

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20586

研究課題名（和文）微生物群集10000実験による多種生命システムの動態予測と制御

研究課題名（英文）Prediction and control of multi-species systems: 10000-microbiome experiments

研究代表者

東樹 宏和 (Toju, Hirokazu)

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：60585024

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,900,000円

研究成果の概要（和文）：微生物共培養実験系や水圏微生物叢を対象として得られた時系列サンプルのDNAメタバーコーディングデータを分析し、その動態の多様性に関する考察を行った。まず、ショットガン・メタゲノム解析で、群集を構成する各細菌種がもつ遺伝子のレパートリーを解明した。その上で、同じ時系列サンプル内に存在する細菌種間（MAGs間）において、同じ資源を求めて競争する度合いを推定した。群集内の総当たりでペア間の遺伝子重複度を計算し、その平均値を取ることで、基本ニッチの重複度に関する指標とした。その結果、大きな群集構造の変化の前において、遺伝子重複度から推定されたニッチ重複度が高いことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の群集生態学においては、前者は、代替安定状態（alternative stable states）という概念を中心に発展し、後者はカオス時系列動態として理論的に発展してきた。しかし、種多様な生物群集の時系列データ自体がこれまでほとんど存在してこなかったため、この2つの捉え方を整理して実証研究と理論研究をフィードバックさせるような取り組みは例がなかった。本研究プロジェクトにおいて得られた大規模生物群集時系列データによって、この2つの理論的枠組の間で整理を行うことが可能となった。

研究成果の概要（英文）：DNA metabarcoding data of time-series samples obtained from experimental microbial co-culture systems and aquatic microflora were analyzed to provide insight into the diversity of their dynamics. First, shotgun genomic analysis was used to elucidate the genetic repertoire of each bacterial species comprising the community. We then estimated the degree of competition for the same resources among bacterial species present in the same time-series sample (among MAGs). We calculated the degree of genetic overlap between pairs on a round-robin basis within a community and took the average of these values as an indicator for the degree of overlap in the basic niche. We found that the degree of niche overlap estimated from the degree of gene overlap was higher prior to major changes in community structure.

研究分野：生態学

キーワード：時系列 微生物叢 生態系

1. 研究開始当初の背景

20 世紀後半以降の生命科学においては、個々の種のゲノムを解読し、遺伝子や分子のレベルで生命体を制御するアプローチが大黒柱となり、華々しい発展を遂げた。一方で、生物群集・生態系レベルの現象は、少数の遺伝子で思い通りに制御することができない。そのため、予測も制御も難しいシステムとして、生物群集や生態系が位置づけられたままとまっている。

無数の微生物種で成り立つ生物群集では、ときにその種組成が劇的に変化する。特に、動物の腸内細菌叢や植物の共生微生物叢に関しては、群集構造の劇的なシフトが報告されており、宿主生物の健康状態にも大きな影響を与えることが知られている。

膨大な数の微生物叢を実験的に構成したこれまでの予備研究で、群集構造の劇的なシフトが起こる条件と起こらない条件を作り出すことが可能となってきた。

2. 研究の目的

微生物学・ゲノム科学・分析化学・生態学・数学を融合し、微生物群集（微生物叢）の動態を予測・制御する科学的アプローチを確立する。

多数の種で構成されるシステムの制御は、これまで不可能とされてきた。しかし、これまでの予備研究で開発した技術を応用すれば、生物叢動態の予測と制御に関する基盤技術を世界に先駆けて構築できると期待される。生物叢の動態をほぼリアルタイムに予測する分析システムと時系列分析に関する理論生態学・数学を融合し、生物群集や生態系を科学的に制御できる研究対象へと昇華させる。

3. 研究の方法

DNA メタバーコーディングによって得られた数千にのぼる生物群集サンプルの情報に基づき、その時系列動態の解明を行った。特に、人腸内細菌叢の時系列動態等において、「dysbiosis」と呼ばれているような、急激な群集構造（および生態系機能）の変化が起こる現象に着目し、その予兆を捉えることができるか、詳細な分析を行った。急激な群集構造の変化は、2通りの理論的枠組で捉えることができる。1つ目は、代替安定状態間のシフトである。変化前と変化後の群集構造が、それぞれ異なる平衡点（次元0のアトラクター）近傍にあるとすると、その平衡点間のシフト、という形で dysbiosis を捉えることができる。2つ目の捉え方は、複雑な形状のアトラクター上（非整数の次元をもつアトラクター）の動態という捉え方である。

