第3部　ライチョウの野生復帰に向けた研究の取り組み
座長　秋葉由紀（富山市ファミリーパーク）

09

野生復帰に向けた飼育ライチョウへの「野生型腸内細菌」移植

土田 さやか
中部大学創発学術院

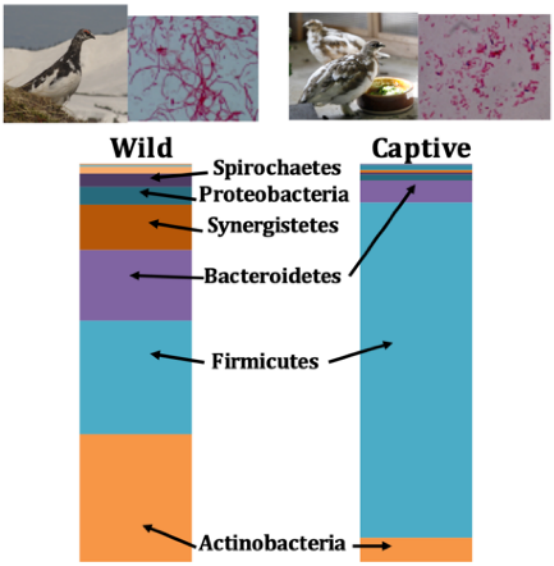
〇座長　まず，中部大学創発学術院土田さやか先生から，「野生復帰に向けた飼育ライチョウへの「野生型腸内細菌」移植について発表いただきたいと思います。
　先生，よろしくお願いします。

〇土田　ご紹介，ありがとうございます。中部大学創発学術院の土田さやかです。
　先ほどから，ちょろちょろっと，うんこマニアだとか，うんこ屋さんという話が出ているかと思いますが，私以降話す方は全員，おそらく，うんこマニアだと思います。
　もう少し若い時は，ちょっとそれは嫌だなと思って，違いますと言っていたのですが，この歳になると，ああ，そうです，と，うんこ屋さんであることを認めています(笑)。
　本当にうんこが好きで，うんこ練れているわけではなくてですね，私は糞の中に入っている腸内細菌の研究をしています。
　昨日からチラホラと話題には上がっているかと思いますが，野生復帰個体群を創出するためには，腸内細菌が非常に重要であるということが分かってきまして，それがなぜ重要かっ

ていう，また，野生型腸内細菌をどのように飼育下に移植するかということに取り組んでいます。

生息域外保全

野生復帰個体群を創出するにはまだ問題が・・・



腸内細菌叢の構成

Ushida et al. 2016. *The journal of veterinary medical science*

- 日和見感染症による死亡率の高さ
- 野生個体と飼育個体では腸内細菌叢の構成が全く異なる
- 野生と全く異なるエサ内容と、抗生物質投与

生息域外保全

野生から

飼育施設へ

野生ライチョウの卵を飼育施設で人工孵化し、維持・増殖

- **（希少）種の保存**
- **野生復帰の準備**

★飼育下での繁殖成功.
★野生下で生存可能な資質を持った個体の創出.

