

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：24302

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14847

研究課題名(和文) 乳中の細菌に着目した新しい仔豚の育成システム開発の試み

研究課題名(英文) Investigation of porcine colostrum microbiota and its contribution to formation of intestinal microbiota of piglet.

研究代表者

井上 亮 (Inoue, Ryo)

京都府立大学・生命環境科学研究科・講師

研究者番号：70443926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ブタの初乳中の細菌が仔豚の腸内細菌叢の形成や構成に影響を与える可能性を検証し、初乳中細菌叢が健全な仔豚の育成のために注目すべき対象となり得るかを評価した。その結果、ブタ初乳中細菌叢は多様であり、その構成は分娩24時間は安定であることが明らかになった。これに加え、初乳中の細菌叢が哺乳期の仔豚腸内細菌叢の形成(構成)に影響を与えうることが示唆された。さらに、母豚への機能性素材の給与により初乳中細菌叢が変わりえること、そしてその結果仔豚の腸内細菌叢も変わることも明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research was to investigate whether bacteria in pig colostrum affects the formation and composition of intestinal microbiota in piglet. The diversity of colostrum microbiota was rather higher than intestinal microbiota and the composition was stable during 24 hours after parturition. The supplementation of functional materials to sow's diet changed colostrum microbiota and intestinal microbiota of their piglets. Therefore, it is suggested that colostrum microbiota can be changed by addition of functional materials to sow's diet and that colostrum microbiota affected the formation/composition of intestinal microbiota of piglet.

研究分野：粘膜免疫学

キーワード：ブタ 初乳 細菌叢

1. 研究開始当初の背景

腸内細菌叢は宿主の健康に深く関わっている。ブタでも腸内細菌叢の重要性が明らかにされており、腸内細菌叢の構成の違いにより、腸管免疫系の発達が異なる、具体的には腸内の乳酸菌の占有率が高いほどウイルス防御に重要な役割を果たす IFN- α/β の活性が高いことが報告されている。また、腸内細菌叢の構成により食べ物からのエネルギー抽出効率（飼料効率）が異なることがヒトやマウスで報告されているが、ブタ（成ミニブタ）でも *Bacteroides* 属の占有率と体重の間に有意な相関関係が報告されており、腸内細菌叢の構成が飼料効率に影響する可能性が高いことが示唆されている。

近年、腸内細菌叢を構成する細菌の源の一つとして、母乳中の細菌が示唆されている。ヒトでは、乳中に含まれる乳酸菌が子の腸内細菌叢を構成する乳酸菌の源となっていることを示唆する報告が成されている。

2. 研究の目的

仔豚の健全な腸内細菌叢の構築を促すための新しい手法の考案に向け、近年腸内細菌の源として示唆されている母乳中の細菌に着目した。本研究では、①乳中細菌と仔豚腸内細菌との関係、②乳中細菌と仔豚の生育との関係、③母豚の飼料組成、生菌製剤・抗菌剤投与と乳中細菌との関係を解明し、これにより、乳中細菌の仔豚腸内細菌叢構築における役割を明らかにし、さらには乳中細菌の改変方法、乳中細菌を介して健全な仔豚腸内細菌叢の構築を促す方法を探索・提案することを目的とした。

3. 研究の方法

実験 1

母豚 11 頭を使用した。分娩時に初乳を、仔豚の離乳時に常乳を採取した。11 頭のうち 6 頭の産仔には生後 24 時間初乳を摂取させずに代用乳にて人工哺育を行った。残り 5 頭の産仔は通常通り初乳を摂取させた。仔豚が 7 日齢のときと、離乳時に糞便を採取した。母乳と仔豚糞便からは細菌 DNA を抽出し、次世代シーケンサーによる細菌叢の 16S rRNA メタゲノム解析を行った。

実験 2

母豚 6 頭を使用した。分娩開始から分娩 24 時間後まで 3 時間毎に乳を採取し、実験 1 同様に細菌叢の解析を行った。

実験 3

母豚 4 頭を使用した。2 頭には分娩 1 週間前から飼料に 3 種の機能性素材の混合物 (PreMix) を添加した。PreMix は仔豚の離乳時まで添加した。母豚の初乳、仔豚 (7 日齢) の糞便を採取し、実験 1 同様に細菌叢の解析を行った。

4. 研究成果

実験 1

初乳、常乳ともに非常に多様な細菌が検出された。主要な細菌の科は Bacteroidaceae、Streptococcaceae であった。細菌叢の類似度を確認したところ、7 日齢の仔豚の腸内細菌叢と初乳では初乳摂取群で $18.8 \pm 12.8\%$ 、初乳非摂取群で $13.6 \pm 0.5\%$ であり、初乳摂取群の方が有意 ($p < 0.05$) に高い類似度を示した。なお、常乳との類似度は、初乳摂取群で $19.4 \pm 8.4\%$ 、初乳非摂取群で $25.2 \pm 4.0\%$ であった (群間に有意差無し)。離乳時の仔豚の腸内細菌叢と初乳では、初乳摂取群が $19.9 \pm 10.3\%$ 、初乳非摂取群が $19.3 \pm 3.5\%$ であった (群間に有意差無し)。以上のことから、少なくとも哺乳期の腸内細菌叢に初乳中の細菌が影響を与えることが示唆された。

実験 2

実験 1 と同じ農場の母豚を使用したためか、初乳 (分娩開始時) の細菌叢は実験 1 とほぼ同様であった。また、分娩 24 時間までは乳中細菌叢構成に顕著な違いは認められなかった (図 1)。このことから、リンパ球や抗体とは異なり、細菌叢は分娩 24 時間以内にはほとんど変化しないことが示唆された。

