

総説

豚のオミクス解析と疾病に関する最近の話題と研究

宗田吉広¹⁾、関山恭代²⁾、須田智子¹⁾、宮崎綾子³⁾、
新開浩樹¹⁾、廣瀬健右⁴⁾、上西博英⁵⁾、北澤春樹⁶⁾

(¹)農研機構 動物衛生研究部門 衛生管理研究領域 衛生管理グループ、²⁾農研機構 高度分析研究センター 生理活性物質分析ユニット、³⁾農研機構 動物衛生研究部門 動物感染症研究領域 ウィルスグループ、⁴⁾JIA 全農 飼料畜産中央研究所 上土幌種豚育種研究室、⁵⁾農研機構 生物機能利用研究部門 生物素材開発研究領域 動物モデル開発グループ、⁶⁾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)

Muneta, Y., Sekiyama, Y., Suda, T., Miyazaki, A., Shinkai, H., Hirose, K., Uenishi, H., and Kitazawa, H. (2023). Recent topics and studies on the relationship porcine omics studies with disease.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 81, 30-38.

キーワード：オミクス解析、マイクロバイオーーム、メ
タボローム、豚

はじめに

2019年12月からの新型コロナウイルスのパンデミック以降、ヒトでは自身の免疫力を高めるための腸内細菌叢の活用、いわゆる「腸活」が非常に高い関心を集め、腸内細菌叢を制御することで、下痢や腸炎等の腸管疾病のみならず、腸・肺相関による喘息等の呼吸器疾病に対する効果や、脳・腸相関による精神疾患やストレスに対する効果も期待されている^{2,6,8,43)}。一方、家畜衛生に目を転じれば、多様な血清型を有する大腸菌やサルモネラ等の下痢症や、変異の多発するウイルス性疾病等、ワクチンによる制御の困難な疾病が顕在化していることから、新型コロナウイルスに対するワクチンで初めて実用化されたmRNA ワクチン、植物基盤ワクチン及び遺伝子組換えベクターワクチン等の新たなワクチン開発が求められている。また、薬剤耐性菌問題の顕在化に伴い、農林水産省でも「薬剤耐性(AMR) 対策アクションプラン」が策定され、「One World, One Health」の考え方にに基づき、抗菌剤の使用量調査、薬剤耐性菌の発生状況調査及び抗菌性飼料添加物のリスク評価等が実施され、抗菌剤や抗菌性飼料添加物に対する適正使用・慎重使用が求められているところである³⁰⁾。

一方で、ワクチンや抗菌剤に代わる第3のアプローチとして、宿主の抗病性育種の開発が求められており、農林水産省の「みどりの食料戦略」においても、2030年までの研究開発の取り組みとして、「高い抗病性を

有する家畜育種・改良」が明記されている³²⁾。また、抗菌剤や抗菌性飼料添加物に代替えるプロバイオティクスやプレバイオティクス及びそれらを組み合わせたシンバイオティクス製剤の開発も盛んにおこなわれている¹⁷⁾。しかしながら、これらの製剤の特性上、その効果には、明確な予防・治療効果が認められるわけではなく、その効果・効能の評価は、特に家畜では明確な基準は存在しない²³⁾。しかし近年、これらの製剤の効果を腸内細菌叢の変動や腸内代謝産物の変動に基づいて評価する研究が進展し、プロバイオティクス製剤の効果についても、科学的な裏付けが提示されるようになってきている¹⁾。そこで、本総説では、豚におけるオミクス解析を利用した研究の現状と展望について、特に最近発展の著しい、マイクロバイオーーム解析及びメタボローム解析を中心に、我々の知見も交えながら解説したい。

1. 豚のゲノミクス解析

ゲノミクスとは、生物の遺伝子とその全体(ゲノム)を研究する生命科学を指し、オミクス研究ではその最上位に位置する(図1)。図1に示すように、ゲノムの変化(突然変異や一塩基多型等)の影響は、その下流の転写産物、タンパク質発現、細菌叢及び代謝産物への影響となって多様化し、宿主の表現型となって現れると考えられており、それらを網羅的に解析できるオミクス解析が重要であると認識されている。

豚の全ゲノムの解読は2012年にNatureに報告されて以降10年が経過し¹¹⁾、現在では、ゲノム配列が解読されたすべての真核生物のデータベース(Ensembl ge-

