TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

クルマエビ類と微生物叢の関係に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 今泉, 健太郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2467

［課程博士］（博士論文審査及び最終試験の結果要旨）

学生氏名：今泉 健太郎

博士論文題目：クルマエビ類と微生物叢の関係に関する基礎的研究

博士論文審査：

申請者から提出された論文については審査委員と申請者の間で質疑応答が行われ、一部修正が行われた。公開発表会は 2022 年 2 月 14 日に実施され、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。

クルマエビ類養殖は最も甚大な魚病被害を受けてきた養殖産業の一つであり、効果的な感染症防除法の開発が求められている。水中に棲むクルマエビ類は、環境中の微生物群に絶えず曝されており、宿主免疫系、病原微生物および養殖環境の包括的な理解を深める必要がある。そこで本研究は、クルマエビ類を取り巻く微生物群とエビの関係に関する基本的な知見を得ることを目的とした。

まず、バナメイエビの胃と中腸およびクルマエビの胃内容物と中腸内容物（糞便）について次世代シーケンサーを使用した網羅的な16S rRNA遺伝子解析を行った。バナメイエビおよびクルマエビの胃ないし胃内容物の細菌組成は中腸あるいは糞便の細菌組成と比較して、顕著に多様性が高かった。クルマエビ類では、胃酸が存在しないことや後述の構造的な特徴などに起因して消化管の上流に当たる胃内の細菌組成の多様性が高くなっているものと考えられた。

次に、タイ国南部スラーターニーのバナメイエビ養殖場にてサンプルを採取し解析した。バナメイエビ養殖池の細菌叢はサンプル採取期間を通して比較的に安定していた。また、サンプル採取地点の影響はほとんどなく、表層水の細菌は一様に分布していると考えられた。これらについて主座標分析を行うと、池の水の細菌叢が池ごとに異なり、また、各池の細菌叢が連続的に変化していたことが明らかとなった。これとは対照的に、池の水の真核微生物叢は 1 日から 2 日程度の短期間で急速に変化していた。バナメイエビの胃および中腸の細菌叢は池ごとにその傾向が異なり、特に、一方の池のエビの胃で優占種となっている特徴的な細菌が見出された。バナメイエビの胃および中腸の細菌組成は水中の細菌組成と大きく異なり、クルマエビ類の消化管内に特有の細菌叢が形成されていることが示唆された。

昆虫類では、中腸で合成されたキチンをもとにして薄膜が形成され、これが腸管内容物をチューブ状に包み込んで排泄されることが知られている。しかしながら、クルマエビ類の消化管におけるキチン合成と囲食膜についてはほとんど研究が行われていない。そこで、クルマエビの囲食膜の組織学的な観察とキチン合成酵素遺伝子の解析を行った。腸管内容物は薄膜によって腸上皮から隔離されていることが確認された。キチン合成酵素mRNAはクルマエビの体サイズを問わず中腸および肝膵臓で恒常的に検出され、囲食膜形成に関与していることが示唆された。クルマエビの腸上皮と腸内容物は囲食膜によって物理的に隔てられており、腸管内に細菌が定着することは困難であると考えられた。エビの腸内細菌として従来解析されてきたものは、摂食された餌料等とともに消化管内に侵入した細菌や胃などの消化管上流部位から流出した細菌が、消化物とともに腸管内腔を通過しているものであると考えられた。

甲殻類を含む節足動物の粘膜器官においてその細菌叢がどのように制御されているかは未だ明らかでない。そこで、クルマエビの C 型レクチン MjGCTL に着目した解析を行った。MjGCTL をノックダウンした試験区は、コントロールおよび接種前個体群とはエラ細菌叢が異なる傾向が認められた。しかしながら、胃細菌叢に顕著な変化は認められなかった。さらに、MjGCTL をノックダウンしたクルマエビは、コントロールと比較して、エラ黒病原因菌に対する感受性が増加した。

クルマエビ類では消化管内に特有の細菌叢が形成されており、特に胃内の細菌叢が多様であること、腸管に囲食膜を形成すること、自然免疫系による粘膜器官の細菌叢制御が行われている可能性が示され、本論文は新規性の高い優れた論文であると思われる。以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

最終試験の結果要旨：

最終試験は 2 月 14 日に行われた。まず、学術論文は第 1 著者(Imaizumi K, Tinwongger S, Kondo H, Hirono I. (2021) Analysis of microbiota in the stomach and midgut of two penaeid shrimps during probiotic feeding. Sci Rep. 11: 9936. doi: 10.1038/s41598-021-89415-w.)として公表済みであるとともに、国際学会での発表が 2 回あることと合同セミナーは企業型セミナーを履修していること確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した方法により剽窃のチェックを行った結果、問題は認められなかった。学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議で、英語で発表しており、英語の学力については問題ないと判断した。また、申請者に対して、論文内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開発表会(2 月 14 日)当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。