

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ヒト細菌叢の個人特異性と常在因子の解明
Title(English)	A personality and commensal factors of human microbiome
著者(和文)	渡邊日佳流
Author(English)	Hikaru Watanabe
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11072号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山田 拓司,北尾 彰朗,伊藤 武彦,本郷 裕一,平沢 敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11072号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：	生命理工学	系	申請学位 (専攻分野)：	博士	(理学)
Department of, Graduate major in	生命理工学	コース	Academic Degree Requested	Doctor of	
学生氏名：	渡邊 日佳流		指導教員 (主)：		
Student's Name			Academic Supervisor(main)	山田 拓司	
			指導教員 (副)：		
			Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

地球上のほぼ全ての環境において、様々な種類の細菌が群集を形成している。それらは細菌叢と呼ばれ、細菌叢中にどのような細菌がどの程度存在するのかを示す系統組成は、16S ribosomal RNA (16S rRNA) 遺伝子系統解析によって明らかにできる。本手法は、異なる系統間で塩基配列の保存性が高いとされる細菌の 16S rRNA 遺伝子を特異的に増幅した後、次世代シーケンサーで解読し、得られた配列を用いて系統組成の推定を行う。特に、ヒトを宿主とする細菌叢はヒトの健康に大きく関与していると考えられ、腸内や皮膚を対象とした研究が多く報告されている。細菌叢の被験者間の差異と被験者内での経時的な安定性から、細菌叢は個人を識別することが可能なツールとしても注目されている。中でも、ヒト皮膚細菌叢の個人間の差異を調査した研究がいくつか報告されており、ヒト皮膚細菌叢を用いた個人特定手法の提案が多くなされてきた。しかしながら、ヒト皮膚細菌叢の系統組成を用いた個人特定において、どのような細菌が個人特定を可能としているのかについては明らかになっていない。本研究では、ヒト皮膚細菌叢の系統組成を用いた高精度な個人特定手法の開発と個人特定に重要な細菌の解明を目的とした。はじめに、ヒト皮膚細菌叢の系統組成を我々が独自に採取したデータと公開済みデータから推定し、高精度な個人特定手法の開発と、その高精度な個人特定に重要である細菌や系統組成の情報を明らかにした。

日本人 11 人 (男性 10 人、女性 1 人) の被験者の額から一年目と二年目に三回ずつサンプリングを行い、サンプルからの DNA 抽出、PCR による真正細菌由来の 16S rRNA 遺伝子の増幅、シーケンシングによる塩基配列の解読を行った。得られた 16S rRNA 遺伝子配列から信頼性の高い配列のみを用いて、相同性が 97%以上、アライメント長の被覆率が 80%以上で配列同士のクラスタリングを行い、計 66 サンプルの系統組成の推定を行った。得られた系統組成から、ヒト皮膚では *Propionibacterium* 属が優占することが明らかとなった。少ない相対存在量の細菌の差も反映する Canberra 距離を用いて、同じ被験者由来のサンプル同士と異なる被験者由来のサンプル同士の類似度を比較した結果、同じ被験者由来のサンプル同士の方が、異なる被験者由来のサンプル同士に比べ類似度が高いことが明らかとなった。本結果より、ヒト皮膚細菌叢の個人内での長期的および短期的な時間変化に対する変動は、個人間の違いに比べて微小であることが示唆された。ヒト皮膚細菌叢の個人内の安定性と個人間の違いを利用し、ヒト皮膚細菌叢の系統組成を用いた個人特定手法の開発を行った。本手法は、既知の被験者由来サンプルの系統組成を reference、未知の被験者由来サンプルの系統組成を query とし、query が由来する被験者の特定を行う。その精度は先行研究で報告された手法よりも高く、一年目に取得した 33 サンプルを reference とし、二年目に取得した 33 サンプルを query としたとき、85%の精度で被験者を特定することができた。さらに、公開済みの額の細菌叢 16S rRNA 遺伝子配列データ (89 人の被験者から取得された 837 サンプル) についても、leave-one-out 法にて 78%の精度で被験者を特定できた。高精度な個人特定手法に重要な要素を調査した結果、1) ヒト皮膚細菌叢の少ない相対存在量の細菌が重要であること、2) 一人あたりの被験者の reference 数は複数サンプル必要であること、の二点が明らかとなった。

