

総説

子牛の難治性下痢症に対する糞便移植の有用性とその作用機序解明

Jahidul Islam¹ 谷水優江² 清水 優² 五島可祥² 大谷夏輝²
杉山顕太郎² 館崎恵理子² 佐藤茉純² 牧野英司² 島田 亘²
上田千世² 古川陸実¹ 田中秀和² 野地智法¹

¹ 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

² 千葉県農業共済組合

【要約】

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されている。本研究では、難治性に至った下痢症を発症するレシピエント牛に対し、健康な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た。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、ドナーとレシピエントの糞便を用いた細菌叢解析（メタゲノム解析）および代謝物解析（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た。

キーワード：子牛下痢症、糞便移植、腸内細菌叢、メタゲノム解析、メタボローム解析

はじめに

腸内細菌叢を正常化することを目的とし、健康なドナー由来の糞便を疾患患者に移植する糞便移植（Fecal Microbiota Transplantation: FMT）は、腸内微生物環境の攪乱を伴う様々な疾患に対する有望な治療法として医学領域で期待されている [1, 2]。事実、再発性 *Clostridioides difficile* による感染症は、FMT を行うことで、高い成功率で治療可能であり [3, 4]、また、FMT は炎症性腸疾患に対する治療法としても期待されている [5]。最近では、子牛の多因性下痢症に対する FMT の有効性も確認されているが [6]、腸内細菌叢は、子牛の日齢や飼養管理に大きく依存することから、レシピエントに対し、ドナーを適切に選択する方法の確立が望まれる。

子牛の下痢症

子牛の下痢症は、高い罹患率と死亡率により、日本のみならず世界の畜産業に甚大な経済損失をもたらしている [7]。感染性の下痢症は、主として、ウイルス（例：ロタウイルス、コロナウイルス）、細菌（例：腸管毒素原性大腸菌、サルモネラ、クロストリジウム パーフリンジェンス）、原虫（例：クリプトスポリジウム、コクシジウム）、あるいは、これらの複合感染によって引き起こされる [8, 9]。一方で、これらの微生物は、時に、健康な子牛の糞便中からも検出され、それらが必ずしも下痢症の発生に関与していないことも少なくはない [10]。したがって、子牛の下痢症治療を目的とした薬剤選択の際には、臨床獣医師による慎重かつ適切な判断が必要であり、不適切な抗菌剤使用がもたらす薬剤耐性菌の出現のリスクを十分考慮する必要がある [11, 12]。

受理：2022年5月4日

子牛の下痢症に対する 糞便移植 (FMT) の有効性

本研究では、難治性下痢症に対する新たな治療法として、FMT の有効性について評価した (図 1 参照)。具体的には、難治性下痢症発症牛 (20 頭) に対し糞便移植を千葉県内で実施し、その有効性を臨床評価および、16S rRNA 遺伝子を標的とした糞便メタゲノム解析、さらには、CE-TOFMS を用いた糞便メタボローム解析により検証した。その結果、20 回の試験のうち 14 回 (70%) で下痢症状が大幅に改善され、難治性下痢症に対する糞便移植の優れた有効性が臨床的に実証された。糞便移植の有効区 (70%) と無効区 (30%) を比較した詳細解析から、FMT 治療の有効群においてドナーからレシピエントへの移植による適合性を示す微生物属として、*Selenomonas* が同定された。また、メタゲノム及びメタボローム解析間の相関の有無を検討するためのプロクラステス解析により、FMT の有効群では、2 つの解析結果間に強い正の相関が認められた。また、千葉県内で飼育されている計 158 頭の健康牛および下痢症発症牛より糞便をさらに採材し、機械学習によ

る FMT の最適ドナーを選択するための基準の確立を試みたところ、*Sporobacter* が糞便移植を成功に導く可能性を有した微生物属として特定された。加えて、メタボローム解析から、ドナーおよび FMT 実施前のレシピエントの糞便中の特定の代謝物 (例: glycerol 3-phosphate, dihydroxyacetone phosphate and isoamylamine) の濃度が低値であることが、FMT の有効性を期待する上で重要であることが示された。以上の通り、FMT の成否に関わる微生物および代謝物の探索を可能にした本研究を通して、子牛の難治性下痢症を治療することを目的とした FMT を獣医療として技術開発する上で必要とされる要素が見出された [13]。

