

2019 年度
「きぼう」利用テーマ・船内科学研究に係る科学成果評価
報告書

宇宙航空研究開発機構
有人宇宙技術部門
きぼう利用センター

1. 概要

本資料は、2019年度(2020年1月)に実施した、「きぼう」船内を利用した科学研究テーマの科学成果評価の結果および評価への入力となった対象テーマの成果報告書等を取り纏めたものである。

2. 評価対象

評価対象となったテーマを表1に示す。

これらのテーマは、2014年度～2016年度の間に軌道上実験を実施した1件の科学研究テーマである。

3. 評価の目的、評価指標

「きぼう」で行われた研究成果の達成状況とその意義、分野学術や社会への貢献、波及効果に対する評価を通じて、各々の研究成果のアピールポイントを効果的に情報発信すること、また、きぼう利用に関する改善点、利用の方向性等へ提言を得て、今後の利用計画設定に資することを目的として評価が行われた。この目的に照らし、表2に示す各評価項目に基づき、書類審査、面接審査(成果報告会)が実施され、評価結果は、最終的に、以下の4段階の総合評価指標および提言として取り纏められた。

S: 目標を高度に達成し、特筆すべき成果を上げた(エクストラサクセス相当)。

A: 目標を十分に達成した(フルサクセス相当)。

B: 目標を一部達成した(ミニマムサクセス相当)。

C: 成果として不足・不十分であり、目標を達成していない。

※2017年度までの基準(以下)と異なる。

S: 目標を高度に達成し、特筆すべき成果を上げた。

A: 目標を十分に達成した(エクストラサクセス相当以上)。

B: 目標を達成した(フルサクセス相当)。

C: 目標達成に不足・不十分な点があり、引き続き解析・検討を要す。

4. 評価体制

評価は、生命医科学分野のきぼう利用テーマ選考評価委員会(以下、「選考評価委員会」)により実施された。また、分野専門家3名のピアレビューをテーマ毎に設定し、書類審査を併せて行い、選考評価委員会は、これを参考として審査を行った。

ここで、選考評価委員会は、きぼう利用において、応募されたテーマ等の選考、設定された利用テーマ等の評価を行うために設置された JAXA 有人宇宙技術部門長の諮問委員会であり、物質・物理科学分野及び生命医科学分野の2分野が設定されている。今回、評価に当たった選考評価委員会の構成員リストを表3に示す。

5. 評価プロセス

研究成果報告の提出から成果評価の公表までの評価プロセスを図4に示す。

6. 科学成果評価に係る文書

本資料に含めるテーマ毎の研究成果報告書、科学成果評価結果等を、表5に示す。

表1 評価対象テーマ（所属は報告書提出当時）

テーマ名	研究代表者 (評価時)	実験時期	成果評価 (委員会)	分野
宇宙居住の安全・安心を保証する 「きぼう」船内における微生物モニタリング (Microbe-IV)	大阪大谷大学 教授 那須正夫	2015 年 2 月 ～2016 年 10 月	2020 年 1 月 31 日	生命医科学

表2 評価項目

科学的・技術的成果	(1) 研究目標の意義および達成度 - 研究目標の意義は高いか(ミッション選定/準備段階移行以降に修正された場合)。また、時間経過により減じていないか。 - 研究目標は達成されたか。サクセスクライテリアに照らした達成度のレベル。
	(2) 実施体制 研究チームおよび JAXA の体制は適切であったか。
	(3) 科学的、技術的成果 - 得られた成果は、国際的なレベルに照らして、高いか。 - 設定された目標を越える成果があったか。
	(4) 活用、波及効果 - 関連科学分野・技術領域への波及効果があったか、また、期待されるか。 - 科学的、技術的に活用が見込めるか、成果活用の意義・重要性は高いか。
	(5) きぼう利用の必然性 きぼうで行う必然性があったか。
総合評価・提言	(6) 総合評価 - 成果インパクト、応用・波及効果などのポテンシャル、他、アピールポイント。 - 今後の宇宙実験に向けての課題、改善すべき点。 - 当該科学分野・領域におけるきぼう利用の発展性、継続の意義。

表3 きぼう利用テーマ選考評価委員会 構成員
(評価時。2017 年度の構成員から変更あり。)

生命医科学分野

委員長	山口 朗 東京歯科大学口腔科学研究センター 客員教授
委員	牛田 多加志 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻 教授
	武田 伸一 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 理事
	田村 宏治 東北大学大学院生命科学研究科 教授
	中村 耕三 医療法人社団 大坪会 東和病院 院長
	中村 幸夫 国立研究開発法人 理化学研究所バイオリソース研究センター細胞材料開発室 室長
	本間 研一 北海道大学大学院医学研究科 時間医学講座 名誉教授
	諸橋 憲一郎 九州大学大学院医学研究院分子生命系部門 性差生物学講座 主幹教授

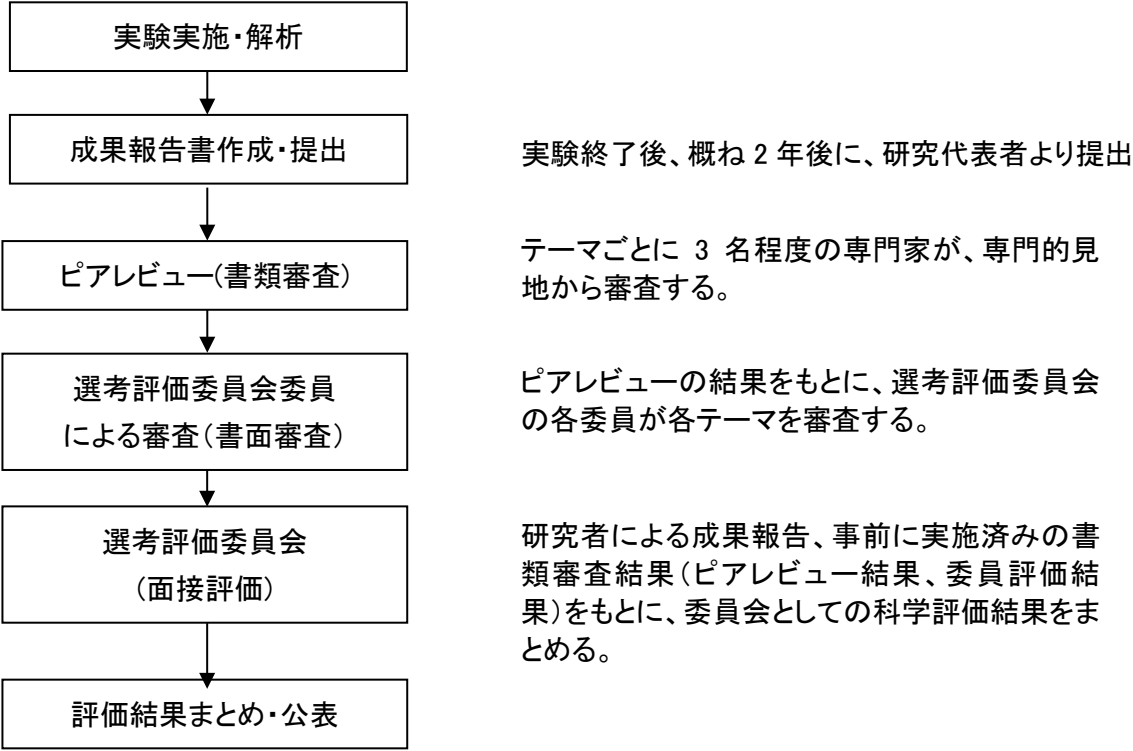


図4 科学成果評価プロセス

表5 添付文書の構成

テーマ名	研究成果 報告書	評価結果	研究成果 概要書(日)	研究成果 概要書(英)
宇宙居住の安全・安心を保証する「きぼう」船内における微生物モニタリング (Microbe-IV)	別紙 1-1	別紙 1-2	—	—