個人特異性に寄与する細菌が関連する被験者の振る舞いや情報を明らかにするため、額、腸、手、舌の四体部位から取得された 16S rRNA 遺伝子配列データを公共データベースより取得し、系統組成推定を行った。得られた系統組成から各細菌の属を 1) 一般的に広い被験者で観測されるヒト常在細菌 General, 2) 特定の被験者で観測される個人特異的な細菌 Specific, 3) 一時的に観測された非ヒト常在細菌 Drifter、の 3 タイプへと分類し、各体部位における被験者が持つ個人特異的な細菌 Specific の属の数と被験者に結びついた 49 種類の被験者情報の関連性を調査した。結果、ヒト皮膚 (額、手) では、被験者が多くの Specific な属を多く持つ要因として、“犬の飼育”や“年齢”などが挙げられた。さらに、細菌の属の生息環境をまとめたデータベース Latent environment allocation (LEA)を用いて、Specific な属が生息する環境について集計を行った結果、ヒト皮膚では犬に関連した環境が多いことが明らかとなった。細菌のヒト常在因子の解明ため、ヒト常在細菌 General と非ヒト常在細菌 Drifter の機能遺伝子の比較解析も行った。結果、仮説を立てることができ機能遺伝子がいくつか挙がってきた。ここで挙がってきた遺伝子の有無がヒトへの常在性に関連するか否かを検証実験により証明することや、これらの機能の発生源を明らかにすることで、ヒト常在細菌の由来を議論することも十分に可能であると考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：生命理工学 系
Department of, Graduate major in 生命理工学 コース
学生氏名：渡邊 日佳流
Student's Name

申請学位(専攻分野)：博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員(主)：山田 拓司
Academic Supervisor(main)
指導教員(副)：
Academic Supervisor(sub)

要旨(英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Microbes live in the most of the habitable place in and on the earth (e.g. human skin gut, soil, sea etc.). Microbes make communities which are called microbiome. Using 16S rRNA gene sequencing, we can reveal bacterial composition in the environmental samples, which means what kind and how much of microbes existing in the samples. It was reported that microbiomes are different in each environment by the recent studies. Above all, the human microbiome is an interesting target to reveal the bacterial composition, because they are considered to be an important factor for human health.

So far, it was revealed that human microbiome can vary over time, and inter-individual variability of the microbiome is greater than the temporal variability within an individual. Especially, the skin microbiome has become a useful tool to identify individuals, and one type of personal identification using the skin microbiome has been reported in a community of fewer than 20 individuals.

However, it is unknown what kind of microbes enable personal identification using human skin microbiome. To address the personal identification of human skin microbiome, this study aimed to develop a new personal identification approach and reveal taxa living in human skin, which enable personal identification.

The personal identification method of this study could classify individuals with 85% accuracy beyond a one-year sampling period. Moreover, we applied our method to 837 publicly available skin microbiome samples from 89 individuals and succeeded in identifying individuals with 78% accuracy. According to taxa which enable personal identification using human skin microbiome, it is revealed that minor skin taxa strongly contributes to the effectiveness of personal identification.

In addition, this study focused not only human skin but also human gut and tongue. To understand why human microbiome contains the genus which is specifically observed in subjects, this study compare number of these genus in each subject with subject metadata (age, gender, frequency of taking a bath/pool). As a result, living with dogs and age were considered as a gain factor of the number of the genus which is observed specifically for subjects on the skin. Moreover, to understand why human microbiome lives in the human body, we compared functional genes between the human microbiome genus and not one. This comparison could list some of the bacterial functional genes which contribute to promoting factor of living in the human body.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。