まとめ

本研究を通して、子牛の下痢症に対する治療法としての FMT の有効性とその作用機序が示された。優良ドナー由来の糞便を用いた FMT は非常に有効である一方で、その安全性を事前に正しく検証することは、FMT による予期せぬ感染事故を防ぐ上で欠かせない。また、現段階では、下痢症治療を目的とした獣医療として

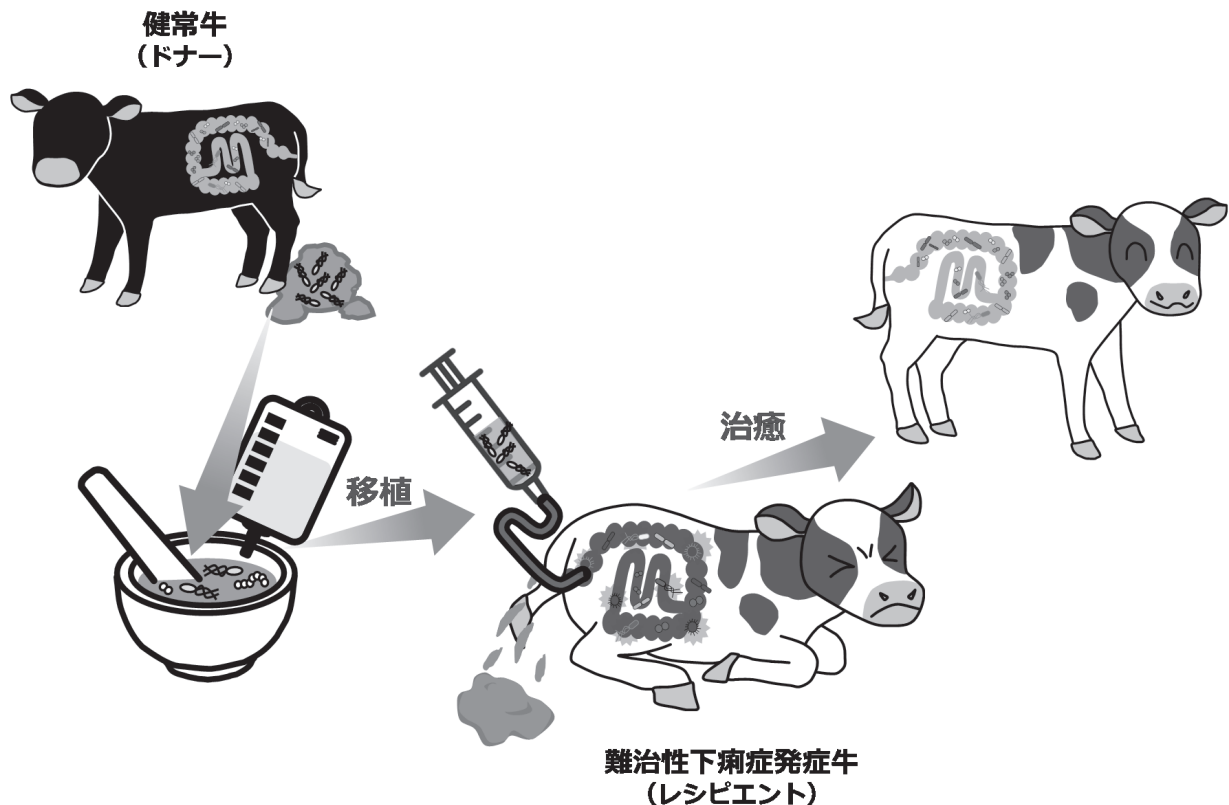


図1 難治性下痢症発症牛 (レシピエント) に対する健康牛 (ドナー) 由来の糞便を用いた糞便移植技術

FMT が認定されているものでもなく、実験レベルでその有効性が実証されている段階であることを認識する必要がある。今後、FMT の有効性に関わる優良ドナー由来の微生物（もしくは代謝物）が製剤として開発され、その安全性が保証されることで、FMT が獣医療として日本全土に普及することを期待したい。