異なる平衡点（次元0のアトラクター）間のシフトとして大きな群集構造の変化を捉えるため、統計物理学のアプローチから、energy landscape analysis という手法を応用した。この手法によって、群集構造の「安定性地形」の形状を推測することが可能となり、各時間点における群集構造が、どの代替安定状態に属しているのか、判定することが可能となった。また、複雑な形状のアトラクター上（非整数の次元をもつアトラクター）の動態という捉え方の観点では、empirical dynamic modeling という非線形力学的な手法を用いて、アトラクター形状の再構成を行った。

4 . 研究成果

energy landscape analysis の結果、複雑な生物群集の動態が、代替安定状態間のシフトという観点で捉えられることが明らかになった。また、empirical dynamic modeling 解析では、推定されたアトラクターの情報に基づいて、近未来(数日先)の群集構造を推測することが可能であった。ただ、劇的な変化が起こった時間点の近傍ではこの予測の精度が悪くなる傾向があった。

そこで、群集構造の劇的な変化自体の予兆となる指標を探索した。上記の統計物理学のアプローチでは、推定された energy landscape 上の構造に基づいて対象となるデータ点(群集構造)からのランダム・ウォーク・シミュレーションを通じて、群集構造の安定性を推定することが可能である。この stable-state entropy という指標が、未来の大きな変化を予知する上で重要であることが示された。加えて、各群集構造のデータ点を、そのデータ点が属する basin of attraction の底部と比較し、エネルギー(群集不安定性)の違いを定量化する energy gap という指標も、未来に起こり得る大きな群集構造の変化の警告指標として有用であることがわかった。

上記の統計物理的指標による検討と並行して、非線形力学的アプローチによる未来予測手法の検討も進めた。まず、時系列内の個々の局所データ点について、multivariate S-map という手法を用いてヤコビ行列を推定した。その上で、そのヤコビ行列に基づいて計算した local Lyapunov stability や local structural stability といった指標が、大きな群集構造の変化を予知する上で利用可能であることが示された。

特に、local Lyapunov stability については、差分方程式において1を超えた場合に群集構造の大きな変化が起こると理論的に期待されている。本研究のデータをもとに、Bray-Curtis beta-diversity が0.5を超える大きな群集変化が未来に起こるかどうかを基準として閾値の定量的な評価を行ったところ、まさに local Lyapunov stability が1を超えるかどうかという領域が分かれ目になっていることが明らかになった。その一方で、大きな群集変化(Bray-Curtis beta-diversity = 0.5以上の群集組成上の変化)を予測する上での偽陽性率が高いという点に、手法上の課題が存在した。

上述の統計物理学的なアプローチと非線形力学的なアプローチとの間で、群集構造の未来予測の精度を比較したところ、前者でより群集構造の大きな変化を予測しやすいことが明らかになった。ただ、両アプローチとも、理論やアルゴリズムの改良が盛んに行われている途上であるため、現時点でアプローチ間の優劣を決めることは困難である。その一方で、点アトラクター間のシフトを想定するデータ分析のアプローチと、複雑な構造のアトラクター(非整数のフラクタル次元)を想定するデータ分析のアプローチとの間で比較を行うこと自体に重要な科学的研究上の意義があり、こうした試みを継続していきたい。

上記の群集動態の数学的取り扱いに関する考察と並行して、「レジームシフト」(regime shift)の背後でどのようなメカニズムが働いているかについて、ゲノム学の観点からの考察を深めた。まず、ショットガン・シーケンシング(shotgun sequencing)を基にしたメタゲノム解析で、metagenome-assembled genomes (MAGs) を各時系列サンプルにおいて推定することで、群集を構成する各細菌種がもつ遺伝子のレパートリーを解明した。

その上で、同じ時系列サンプル内に存在する細菌種間(MAGs間)において、同じ資源を求めて競争する度合いを推定した。この過程において、群集内の総当たりでペア間の遺伝子重複度を計算した。その上で、ペア間の遺伝子重複度の平均値や、遺伝子重複度が最も近い