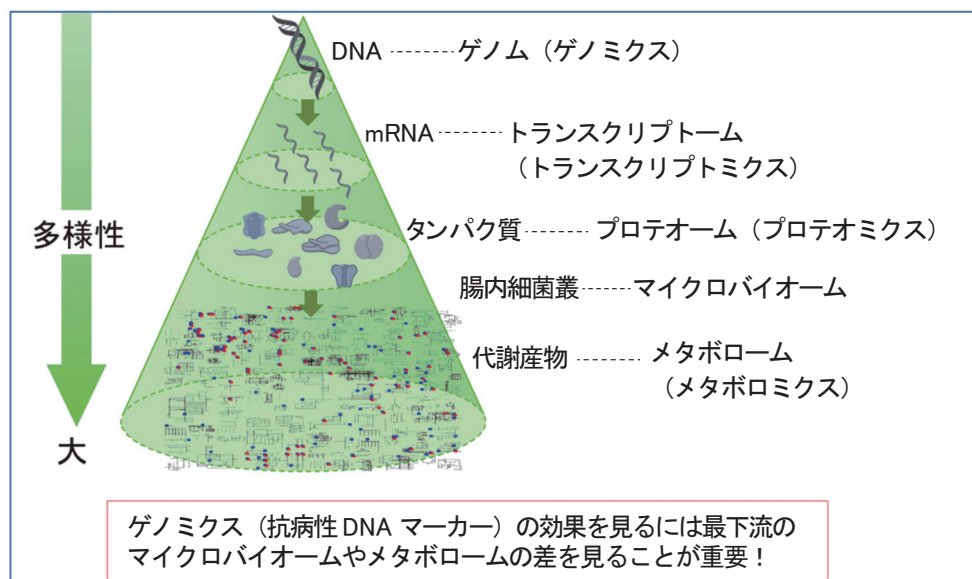


図1 オミクス解析のピラミッド概念図

nome browser; <https://ensembl.org/>) において、最新バージョン (Sscrofa 11.1, https://asia.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Index) として公開されている⁷⁾。ゲノム配列だけでなく、比較ゲノム解析や、アノテーション、転写産物、多型情報及び体重と関連する QTL (Quantitative Trait Loci: 量的形質遺伝子座; 量的形質がどのように生物に表現されるかに影響を与える染色体上の DNA 領域) 情報等の様々な情報が網羅されているため、豚のゲノミクス解析には必須のサイトとなっている。

2. 豚のトランスクリプトミクス解析

ゲノミクスの下流にあたるオミクス解析が、遺伝子の転写 (トランスクリプション) 産物を網羅的に解析するトランスクリプトミクス解析になる。代表的な解析が遺伝子の転写産物である mRNA の発現を網羅的に解析するマイクロアレイ解析である。豚においても、サルモネラ感染、新型インフルエンザウイルス (H1N1) 感染及び豚流行性下痢ウイルス感染において、先駆的な研究が実施され、免疫応答、抗ウイルス応答及び栄養輸送タンパク質に関連する転写産物が免疫反応・感染防御及び感染メカニズムに関与するなどの成果をあげているが^{46,49,50)}、転写産物という特性上、抗原刺激や病原体感染後の時間経過によって大きく結果が左右されるという欠点がある。

また、最新の研究では、マイクロアレイ解析を用いて、飼料中の L-アルギニンが、胎盤での多くの遺伝子発現に影響を及ぼして、豚の妊娠初期において重要な

役割を果たすとの報告があり²¹⁾、今後の進展が期待される。

一方で、Small interfering-RNA (siRNA) という遺伝子発現を抑制できるツールも開発され¹²⁾、例えば、インフルエンザウイルスの M2 遺伝子 (膜タンパク質) に対する siRNA は H1N1 インフルエンザウイルスの増殖を抑制することが報告されており⁴²⁾、子豚レベルでは、pseudorabies virus に豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) の ORF7 遺伝子 (核タンパク質) に対する siRNA を発現させた組み換えウイルスを豚に投与すると、PRRSV の増殖を抑制したとする報告もある³⁾。

3. 豚のプロテオミクス解析

さらに、その下流にあたるオミクス解析が、mRNA の転写により産生されるタンパク質の発現・産生を網羅的に解析する技術のプロテオミクス解析であり、転写産物と異なり細胞・組織や生体に直接影響を及ぼすタンパク質を網羅的に解析できる。一般的には、2 次元電気泳動で展開・分離したタンパク質スポットを、質量分析計により同定することで実施される。

獣医学分野において、疾病の病原性解析や診断のためのバイオマーカー探索における、プロテオミクス解析の応用は総説が書かれているため⁴⁾、本稿では詳述しないが、豚においては、呼吸器疾病や下痢症での報告が多く、いくつかのヒートショック蛋白質が有望視されている⁴⁾。また、マクロファージレベルでのウイルス感染に対するプロテオミクス解析では、PRRSV 及

び豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) に対して抗ウイルスタンパク質が誘導されることが報告されている³⁴⁾。

