

## 【4-1604】ニホンライチョウ保護増殖に資する腸内細菌の研究

(2016～2018 37,849千円)

研究代表者 牛田 一成 (中部大学)

### 1. 研究実施体制

- (1) 野生ライチョウの腸内菌叢解析と有用菌分離 (中部大学)
- (2) 野生ライチョウの腸内細菌垂直伝播に関する研究 (東邦大学)
- (3) 飼育ライチョウの腸内細菌叢再構築に関する研究 (日本大学)

### 2. 研究開発目的

平成24年に定められた「ライチョウ保護増殖事業計画」に基づき平成26年に「ライチョウ生息域外保全実施計画」が策定され、現在、野生復帰取組を念頭に置いた生息域外保全の計画が進行している。平成27年と28年に乗鞍岳で野生ニホンライチョウの卵を確保し、動物園に移送して、人工孵化と育雛を開始したが、その際には、ノルウェーのトロムソ大学が開発したスバルバルライチョウ「飼育マニュアル」が適用された。この飼育方式は、平成20年に開始されたスバルバルライチョウ試験飼育事業においてライチョウ域外保全PTに標準飼育法として採用され、以来、事業参加園館での利用と習熟が進んできた。この飼育方式では、感染症対策のため孵卵器での人工孵化後1週間の抗生物質（オキシテトラサイクリン）の連続経口投与とニワトリ育雛用飼料やウサギ用ペレット飼料の給与を基本とする。その結果、飼育スバルバルライチョウの腸内細菌は、野生のものとは全く異なったものになっており、この方式でニホンライチョウを飼育すると、そのままでは野生の暮らしに適応することの難しい個体になってしまうと考えられた。さらに、抗生物質および合成抗菌剤の処方による健康保持は、飼育ライチョウ類の腸内に薬剤耐性菌を蔓延させ、今後野生復帰を実施する場合、薬剤耐性菌を環境中に散布する危険性も高いと危惧される。そのため、野生復帰を考えるならば、少なくとも抗生物質および合成抗菌剤の処方を低減ないしは停止する飼育法の確立が必要であると思われる。将来的には、卵や雛による野生復帰（再導入）も考えられるが、この調査研究は、域外飼育個体の抗生物質および合成抗菌剤と家畜飼料への適応と選抜（家畜化）を防ぐために必要な野生の食物への馴致に対しても重要で、今後のニホンライチョウ保護増殖事業における保全技術、とくに野生復帰の方針を決定する際に極めて重要な知見を与えるものである。

### 3. 本研究により得られた主な成果

#### (1) 科学的意義

本研究では、これまで大きな謎であった鳥類、とくに草食性(herbivore)で早成性(Precocial)鳥類の腸内細菌叢確立過程をニホンライチョウを題材として、世界で初め

て明らかにした。特に、母鳥から雛への垂直的な有用腸内細菌の伝達機構が解明できたことに加え、腸内細菌伝達機構としての特異的食糞行動が起こる期間が決まっていることが発見された意義は極めて大きい。また、こうした行動が起こる理由として、初生雛の腹腔残留卵黄消失時期との関係を明らかにした。腸内細菌の垂直伝達機構としてのニホンライチョウ雛の食糞行動は、草食かつ有毒植物依存するコアラのものと様相が類似しており、収斂進化とよんでよい事象であると考えられた。

本研究では、野生ニホンライチョウの腸内細菌叢の構成も明らかにし、広義の乳酸菌と乳酸利用菌の共生系が骨格をなしていることやその構成は地域を変えても保存されていることを示した。また、野生ニホンライチョウは、食物である高山植物に含まれる繊維成分、有毒物や消化阻害物質を腸内細菌によって分解処理して、野外の厳しい環境で生存していることを明らかにした。そして、そのための特異的な細菌種の一部を分離することにも成功した。この過程で、野生ニホンライチョウ由来の有用菌を多数分離し、その中から日和見感染菌に抗菌性を示す菌株を選抜し、プロバイオティクス製剤化することに成功した。この製剤を用いることで抗生物質および合成抗菌剤を使わない飼育方法が確立できたことは、今後、ニホンライチョウ飼育園館で実施される野生復帰準備個体群創出に向けて重要である。なぜなら飼育下のニホンライチョウは、腸内細菌叢の多様性が野生のニホンライチョウと比べて著しく低く、抗生物質および合成抗菌剤の処方が腸内細菌叢の単純化に影響していると示唆されたからである。野生ニホンライチョウ由来プロバイオティクス製剤の処方で、抗生物質および合成抗菌剤がなくても感染症の予防が達成でき、その結果、腸内細菌叢の多様性が向上することも明らかとなった。

