

希少野生動物保全のための 腸内細菌研究¹

Intestinal Microbiology for Conservation of Endangered Species

土田 さやか²
Sayaka Tsuchida

動物の腸内には腸内細菌が棲息しており、例えばヒトの場合、その数は1000種類以上500兆から1000兆匹にもなるといわれている。ゲノム数で考えると、我々ヒトは1ゲノムだが、我々の腸内に棲み着いている腸内細菌のゲノムは少なくとも1000ゲノムということになり、細菌1ゲノムあたりの遺伝子数ははるかに少ないものの、腸内細菌全体を考えると宿主の遺伝子数をはるかに凌駕する。食べ物の消化や免疫賦活によって、宿主の健康維持に役立っているという腸内細菌の機能は古くから知られているが、最近の研究では経口摂取した薬が腸内で代謝される際に、どのような腸内細菌を有しているかによって薬の効果が異なるという結果や、腸内細菌の代謝産物が脳に影響をおよぼし、個人の性格を決定するという報告もある。それゆえ近年では、腸内細菌を動物の一器官「Organ」と捉える考え方が定着するようになってきた。動物は、もはやその動物の細胞だけで構成されているのではなく、体内に棲息する細菌も含

めた超生命体「Super-organism」であるという提案も受け入れられるようになってきた。

こうした動物の生存を保証する腸内細菌は動物種ごとに異なっており、その動物固有の「共生腸内細菌」として長い年月をかけ宿主動物と腸内細菌は共進化してきたと考えられる。ある動物種を特徴づける「共生腸内細菌」の解明には、野生動物の腸内細菌研究が不可欠である。なぜなら動物の腸内細菌は、飼育下ではなく野生環境下でそれぞれの動物に適応・進化してきたからであり、人に飼育されることにより、その動物本来の腸内細菌を失ってしまうからである。

ゴリラにはゴリラの乳酸菌

1000種を超える腸内細菌の中で、乳酸菌はその保健効果から最も研究が進んでいる腸内細菌のカテゴリーである。ところで、これまでの腸内細菌学の対象は、産業的な価値を持つヒトとわずかな種類の家畜や実験動物に限定されてきた。乳酸菌研究もほとんどがこれらの動物種に限定されてきた。その制限を超える研究はほとんどないが、宿主によって腸内の乳酸菌の種構成が大きく異なることを光岡と金内らが明らかにしている(Mitsuoka and Kaneuchi, 1977)。残念ながら飼育下の動物のみが対象であるが、それによると動物の腸内に共生している乳酸菌種の違いから、動物を「ビフィズス菌(*Bifidobacterium*)型」と「乳酸桿菌(*Lactobacillus*)型」に大別することができることとされており、我々ヒトは「ビフィズス菌(*Bifidobacterium*)型」に分類され、乳酸桿菌よりもビフィズス菌優勢な腸内細菌叢と共生している。一方、ネズミやブタなどは「乳酸桿菌(*Lactobacillus*)型」に分類されている。しかし、なぜ動物種によって乳酸菌の型が異なるのかと

1 本稿は2019年7月4日(木)本学神戸三田キャンパスでの講演をもとにしたものである。

2 中部大学 創発学術院 特任講師

という問いに答えは見つかっていなかった。そこで、「ヒト科の動物と乳酸菌の共進化」に注目してビフィズス菌の研究をされていた牛田一成教授の研究室(当時、京都府立大学大学院、現在、中部大学)で「宿主と腸内細菌の共進化」の研究を始めた。牛田教授は飼育チンパンジーと野生チンパンジーのビフィズス菌の研究から、飼育されるとチンパンジー本来のビフィズス菌を失ってしまうという発見をされており(Uenishi *et al.* 2007)、宿主と腸内細菌の共進化機構を解明するのであれば、動物本来の姿である「野生」を研究する必要があるという考えをお持ちだった。私は2011年から中央アフリカ、ガボン共和国のムカラバ・ドゥドゥ国立公園で野生ニシローランドゴリラを対象に、2015年には東アフリカ、ウガンダ共和国のブウィンディ原生国立公園で野生マウンテンゴリラを対象に乳酸菌研究を始めた。実験室ではなく電気や水道、ガスが利用できない野外で細菌を分離・培養するという試みは、いろいろな工夫を重ねながら徐々に完成形に近づき、嫌気性菌(酸素に暴露されることで死滅する菌の総称)であるビフィズス菌を効率よく分離できるまでになった。