最近では、機能性ペプチドのスクリーニングに特化したペプチドアレイや¹⁴⁾、エクソソームと呼ばれるタンパク質やマイクロ RNA (miRNA) 等を内包する脂質 2 重膜を有する小胞体も疾病バイオマーカーとして、広義のプロテオミクス解析に含まれる。豚においても、血清中のエクソソーム及びその内部に含まれる miRNA の網羅的解析により妊娠初期に上昇する miRNA が同定されており、早期妊娠診断のバイオマーカーとしての重要性が期待される⁵¹⁾。また、PRRSV に対する抗ウイルス効果が期待される artificial miRNA のデリバリーシステムとしてのエクソソームの重要性も報告されており⁵²⁾、今後の研究の進展が期待される。さらに、畜産学分野においても、肉質やおいしさ等に関与するバイオマーカータンパク質の探索に後述のメタボロミクス解析とともに活用が期待される⁴⁴⁾。

4. 豚のマイクロバイオーム解析

細胞や組織から産生されるタンパク質が変動すれば、それらを餌とする腸内細菌叢に変化がもたらされると考えられる。その変動を網羅的にとらえる技術がマイクロバイオーム解析である。豚における腸内細菌叢の重要性については、抗菌剤や薬剤耐性菌の観点から、昨年度の本会報でも総説で解説しているが²⁹⁾、本稿では、マイクロバイオーム解析という網羅的解析方法に主眼を置いた観点から解説する。

我々も、健康な離乳子豚を抗菌剤フリーの飼料で 3 週間飼育するだけで、マイクロバイオームの多様性が

大きく増加することを報告した²⁹⁾。その報告では、腸内細菌の operational taxonomy units (otu) 数だけでなく、Firmicutes/Bacteroides 比 (F/B 比) 及び Shannon index とともに増加することが示されており、これらは、いずれも腸内細菌叢の変動や多様性の増加を示す指標である。腸内細菌叢の多様性を確保することは、疾病の制御また宿主の抗病性と大きく関連し、豊かで多様な腸内細菌叢の確保には、遺伝、品種、出産、離乳、年齢、飼料や飼料添加物、環境、生菌剤、抗菌剤、ストレス及び感染や炎症等の様々な要因が関与することが報告されている³⁵⁾。一方で、肥満、増体、脂質代謝及び暑熱ストレスと腸内細菌叢の変動が関与していることは豚レベルでもエビデンスが蓄積しつつある^{13,37,45)}。

さらに、我々は長年、病原体のパターン認識受容体の多型に基づく、豚の抗病性 DNA マーカーの開発に取り組んできたが²⁷⁾、今年度からは、家畜改良事業団による豚の抗病性 DNA マーカーの受託検査事業も開始されている¹⁹⁾。その中で、我々がメインに取り組んできたのは、細菌のべん毛 (Flagellin) を認識するパターン認識受容体である Toll-like receptor 5 (TLR5) の一塩基多型 (C1205T; P402L) に関してである⁴¹⁾。この一塩基多型は、以前の報告²⁸⁾でも解説したが、サルモネラのべん毛認識に大きく影響し、宿主の自然免疫応答についてはサルモネラ感染感受性にも影響する多型であり、ランドレース種が主に保有している^{26,27)}。べん毛は多くの細菌が保有する運動性や病原性に関与する因子であるが、本多型はべん毛の共通領域を認識するため¹⁸⁾、サルモネラ以外のべん毛保有細菌の認識にも影響を及ぼす可能性が高い。そこで、当該多型の

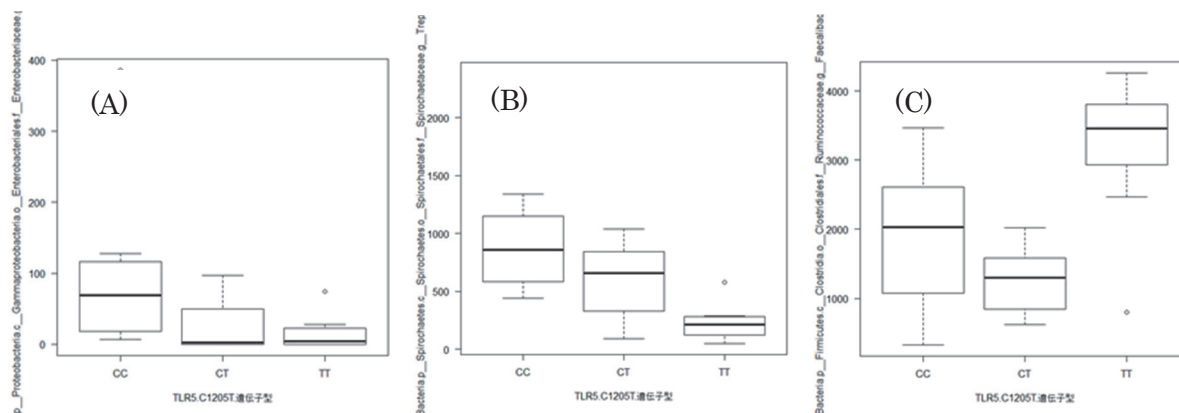


図2 豚 TLR5 の一塩基多型 (C1205T) が豚の腸内細菌叢に及ぼす影響：同一飼養条件下で肥育したランドレース肥育豚における腸内細菌属の TLR5 遺伝子型による差異。(A) *Escherichia* 属、(B) *Treponema* 属、(C) *Faecalibacterium* 属。

