

まえがき

2019年10月現在で文献検索ツール PubMed を用い、ルーメン研究の国際的な潮流を調べると興味深い傾向がみられる。キーワード“rumen”で検索すると16,569編の文献がヒットするが、“rumen AND nutrition”や“rumen AND digestibility”で探すと各々2,447 および2,318編にすぎない。一方、“rumen AND bacteria”に変えると6,142編と数値が跳ね上がる。つまりルーメン研究の論文のうち、栄養や消化に関するものは14~15%にすぎず、細菌に関するもの(37%)とくらべかなり少なくなる。この傾向は21世紀に入ってからより顕著であり、ルーメン細菌研究が近年いかに活性高く推移しているかがわかる。これは以下に記すように日本のルーメン研究にもあてはまる。そこには研究手法の発展があり、その応用を早期に取り入れ活用をはかった経緯がある。この歴史の中ではルーメン研究にかかわる者たちの先見性、尽力、成果、議論や連携があった。

ルーメン研究会の前身である同好会的なルーメン研究談話会は1974年に創設された。会長・神立誠先生(東大)、副会長・須藤恒二先生(家衛試)のもと、星野貞夫(三重大)、小野寺良次(宮崎大)、湊一(家衛試)、板橋久雄(畜試)の4氏が中心となり、日野常男(東大)、中村和夫(宇都宮大)氏、そのほかの著名な第一線の研究者10数名に支えられながら、研究会は運営されていた。年に1~2回、毎回数題の研究発表に対して深い議論を交わす集まりであった。10年近い知識の蓄積の後、それらは1985年に「ルーメンの世界」(神立・須藤監修)として上梓され、多くの研究者や学生から好評を博した。2004年にはその改訂版である「新ルーメンの世界」(小野寺監修・板橋編)が刊行された。80年代以降、ルーメン研究にも分子生物学的手法が導入され、前著にはなかった情報が散りばめられた学術書かつ教科書であり、多くの読者を集めた。

これらと並行して、従来の研究会は、1990年に公式に「ルーメン研究会」(神立会長)として再発足し、毎年2回(春のシンポジウム、秋の一般発表会)の集会をベースに活発な活動を続け、現会長は小林泰男北大教授となり、今に至っている。すでに集会は54回を数え、活動内容はルーメン研究会報として年2回発行されている。会の特筆すべき活動として、国際学会の企画

がある。1997年以降、日韓ルーメンシンポジウムを隔年で交互開催し、2006年以降は中国もこれに加わり、2019年までに計11回のシンポジウムをもち、最新情報の交換と若手研究者の育成に貢献してきた。毎回4~6名の欧米の著名研究者を招き、最高レベルの講演にふれるとともに、日韓中の学生による口頭発表の審査を通し、プレゼンテーション技術ばかりでなく研究のモチベーション向上に資する機会となっている。

「新ルーメンの世界」以降、分子解析の進歩は予想のはるか上をいくスピードで進展し、ルーメン研究、とりわけルーメン微生物学研究は、15年前からは想像もつかない域にまで範囲も深度も拡大している。微生物種の同定、生態系の解析、数はもちろんのこと活性の評価などに加え、それらの基盤となっている情報処理ツールも格段の進歩を遂げている。研究資金さえあれば、外注でルーメン生態系を構成する微生物種の特定は可能で、共通のウェブサイトを利用してそれらの情報の統計的解析や結果の図示まで可能である。極端に言えば、研究資金の多寡で論文投稿数に違いも生まれ得る時代になった。ただし、研究課題の選定いかんで、研究成果の世界的評価が定まるのはいつの時代も同じなので、ルーメン研究において、時代に即したもしくは次代に來るニーズを踏まえ課題設定をすること、課題に取り組む際の発想の柔軟性をもつこと、実行力と連携力をもつこと、などが重要である。とくに連携力は研究領域が細分化されている現在は、とくに共有すべき点と思われる。

この意味において、研究会の活動は国境を越えてたいへん意義深い。またルーメンもルーメン微生物も生き物であるため、分子情報のみにとらわれず、飼養試験や培養試験から得る情報を重視するのが重要である。ルーメン微生物にいたっては、いまだに分離培養可能なものはひと握りである。

「新ルーメンの世界」出版から17年経過し、この間のルーメン研究の成果をまとめあげるとともに、今後の研究の方向性をも提示する本書「ルーメンの科学」は、国内のルーメン研究のフロントランナーによる共著としてお届けする学術書・教科書である、国内の研究者、技術者、そして多くの若手学徒に利用されることを期待している。