こうした地道な野外調査の結果、ビフィズス菌に関しては、ムカラバ・ドゥドゥ国立公園の野生ニシローランドゴリラから未知のビフィズス菌である *Bifidobacterium moukalabense* を分離し、新菌種として発表することができた(Tsuchida *et al.* 2014a)。同時に、飼育個体もこのビフィズス菌を腸内に共生させているのかを確かめるために、京都市動物園と東山動物園の飼育ニシローランドゴリラを対象に腸内ビフィズス菌探索を行った結果、*B. moukalabense* は野生個体にのみ共生していることが明らかとなった。野生ニシローランドゴリラに特徴的な *B. moukalabense* とヒトに特徴的なビフィズス菌のゲノムを比較してみたところ、*B. moukalabense* は繊維分解能や、アミノ酸の代わりに核酸を代謝する能力に長けているこ

とが示唆された(Segawa *et al.* 2019)。野生下ではニシローランドゴリラはごく稀に昆虫を食べることがあるが、果実や草本・葉っぱなどを主食としており、タンパク質や脂質が不足する可能性がある。そのため、*B. moukalabense* は食べ物に含まれる繊維を効率よく分解し、速やかに核酸を代謝し自身の増殖のための窒素源を確保するという能力を身につけることによって、野生ニシローランドゴリラの腸内環境に適応したのではないかと考えられた。

一方乳酸桿菌に関しては、飼育および野生ニシローランドゴリラと野生マウンテンゴリラに共通する未知の乳酸桿菌である *Lactobacillus gorillae* の分離に成功し、新菌種として発表した(Tsuchida *et al.* 2014b)。ニシローランドゴリラはニシゴリラに属しており、マウンテンゴリラはヒガシゴリラに属している。前述のビフィズス菌は飼育されると失われてしまうが、この *L. gorillae* は飼育されても失われることなく、ゴリラという特定の宿主の腸内に頑強に住み続け、まさにゴリラの一部であるといっても過言ではない腸内細菌であった。ところで、見つけた *L. gorillae* の系統分析を行うと野生のニシゴリラでは野生型の *L. gorillae* のみが検出されるのに対し動物園の飼育ニシゴリラでは、野生型と性質の異なった飼育型 *L. gorillae* が野生型に加えて見つかった。飼育型 *L. gorillae* は、食塩耐性が高いなどの特徴があり、飼育されている間の食事に適応し始めていることが推測された(Tsuchida *et al.* 2018)。また、ヒガシゴリラ由来の *L. gorillae* は、ニシゴリラ由来の *L. gorillae* と遺伝子の構成や配列が異なっていた。それぞれの宿主であるニシゴリラとヒガシゴリラは、化石とゲノムデータから約175万年前に別れたと推測されているので、175万年の間にニシとヒガシで異なる食環境(前者は低地の木本、後者は高地の草本)に適応してきたと考えられる。一方で、数世代人間に飼育され

ることによってもたらされた食塩の多い腸内環境に速やかに適応を始めており、細菌の適応力の高さを示すものでもある。しかし、このように性質が迅速に変化してもゴリラの腸内ではあくまでも*L. gorillae*のままである必要があったことが面白い。

希少種保全に役立つ共生腸内細菌研究

こうして採取した動物種固有の「共生腸内細菌」は、彼らが野生下で生活するために必要不可欠であるが、これまでの研究結果から人に飼育されると失われてしまう場合が多い。現在動物園では「種の保存」を目的として、様々な希少動物を飼育繁殖しており、この活動の最終目標は、人工下で繁殖した動物による野生群の回復である。しかし前述の通り、飼育されると野生下の生活に必要な腸内細菌を失ってしまうため、野生復帰個体群を飼育下で創出・維持するためには飼育下で野生型腸内細菌を再現する必要がある。

