



東北大学



良質な腸内細菌叢形成を目指した 次世代畜産の技術基盤形成 ～糞便移植による子牛の下痢症制御～

東北大学大学院農学研究科
野地智法

子牛の難治性下痢症に対する画期的治療技術

～糞便移植の有用性を裏付ける科学的エビデンスの取得～



日本の畜産の未来のために、JRAはこれからも支援していきます。

JRA 畜産振興事業のご紹介

日本中央競馬会(JRA)では、民間団体が自主的に実施する畜産の振興に役立つ取り組み、研究などを行う事業に助成しています。

抗生薬からの腸内環境へ

子牛の下痢症は最も一般的な疾病ですが、ひどい場合は死に至る危険な状態に陥ります。治療に抗生薬を使用しますが、過度な使用は腸内環境を悪化させ、回復が遅くなる原因となります。抗生薬の乱用がもたらす悪影響を軽減し、健全な腸内環境を回復させることは、畜産者の大きな課題です。JRAが支援する「糞便移植」は、健康な牛の糞便を用いて、病牛の腸内に健康な細菌を移植する技術です。これにより、腸内環境を回復させ、下痢症を早期に治療することが期待されています。

健康な牛からふん便移植

子牛へのふん便移植の技術基盤形成と疾病制御事業

スタブコムスタブローリ「断折で腸内微生物の役割を説明

「断折」は、腸内の微生物叢を破壊することを指します。スタブコムスタブローリという技術を用いて、腸内の微生物叢を破壊し、その後の回復過程を観察することで、腸内微生物の役割を説明しています。



スタブコムスタブローリ「断折で腸内微生物の役割を説明



健康な牛からふん便移植

東北大学 × NOSAI千葉

野地 智法 教授
プロフェッサー
研究員 東海林 正志、44歳、東北大学大学院農学研究科植物園芸学専攻博士(農学)、国立研究開発法人 筑波実験動物研究所 動物学部長、動物学博士(農学)、動物学博士(獣医学)

田中 秀和 副所長
プロフェッサー
64歳、千葉県立中央博物館、NOSAI千葉 北総支所 研究開発部長、千葉県立中央博物館 副所長、千葉県立中央博物館 環境科学センター 長、環境学博士(理学)



健康な牛からふん便移植

健康な牛からふん便移植の技術基盤形成と疾病制御事業は、畜産者の大きな課題です。JRAが支援する「糞便移植」は、健康な牛の糞便を用いて、病牛の腸内に健康な細菌を移植する技術です。これにより、腸内環境を回復させ、下痢症を早期に治療することが期待されています。

難治性下痢症の子牛へのふん便移植の方法



糞便移植の有用性を裏付ける科学的エビデンスの取得。健康な牛の糞便を用いて、病牛の腸内に健康な細菌を移植する技術です。これにより、腸内環境を回復させ、下痢症を早期に治療することが期待されています。

JRAの基本方針

JRAは、毎週走り続けています。

- お客様とともに** 私たちは、お客様とともに、畜産に貢献していきたいと考えています。
- 夢と感動とともに** 私たちは、一歩一歩の成長、希望の光、共に歩む喜び、感動の瞬間を大切にしています。
- 信頼とともに** 私たちは、信頼と誠実の心を大切にし、畜産者の信頼に応えたいと考えています。
- 社会とともに** 私たちは、畜産を通じて社会の発展に貢献し、畜産文化の発展や環境の保全に取り組んでいます。
- そして未来へ** 私たちは、畜産文化の発展や環境の保全、畜産者の未来のために取り組んでいます。

JRAの社会貢献

JRAは経営の基本方針の中で、「社会とともに」として、畜産振興事業の推進に取り組んでいます。

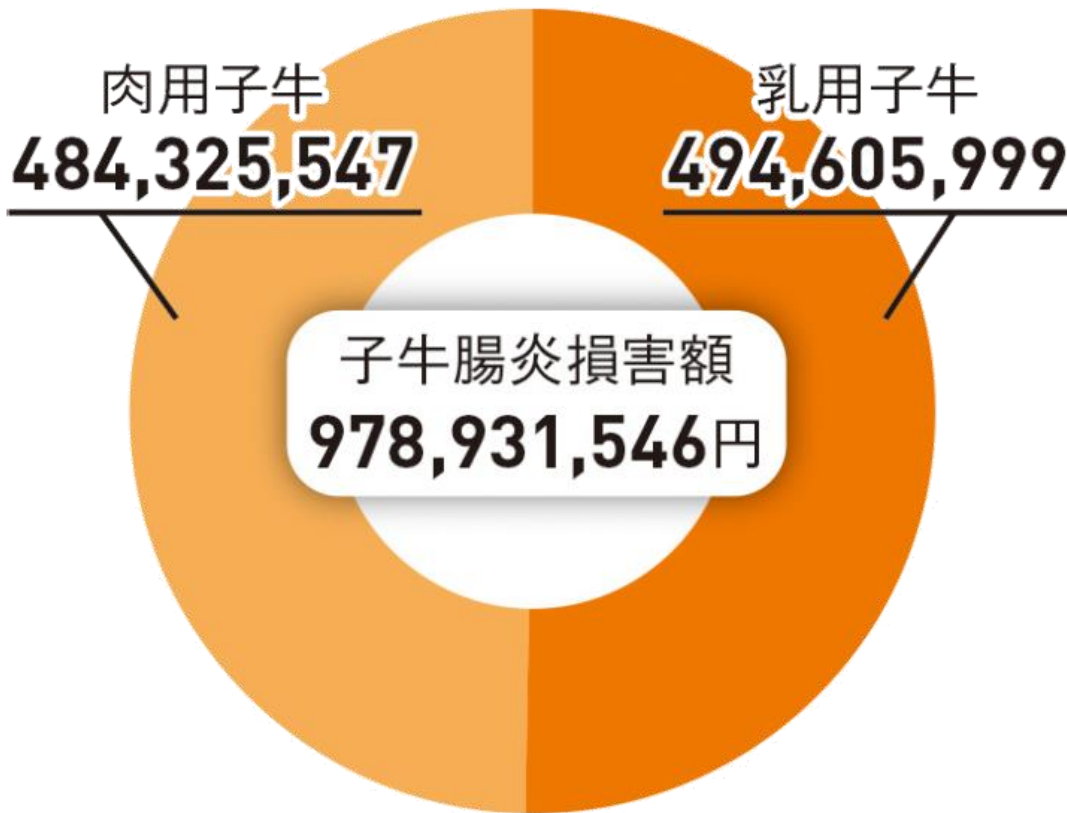
- 国庫納付を促進した貢献** 国庫納付を促進し、畜産者の負担を軽減しています。
- 畜産振興への取組み** 畜産者の負担を軽減し、畜産文化の発展に取り組んでいます。
- 環境への取組み** 畜産文化の発展や環境の保全に取り組んでいます。