2023年2月10日
北海道大学大学院教授 小林泰男

発刊によせて

わが国では、古く飛鳥時代から仏教の影響で肉食の習慣がなく、家畜は主として農耕のための労役およびその糞尿は肥料として使われていた。明治時代に入ってから文明開化によって肉が食されるようになり、昭和30年以降の高度経済成長とともに畜産物への需要が高まり集約的畜産経営が増加して、今日にいたっている。

養豚と養鶏では配合飼料を使用しているが、養牛での飼料は人間の食料と競合しない牧草などの粗飼料と配合飼料の混合である。家畜生産経営では、飼料費の占める割合が大きいことから、家畜による飼料の効率的利用技術の開発が重要である。

反芻家畜のルーメン内では真正細菌、古細菌、プロトゾア、真菌、バクテリアオブアージュが共存し、それぞれの機能を発揮しながら相互作用の認められるルーメン微生物生態系が成立している。さらには、ルーメンは家畜の摂取した飼料を微生物群の分解・発酵作用によって家畜の主要なエネルギー源となる短鎖脂肪酸にまで転換しつつ、飼料成分を栄養価の高い微生物タンパク質に変換している連続発酵槽である。このように家畜の摂取する飼料はルーメン微生物群の増殖のための栄養源としての意義があることから、優れた飼養技術の開発のためにはルーメン微生物相についての知見が重要である。

反芻家畜の消化、代謝、栄養に関する研究、いわゆるルミノロジーの研究は第一次世界大戦中に英国や米国で開始されている。わが国では、第二次世界大戦後に北海道大学、東北大学、東京大学、農林省畜産試験場・家畜衛生試験場などで開始された。その成果は「乳牛の科学」(梅津元昌編, 1966)にまとめられている。

その後、1974年にルーメン内での物質変換を微生物学的・生化学的に捉えようとする若手研究者有志がルーメン研究談話会を発足させた。会員が中心となり「乳牛の科学」以降の内外の研究業績を「ルーメンの世界」(神立誠・須藤恒二監修, 1985)にまとめている。その改訂版が「新ルーメンの世界」(小野寺良次監修・板橋久雄編, 2004)である。

本書では、分子生物学的手法を導入することにより、2004年以降に飛躍的な

進歩を遂げたルーメン研究の成果を見事にまとめて紹介している。すなわち、ルーメン細菌の分類は「新ルーメンの世界」では形態と生理生化学的特性を基に整理されていたが、本書では細菌に特異的な遺伝子である 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を用いての系統解析情報に基づいて整理されていることで注目される。さらには、次世代シーケンサーと強力なコンピューターの利用によるアンプリコン解析は、各種微生物生態系での培養不可能な菌を含めた細菌叢の科または属レベルでの構成の解明を可能にしている。ルーメン内でも総細菌数のうちの約 85% が培養されていないが、この手法を用いたルーメン微生物生態系での細菌叢の解析に関する研究についても紹介されている。しかし、分子生物学的手法がいかに進歩しても、細菌群のもつ代謝活性や微生物間の相互作用の研究などには、細菌を分離・培養することが重要と思われる。なお、ルーメン微生物生態系で繊維分解を協調的におこなう細菌集団である繊維分解コンソーシアムについての研究が紹介されているが、生態学的観点から興味深いものである。

さらには、本書では、自然の摂理や牛本来の生理から見れば自然な飼育方法である放牧についても記述されている。また、持続的な養牛業の発展のために、温室効果ガスであるメタンの反芻家畜からの排出抑制技術の開発が求められているが、そのための研究の現状についても紹介されている。

前ルーメン研究会会長である板橋久雄博士の監修のもとに、現会長の北海道大学・小林泰男教授の編集で、書名を「ルーメンの科学」に変えて刊行されたことは喜ばしい。本書を畜産学、農学、微生物学を専攻する学生および研究者、ならびに畜産業にかかわる人々に推薦したい。

2023 年 2 月 10 日

元茨城大学教授 湊 一

執筆者一覽

監修者 板橋久雄 (東京農工大学名誉教授)

編者 小林泰男 (北海道大学大学院)

執筆者 (執筆順)

小池 聡 (北海道大学大学院)

鈴木 裕 (北海道大学大学院)

真貝拓三 (農研機構畜産研究部門)

竹中昭雄 (日本科学飼料協会)

松井宏樹 (三重大学大学院)

上野 豊 (信州大学)

田島 清 (農研機構畜産研究部門)

浅沼成人 (明治大学)

西田武弘 (帯広畜産大学大学院)

