

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：24302

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18608

研究課題名(和文) 竹食に特化したジェントルキツネザル：シアン化物解毒作用をもつ腸内細菌の特定

研究課題名(英文) Gut microbiota associated with possible cyanide detoxification by bamboo lemur

研究代表者

澤田 晶子 (Sawada, Akiko)

京都府立大学・生命環境科学研究科・研究員

研究者番号：10646665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：竹食に特化したマダガスカルジェントルキツネザル3種の糞から腸内細菌叢を調べ、採食パターンとの関連性を検証した。ヒロバナジェントルキツネザルの腸内細菌叢は他の2種とは大きく異なっており、これはヒロバナジェントルキツネザルがもっぱら有毒な竹ばかり採食していたことや、かたい部位(成熟葉や稈)を選択的に採食していたことが影響したと考えられる。有毒な竹への依存度の違いは毒成分(靑酸配糖体)摂取量の違いにつながり、ひいては腸内細菌叢形成に影響を与えている可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：We collected feces from three bamboo lemur species (*Haplemur griseus*, *H. aureus* and *Prolemur simus*) to examine their gut microbiota associated with very unique bamboo diets. *P. simus* showed significantly unique gut microbiota pattern while those of *H. griseus* and *H. aureus* were closely similar to each other. This may be possibly derived from unusual dietary pattern displayed by *P. simus*, where they tended to consume tough bamboo parts, including culm pith and mature leaves. Besides, *P. simus* exclusively fed on giant bamboo, toxic bamboo species that were rich in cyanide. High cyanide intake via bamboo diet might have altered gut microbiota composition of these bamboo specialists to promote detoxification.

研究分野：採食生態学

キーワード：竹食 腸内細菌 ジェントルキツネザル

1. 研究開始当初の背景

食物の消化・吸収に密接する腸内細菌は宿主(動物)の適応度を左右する非常に重要な存在であり、近年では野生動物の採食生態への理解を深める指標として注目されている。

ジェントルキツネザルは、マダガスカル固有の小型霊長類であり、調査地であるラノマファナ国立公園においては、ハイイロジェントルキツネザル (*Hapalemur griseus*、以下ハイイロ)、キンイロジェントルキツネザル (*H. aureus*、以下キンイロ)、ヒロバナジェントルキツネザル (*Prolemur simus*、以下ヒロバナ)の3種が同所的に生息する。多くの小型霊長類が消化しやすい果実や昆虫を主食とする中、繊維含有量の高い竹食に特化したジェントルキツネザルは極めて異例な存在である。年間を通じて利用可能な竹は安定した食物源であり、竹食に特化することで同所的に生息する他種との採食競合を回避することができるというメリットがある。

食物としての植物の評価指標には栄養価と毒成分があり、タンパク質含有量が高く、タンニンなど毒成分含有量の低い植物が一般的に質の良い食物と評される。ジェントルキツネザルにとって最も重要な食物である竹 (*Cathariostachys madagascariensis*) は、最もタンパク質含有量が高い部位とされる筍ですら、森林樹木の葉にも栄養価が低い (Ganzhorn 1992)。何よりも、ジェントルキツネザルが好んで食べるこの筍には、致死量をはるかに超えた青酸配糖体が含まれることが知られている (Ballhorn et al. 2009)。植物を主食とするスペシャリストは植物性の毒成分への耐性を獲得するよう進化しやすく、ジェントルキツネザルが青酸配糖体に対する耐性をもっているだろうことは想像に難くない。未だ解明されていない解毒メカニズムを解明する手がかりとして、本研究では腸内細菌叢に着目した。

2. 研究の目的

本研究では、野生ジェントルキツネザルの腸内細菌叢を調べ、竹食を可能にする要因を明らかにすることを目的とした。有毒な竹への依存度が3種間で異なるのは、消化能力と毒性への耐性の差を反映するためであるとの予測のもと、採食内容と腸内細菌叢の菌種構成パターンを3種間で比較する。