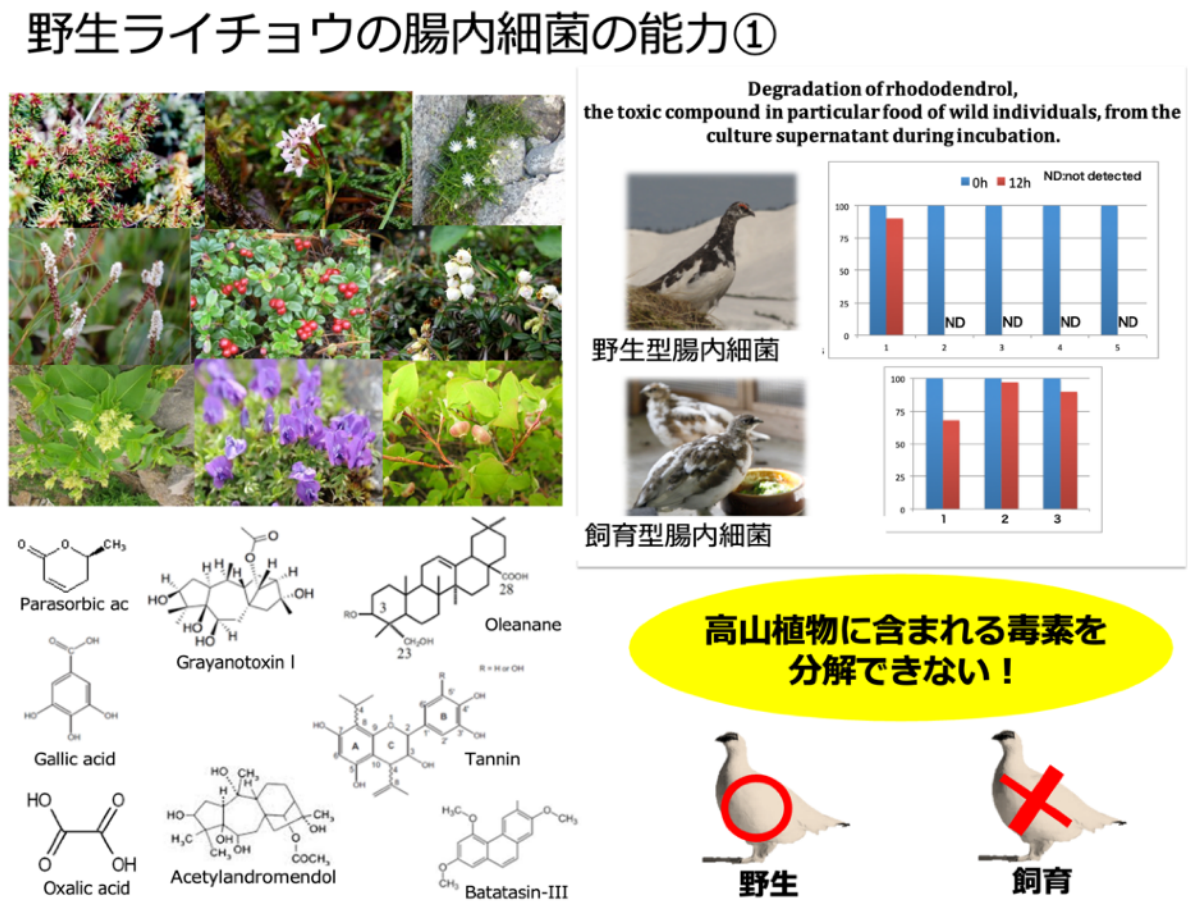
簡単に，本当に皆さん色々と前に説明されているので，二度手間な話になってしまいますが，野生の生息域外保全というのは，野生から卵を採ってきて，飼育施設に卵を移動します。そこで人工孵化させて，その個体を維持，繁殖で，増殖させるという事業です。

これはですね，野生復帰の準備ということを目的として行われていまして，今現在では，飼育下での繁殖の成功，野生下で生存可能な資質を持った個体の創出，というのが目標となって研究されています。

しかしですね，野生復帰個体群を創出するには，まだ色々と問題がありまして，まず1つ大きな問題点はですね，飼育の個体と野生の個体の腸内細菌が全く異なってしまう，ということに問題があります。

見にくくて申し訳ないのですが，こちらが野生の個体です。こちらは飼育の個体になります。写真はスバールバルですけど。横のこの赤いモヤモヤっとしたものが腸内細菌を実際に染めたものです。糞便を直接スライドガラスに塗沫して，染色してみています。野生の個体はすごく特徴的な細長いこういう菌で構成されていますが，飼育のものは赤いつぶつぶ状のものが点々とあるもので，直接形を見るだけで全く違うものだということが，よく分かるかと思います。

DNAを使ってですね，何が入っているか，糞の中，腸内細菌に何が入っているかというのを網羅的に調べますと，この様になっていまして，こちらが野生ですね。こちらが飼育になりますが，色が同じものが同じ種だと考えてください。かなり構成としては異なっているということが分かります。



飼育下で問題がいくつか上げられますが，重要なのは，日和見感染症によって孵化して直ぐぐらいの雛が，パタパタと死んでしまう，であったりですとか，野生と全く異なる餌ですね，野生ではたくさんの高山植物とか虫とかを食べていますけど，飼育下では基本的には小松菜とウサギのペレットで飼育するということで，それは，こういう腸内細菌の異なる，ということを説明することにもなります。