(A)、(B)、(C)とも 3 群間の比較 (Kruskal-Wallis 検定) で有意差あり、 $p < 0.05$ 。

異なるランドレース子豚（CC 型、CT 型及び TT 型）を同一飼養環境下の SPF 養豚農場で肥育完了時（100kg 時）まで肥育し、直腸便由来 DNA を 16S rRNA 配列に基づくマイクロバイオーム解析した結果、遺伝型によって、特にべん毛保有細菌属（*Escherichia* 属及び *Treponema* 属）の otu 数が有意に異なることが示唆された（図 2）。

本多型は、2020年にドイツのグループによっても、豚の腸内細菌叢に影響を及ぼすことが報告されているため³⁶⁾、腸内に多数存在するべん毛保有腸内常在細菌に対するべん毛認識が異なることで、腸内細菌叢の構成に影響を及ぼすと考えられる。TLR5の変異は、腸内細菌叢の変化を通じて、腸管感染症や脂質代謝に大きく影響することがマウス及びヒトの試験や調査で報告されているため^{20,47,48)}、今後、当該多型が豚の生産性や脂質等の肉質に関連するかどうかさらに調査が必要であると考えており、今後の抗病性 DNA マーカーの受託解析を通じて実際のフィールドでのデータの蓄積が期待される。

5. 豚のメタボロミクス解析

さらに、腸内細菌叢が変動すれば、腸内細菌叢が行う発酵や代謝が変動するため、腸内代謝産物の変動が生じる。この変動を網羅的に解析する技術がメタボロ

ミクス（あるいはメタボローム解析）である。メタボロミクスの進展により、細胞、組織、血液、腸管内容物等において、多種類の代謝産物が一度に解析可能となった。

メタボロミクスは、医学や食品栄養学等で日常的に用いられるようになっており、一般的に、分析手法としては、ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーなどの分離システムと連結させた質量分析（GC-MS 及び LC-MS）法及び核磁気共鳴（NMR）法が用いられ、分析したい成分によって選択する。各分析法の詳細については、それぞれの分析ガイドが公開されており³⁸⁻⁴⁰⁾、その感度や検出できる成分数等は図 3 で比較できる¹⁰⁾。最近では、家畜でのメタボロームデータベース（Livestock metabolome database (LMDB) ; <http://www.lmdb.ca>）も構築され、家畜での活用も今後急速に進んでいくことが期待される²²⁾。

我々も、豚を対象としたメタボローム解析として、前述の異なる TLR5 の遺伝子型のランドレース子豚の肥育試験において、血液中の脂質代謝マーカーの一斉分析（リボサーチ解析）を実施した。その結果、悪玉コレステロールとされる LDL コレステロールの前駆体である VLDL コレステロール濃度が遺伝子型によって異なる動態を示すことを明らかにした（図 4）。TLR5 の欠損マウスは明らかに腹腔内脂肪の蓄積が多

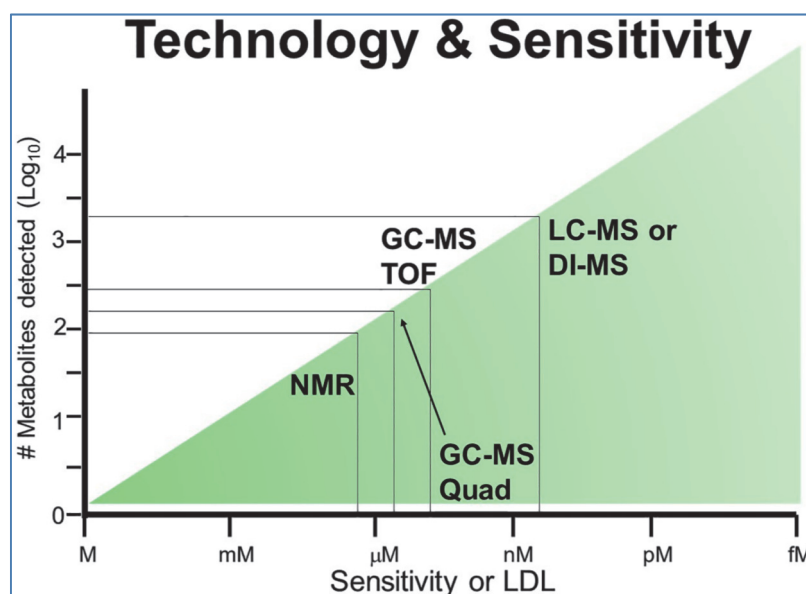


図3 メタボロミクス解析における、NMR 法、GC-MS 法及び LC-MS 法の感度及び検出代謝産物数の関係（Goldansaz SA et al. Livestock metabolomics and the livestock metabolome: A systematic review. PLoS ONE, 12(5), e0177675. より転載。This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium.）

