

絶食がめん羊の第1胃内容および 血中遊離アミノ酸に及ぼす影響

佐々木正雄・山谷 洋二・大谷 勲
(広島大学水畜産学部畜産学科)

Effects of Starvation on Rumen Liquid and
Amino Acids of Blood Serum in Sheep

Masao SASAKI, Yoji YAMATANI and Isao ŌTANI

*Department of Animal Husbandry, Faculty of
Fisheries and Animal Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama*

(Figs. 1-3; Tables 1-3)

一般に生体は正常な活動を維持していくために必要な各種栄養素を、食料、飼料または肥料といった形で体外から摂取することにより得ているが、飢餓、絶食などといった不足時においては、生体成分の一部を分解することにより生体自体からの抽出という形で補なっている。

反芻家畜では複胃という消化器官の特殊性のため、その消化機構ははなはだ複雑であり、ゆえに第1胃を専門に追求するルミノロジーという専門分野すら確立している。反芻家畜により摂取された各種栄養素は消化吸収される際、第1胃により特異な作用を受けることはよく知られている^{1),2)}。すなわち第1胃に流入した栄養素は胃内に生息する多数の微生物により嫌氣的発酵作用を受け、分解されてVFA、アンモニアといった形で一部は胃壁より吸収され、残りは第3胃へと送られる。第1胃の消化生理を考える際、第1胃そのものの作用機序とともに第1胃に存在する内容物の様子を調べることは重要である。さきに著者らは反芻家畜第1胃内容に影響を及ぼす諸要因のなかの一つとして飼料をとりあげ、飼料を急変させた場合、第1胃内に生ずるプロトゾア、VFA、全窒素、炭水化物、ビタミン等の変化を量的に調べて報告した³⁾。

本試験においては反芻家畜の第1胃内容に及ぼす諸要因のなかの一つとして絶食をとりあげ、絶食が第1胃内容液中の諸成分、特にアミノ酸組成に与える影響を観察し、血清中の遊離アミノ酸組成の変化と対比させながら検討した。

試 験 方 法

供試動物および飼養条件：本試験では第1胃部にフィステルを装置した、代謝ケージ内で飼育中の去勢めん羊2頭(48kg, 30kg)を使用した。給与飼料はアルファルファ・ヘイキューブと市販幼牛用配合飼料とし、それらを1:1の割合で1日体重あたり約2%、朝夕(9 A.M. 5 P.M.)2回にわけて14日間給与した後絶食させた。飲水は絶食後も自由に与えた。

血液および胃内容の採取法：血液は頸静脈より、胃内容は胃カテーテルを用いて絶食前日、絶食後2日、4日、6日および8日の合計5回にわたり採取した。なお絶食前日の血液、胃内容はともに朝9時の飼料給与前に採取した。したがってこれら試料は、最終飼料給与時(前日の5 P.M.)から16時間経過した後、採

取されたことになる。血液は1時間室温で放置した後 3×10^3 rpm で遠心分離を行ない、血清を得た。胃内容はガーゼ4枚でこした後、その滲液を $\times 10^4$ rpm (約 $\times 10^4$ g) 30分間遠心分離し、透明の上澄液を得た。

胃内容液の成分分析法：上記のようにして得た胃内容の上澄液について成分分析を行なった。VFAは水蒸気蒸留法による常法⁴⁾、アンモニアは KJELDAHL の窒素分析装置に試料 10~20 ml を加え、2N-KOH でアルカリ性とした後蒸留を行ない、放出される塩基性ガスをアンモニアとみなした⁴⁾。全窒素は常法どおり KJELDAHL 法により、全糖は DuBois ら⁵⁾ のフェール・硫酸法によりグルコース量として換算して行なった。

アミノ酸分析法：絶食前日絶食後4日および8日の血清および胃内上澄液についてアミノ酸分析を行なった。血清、胃内上澄液ともその 3 ml に 1%ピクリン酸溶液 15 ml を加え除たんばくした後、滲液をイオン交換樹脂(Dowex 2×8)に通してピクリン酸を除去し、ロータリーエバポレーターにて濃縮した。濃縮液を pH 2.2 に調整したクエン酸 Na・塩酸緩衝液で適度に稀釈し、その 0.5~1.0 ml (10~100 μ gN) をアミノ酸自動分析装置に吸着した。トリプトファンは SPIES ら⁶⁾ の p-DBS 法によった。

