



## 放牧飼育における母牛-仔牛の腸内細菌の伝播と因果構造

～仔牛の腸内細菌叢の機能的自立に与える環境諸要因の計算科学的理解～

### ポイント

- ① 母子間の腸内細菌叢の関係性はこれまで閉鎖系の研究が中心であるが、畜産経営においては開放系の放牧飼育環境条件下の評価系における知見が必要です。
- ② 放牧飼育管理条件において、母牛の腸内細菌群は、離乳前の仔牛よりも離乳後の仔牛の腸内細菌叢の構造に強く影響を与えうる可能性が示されました。
- ③ 母牛-仔牛の腸内細菌叢の因果構造は、腸内の短鎖脂肪酸の産生にも影響を与えることが示されました。

### 概要

九州大学大学院農学研究院の田口佑充大学院生(研究当時)、山野晴樹大学院生、高橋秀之准教授らは、農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構)農業情報研究センターの黒谷篤之研究員、理化学研究所環境資源科学研究センターの菊地淳チームリーダー、理化学研究所生命医科学研究センターの宮本浩邦客員主管研究員、大野博司チームリーダーとの産学共同研究(千葉大発ベンチャー(株)サーマス・京葉ガスエナジーソリューション(株))によって、放牧飼育管理下の黒毛和種仔牛の母子の腸内細菌群の因果構造を計算科学的手法によって評価し、将来の飼養管理のヒントを見出すことに成功しました。

母子の腸内細菌叢の関係性を評価する取り組みは、世界的に進められており、妊娠期における母牛の腸内細菌叢が、胎児の脳神経系や免疫系の発達に影響を与えること、出生後の疾病や肥満のリスクにも影響を及ぼすことが明らかになってきています。したがって、畜産経営においても、飼育管理上、母親の腸内細菌叢が重要であることが想定されていました。しかしながら、従来のモデル動物を用いた研究成果は、閉鎖系の飼育条件下で、かつ遺伝的に同系統の母子間を対象とした研究成果が中心であり、開放系の飼育管理下において遺伝的背景が異なる母子が共存する、通常の現場における影響は不明でした。そこで本研究では、異なる遺伝的背景を有する黒毛和種を用いて、放牧飼育管理条件下における母子間の腸内細菌叢の関係性を機械学習、因子分析、並びに因果推論(※1)によって詳細に評価しました。その結果、離乳前の仔牛よりも、むしろ離乳後の仔牛の糞中細菌叢が母牛の糞中細菌叢と強い関係性を有していました。また、糞中細菌群の中でも、フィーカリバクテリウム属(*Faecalibacterium*)とビフィドバクテリウム属(*Bifidobacterium*)が、仔牛の生産性・健全性に寄与する有機酸である短鎖脂肪酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸)の増加に対して効果的であるとともに、離乳すること自体が重要であることが計算上、示されました。さらに、離乳期間における好熱菌プロバイオティクス(*Caldibacillus hisashii*, 国際寄託番号 BP-863)の投与は、相乗的なプラスの効果がある可能性も併せて示されました。

以上の研究成果は、言い換えれば、一般的に腸内細菌叢が不安定な離乳前よりも、離乳後の方が母牛の腸内細菌叢の影響が顕在化しやすく、さらに健全な仔牛の育成のために、母牛の腸内細菌叢の管理と離乳期間における適切なプロバイオティクスの投与の双方が重要である可能性を指摘しています。今後、放牧牛のみならず、畜産経営全般に関わる効率的な飼育管理手法、並びに母子の腸内細菌叢の関係性の理解につながることを期待されます。

本研究は、計算科学で著名なノルウェーの Research networks の取り組みを基盤として、Elsevier から出版されている国際学術誌「Computational and Structural Biotechnology Reports」に2024年8月15日(木)にオンライン掲載されました。