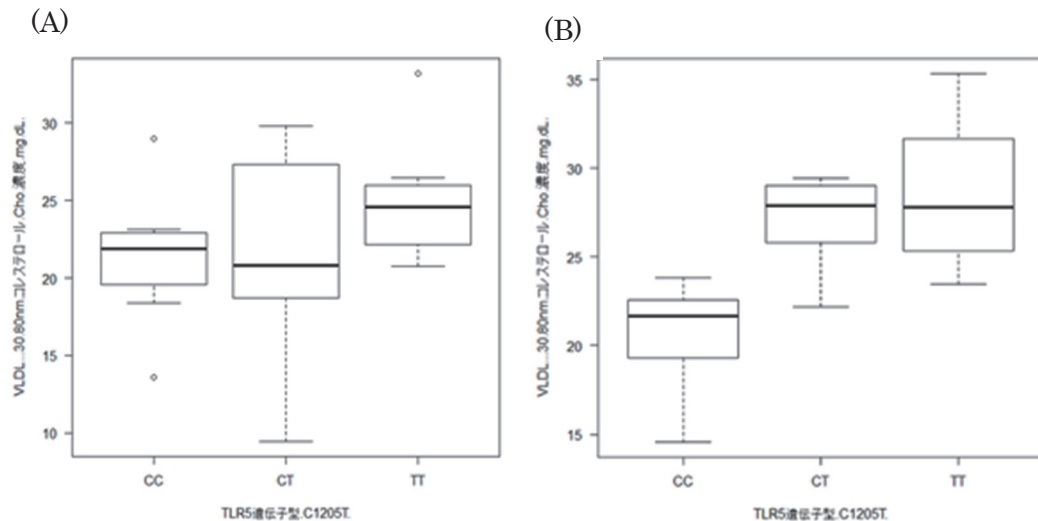


図4 血清中脂質代謝マーカーの網羅的分析（リポサーチ解析）：同一飼養条件下で肥育したランドレース肥育豚における血清中 VLDL コレステロール濃度の TLR5 遺伝子型による差異。

(A) 30Kg 時、(B) 100Kg 時。

(B) は 3 群間の比較（Kruskal-Wallis 検定）で有意差あり、 $p < 0.01$ 。

くなり、メタボリックシンドローム様の表現型を示すことから⁴⁷⁾、TLR5 シグナルの低下は、腸内細菌叢の変化を通じて、脂質代謝異常と関連することが示唆されており、豚でも同様の脂質代謝の差異が認められるのか今後さらに検討したいと考えている。

また、抗菌剤の代替えとなる酸化亜鉛の過剰投与による中毒において²⁵⁾、実験的に作出した亜鉛中毒豚においては、盲腸内の代謝産物が大きく変動し、盲腸内容物の NMR メタボロミクスによって、特に揮発性脂肪酸（VFA）濃度が中毒豚では有意に低下することを明らかにしている（未発表データ）。

さらに、豚へのワカメ（*Undaria pinnatifida*）給与試験において、盲腸内容物の NMR メタボロミクスを実施したところ、盲腸内エタノールの有意な増加を示した。ワカメの発酵がバイオエタノールの産生につながる事が報告されていることから⁵⁾、豚においても、ワカメ含有飼料の給与と盲腸内エタノールの関連性が示唆される（未発表データ）。

6. 豚のマルチオミクス解析

ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、マイクロバイーム及びメタボロミクスの各網羅的解析アプローチを複数組み合わせ、さらに詳細な解析がマルチオミクス解析である。豚においては、低用量の抗生物質を飼料添加した場合のコントロール飼料との、成長性や下痢スコアと肝臓でのトランスクリプトミクス、血清中の生化学検査成績及びリピドミ

クス（脂質代謝マーカーのメタボローム解析）の関連解析から、低用量の抗生物質の飼料添加による特徴的な遺伝子発現や脂質代謝経路を同定している報告がある¹⁶⁾。

また、A 型インフルエンザウイルス（H1N1）感染豚は、健康豚と比較して、糞便中の細菌叢の豊かさや多様性が有意に変動し、*Prevotellaceae* 科が増加し、*Clostridiaceae* 科及び *Lachnospiraceae* 科が減少したことを報告している⁹⁾。プロテオミクス解析との関連から、この減少は、べん毛（Flagellin）の量の減少と関連していた⁹⁾。さらに、短鎖脂肪酸の合成に関与する酵素群が、感染豚で高頻度に認められたが、メタボローム解析からは、短鎖脂肪酸の明らかな変動は認められなかった⁹⁾。