以上

ISS・きぼう利用ミッション

「宇宙居住の安全・安心を保証する「きぼう」船内における微生物モニタリング
(Microbe-IV)」

研究成果報告書

代表研究者: 那須 正夫 (大阪大谷大学)

2019 年 12 月

目次

1. 緒言	3
1.1 実験目的	3
1.2 実験理論	3
2. 研究計画	5
2.1 研究目標	5
2.2 体制	5
2.3 スケジュール	6
3. 実験準備・運用	7
4. 実験結果および成果	8
4.1 細菌現存量測定	8
4.2 微生物群集構造	8
4.3 生理活性をもつ細菌の解析	10
4.4 培養可能な真菌及び粒子の解析	12
4.5 「きぼう」内空気中の粒子に関する解析	14
4.6 サクセスクライテリアに係る自己評価	16
4.7 国際的位置付け、関連分野および社会生活への波及効果	16
5. 結言	17

成果リスト

1. 学術論文・総説	19
2. 出版	19
3. 学会発表	19
3.1 シンポジウムの開催	19
3.2 招待講演	19
3.3 国際学会	20

1. 緒言

1.1 実験目的

国際宇宙ステーション (ISS) をはじめとする宇宙居住空間で宇宙飛行士が安全にミッションを遂行するためには、居住環境中に存在する微生物を高精度に分析・解析し、汚染に対する対策を的確に講じる必要がある。

これまで ISS における安全対策は、物理的・化学的な側面からは十分に図られてきたが、衛生微生物学的な安全対策についてはその重要性が認識されているものの、未だ十分な知見が集積されていない。微小重力下ではヒトの免疫能が低下するという報告もあり、地上では健康人に対してはほとんど病原性がないとされる微生物による日和見感染のリスクが高くなる可能性があるため、地上での生活以上に微生物汚染に対して注意を払う必要があると考えられている。また宇宙居住環境中の微生物は宇宙飛行士の健康に対するリスクとなるばかりではなく、電子機器や配線等を腐食させ、機器のトラブルの原因になることも報告されている。したがって、「きぼう」利用シナリオにも最重要課題の一つとして挙げられているように、今後の超長期宇宙居住の実現のためには、宇宙居住環境を衛生微生物学的に評価し、宇宙滞在や宇宙居住における安全・安心を保証するための基盤を構築しなければならない。

本研究では、研究代表者らがこれまで独自に開発してきた手法および JAXA 等との共同研究 (プロジェクト名: MICROBE) の実績をもとに、宇宙居住環境での超長期居住における衛生微生物学的な安全・安心を保証するための微生物モニタリング法を確立する。さらに、「きぼう」内の微生物を高精度にモニタリングすることにより、宇宙居住空間の微生物管理のための基盤的知見を集積する。これらの成果をもとに、NASA や ESA 等と連携して知識ベースを構築することにより、宇宙居住環境におけるヒトや機器等に対する微生物の影響を最小限に抑えることを目的とする。

1.2 実験理論

(1) 実験の背景

ISS における微生物モニタリングは、宇宙飛行士の健康の保証のみにとどまらず、機器・装置類の維持管理にも重要である。2006 年にウィーンで開催された国際微生物生態学シンポジウム (International Symposium on Microbial Ecology) や 2007 年にトロントで開催されたアメリカ微生物学会総会 (American Society for Microbiology General Meeting) では本テーマに関するセッションが取り上げられ、活発なディスカッションが行われた。また 2007 年 (東京)、2009 年 (アメリカ・ソノマ)、2011 年 (フランス・クレルモンフェラン) で開催された ISLSWG 宇宙微生物学国際ワークショップにおいても、JAXA や NASA、ESA の微生物学研究者が一堂に会してこれまでの研究成果と今後の課題、展望について、意見交換を行った。その中で今後の宇宙微生物学の新たな方向性が示されるとともに、ISS における微生物モニタリングには、培養に依存しない新たな手法がこれまで以上に重要であることが認識されている。

研究代表者らは財団法人日本宇宙フォーラムの「第 8 回宇宙環境利用に関する公募地上研究」を受託し、青森県六ヶ所村・財団法人環境科学技術研究所の閉鎖型生態系実験施設 (CEEF) での閉鎖居住実験において、新手法による細菌モニタリングを行うとともに、JAXA との共同研究で「Microbe-I/II/III (国際宇宙ステーション内における微生物動態に関する研究)」を実施し、その成果は NASA や ESA から注目されている。

このように、ISS における微生物モニタリングは、宇宙利用研究と超長期宇宙居住の安全保証の両

面から、世界的に重視されている。

(2) 仮説

宇宙ステーション内では、微小重力や宇宙線の影響により、微生物が地上とは異なる増殖性やストレス応答を示す可能性が考えられ、またそれを裏づける研究結果が報告されてきている。またこれまでに、宇宙環境では病原細菌のビルレンスや生残性が向上することが宇宙実験の結果として報告されている。そのために、地上では問題とならない微生物が、宇宙ステーション内ではヒトや機器類に対する大きなリスクとなる可能性がある。しかしながら、宇宙居住環境における微生物の定着様式は未だ不明であり、どのような細菌がどのような環境に定着するのかを明らかにする必要がある。

研究代表者らは、「きぼう」内の細胞ラック等を対象として、「きぼう」への設置前(＝ゼロタイム)から継続して、微生物モニタリングを行っている。今後、本モニタリングを継続することにより、ヒトの長期滞在にとまなう宇宙居住環境での微生物動態が明らかになると考えている。

また、宇宙ステーション内の微生物が地上とは異なる動態や表現型を示していても、その検出・解析法の多くが従来の培養にもとづいたものであれば、精度の高い結果を得るには限界がある。研究代表者らがこれまでの研究ですでに確立した分子微生物生態学的手法を用いることにより、宇宙ステーションにおける迅速・高精度な微生物モニタリングが可能となる。

(3) アプローチ:

ISS の細菌モニタリングにあたり、個体レベルでは蛍光活性染色法により、細菌の現存量測定と生理活性評価とを行う。また遺伝子レベルでは、rRNA 遺伝子を指標とした定量的 PCR 法により微生物現存量を測定する。さらに細菌群集構造の解析を行う。