謝辞

本研究は JRA 畜産振興事業「子牛への糞便移植の技術基盤形成と疾病制御事業」の支援を受けて実施したものである。

参考文献

- [1] Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:508-16.
- [2] Zhang F, Cui B, He X, Nie Y, Wu K, Fan D, FMT-standardization Study Group. Microbiota transplantation: concept, methodology and strategy for its modernization. *Protein Cell*. 2018;9:462-73.
- [3] Gomez DE, Arroyo LG, Costa MC, Viel L, Weese JS. Characterization of the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic dairy calves. *J Vet Intern Med*. 2017;31:928-39.
- [4] Li SS, Zhu A, Benes V, Costea PI, Hercog R, Hildebrand F, et al. Durable coexistence of donor and recipient strains after fecal microbiota transplantation. *Science*. 2016;352:586-9.
- [5] Xiao Y, Angulo MT, Lao S, Weiss ST, Liu YY. An ecological framework to understand the efficacy of fecal microbiota transplantation. *Nat Commun*. 2020;11:3329.
- [6] Kim HS, Whon TW, Sung H, Jeong YS, Jung ES, Shin NR, et al. Longitudinal evaluation of fecal microbiota transplantation for ameliorating calf diarrhea and improving growth performance. *Nat Commun*. 2021;12:161.
- [7] Huang MZ, Cui DA, Wu XH, Hui W, Yan ZT, Ding XZ, Wang SY. Serum metabolomics revealed the differential metabolic pathway in calves with severe clinical diarrhea symptoms. *Animals (Basel)*. 2020; doi: 10.3390/ani10050769.
- [8] Cho YI, Yoon KJ. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci*. 2014;15:1-17.
- [9] Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2009;25:13-36.
- [10] Meganck V, Hoflack G, Opsomer G. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Vet Scand*. 2014;56:75.
- [11] Constable PD. Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2009;25:101-20.
- [12] Hu J, Ma L, Nie Y, Chen J, Zheng W, Wang X, et al. A microbiota-derived bacteriocin targets the host to confer diarrhea resistance in early-weaned piglets. *Cell Host Microbe*. 2018;24:817-832.
- [13] Islam J, Tanimizu M, Shimizu Y, Goto Y, Ohtani N, Sugiyama K, et al. Development of a rational framework for the therapeutic efficacy of fecal microbiota transplantation for calf diarrhea treatment. *Microbiome*. 2022;10:831.

The usefulness of fecal transplantation for refractory diarrhea in calves and its mechanism of action

Jahidul Islam¹ Masae Tanimizu² Yu Shimizu² Yoshiaki Goto² Natsuki Ohtani²
Kentaro Sugiyama² Eriko Tatezaki² Masumi Sato² Eiji Makino² Toru Shimada²
Chise Ueda² Mutsumi Furukawa¹ Hidekazu Tanaka² Tomonori Nochi¹

¹International Education and Research Center for Food and Agricultural Immunology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Miyagi 980-8572, Japan

²Chiba Prefectural Federation of Agricultural Mutual Aid Association, Chiba 260-0031, Japan

[Abstract]

Recent studies have revealed that microorganisms cohabiting in the gastrointestinal tract play an important role in maintaining the health of individuals. In this study, we demonstrated that transplantation of feces from healthy donor calves into recipient calves with intractable diarrhea was effective in curing the symptoms. In addition, we also confirmed that the mechanism by which fecal microbiota transplantation was effective in treating diarrhea in calves by metagenomic and metabolic analyses using feces collected from donors and recipients.

Keywords: Calf diarrhea, fecal microbiota transplantation, microbiome, metagenomics analysis, metabolomics analysis