令和3年度 JRA畜産振興事業 公募結果

令和3年度の畜産振興事業は、畜産文化の発展や環境の保全に取り組んでいます。

令和3年度採択実績
43団体 65事業

子牛の難治性下痢症に対する画期的治療技術開発の必要性



子牛の下痢症の原因

細菌（大腸菌、サルモネラ）
寄生虫（クロストスポリジウム、コクシジウム）
ウイルス（ロタウイルス）

子牛の下痢症に対する治療法

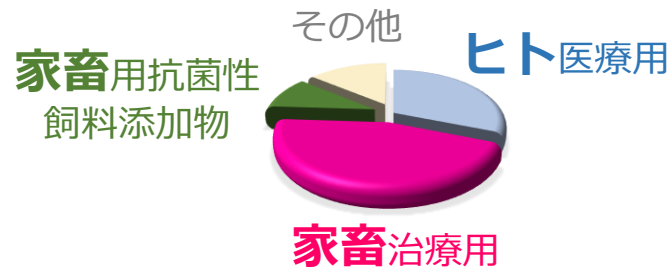
生菌剤
整腸剤
抗菌剤
抗原虫剤 他

子牛の下痢症がもたらす経済損失

約10億（右図参照）

畜産現場で用いられる抗生物質の危険性

日本での目的別抗生物質使用量

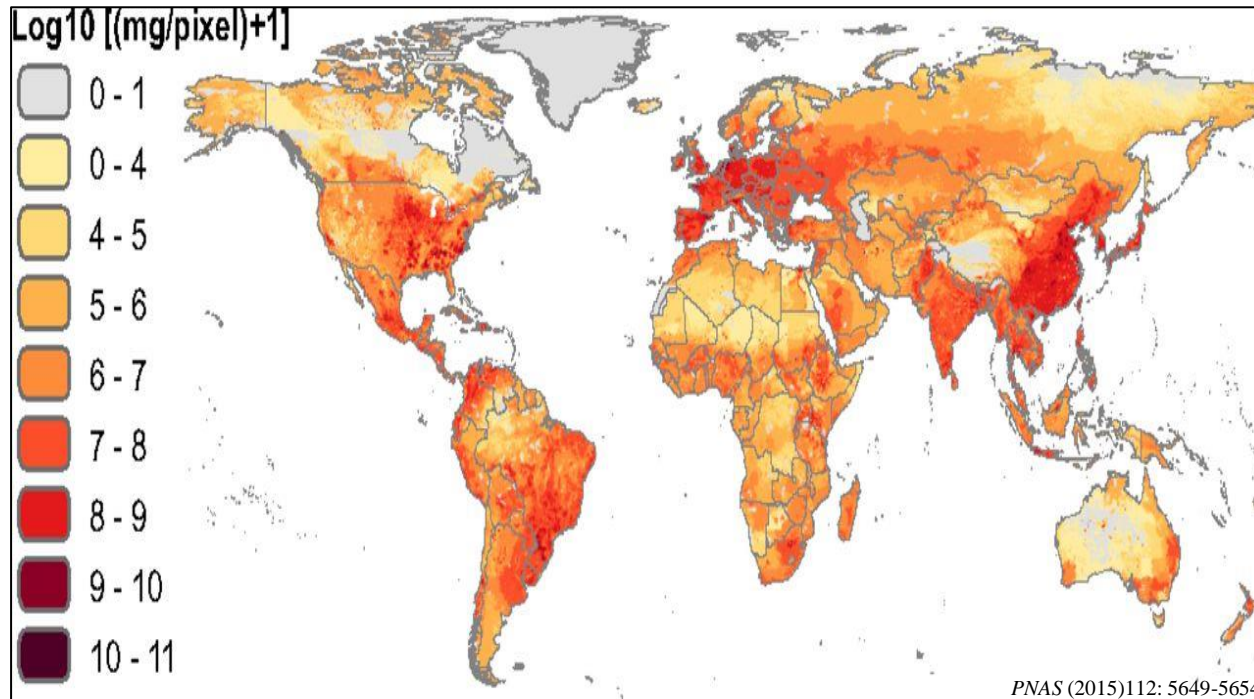


<https://www.esg.quick.co.jp/research/911>より引用

薬剤耐性菌
出現



2010年の家畜用抗生物質の使用状況



JRA 畜産振興事業（2019-2021年度） 子牛への糞便移植の技術基盤形成と疾病制御事業



国立大学法人東北大学



《総括責任者 兼 事業実施責任者》

役職：国立大学法人東北大学
大学院農学研究科
食と農免疫国際教育研究センター 教授
氏名：野地智法
従事者数：6名
実施項目：糞便移植の普及に向けた開発基盤形成



《経理業務責任者》

役職：国立大学法人東北大学
大学院農学研究科 事務長
氏名：佐藤吉和
従事者数：7名
実施項目：研究経費の適正管理

研究進捗会議の開催（東北大学内 2月に1回）
共同研究進捗会議（半年に1回）
糞便移植の普及に向けた活動
糞便移植に関するガイドライン策定に向けた活動

事業実施主体

共同実施 成果の共有

役職：千葉県農業共済連合組合
北部家畜診療所 副所長
氏名：田中秀和
従事者数：6名
実施項目：糞便移植の実施と臨床評価



千葉県農業共済連合会

共同実施機関

委託契約 結果報告

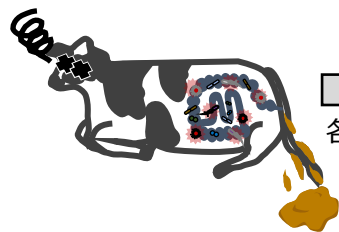
役職：ヒューマンメタボロームテクノロジーズ社
執行役員 営業・マーケティング本部長
氏名：亀谷直孝
従事者数：6名
実施項目：メタボローム解析



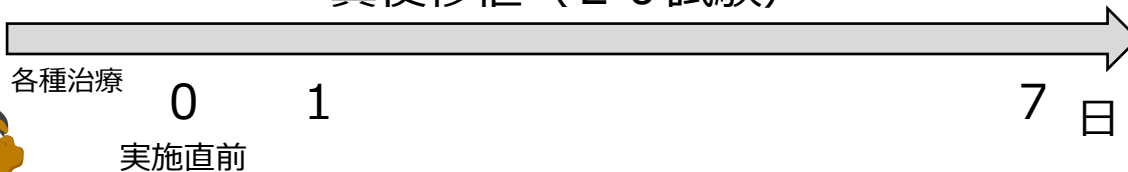
HMT

委託機関

試験内容 ～糞便移植の有効性を科学的に理解する～



糞便移植（20試験）



血液検査（一般性状解析）：レシピエント0、レシピエント7

糞便検査（下痢症発症原因特定分析）：レシピエント0、レシピエント7

糞便メタゲノム解析：ドナー0、レシピエント0、レシピエント1、レシピエント7

糞便メタボローム解析：ドナー0、レシピエント0、レシピエント1、レシピエント7（注：1,2糞便移植分）

糞便ELISA解析（IgA濃度測定）：ドナー0、レシピエント0、レシピエント1、レシピエント7

メタゲノム



ちばNOSAI連
→東北大（常温保存可）

Stool Nucleic Acid Collection
and Preservation Tube
(NORGEN 45660)



Stool DNA Isolation Kit
(NORGEN 27600)

DNA抽出→16S rRNA遺伝子をPCRで増幅
→次世代シーケンサー（MiSeq）解析

メタボローム

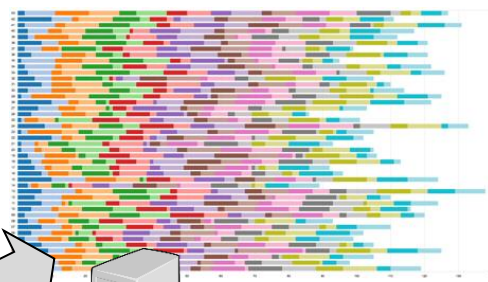
ちばNOSAI連（液体窒素保存）
→東北大（-80度保存）



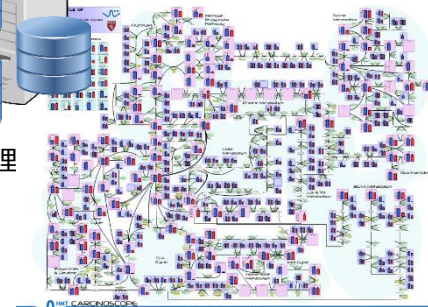
凍結乾燥→
HMT社にて分析



メタゲノム解析



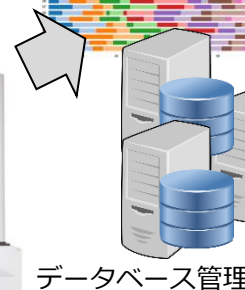
メタボローム解析



Illumina MiSeq



CE-MS



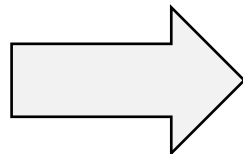
データベース管理

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) 技術

健全育成牛 (ドナー)



約100g



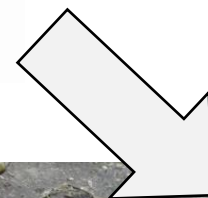
嫌気性を保ち迅速に



生理食塩水
約200mL



滅菌
ポリ袋

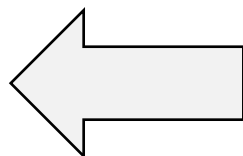


濾過

糞汁作成



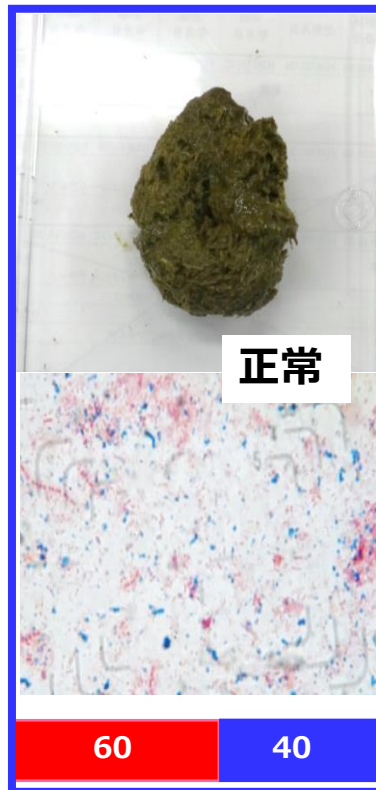
移植



下痢症発症牛 (レシピエント)

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の有効性評価

ドナー

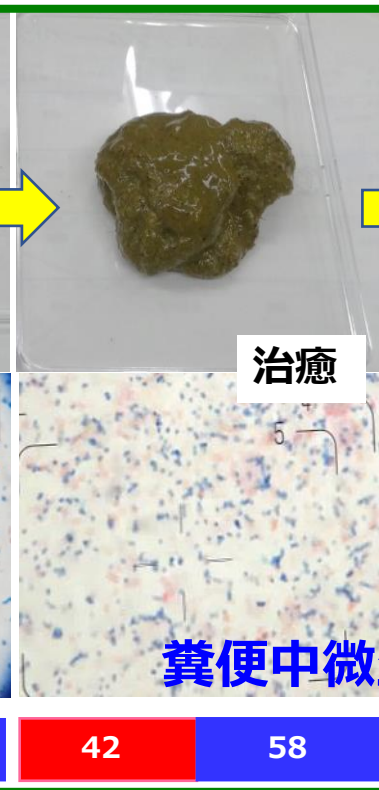


レシピエント

移植直前



移植翌日



移植7日後



糞便中微生物の安定化

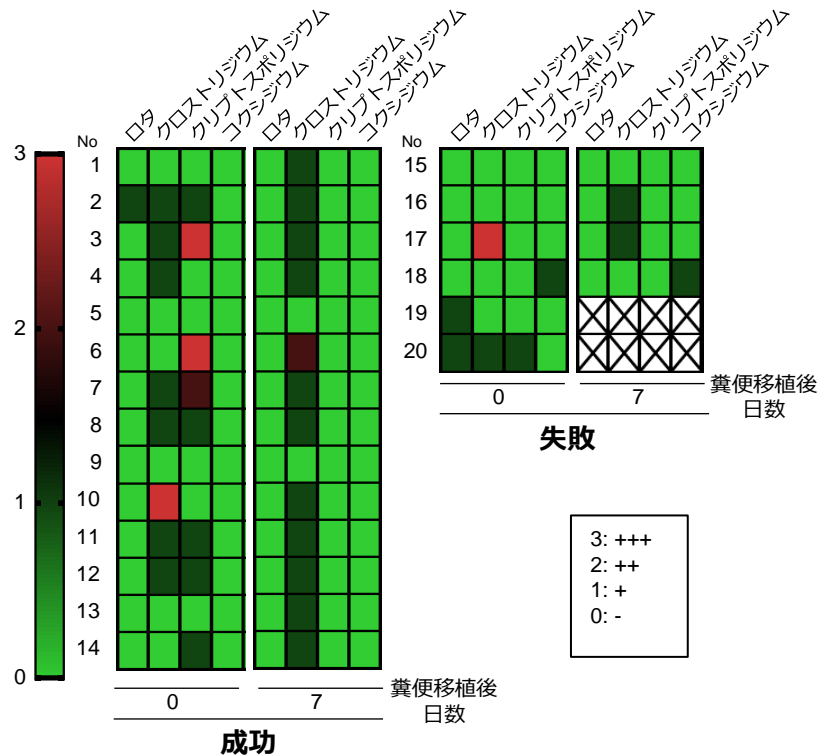
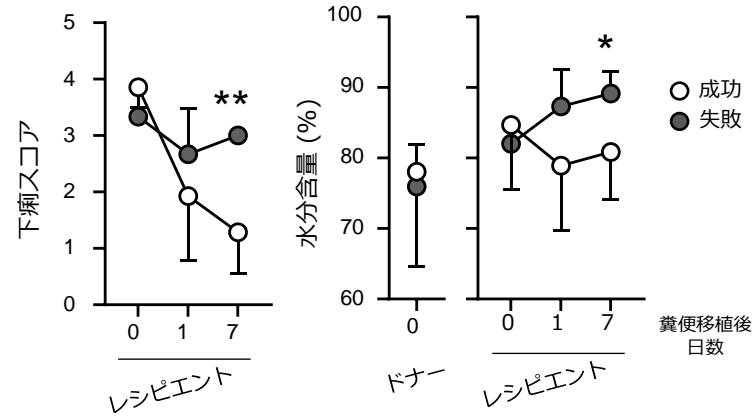
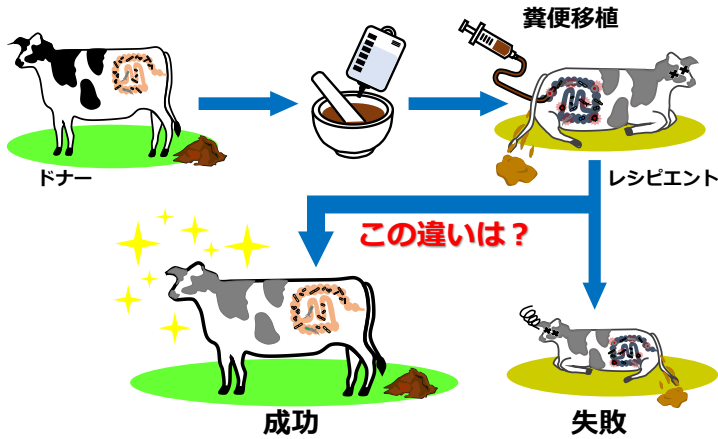
グラム染色 (赤 : 陰性菌、青 : 陽性菌)