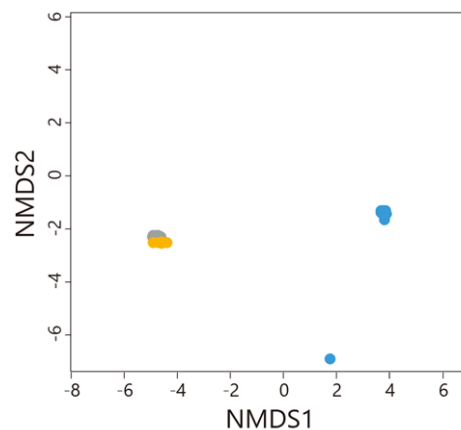
3. 研究の方法

マダガスカル東部に位置するラヌマファナ国立公園で、2016年3月、2016年7~8月に野外調査を実施した。野生ジェントルキツネザルの個体追跡をおこない、5分毎に行動を記録し、採食品目(種類と採食部位)を記録した。ハイイロ、キンイロ、ヒロバナから排泄直後の糞をそれぞれ12個、21個、51個

採取した。使い捨てピンセットを用いて糞を割り、外気への接触が少ない中心部を一部採取し、Lysis bufferに懸濁・保存した。採取した糞試料はすべて京都大学霊長類研究所に持ち帰った。QIAamp Fast Stool Mini KitでDNA抽出をおこない、細菌の16S rRNA遺伝子のV1-V2領域を特異的プライマー(27Fmodおよび338R)を用いてPCR増幅し、インデックスとアダプターを付加した後、Miseq(イルミナ社)でシーケンシングした。Claident (Tanabe and Toju 2013)で細菌由来のOTUピッキングおよび分類階層ごとの配列同定をおこない、個々の多変量解析を実施した。

4. 研究成果

3種の腸内細菌叢パターンは、ヒロバナとそれ以外の2種とで大きく異なることがわかった(図1)。ヒロバナのデータセットに1点外れ値が含まれるが、これは妊娠個体のものであった。OTUを調べたところ、妊娠個体からのみ検出された配列、妊娠個体からのみ検出された配列が複数存在することがわかった。1個体分のデータしかないため憶測の域を出ないものの、妊娠による特異性を示唆している可能性がある。妊娠時に腸内細菌叢が大きく様変わりすることはヒトでの先行研究でも知られており、野生霊長類でも同様の傾向が認められるのか、菌種構成や特定の菌の機能群についてさらなる解析を予定している。



●ヒロバナジェントルキツネザル (N=50)

●キンイロジェントルキツネザル (N=21)

●ハイイロジェントルキツネザル (N=12)

N: 採取した糞の数 (個体の重複あり)

図1. ジェントルキツネザル3種の腸内細菌叢パターン

ヒロバナ(*Prolemur* 属) とキンイロおよびハイロ (*Hapalemur* 属) で腸内細菌叢パターンが大別されたのは、属間に系統的な制約が存在し、それにより形態や採食行動の差異が生じた結果であると解釈できる。3種の採食パターンを比較すると、竹食傾向はヒロバナ、キンイロ、ハイロの順で強くなり、有毒な竹 (*C. madagascariensis*) への依存度はヒロバナとキンイロで高かった (図2)。中でも特筆すべきはヒロバナで、稀に土や水を摂取することはあったものの、もっぱら有毒な竹に完全に依存していた。最も竹食に特化しているヒロバナは青酸配糖体摂取量も高いと推測でき、特異な腸内細菌叢パターンはその可能性を示唆する有力な結果であるかもしれない。

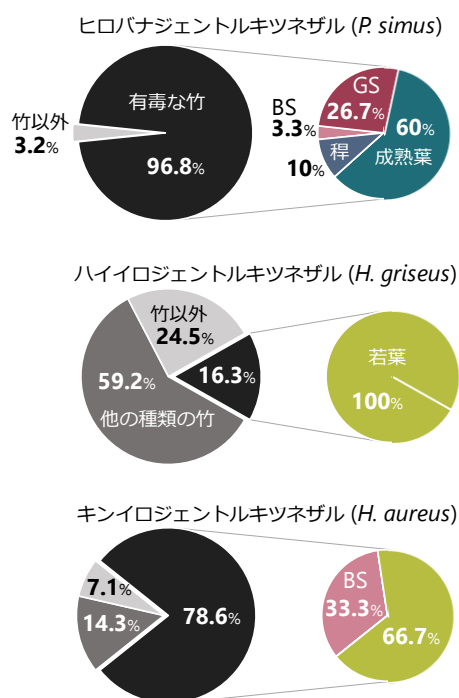


図2. 有毒な *C. madagariensis* の採食割合と採食部位。GS: ground shoot、BS: branch shoot

利用する筍の形態にも属間で違いがあり、ヒロバナは地上生の ground shoot を、他の2種は枝状の細い branch shoot を利用していた。可食部が大きいにもかかわらず ground shoot の利用が限定されていた理由のひとつとして体サイズの違いがある。Ground shoot は直径が太いため、力の強いヒロバナしか折ることができなかったのだろう。ハイロは有毒な竹の若葉 (葉柄) を採食することはあっても、筍を利用することはなかった。しばしば branch shoot を採食する姿を目撃したが、どれも別種の無毒なものであった。