花田正明 (帯広畜産大学大学院)

小櫃剛人 (広島大学大学院)

梶川 博 (日本大学)

佐藤 幹 (東北大学大学院)

松井 徹 (京都大学大学院)

盧 尚建 (東北大学大学院)

大谷喜永 (明治飼糧 (株) 研究所)

大坂郁夫 (道総研酪農試験場)

後藤貴文 (鹿児島大学大学院)

三森真琴 (農研機構畜産研究部門)

目 次

まえがき.....	i
発刊によせて.....	iii
執筆者一覧.....	v

第1章 序論 ルーメンと反芻家畜.....	1
1. ルミノロジーの起源と系譜..... (小林泰男・板橋久雄)	1
2. 近年のルミノロジーの進展とその特徴.....	2
3. 組換えルーメン細菌研究の推移とその後.....	4
4. 乳肉生産とSDGs.....	6
5. ゴールへむけての期待.....	7
参考文献.....	9

第2章 ルーメンと微生物の生態・発達.....	10
1. ルーメンの機能と発達..... (小池 聡・鈴木 裕)	10
(1) ルーメンの構造と機能.....	10
(2) ルーメンの環境.....	18
(3) ルーメンの発達.....	21
2. 真正細菌・古細菌..... (真貝拓三)	28
(1) 微生物相の定義.....	28
(2) 機能的・生態的特徴.....	29
(3) 分類方法と問題点.....	33
(4) ルーメン細菌の種類.....	35
(5) 細菌：系統分類毎の機能・生態.....	37
(6) 単離・培養化.....	60
(7) ルーメンへの定着と群集構造の変化.....	61
(8) ルーメン細菌群集構造に影響する因子.....	61
(9) ルーメン内に流入する細菌に対するバリア機能.....	63
(10) ルーメン古細菌の機能的・生態的特徴.....	64

(11) 古細菌：系統分類毎の機能・生態.....	67
(12) 造語の成り立ちと用法	70
3. プロトゾア・真菌.....	72
(1) プロトゾアの生態と機能..... (竹中昭雄・板橋久雄)	72
(2) 真菌の生態と機能..... (松井宏樹)	82
4. 微生物群集解析方法の発展とルーメン細菌叢の生態 (上野 豊・田島 清)	92
(1) 初期のルーメン微生物分子生物学的解析.....	92
(2) ルーメン微生物群集解析法の発展と細菌叢の生態.....	95
(3) メタン生成古細菌の生態.....	98
(4) 幼反芻動物における消化管微生物群集.....	99
(5) 微生物生態解明にむけたオミクス技術の利用.....	102
5. ルーメン微生物の代謝調節.....	104
(1) ルーメン微生物の発酵調節..... (浅沼成人・小池 聡)	104
(2) ルーメンでのメタン生成とその調節..... (真貝拓三)	122
6. 野生動物にみるルーメン機能..... (小林泰男)	126
(1) 野生反芻動物研究の意義.....	126
(2) 野生反芻動物による食餌適応.....	126
(3) ワンヘルス	133
(4) 展望.....	133
参考文献.....	134
 第3章 反芻家畜の栄養生理特性とその制御.....	145
1. エネルギー代謝.....	145
(1) マクロのエネルギー代謝..... (西田武弘)	145
(2) ミクロのエネルギー代謝..... (浅沼成人)	151
2. 炭水化物の代謝..... (花田正明)	158
(1) 炭水化物の種類.....	158
(2) 消化と吸収	161
(3) 吸収後の代謝.....	166

3. タンパク質・アミノ酸の代謝.....	174
(1) 反芻家畜のN代謝の概要..... (小櫃剛人)	174
(2) N化合物の消化・微生物合成.....	175
①飼料によるN化合物の種類と特徴.....	175
②ルーメン内におけるN化合物の分解..... (梶川 博)	176
③ルーメン微生物によるタンパク質合成.....	180
④ルーメンにおけるタンパク質の分解と合成の制御.....	186
(3) N化合物の吸収と代謝の動態..... (小櫃剛人)	196
4. 脂質・機能性成分の代謝..... (佐藤 幹)	205
(1) 反芻動物における飼料中の脂質.....	205
(2) ルーメン発酵と脂質.....	209
(3) ルーメン微生物と脂質.....	210
(4) 機能性脂質成分.....	215
(5) 生産物における機能性脂質の増加.....	221
5. 無機元素・ビタミンの代謝..... (松井 徹)	222
(1) 無機元素.....	222
(2) ビタミン.....	233
6. 内分泌機能と制御..... (盧 尚建・鈴木 裕)	243
(1) 視床下部と下垂体の内分泌.....	244
(2) 内分泌腺以外の器官からの内分泌.....	249
参考文献.....	254
 第4章 生産, 健康, 環境調和への対応.....	265
1. ルーメン機能開発による飼養技術の向上..... (大谷喜永)	265
(1) 反芻家畜における飼料の分類.....	265
(2) 反芻家畜における飼料の価値とその評価.....	266
(3) 健全かつ効率的な生産に寄与する機能性飼料.....	270
(4) 酸化ストレスを改善する飼料給与技術.....	274
2. これからの放牧酪農..... (大坂郁夫)	275
(1) 放牧の定義と特徴.....	275