また、食物の滞留時間測定により、ライチョウの消化管内容物移動機構が、間接的にはあるが初めて解明された。ライチョウ類の下部消化管の固液分離の構造は、解剖学的にはまだ明らかにされていないが、ほとんど全ての液状部マーカーが盲腸糞に排出されたこと、固形部マーカーのほとんどが腸糞に排出されたことから、結腸で内容物の固液分離が起こり、液相が固相部分から分離されて盲腸に逆送される機構が存在することが明らかとなった。この機構は、ウサギに顕著であるが、コアラやポッサムに見られるもので、コアラやポッサムとニホンライチョウの腸内細菌叢構成の類似性、腸内細菌を移植する方法としての糞食に見られる共有性ととも、ライチョウ類の生存戦略がコアラなどと類似していることを改めて示した。また、飼育実践に対しては、体調不良の予兆としての「糞の崩れ」がどのような機構で起こるのかを推測する大きな手がかりを得た。

最後に、野生ニホンライチョウに寄生するアイメリア原虫2形態それぞれの進化系統関係が、本研究で初めて明らかになった。1種は、ニワトリに寄生する病原性の高い種と近縁で、1種は、シチメンチョウから検出されるものと近縁で、系統的に異なる種であることが判明した。感染性、病原性については一定の結果を得たものの、それぞれの病原性など、今後の課題として解明する必要がある。

## (2) 環境政策への貢献

### <行政が既に活用した成果>

環境省平成 28 年度、29 年度および 30 年度に開催されたライチョウ保護増殖検討会において、本研究の成果を域内保全事業と域外保全事業をつなぐ重要要件として発表し、保護増殖事業の進展に貢献した。とくにカラスによるライチョウ卵の捕食を示す画像を資料として提供し、捕食者対策の重要性を喚起した。また、ニホンライチョウの域外保全を担当する日本動物園水族館協会生物多様性委員会ライチョウ域外保全プロジェクトチームに対しては、野生ニホンライチョウの生態データや体重等の情報提供を随時行うとともに、飼育実験のデータをプロジェクトチーム内で公開し、飼育技術の確立に貢献した。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

野生ニホンライチョウの生存に、特定の腸内細菌の存在が必須であることがわかったことから、ニホンライチョウの保全に於ける域外保全による野生復帰個体群の準備には、これらの細菌の腸管への定着を促す技術開発が、域外保全事業の成功に必須であることがライチョウ保護増殖検討会でも了解された。ニホンライチョウ以外の動物種でも、消化困難で有毒物を含むような餌食物に依存する希少動物の場合、保全の手法開発に腸内細菌の研究の重要性が認識されたことは、今後、多くの希少動物保全政策に活用される見込みのある成果である。

ライチョウ保護増殖検討会でも議論された野生個体糞便を用いた飼育個体への糞便移植は、単純な方法で極めて魅力的であるが、野生ニホンライチョウの糞には高頻度でコクシジウム原虫がふくまれており、この問題の解決なくして実施が事実上不可能であることが了解されたことは、今後、別種の野生復帰個体群の作出方法の考案にも大きく貢献すると期待される。

## 4. 委員の指摘及び提言概要

雛鳥による親鳥盲腸糞の一定期間の食糞行動と雛鳥の腸内細菌叢形成過程が明らかにされた。ライチョウに限らず、人口繁殖下の保護動物を野生復帰させる際の大きな問題として腸内細菌叢の形成があることを実証的に明らかにすることができた先進的な研究であるといえる。有毒植物成分あるいは難消化植物成分についての解毒性など一定の役割を特定できたこと、腸内細菌垂直伝播のメカニズムの一部が解明されたことは、学術的に意義が高いだけでなく、ライチョウの野生復帰という環境政策的な課題に大きく貢献できる。しかし、糞食をめぐる科学的課題解明は進んだが、感染抵抗性の形成と腸内細菌叢との関連については研究いまだ道半ばである。

## 5. 評点

総合評点：A