また「きぼう」船内に生息する細菌の生理状態について、遺伝子発現を指標に解析し、将来の微生物モニタリングへの知見とする。

なお研究を進めるにあたっては、これまでに研究協力関係を構築しているカリフォルニア工科大学・Jet Propulsion Laboratory の Kasthuri Venkateswaran 博士らの意見も参考にする。

「きぼう」内では、宇宙飛行士が機器表面などから、滅菌済み綿棒、真菌培養シート(Microbial Detection Sheet:MDS)あるいは独自に作製した粘着集菌デバイスを用いて、微生物サンプリングを行う。さらに、エアサンプラーおよびパーティクルカウンターを用いて JEM 内の浮遊パーティクル数をモニタリングあるいは計測する。収集した試料は、冷凍あるいは冷蔵下で保存し、地上へ持ち帰る。

2. 研究計画

2.1 研究目標

当研究課題では、フェーズ移行審査時に表1のサクセスクライテリアを設定した。

表 1. Microbe-IV サクセスクライテリア

サクセス	クライテリア
Minimum	「きぼう」船内の環境に生息する微生物を、複数のサンプリング方法を用いて、経時的、空間的にサンプリングを実施し、地上に回収して微生物の量(菌数)を明らかにできること。
Full	上記に加え、 ・培養に依存しない解析手法を用いて、細菌及び真菌を高精度に同定し、微生物の種類、量の経時変化データが得られること。また、微生物の分布が把握できること。 ・長期的に船内に存在する(あるいは存在した)細菌及び真菌を高精度に同定できること。 ・本研究から得られたデータをふまえ、「きぼう」船内での標準的な微生物モニタリング法として提案し、超長期宇宙滞在を目指した有人宇宙技術の開発に貢献すること。
Extra	上記の解析手法により得られた結果が、新規の発見等に繋がるものであった場合。

2.2 体制

Microbe の研究チーム体制を表2に、JAXA の支援体制を表3に記載した。

表2. Microbe-IV の研究チーム体制

	氏名	所属 ^(注)	研究分担	
代表研究者	那須 正夫	大阪大谷大学 大学院薬学研究科	細菌 (研究とりまとめ)	
共同研究者	山口 進康	大阪健康安全基盤研究所	細菌	～2016/3
	馬場 貴志	鳥取大学 農学部	細菌	～2013/8
	一條 知昭	大阪樟蔭女子大学 健康栄養学部	細菌	
	谷 佳津治	大阪大谷大学 大学院薬学研究科	細菌	
	内井 喜美子	大阪大谷大学 薬学部	細菌	2015/4～
	槇村 浩一	帝京大学 大学院医学研究科	真菌	
	佐藤 一朗	帝京大学 大学院医学研究科	真菌	
	山崎 丘	帝京大学 大学院医学研究科	真菌	
	杉田 隆	明治薬科大学 薬学部	遺伝子解析	
	石岡 憲昭	JAXA	研究調整、支援	

(注)所属は 2019 年 12 月現在

表3. JAXA からの Microbe-IV への支援体制

氏名	所属 ^(注)	分担
谷垣 文章	JAXA きぼう利用センター	研究コーディネーター
飛田 将光	JAXA きぼう利用センター	研究コーディネーター
福井 啓二	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター
嶋津 徹	日本宇宙フォーラム	研究コーディネーター

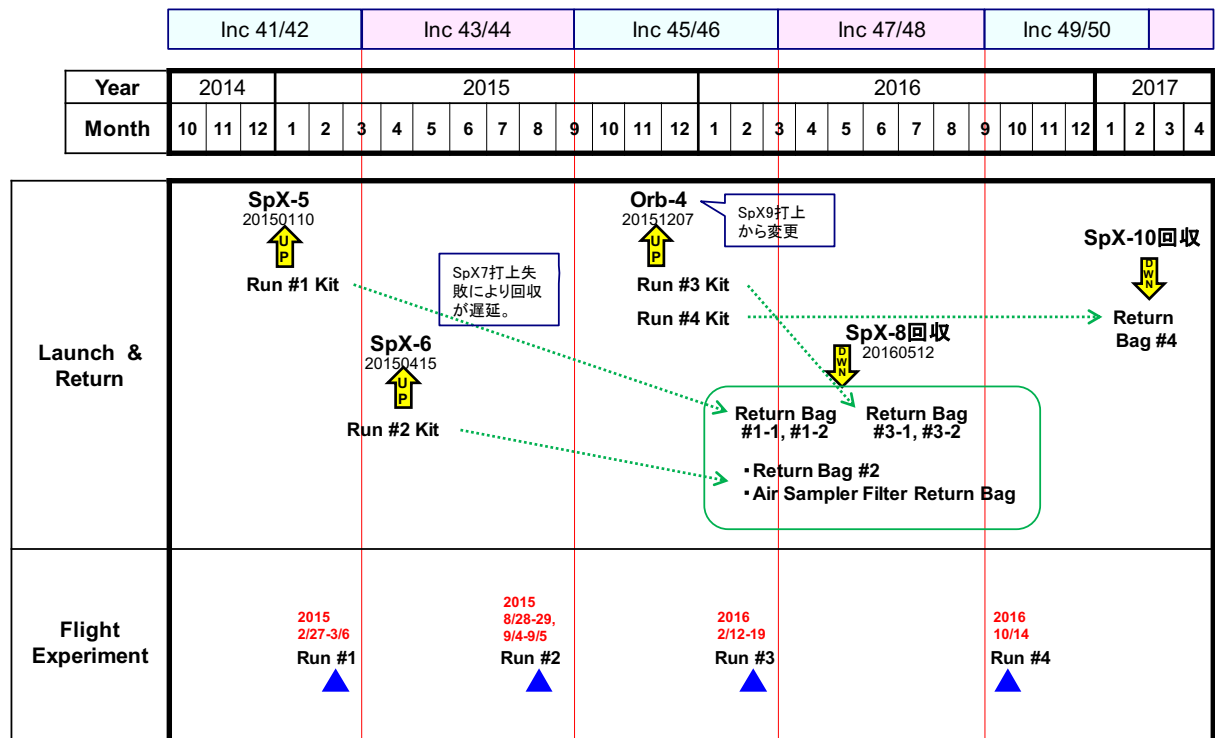
(注)所属は当時

2.3 スケジュール

本テーマは、2012 年 10 月に、平成 24 年度「きぼう」利用テーマ募集一般募集区分選定テーマとして採択された。

その後、実験準備調整を行い、2013 年 3 月 28 日に外部評価、2013 年 4 月 26 日に内部評価、2014 年 1 月 14 日に内部評価(デルタ)が開催され、運用準備フェーズへの意向が承認された。その後は、表4のスケジュールで軌道上実験を実施した。

表4. Microbe- IV 実施スケジュール



3. 実験準備・運用

Microbe-IV では、サンプリングのための新たな器具・装置等は使用せず、先行実験である Microbe-I/II/III で使用実績のある器具・装置を使用した。また、エアサンプラーは Microbe-II、Microbe-III に引き続き、NASA より借用した(図1)。このため、フェーズ移行から 1 年後に最初の物品の打上げを行うことができた。