それでですね，今まで私が研究してきた野生ライチョウの腸内細菌の能力，ここが凄いよというところを，皆さんにお伝えできればと思います。

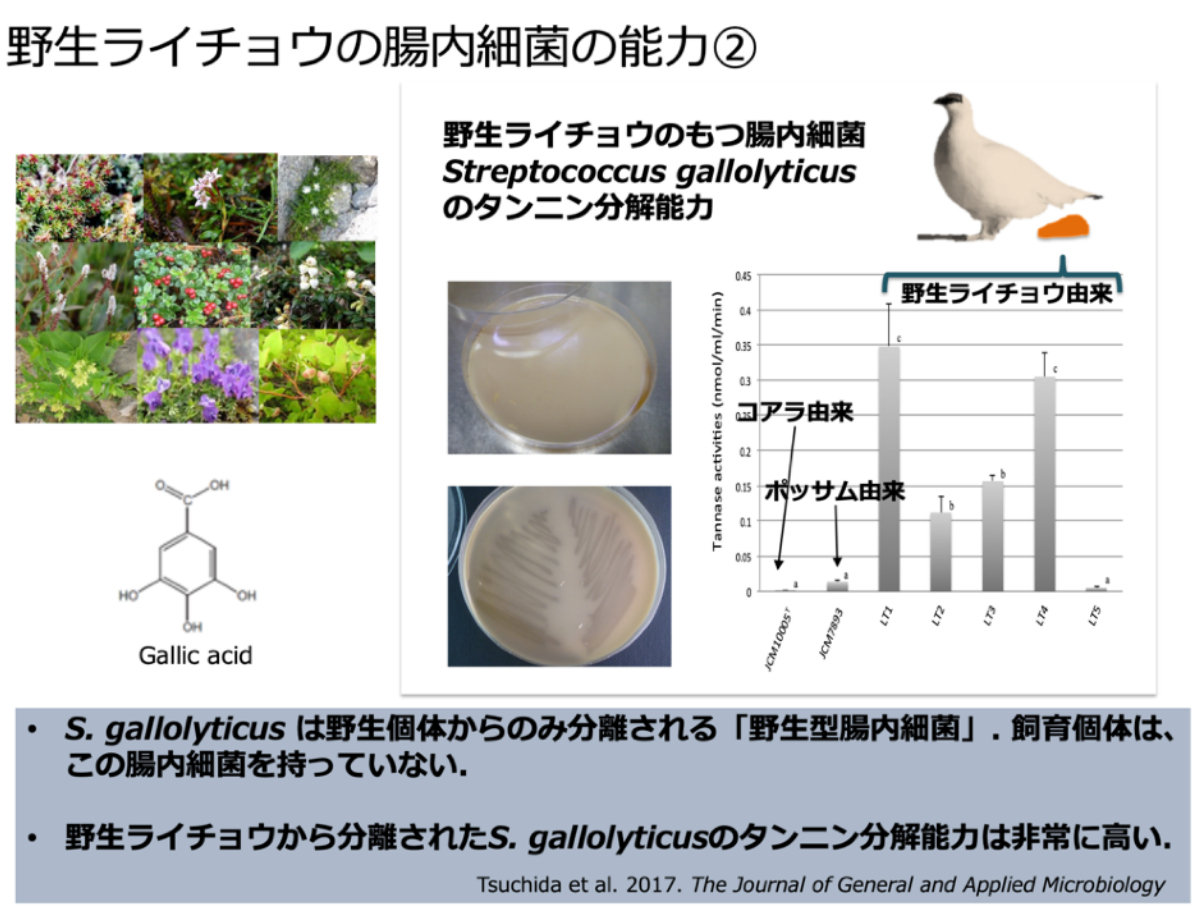
まず，その1です。こちらは野生の個体が食べているような高山植物の写真になりますが，その下の化学式ですね，これは，こういった高山植物に含まれる毒素であったり，反有用物質であったりを示しています。こういう食べ物には，こういうものが含まれているということです。

こちらは野生の個体の腸内細菌，糞便ですね。糞便を使って，ロドデンドロールっていうハクサンシャクナゲに含まれる毒素ですけど，それを分解する試験を行ったものです。

こちらが，対して飼育の腸内細菌，糞を用いて分解を見た，という試験結果になります。

これ，最初培養を初めて，青いのが0時間ですね。毒とうんこを混ぜて培養するのですけど，この青色が培養し始め，この赤色のバーは培養12時間後の毒素の濃度です。

これを見ていただいたら，1個体だけ変なのですけど，野生型の腸内細菌，野生の糞では12時間後に毒素が全く見られずに，12時間で全て解毒できた，ということを示しています。



対して，こちらは赤いバーがありますので，まだ毒素が残っている状態ということで，飼育の腸内細菌では，このロドデンドロールという毒素は分解できない，ということになります。

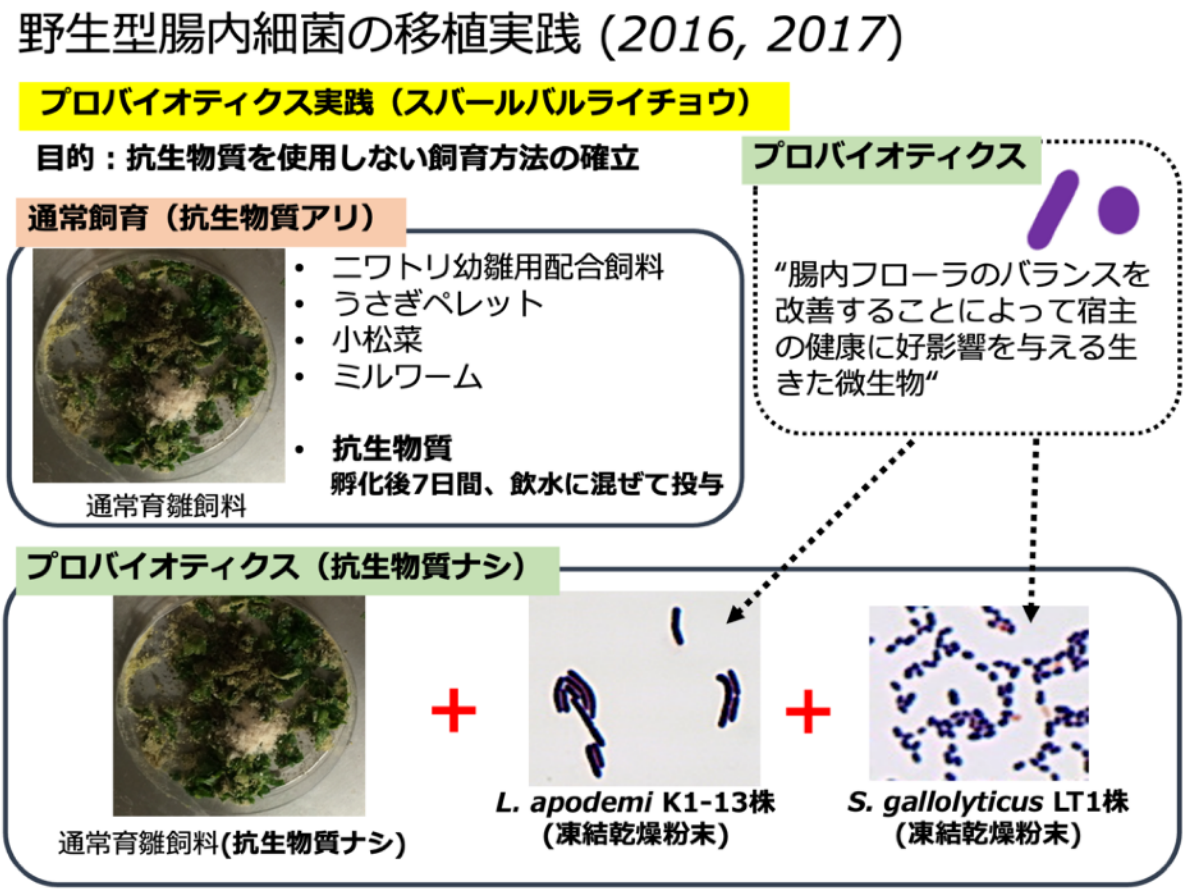
すなわち，高山植物に含まれる毒素を分解できないということですので，この個体をそのままこちらに野生復帰させた場合ですね，この食べ物に含まれる毒素を分解することができない，ということになります。

2つ目，これが凄いよっていうところですが，先ほどの化学式の中の1つで，Gallic acidという，これタンニンです。柿の葉とかでよくお聞きになったことあると思いますが，タンニン，これはタンパク質に強固に付着してタンパク質をエネルギーとして使えなくしてしまいます。そのタンニンを分解する様な菌，Streptococcus gallolyticusという菌ですが，これは野生から分離されていて，これはタンニンの分解を示します。

これを見ていただいて，ちょっと見にくいですけど，この乳白色の部分がタンパク質にくっ付いたタンニンです。これ，簡単には剥がれないのですけど，このちょっと半透明になっているところに菌を塗ってあります。この半透明になっているということは，タンニンと結合したタンパク質が外れているっていうことを示していまして，こうやって野生のうんこから採ってきた菌というのは，高山植物に含まれる栄養吸収阻害をするようなものを分解することができて，中のタンパク質をきちんと餌として使うことができる，ということです。

次が，抗菌作用です。ご覧になった方もいらっしゃるかもしれません。この緑色が悪い菌でして，これは緑膿菌ってお聞きになったことありますかね，よく高齢者の施設とか集中治療室とかで院内感染の原因菌と言われていまして，抗生物質に耐性を非常に示しやすいので，多大耐性緑膿菌と言って非常に院内感染に問題になっています。

この凄い綺麗，綺麗に育てられた環境の飼育下だと，まま，出てくるのですね。そういうものに対して，緑膿菌が入るところに穴を開けて，野生ライチョウが持つ乳酸菌の液体ですね，試料を中に入れてやると，こういう映えない緑っていうのですかね，スカッと緑色になってない部分，これはですね，抗菌性を示すということです。緑膿菌に対して，緑膿菌を殺す力がある，ということですね。野生のライチョウというのは，そういうのを腸の中できちんと持っていて，病原菌にかからないということをしているわけです。



この辺をもの凄く細かく喋ると非常に長くなるので，ちょっとパパパっと説明します。

プロバイオティクスというのをご存知ですかね，聞いたことあると思います。ヨーグルトの中に入っている菌のことを指します。それを食べるとですね，腸内フローラのバランスを改善することによって，宿主の健康に好影響を与える生きた微生物，という定義です。

だから，ヨーグルトに入っているLGなんとか菌みたいなのは，プロバイオティクスと言います。

それをですね，抗生物質の代わりに使えないかということで，飼育の餌に混ぜて抗生物質を使用しない飼育方法の開発というのを行ってきました。

こちらは，抗生物質有りの餌です。こちらは，抗生物質なしの餌に，先ほど説明しました野生のライチョウから採ってきた乳酸菌を混ぜて飼育しました。

次は，結果になります。これはスバールバルライチョウで行った試験なのですが，よく死ぬと言われているここですね，孵化後0〜7日齢のところの死亡率です。

野生型腸内細菌の移植実践 (*2016, 2017*)

プロバイオティクス実践	プロバイオ群	抗生物質群	
N=	16	17	
死亡総数(%)	7 (43.8%)	12 (70.6%)	①
日和見感染症による死亡数(%)	3 (18.8%)	8 (47.1%)	①
孵化後0～7 日齢	2 (12.5%)	0 (0.0%)	②
孵化後8～14 日齢	1 (6.3%)	5 (29.4%)	③
孵化後15～30 日齢	0 (0.0%)	2 (11.8%)	③
孵化後31～60 日齢	0 (0.0%)	1 (5.9%)	

① 抗生物質投与群の死亡総数は、プロバイオ群の1.6倍であった。このうち日和見感染症による死亡数のみ取り上げると、抗生物質投与群の死亡総数は、プロバイオ群の2.5倍であった。 その他の死因は、過体重による脚障害と、闘争による事故死だった。

② **抗生物質群の死亡数は、投与期間中の孵化後7日までは非常に低い.**

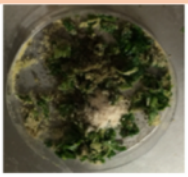
③ **しかし、抗生物質の投与期間を過ぎると、日和見感染症による死亡が増える.**

野生型腸内細菌の移植実践 (*2018*)

シンバイオティクス実践（スバールバルライチョウ）

目的：抗生物質を使用しない飼育方法の確立
通常エサに野生での食べ物に含まれる成分をプラスする

通常飼育（抗生物質アリ）



通常育雛飼料

- ニワトリ幼雛用配合飼料
- うさぎペレット
- 小松菜
- ミルワーム
- **抗生物質**
  孵化後7日間、飲水に混ぜて投与

シンバイオティクス

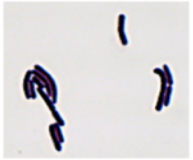
プロバイオティクス ＋ **プレバイオティクス**

“大腸内の特定の細菌の増殖および活性を選択的に変化させることより、宿主に有利な影響を与え、宿主の健康を改善する難消化性食品成分“

シンバイオティクス

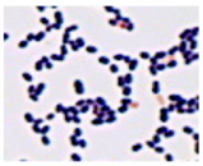
通常育雛飼料
(抗生物質ナシ)

＋



L. apodemi K1-13株
(凍結乾燥粉末)

＋



S. gallolyticus LT1株
(凍結乾燥粉末)

＋

タンニン豊富な食物
(乾燥柿の葉)

抗生物質をあげているやつは，生まれてから7日間は，ずっと飲み水の中に抗生剤が入っていて，予防的に抗生剤を使っています。

プロバイオティクスはそれをやらないで乳酸菌をあげる，という試験をやった結果です。

こちら，総死亡数になります。こっちは，感染症ですね。死亡した数になります。

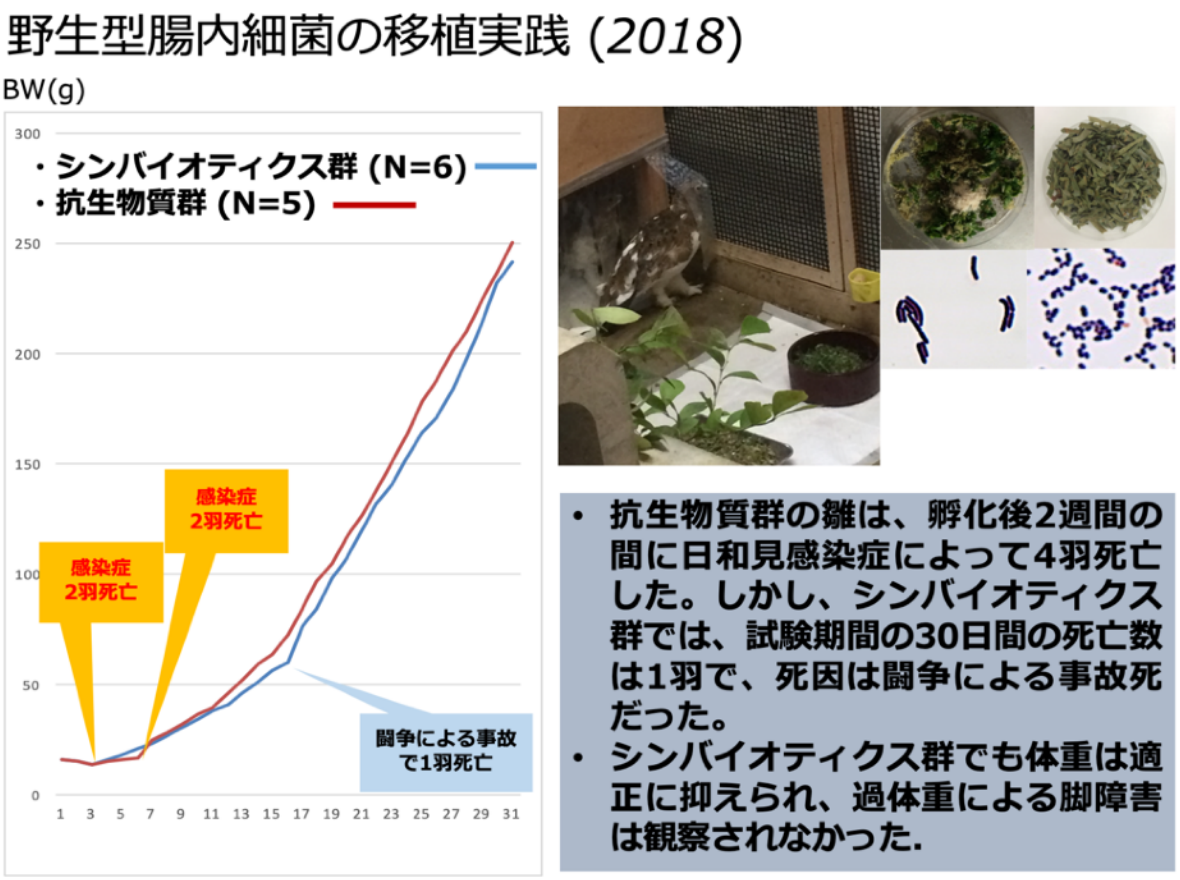
特筆すべきところはですね，0〜7日のところ，抗生物質投与分は，抗生物質をあげてるので，感染症では死なないのですね。

プロバイオティクスの方は，2羽ほど落ちていますが，それでこちら，投与が終わった後にですね，どっと死ぬのです。抗生物質投与しているのが。

だから，あげ続けていれば予防はできるかもしれないけれど，あげ続けるのをやめた時に，どどどっと感染症で亡くなります。

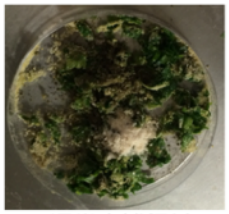
しかし，プロバイオの場合は，そういうのが起こらない，ということで，こういう野生由来のものをあげて抗生物質を飲まないでも健康に生きられる個体というのを作るというのをやっています。

シンバイオティクスというものですが，これは先ほどのプロバイオティクスというのに＋αしてやる餌の投与方法ですね。だから，皆さんでいうと，ヨーグルトの中にオリゴ糖が入っている，というのを，よくご存知かもしれないのですが，ビフィズス菌というのはオリゴ糖を食べるのですね。そのビフィズス菌というのはプロバイオティクスなのです。そのプロバイオティクスの餌とプロバイオティクスの菌を一緒に食べるっていう方法が，シンバイオティクスっていう方法です。



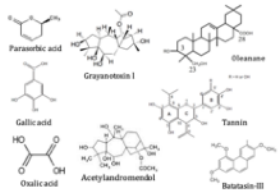
現在進行中(2019～)

シンバイオティクス（ニホンライチョウ）



通常育雛飼料
(抗生物質ナシ)

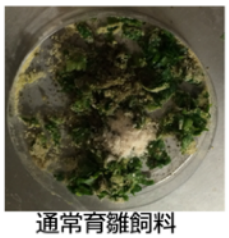
野生ライチョウ由来の
有用腸内細菌



野生での食べ物に含まれる化学物質

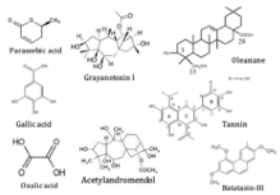
or

糞便移植（ニホンライチョウ）



通常育雛飼料
(抗生物質ナシ)

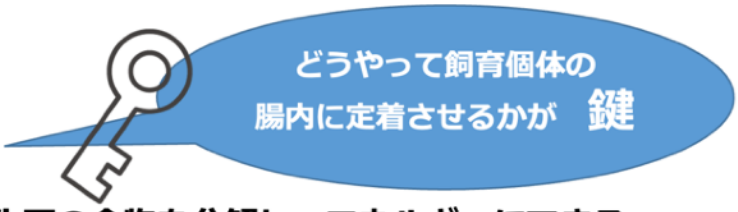
病原体を取り除いた
野生ライチョウの糞便



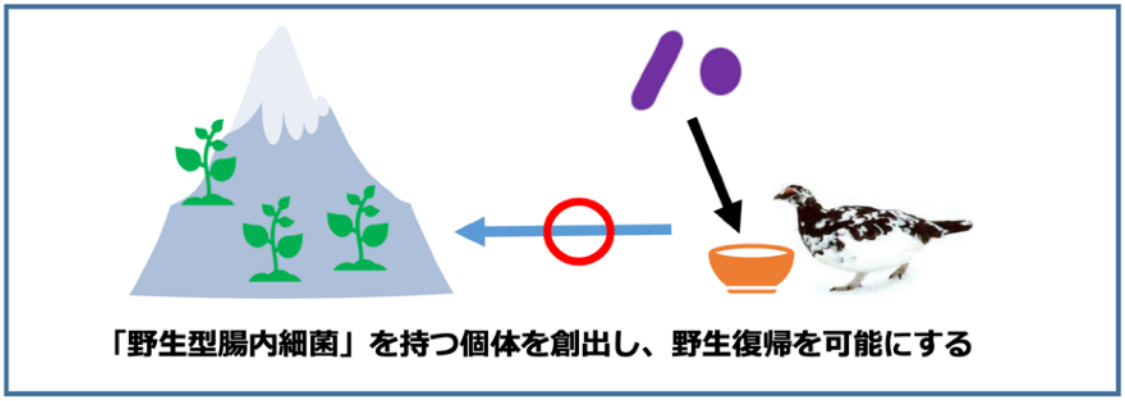
野生での食べ物に含まれる化学物質

今後の目標

「野生型腸内細菌」



- **反栄養物質の多い野生下の食物を分解し、エネルギーにできる**
- **抗生物質ナシでも感染症にかからない**



「野生型腸内細菌」を持つ個体を創出し、野生復帰を可能にする

今回は，オリゴ糖にあたる部分ですね，先ほど説明しましたようにタンニン分解能があるので，タンニン豊富な食物ということで，柿の葉を加えて，こちらも抗生物質無しで，どれだけ感染症から身を守れるかということで試験を行っています。

赤い方のバーが抗生物質をあげたもの，青いバー，青い線がシンバイオティクス群ですが，シンバイオティクスをあげた方が感染症で亡くなる例がありませんでした。これ，孵化後30日齢をおいてますけど，1羽だけ闘争でなくなっています。

抗生物質をあげていた方はですね，7日以内に4羽死亡しています。抗生物質というものは，ある程度は感染症を防げるのですが，全て防げるというわけではないし，あげるのはやめてしまうとかかって死んでしまう，というようなことがあります。

今後の目標はですね，今までやっきたプロバイオティクスであるとか，シンバイオティクスであるとか，というようなものを利用する。これは，普通の餌です。これ，抗生剤入っていません。これにですね，野生由来の菌をプラスします。今までですね，やっていたシンバイオティクスのオリゴ糖にあたるものは，タンニンしか出てないのですが，先ほどから申してますように，ライチョウが食べる高山植物にはこれだけの毒素であったり，例えば反栄養物質，難消化性繊維であるとか，そういうものがたくさん含まれています。そういうものをプラスして，タンニン単体ではなくですね，あげるような方法と，菌をあげるだけではなくて，糞便そのものを移植できないかということも考えています。

ただし，それはですね，この後，先生方がお話しされますけど，ちょっと寄生虫の問題があって，直接あげられません。ただし，それをフィルターにかけて寄生虫を落とすことによって，あげられないかという，そういう方法も開発，今，しているところです。

今後，こうやって続けていってですね，飼育個体に野生型腸内細菌というのを付与して，野生復帰し得る個体を作っていくっていうことを，腸内細菌の側から考えていきたいと考えています。

以上です。

〇座長　土田先生，発表，ありがとうございました。

大変，飼育下のライチョウの盲腸内の細菌叢と野生の細菌叢が違うというのは，我々飼育しているメンバーもとても衝撃的で，それから色々とご指導いただいておりました。

緑膿菌という大きな問題にも色々と取り組んでいただいておりまして，今後，日本ライチョウの飼育下の死亡率を下げるという，少し光が見えてきております。

今後とも，よろしくお願いします。

そうしましたら，フロアの方で，ご質問等ありましたら挙手をお願い致します。

〇質問者　非常に貴重なご発表，ありがとうございました。日本大学の佐藤と申します。

この腸内細菌叢をですね，色々想定された中で，ライチョウは北半球に広く分布してますけども，他の地域のライチョウでの，こういった腸内細菌叢の構成とか，その辺りは似たような感じですとか，その辺りは何かわかっているのでしょうか。

〇土田　培養がやられたことがおそらく無くてですね，私も今のところ日本ライチョウしかやっていないので，培養経過に関しては，比較することができないのですが，　DNAを用いた網羅解析ですと，様々なところがやられていまして，ヨーロッパオオライチョウ，ちょっと属が違いますけど，であったりとか，ノルウェーのスバールバルであったりとかは，やられているのですけど，それはやっぱり，日本のライチョウと似ているものが出てきまして，ライチョウにはライチョウの腸内細菌というのは，ある程度あるのかな，という感じはしています。

答えになってますでしょうか。

〇質問者　ありがとうございます。

あともう1点は，域外飼育していく中で，どうしても色々な下の方にいる菌と感染が起こるということで，特に緑膿菌が問題であるということでしたけど，それは，環境中にあるものが感染してしまうという，そういうようなイメージでしょうか。

〇土田　基本的に環境中のものを拾っていると思います。

例えば，実験動物なんかでもよく言われるのは，飼育者が変わると動物の形相が変わるというのは，よく知られている話かと思うのですが，おそらく，動物園でもそういうことっていうのは起こっていて，飼育者のものっていうのが，いくらか過ぎても無菌で育てているわけではないので，どうしても移ってしまうものがあると思います。

あとは，野生の雛だと，母親の糞を食べたり，たとえば土を食べたり，本当に周りの環境の菌を取り込むということが可能かと思うのですけど，実際の動物園だと，まだ人口飼育されていると，卵の卵殻のところにアルコールというか，消毒もしますし，そういう外部からの菌の取り込みっていうのは非常に限られた資源からの取り込みになると考えています。

ですので，やはり，普通の環境から入れるというよりかは，もっと，もっと，綺麗なところで，そういうところでも生きられるというか，抵抗性があったりするような，緑膿菌とかもそうですけど，そういうものを拾いやすいのかなっていうのは，感覚的ではありますけど，思います。

○質問者　どうもありがとうございます。

○座長　ありがとうございました。その他，ございますでしょうか。
　そうしましたら時間になりましたので，先生，発表，ありがとうございました。