# [機械学習-因子分析-因果推論による予測]

放牧飼育管理条件

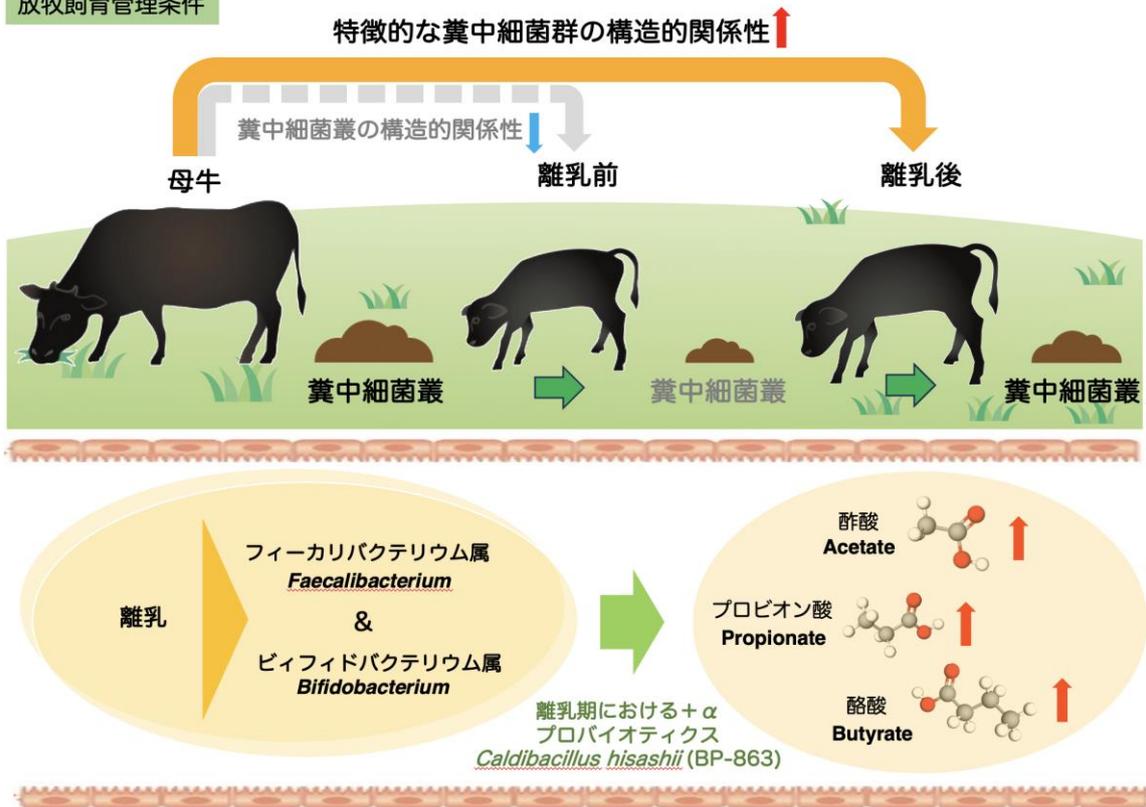


図 1. 本研究の概念図

放牧飼育管理条件下において、母牛-仔牛間の糞中細菌叢の関係性を機械学習・因子分析・因果推論によって推定することに成功しました。その結果、離乳前の仔牛よりも離乳後の仔牛の方が母牛の腸内細菌叢と強い関係性があることが計算上、示されました。さらに、離乳後の反応として、仔牛の成長促進に貢献する短鎖脂肪酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸)の濃度の増加に対して、フィーカリバクテリウム属とビフィドバクテリウム属が重要であり、離乳自体がこれらの代謝系に強く影響することが示されました。さらに、これらの代謝系に対して、離乳期における好熱菌プロバイオティクス(*Caldibacillus hisashii*, 国際寄託番号 BP-863)の経口投与が、相乗的に働きうることを示されました。