Microbe-IV では全部で 4 回のサンプリング(Run1～Run4)を実施した(表4、5)。この間、Space X 7 号機(SpX-7)の打上げ失敗があったことから、Run1、Run2 サンプルの回収遅延、Run3 用物品の打上げ機の変更等が発生した。

また、実験提案時には無かったが、JEM 内ファンのフィルターに付着しているダストを、関係各所と調整の上、回収して解析に供した。

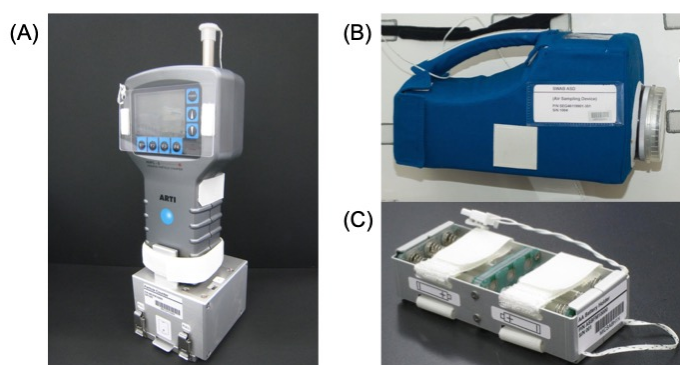


図1. パーティクルカウンター、エアサンプラー. (A) 市販品を改造したパーティクルカウンター(写真提供:JAXA)、(B) エアサンプラー(写真提供:NASA)、(C) バッテリーホルダー(写真提供:JAXA)

表5. 各 Run の実施項目

	Run1	Run2	Run3	Run4
Wet Swab によるふきとり		○ 11 ケ所×2 本		○ 11 ケ所×2 本
Sampling Sheet	○ 11 ケ所×2 枚	○ 11 ケ所×2 枚	○ 11 ケ所×2 枚	○ 11 ケ所×2 枚
MDS	○ 5 ケ所		○ 5 ケ所	
エアサンプリング		○		
パーティクルカウント		○		

4. 実験結果および成果

4.1 細菌現存量測定

「きぼう」内各地点での細菌現存量測定は、Sampling sheet で採取した細菌の SYBR Green II 染色による直接計数法 (total direct counting; TDC) により行った。測定結果は表6に示した。

表6. ISS「きぼう」内機器表面の細菌現存量

	Run 1	Run 2-1	Run 2-2 ^a	Run 3	Run 4
Rack	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	— ^b	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Grille	$< 2 \times 10^4$	4×10^4	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Handrail	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
CBEF Door	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Diffuser	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Palm rest	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
IMV Grill	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
JLP	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Foot Restraint	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
MELFI	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$
Control ^c	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$	—	$< 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^4$

a 近傍から再サンプリング

b 未実施

c 軌道上でのサンプリングデバイスの開閉のみ

定量下限は平均 2 cells/microscopic field

Run 1 及び Run 3、4 においては全ての採取場所において、細菌現存量は定量限界以下 ($< 2 \times 10^4$ cells/cm²) であった。Run 2 では、ほぼ全ての地点が定量限界以下 ($< 2 \times 10^4$ cells/cm²) であったものの、Grille (Air intake; Run 2-1) では 4×10^4 cells/cm² と細菌数が増加している傾向が見られた。Grille で細菌数が多くなる傾向は、Microbe-II Run 1 でも同様の結果が得られている (Ichijo *et al.*, *Microbes Environ.*, 2013)。しかしながら、Run 2-2 や Run 3 では再び定量限界以下に戻っていたことより、「きぼう」内の微生物は適切に管理されていると考えられる。

4.2 微生物群集構造

「きぼう」内各地点での微生物群集構造は、16S rRNA 遺伝子の V4～V5 領域 (細菌)、26S rRNA 遺伝子の D1/D2 領域 (真菌) を標的としたアンプリコンシーケンス法により解析した。

4.2.1 細菌群集構造

表面サンプルのうち、スワブ法により回収した試料 (Run 2 および Run 4) について解析した。Run 2 の解析結果を図2に示した。

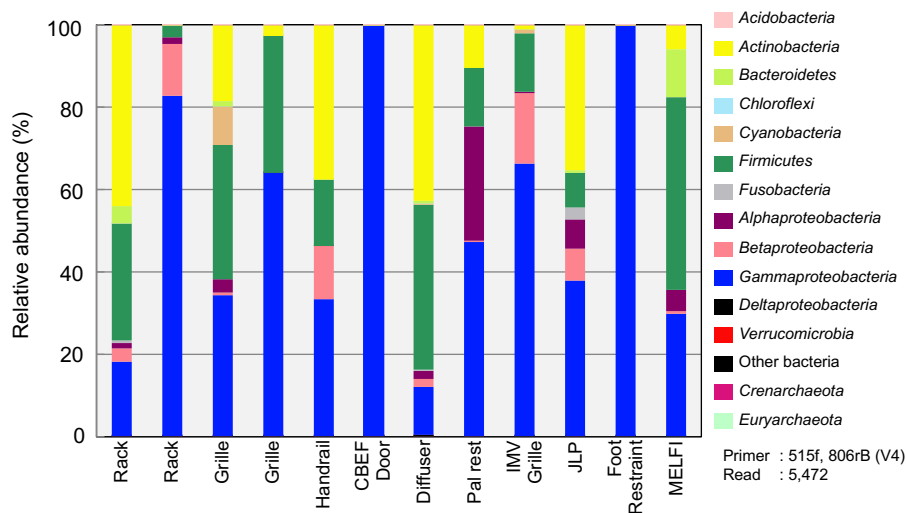


図2. ISS「きぼう」内機器表面の細菌群集構造

サンプルあたり平均約 15,000 リードを解析に供した。Microbe-I/II/III で得られた結果と同じく、*Gammaproteobacteria* や *Firmicutes*、*Actinobacteria* が、全てのサンプルで優占していた。属レベルで確認すると、*Staphylococcus* や *Acinetobacter*、*Pseudomonas* が高い割合を占めていた。これらはヒトの常在細菌として知られており、また米国を中心とした研究グループからも、ISS で検出されたとの報告がある。すなわち、これまでの結果と同様に、宇宙飛行士を介して微生物が持ち込まれていることを支持する結果であった。