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

の有効性評価

	FMT 直前	FMT 翌日	FMT 1週間後
FMT 1	水様	正常	正常
FMT 2	水様	水様	泥状
FMT 3	泥状	泥状	泥状
FMT 4	泥状	泥状	出荷
FMT 5	泥状	泥状	泥状
FMT 6	水様	正常	泥状
FMT 7	水様	泥状	正常
FMT 8	水様	正常	正常
FMT 9	水様	泥状	泥状
FMT 10	水様	泥状	正常
FMT 11	水様	泥状	正常
FMT 12	水様	正常	正常
FMT 13	水様	正常	正常
FMT 14	水様	正常	正常
FMT 15	水様	泥状	正常
FMT 16	泥状	正常	正常
FMT 17	泥状	泥状	正常
FMT 18	泥状	泥状	泥状
FMT 19	水様	正常	正常
FMT 20	水様	水様	死亡

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の有効性評価



糞便移植後の血中パラメーターの変動

レシピエント

血清総タンパク質 総コレステロール ヘモグロビン

アルブミン

γ-GT

MCV

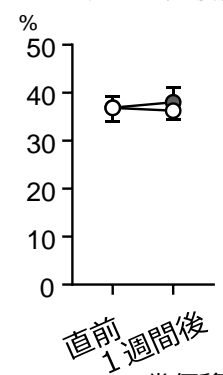
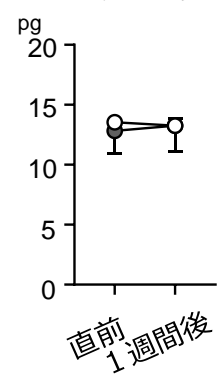
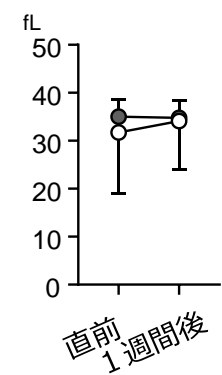
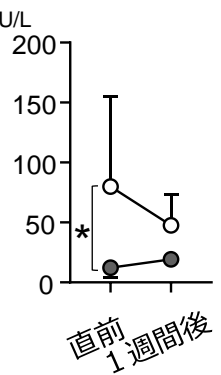
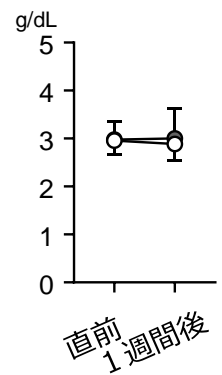
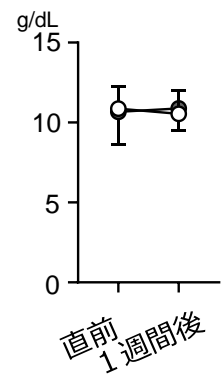
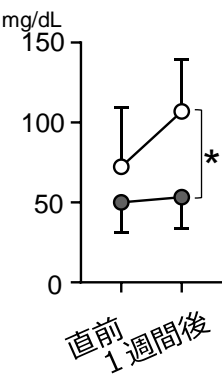
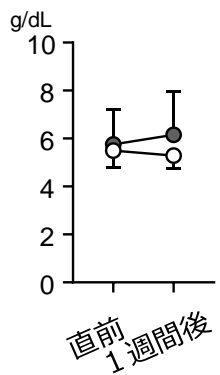
(平均赤血球容積)

MCH

(平均赤血球ヘモグロビン量)

MCHC

(平均赤血球ヘモグロビン濃度)



糞便移植

白血球数

分葉核球

桿状核球

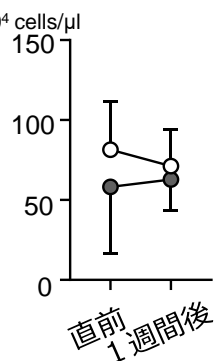
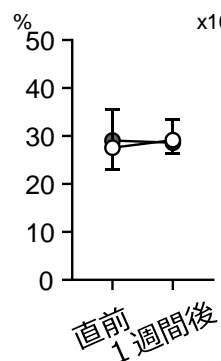
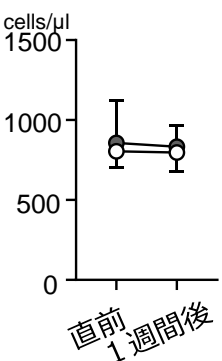
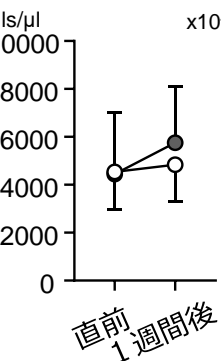
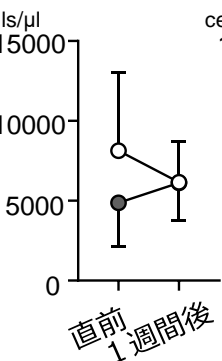
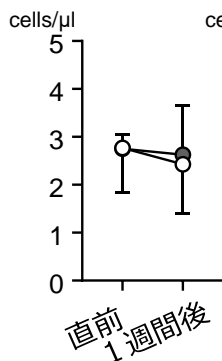
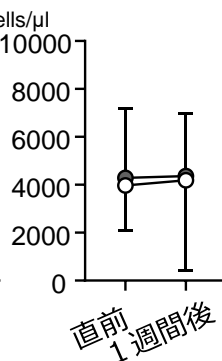
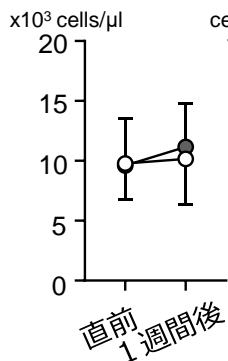
単球

