

大学院教育支援機構（DoGS）海外渡航助成金 報告書

Outcome report

計画名 Plan	腸内細菌の発酵実験の習得と台湾ザル調査候補地の予備調査
氏名 Name	南川未来
研究科・専攻・学年 Graduate school/Division/Year level	理学研究科・生物科学専攻・修士課程1年
渡航国 Country	台湾
渡航日程 Travel schedule	2023年 12月 23日 ~ 2024年 1月 17日

- ページ数に制限はありません。No limits on the number of pages
- 写真や図なども組み込んでいただいて結構です。You can include pictures or illustrations.
- 各項目について具体的に記述してください。Please fill in each item specifically.
- 日本語または英語で記載ください。Please use Japanese or English.

渡航計画の概要 Outline of the travel plan

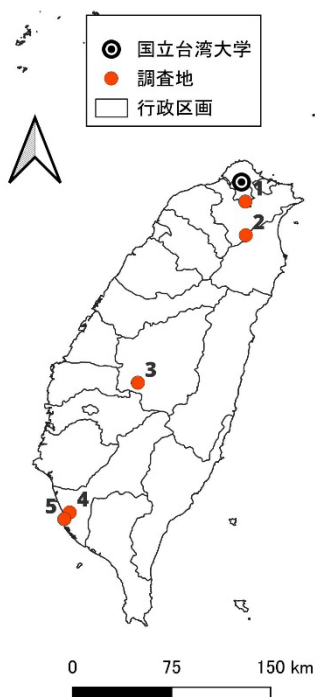


図1. 調査地地図

本渡航では、(1)共同研究者であり現在国立台湾大学の教員である Wanyi Lee 氏に実験方法を学びに行くことと、(2)野生台湾ザルの予備調査として台湾の調査地を回り、腸内細菌の DNA サンプルを採集すること、(3)果実のエタノール含有量測定の大きく分けて3つの目的で調査を行った。私自身の修士課程の研究として「アフリカに生息する野生大型類人猿2種（ゴリラ・チンパンジー）の腸内細菌叢とその発酵能力の比較」をテーマに掲げており、2024年2月にアフリカのガボン共和国に渡航し、糞便試料を用いた発酵実験と DNA 分析、そして腸内細菌によって産生された短鎖脂肪酸の分析を行う予定にしている。Lee 氏はマレーシアのボルネオにおける野生オランウータンや、国内の動物園のゴリラ、チンパンジー、ボノボ、そして研究協力者のヒトの糞便サンプルで同じ方法を用いて研究を行っていた。目的(1)として、特に発酵実験に関しては Lee 氏が独自に手法を発展されたものであるため、その手法を学びに行った。目的(2)としては、野生の台湾ザルはニホンザルや類人猿と比べると先行研究が圧倒的に少なく、特に腸内細菌についてはまだ研究されていないことに着目し、各調査地で台湾ザルの糞便から DNA サンプルを採取した。目的(3)は 2023年11月から始まったカルガリー大学の Amanda Melin 氏との国際共同研究の一環で、各調査地で果実を

採集した。

成果 Outcome

各調査地は図1の通り、1. 台北市立動物園（訪問期間：12/25,30, 1/3,4,15）2. Fushan Botanical Garden (12/26-28), Yi Lan 3. Xitou Nature Education Area, Nantou (1/11-13) 4. Shoushan National Natural Park, Kaohsiung (1/8-10) 5. National Sun Yet San University, Kaohsiung

