



Title	宇宙居住環境の微生物モニタリングに関する基礎的研究
Author(s)	稗田, はつき
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/50073">https://hdl.handle.net/11094/50073</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 【28】

氏 名	うさ だ は っ き 裯 田 は っ 木
博士の専攻分野の名称	博 士（薬学）
学 位 記 番 号	第 2 5 9 8 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学 位 論 文 名	宇宙居住環境の微生物モニタリングに関する基礎的研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 那 須 正 夫 (副査) 教 授 高 木 達 也 教 授 平 田 収 正 教 授 堤 康 央

## 論 文 内 容 の 要 旨

1970年代からのSalyutやSkyLab、Mir等の宇宙ステーション計画での成果をもとに、現在、国際宇宙ステーション（International Space Station；ISS）が運用されている。ISSにおいては半年を超える長期宇宙滞在も実施されており、超長期宇宙滞在や宇宙居住の実現のための研究が行われている。

宇宙居住環境は、多くの面で我々が地球上で生活する環境と大きく異なる。宇宙居住施設は閉鎖環境であるため、水や空気の再利用が必須となる。これらの再生システムにおいては、管理が不

適切であった場合にシステム内で微生物が増殖する可能性が考えられるため、その適切な微生物学的管理が重要となる。また、これまでの宇宙実験により、宇宙居住環境ではヒトの免疫能が低下することが報告されており、*Salmonella enterica* serovar Typhimurium（ネズミチフス菌）においては病原性が高くなるとの結果も得られている。さらに、微小重力であるため、ダストが落下することなく、空気中にとどまることが確認されている。したがって、宇宙居住環境はこれまでに人類が蓄積してきた科学的知見のみでは居住者の安全を保証することが難しく、地上環境以上に微生物による健康障害に対する注意が必要とされている。また宇宙ステーションMirにおいては、センサーの被覆部に真菌が発生し、トラブルの原因となったことが報告されており、微生物は健康障害のみならず、システムトラブルの原因にもなることが明らかとなっている。そこで各国宇宙機関では、今後の宇宙居住を実現するために、宇宙居住環境におけるヒトと微生物の係わりに関する研究を中心とする「宇宙微生物学」の推進が期待されている。

宇宙居住の実現にあたっては、ライフサポートシステムの構築に加えて、宇宙居住環境における衛生微生物学的な安全を確保する必要があるため、微生物管理が最重要課題となる。そこで各国宇宙機関はすでにISS内において継続的なモニタリング等を実施し、内部データとして蓄積している。しかし、サンプリング方法も含め、手法の国際的な標準化がなされているとはいえず、現状ではデータの共有が十分ではないため、手法を含めた標準化が課題となっている。また、宇宙居住環境における微生物の動態を明らかにし、微生物に関する健康障害指標を決定することが重要である。そこで本研究では、ISS内の微生物モニタリングを行うにあたり、標準化が可能なサンプリング法の提案を行うとともに、3年間にわたって日本実験棟「きぼう」内で細菌モニタリングを行い、ISS内における細菌のカタログデータベース構築の第一歩を築くことを目的とした。

「きぼう」内での細菌モニタリングに先立ち、まずサンプリングプロトコルの検討を行った。宇宙居住環境における微生物サンプリングには、従来より主にスワブ法が用いられている。そのため本研究では、異なる6種類の拭き取りプロトコルの操作性と細菌回収率に関して評価を行った。その結果、被検面を1 cm間隔に1回ずつ、縦・横に拭う方法において、操作性が高くかつ回収率が従来法と同等のサンプリングが可能であった。このサンプリング方法は個人差が無く、細菌種による回収率の違いも見られなかったことから、本研究では上記のサンプリングプロトコルを採用した。さらに、宇宙居住環境においてサンプリングを行ったスワブは地上で解析を行うまで-80℃で保存されることから、サンプリング後のスワブの-80℃での保存が解析に及ぼす影響を評価した。その結果、-80℃の保存によって少なくとも12週間まで全細菌数および細菌群集構造は変化しないことが明らかとなった。