4.2.2 真菌群集構造解析

表面サンプルのうち、粘着集菌シート法により回収した試料について解析した。解析結果を図3に示した。

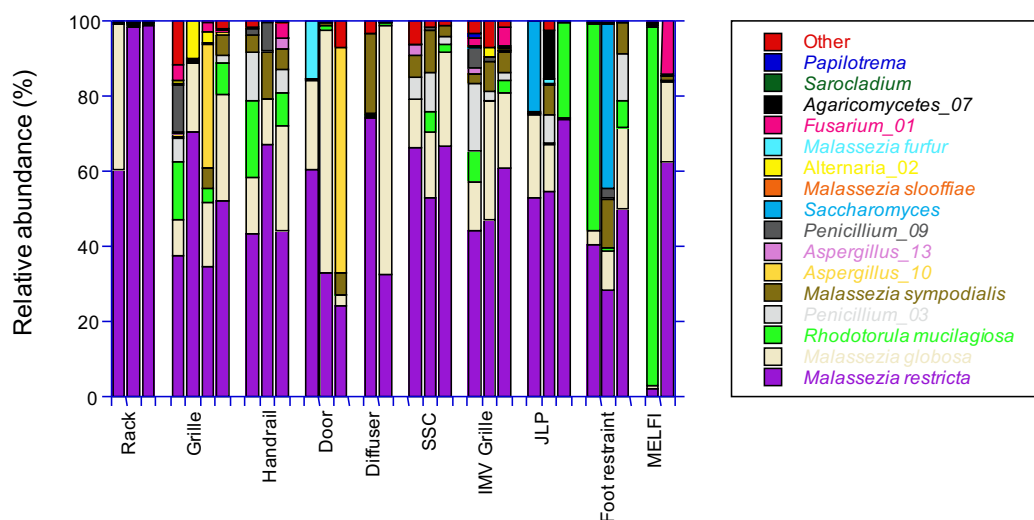


図3. ISS「きぼう」内機器表面の真菌群集構造

大部分のサンプルで *Malassezia* が優位であり ($71 \pm 28\%$)、その構成分布は *M. restricta* > *M. globosa* であった。*Malassezia* は環境には存在せず、ヒトあるいはヒト以外の哺乳類動物の皮膚に常在している真菌である。従って、当該検体から検出された *Malassezia* はヒトの鱗屑由来であると考えられた。全 *Malassezia* に対する各菌種の構成比率を再計算すると、*M. restricta* : *M. globosa* = 69 ± 20 : 2.4 ± 16 を示した。これは健康人の皮膚に存在する *Malassezia* の構成比率の範囲内であることから、ヒト皮膚由来を強く支持するものである。

また、*Aspergillus*、*Alternaria*、*Cladosporium*、*Fusarium* および *Penicillium* も高頻度に検出されている。これらはあらゆる環境中に存在する、いわゆる“環境真菌”である。JLP および Foot Restraint から *Saccharomyces cerevisiae* がそれぞれ 24%、44% の割合で検出された。本菌は発酵食品に用いる酵母であることから、食品に由来している可能性も考えられる。

結論として、ヒト皮膚由来および一般的な環境真菌が検出され、健康被害を直ちに惹起する可能性のある病原性真菌は検出されなかった。

4.3 生理活性をもつ細菌の解析

タンパク合成に必須であるリボソームを構成する rRNA の細胞内コピー数は、細菌の potential viability の指標となることがわかっている。すなわち、rRNA を標的とした解析により、potentially viable な細菌群集の理解に繋げることが可能である。

粘着集菌シートを用いて「きぼう」船内の表面から採取した試料から DNA と RNA を同時抽出し、16S rDNA を測定対象とした定量的 PCR 法および 16S rRNA を測定対象とした定量的 RT-PCR 法により、16S rDNA 量および 16S rRNA 量を測定した上で、RNA 量と DNA 量の比 (以後 RNA/DNA とする) を算出した (図4、5)。RNA/DNA 比は、細菌の活性を評価するためのひとつの指標であり、ヒトが頻繁に接触する場所では、他と比較し高い RNA/DNA が繰り返し観察された。また、吸気口では他の場所に比べ細菌数は著しく多かったが、RNA/DNA は比較的低い傾向が認められた。また、16S rRNA を指標とした Amplicon sequence では、ヒトの常在細菌叢を構成する細菌グループが優占していることがわかった (図6、7)。