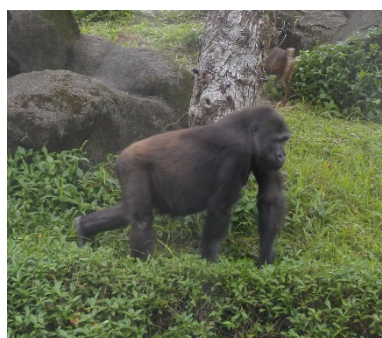


図2. 台北市立動物園の飼育ゴリラ

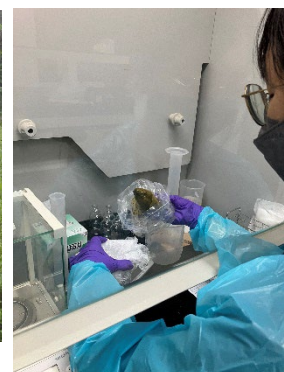
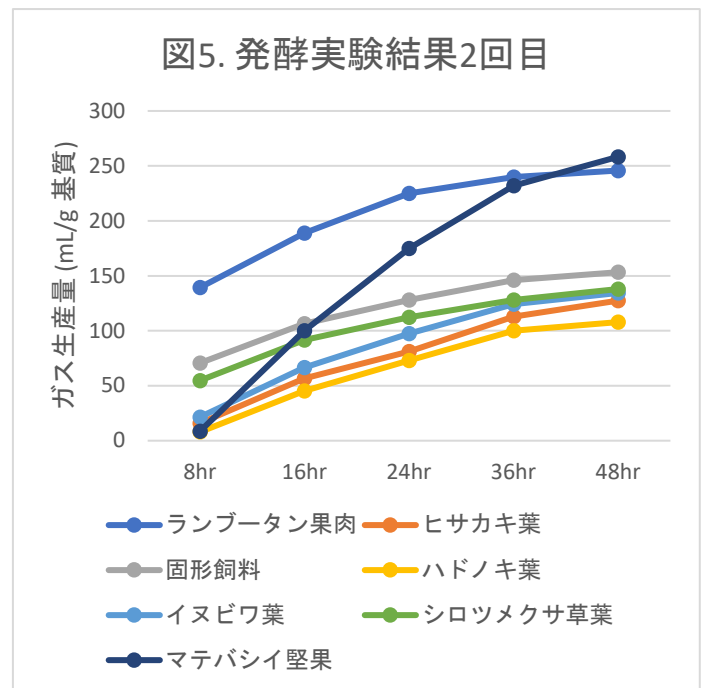
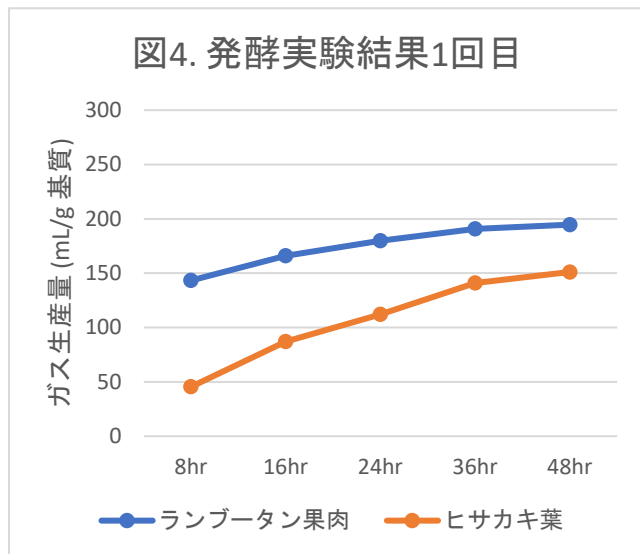


図3. 実験を教えてください Lee 氏

(1/9)を訪れた。目的(1)発酵実験の手法の習得では、Lee 氏と台北動物園の飼育員の皆さまのご協力のもと、飼育ゴリラの新鮮な糞便試料をご提供いただき、国立台湾大学の実験室で実験させていただいた。2 日間にわたって糞試料をご提供いただいたため、1 日目は Lee 氏に方法を教えていただき、2 日目は実際に自分で実験をした。事前にプロトコルはいただいていたが、細かい部分を直接ご指導いただけたのは大変ありがたかった。

今回は練習だったので DNA 分析と短鎖脂肪酸分析は割愛したが、発酵実験のガス生産量を実験開始 48 時間後まで測定し、飼育ゴリラの腸内細菌の発酵能力の目安とした。In vitro で腸管内の発酵を再現するため糞試料と混合する基質としては、Lee 氏がボルネオで使用していた、オランウータンが好んで採食するランブータン果肉と、我々の研究室ではニホンザルがよく研究されているため、ニホンザルが採食するもしくは支給されているヒサカキ葉、ハドノキ葉、イヌビワ葉、固形飼料、シロツメクサ草葉、マテバシイ堅果を用意した。1 回目の実験はいただいた糞試料の量が少なかったため 2 種類の基質でのみ実験を行った。



実験の結果は図 4, 5 のようになり、糖質を多く含むランブータン果肉やデンプンを多く含むマテバシイ堅果はガス生産量が多く、腸内細菌も消化しやすい基質であることが分かり、繊維質を多く含む葉はそれらに比べるとガス生産量が低く、消化しにくい基質であることが分かった。この結果は Lee 氏がこれまで行った発酵実験での結果と一致するものであり、Lee 氏の手法を習得できたといえる。2 月にはガボンに渡航し野生のゴリラ、チンパンジーで同実験を行い、今度は種間での発酵能力の違いを検証したいと考えている。



図 6. 糞便試料 DNA サンプル採取

目的(2)各調査地でのタイワンザルの糞便試料の DNA サンプル採取は最初に挙げた調査地すべてでサンプルを得ることができ、台北市立動物園の飼育タイワンザルで 5 個、Fushan の野生個体で 5 個、Xitou の野生個体で 10 個、Kaohsiung の一般の方により餌付けされてしまっている個体で 22 個の合計 42 個の糞試料サンプルを得ることができた。Kaohsiung では Lee 氏の友人もサンプルリングにご協力くださり、多くのサンプルを集めることができ、心から感謝している。