リンパ球

赤血球

ヘマトクリット

血小板

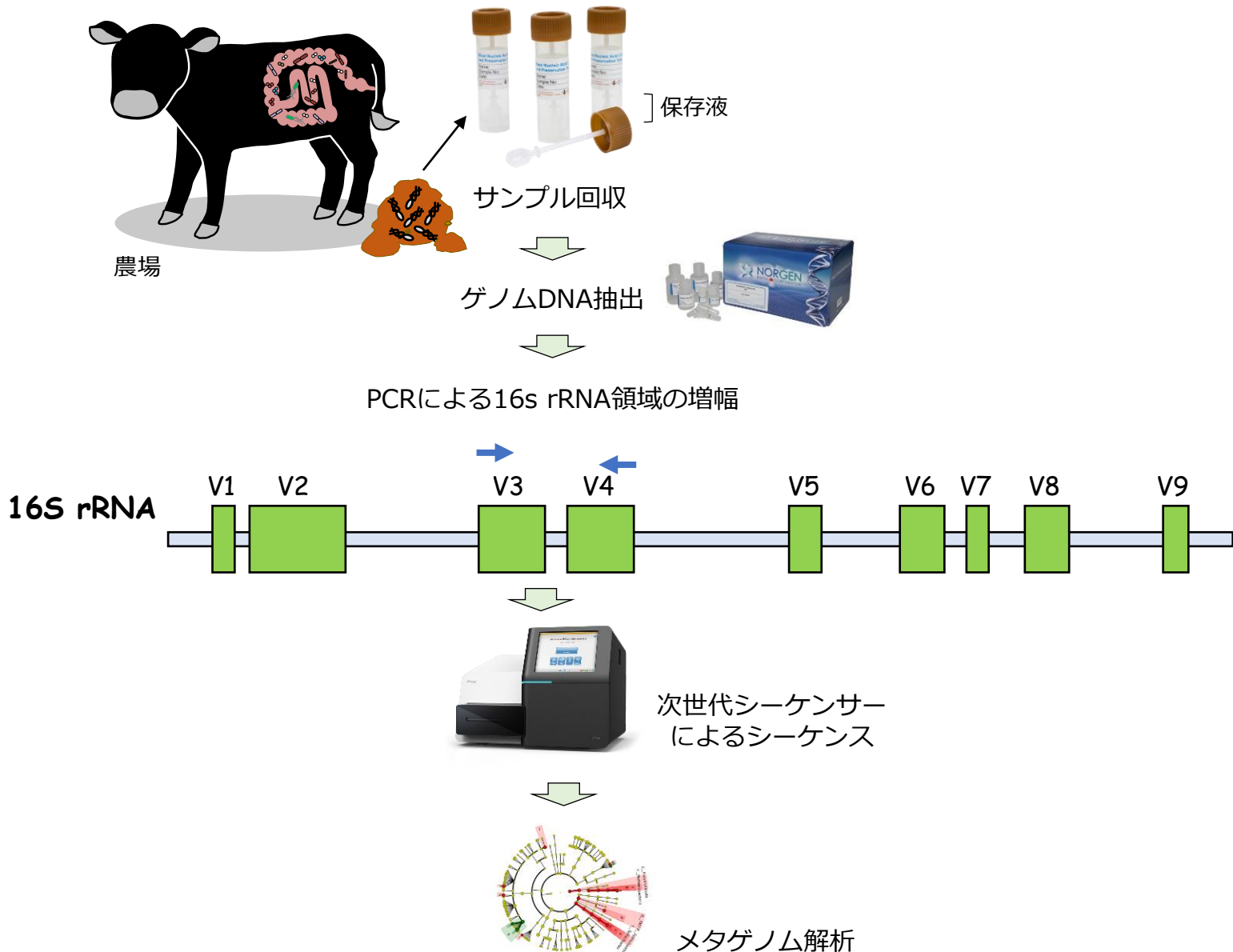


糞便移植

○ 成功
● 失敗

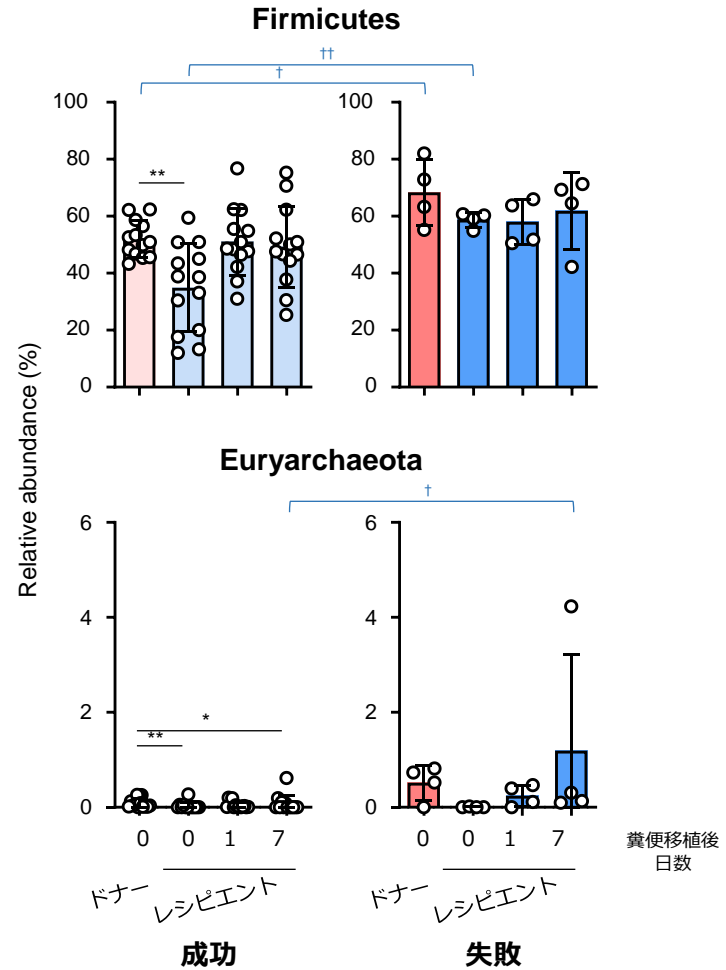
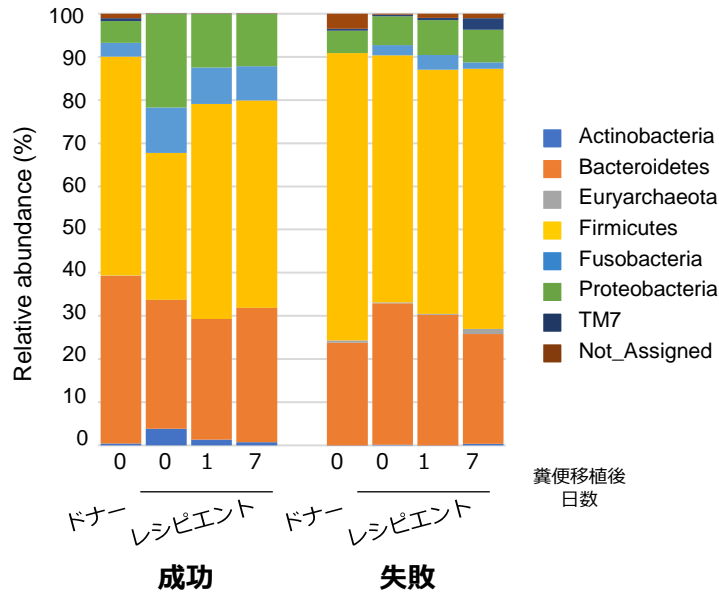
メタゲノム解析による腸内微生物叢解析の進展

～次世代シーケンサーが成し得た技術革新～



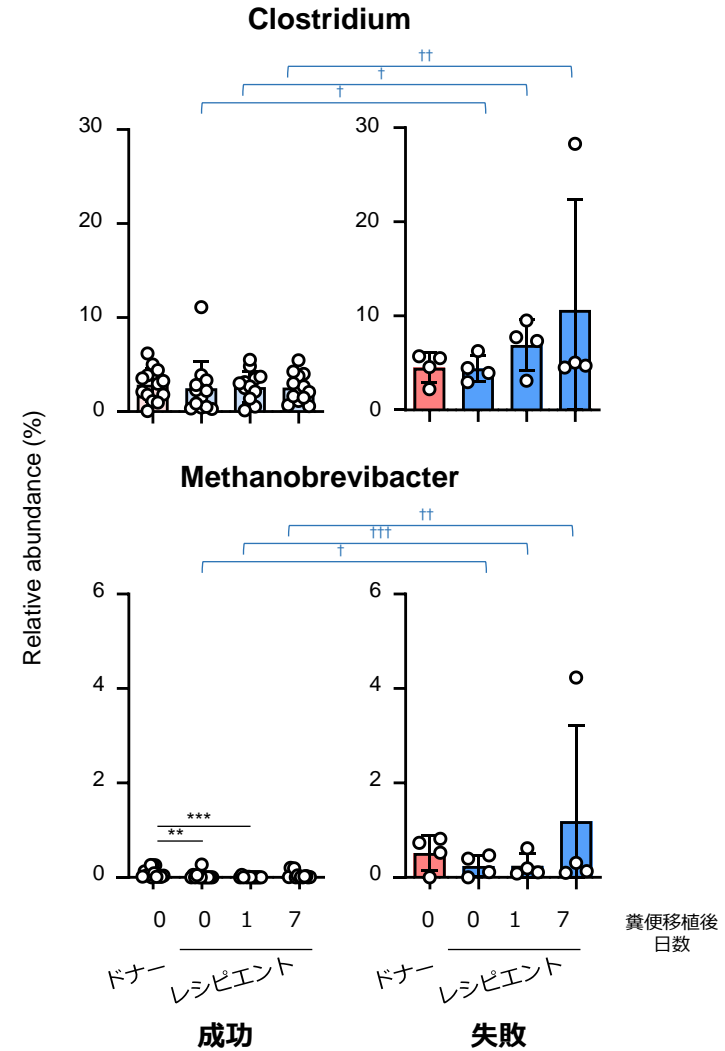
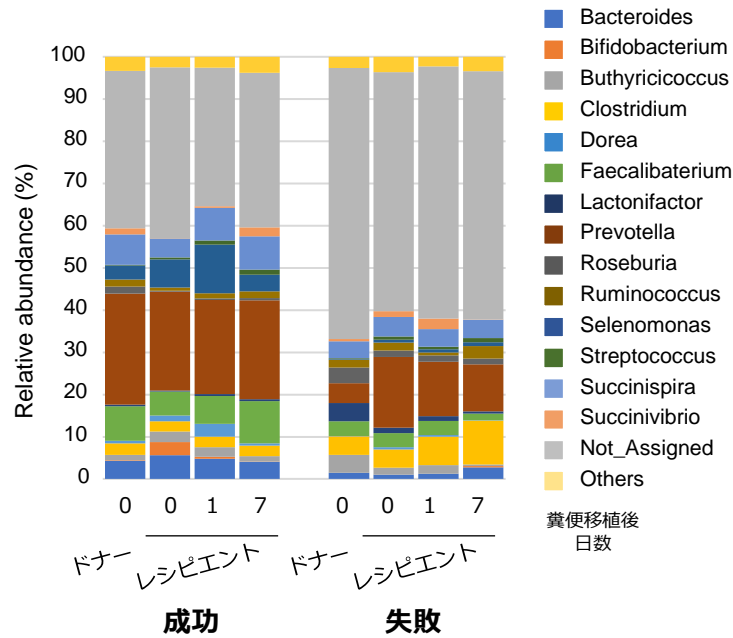
糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

前後の腸内微生物叢変化 (門レベル)



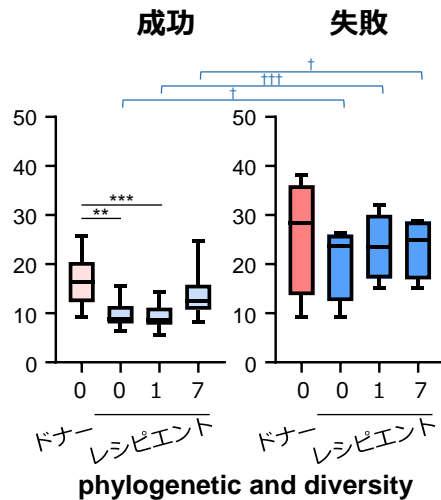
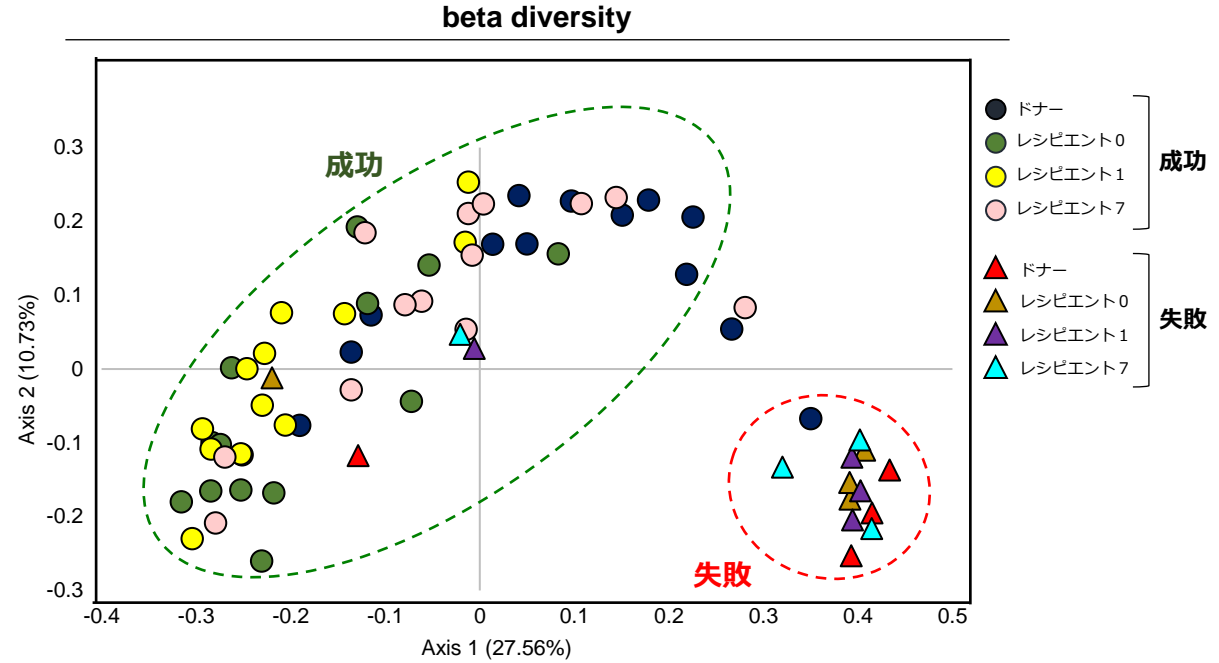
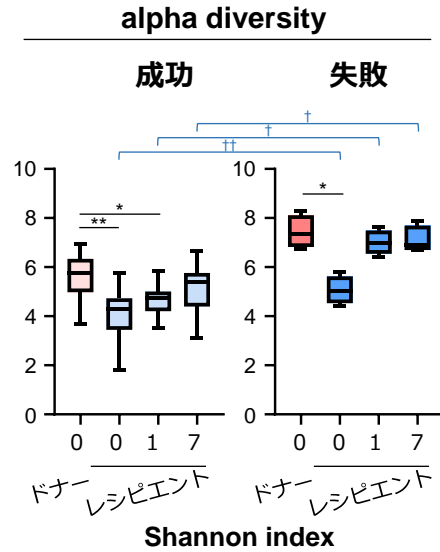
糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