## 【研究の背景と経緯】

母子間の健康状態における関係性は古くから知られており、DOHaD 仮説(Developmental Origins of Health and Disease)として、胎児期や生後直後の健康・栄養状態が、成人になってからの健康に影響を及ぼすという概念が定着しています。これらの概念を想起させる基礎研究は世界的に進められており、主に閉鎖系で飼育管理されるマウスを用いた研究が知られています。特に母マウスの腸内細菌叢が、その仔マウスのその後の健康状態に影響を及ぼすことが明らかになっております。例えば、妊娠中の母親マウスに食物繊維をほとんど含まない餌を与えた場合、生まれてきた子マウスは、成長とともに肥満になり、高血糖・高脂血症などのメタボリック症候群の症状を示すことが知られています。このような研究手法としては、無菌環境下で飼育された妊娠マウスを用いた試験系などが用いられています。一方、自然界ではさまざまな環境諸因子の影響が想定されますが、特に産業動物の生産管理においては、開放系での放牧飼育などによって外的要因による影響がどのように母子間の腸内細菌叢の形成と維持に関わるのかは不明でした。

## 【研究の内容と成果】

本研究では、開放系飼育動物モデルとして異なる遺伝的背景を有する黒毛和種仔牛を用いて、母牛と仔牛の腸内細菌叢の関係性を評価しました。生後 90 日齢において離乳するため、その前後の仔牛とその母牛の糞中細菌叢を次世代シーケンサーによって解析し、16SrRNA 配列を対象として機械学習によって分類しました。判別分析によって、母牛、離乳前の仔牛、並びに離乳後の仔牛の特徴的な細菌群が特定されました。さらに、アンサンブル学習の一つである XGBoost(Extreme Gradient Boosting)によって、これらの三群を分類する特徴的な細菌群を検出しました。その結果、母牛と離乳後の仔牛を分類するための特徴的な細菌はストレプトコッカス属(*Streptococcus*)のみでした。また、アソシエーション解析によって、母牛由来、並びに仔牛由来の糞中細菌群のネットワークを評価し、因子分析によって母牛由来、並びに仔牛由来の糞中の細菌群のクラスターを評価した結果、母牛由来の細菌群と離乳後の仔牛由来の細菌群により強い関係性が見出されました。さらに、因子間の複雑なネットワークの因果関係の評価に適用できる統計的因果推論の手法(DirectLiNGAM)によって計算した結果、母牛由来の細菌群と離乳後の仔牛由来の細菌群に明らかな因果構造が見出されました。また、短鎖脂肪酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸)の代謝に与える影響については、フィーカリバクテリウム属とビフィドバクテリウム属とともに、離乳自体が重要であることが示されました。

これらの因果構造は、外的要因によって制御されうるのかも併せて検証されました。プロバイオティクスとして有効性が確認されている好熱菌 *Caldibacillus hisashii* (国際寄託番号 BP-863) (一昨年プレスリリース成果(※2) : Inabu et al. Journal of Applied Microbiology, 2022. DOI: 10.1111/jam.15519)を投与した個体を対象として、短鎖脂肪酸の代謝との因果構造を計算しました。その結果、前述のフィーカリバクテリウム属とビフィドバクテリウム属、並びに離乳自体が重要であるという前提の上で、相乗的に好熱菌プロバイオティクス *Caldibacillus hisashii* が働きうることを推測されました。

## 【今後の展開】

本研究は、放牧牛の母子間の腸内細菌叢の因果構造として、特に離乳後の仔牛の腸内細菌叢に対して母牛由来の特定の腸内細菌群が強く関係しうる可能性を見出しました。さらに、離乳後の自立した仔牛腸内の短鎖脂肪酸の産生のための重要な因果構造が推測されました。見方を変えれば、いわゆる「乳離れ」を腸内細菌叢を起点に計算科学的に示した成果とも言えます。

これらの研究成果は、遺伝的な背景が異なる牛を対象とした開放系飼育における研究成果であるため、より普遍的な成果であり、効率的な飼育管理を必要とする畜産経営において重要な情報と言えます。

