



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                               |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Community structure, function, and dynamics of sea cucumber gut microbiome [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 山崎, 耀平                                                                                                                                        |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                         |
| Degree Name         | 博士(水産科学)                                                                                                                                      |
| Dissertation Number | 甲第13886号                                                                                                                                      |
| Issue Date          | 2020-03-25                                                                                                                                    |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/77849">https://hdl.handle.net/2115/77849</a>                                                             |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                       |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                               |
| File Information    | Yohei_Yamazaki_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                              |



# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：山 崎 耀 平

審査委員

|       |         |
|-------|---------|
| 主査 教授 | 尾 島 孝 男 |
| 副査 教授 | 澤 辺 智 雄 |
| 副査 助教 | 美 野 さやか |

## 学 位 論 文 題 目

Community structure, function, and dynamics of sea cucumber gut microbiome  
ナマコ消化管マイクロバイオームの群集構造、機能およびダイナミクス

ナマコ類は、組織・器官再生能の高さ、摂餌行動に伴う活発な底質の攪拌・浄化・物質循環への寄与、および 70 種以上の食用としての漁獲など、生物学・生態学・水産学のいずれの観点からも重要な海洋生物種である。その一方で、乱獲による天然資源の枯渇が危惧され、ナマコの増養殖技術の開発も進んでいる。しかし、種苗生産過程で生じる疾病や成長格差などの諸問題の解決やナマコの自然界における食性の解明が進まず、新餌料開発を含む安定的かつ集約的な増養殖技術の開発にはさらなる知見の集積が必要である。近年、動物の消化管微生物叢が食餌の分解・吸収、免疫系、脳や行動にまで重大な影響を与えることがわかり、動物の生理・生態の理解に必須の要素として認識されつつある。本研究では、希少な野生ナマコ個体を生かしたまま、個体ごとに、消化管微生物叢の構造・機能・ダイナミクスを解析する方法論を構築し、理解を深めることを目的とした。特に評価される成果は以下の通りである。

1. 養殖マナマコを対象に、ナマコを殺すことなく個体ごとに消化管微生物叢を解析するメタゲノム解析の方法論を構築し、マナマコの成長格差と消化管微生物叢の関連性を検討した。成長の良い群と悪い群の糞便微生物の群集構造をメタ 16S 解析により比較した結果、前者には *Rhodobacterales* や *Desulfobacterales* など占有率が有意に高い細菌群が観察された。次に、メタゲノム解析により遺伝子機能の比較を進め、成長の良い個体にはポリヒドロキシ酪酸（PHB）代謝に関わる遺伝子を持つ細菌の頻度が有意に高く、この配列の多くが *Rhodobacterales* に由来することを示した。実際にマナマコの糞便から PHB を生産する *Rhodobacterales* 細菌も分離した。PHB は主に細菌が炭素源の豊富な環境下で蓄積する細胞内顆粒である。アルテミアやチョウザメなどでは成長促進効果も報告されていることから、PHB を生産する *Rhodobacterales* がマナマコの成長格差の一因である可能性を示唆した。

2. メタ 16S 解析を用い、自然界での野生ナマコの消化管細菌叢の季節変化、形成過程、およびホストの生態学的機能への影響を検討した。その結果、一年間を通してマナマコの糞便と堆積物の細菌叢は有意に異なること、さらに両細菌叢は季節ごとに連動して変化することを示した。また、糞便から検出された細菌配列のほとんどが堆積物のそれと共通しているが、糞便細菌叢の多様性は堆積物のそれよりも有意に低く、中でも *Vibrionales*, *Rhodobacterales* および *Flavobacteriales* の糞便における占有率が堆積物のそれよりも上昇したことから、マナマコの糞便細菌叢は堆積物細菌叢に由来する特定の細菌群がエンリッチされていることを示唆した。南方性のナマコ類においても、上述の形成過程が支持され、ナマコ類に普遍的であると考えられた。さらに、炭水化物代謝や異物代謝などの有機物分解ポテンシャルが堆積物よりも糞便細菌群で有意に高いことが示された。したがって、ナマコが摂餌と排泄を繰り返し、消化管内で連続的に堆積物由来の特定の細菌のエンリッチメントが起き、有機物分解が促進され、底質浄化や物質循環などに寄与しているものとする。

3. 細菌叢解析に用いた同一のデータセットを用い、真核生物群集のダイナミクスと食性指標としての有効性を検討した。細菌叢とは異なり糞便と堆積物間の真核生物群集の差異は有意でなかったが、季節変化は同様であった。また、マナマコの摂餌選択性の指標として堆積物よりも糞便で占有率が高くなる真核生物を推定した結果、*Chaetocerotaceae* や *Laminariaceae* を好んで食べている可能性が見いだされた。興味深いことに、*Laminariaceae* に帰属するほとんどの藻類はマコンブであり、このことはマコンブがマナマコの成長に最も好適な餌の一つとして利用されていることと一致した。

4. 最後に、ナマコの消化管再生過程における微生物叢のダイナミクスを解析した。野外実験系では、ナマコの消化管微生物叢は消化管吐出後 3~4 か月で完全に再生され、消化管微生物叢も復元されていた。より短時間の微生物叢変化を調べるために室内実験系を構築し検討したところ、早いものは消化管除去から約 15 日後にはナマコの消化管が再生し、糞便の排泄が再開された。個体ごとに消化管再生と消化管微生物叢の復元過程は異なっていた。しかし、いずれの消化管再生個体とも、消化管再生直後に、*Alteromonadaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Oceanospirillaceae* に属する細菌群の占有率が上昇し、再生過程が進むにつれ減少したことから、ホストの消化管再生に寄与する細菌の存在を示唆した。

以上、ナマコを生かしたまま個体ごとに消化管微生物叢の構造・機能・ダイナミクスを調べることができる新しい方法論を構築し、ナマコホストと消化管微生物叢の相互作用に関する新知見を得た。その上、この方法論を室内のみならず野外でも実施可能な個体追跡実験系に展開させ、消化管再生に関与する微生物の存在を示唆した。これらの知見は、水産学、海洋微生物学および海洋微生物資源を活用した海洋生物工学の分野の進展に貢献し、これを活用したナマコの増養殖の新技术の構築にも資するものと考えられた。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。