(2) 放牧方法.....	276
(3) 放牧酪農の飼養管理.....	277
(4) 放牧酪農の多様化.....	283
3. 放牧による牛肉生産の新たなポテンシャル..... (後藤貴文)	284
(1) 反芻家畜による食料生産の課題.....	284
(2) DOHaD 仮説.....	285
(3) エピジェネティクスと代謝プログラミング.....	286
4. ルーメン代謝障害と生体反応.....	292
(1) ルーメン発酵の恒常性..... (三森真琴)	293
(2) ルーメン内 pH の変動要因.....	294
(3) ルーメン微生物相のディスバイオシスと生体反応.....	297
(4) 鼓脹症にみるルーメンの変調..... (小林泰男)	299
5. 温室効果ガスと環境汚染物質の低減..... (真貝拓三)	302
(1) 反芻家畜生産で生じる産業廃棄物.....	302
(2) ルーメン由来メタン低減の重要性.....	303
(3) ルーメンでのメタン産生と低減の論理.....	304
(4) メタン低減にむけた各種の方法..... (小林泰男)	306
(5) そのほかの環境汚染物質とその低減.....	312
(6) 展望.....	313
参考文献.....	315
索引.....	321

の補充に用いられたとされている。米国でも食糧増産のためのルーメン研究が広範におこなわれていた。

戦後、反芻動物の生産性を高めるには、ルーメンの機能と動物の体内代謝を関連付けて研究する必要性が強まり、これを学ぶ学問としてルミノロジー (Ruminology) という言葉が J. C. Shaw (1957) により提唱された。わが国では東北大の梅津元昌教授により「ルーメンの機能を中心とし、それにより派生する消化、代謝および栄養の生理を研究する」のがルミノロジーとされ、以後積極的に研究が展開され始めた。これが日本のルミノロジーの起源である。梅津教授 (家畜生理学) に加え、北大の広瀬可恒教授 (家畜飼養学)、東北大の植村定治郎教授 (応用微生物学)、東大の神立誠教授 (栄養化学)、京大の上坂章次教授 (家畜栄養学) を中心にルミノロジーは大きく進展し、記念碑的な「乳牛の科学」(1966) としてまとめられた。その後のわが国における研究の系譜は、「ルーメンの世界」(神立誠・須藤恒二監修, 1985), 「新乳牛の科学」(津田恒之監修・柴田章夫編, 1987), 「反芻動物の栄養生理学」(佐々木康之監修・小原嘉昭編, 1998), 「新ルーメンの世界」(小野寺良次監修・板橋久雄編, 2004) などの代表的な書籍に記されたとおりである。

2. 近年のルミノロジーの進展とその特徴

反芻動物におけるルーメン微生物群、体細胞組織あるいは動物個体を扱うほとんどのルミノロジーにおいて、従来の栄養生理学的手法に、強力な分子解析手法が加わり、膨大な生物情報が得られるようになった。網羅的なこれらのデータは新知見の宝庫であるが、新しい機能や法則性を見出すには効果的なデータ処理とその可視化が必要であり、それらを可能とするバイオインフォマティクスが近年飛躍的に発達した。多くはインターネット上で利用可能であり、日進月歩で改良・先鋭化している状況である。それにともなって学術誌の論文内容やその提示方法も大きく変わってきている。科学に「流行」はつきもので、新しいものがこれまでにない知見や切り口を提供するのであれば利用するのが好ましい。よって研究者は「流行」に鋭敏であり続ける必要がある。

