

野生型腸内環境を誘導するライチョウの飼料開発

牛田 一成 中部大学創発学術院/応用生物学部

○座長 続きまして、中部大学創発学術院牛田一成先生によります、「野生型腸内環境を誘導するライチョウの飼料開発」について、ご報告よろしくお願い致します。





〇牛田 はい、それでは、引き続きまして発表致します。先の演者が発表したように、野生型の腸内細菌の形を飼育下で作っていくということが、野生復帰させる個体を動物園でどうやって作っていくかということの中心的な課題である、というように考えておりまして、そのための方法論の開発に取り組んでいます。

具体的には、先の演者からシンバイオティクスの概念の説明がありましたけれど、そもそもどういう餌を飼育ライチョウにあげるか、ということを中心に考えてまいりました。

課題としては、域外保全の保険個体群の場合、つまり遺伝資源としてのニホンライチョウを残すという意味においては、野生復帰を前提にしてないということですから、生きた状態、つまりどうやって殺さないように増やしていくか、というようなことになります。

ですから、この場合は増殖技術というのが非常に重要ですし、個体を維持するために病気にならないように対策するというのが基本的な考え方になります。

一方で、野生復帰を前提とした飼育個体群というのは、野生の環境に戻して生きていける 適応性というか、環境に順応する力をあらかじめ用意する必要があるということで、これら 2つの個体群は、飼育形態が大分違ってきます。

現在の課題

域外保全保険個体群: 増殖技術確立と疾病対策

野生復帰準備個体群: 野生環境への適応性付与

再導入: 再導入・補強技術の確立











図(3)-1. 人工飼育中のライチョウ 左, 雑ケージでの試料採取 右, 人工孵化個体

生息域外保全の問題

野生復帰をめざす野生動物飼育の困難さ

生息域自然環境の飼育下での再現

特殊な食物(とくに草食獣)
→成分の理解による飼料開発
治療介入における困難
→プロバイオ シンバイオの利用
繁殖管理における困難

飼育下次世代の自然環境適応力維持

実際,この写真で示すような,ほぼ無菌室に近いような環境で飼育されているライチョウが,野外の環境に出ていけるのか,ということを考えると,飼育のここのステップをどう改善していくかということが研究の第一の目的になるわけです。

私は、別に鳥の研究者では全然なかったのですけど、これまで基本的には草食の動物の取り扱いをずっとしてきました。

それで、野生復帰を目指す野生動物の飼育というのを考えた時に、エサとなる食物をふくむ生息域の自然環境を飼育している場所でどう再現していくか、というのが課題なのですけど、一般に、草食動物、例えば動物園で飼われている草食動物って、みなさんご覧になった時に、餌をやるのが難しいと思われるか、つまり、草食動物を飼うのが難しいか簡単か、肉食の動物を飼う方が難しいか簡単か。

実は、草食動物って牛の餌をあげておけばいいじゃないかというところがあるのですけど、そういうことは全然ありません。むしろ、餌の調達と飼育ということだけでいけば、肉食の動物の方が簡単です。

肉をあげていればいい、あるいは魚をあげればいい、ということになります。

もちろん、細かい栄養学的な検討はありますけれども。一方ですね、全部の草食動物を牛の餌で飼えるかというと、必ずしもそういうことではありません。典型的な例はコアラやパンダのような動物で、彼らの好む食物を用意しないと飼育することが全くできないわけです。このように、実は草食動物の方が特殊な食物を必要とするケースが多くてですね、調達が困難な場合があるわけです。

実際,ライチョウのことを考えると,野外でライチョウが食べている高山植物を動物園であげるということはですね,例えばコアラがユーカリを食べるからユーカリを畑で育てて,それを刈ってきて与えるということに似ていますが,高山植物の場合,そういうことが簡単に出来るのかということを考えると,これが,かなり困難な課題であることが容易に想像できます。

それから、抗菌性の薬剤による予防とか治療介入は、先程の演者の発表にもあったように、腸内細菌叢を大きく撹乱しますので、それによって草食動物はかなり重大な影響を受けます。抗菌剤によって腸内細菌叢が変化して、十分に草の消化ができなくなる、下痢をするというのはよくあることです。

人工条件下での繁殖の問題は、たいへん困難な課題ではあるのですが、日常的な飼育においては、このエサの確保と腸内細菌叢の維持という2つの問題があってですね、飼育下の環境に適応してしまったものを、そこから野生復帰へ持ち込むことというのは、極めて難しい課題になります。