次に、ISS日本実験棟「きぼう」内部の細菌モニタリングを3年間継続して行った。「きぼう」内のサンプリングは先に決定したプロトコルを用いて、2009年9月5日、2011年2月27日、2012年10月16日に国際宇宙ステーションに滞在中の宇宙飛行士により行われた。サンプリング地点は2009年のサンプリングでは居住員の接触頻度が低いと考えられる細胞培養インキュベーター表面、居住員の接触頻度が高いと考えられる手すり、「きぼう」内の空気を循環させる空調の吹き出し口の3地点とした。2011年、2012年のサンプリングでは上記3地点に加えて、湿度・温度が細菌の増殖に適している細胞培養インキュベーター内部表面、「きぼう」内の空気中の粒子が集まる空調の吸気口を追加した。

3年間の細菌モニタリングにおいて、蛍光染色法および定量的PCR法による細菌現存量測定により、「きぼう」内部の各サンプリング地点における細菌現存量は $10^3$  cells/cm<sup>2</sup>以下で推移していたことが明らかとなった。また、細菌群集構造解析の結果、「きぼう」内部表面には*Actinobacteria*門、*Bacteroidetes*門、*Firmicutes*門、*Proteobacteria*門に属する細菌が存在することがわかった。特に、*Actinobacteria*門、*Firmicutes*門、*Proteobacteria*門に属する細菌は継続的に検出されたことから、これらの細菌門は「きぼう」内に定着していると考えられる。さらに、「きぼう」内において検

出された細菌の塩基配列はヒトの常在細菌に属する細菌と相同性が高いものがほとんどであった。このことから、「きぼう」内に分布している細菌の多くは居住員由来だと考えられる。地上の研究施設内の細菌現存量が $10^5$  cells/cm<sup>2</sup>であることと、病原性が高いと推測される細菌は検出されなかったことから、現段階では「きぼう」内部は衛生微生物学的に管理された状態だと考えられた。

本研究により、宇宙居住環境での微生物モニタリングの標準化に向けたサンプリングプロトコルを決定した。また、決定したサンプリングプロトコルによりISS日本実験棟「きぼう」内の細菌モニタリングを行い、ISS内における細菌のカタログデータベース構築の第一歩を築いた。本研究は宇宙居住環境の微生物モニタリングの基礎となる研究であり、今後の超長期宇宙滞在における微生物管理に貢献するものである。

## 論文審査の結果の要旨

人類の活躍の場を宇宙に広げるため、国際宇宙ステーション（ISS）は本格的に運用・利用され、将来の長期宇宙居住に必要な基盤的知見が集積されつつある。微生物については、宇宙居住環境におけるモニタリングが実施されている。

本研究は、ISS内の微生物モニタリングを行うにあたり、標準化が可能なサンプリング法を提案するとともに、日本実験棟「きぼう」内でのモニタリングに用い、ISS内における細菌のカタログデータベース構築の第一歩を築いたものである。宇宙飛行士が宇宙居住環境内の微生物サンプリングを高精度に行えるよう、サンプリングプロトコルを検討し、従来法に比べて再現性の高い結果が得られることを明らかにした。さらに、作成したサンプリング法を用いて、3年間にわたって「きぼう」内で細菌現存量および細菌群集構造の変化を評価した結果、宇宙飛行士由来の常在細菌が「きぼう」内に定着している可能性を示すとともに、「きぼう」が衛生微生物学的に適切に管理されていることを明らかにした。

以上のように本論文は、宇宙居住環境におけるヒトと微生物の係わりを理解するにあたっての基礎的知見を提供し、今後の宇宙居住の衛生微生物学的な安全性の確保に貢献するものであることから、博士（薬学）の学位に値するものと判断する。