さらに、暑熱ストレスを与えた豚においても、マルチオミクス解析が行われた結果、暑熱ストレス下の豚では、肝機能や腎機能に影響する血液生化学的検査項目が特に変化し、分泌型 IgA のレベルが減少した¹⁵⁾。また、大腸の出血、リンパ球浸潤及び絨毛の障害が認められた¹⁵⁾。さらに、大腸における短鎖脂肪酸（酢酸や酪酸）濃度が有意に減少し、*Lactobacillus johnsonii* 及び *Lactobacillus reuteri* が低下し、*Clostridium sensu stricto* 1 が増加した¹⁵⁾。これらの変動は、上述の短鎖脂肪酸及び血液生化学検査の変化と関連していた¹⁵⁾。今後さらに、このようなマルチオミクス解析の活用はますます増加することが示唆される。

表1 農林水産大臣が指定する飼料添加物一覧(飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進用途のもの)

農林水産省令で定められている用途	類別	指定されている飼料添加物の種類
飼料が含有している 栄養成分の有効な利用の促進 (46種)	合成抗菌剤 (☆) (5種)	アンブロリウム・エトバペート、アンブロリウム・エトバペート・スルファキノキサリン、クエン酸モランテル、ナイカルバジン、ハロフジノンポリスチレンスルホン酸カルシウム
	抗生物質 (☆★) (11種)	亜鉛バシトラシン、アピラマイシン、エンラマイシン、サリノマイシンナトリウム、センデラマイシンナトリウム、ナラシン、ノシヘブタイド、ピコザマイシン、フラボフォスフォリボルム、モネンシンナトリウム、ラサロシドナトリウム
	着香料 (1種)	着香料 (エステル類、エーテル類、ケトン類、脂肪酸類、脂肪族高級アルコール類、脂肪族高級アルデヒド類、脂肪族高級炭化水素類、テルペン系炭化水素類、フェノールエーテル類、フェノール類、芳香族アルコール類、芳香族アルデヒド類及びラクトン類のうち、1種又は2種以上を有効成分として含有し、着香の目的で使用されるものをいう。)
	呈味料 (1種)	サッカリンナトリウム
	酵素 (13種)	アミラーゼ、アルカリ性プロテアーゼ、キシラーゼ、キシラーゼ・ヘクチナーゼ複合酵素、β-グルカンナーゼ、酸性プロテアーゼ、セルラーゼ、セルラーゼ・プロテアーゼ・ヘクチナーゼ複合酵素、中性プロテアーゼ、フィターゼ、ムラミダーゼ、ラクターゼ、リパーゼ
	生菌剤 (11種)	エンテロコッカス フェカリス、エンテロコッカス フェシウム、クロストリジウム プチリカム、パチルス コアグランス、パチルス サブチルス、パチルス セレウス、パチルス バディウス、ビフィドバクテリウム サーモフィラム、ビフィドバクテリウム シュードロンガム、ラクトバチルス アシドフィルス、ラクトバチルス サリバリウス
	有機酸 (4種)	ギ酸カルシウム、グルコン酸ナトリウム、ニギ酸カリウム、フマル酸

備考：☆…抗菌性物質製剤 ★…特定添加物

(http://www.famic.go.jp/ffis/feed/sub3_feedadditives.html より一部改変して転載)

7. おわりに

近年の薬剤耐性菌 (AMR) 問題を受けて、動物の飼料に添加される抗菌剤類は食品安全委員会の専門委員会によるリスク評価が行われている³¹⁾。飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律 (昭和28年法律第35号) 第2条第3項の規定に基づき、農林水産大臣が指定する飼料添加物のうち飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進用途のものは、2022年1月21日現在、表1のとおり46種類となる³³⁾。この中には、抗生物質 (11種類)、生菌剤 (11菌種) 及び有機酸 (4種類) が認められているが、AMR 対策を受けて抗生物質が2018年7月からの硫酸コリスチンやバージニアマイシンの飼料添加物指定取り消しを始めとして減少しているのに対して、新たな生菌剤や飼料添加物の追加は、ほとんど行われていない³¹⁾。

我々は昨年度から、JRA 畜産振興事業において、豚の抗病性育種の実現を目指してこれまで開発してきた豚の抗病性 DNA マーカーが宿主である豚の腸内細菌叢や腸内代謝産物に影響を及ぼしていることを解析している。また、農研機構のプロジェクト研究 (NARO プロ) において、豚の成長性や抗病性にとって重要な腸内細菌叢や腸内代謝産物の同定を目指して研究を進めている。これらの研究が、疾病に対する制御方法として、ワクチンや抗菌剤の弱点を補完する第3のアプローチとして、イムノバイオティクス乳酸菌等の新たな生菌剤や飼料添加物の開発や抗病性育種の実用化に