一例としてトランスクリプトーム解析をあげる。高活性の代謝系を一網打

2. 近年のルミノロジーの進展とその特徴

尽で俯瞰できる本手法は、対象生物がそこで何をしているかといった、挙動を知るための強力なツールである。対象生物のゲノム情報をもとに諸遺伝子の RNA 発現量を解析することで、ある環境や細胞においてどの遺伝子や代謝系が活性化しているかを知ることができる。ひと昔前はマイクロアレイ解析が主流であったが、現在は次世代シーケンサーを使った本法が一般的になっている。ただし、ゲノム未解読微生物を含む環境サンプルを対象に扱う（つまりメタトランスクリプトーム解析）には、環境サンプル中の複数の微生物のゲノムを同時に解読し、取得したメタゲノムデータを参照として解析をおこなうなどの工夫が必要である。

ゲノム (DNA)、転写物 (RNA)、翻訳物 (タンパク質) のオミクス解析に加えて、各種代謝物のそれ (メタボロミクス) を取り入れ、生物のなりわいを事象間で関連づけ、総合的に理解しようとするアプローチが盛んになってきている。メタボロミクスのルーメンへの適用事例もいくつかあり、ルーメン内代謝物の網羅的な同定と代謝物による宿主への影響に対する検討も始まっている。

ルーメン研究のトピックスについても特徴がみられる。ルーメンアシドーシスは古くからの代表的な代謝障害であるが発症は依然として多発し、各種の疾病の要因となっているので研究が集中している。メタン発生のメカニズムと制御については、地球温暖化防止の高まりから近年の発表論文数の増加が著しい。共役リノール酸 (CLA) は抗がんや抗動脈硬化などの生理作用をもつ有用な機能性成分でルーメンでも生成されることから 90 年代に注目され、高い関心は今も続いている。

特筆すべきなのが、アシドーシス研究の過程で開発されたルーメンセンサーである。濃厚飼料多給により pH が 5.5 以下に低下すると正常な微生物相が乱れ、ルーメンの恒常性が破綻し、周産期疾病ばかりでなく、繁殖障害や蹄病などの主要な要因になる。よってルーメン pH の管理がきわめて重要であるが、ルーメン内 pH のリアルタイム測定は困難なためにその変化の実態については不明な点が多かった。常時計測を可能にしたのが、超小型の pH センサーであり、これをルーメン内に投入し、生体外で測定データを受信するシステムの開発に岩手大・佐藤繁教授らが成功した。メーカーの協力を得て

ルーメン内留置型・無線伝送式 pH メータと受信ユニットからなる pH 監視システムを確立した。これにより、飼料給与にともなうルーメン内の pH と温度の正確な連続測定が可能となり、pH は牛の個体によりかなり変動すること、ルーメンの部位によって pH はやや異なることなどが明らかとなった。このシステムの性能については、兵庫県淡路農業技術センターなどにより評価が進み、実用化が図られている。さらに帯広畜大の西田武弘教授らは、同システムを用い、濃厚飼料の摂取にともないルーメン pH が 5.5 以下に低下すると乾物摂取量が減少することなどを明らかにした。今後、このようなシステムが現場に普及し pH 変動に関する情報が蓄積されれば、酪農先進国で問題となっている亜急性ルーメンアシドーシス (SARA) の発生を防止しながら高い生産性をあげられる飼料給与技術の開発につながるものと期待される。

3. 組換えルーメン細菌研究の推移とその後

前書「新ルーメンの世界」の緒論において監修者・小野寺良次先生は、ルーメン研究への期待として、組換え体の開発をあげられている。また、その第二章では、ルーメン微生物の遺伝子組換え研究について項がさかれ、組換え研究の目的、実際の進捗と展望などが解説されている (大宮, 2004)。80 年代で語られた夢の実現にむけた研究が、遺伝子導入ツール (宿主ベクター系など) の開発とともにあること、組換え体のルーメンへの再導入・定着が困難なことなど、新しいゆえに多大な苦勞とそれに基づいて得られた成果がまとめられている。

組換え体を活用できるようになった際の展望として、1) 繊維消化の向上、2) 必須アミノ酸の生成、3) 負因子の抑制などが当時あげられていた。たとえば、1) ルーメン内で占有率が高く、比較的低 pH 耐性のある細菌種 *Prevotella ruminicola* や *Butyrivibrio fibrisolvens* に繊維分解酵素遺伝子 (*Ruminococcus* や土壌菌由来のもの) を導入発現させ、ルーメン内での組換え体の持続的で量的な確保を想定したうえで、ルーメンの繊維消化率の向上を期待する、2) 必須アミノ酸をコードする人工遺伝子を、同じくルーメン内占有率の高い細菌種に導入し、当該アミノ酸を生成させることで宿主家畜のアミノ酸栄養に貢献する、3) 野草に含まれる毒素を分解する酵素遺伝子をルーメン菌に導入し酵素を発