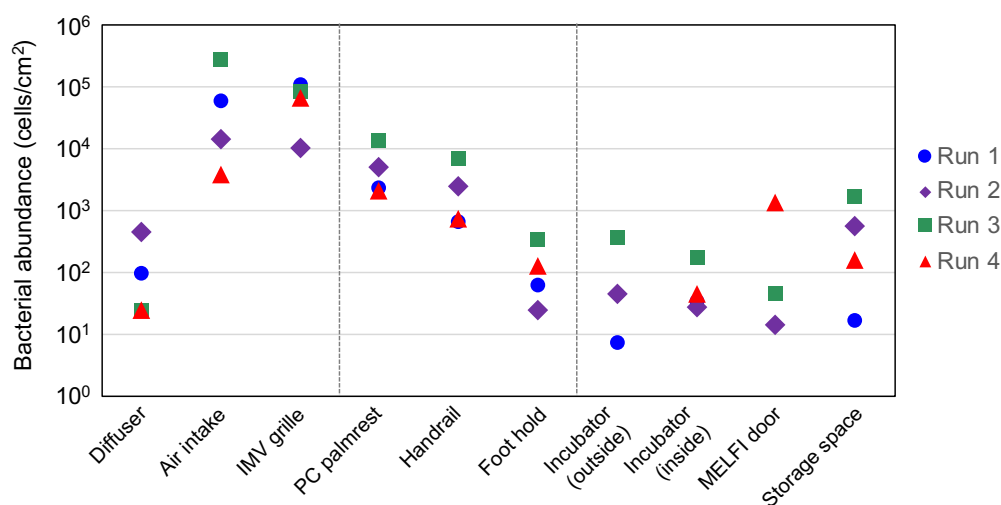


図4. 定量的 PCR 法により測定した ISS「きぼう」内機器表面の細菌数

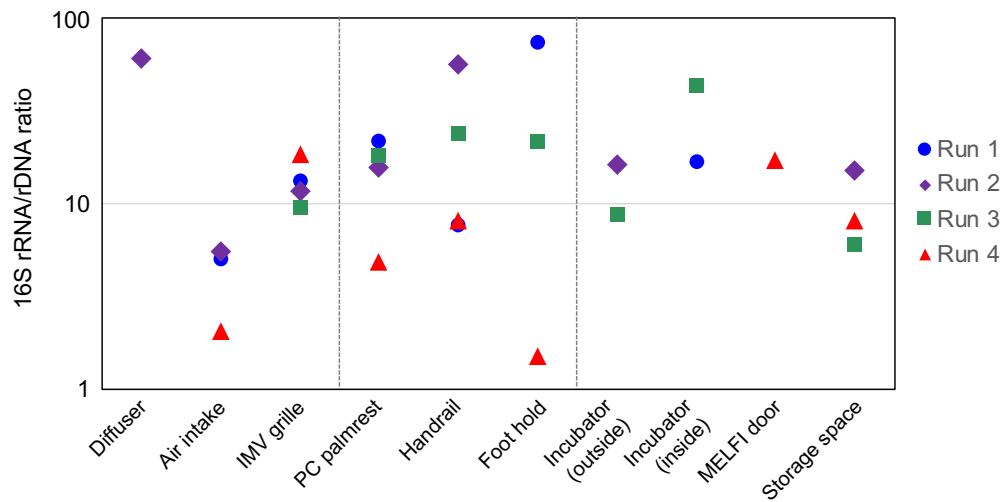


図5. 各サンプリング地点における 16S rRNA 量と 16S rDNA 量の比

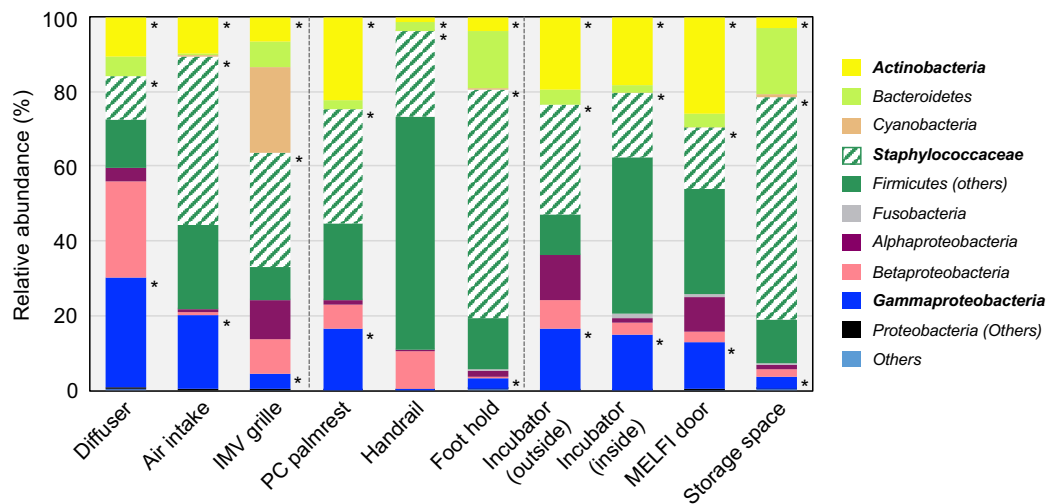


図6. ISS「きぼう」内機器表面の細菌群集構造 (Run 4; DNA-based)

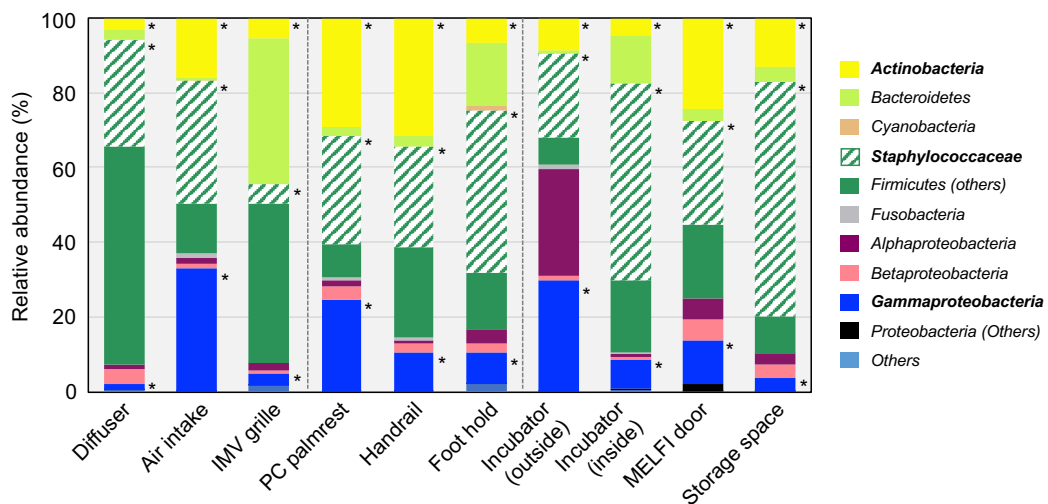


図7. ISS「きぼう」内機器表面の細菌群集構造 (Run 4; RNA-based)

4.4 培養可能な真菌及び粒子の解析

4.4.1 培養可能な真菌の解析

Run 1 及び Run 3 において、船内 5 箇所(Rack、Door、Handrail、Fin 及び Grille)よりスタンプ法によって Microbial detection sheet (MDS) に採取した表面検体を陰性対照と共に「きぼう」船内(室温 22℃)にて培養に供した。培養像は 1 週間後に船内にて撮影され、画像はダウンリンクにて地上に送信後、研究分担者に送付された。画像は汎用画像処理ソフトウェアを用いて色調と出力を調節すると共に、必要な解析に供した。また、船内にて培養された MDS は、船内において冷凍され、-80℃下にて研究分担者へ届けられた。MDS 上の菌は、画像解析結果を解釈する上で必要となる解析に供された。ダウンリンク画像データ解析の結果を以下に示す。

- (1) 図8～11 に示されるとおり、Run 1、Run 2 共に陰性対照に発育を認めず、採取 MDS では Door および Grille のみに真菌集落の発育を認めた。
- (2) 発育した集落数は、Run 1 において、Door 1 cfu、Grille 13 cfu (但し、内、赤色集落 7 cfu、灰色集落 6 cfu)であり、Run 2 においては、Door 118 cfu、Grille 19 cfu (但し、内、赤色集落 11 cfu、灰色集落 8 cfu)と、Run 2 に於いてより多くの真菌集落が得られた。
- (3) MDS 上の真菌は形態学的に *Aspergillus* 属および *Penicillium* 属を含む糸状菌、および *Rhodotorula* 属を含む酵母であることが示されており、それら真菌の構成はサンプル間、および実験間 (Run 1、Run 2) において、ほぼ同一であった。
- (4) そこで、より多くの集落が得られた Run 2 の Door および Grille 画像を用いて、色調および出力の調整によって真菌の簡易鑑別可能性を検討した。図 12 に示される通り、調整前の画像では、Door より発育した集落はほぼ同様のスポットに見えるが、調整後においては、A に示された明確な輪郭を有するスポットと、B に示された不明確な輪郭を有するスポットに識別された。また、図 13 に示された Grille 発育集落も同様に調整すると、A に示された明確な輪郭を有するスポットと、B および C に示された不明確な輪郭を有するスポットに識別された。また、B と C は、灰緑色または灰褐色に識別された。



図8. MDS 発育真菌集落の船内撮影像 (Run 1)



Door: 1cfu

Grill: 13cfu

図9. Run 1 による Door および Grille 採取 MDS 発育真菌集落の船内撮影像



図 10. Run 2 による MDS 発育真菌集落の船内撮影像



Door: 118cfu

Grill: 19cfu

図 11. Run 2 による Door および Grille 採取 MDS 発育真菌集落の船内撮影像

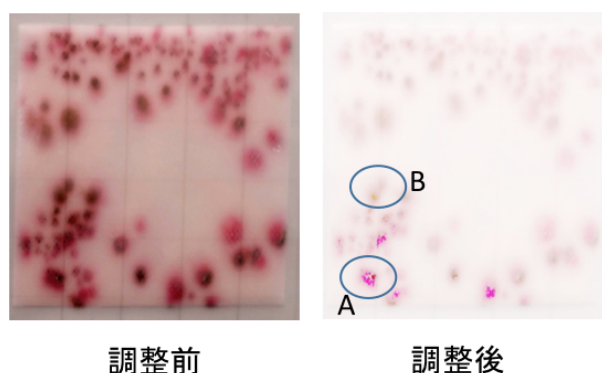


図 12. 船内画像の調節例 (Run 2 Door)