試験結果および考察

絶食前に給与した飼料の成分組成を Table 1 に示した。これらの飼料を 1 : 1 の割合で1日あたり体重の 2%給与した結果 TDN および DCP は 1号羊 (48kg) で 600 g および 118 g、2号羊 (30kg) で 375 g および 74 g となり、NRC 飼養標準に比し TDN で 50~65%、DCP で 90~120% となった。DCP 量が多かったのは粗飼料として使用したアルファルファの粗たんばく含量が 19.3% と非常に高かったためであるが、絶食前14日間における体重は両めん羊ともほぼ一定していたので、本試験のように代謝ケージ内で飼育する際の維持飼料としては、この給与量で十分であったと思われる。

Table 1. Chemical compositions of feeding stuffs

	(%)					
	Moisture	C. Protein	C. Fiber	C. Fat	N. F. E	C. Ash
Formula Feed	11.7	16.7	6.4	2.1	55.1	8.0
Alfalfa haycube	10.8	19.3	18.7	2.4	38.0	10.8

絶食による胃内上澄液の諸成分の変化を Fig. 1 に示した。反芻家畜の第1胃内の pH は一般に濃厚飼料多給時には下降し、粗飼料の割合が増加するにつれて上昇する⁷⁾と言われているが、通常の飼養条件では 6.0~6.5 の範囲でほぼ一定に保たれている。しかし絶食による胃内容液の pH の変化は著しく、絶食期間の進行と共に上昇し、8日後には両めん羊ともほぼ pH 8.0 近くにまで達した。胃内容液の pH は、主に酢酸、プロピオン酸、乳酸といった可溶酸としての低級脂肪酸、可溶性アンモニア、遊離の各種アミノ酸、血中から移行する重炭酸塩¹⁾、および唾液などの相互作用により恒常性を保たれている。絶食により低級脂肪酸、アンモニア、遊離アミノ酸はともに減少したが、唾液の第1胃への流入は絶食後も持続すると考えられ、唾液の pH が 8.0~8.3 とかなり高いところから⁷⁾、このような結果が得られたものと推察される。

VFA、アンモニアは前述のごとく共に胃内の pH を決定する主要因となっているが、Fig. 1 に見られるとおり VFA は絶食と共に急激するのに対し、アンモニアは8日後も絶食前の約1/2量が検出でき、これが胃内の pH を上昇させる一因として作用しているものと思われる。

本試験中においても観察されたことであるが、胃内微生物と胃内 pH との関係は興味深い。前述のごとく濃厚飼料多給時には胃内 pH は低く、この際には *Entodinium* を主体とした小型のプロトゾアが多数出現するが、粗飼料の割合が増し、胃内 pH が上昇すると *Diplodinium*, *Isotricha* といった大型のプロトゾアが増加してくる^{8),9)}。著者ら⁹⁾の研究によれば胃内に生息するプロトゾアは、絶食後4~5日で大部分が胃