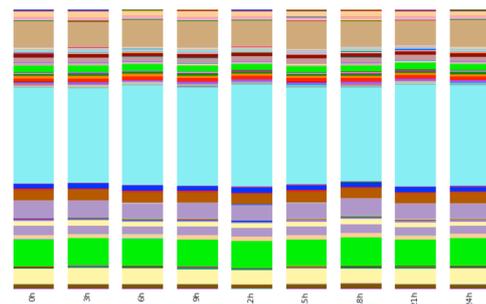


図 1. 分娩 24 時間の乳中細菌叢構成

実験 3

PreMix を添加した母豚の産仔の 7 日齢時の腸内細菌叢構成は非添加 (対照) の産仔の腸内細菌叢構成と統計的に有意に異なっていた (図 2)。

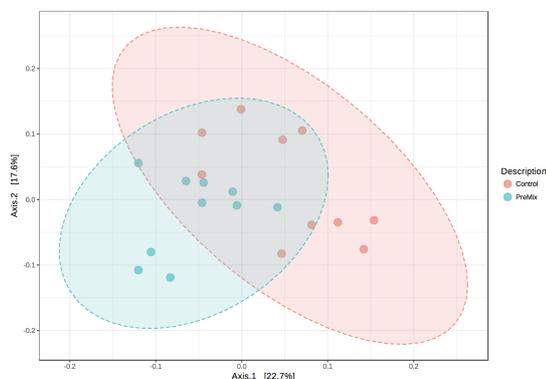


図 2. PreMix 添加母豚と対照母豚の産仔の腸内細菌叢構成 (7 日齢)

これに加え、PreMix を添加した母豚の産仔の

腸内細菌叢では対照の産仔よりも大腸菌の占有率が有意に低下していることがわかった (図3)。

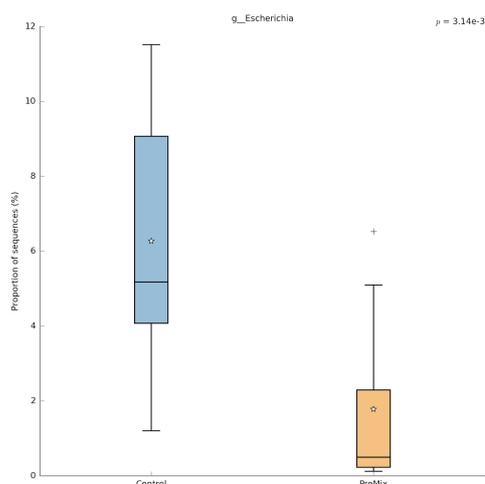


図3. 各群の腸内細菌叢中の大腸菌占有率

仔豚の便性状でも顕著な違いが認められ、対照母豚の産仔では認められた大腸菌が原因と疑われる下痢が、Premix 添加母豚の産仔ではほぼ見られなかった。

初乳中の細菌叢を比較したところ (N=2 のため統計学的な比較は実施せず)、対照母豚の初乳中の大腸菌の占有率が 2.0%、0.86%であったのに対し、PreMix 添加母豚では、0.50%、0.24%と少ない傾向が見られた。

以上から、母豚への機能性素材の給餌は、初乳の細菌叢を変化させ得ること、その結果仔豚の腸内細菌叢が改善されることが示唆された。

以上から、ブタ初乳中の細菌が仔豚の腸内細菌叢の構築に一定の影響を与えていることが示唆された。また、実験1・2と実験3では実施農場が異なるためか、初乳中の細菌叢も異なっていた。このため、農場固有の乳中、腸内細菌叢が存在する可能性が考えられる。乳中細菌叢の機能性素材による改善は、特に仔豚の哺乳中の事故率の高い農場などで有効であると期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 6 件)

- ① Yuri Harada, Takamitsu Tsukahara, Shyoya Tai, Nobuo Nakanishi, Kikuto Fukuta, Ryo Inoue 「Evaluation of the bacterial composition in porcine colostrum and mature milk」
17th AAAP
2016.8.24 九州産業大学 福岡県福岡市
- ② Ryo Inoue, Takamitsu Tsukahara 「Development of the porcine intestine

during early postnatal life」

17th AAAP 九州産業大学 福岡県福岡市

2016.8.23 招待講演

- ③ 井上亮 「仔豚の免疫についての最新知見」
ゼノアック養豚セミナー (岩手)

2016.7.20 招待講演 ホテルメトロポリタン盛岡 岩手県盛岡市

- ④ 井上亮 「仔豚の免疫についての最新知見」
ゼノアック養豚セミナー (宮崎)

2015.11.26 招待講演 メインホテルナカムラ 宮崎県都城市

- ⑤ 井上亮 「仔豚の免疫についての最新知見」
ゼノアック養豚セミナー (栃木)

2015.11.25 招待講演 マリアージュ仙水 栃木県佐野市

- ⑥ 井上亮 「初乳免疫の最新知見」

日本養豚開業獣医師会総会

2015.7.10 招待講演 アジュール竹芝 東京都港区

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 亮 (INOUE, Ryo)

京都府立大学大学院・生命科学研究科・講師

研究者番号: 70443926

(2) 研究分担者

尾関 基行 (OZEKI, Motoyuki)

武庫川女子大学・生活環境学部・講師

研究者番号: 10402744

塚原 隆充 (TSUKAHARA, Takamitsu)

京都府立大学大学院・生命科学研究科・特
任講師
研究者番号： 90562091

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

(4) 研究協力者
()