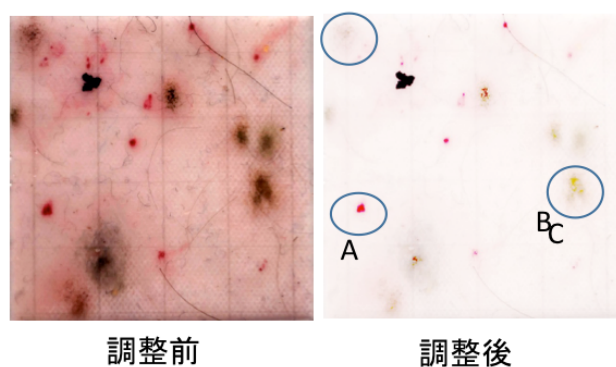


図 13. 船内画像の調節例 (Run 2 Grill)

4.5 「きぼう」内空気中の粒子に関する解析

Run 2-1 において、軌道上からダウンリンクされたパーティクルカウンター取得情報を解析した。「きぼう」船内において、Run 2 期間中に 2 回にわたる船内空気中の 24 時間粉塵測定を行い、そのダウンリンクデータを取得。Microbe-III データと比較した。

図 14 に、本実験による 2 回の 24 時間データと Microbe-III データを示した。Microbe-III と比較して、今回の結果は $0.5 \mu\text{m}$ のデータとして示されている、 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ の粒子が起床時間から日中の活動時間帯にかけて、時にスパイク状、時に連峰状に検出されている。各実験間における粒子径別の 1 L 当たりの数を統計的に処理した場合も、 $0.5 \mu\text{m}$ のデータ区分のみが有意差を以て Microbe-III より増加していることが示された(図 15)。また、今回の 2 回の実験間においても有意差が示された。

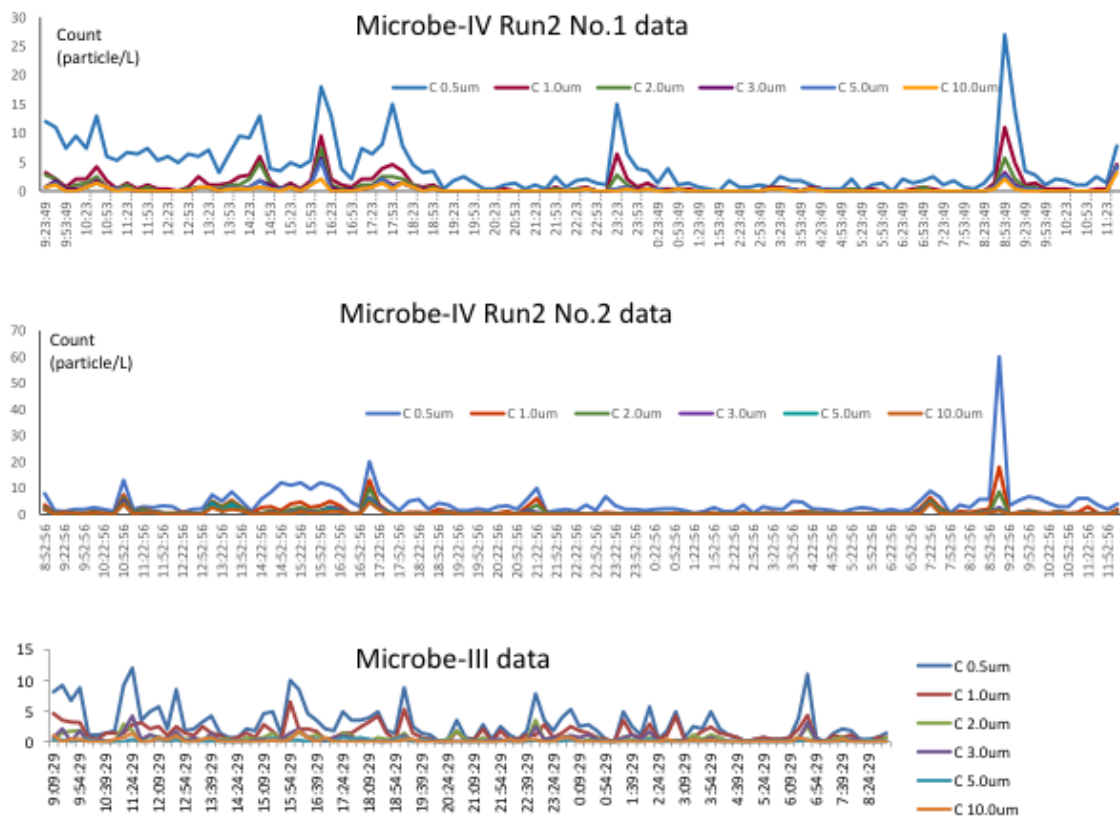


図 14. ISS「きぼう」船内空気中の粒子

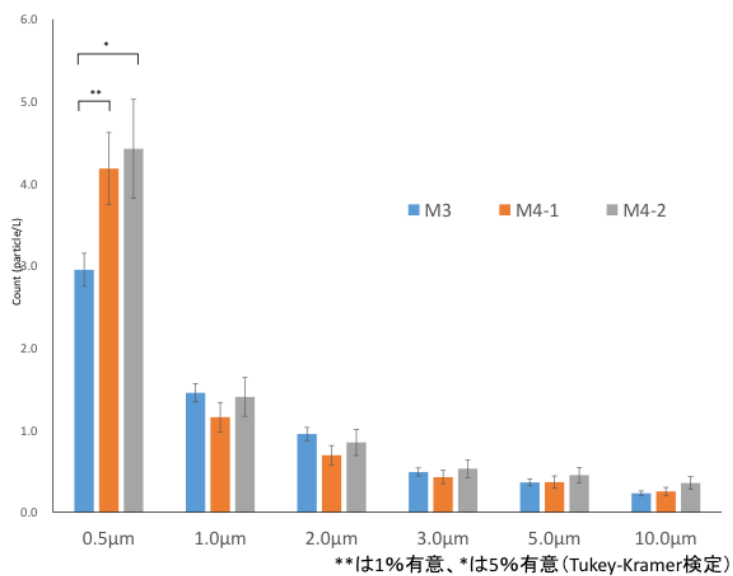


図 15. 各実験間における粒子径別比較 (M3: Microbe-III データ、M4-1 と 2 は各々本実験結果)

4.6 サクセスクライテリアに係る自己評価

(Minimum success)

「きぼう」船内の環境に生息する微生物を、複数のサンプリング方法を用いて、経時的、空間的にサンプリングを実施し、地上に回収して微生物の量(菌数)を明らかにできること。◎

(Full success)