すなわち、仔牛の腸内細菌叢を管理するために、母牛の腸内細菌叢の構造、並びに離乳期における有効なプロバイオティクスの投与の必要性を示唆しています。

我々は、一昨年、並びに昨年のプレスリリース(※2)において、抗生物質の投与が家畜由来の温室効果ガス(※3)であるメタン発生と切り離せない可能性を示唆するとともに、バシラス目の好熱菌 *Caldibacillus hisashii* が、プロバイオティクスとして腸内の短鎖脂肪酸の増加に貢献し、メタン産生菌であるメタンブレヴィバクター属(*Methanobrevibacter*)を減少させる傾向があることを報告しています。

興味深いことに、本研究成果において、母牛と離乳後仔牛を強く関連する腸内細菌群の中にはメタン産生に関与するメタンブレヴィバクター属(*Methanobrevibacter*)も含まれていました。これらの成果は、母牛-若齢期仔牛の健康維持と生産性の向上のためには、飼育期間を限定しない包括的な腸内細菌叢の管理が重要であり、その結果、さらに環境負荷の低減にも視点を向けられる可能性があることを示唆しています。

以上の点から、本研究結果は、基礎的な動物科学における母子の腸内細菌叢の関係性の理解とともに、産業動物の効率的な飼育管理、並びに国連の掲げる SDGs (持続可能な開発目標) (※4)に貢献する可能性があり、今後の研究の発展を期待しています。

#### 【用語解説】

(※1) 機械学習、因子分析、並びに因果推論

機械学習：経験からの学習により自動で改善するコンピュータアルゴリズム。教師なし機械学習と教師あり機械学習に分類される。

因子分析：複数の因子群から探索的に因子間の関係性を評価する計算手法。

因果推論：実験・観察データから得られた情報を基に、データ間の因果効果を統計的に推定していく方法。

(※2)一昨年、並びに昨年のプレスリリース

一昨年のプレスリリース(2022.03.25): 好熱菌を黒毛和種仔牛に投与！仔牛の生産性の向上と環境負荷の低減の実現 <https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/741>

昨年のプレスリリース(2023.04.28): 抗菌薬に依存しない仔牛の飼養管理-腸内環境の改善と温暖化ガス発生低減の可能性 [https://www.riken.jp/press/2023/20230428\\_1/index.html](https://www.riken.jp/press/2023/20230428_1/index.html)

(※3) 温室効果ガス

地球における温室効果をもたらす気体であり、地球温暖化の主たる原因の1つとされている。家畜から産生するメタンは二酸化炭素の20倍以上の温室効果をもたらす温室効果ガスであり、さらに消化器系におけるメタンの発生は乳牛・肉牛が摂取したエネルギーのロスにも繋がる。

(※4) SDGs (持続可能な開発目標)

Sustainable Development Goals の略であり、2015年9月の国連サミットで加盟国の全会一致で採択された「持続可能な開発のための2030アジェンダ」に記載された、2030年までに持続可能でよりよい世界を目指す国際目標。17のゴール・169のターゲットから構成され、地球上の「誰一人取り残さない (leave no one behind)」ことを誓うものであり、発展途上国のみならず、先進国自身が取り組むユニバーサル (普遍的) なものであり、日本も積極的に取り組んでいる (外務省ホームページより一部改変して転載)。

【論文情報】

掲載誌：Computational and Structural Biotechnology Reports

タイトル：Causal estimation of maternal-offspring gut commensal bacterial associations under livestock grazing management conditions

著者名：Yutaka Taguchi, Atsushi Kurotani, Haruki Yamano, Hirokuni Miyamoto, Tamotsu Kato, Naoko Tsuji, Makiko Matsuura, Teruno Nakaguma, Tetsuji Etoh, Yuji Shiotsuka, Ryoichi Fujino, Motoaki Udagawa, Jun Kikuchi, Hiroshi Ohno, Hideyuki Takahashi

D O I : [10.1016/j.csbr.2024.100012](https://doi.org/10.1016/j.csbr.2024.100012)

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学 大学院農学研究院 家畜生産生態学分野(農学部附属農場高原農業実験実習場)

准教授 高橋 秀之

TEL : 0974-76-1377 FAX : 0974-76-1218

Mail : takahashi.hideyuki.990@m.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報課

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL : 050-3495-0247

Mail : ex-press@ml.riken.jp