前後の腸内微生物叢変化 (属レベル)



糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

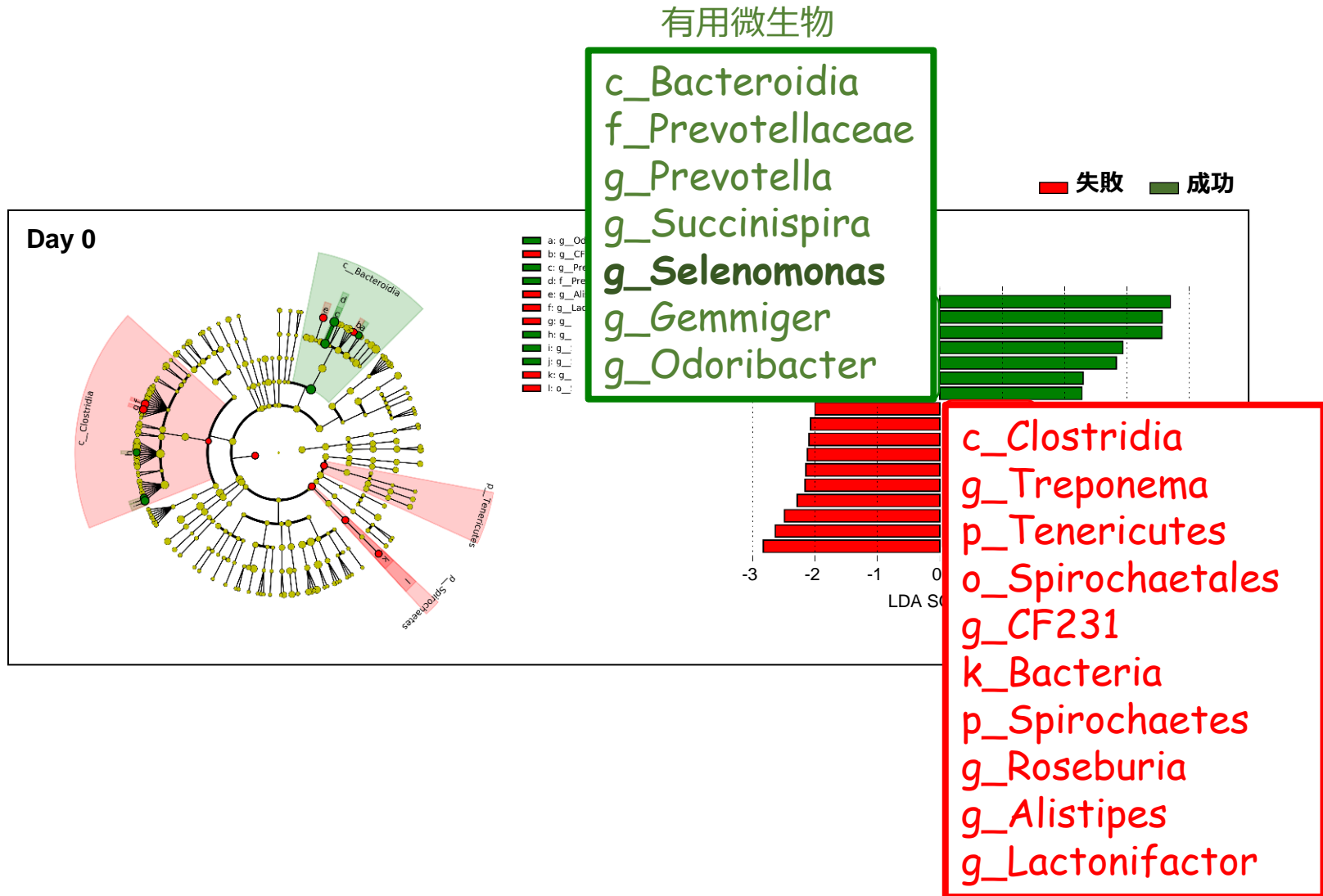
前後の腸内微生物叢変化



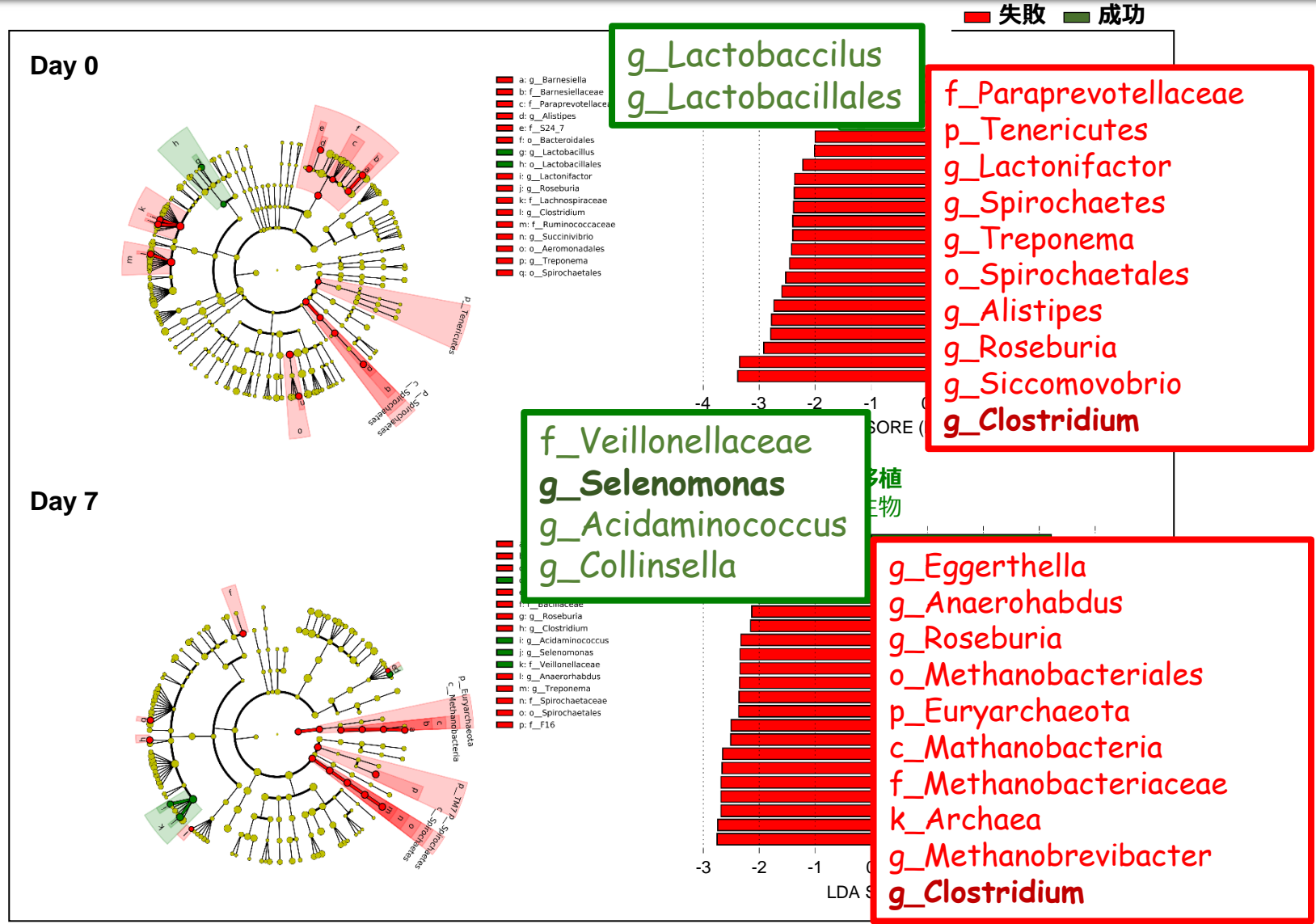
糞便移植が成功するか失敗に終わるか
ドナーとレシピエントの双方に要因がある

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

の成否に関わる微生物探索



糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の成否に関わる微生物探索



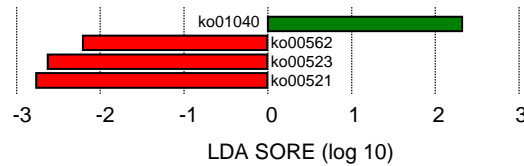
成功／失敗、ドナー／レシipient特有の微生物の特定

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)

から予想される代謝変動

■ 失敗 ■ 成功

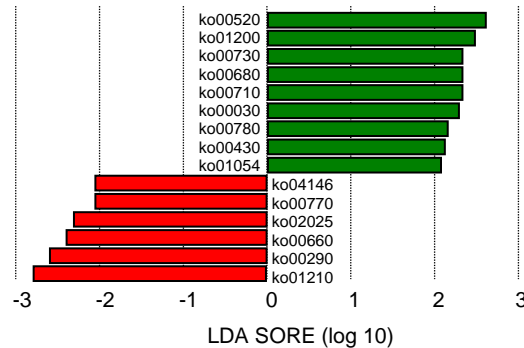
Day 0



Ko01040: Biosynthesis of unsaturated fatty acids
 Ko00562: Inositol phosphate metabolism
 Ko00523: Polyketide sugar unit biosynthesis
 Ko00521: Streptomycin biosynthesis

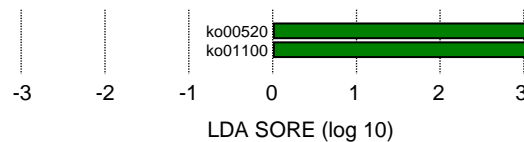
ドナー

Day 0



Ko00520: Amino sugar and nucleotide sugar metabolism
 Ko01200: Carbon metabolism
 Ko00730: Thiamine metabolism
 Ko00680: Methane metabolism
 Ko00710: Carbon fixation in photosynthetic organisms
 Ko00030: Pentose phosphate pathway
 Ko00780: Biotin metabolism
 Ko00430: Taurine and hypotaurine metabolism
 Ko01054: Nonribosomal peptide structures
 Ko04146: Peroxisome
 Ko00770: Pantothenate and CoA biosynthesis
 Ko02025: Biofilm formation - Pseudomonas aeruginosa
 Ko00660: C5-Branched dibasic acid metabolism
 Ko00290: Valine, leucine and isoleucine biosynthesis
 Ko01210: 2-Oxocarboxylic acid metabolism