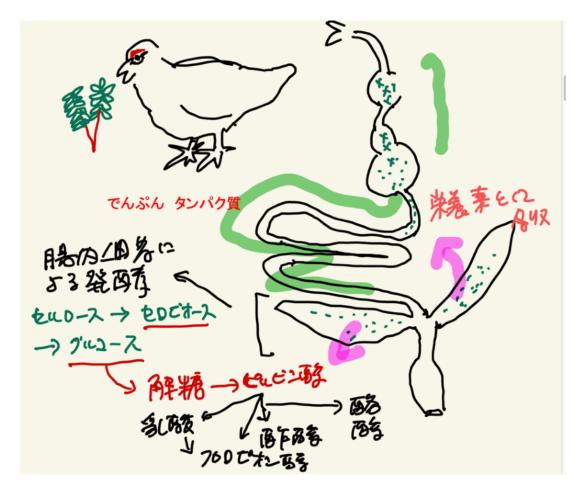
したがってですね、ここをどうやって改善していくかということを考えていきますと、特殊な食物というのは具体的に何か、ということです。

化学成分の理解が進めばですね、そうしたものを人工的に作っていくことはできるだろうと思います。それから、抗菌剤による治療介入というのをどれぐらい減らせるかということで、予防衛生的な方法論として、先ほど紹介したようなプロバイオティクスなどの利用というのは有効と考えて、この2つの技術目標について、我々のところでは取り組んでいるわけです。

さて、先ほどもありましたように、この写真で示すようなエサを彼らはずっと食べている わけですよね。

野生下の食生態から腸内環境を知り、野生復帰準備個体群の飼料を開発する





それで、その植物は食べられた後どうなっていくのか、ということを研究しなければいけないというところから始まります。ライチョウは、山の中で高山植物をつついて食べるわけです。ライチョウの消化器がどうなっているのかというと、この会場皆さんご存知の方多いと思いますけど、素嚢があってですね、腺胃があって、筋胃です。図のこの場所に胃があるわけですけど、それに続いて小腸があって、その次に実はライチョウには、2つの大きな盲腸が発達しています。胃から小腸を通過していく中で、例えば、デンプンであるとかタンパク質のような成分は、ライチョウ自身の消化酵素で消化して吸収できる。だけど、例えば、こういう高山植物の葉っぱや枝に含まれている、成分としては具体的にはセルロースのようなものは、これを消化する酵素はライチョウ作りませんから、これを栄養にしようと思うと、腸内細菌の働きが必要になります。

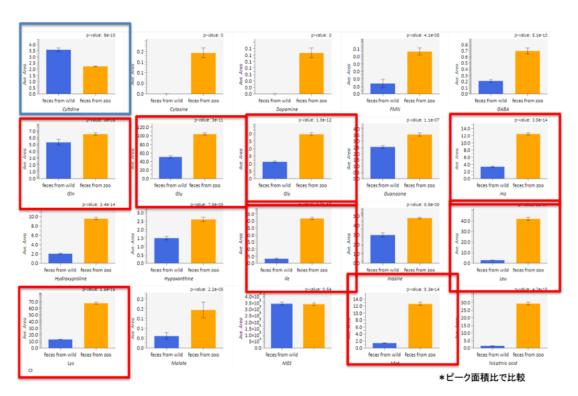
消化されずに小腸の端まで流れてきて、そこから盲腸に逆送されて、盲腸で細菌による発酵作用を受けます。

スライドの図には、ちょっと細かい話を書いてますけど、発酵で出てくるものがお酢の成分である酢酸だったり、チーズでよく見つかるプロビオン酸というものだったり、酪酸だったりします。これらは短鎖脂肪酸というように言いますけど、この短鎖脂肪酸を盲腸から吸収してエネルギーとしています。

ですので、盲腸の内部環境がどうなっているのかというのを調べると、盲腸の腸内細菌と 食物と、そこにライチョウ自身の粘液や消化酵素を含めた仕組みがどうなっているかという のを知ることが出来て、それが野生下ではどうなっていて、一方、飼育下はどうなっている のかが比較できます。そして、それを指標にして飼育下のエサを改善していけるのではない か、というようなことを考えたわけです。

ヒストグラムでの比較

野生 核酸代謝物が多い飼育 アミノ酸が多い



それで、太田先生からは、血液のメタボローム解析というデータの紹介がありましたが、 我々はライチョウの腸内の化学的環境を知るために、具体的には盲腸糞になりますけれど も、それを網羅的に解析するということをやりました。