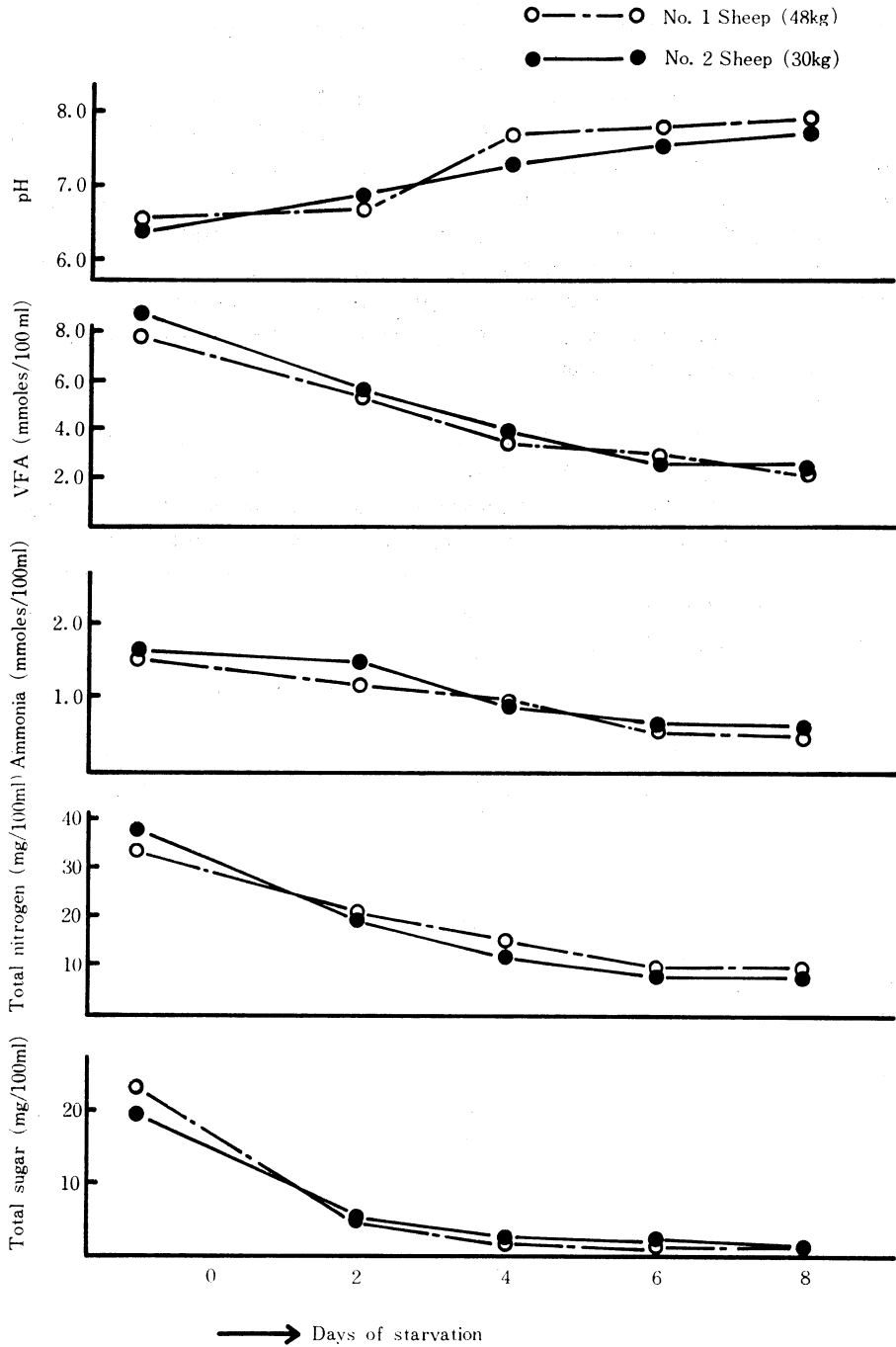


Fig. 1. Effects of starvation on pH, VFA, ammonia, total nitrogen and total sugar contents in sheep rumen liquid.

内より消失するが、大型プロトゾアは、比較的長期にわたって生存することが認められている。胃内 pH の変化による影響が、プロトゾアの種類によりかなり異なるという事実は、栄養要求性がやはりプロトゾアの種類により大幅に相違するといった事実とあわせて興味深い。

絶食によりプロトゾアは早期に消失するのに反し、胃内生息細菌群は絶食後もかなり長期にわたって生存していると考えられ、アンモニアの生産はこれら細菌群により、残留飼料片、唾液、胃壁からはく離細胞および崩壊したプロトゾアなどから得られる窒素源を利用して行なわれているのであろう。絶食後 4 日のアミノ酸総量は Table 2 で示したとおり 3.84 mg/100 ml (0.61 mgN/100 ml) ときわめて微量であり、絶食後の胃内容液では、全窒素の大部分がアンモニア態窒素で占められていたことが推察される。

全糖量の変化については、本試験で用いた測定法では、可溶性の全炭水化物を濃硫酸にて加水分解する際生ずる糖をすべてグルコースとみなしたのであるが、絶食後 4 日でほとんど消失してしまい検出されなかった。可溶性炭水化物は易発酵性物質であるため、第 1 胃内微生物により容易に利用されてしまい、一方、飼料から直接溶出される以外は、胃内で粘膜上皮や微生物により二次的に生産されるということも無いため、絶食と同時に急減したのであろう。

絶食前日および絶食後 8 日の血清中の遊離アミノ酸総量および組成を、Table 2 および Fig. 2 に示した。胃内上澄液については、絶食前日および絶食後 4 日のものについて、Table 2 および Fig. 3 に示して血清値と比較検討した。血清中の遊離アミノ酸総量は絶食後も減少せず、本試験結果では逆に 23.30 mg/100 ml から 25.86 mg/100 ml へと増加した。これに反し胃内上澄液中の遊離アミノ酸総量は絶食により急減し、4 日後にはすでに絶食前の値の 1/10 以下となった。6 日、8 日後のアミノ酸総量は微量で無視できる値であった。1 日あたりの飲水量は絶食後増加する傾向にあり、両めん羊ともさかんに飲水したため、胃内容は絶食期間の進行とともに経時的に稀釈されたものと考えられる。

Table 2. Amino acid concentrations of sheep blood serum and rumen liquid before and after starvation.