つながるように努力していきたいと考えて日々の研究に取り組んでいる^{17,19,24)}。

謝辞

本総説は、JRA 畜産振興事業「イムノシンバイオティクスと DNA マーカーによる豚の腸内環境改善を介する抗病性向上手法の開発事業」、科研費基盤研究 A (19H00965) 及び農研機構プロジェクト研究 (NARO プロ) 「オミクス情報の活用による家畜抗病性の向上と微生物利用技術の開発」の支援を受けて執筆された。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Aluthge ND, et al. (2019) The pig microbiota and the potential for harnessing the power of the microbiome to improve growth and health. J Anim Sci, 97: 3741-3757.
- 2) Barcik W, et al. (2020) The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma. Immunity, 52: 241-255.
- 3) Cao S, et al. (2015) Inhibition of highly pathogenic reproductive and respiratory syndrome virus replication by recombinant pseudorabies virus-mediated RNA interference in piglets. Vet Micro

- biol, 181: 212-220.
- 4) Cecilliani F, et al. (2014) Proteomics in veterinary medicine: applications and trends in disease pathogenesis and diagnostics. *Vet Pathol*, 51: 351-362.
 - 5) Cho Y, et al. (2013) Bioethanol production from brown seaweed, *Undaria pinnatifida*, using NaCl acclimated yeast. *Bioprocess Biosyst Eng*, 35: 713-719.
 - 6) Chunxi L, et al. (2020) The gut microbiota and respiratory diseases: new evidence. *J Immunol Res*, 2340670.
 - 7) Ensemble genome browser. (2022) E! ensemble. <https://ensembl.org/> (2022年7月11日閲覧)
 - 8) 福士 審 (2013) 脳腸相関とストレス. ストレス科学研究, 28, 16-19.
 - 9) Gierse LC, et al. (2021) Influenza A H1N1 induced disturbance of the respiratory and fecal microbiome of German landrace pigs – a Multi-omics characterization. *Microbiol Spectrum*, 9: e00182-21.
 - 10) Goldansaz SA, et al. (2017) Livestock metabolomics and the livestock metabolome: A systematic review. *PLoS One*, 12: e0177675.
 - 11) Groenen MAM, et al. (2012) Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, 491: 393-398.
 - 12) Hammond SM, et al. (2000) An RNA-directed nuclease mediated post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature*, 404: 293-296.
 - 13) Han GG, et al. (2017) Evaluating the association between body weight and the intestinal microbiota of weaned piglets via 16S rRNA sequencing. *Appl Microbiol Biotechnol*, 101: 5903-5911.
 - 14) 本田裕之 (2015) ペプチドアレイによる短鎖機能性ペプチドのスクリーニング. 科学と生物, 53: 503-509.
 - 15) Hu C, et al. (2021) A comprehensive analysis of the colonic flora diversity, short chain fatty acid metabolism, transcripts, and biochemical indexes in heat-stressed pigs. *Front Immunol*, 12: 717723.
 - 16) Hu Y, et al. (2020) Multi-omics profiling highlights lipid metabolism alterations in pigs fed low-dose antibiotics. *BMC Genetics*, 21: 112.
 - 17) Humanyun Kober AKM, et al. (2022) Immunomodulation potential of probiotics: A novel strategy for improving livestock health, immunity, and productivity. *Microorganisms*, 10: 388.
 - 18) Ivicak-kocjan K, et al. (2018) Extension and refinement of the recognition motif for Toll-like receptor 5 activation by flagellin. *J Leukoc Biol*, 104: 767-776.
 - 19) 家畜改良事業団 家畜改良技術研究所 (2022) 豚の抗病性遺伝子検査. http://liaj.or.jp/giken/pig_gntyp_Rdisease.html (2022年7月11日閲覧)
 - 20) Leifer CA, et al. (2014) Minireview: Linking genetic variation in human Toll-like receptor 5 genes to the gut microbiome's potential to cause inflammation. *Immunol Lett*, 162: 3-9.
 - 21) Li X, et al. (2022) Microarray analysis reveals an important role for dietary L-arginine in regulating global gene expression in porcine placenta during early gestation. *Front Biosci Landmark*, 27: 033.
 - 22) Livestock metabolome database (2017) LMDb ver. 1.0. <https://lmdb.ca/> (2022年7月11日閲覧)
 - 23) 亀上知世子ら (2014) 畜産領域におけるプロバイオティクスの現状と問題点. 腸内細菌学雑誌, 28: 147-154.
 - 24) 北澤春樹 (2019) イムノバイオティクスからイムノシンバイオティクスによる健全畜産の発展. 動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会ニュースレター, 20: 3-4.
 - 25) Komatsu T, et al. (2020) Chronic pancreatitis in farmed pigs fed excessive zinc oxide. *J Vet Diag Invest*, 32: 689-694.
 - 26) Muneta Y, et al. (2012) Allele-specific primer polymerase chain reaction for a single nucleotide polymorphism (C1205T) of swine toll-like receptor 5 and comparison of the allelic frequency among several pig breeds in Japan and the Czech Republic. *Microbiol Immunol*, 56: 385-391.
 - 27) Muneta Y, et al. (2018) *In vivo* effect of a TLR5 SNP (C1205T) on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infected in weaned, specific pathogen-free Landrace piglets. *Microbiol Immunol*, 62: 380-387.

- 28) 宗田吉広ら (2017) サルモネラ認識を低下させる豚 TLR 5 一塩基多型 (C1205T) に関する研究 – SNP の発見から、機能解析、遺伝子型別、頻度解析、及び実験感染による検証まで –. 日本豚病研究会報, 70: 25-31.
- 29) 宗田吉広ら (2021) 豚における薬剤耐性菌と腸内細菌叢の関連に関する最近の話題と研究 – 持続可能な養豚産業の確立に向けて –. 日本豚病研究会報, 78: 24-27.
- 30) 農林水産省 (2016) 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン
https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/pdf/yakuzai_honbun.pdf (2022年 7 月11日閲覧)
- 31) 農林水産省 (2022) 動物に使用する抗菌性物質について 動物に使用する抗菌性物質のリスク管理措置 – 食品安全委員会の評価結果等の活用
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/yakuzi/torikumi.html#risk> (2022年 7 月11日閲覧)
- 32) 農林水産省 (2021) みどりの食料システム戦略
<https://www.maff.go.jp/j/kanbo/kankyo/seisaku/midori/attach/pdf/index-7.pdf> (2022年 7 月11日閲覧)
- 33) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC) (2022) 飼料添加物一覧
http://www.famic.go.jp/ffis/feed/sub3_feedadditives.html (2022年 7 月11日閲覧)
- 34) Nyman TA, et al. (2018) Proteomics to study macrophage response to viral infection. J Proteomics, 180: 99-107.
- 35) Patil Y, et al. (2020) Interactions between host and gut microbiota in domestic pigs: a review. Gut microbes, 11: 310-334.
- 36) Pieper R, et al. (2020) Toward a porcine *in vivo* model to analyze the pathogenesis of TLR5-dependent enteropathies. Gut Microbes, 12: 1782163.
- 37) Sciellour ML, et al. (2019) Effect of chronic and acute heat challenges on fecal microbiota composition, production, and thermoregulation traits in growing pigs. J Anim Sci, 97: 3845-3858.
- 38) 関山恭代ら (2017) NMR による実践的な農業メタボロミクス研究に向けて. 科学と生物, 55: 392-399.
- 39) 島津製作所 (2019) LC-MS の基礎ガイド
<https://www.an.shimadzu.co.jp/lcms/support/lib/lcmsguide2019a.pdf> (2022年 7 月11日閲覧)
- 40) 島津製作所 (2021) GC-MS の基礎ガイド
<https://www.an.shimadzu.co.jp/gcms/support/faq/fundamentals/c146-0402.pdf> (2022年 7 月11日閲覧)
- 41) Shinkai H, et al. (2011) Porcine toll-like receptors: recognition of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis and influence of polymorphisms. Mol Immunol, 48: 1114-1120.
- 42) Sui HY, et al. (2009) Small interfering RNA targeting M2 gene induces effective and long term inhibition of influenza A virus replication. PLoS ONE, 4: e5671.
- 43) 須藤信行 (2017) 脳の機能に関与する腸内フローラと「脳腸相関」. Healthist, 242: 2-7.
- 44) 武本淳史ら (2011) 動物生産学 (畜産学) 分野におけるプロテオーム解析の展開. 近畿大学生物理工学部紀要, 28: 21-30.
- 45) Tang S. et al. (2020) Screening of microbes associated with swine growth and fat deposition traits across the intestinal tract. Front Microbiol, 11: 586776.
- 46) Tuggle CK, et al. (2010) Methods for transcriptomic analyses of the porcine host immune response: application to *Salmonella* infection using microarrays. Vet Immunol Immunopathol, 138: 280-291.
- 47) Vijay-Kumar M, et al. (2010) Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. Science, 328: 228-231.
- 48) Vijay-Kumar M, et al. (2008) Toll-like receptor-5: protecting the gut from enteric microbes. Semin Immunopathol, 30: 11-21.
- 49) Zhang J, et al. (2019) Microarray analysis reveals the inhibition of intestinal expression of nutrient transporters infected with porcine epidemic diarrhea virus. Sci Rep, 9: 19798.
- 50) Zhang L, et al. (2010) Transcriptomics and proteomics in the study of H1N1 2009. Genomics proteomics bioinformatics, 8: 139-144.
- 51) Zhou C, et al. (2020) Deep-sequencing identification of microRNA biomarkers in serum exosomes for early pig pregnancy. Front Genetics, 11: 536.

- 52) Zhu L, et al. (2014) Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection by recombinant adenovirus- and/or exosome-delivered the artificial microRNAs targeting sialoadhesin and CD163 receptors. *Virology*, 11: 225.