Day 7



Ko00520: Amino sugar and nucleotide sugar metabolism
 Ko01100: Metabolic pathway like glycolysis, gluconeogenesis, TCA cycle

レシピエント

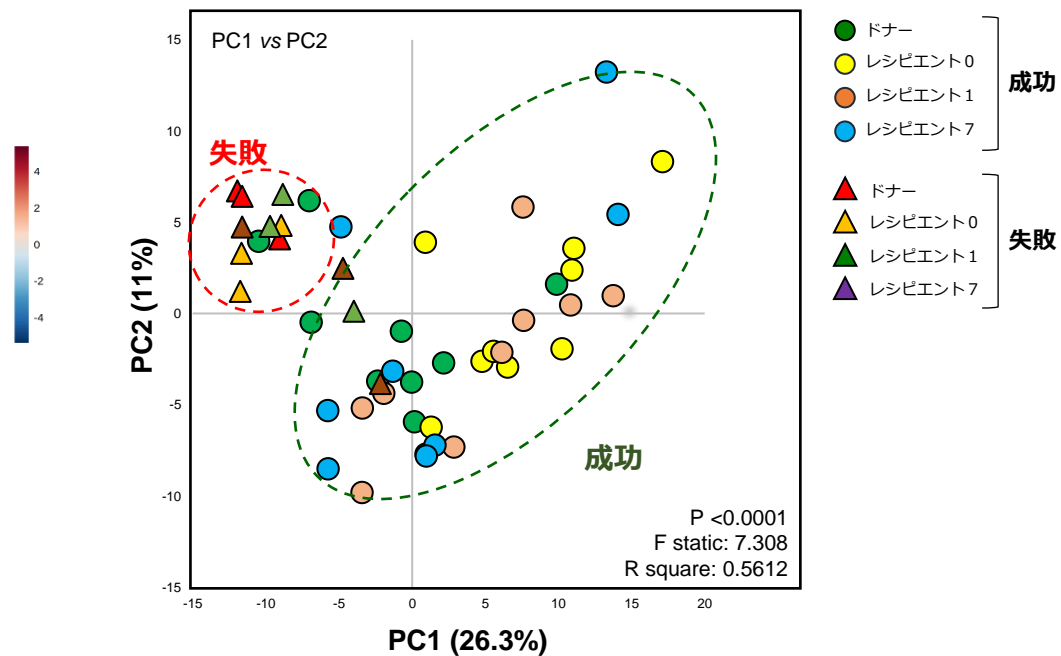
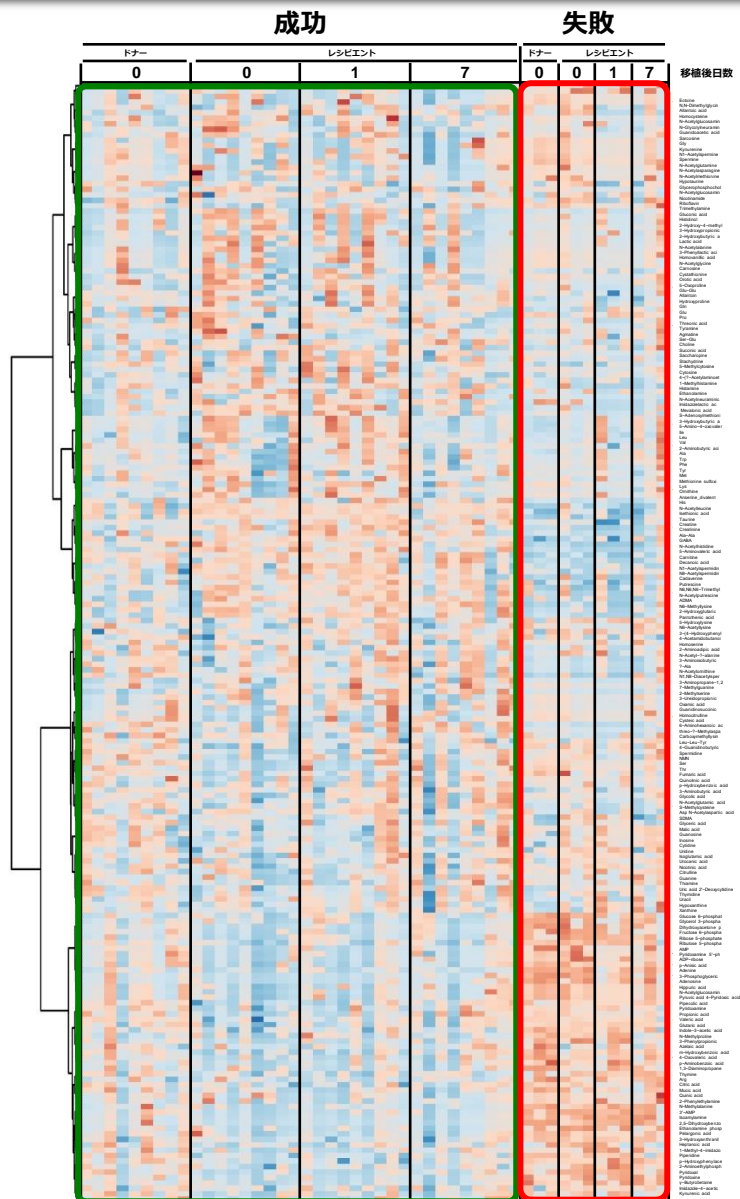
メタボローム解析のフローチャート



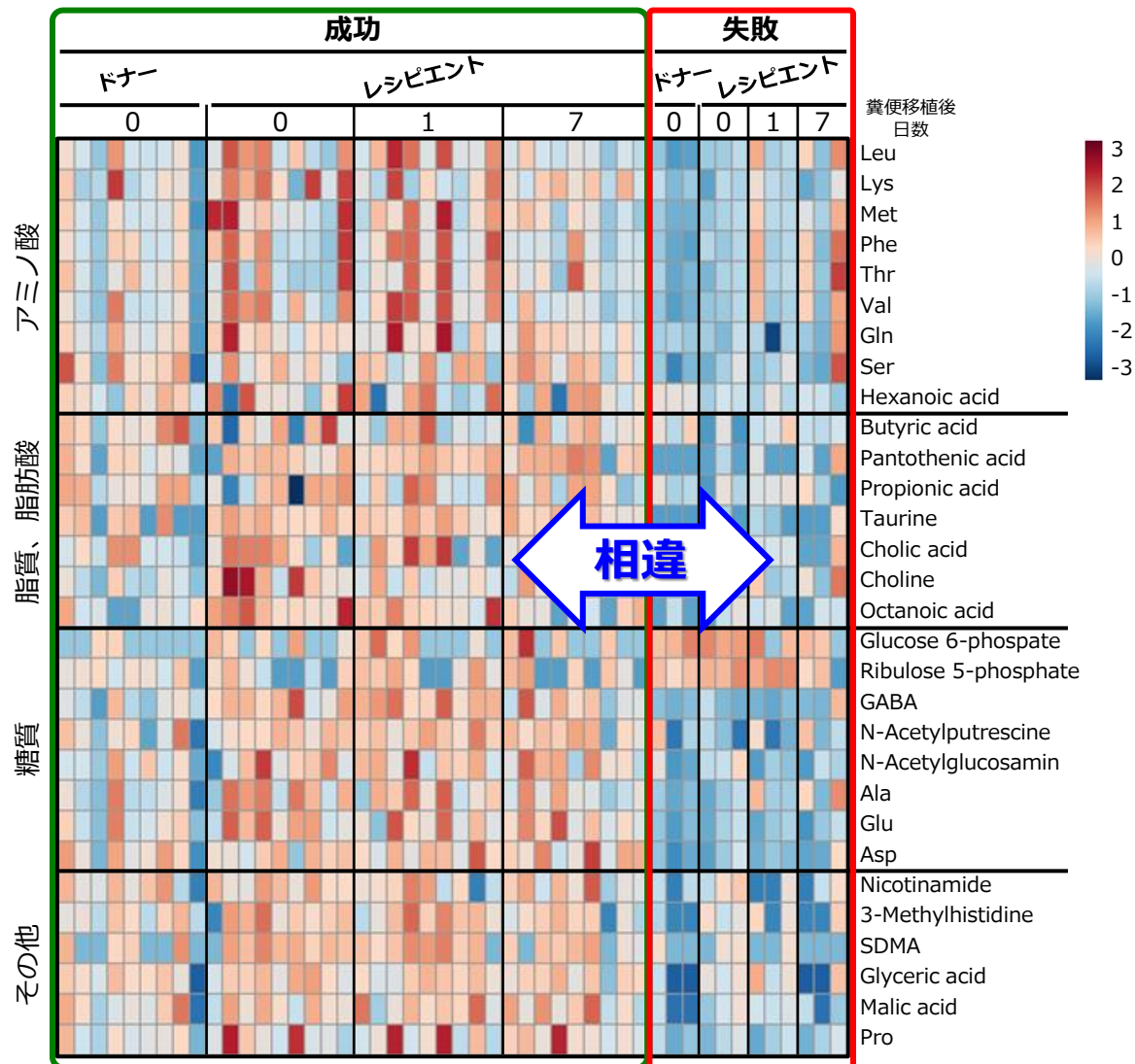
同定： 366物質 (カチオン： 214物質、アニオン： 152物質)
濃度定量： 264物質 (カチオン： 159物質、アニオン： 105物質)