筍以外の利用部位についても2属間で大きな差異が認められ、ヒロバナはかたい竹の稗 (写真1) や成熟葉を選択的に採食していた。この特異な採食傾向は、同種のみが強靱な顎をもつという形態的な違いから生じたもの

だと解釈できる。*Hapalemur* 属2種は、同じ竹の葉でも柔らかい部分 (写真2) を選択的に食べ、キクラゲのようなキノコを食べることもあった。3種のうち、ハイロが最も食性の多様性が高く、竹食スペシャリストでありながらも有毒な竹への依存度は低く、ジェネラリストの側面ももっていた。このような種間における竹食傾向や有毒な竹への依存度の違い、あるいはそれらによってもたらされる青酸配糖体摂取量の差異が、腸内細菌叢形成に影響を与えている可能性が高い。栄養分析や培養実験も予定しており、引き続き竹食および解毒メカニズムに関連した菌種の特定を試みる。



写真1. ヒロバナジェントルキツネザルの食痕。竹の稗を噛み割って内側の白い部分を食べる。



写真2. キンイロジェントルキツネザルの食痕。先端の葉を引き抜き根元の柔らかい部分のみ食べる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Ushida K, Tsuchida S, Ogura Y, Hayashi T, Sawada A, Hanya G. (2016) Draft genome sequences of *Sarcina ventriculi* strains isolated from wild Japanese macaques in Yakushima Island. *Genome Announcements*. 4: e01694-15. (査読有)

〔学会発表〕(計 9 件)

① 澤田晶子、Clark I、Ramilijaona OM、早川卓志. 竹食スペシャリストであるジェントルキツネザルの腸内細菌叢. 第 65 回日本生態学会大会. 2018 年 3 月

② 澤田晶子、Clark I、早川卓志. ジェントルキツネザル 3 種の腸内細菌叢. 第 33 回日本霊長類学会. 2017 年 7 月

③ 澤田晶子、早川卓志. パンダのような霊長類：竹食に特化したジェントルキツネザルの腸内細菌叢. 第 64 回日本生態学会大会. 2017 年 3 月

④ 澤田晶子. ニホンザルの採食と消化. SAGA19 シンポジウム. 2016 年 11 月

⑤ Sawada A, Kurihara Y, Hayakawa T. Gut microbiota illustrating dietary shifts in wild Japanese macaques (*Macaca fuscata yakui*). XXVI International Primatological Society Congress. 2016 年 9 月

⑥ 澤田晶子. キノコ食行動－課題と可能性－. 日本哺乳類学会 2016 年度大会. 2016 年 9 月

⑦ 澤田晶子、栗原洋介、早川卓志. 腸内細菌叢からみた屋久島のニホンザルの採食生態. 第 32 回日本霊長類学会. 2016 年 7 月

⑧ 澤田晶子、栗原洋介、早川卓志. 野生ニホンザルの腸内細菌叢は採食パターンに応じて変化するのか. 第 63 回日本生態学会大会. 2016 年 3 月

⑨ Sawada A, Sato H, Inoue E, Otani Y, Hanya G. “Mycophagy (fungus-eating) among wild Japanese macaques: possible mechanism for poisonous mushroom avoidance”, The 4th International Workshop on Tropical Biodiversity and Conservation, 2015 年 9 月

〔図書〕(計 2 件)

① 澤田晶子 他. エクスナレッジ. 世界で一番美しいサルの図鑑 (京都大学霊長類研究所編) 2017. 223 (145-147)

② 澤田晶子 他. 東京大学出版. 日本のサル－哺乳類学としてのニホンザル (辻大和, 中川尚史編) 2017. 328 (17-37)

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

澤田 晶子 (SAWADA, Akiko)

京都府立大学・生命環境科学研究科・研究員

研究者番号：10646665

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし