

## ブタ腸管マイクロバイオーーム研究から考える ブタの抗菌性成長促進剤（AGP）代替法の開発

大坪和香子\*・北澤 春樹

東北大学大学院農学研究科  
仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1 〒980-0845  
TEL, 022-757-4375; E-mail, wakako.ohtsubo@tohoku.ac.jp

### Recent progress in understanding swine microbiome and its application to development of alternatives to antimicrobial growth promoters (AGP)

Wakako Ikeda-Ohtsubo, Haruki Kitazawa

Laboratory of Animal Products Chemistry, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University  
468-1 Aramaki Aza Aoba, Aobaku, Sendai, 980-0845, Japan

2018年3月8日受付, 2018年5月1日受理

#### 1. 抗菌剤代替法開発の重要性

畜産現場における抗菌剤多用による薬剤耐性を獲得した微生物の蔓延は、既存の抗菌剤が効かない家畜感染症の発生や医療現場における耐性菌の増加と関連していることが強く示唆されている (Marshall と Levy, 2011; 井原ら, 2016)。2015年の世界保健機関 (WHO) 総会において、薬剤耐性菌問題に関する具体的な行動計画が各国に要請され、一般社会、医療、動物飼育管理、農林水産業、環境保全などの各分野が一体的に対策に取り組む「ワン・ヘルス・アプローチ」の概念が、日本国内でも強化・推進されることとなった (薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会, 厚生労働省, 2017)。また、2016年5月に実施されたG7伊勢志摩サミットでは、首脳宣言附属文書「国際保健のためのG7伊勢志摩ビジョン」に

おいてG7各国が薬剤耐性菌対策の強化に取り組むことが掲げられた。これに対応する国内の対策として、各分野における抗菌剤使用状況や耐性菌出現動向のモニタリング調査によるリスク管理、抗菌剤の慎重使用・適正使用の普及啓発が積極化した他、抗菌性成長促進剤 (Antibiotic Growth Promoters, AGP) の使用停止措置の拡大が進みつつある。家畜飼料へAGPとして添加される抗菌剤投与量は病原菌に対する最小阻止濃度 (MIC) 以下の低濃度であるが、この低濃度の抗菌剤 (low-dose antibiotics) の存在下において、環境細菌による薬剤耐性遺伝子獲得プロセスが促進され、耐性菌の出現頻度や生存率を上昇させる、というエビデンスが多数報告されている (Andersson と Hughes, 2014)。このため、146カ国の中で先進国を主とする約6割の国がAGPの使用を禁止しており (国際獣疫事務局, 2017)、日本では全面的な禁止には至らないものの、昨年度は農林水産省が硫酸コリスチン・バージニアマイシンおよびデコキネート各製剤の飼料添加物としての使用を禁止する (2018年7月施行予定) ことを決定するなど (農林水産省, 2017)、大きな動きが出ている。臨床分野において多剤

\* 連絡者: 大坪和香子 (おおつば わかこ)  
(東北大学大学院農学研究科)  
〒980-0845 仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1  
Tel: 022-757-4375  
E-mail, wakako.ohtsubo@tohoku.ac.jp

耐性菌感染症に対する最終救済薬と言われるコリスチンは、既にその耐性遺伝子 *mcr-1* が国内の家畜（Kusumotoら, 2016）や食肉（Ohsakiら, 2017）、そして臨床分離菌株（Tadaら, 2017）からも見出されており、コリスチン耐性菌による感染症リスク拡大が懸念されている（長野と長野, 2017）。1991年から2014年の間に国内のブタから単離されたブタ病原性大腸菌のコリスチン耐性を網羅的に解析した楠本らの研究によると（Kusumotoら, 2016）、*mcr-1* 耐性株は2007年に単離された菌株に最初に見出され、2009年以降に急激にその頻度が上昇し、2013年から2014年の間に単離された菌株は50%の割合でコリスチン耐性を獲得している。また、最近の報告では、国内の離乳後下痢症に罹患したブタから新規のコリスチン耐性遺伝子 *mcr-3* や *mcr-5* が見出されている（Fukudaら, 2018）。コリスチンに限らず、AGPとして使用されている各種抗菌剤に対する耐性菌が既に畜産現場に出現・蔓延している可能性は非常に高い。今後、国際的動向に従い国内におけるAGPの使用が段階的に全面禁止の方向へ向かうことが予想され、AGPが完全に使用できなくなった場合を想定し、AGPの代替法の提案とその利用拡大や代替薬の開発が急務である。

## 2. ブタ腸管マイクロバイオーーム研究から考えるAGPの作用機作

AGPの成長促進効果に関連すると考えられている動物の生理・栄養・代謝応答は多岐に渡るが（表1; Gaskinsら, 2002）、その効果の詳細な作用機作については未だ解明されていない。抗菌剤というAGPの特性上、腸管内の腸内細菌叢の構造や機能（腸管マイクロバイオーーム）に与える影響と、その変化に伴う宿主側の栄養条件や免疫応答が複雑に関与しているというのが一般的な考え方である（Brownら, 2017）。哺乳動物の腸管

内には約  $10^{13}$  個以上の細菌を中心とした微生物が存在し、消化管粘膜の恒常性維持、宿主の消化酵素で分解できない炭水化物の消化、病原微生物の排除など、宿主の健康や疾病予防に重要な役割をもつ。特に、母乳から固形物食に変化する離乳期では、母乳由来の免疫関連因子の消滅と栄養条件の急激な変化により、腸管マイクロバイオーームが不安定になり、病原微生物による感染リスクが高くなる。特にブタ生産では、離乳後に頻発する下痢症が生産収益性に直接的な損害を与えるため、ブタのAGP代替法には、成長促進効果だけではなく、離乳後下痢症に対する抑制効果への期待が大きい。

ブタの腸内細菌叢に存在する細菌種を明らかにする研究は、単離・培養による解析から近年の次世代シーケンサーを用いた網羅的解析にシフトしてきたが、月齢や個体による差はヒトの腸内細菌叢に比べて小さく、観察されるデータには比較的一貫性がある（IsaacsonとKim, 2012; Valerianoら, 2017）。ブタの腸内細菌叢には、ヒトなど他の哺乳動物と同様にフィルミクテス（*Firmicutes*）門とバクテロイデス（*Bacteroidetes*）門、そしてプロテオバクテリア（*Proteobacteria*）門の3細菌門が優勢化しているが（図1）、その他にも約20細菌門の存在が確認されている（Niuら, 2015）。授乳期の子ブタ腸管内では、大腸菌群（大腸菌などの腸内細菌科）を主とするプロテオバクテリア門と、バクテロイデス門に属する *Bacteroides* 属が優勢的であるのに対し、離乳後には給餌の開始に伴い、食物繊維多糖の分解に特化した *Prevotella* 属（バクテロイデス門）が優勢化し、大腸菌群や *Bacteroides* 属の割合は低下する（Freseら, 2015）。ヒト腸管において、*Bacteroides* 属はタンパク質・脂質を主とした食生活、*Prevotella* 属は炭水化物・食物繊維を主とした食生活に密接に関連していることが知られ、肥満と腸内細菌叢の相関性が議論されていることから（Wuら, 2011）、ブタ腸管内においてもこれらの細

表1. 抗菌性成長促進剤（AGP）が家畜に与える効果（Gaskinsら, 2002, Table1より引用）

生理学的効果	栄養学的効果	代謝に与える効果
栄養吸収の促進	エネルギー蓄積量の増加	肝臓タンパク質合成の促進
飼料利用率の向上	窒素蓄積量の増加 各種栄養吸収の改善	消化管アルカリフォスファターゼ値の上昇
消化時間の短縮	腸管エネルギー量の減少	アンモニア・アミン・フェノール産生量の減少
腸壁の菲薄化	ビタミン生成量の減少	胆汁酸分解活性の低下
糞含水率の低下		脂肪酸酸化の抑制 糞中脂肪量の減少 ウレアーゼ活性の低下

菌はそれぞれタンパク質や繊維の分解に関与している可能性が高い。興味深いことに、18週目のブタの飼料にAGP（ASP-250、クロルテトラサイクリン、ペニシリン及びスルファメタジン配合剤）を添加すると、腸管内の*Prevotella*属は減少し、大腸菌群が急激に増殖・優勢化することが報告されている（Looftら、2012）。このような変化がAGPによる成長促進効果に関わっているのかは不明だが、大腸菌群は宿主消化酵素分解により生じた糖質やアミノ酸を主な栄養源とするため、飼料中の繊維は腸管で分解されにくくなるなど、飼料利用効率に何らかの影響を与えることが考えられる。従って、腸内細菌の飼料成分の資化能力とAGPの成長促進効果の関連性は、今後の研究で注目すべき点であると言える。

一方、ブタ腸管における大腸菌群の優勢化には当然リスクも多い。離乳後に下痢症を発症した子ブタの腸管内では、*Prevotella*属のような繊維性多糖類の分解菌が減少し、大腸菌群の割合が高く維持されていることが報告されており、下痢症発症や炎症の悪化と高い関連性があると考えられる（Machら、2015）。また、前述した研究において、AGP添加飼料を摂取したブタ腸管における大腸菌群の優勢化と薬剤耐性遺伝子コピー数の増加・多様化が同時に観察されたことから（Looftら、2012）、腸管内の大腸菌群の優勢化は薬剤耐性リスクを増加させると考えられる。このように、腸管内における大腸菌群の存在比は、離乳後ブタの飼料利用効率や疾病抵抗性に

において重要なパラメータである。しかしながら注意すべき点は、通性嫌気性菌である大腸菌群は酸素が残存する回腸や空腸などの小腸部位で優勢化するのに対し、*Prevotella*属のような嫌氣的に繊維性多糖類を分解する偏性嫌気性菌は盲腸や大腸で優勢化することである（図1；Zhaoら、2015）。小腸内に存在する細菌数は、大腸に比べて圧倒的に少ないことから（※ヒトの場合は小腸内の細菌数が $10^4$ - $10^7$ 個、大腸内は $10^{12}$ 個程度）、糞便の細菌叢解析では、大腸の圧倒的多数の細菌叢にマスクされてしまう（図1）。すなわち小腸内における大腸菌群が劇的に増加しても、大腸の細菌叢に影響がない限り、糞便試料の解析結果にその変化が顕著に反映される可能性は低い。このため、糞便のモニタリングだけでは腸管マイクロバイオームの変化や異常を見落としてしまう危険性がある。

AGP代替法の検討においても、大腸と小腸の細菌叢を区別して解析することは重要である。最近、AGP代替法として人工甘味料を添加した飼料を与えたブタの腸内細菌叢を解析した結果、大腸粘膜の細菌叢には大きな影響が見られなかったが、小腸粘膜上の細菌叢構造が明確に変化することが報告された（Kellyら、2017）。これまでの研究において糞便試料の解析から腸管マイクロバイオームに大きな影響を与えないと報告されてきたAGPやAGP代替法についても、小腸細菌叢へ与える影響について、再検討する必要がある。小腸の常在細菌

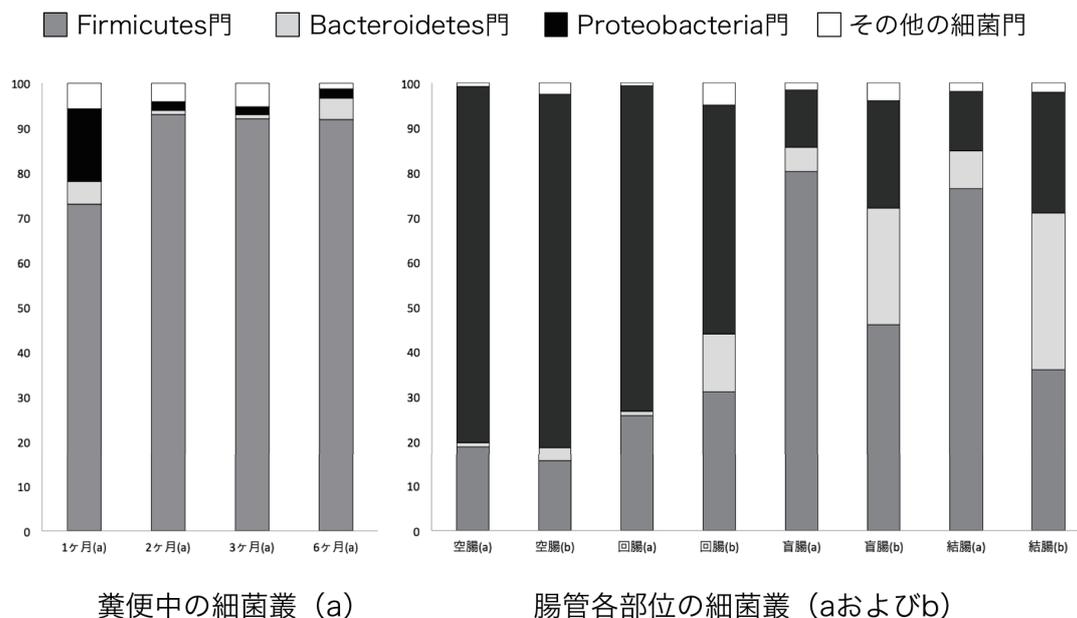


図1. 月齢1ヶ月～6ヶ月のブタ糞便中の細菌叢および月齢6ヶ月のブタの腸管各部位の細菌叢の組成。

横軸に示した試料名については、(a)のデータはZhaoら（2015）のFig.1、(b)のデータはKellyら（2017）のFig.1より引用した。縦軸は解析に用いられた全細菌の配列に対する当該細菌由来配列割合を示す。

叢についてはヒトでも研究例が限定的であり (El Aidy ら, 2015)、糞便 DNA 解析が基本となっている動物腸管マイクロバイオーム研究の死角となっている。今後 AGP 代替法の開発に限らず、ブタ小腸細菌叢の解析の重要性が高まるものと予想される。

### 3. 新規 AGP 代替法の開発に向けて

畜産分野における抗菌薬の代替法は、疾病の治療を目的に限定的に使用する手法と、AGP の代替として使用する手法に二分される。前者には、ワクチンや免疫賦活剤、ファージやその溶菌酵素 (エンドライシン)、抗菌ペプチドやプロバイオティクス等があり (Cheng ら, 2014)、これらはヒト臨床分野においても抗菌薬の代替法として疫学的検証や治験研究が精査されている手法である (Czaplewski ら, 2016)。一方、AGP 代替法については、プロバイオティクスの他、植物・微生物由来で、抗菌性、栄養価、腸内細菌増殖促進効果 (プレバイオティクス効果) が認められる比較的 low コストで使用可能なものが提案されている (表 2; Heo ら, 2013)。各手法の検討に使用したブタの月齢や添加する飼料の組成に差があるため効果を単純に比較することは難しいものの、飼料効率や離乳後下痢症予防などの効果も報告されており、乳酸菌や大腸菌を中心に、細菌叢への影響も一部調べられている (表 2)。これらの手法の中で、AGP 代替法として最も詳細に検討されているのは乳酸菌やビフィズス菌を利用したプロバイオティクスである。特にブタ腸管マイクロバイオームの主要な構成細菌である *Lactobacillus* 属乳酸菌は、分泌酵素による消化促進、生産する乳酸や抗菌物質による病原菌排除、細胞表面や細

胞外の多糖による免疫調節など、様々な有益性が知られているが、プロバイオティクスとしての投与と飼料効率に正の相関関係があることから、AGP 代替法としても大きく期待されている (Dowarah ら, 2017)。さらに、離乳直後の子ブタの小腸において急激に減少する *Lactobacillus* 属細菌をプロバイオティクスで補うことによる離乳期下痢症の抑制効果も報告されている (Gresse ら, 2017)。今日までに複数種・株の *Lactobacillus* 属細菌の AGP 代替法としての効果が検討されているが、その多くはブタの腸管以外から単離されたものである (Dowarah ら, 2017)。*Lactobacillus* 属細菌の多様性は高く、種や菌株による機能、粘膜付着性や宿主特異性にも大きな差があることから、ブタ腸管由来の *Lactobacillus* 属細菌は他の環境由来のものより有効である可能性が高く、各菌株の生育特性や免疫調節作用、細胞表面構造を評価・比較し、AGP 代替法としてより優れたプロバイオティクスを選抜することが今後重要となるであろう。

*Lactobacillus* 属細菌以外の多様な腸内細菌がブタの飼料効率や疾病に関与していることは、これまでの腸管マイクロバイオーム研究から明らかである。日々更新されるブタ腸管マイクロバイオームの知見を AGP 代替法の開発に役立てるためには、AGP の最大利点である飼料の利用効率の改善効果について、微生物学的観点から明らかにする必要がある。余剰飼料摂取量 (Residual Feed Intake, RFI) は、飼料効率の有効な評価因子であるが (鈴木, 2009)、飼料効率の高い低 RFI ブタの腸管マイクロバイオームを調べた最近の研究では、繊維性多糖類やタンパク質・アミノ酸分解を担う腸内細菌の増加が、低 RFI に特徴的であることが報告されている (McCormack ら, 2017; Yang ら, 2017)。アミノ酸代謝

表 2. ブタの抗菌性成長促進剤 (AGP) の代替法と腸内細菌叢への影響

名称	ブタへの供与試験例および効果		
	飼料利用効率改善	離乳後下痢抑制効果	特徴的な腸内細菌叢への影響
抗菌性成長促進剤 (AGP)	○	○	大腸菌群の増加、繊維分解菌の減少
プロバイオティクス (乳酸菌等)	○	○	腸内細菌叢の安定化 <sup>1)</sup>
プレバイオティクス (オリゴ糖など)	○	○	乳酸菌の増加、腸内細菌叢の安定化 <sup>2)</sup>
海藻多糖 (ラミナランなど)	○	○	大腸菌群の減少、乳酸菌数の増加 <sup>3)</sup>
共役リノール酸・中鎖脂肪酸	○	○	サルモネラ菌の抑制 <sup>4)</sup>
ブタ乾燥血漿	○	○	大腸菌群の減少、回腸細菌数の増加 <sup>5)</sup>
人工甘味料	○	○	<i>Lactobacillus</i> 属乳酸菌の増加 <sup>6)</sup>
有機酸・短鎖脂肪酸	○	○	病原性大腸菌の抑制 <sup>7)</sup>
植物油・食油	○	○	大腸菌群の減少、乳酸菌数の増加 <sup>8)</sup>

<sup>1)</sup>Yang ら, 2015; <sup>2)</sup>Houdijk ら, 2002; <sup>3)</sup>Choi ら, 2017; <sup>4)</sup>Messens ら, 2010; <sup>5)</sup>Hedegaard ら, 2016; <sup>6)</sup>Daly ら, 2015; <sup>7)</sup>Tsiloyiannis ら, 2001; <sup>8)</sup>Ahmed ら, 2013

に関しては、低 RFI ブタの回腸においてバリンやロイシンなどの分岐アミノ酸の発酵産物であるイソ酪酸濃度が上昇するが (McCormack ら, 2017)、このような小腸内細菌によるアミノ酸代謝の促進は、AGP を与えたブタ腸管内においてもアミノ酸吸収量の増加とともに観察されることが報告されている (Yu ら, 2017)。飼料中のタンパク質だけではなく、繊維性多糖類が、回腸におけるタンパク質・アミノ酸消化率に影響を与えることは以前から知られているが (Souffrant, 2001; Stein ら, 2007)、回腸の細菌叢におけるアミノ酸分解と、大腸細菌叢における繊維性多糖類分解を結びつける宿主側の因子は解明されていない。食物中の繊維やタンパク質、エネルギー代謝、そして腸管マイクロバイオームの相互の関係は、ヒトやマウスモデルを用いた研究が進んでおり、細胞分化や免疫応答におけるエピジェネティック制御が重要であることが知られつつある (Watson と Søreide, 2017)。このような知見は、今後ブタの飼料利用効率と腸管マイクロバイオームの相関関係を考える上で重要な基盤となると考えられる。また、AGP の離乳後下痢症予防効果の代替として、ブタ離乳期の腸管マイクロバイオームの構造や機能を詳細に理解し、原因菌の増殖・感染を抑制する各種因子を明らかにすることは重要である。授乳期の子ブタ腸管内では、母ブタや母乳を介して定着する細菌により腸管マイクロバイオームの「土台」となる細菌叢が形成され、その構成細菌による糖質の競合資化や短鎖脂肪酸の生成は、病原菌の生育に不適な環境を形成する。さらに、この細菌叢の免疫刺激が粘膜自然免疫を強化し、離乳後に起こる細菌叢変動によるバリア機能低下を補填する。このような「土台」となる初期細菌叢の形成や粘膜免疫機能が不十分な状態で離乳が行われた場合、離乳後下痢症は増大すると考えられる (McLamb ら, 2013)。授乳期の子ブタの腸管試料の採取は困難であるため、初期細菌叢の形成のメカニズムに関する知見は極めて乏しいが、ブタ母乳に含まれる成分や糞便のメタ解析データ等から、授乳前の細菌叢形成に関与する細菌の構造や機能を予測することは可能である。このような知見は、授乳期ブタに投与可能な初期細菌叢形成を促進し、離乳後の腸管マイクロバイオームを強化・安定化させるプロバイオティクスやプレバイオティクスの開発において必要であり、新規の AGP 代替法として大きな期待が持たれる。

腸管マイクロバイオームの改善が動物の健康維持や疾病予防に有効であることは、マウスやヒトの研究によっても強く示唆されている。家畜動物の腸管マイクロバイオーム研究を進展させるためには、家畜の生理学、栄養学、免疫学、さらには遺伝学や行動学を含む多面的な視点が

必要であり、今後異分野融合の活発な取り組みが重要となる。

## 謝 辞

本調査研究は、日本学術振興会 科研費基盤研究(B) (16H05019)ならびに研究拠点形成事業(先端拠点形成型)「食の安全性の飛躍的向上を目指した農免疫国際研究拠点形成」の支援により実施されました。

## 引用文献

- Ahmed ST, Hossain ME, Kim GM, Hwang JA, Ji H, Yang CJ. Effects of resveratrol and essential oils on growth performance, immunity, digestibility and fecal microbial shedding in challenged piglets. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 26:683–690. 2013.
- Andersson DI, Hughes D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat. Rev. Microbiol.*, 12:465–478. 2014.
- Brown K, Uwiera RRE, Kalmokoff ML, Brooks SPJ, Inglis GD. Antimicrobial growth promoter use in livestock: a requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 49:12–24. 2017.
- Cheng GY, Hao HH, Xie SY, Wang X, Dai MH, Huang LL, Yuan ZH. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front. Microbiol.*, 5:217. 2014.
- Choi Y, Hosseindoust A, Goel A, Lee S, Jha PK, Kwon IK, Chae BJ. Effects of *Ecklonia cava* as fucoidan-rich algae on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology and caecal microflora in weanling pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 30:64–70. 2017.
- Czaplewski L, Bax R, Clokie M, Dawson M, Fairhead H, Fischetti VA, Foster S, Gilmore BF, Hancock RE, Harper D, Henderson IR, Hilpert K, Jones BV, Kadioglu A, Knowles D, Ólafsdóttir S, Payne D, Projan S, Shaunak S, Silverman J, Thomas CM, Trust TJ, Warn P, Rex JH. Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio review. *Lancet Infect. Dis.*, 16:239–251. 2016.
- Daly K, Darby AC, Hall N, Wilkinson MC, Pongchaikul P, Bravo D, Shirazi-Beechey SP. Bacterial sensing underlies artificial sweetener-induced growth of gut *Lactobacillus*. *Environ. Microbiol.*, 18: 2159–2171. 2015.
- Dowarah R, Verma A, Agarwal N. The use of *Lactobacillus*

- as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: A review. *Anim. Nut.*, 3:1–6. 2017.
- El Aidy S., van den Bogert B., Kleerebezem M. The small intestine microbiota, nutritional modulation and relevance for health. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 32:14–20. 2015.
- Fukuda A, Sato T, Shinagawa M, Takahashi S, Asai T, Yokota SI, Usui M, Tamura Y. High prevalence of *mcr-1*, *mcr-3* and *mcr-5* in *Escherichia coli* derived from diseased pigs in Japan. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 51:163–164. 2018.
- Frese SA, Parker K, Calvert CC, Mills DA. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*, 3:28. 2015.
- Gaskins HR, Collier CC, Anderson DB. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Anim. Biotechnol.*, 13:29–42. 2002.
- Gresse R, Chaucheyras-Durand F, Fleury MA, van de Wiele T, Forano E, Blanquet-Diot S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: Understanding the keys to health. *Trends Microbiol.*, 25:851-873. 2017.
- Hedegaard CJ, Strube ML, Hansen MB, Lindved BK, Lihme A, Boye M, Hedegaard PMH. Natural pig plasma immunoglobulins have anti-bacterial effects: potential for use as feed supplement for treatment of intestinal infections in pigs. *PLoS One*, 11:1-14. 2016.
- Heo JM, Opapeju FO, Pluske JR, Kim JC, Hampson DJ, Nyachoti CM. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 97:207–37. 2013.
- Houdijk JGM, Hartemink R, Verstegen MWA, Bosch M. Effects of dietary non-digestible oligo- saccharides on microbial characteristics of ileal chyme and faeces in weaner pigs. *Arch. Anim. Nutri.*, 56:297–307. 2002.
- 伊原航平, 勝部哲, 松田敬一, 米山 裕, 畜産領域における抗生物質の利用と課題, *東畜会報*, 65:41–53. 2016.
- Isaacson R, Kim HB. The intestinal microbiome of the pig. *Anim. Health. Res. Rev.*, 13:100–109. 2012.
- Kelly J, Daly K, Moran AW, Ryan S, Bravo D, Shirazi-Beechey SP. Composition and diversity of mucosa-associated microbiota along the entire length of the pig gastrointestinal tract; dietary influences. *Environ. Microbiol.*, 19:1425-1438. 2017.
- 厚生労働省, 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017. *Nippon AMR One Health Report (NAOR)*. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会 . 2017.
- 国際獣疫事務局, 国際獣疫事務局報告書 World Organization for Animal Health (OIE) annual report on antimicrobial agents intended for use of animals. Second Report. 2017.
- Kusumoto M, Ogura Y, Gotoh Y, Iwata T, Hayashi T, Akiba M. Colistin-resistant *mcr-1*-positive pathogenic *Escherichia coli* in swine. Japan, 2007–2014. *Emerg. Infect. Dis.*, 22:1315–1317. 2016.
- Looff T, Johnson TA, Allen HK, Bayles DO, Alt DP, Stedtfeld RD, Sul WJ, Stedtfeld TM, Chai B, Cole JR, Hashsham SA, Tiedje JM, Stanton TB. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109: 1691–1696. 2012.
- Mach, N., M. Berri, J. Estelle, F. Levenez, G. Lemonnier, C. Denis, J.J. Leplat, C. Chevalerey, Y. Billon, and J. Dore. Early-life establishment of the swine gut microbiome and impact on host phenotypes. *Environ. Microbiol. Rep.*, 7:554–569. 2015.
- Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin. Microbiol. Rev.*, 24: 718–733. 2011.
- McCormack UM, Curião T, Buzoianu SG, Prieto ML, Ryan T, Varley P, Crispie F, Magowan E, Metzler-Zebeli BU, Berry D, O’Sullivan O, Cotter PD, Gardiner GE, Lawlor PG. Exploring a possible link between the intestinal microbiota and feed efficiency in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83:1–16. 2017.
- McLamb BL, Gibson AJ, Overman EL, Stahl C, Moeser AJ. Early weaning stress in pigs impairs innate mucosal immune responses to enterotoxigenic *E. coli* challenge and exacerbates intestinal injury and clinical disease. *PLoS One* 8:e59838. 2013.
- Messens W, Goris J, Dierick N, Herman L, Heyndrickx M. Inhibition of *Salmonella typhimurium* by medium-chain fatty acids in an in vitro simulation of the porcine cecum. *Vet. Microbiol.*, 141:73-80. 2010.
- 長野則之, 長野由紀子. 忍び寄る脅威 — コリスチン耐性グラム陰性桿菌. *信州医誌*, 65 : 333–335. 2017.
- Niu Q, Li P, Hao S, Zhang Y, Kim SW, Li H, Ma X, Gao S, He L, Wu W, Huang X, Hua J, Bo Z, Huang R. Dynamic distribution of the gut microbiota and the relationship with apparent crude fiber digestibility and growth stages in pigs. *Sci. Rep.* 5, 9938. 2015.
- 農林水産省, 農林水産省消費・安全局長, 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令等の一部改正について (2017年12月28日). 2017.

- Ohsaki Y, Hayashi W, Saito S, Osaka S, Taniguchi Y, Koide S, Kawamura K, Nagano Y, Arakawa Y, Nagano N. First detection of *Escherichia coli* harboring *mcr-1* gene from retail domestic chicken meat in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 70:590–592. 2017.
- Souffrant WB. Effect of dietary fibre on ileal digestibility and endogenous nitrogen losses in the pig. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 90:93-102. 2001.
- Stein HH, Seve B, Fuller MF, Moughan PJ, de Lange CFM. Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *J. Anim. Sci.*, 85:172–180. 2007.
- 鈴木啓一, ホーク エムディー・アズハウル. 牛と豚における余剰飼料摂取量と生産形質に関する遺伝的パラメータ. *畜産の研究*, 63:512-520. 2009.
- Tada T, Uechi K, Nakasone I, Shimada K, Nakamatsu M, Kirikae T. Emergence of a colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harboring *mcr-1* in Japan. *Int. J. Infect. Dis.*, 63:21–22. 2017.
- Tsiloyiannis VK, Kyriakis SC, Vlemmas J, Sarris K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. *Res. Vet. Sci.*, 70:287–93. 2001.
- Valeriano VDV, Balolong MP, Kang D-K. Probiotic roles of *Lactobacillus* spp. in swine: insights from gut microbiota. *J. Appl. Microbiol.*, 122:554-567. 2017.
- Watson MM, Søreide K. The gut microbiota influence on human epigenetics, Health, and Disease. In: Tollefsbol TO (ed), *Handbook of Epigenetics (Second edition)* 495–510. Academic Press. 2017.
- Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334: 105–108. 2011.
- Yang F, Hou C, Zeng X, Qiao S. The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*, 4:34–45. 2015.
- Yang H, Huang X, Fang S, He M, 44 Y, Wu Z, Yang M, Zhang Z, Chen C and Huang L. Unraveling the fecal microbiota and metagenomic functional capacity associated with feed efficiency in pigs. *Front. Microbiol.*, 8:1555. 2017.
- Yu M, Mu C, Yang Y, Zhang C, Su Y, Huang Z, Yu K, Zhu W. Increases in circulating amino acids with in-feed antibiotics correlated with gene expression of intestinal amino acid transporters in piglets. *Amino Acids*, 49:1587–1599. 2017.
- Zhao W, Wang Y, Liu SY, Huang JJ, Zhai ZX, He C, Ding JM, Wang J, Wanf HJ, Fan WB, Zhao HM. The dynamic distribution of porcine microbiota across different ages and gastrointestinal tract segments. *PLoS One*, 10:e0117441. 2015.