この研究は、島津製作所さんにご協力いただきました。島津製作所の田中耕一さんは、 ノーベル賞を取られた研究者で、この研究で利用した質量分析計の発明者ですけど、あの方 は、富山県のご出身で、ライチョウの研究には十分協力するようにとおっしゃられたらし く、凄い破格のご協力を頂いて解析をしたものです。

このスライドは、ちょっと細かい絵になりますけれど、ご覧頂くとおわかりのように野生 個体と飼育個体で比べると、化学成分の検出パターンが全然違っていました。野生の場合、多く検出されているものというのは、下の表に出ているのですけれど、核酸の代謝物ばかりということになります。飼育の方で目立つものというのは、ほとんど遊離のアミノ酸になります。アミノ酸がたくさん出ているというのは、消化されて吸収されていない遊離のアミノ酸がたくさんある、ということになります。一方で、野生の場合は、細菌が壊れたり粘膜の細胞がはがれてでてきた核酸を代謝していることになります。これは、なかなか大きな違いだったわけです。基本的には、野生の個体は、さっきのセッションの太田先生のところにもありましたけれど、低タンパク質のエサをたべているっぽい。

タンパク質の少ない野草で生きている草食動物の場合、消化管の中で核酸、DNAとかRNAですが、その部品を使って細菌が菌体のタンパク質合成を進めているというのは典型的な例になるのですが、逆に、腸管内にアミノ酸が大量に検出されている飼育個体というのは、やはり、餌としてはライチョウにとって高タンパク質過ぎるのではないか、というようなことが示唆されるわけです。

野生個体の餌は低たんぱくで核酸の代謝によって窒素源を確保している?

飼由来核酸・死細菌由来核酸の分解

- *草食動物が低タンパク質の飼料で飼育される場合、核酸からの窒素供給は重要
- 飼育個体の餌は高たんぱくすぎる可能性

糞中のアンモニア濃度

飼育 275.5mg NH₃-N/kg (n=12) 飼育個体の方が 野生 79.5mg NH₃-N/kg (n=11) 糞中のアンモニア濃度が高い

タンパク質 → 小腸 (消化酵素でペプチド、アミノ酸となり、吸収)→ 残ったタンパク質→ 大腸(盲腸) → 細菌による分解 (アンモニアやアミン類の発生) 実際、アミノ酸が分解されてできるアンモニアの濃度でも、野生に比べると飼育の方が遥かに高くなっていました。

タンパク質というのは、小腸、胃、小腸で消化、酵素によって消化されて、ペプチドアミノ酸となって吸収されるわけですけれど、残ったタンパク質というのは、大腸にやってきて、細菌によって分解されて、アンモニアになったりするわけです。

したがって、タンパク質供給が飼育の方は過剰になっている可能性が高いな、ということ が示唆されます。

表 野生ニホンライチョウの食物中栄養素含量(原物%) 飼育のエサと比較

品目	水分	粗タンパク質	粗脂肪
ダケカンバ冬芽(1)	19.4	6.4	11.3
ガンコウラン茎葉(2)	45.0	3.5	6.9
ガンコウラン茎葉(3)	37.4	4.1	4.1
コメバツガザクラ(3)	50.9	2.7	1.7
コケモモ茎葉(3)	49.5	2.9	1.0
ミネズオウ茎葉(3)	41.1	2.8	9.4
クロウスゴ葉(3)	73.4	2.9	1.1
オンタデ葉	79.2	=	0.4
アオノツガザクラ葉	42.4	=	0.6
オヤマノエンドウ葉	66.9	4.7	=
参考 ウサギ用ペレット	10.0 以下	13.0 以上	2.0 以上
参考 小松菜	94.1	1.5	0.2

(1)2019年3月採取 乗鞍位ヶ原(2)2019年5月採取 立山室堂(3)2019年6月採取 乗鞍

さて、実際に、野生個体が食べているエサのタンパク質含量などを調べてみると、この表の様になります。この表には、ダケカンバの冬芽から、ガンコウラン、クロウスゴ、コケモモ、これらは葉っぱなのですけれど、粗タンパク質量というのをパーセントで示すと、3%とか6%くらいでした。これに対して、飼育下で常用されているウサギ用ペレットというのは13%くらいで、大分、タンパク質の量としては高いものになります。