上記に加え、

- ・培養に依存しない解析手法を用いて、細菌及び真菌を高精度に同定し、微生物の種類、量の経時変化データが得られること。また、微生物の分布が把握できること。◎

- ・長期的に船内に存在する(あるいは存在した)細菌及び真菌を高精度に同定できること。◎

- ・本研究から得られたデータをふまえ、「きぼう」船内での標準的な微生物モニタリング法として提案し、超長期宇宙滞在を目指した有人宇宙技術の開発に貢献すること。◎

(Extra success)

上記の解析手法により得られた結果が、新規の発見等に繋がるものであった場合。◎

4.7 国際的位置付け、関連分野および社会生活への波及効果

経時的に「きぼう」船内の表面・空気・水を含む総合的な微生物環境をモニタリングすることで、宇宙環境における、衛生微生物学的な安全・安心の保証の実現につながる。また、我が国独自のデータを蓄積することにより、国際共同研究をこれまで以上に円滑に進めることが可能になる。地上への応用としては、軌道上の実験で使用したサンプリング手法、新手法が医薬品製造環境等の環境モニタリングに応用可能であることが認識され、関連分野で普及されつつある。

5. 結言

- (1) 軌道上において画像のダウンリンクによって真菌発育像を評価した。
- (2) アンプリコンシーケンス法により軌道上の微生物叢の変遷を明らかとした。
- (3) 生理活性評価法として、16S rRNA を指標とした解析の可能性を示した。
- (4) 細菌現存量の測定結果から、ISS「きぼう」は現状では微生物学的に適切に管理されている空間であると考えられる。
- (5) 微生物群集構造の解析結果から、ISS「きぼう」船内は、*Actinobacteria* や *Firmicutes*、*Gammaproteobacteria*、*Malassezia* といったヒトの常在微生物が優占しており、Microbe-I/II/III の解析結果と同じく、宇宙飛行士の接触により、体表面から各機器等の表面に移行したものと考えられた。

ISS・きぼう利用ミッション

「宇宙居住の安全・安心を保証する「きぼう」船内における微生物モニタリング

(Microbe-IV)」

成果リスト

1. 学術論文・総説

- (1) Ichijo T, Shimazu T, Nasu M. Microbial Monitoring in the International Space Station and its application on Earth. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, in press. Review.
- (2) 一條知昭、那須正夫. 国際宇宙ステーション「きぼう」船内の微生物モニタリング. 空気清浄, **57**(1):10-14, 2019. Review.
- (3) 那須正夫, 一條知昭, 杉田隆, 嶋津徹, Lasseur C., Smith DJ., Venkateswaran K. 宇宙居住と微生物(特集:宇宙の極限環境から生命体の可塑性をさぐる、Ⅲ. 宇宙空間滞在の環境リスク), **69**(2):168-174. Review.

2. 出版

- (1) Yamaguchi N, Roberts M, Castro-Wallace S, Oubre C, Makimura K, Leys N, Grohmann E, Sugita T, Ichijo T, Nasu M. 4.4 Microbial Contamination, pp. 663-668. *In* Kanki B, Clervoy JF, Sandal G, Sgobba T (ed.), *Space Safety and Human Performance*. Butterworth-Heinemann, United Kingdom, 2018.

3. 学会発表

3.1 シンポジウムの開催

日本薬学会第 138 年会(金沢)

一般シンポジウム「宇宙居住環境における微生物の全体像理解と地上応用 ～人類の長期宇宙居住の安全・安心を目指して～」

オーガナイザー: 杉田隆、一條知昭

開催日: 2018 年 3 月 27 日

シンポジスト、講演演題:

那須正夫. 宇宙居住と地上応用の接点

石岡憲昭. 国際宇宙パートナーの微生物学研究の現状と将来

杉田隆. 宇宙居住環境はヒト皮膚マイクロバイオーームを変化させるか

一條知昭. 国際宇宙ステーション「きぼう」における8年間の細菌モニタリング

川井真好(姫路独協大学). 宇宙居住環境モデルとしての医薬品製造施設の衛生微生物学的検討

3.2 招待講演

- (1) 那須正夫. 国際宇宙ステーション「きぼう」船内の微生物モニタリングと群集構造ー宇宙居住と地上応用ー(シンポジウム『宇宙と微生物』), 第 22 回腸内細菌学会(東京), 2018 年 5 月
- (2) 槇村浩一. 宇宙環境における微生物とヒト健康リスクの管理(シンポジウム『宇宙と微生物』), 第 22 回腸内細菌学会(東京), 2018 年 5 月
- (3) 一條知昭. モデル閉鎖環境における微生物(シンポジウム「宇宙に生きる」), 第 62 回日本宇宙航空環境医学会大会・日本宇宙生物科学会第 30 回大会合同大会(愛知), 2016 年 10 月
- (4) Ichijo T. Bacterial monitoring in the International Space Station - Kibo – with culture independent approach, 20th Space Environmental Medicine Round Table Meeting (Tokyo, Japan), Sep. 2016.

- (5) 一條知昭. 国際宇宙ステーション「きぼう」における細菌モニタリング(メインシンポジウム(4)), 第14回日本予防医学会学術総会(東京), 2016年6月.
- (6) 那須正夫. 宇宙微生物学への招待～国際宇宙ステーションにおける gene ecology～(特別講演), 第14回日本予防医学会学術総会(東京), 2016年6月.

3.3 国際学会

- (1) Uchii K., Shiomi K., Enokida N., Ichijo T., Tani K., Nasu M. 16S rDNA- and rRNA-based community structures of bacteria in the Japanese Module 'Kibo' of the International Space Station, Joint Symposium 32nd ISTS & 9th NSAT (Fukui), Jun. 2019.
- (2) Ichijo T, Yamaguchi N, Nasu M. Four-year bacterial monitoring in the International Space Station– Japanese Experiment Module "Kibo" with culture-independent approach, 16th International Symposium on Microbial Ecology (Montreal, Canada), Aug. 2016.

2019 年度 ISS・きぼう利用ミッション科学成果評価結果(生命医科学)

研究課題

宇宙居住の安全・安心を保証する「きぼう」船内における微生物モニタリング(Microbe-IV)

代表研究者; 那須 正夫(大阪大谷大学)

総合評価

A: 目標を十分に達成した(フルサクセス相当)

本研究は、先行研究、Microbe を発展させ、様々な手法で収集した、きぼう船内の細菌・真菌の動態に関して、詳細なデータを取得、解析した。「きぼう」打ち上げ以来、継続的に行われている研究の一環であり、長期間にわたり JEM 船内の微生物叢の動態を観察し続けたことの意義は非常に高い。ISS 居住の安全性を担保し、将来の有人宇宙探査に必須の知的基盤を構築したことの意義は極めて高い。

一方、新規の発見に繋がるような、基礎的に重要な成果については、報告書に明確な提示がなく、原著論文が出版されていないことも残念である。本研究の成果を、原著論文として纏めること、特に、Microbe を併せた成果の総括を推奨する。

2020 年 1 月

きぼう利用テーマ選考評価委員会(生命医科学)