	Blood serum (mg/100 ml)		Rumen liquid (mg/100 ml)	
	Control	Starved for 8 days	Control	Starved for 4 days
Tryptophan	0.21	0.30	0.56	0.053
Lysine	1.45	2.81	3.17	0.239
Histidine	1.23	1.14	0.88	0.066
Arginine	1.42	1.63	1.04	0.125
Aspartic acid	0.57	0.46	6.62	0.480
Threonine	1.01	1.31	2.45	0.238
Serine	1.73	1.01	2.01	0.210
Glutamic acid	2.43	1.93	4.94	0.560
Proline	0.42	0.44	2.93	0.313
Glycine	4.32	6.25	2.21	0.193
Alanine	2.20	1.07	3.29	0.263
Cysteine	0.12	0.23	0.32	—
Valine	2.28	2.70	1.57	0.243
Methionine	0.18	0.07	1.12	0.043
Isoleucine	0.96	1.33	1.93	0.205
Leucine	1.39	1.93	2.24	0.313
Tyrosine	0.68	0.63	1.20	0.163
Phenylalanine	0.70	0.62	1.65	0.128
Total amino acids	23.30	25.86	40.13	3.835

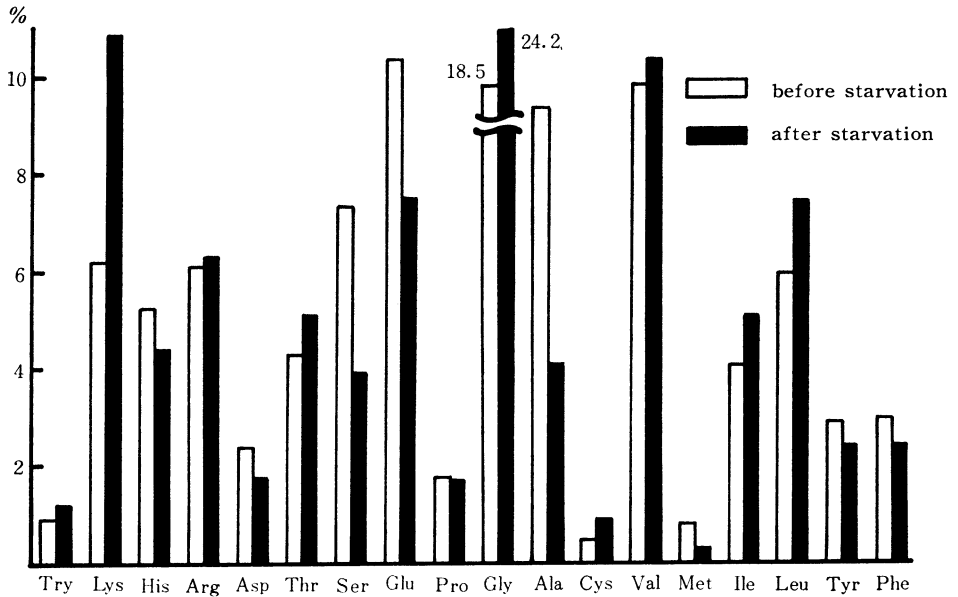


Fig. 2. Composition of free amino acids in sheep blood serum.