ただ、この濃度だけを見てもだめです。薄くてもたくさん食べていれば、摂取量は間に合うわけですけれど、実際にどれくらい食べているのかというのを、我々は計算してみました。この表では、小林さんがライチョウが1日に何回、それぞれ何分間食べているかという数値をだされています。我々の方では、ライチョウの行動をケージ保護期間中のライチョウ親子のビデオ録画したものから、高山植物をつついている回数を、うちの学生が数えまし

た。ライチョウは動き回りながら高山植物をつつくので、小林さんが摂食時間とした時間の内は、つついて食べ続けているわけではなくて歩いているだけのところも含まれます。それで、歩いているだけの時間とつついている時間の割合を求め、一日あたりどのくらい葉っぱつついたか、一つつきでどのくらいの葉っぱを食べているかをケージ保護期間中に観察し、これらの数値を用いて一日にどのくらい食べているかを計算しました。

表 野生ニホンライチョウの食物中栄養素摂取量 単位g (オス966ついばみ/日 メス3,360ついばみ/日)

品目	水分	粗タンパク質	粗脂肪
ダケカンバ冬芽(越冬中)	10.0~34.7	3.27	5.80
ガンコウラン茎葉(10枚/ ついばみ)	4.1 ~ 14.2	0.32	0.62
ガンコウラン茎葉	2.9~10.2	0.32	0.32
コメバツガザクラ	3.8~13.3	0.20	0.13
コケモモ茎葉(0.25/つい ぱみ)	2.5~8.7	0.15	0.05
ミネズオウ	1.2~4.1	0.08	0.27
クロウスゴ葉(0.25枚/つ いばみ)	2.0~6.8	0.31	0.03
オヤマノエンドウ葉	8.09	0.71	=
参考 ウサギ用ペレット (40g/日)	4 以下	5.2 以上	0.8 以上
参考 小松菜(30g/日)	28.2	0.45	0.06

ついばみ回数は、7月の記録を参照。1日に特定品目だけを摂食したと仮定した数値

高山植物に完全依存した場合、野生は飼育の10分の1以下のタンパク質摂取量

この表の数値ですが、雄はなわばり時期なので、あまり食べていないのですけれど、雌は随分たくさん食べているという状況がわかりました。これくらい差があるのですけれど、これでどれくらい実際に食べたかという計算をすると、実際の推測としては、夏の状態だと1日に粗タンパク質で0.5gとか0.1gとか、それくらいの範囲で摂取しているのではないかと考えられました。仮にウサギ用のペレットを完食したとすると、5gくらいタンパク質を摂取していることになりますから、随分、野生に比べて飼育のタンパク質供給量、摂取量が多いのだろうと考えられます。

脂肪も計っているのですけれど、脂肪の摂取量が実は野生と飼育であまり変わらないということが分かりました。もちろん、冬の餌は非常に高脂肪、高タンパクになっていますが、 夏はあまり動物園の状態と変わらないです。タンパク質がやはり多いな、という感じになります。

次に、タンパク質がどうも多いな、ということなのですが、盲腸で起こっている繊維成分の分解も随分違うのではないか、ということを調べました。

盲腸発酵の強度 野生ヒナ > 飼育ヒナ 食べている難消化性成分の量の違い



北岳ケージ保護ヒナおよびいしかわ動物園飼育ヒナの糞中有機酸濃度の推移 親鳥の濃度を100とした相対値 (親鳥の糞中濃度 北岳 61.4 mmol/kg いしかわ 137.9 mmol/kg)





北岳ケージ保護ヒナおよびいしかわ動物園飼育ヒナの糞中 酢酸/プロピオン酸濃度比の推移 親鳥の糞中濃度比 北岳 5.8 いしかわ 25.0

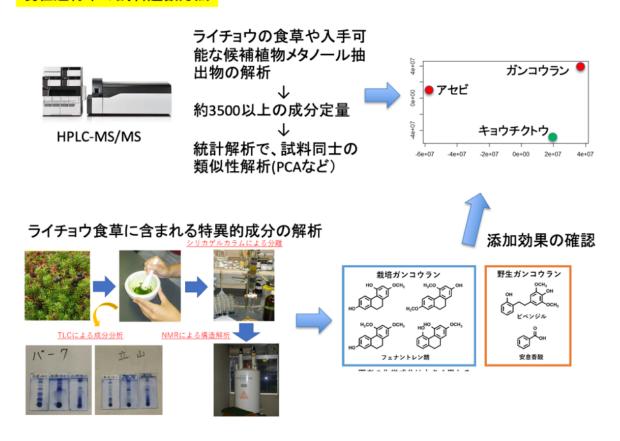
北岳ケージ保護ヒナの糞中有機酸組成は、比較的安定でオヤとほぼ同値飼育のオヤ、ヒナともに、ケージ保護ヒナよりも酢酸濃度比が高く推移。また、日間変動が比較的大きい(腸内菌叢不安定)

これは、去年、いしかわ動物園さんで孵化した雛の盲腸糞というのをずっと集めていただきまして、同時に北岳でケージ保護をやっていたときの雛の盲腸糞を集めて、有機酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸というようなものが、腸の糞の中にどれくらいできていたか、というのを調べました。これの表では、この数値はそれぞれの酸の濃度です。ちょっと数値が上下をしていますけれど、ブルーのラインの示す半野生のケージ保護雛の方が孵化の2日目くらいから非常に高い濃度で推移しています。

おそらく、これは親の盲腸糞を食べることでライチョウに必要な腸内細菌の定着が進んでいて、野生の食事に割合早くから適応できていることを示しています。一方で、飼育の方は最初の1週間抗生物質をこの時はやっていましたから、腸内細菌の発達がなくて、抗生物質の投与を打ち切ってから次第、次第に上がっていく、という感じです。こういう差が、野生個体と飼育個体の腸内細菌の違いを証明していますし、結局、ここの部分は腸内細菌を如何に成長段階の早期に定着させるかということと、それを阻害する抗菌剤の処方をなんとか解決する必要があるだろう、という2つの課題が野生復帰を目指した飼育にはあると思います。

盲腸で細菌がつくり出す酸の生成パターンも、この図のように野生と飼育では異なっていて、北岳のケージ保護雛の場合は、プロピオン酸に対して酢酸が10倍くらいの濃度なのですけれど、飼育雛は40倍くらいの濃度から推移しているということで、腸内菌叢が根本的に違っていて、それは大きくなってもあまり解消されない、ということが分かりました。

現在進行中の飼料選抜方法



そいうことから、どのようなエサを開発して、野生の腸内環境に近付けていけるかということで、今、取り組んでいるのがこの図です。この研究も島津さんの協力をもらっているのですけれど、こういう液クロに、業界ではマスマスと言っているのですけれど質量分析計を接続したシステムを使っています。このシステムを通すと、たとえば、写真の高山植物の葉のメタノール抽出物を分析してみると、この間やったところで大体3500成分くらいの定量ができます。

たとえば、このスポットは、ガンコウランでライチョウの食べる高山植物ですけれど、もしかしてキョウチクトウとか近いかもと思ってやっているので、これがキョウチクトウのスポットになります。統計解析をすると、こういう風に成分が似たものが集まるようなパターンを作っていきますから、調べる件数を増やしていくと、高山植物に近い材料というのが推測できるのではないかということで進めています。

もう1つは、東京理科大の倉持先生にやっていただいていますけれど、この図にあるような高山植物に特異的な成分を、抽出精製して解析すると、こういう化学構造のものが見つかりますが、たとえば野生ガンコウランに特異的な成分が出てきます。これを人工合成して、たとえば、こういう下界で入手可能なエサに添加したときに高山植物の示すパターンに似ていくかどうかを指標にして野生復帰に適切なエサの開発ができるのではないかと期待して検討を進めているところです。

今日の報告は以上です。

ご静聴、ありがとうございました。

○座長 牛田先生,大変ありがとうございました。

飼育下のライチョウは、まず、抗生剤をやると。それで、生存率が上がっていたので、私たちはやった、やったと思っておりましたが、牛田先生からその後の成長にも大きく違いがあるし、なるべく抗生剤をやらないで、成長させる方法があるのだということを、今、教えていただいております。

フロアの方から、何かご質問等、ありますでしょうか? はい、では、私の方から、今後、似たような植物とシンバイオティクス等の活用をすれば、飼育下のライチョウもより野生のライチョウに近い盲腸の形成になることは、やはり可能でしょうか?

〇牛田 近付けることはできるのではないかということです。野生復帰準備以外にもう1つは、今日、午前中発表があったと思いますけれど、今、考えられている中央アルプスの個体群の移動です。そうすると、やはり野生の個体を一旦下界におろす、ではその間のご飯はどうするのか、この問題解決はかなり直近の課題になってきています、なんとか、方向を見出す必要があるから急いでやれという(笑)、ということで急いで進めているところです。

○座長 ありがとうございました。今後とも、どうぞよろしくお願いします。先生、発表、ありがとうございました。