比較的大きな個体を対象に発展した学問であり、微生物を対象とした場合でも多細胞体を扱う場合が殆どであった。しかし本論文は、生態学理論が腸内細菌叢の理解や解析にも適用可能であることを示すと共に、分子機序の解明にも繋がることを示した。

腸内細菌研究は、機器分析や情報処理の爆発的な発展に伴い、近年目覚ましい発展を見せている。初期においては、16S rRNA遺伝子配列による菌叢解析と宿主の健康・疾患をリンクさせる相関解析が主流であったが、現在では特定の細菌種や代謝物を同定して疾患に連結させることも可能となっており、腸内細菌は創薬の対象ともなり始めている。しかしながら、100種以上40兆個を超える腸内細菌叢が、どのようにして獲得され、またどのような競合および共生関係を経て安定化されるのか、さらに、安定な細菌叢が形成された後、どのように維持され、また外部環境によって影響を受けるかについては不明な点が多く残されている。乳児期の腸内細菌叢形成が宿主の成長後の疾患リスクに大きな影響を及ぼすことを考えると、菌叢形成やその維持の機序を理解することは重要な課題である。本論文では、これらの課題に取り組むために「先住効果」および「攪乱」と呼ばれる生態学理論をそれぞれ「乳児腸内におけるビフィズスフローラ形成」および「マウス腸内細菌叢の抗生物質投与に対するレジリエンス」に適用し、その解析手法の有効性を示した。特に前者においては、モデル菌種を用いた*in vitro*培養において得られた結果が、*in vivo*の結果にも当てはまることを示した点で特筆に値する。すなわち、乳児腸管に生息する主要な*Bifidobacterium*属細菌4種の母乳オリゴ糖利用をめぐる競合関係および共生関係を*in vitro*培養で調べ、その結果から*Bifidobacterium*属におけるコミュニティ形成には先住効果が大きな役割を果たしていることを示した。特に*B. breve*が先住効果の恩恵を強く受けており、それには母乳オリゴ糖資化の過程で他の菌種が培地中に遊離した、あるいは細胞内から排出したフコースが関与している可能性が高いことを明らかにした。その上で、ヒト乳児糞便メタゲノムデータセットから*Bifidobacterium*属細菌のリードを抽出して解析した結果、やはり乳児腸内におけるビフィズスフローラ形成において*B. breve*が先住効果の恩恵を受けていることが強く示唆された。*In vitro*と*in vivo*をつなぐこの成果は、腸内細菌研究におけるモデルケースになり得ると考えられる。また後半部分の動物実験においては、腸内細菌叢のレジリエンスが、攪乱の要因の例として取り上げた抗生物質の種類によって大きく異なることを示すと共に、プロバイオティクス投与が腸内細菌叢を変化させることなく宿主の炎症応答を抑制することを示した。今後、プロバイオティクスの作用機序を解明する上で重要な情報である。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、細菌生態学研究分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見もしくは概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認められた。更に、令和3年1月21日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認められた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日