相手との距離について、群集内での平均値を取ることで、基本ニッチ (fundamental niche) の重複度に関する指標とした。

その結果、大きな群集構造の変化の前において、遺伝子重複度から推定されたニッチ重複度が高いことがわかった。この群集構造のシフトの前後で、ショットガン・シーケンシングで検出される MAGs の数が劇的に減少していた。一旦、多様性の低い群集構造に変化したあと、徐々に多様性が回復する傾向が観測されたが、その際も、遺伝子のレパートリーが大きく異なる種が復帰してきており、ニッチの重複度が高くなることはなかった。この結果は、「ニッチの類似限界」(limiting similarity of niches) が保たれる状態で群集の再集合が進むことを示唆しており、理論生態学的観点から非常に興味深い。

以上で述べたように、本研究プロジェクトを通じて、微生物群集構造の時系列動態を定量的に捉え、その未来を予測していくためのデータ分析手法を整理することができた。微生物学や生態学を、ゲノム科学、非線形力学、統計物理学といった広範な研究領域と融合させて展開するアプローチは世界的に見ても先進性が高いと言え、実際に出版論文の被引用といった観点でも急速に国際的に注目されてきていることが窺い知れる。

生物群集の構造やその動態に関する情報が high-throughput DNA sequencing 技術によって得られるようになった現在、そうした膨大な生物群集に関するデータを効率的かつ本質的に分析するプラットフォームの開発は必須である。本研究によって、古典的な理論生態学の枠組みではとらえきれない複雑な多種システムの時系列動態を多角的に分析する道が開拓され始めたと言え、今後、世界各国の研究者と連携しながら、基礎科学と応用科学の両面において適用事例を増やしていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fujita H, Ushio M, Suzuki K, Abe MS, Yamamichi Y, Iwayama K, Canarini A, Hayashi I, Fukushima K, Fukuda S, Kiers ET, Toju H	4. 巻 11
2. 論文標題 Alternative stable states, nonlinear behavior, and predictability of microbiome dynamics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiome	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40168-023-01474-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yajima D, Fujita H, Hayashi I, Shima G, Suzuki K, Toju H	4. 巻 11
2. 論文標題 Core species and interactions prominent in fish-associated microbiome dynamics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiome	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40168-023-01498-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujita Hiroaki, Ushio Masayuki, Suzuki Kenta, Abe Masato S., Yamamichi Masato, Okazaki Yusuke, Canarini Alberto, Hayashi Ibuki, Fukushima Keitaro, Fukuda Shinji, Kiers E. Toby, Toju Hirokazu	4. 巻 14
2. 論文標題 Metagenomic analysis of ecological niche overlap and community collapse in microbiome dynamics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1261137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2023.1261137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayashi Ibuki, Fujita Hiroaki, Toju Hirokazu	4. 巻 4
2. 論文標題 Deterministic and stochastic processes generating alternative states of microbiomes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ISME Communications	6. 最初と最後の頁 ycae007
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ismeco/ycae007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 東樹宏和
2. 発表標題 異分野融合で解き明かす生物間相互作用と生態系動態
3. 学会等名 高遠分子細胞生物学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 東樹宏和
2. 発表標題 多種生物システムの動態理解に向けたゲノム科学と群集生態学の融合
3. 学会等名 ERATO共生進化機構先端セミナー.（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 東樹宏和
2. 発表標題 多様な生態系をみつめることで多種システムの共通駆動原理に到達できるか？
3. 学会等名 第69回日本生態学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 東樹宏和
2. 発表標題 食物網、共生ネットワーク、そして生態系の再生へ
3. 学会等名 日本生態学会第68回全国大会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hirokazu Toju
2. 発表標題 Does informatics of microbiomes revolutionize agriculture?
3. 学会等名 Keynote lecture. The Joint Meeting of The eDNA Society & The Society of Population Ecology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hirokazu Toju
2. 発表標題 Microbiome design for optimizing multi-species biological functions
3. 学会等名 Workshop "New Trends and Fundamental Technologies for Microbial Ecosystems. The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>魚の健康において鍵となる「コア微生物叢」 -ウナギ養殖水槽内の細菌叢動態- https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2023-03-30-3 微生物生態系の崩壊は予測できる -医療・工業・農業における微生物叢制御の基盤情報学- https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2023-03-30-2</p>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------