我々が行なっているニホンライチョウの研究を例にとると、ニホンライチョウは野生下では高山植物を主食としており、この高山植物には、難消化性の食物繊維やタンニンなどの反栄養物質に加え、毒素も含まれている。野生ニホンライチョウは、こうした物質を彼らの腸内細菌で解毒分解し効率よく消化吸収しているが、飼育下では毒素を含まない小松菜などの野菜と草食動物用ペレットを主食としているため、解毒分解に寄与する腸内細菌を失っているということがわかってきた(Tsuchida *et al.* 2017a, 2017b)。加えて、飼育下個体の感染症による高い死亡率や過体重による脚障害も飼育型腸内細菌と飼育下の食べ物によるものだという事も明らかになってきた。現在我々は飼育下個体に野生個体由来の腸内細菌を投与し、野生型腸内細菌の再現を試みており、野生下での食べ物に多く含まれるタンニンと野生個体由来腸内細菌を同時に投与することで、死亡率およ

び過体重による健康障害を抑制することに成功している。

同様に、レッドリストのVU種(危急種)に指定されているレッサースローロリスに関しても保全に役立つ腸内細菌研究を始めている。野生下では難消化性の食物繊維であるアラビアガムや昆虫を主食としているが、飼育下ではサル用ペレットと果物、昆虫を主食として給与されており、口腔疾患や消化器疾患が多く報告されている。こうした飼育下特有の疾患を、食事と腸内細菌の改善から抑制する試みを京都市動物園や日本モンキーセンターと協力して始めたところである。

我々の研究は、野生動物を追って排泄したの糞便を採取し、そこから腸内細菌を分離、同定し、その性質を明らかにするという古典的かつ地道な研究である。しかし、そうして見つけた野生生活を可能にする能力を持つ腸内細菌は、希少動物の保全、特に野生復帰個体群の創出に役立つことができる。地球規模では2019年現在、28,338種にもおよぶ絶滅危惧種が認定されており、これらに対する早急な保全・保護が必要とされている。我々の腸内細菌研究が、希少野生動物の保全・保護研究として活用されることにより、少しでもこうした絶滅に瀕した動物たちの個体数回復に寄与できればと願っている。

参考文献

- Mitsuoka, T., Kaneuchi, C. 1977. Ecology of the bifidobacteria. *Am J Clin Nutr.* 30: 1799-1810.
- Uenishi, G., Fujita, S., Ohashi, G., Kato, A., Yamauchi, S., Matsuzawa, T., Ushida, K. 2007. Molecular analyses of the intestinal microbiota of chimpanzees in the wild and in captivity. *Am J Primatol.* 69: 367-376.
- Tsuchida, S., Takahashi, S., Nguema, PP., Fujita, S., Kitahara, M., Yamagiwa, J., Ngomanda, A., Ohkuma, M., Ushida, K. 2014a. *Bifidobacterium moukalabense* sp. nov. isolated from the faeces of wild western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) in Gabon. *Int J Syst Evol Microbiol.* 64: 449-455.

- Segawa, T., Fukuchi, S., Bodington, D., Tsuchida, S., Mbehang Nguema, PP., Mori, H., Ushida, K. 2019. Genomic Analyses of *Bifidobacterium moukalabense* Reveal Adaptations to Frugivore/Folivore Feeding Behavior. *Microorganisms*. 4:7(4) pii: E99. doi: 10.3390/microorganisms7040099.
- Tsuchida, S., Kitahara, M., Mbehang Nguema, PP., Norimitsu, S., Fujita, S., Yamagiwa, J., Ngomanda, A., Ohkuma, M., Ushida, K. 2014b. *Lactobacillus gorillae* sp. nov. isolated from the faeces of captive and wild western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). *Int J Syst Evol Microbiol*. 64:4001-4006.
- Tsuchida, S., Kakooza, S., Mbehang Nguema, PP., Wampande, EM., Ushida, K. 2018. Characteristics of Gorilla-Specific *Lactobacillus* Isolated from Captive and Wild Gorillas. *Microorganisms*. 14:6(3) pii: E86. doi: 10.3390/microorganisms6030086.
- Tsuchida, S., Murata, K., Ohkuma, M., Ushida, K. 2017a. Isolation of *Streptococcus gallolyticus* with very high degradability of condensed tannins from feces of the wild Japanese rock ptarmigans on Mt. Tateyama. *J Gen Appl Microbiol*. 11:63(3):195-198.
- Tsuchida, S., Ohara, Y., Kuramochi, K., Murata, K., Ushida, K. 2017b. Effective degradation of phenolic glycoside rhododendrin and its aglycone rhododendrol by cecal feces of wild Japanese rock ptarmigans. *Jpn. J. Zoo Wildl. Medicine* 22: 41-45.