メタボローム解析から同定された代謝物

主成分分析



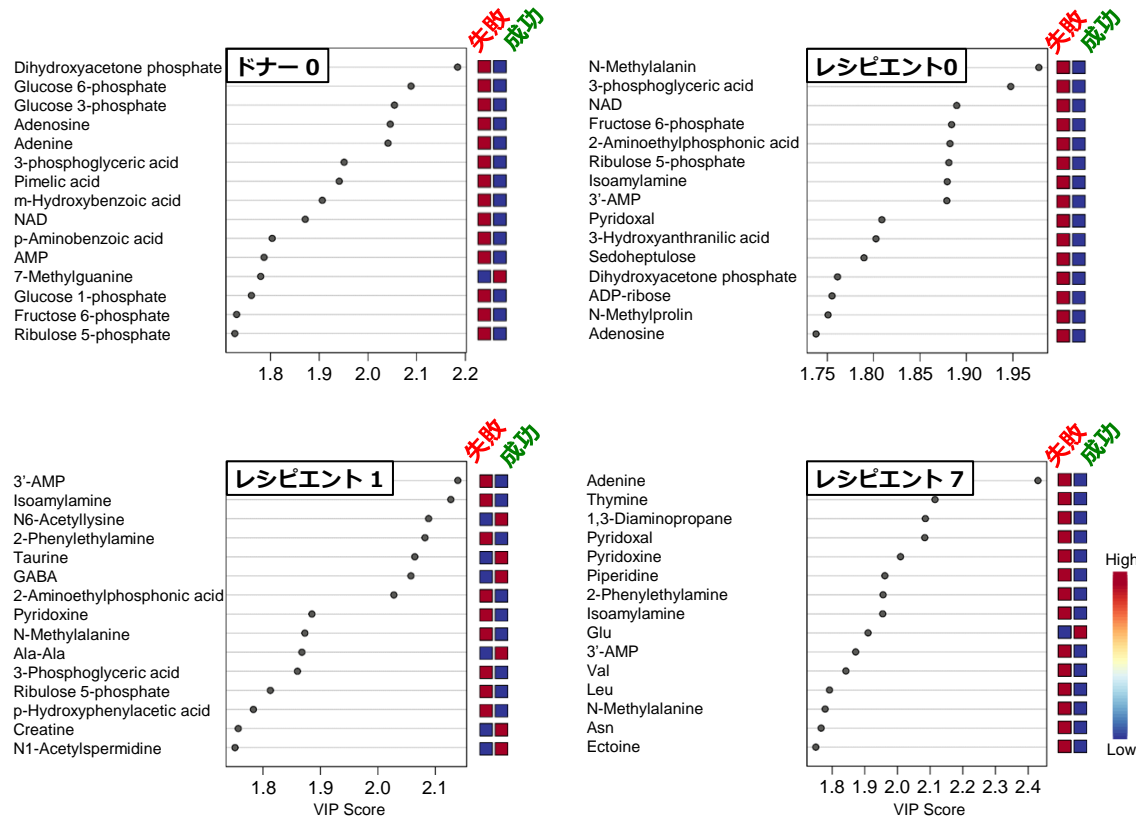
糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の成否に関わる代謝物探索



相違

糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の成否に関わる代謝物探索

PLS-DA解析



**成功／失敗、ドナー／レシピエント
特有の代謝物の特定**

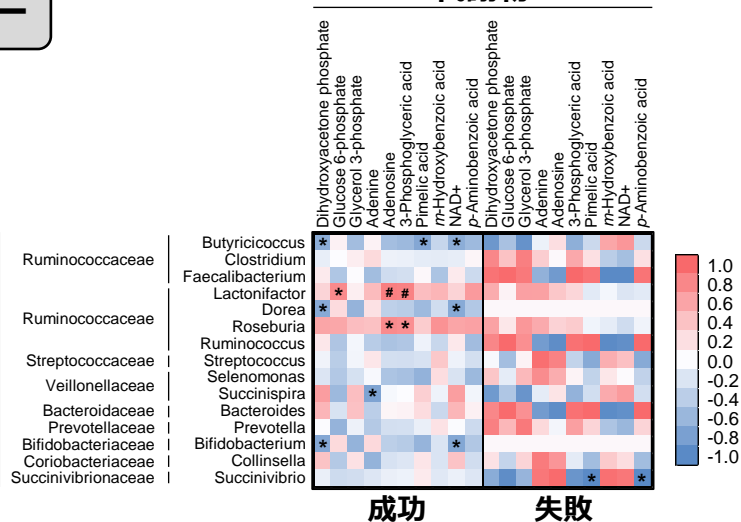
糞便移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) の成否と微生物／代謝物の相関関係

Pearsonの相関係数

ドナー

微生物

代謝物

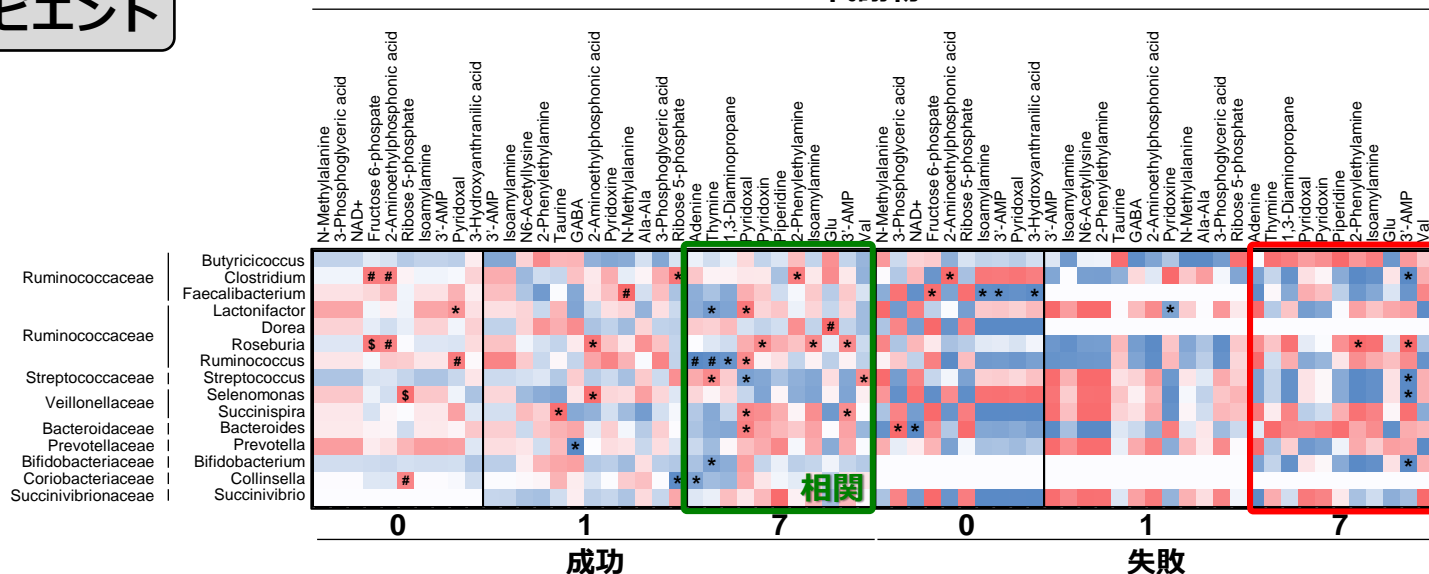


糞便移植の成功・失敗を予想する
バイオマーカーとしての可能性

レシピエント

微生物

代謝物



糞便移植後
日数

RESEARCH

Open Access



Development of a rational framework for the therapeutic efficacy of fecal microbiota transplantation for calf diarrhea treatment

Jahidul Islam¹, Masae Tanimizu², Yu Shimizu², Yoshiaki Goto³, Natsuki Ohtani³, Kentaro Sugiyama³, Eriko Tatezaki³, Masumi Sato⁴, Eiji Makino⁴, Toru Shimada⁵, Chise Ueda⁵, Ayumi Matsuo¹, Yoshihisa Suyama¹, Yoshifumi Sakai¹, Mutsumi Furukawa¹, Katsuki Usami¹, Hiroshi Yoneyama¹, Hisashi Aso¹, Hidekazu Tanaka^{3*} and Tomonori Nochi^{1,6*}

Abstract

Background: Establishing fecal microbiota transplantation (FMT) to prevent multifactorial diarrhea in calves is challenging because of the differences in farm management practices, the lack of optimal donors, and recipient selection. In this study, the underlying factors of successful and unsuccessful FMT treatment cases are elucidated, and the potential markers for predicting successful FMT are identified using fecal metagenomics via 16S rRNA gene sequencing, fecal metabolomics via capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry, and machine learning approaches.

Results: Specifically, 20 FMT treatment cases, in which feces from healthy donors were intrarectally transferred into recipient diarrheal calves, were conducted with a success rate of 70%. *Selenomonas* was identified as a microorganism genus that showed significant donor–recipient compatibility in successful FMT treatments. A strong positive correlation between the microbiome and metabolome data, which is a prerequisite factor for FMT success, was confirmed by Procrustes analysis in successful FMT ($r = 0.7439$, $P = 0.0001$). Additionally, weighted gene correlation network analysis confirmed the positively or negatively correlated pairs of bacterial taxa (family *Veillonellaceae*) and metabolic features (i.e., amino acids and short-chain fatty acids) responsible for FMT success. Further analysis aimed at establishing criteria for donor selection identified the genus *Sporobacter* as a potential biomarker in successful donor selection. Low levels of metabolites, such as glycerol 3-phosphate, dihydroxyacetone phosphate, and isoamylamine, in the donor or recipients prior to FMT, are predicted to facilitate FMT.

Conclusions: Overall, we provide the first substantial evidence of the factors related to FMT success or failure; these findings could improve the design of future microbial therapeutics for treating diarrhea in calves.

Keywords: Calf diarrhea, FMT, Microbiome, Metabolites

Background

Fecal microbiota transplantation (FMT), in which fecal contents from healthy donors are transplanted into diseased patients with the intention of normalizing or restoring healthy gut microbiota, is considered a promising therapeutic for dysbiosis-related diseases [1, 2]. Infections caused by recurrent *Clostridioides difficile*

*Correspondence: fwgcs394hide@gmail.com; nochi@tohoku.ac.jp
¹International Education and Research Center for Food and Agricultural Immunology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 468-1 Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8572, Japan
³North Veterinary Clinical Center, Chiba Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association, 99-1 Nira, Katori, Chiba 289-0407, Japan
 Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2022. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

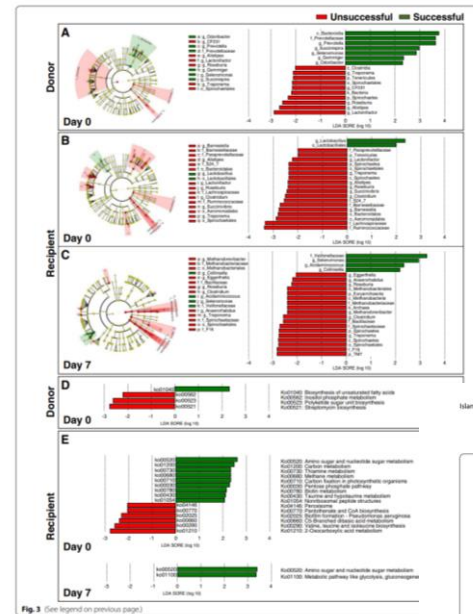


Fig. 3 (See legend on previous page.)

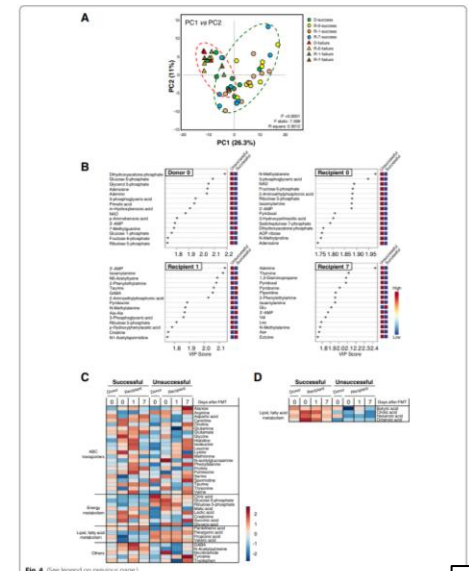


Fig. 4 (See legend on previous page.)