図7. Lee氏と友人たち



図8. 糞のサンプリングを手伝ってくださった。



図9. Kaohsiung の餌付けされているタイソンツル。少々乱暴で、果めた果実を奪われてしまったりもした。



目的(3)果実のエタノール測定では、各調査地で見つけた果実を採集し、Fushan で 18 サンプル、国立台湾大学のキャンパスで 34 サンプル、Kaohsiung で 31 サンプル、Nantou で 3 サンプルの合計 86 サンプルのエタノール含有量測定を行った。そのうち Fushan と Nantou のサンプルはすべてエタノール含有量は 0%だったが、国立台湾大学ではスターフルーツ、茄冬、オオバアコウ、クコ、カシワバゴムノキ、センダン、Kaohsiung ではセンダン、ガジュマル、コミカンソウ属、山猪枷でエタノールの含有が確認された。Fushan や Nantou は標高が高く気温も低かったが、台北は温帯、Kaohsiung は熱帯地域であるので冬でも暖かいことが関係しているかと思われる。果実の採集でも Lee 氏の友人の植物学者の方がご協力くださり植物の学名を教えてくださいました。台湾では各地でとても親切にいただき、私は中国語も喋られないため、Lee 氏にはありとあらゆる場面で助けていただいた。フィールドワークは自分一人ではなかなかできないことを実感し、多くの方にお世話になった。感謝してもきれません。



図10. 果実の採集

今後の展望 Prospects for the future

まずは目的(1)発酵実験の手法を習得できたので、2月にガボンで渡航した際は正確に実験を行い、Lee 氏のオラウータンでの実験結果とガボンのゴリラ、チンパンジーでの結果を比較したい。目的(2)各調査地の視察と糞 DNA 試料採取については多くサンプルを集めることが

できた。Lee 氏が 2019 年に飼育・餌付け群・農作物被害群・野生のニホンザルで腸内細菌叢を調べており¹、飼育個体群>農作物被害群>餌付け群>野生個体群の順でクラスター分けされたことが明らかになっている。この論文と台湾ザルでの結果を比較し、環境要因と遺伝的要因のどちらが腸内細菌叢の類似度に関連するのかを調べることもできるかもしれないと考えている。今回 Fushan の野生個体群と台北動物園の飼育個体のサンプルが少なめだったが、夏に Lee 氏が Fushan にもう一度訪問するとのことで、追加でサンプリングをお願いさせていただいた。また、飼育個体については日本の動物園で飼育されている台湾ザルでのサンプリングをお願いしてみてもいいかもしれない。今回の渡航をきっかけに腸内細菌の研究を発展させられたら嬉しく思う。

また、台湾ザルの糞試料を集めていて、Fushan や Xitou の野生個体の糞と餌付け個体の糞は明らかに見た目や匂いが違っており、野生個体の方が繊維質が豊富なようだった。やはり普段から採食している食物



図 11. 左が Xitou の野生個体の糞、右は Kaohsiung の餌付け個体の糞。野生個体の糞の方が緑色で繊維が見られ、牛糞のような匂いがした。

が異なり、効率よく短鎖脂肪酸などの栄養源を産生できるように腸内細菌叢もそれぞれの環境に適応している可能性がある。台湾ザルでも発酵実験を行っても面白そうだが、発酵実験は糞採取後 4 時間以内に実験を開始しなければならないため実

験設備をまず整える必要がある。実際行うとなると大掛かりにはなってしまうが、研究の可能性

の一つとして今後も考えたい。目的(3)果実のエタノール含有量測定については、冬にも関わらず期待以上にサンプルを集められた。測定機器を夏に Lee 氏に郵送したいと思っているので、台湾で果実が多く生る夏に改めて結果が確認できればより良いと思われる。

今回学んだ経験を今後の修士課程・博士課程のフィールドワークや研究に活かしていきたいと思うとともに、大変お世話になった Lee 氏をはじめ、台湾動物園の飼育員さんや Lee 氏のご友人とも今後も研究について進捗を報告しあい協力できる関係を続けていきたいと思う。

最後に、このような海外渡航の機会をくださった大学院教育支援機構 (DoGS) の皆さまに、心より感謝申し上げます。ありがとうございました。

¹ Lee W, Hayakawa T, Kiyono M, Yamabata N, Hanya G. Gut microbiota composition of Japanese macaques associates with extent of human encroachment. Am J Primatol. 2019;81:e23072. <https://doi.org/10.1002/ajp.23072>