

【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 (H28～H30)

研究代表者 牛田 一成 (京都府立大学)

1. 研究開発目的

本研究は、野生生活を可能にするニホンライチョウ固有の腸内細菌に関する知見を提供すると共に、その能力活用を取り入れた生息域内保全、生息域外保全及び野生復帰技術の具体的な方法論を提示することを目的とする。具体的には、「ライチョウの生存を可能にする腸内細菌の解明」と「感染抵抗性と有毒物質の解毒作用を持つ有用菌の確保と野生型腸内菌叢の再構築」を開発目的としている。

まず、野生ニホンライチョウからできる限り多数の腸内細菌を分離し、抗菌活性や植物二次代謝産物の分解活性を指標として有用菌を確保し、プロバイオティクスとして人工飼育に取り入れることで、抗菌剤使用を大きく低減させるとともに、将来の野生復帰を可能にする解毒力を併せ持った腸内菌叢を再構築する。この際、孵化後の雛鳥における腸内菌叢の確立過程が未解明であるので、これまでの観察結果から雛による母鳥盲腸糞の食糞行動が、野生における腸内細菌垂直伝播方法であると推測し、行動の起こる期間（日齢）や頻度を腸内細菌検索と併せて解析することが、野生生活に必要な腸内細菌を生息域外保全個体群に投与定着あるいは垂直感染させるために必須であると思われる。これに加えて、孵化後のニホンライチョウ雛の生存に影響すると予想される免疫グロブリン(IgA)分泌量やコクシジウム原虫の垂直感染を評価するため、雛の IgA 分泌量や成鳥のコクシジウム原虫オーシスト排泄状況も併せて調査する。

2. 研究の進捗状況

全体として全てのサブテーマが計画通りに進捗している。サブテーマ（1）では、野生ニホンライチョウから日和見感染菌に抗菌性を示す乳酸菌を分離同定できた。また、次世代シーケンサーを用いた解析では、外注費用の著しい低下によって、予定数以上の解析が可能となった。サブテーマ（2）では、当初予定のケージ設置地点数は確保されなかったが、北岳に 3つのケージが設置されたため、最終的に十分数の試料点数と観察数が確保できた。これによって母親の盲腸糞に対する雛の特異的食糞行動の発現時期を特定することができ、次年度以降の飼育試験で菌の投与期間を確定できることとなった。サブテーマ（3）では、2園館の協力を得て、人工孵化個体に野生ニホンライチョウ由来の細菌を処方する試験を行った。腸内細菌の多様性が増し、体重増加や日和見感染予防に効果が期待できる事が示唆された。

3. 環境政策への貢献(研究代表者による記述)

環境省平成 28 年度ライチョウ保護増殖検討会において、本研究の内容のうち、以下の①②③について、域内保全事業と域外保線事業をつなぐ要件として発表し、今後の保護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。

- ① 現在、環境省の主導のもとで、ニホン動物園水族館協会が進めている域外保全ファウンダー確保事業では、ニホンライチョウが、特に日和見感染症に抵抗力がないことが次第に明らかになっている。そのため、無菌動物か最低でも SPF（特定された微生物や寄生虫が存在しない(Specific Pathogen Free)動物を作成維持できる程度の環境を動物園に整えたうえで、抗生物質の処方を行う飼育方法がとられている。しかし、この方式で成長させたライチョウは、野生生活に必須の腸内細菌を定着させる機会を失っているため、将来の野生復帰に向けて大きな課題が残っている。そのため、本研究で、野生ニホンライチョウの生存を保証する腸内細菌のライブラリーを構築す

ることで、飼育下ライチョウの野生復帰に向けた準備が整うこととなる。

- ② 人工孵化雛の飼育にあたり、①に示すように野生由来の腸内菌の処方を実施する必要があるが、野外での観察からライチョウ雛が孵化後 3～4 日から 3 週までのあいだに母鳥の盲腸糞を食糞することから、この期間に生菌剤として飼料に混ぜて投与することが最も効率的であることがわかった。
- ③ SPF 環境かつ抗菌剤を常用しても、人工飼育下での日和見感染菌浸潤を防ぐことが出来ていない。とりわけ、下痢の起因菌となっている病原性大腸菌やウェルシュ菌に加えて、一部の連鎖球菌、緑膿菌は、飼育ライチョウの体調が悪化した際に、爆発的に増殖し死に至らしめることがある。動物園の環境は、想像以上に薬剤耐性菌が浸潤しており、とりわけ多剤耐性化した緑膿菌なども斃死したニホンライチョウ雛鳥から検出されている。ファウンダーが、薬剤耐性緑膿菌や連鎖球菌などの日和見感染菌を保菌した場合、この個体から得られる雛にも感染する可能性が否定できず、早急な対策が求められる状況になっている。この研究で分離された野生ライチョウ由来の乳酸菌の一部には、こうした斃死ライチョウ由来の多剤耐性緑膿菌を、除菌できる可能性を持った菌株が存在したので、野生ライチョウ由来の乳酸菌の処方で薬剤の使用を置き換えることが可能になる

4. 委員の指摘及び提言概要

飼育繁殖に至るには時間を要するが、基礎的研究の成果は十分に得られて目的に近い成果があがっている。母鳥盲腸糞の食糞による垂直伝搬を明らかにし、有用菌の分離・同定（新種発見）など順調に研究が進んでいると思えるが、乳酸菌添加の場合も、そうでない場合も死亡率がかなり高いので、これが野外への放鳥の場合の最大の死亡要因なのかどうか疑問もある。腸内細菌の成果の全体の中での位置づけを示してほしい。また、科学的な知見としての公表や技術としての定着を確実にしてもらいたい。

5. 評点

総合評点：A