

## Studies on Dysbiosis of Gut Microbiota in *Drosophila*

関原, 早苗

<https://doi.org/10.15017/1806833>

---

出版情報 : 九州大学, 2016, 博士 (理学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 : 全文ファイル公表済

氏名	関原早苗					
論文名	Studies on Dysbiosis of Gut Microbiota in <i>Drosophila</i> (ショウジョウバエ腸内細菌の共生の破綻に関する研究)					
論文調査委員	主査	九州大学	職名	教授	氏名	川畑 俊一郎
	副査	九州大学	職名	教授	氏名	石原 健
	副査	九州大学	職名	准教授	氏名	小柴 琢己

## 論文審査の結果の要旨

哺乳類の腸管には 100 種類以上の腸内細菌が共生しているが、ショウジョウバエには 5 種類程度の腸内細菌しか存在しないことから、腸管免疫と腸内細菌叢の研究に適したモデルとして注目される。トランスグルタミナーゼ (TG) はタンパク質間の架橋反応を触媒し、血液凝固、皮膚形成、細胞外マトリクス形成などに必須の酵素である。ショウジョウバエの TG 遺伝子はゲノム上に 1 つ存在し、TG の機能解析の目的で遺伝子ノックダウンハエを作製した。TG ノックダウンハエの生存率はコントロールハエと比較して有意に減少し、無菌飼育下の正常ハエに TG ノックダウンハエ由来の腸管破砕液を経口摂取させると、生存率が著しく低下することが確認された。そこで、次世代シーケンサーを用いて、腸内細菌叢の 16S rRNA (V4 領域) の解析を行った。羽化後 0.5 日目のコントロールハエでは *Acetobacter* 属が 92% を占め、残り 8.0% を *Providencia* 属が占めた。一方、TG ノックダウンハエでは、全体の 77% が *Providencia* 属、22% が *Acetobacter* 属であった。また、羽化後 10 日後のコントロールハエでは 100% を *Acetobacter* 属が占め、TG ノックダウンハエでは、*Providencia* 属が 49%、*Acetobacter* 属が 48% とほぼ 1 : 1 の比率となった。さらに、羽化後 10 日後のノックダウンハエから 4 つの菌株 (SK1~SK4) を単離して、16S rRNA の全長配列比較により、*A. persici* SK1、*A. indonesiensis* SK2、*Lactobacillus pentosus* SK3、*P. rettgeri* SK4 を同定した。羽化後 10 日後のコントロールハエからも SK1 株と SK3 株を得た。

ショウジョウバエ腸管において主要な免疫反応は、抗菌ペプチドおよび活性酸素種 (ROS) による殺菌である。これまで、通常飼育ノックダウンハエでは、腸管での抗菌ペプチドの産生量が著しく増加することが判明している。得られた 4 株の細菌について、抗菌ペプチド耐性と ROS 耐性を比較した。その結果、推定に反して SK4 株は抗菌ペプチド・ROS の両方に対して耐性が低いことがわかった。これらの結果は、腸内細菌は腸内環境に順応する過程で、試験管の中とは異なる挙動を示している可能性が示唆された。次に、無菌飼育した正常ハエに単離した 4 株を長期経口感染させる実験を行った。その結果、無菌バエに SK1 株と SK4 株を 1 : 1 の比率で感染させると生存率が菌株を単独で感染させたハエよりも減少することが判明した。また、SK1 株と SK4 株の組み合わせによる長期感染が腸管上皮細胞のアポトーシスを異常亢進した。したがって、TG ノックダウンは腸内細菌叢を大幅に変化させること、菌株の組み合わせが腸管のアポトーシスを誘発することで宿主を死に至らせることが明らかとなった。

以上の結果は、TG の機能低下が腸内細菌叢を変化させ、宿主との共生関係を破綻させることを初めて示した研究であり、自然免疫学の分野において価値ある業績であると認められる。よって、本研究者は博士 (理学) の学位を受ける資格があるものと認める。