研究成果をプレスリリースしました


東北大学
 TOHOKU UNIVERSITY

大学概要 | 学部・大学院・研究所 | 教育・学生支援 | 研究・産学連携 | 国際交流 | 社会連携 | 情報公開・広報 | 入試情報

東北大学で学びたい方へ | 社会人・地域の方へ | 企業の方へ | 同窓生の方へ | 在学生の方へ | 教職員向け


TOHOKU UNIVERSITY
 CREATING GLOBAL EXCELLENCE

Search... Search

日本語 | Contact Tohoku University

About | Academics | Admissions | Research | Campus Life | News | Events | Map & Directions

Home > Research News > Treating Intractable Diarrhea in Calves and Improving Intestinal Microflora

2022年 | プレスリリース・研究成果

腸内微生物叢改善による子牛の難治性下痢症の改善 ～糞便移植の有効性を裏付ける科学的メカニズムを探索～

2022年2月21日 11:00 | プレスリリース・研究成果

【本学研究者情報】

○大学院農学研究科 教授 野地哲夫
研究室ウェブサイト

【発表のポイント】

- 難治性下痢症を発症する子牛に対する糞便移植^①により、70%もの割合で、その症状を劇的に改善させることに成功しました。
- ドナーからレシビエントに移行すべき腸内細菌としてSelenomonas属を特定しました。
- 糞便移植の効果を期待する上で、ドナーもしくは移植前のレシビエントの糞便中に低値で抑えるべき複数の代謝物を特定しました。
- 糞便移植の優良ドナー選抜を目的としたシミュレーションにより、Sporobacter属を糞便バイオマーカーとして有用な細菌として定義しました。

【概要】

子牛の下痢症がもたらす経済損失は年額10億円と甚大であり、その治療としては抗菌薬が多用されているのが現状です。しかし、家畜生産現場から生まれる薬剤耐性菌が世界レベルの問題として取り上げられており、抗菌薬のみに依存しない、新たな疾病制御技術の確立が急務とされています。

東北大学大学院農学研究科 食と農免疫国際教育研究センターのIslam Jahidul特任助教、野地哲夫教授および、千葉県農業共済組合 北部家畜診療所の田中秀和副所長らの研究グループは、糞便移植による子牛の下痢症制御を可能にするための研究基金を構築しました。

腸内に生息する微生物は、個体の健全性を保つ上で重要な役割を有していることが、近年の研究から次々と明らかになっています。今回、難治性に至った下痢症を発症するレシビエント牛に対し、健康ドナー牛より採取した糞便を移植することで、その症状を劇的に緩和させることが可能であることを実証しました（図1参照）。加えて、子牛の下痢症制御を目的とした糞便移植が効果的である理由を、ドナーとレシビエントの糞便を用いた細菌叢解析^②（メタゲノム解析）および代謝物解析^③（メタボローム解析）により解明し、有効性に関わる細菌および代謝物を探索することに成功しました。

本研究成果は、2022年2月21日午前1時（英国時間）に英国BioMed Central（BMC）社が発行する科学誌Microbiomeに掲載されました。

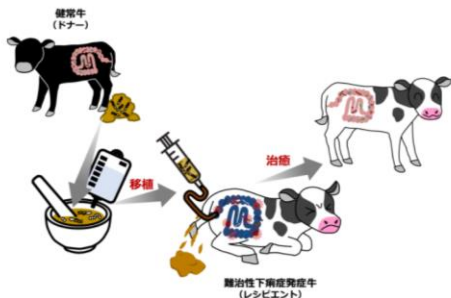


図1：子牛の難治性下痢症制御を目的とした糞便移植技術

カテゴリ

- 新着情報
- ニュース
- 採用情報
 - ▶ 東北大学教員公募情報
 - ▶ 東北大学教員の任期に関する規程
 - ▶ 東北大学職員公募情報
 - ▶ 東北地区国立大学法人等職員採用試験情報
 - ▶ 東北大学事務系・技術系職員採用試験情報

プレスリリース・研究成果

- 受賞
- ▶ 研究成果
- ▶ メディア掲載

イベント

- ▶ 学会・研究会・シンポジウム
- ▶ 公開講座・市民講座・企業講
- ▶ 学内行事・講演会・オープンキャンパス

東北大学で学びたい方へ

- 社会人・地域の方へ
- 企業の方へ
- 英学生の方へ
- 在学生の方へ
- 教職員向け
- 過去の新聞情報（アーカイブ）

Research News



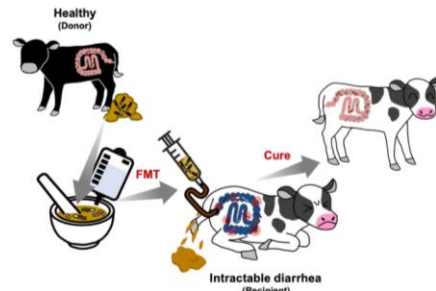
Treating Intractable Diarrhea in Calves and Improving Intestinal Microflora

2022-02-21

Diarrhea is common in calves and causes enormous financial losses to the livestock industry worldwide. Antibiotics have been widely used to treat this enteric disease. Yet, improper use of antibiotics for industrial animals not only disturbs their indigenous microbiome - the collection of healthy bacteria stored in their bodies - but also leads to antibiotic-resistant bacteria on farms.

A research group led by Jahidul Islam and Tomonori Nochi from Tohoku University's Graduate School of Agricultural Science and by Hidekazu Tanaka from Chiba Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association set out to promote an alternative strategy to cultivate robust microflora without using antibiotics.

To do so, they harnessed the efficacy of fecal microbiota transplantation (FMT) to treat intractable diarrhea in calves. FMT involves transplanting healthy donor-derived feces into calves with intractable diarrhea. The group was successful in predicting the fecal microorganisms and metabolites that translated into a more efficient FMT.



An illustration of FMT to cure calves with intractable diarrhea. ©Tohoku University

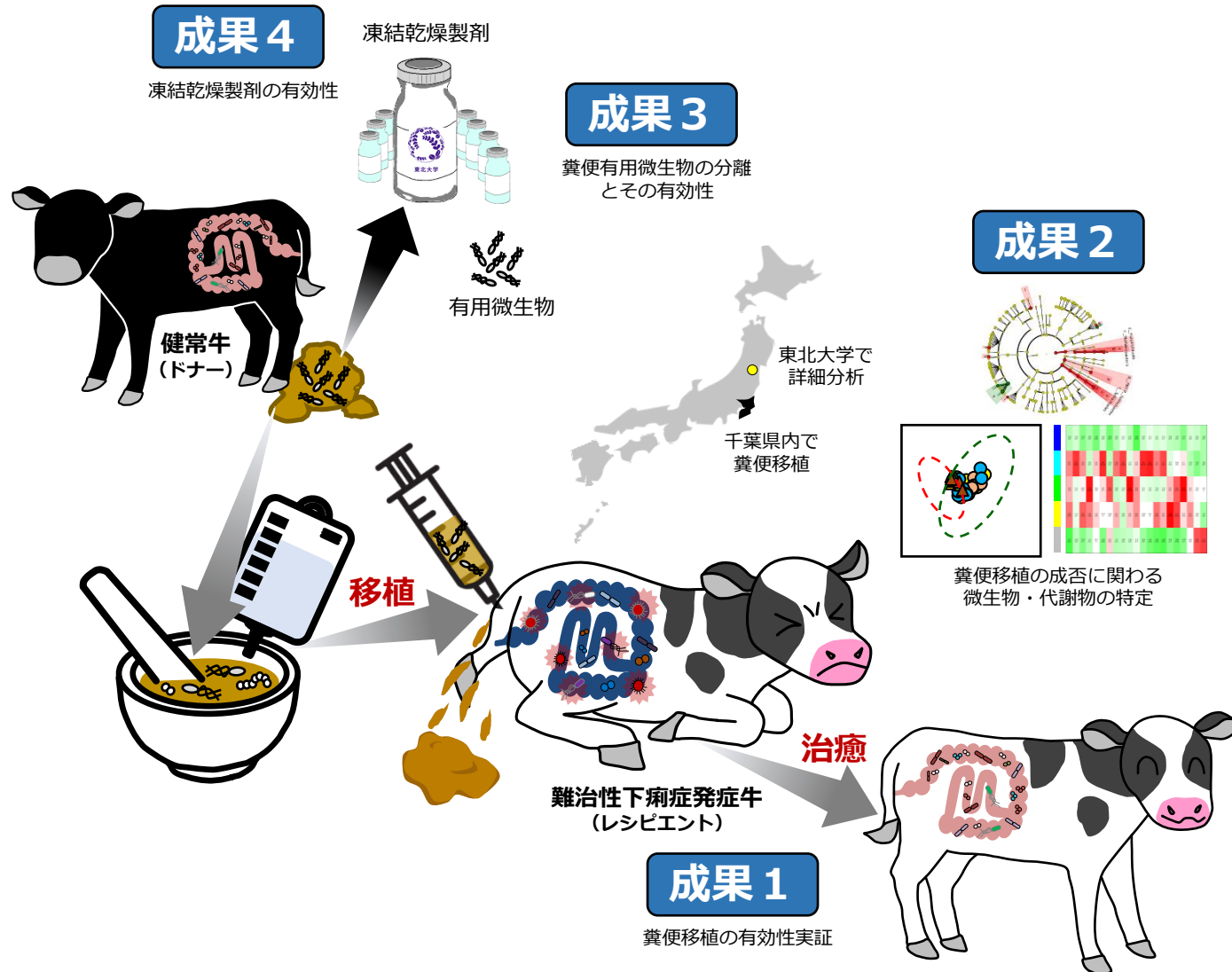
Details of their research were published in the journal Microbiome on February 21, 2022.

Nochi states the project stemmed from the need to make FMT a more routine veterinary practice to improve the microbial community of calves suffering from infectious diseases. "Veterinarians have struggled to cure calves suffering from intractable diarrhea and often resort to giving animals further inappropriate antibiotics."

Archives

- > 2014年
- > 2015年
- > 2016年
- > 2017年
- > 2018年
- > 2019年
- > 2020年
- > 2021年
- > 2022年

子牛の下痢症制御を目的とした糞便移植の有効性と将来性



糞便移植の本格普及による子牛の下痢症制御

東北大学、北海道農業共済組合連合会、千葉県農業共済組合、沖縄県農業共済組合