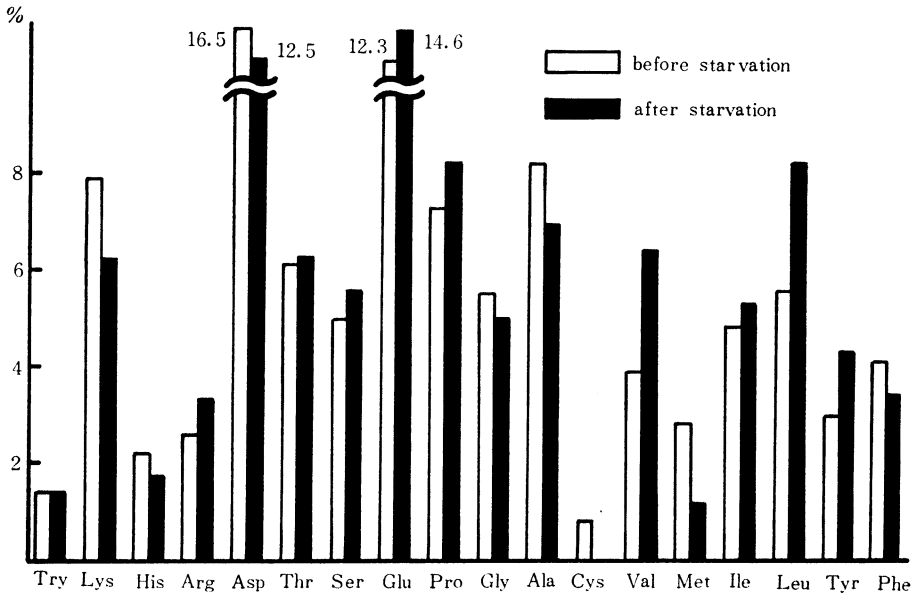


Fig. 3. Composition of free amino acids in sheep rumen liquid.

Fig. 2 および Fig. 3 に示したごとく、絶食による血清中と、胃内上澄液中の遊離アミノ酸組成を比較してみると興味深い知見が得られる。血清中では、絶食前および絶食後を通じて多量認められるアミノ酸は、グリシン、グルタミン酸、バリン、アラニンなどであるが、胃内上澄液中では絶食前ではアスパラギン酸が最も多く16.5%であり、このアミノ酸は絶食後4日のものでもグルタミン酸について多く認められた。アスパラギン酸およびグルタミン酸はともにカルボキシル基を2個有する酸性可欠アミノ酸であり、生体内ではトランスアミナーゼの作用によりオキサザロ酢酸および α -ケトグルタル酸から容易に合成されることが知

られている。第1胃内では嫌氣的条件下で発酵作用がたえず進行しているため、これらのアミノ酸は飼料から直接溶出してくるもの以外に、細菌群または胃粘膜上皮細胞により、ある程度合成される結果、上澄液中に比較的多く認められたものと推察される。

絶食による血中遊離アミノ酸組成の変化としてはリジン、グリシンが著しく増加し、一方グルタミン酸、アラニンが減少した (Fig. 2)。胃内上澄液のアミノ酸組成では絶食によりグルタミン酸、パリン、ロイシンが増加し、リジン、アスパラギン酸、アラニンが減少した (Fig. 3)。豚を長期にわたって低たんぱく飼料で飼育し、血液中の遊離アミノ酸パターンの変化を調べた GRIMBLE ら¹⁰⁾ の報告によれば、豚の成長が著しく阻害されるようになってはじめて、血中アミノ酸濃度および組成に変化が生じたとしている。8日間の絶食により体重は1号羊で9.3kg、2号羊で4.6kgと、ともに試験開始時より20%近く減少したので、両めん羊とも血清アミノ酸組成に絶食の影響が出ることは当然予測される。GRIMBLE らの前述の試験結果では、アラニン含量が減少し、かわってグリシン含量が増加している。本試験においても同様の傾向が認められたのであるが、彼等の解説しているとおりアラニンはブドウ糖新生 (Gluconeogenesis) のための、グルコースへ転換できる直接の前駆体であるため、エネルギー不足状態が続くと血中より組織内へ容易にとり込まれてしまい、他方血中アミノ酸総量を一定に保つ必要上、消失したアラニンを代償する意味で、最も合成容易なアミノ酸であるグリシンが、血中に増加したのであろう。

胃内上澄液では、血清での変化とは逆にグルタミン酸の割合が増加し、リジン、アスパラギン酸の割合が減少している。第1胃内のアミノ酸と血中遊離のアミノ酸とを関連づけて考えることは、複胃という反芻家畜の特殊な消化吸収機構から、単胃家畜ほど単純ではない。反芻家畜の場合、飼料中のたんぱく質は、第1胃内で微生物により、ほとんどが微生物の体たんぱく質へと転換されてしまい、したがって胃内容液中の遊離のアミノ酸量は、正常飼養時でも5~30 mg/100 ml と非常に少ない^{2),3)}。胃内アミノ酸は胃壁から直接吸収される可能性があるとして主張する研究者^{11),12)} もいるが、通常レベルのアミノ酸量では、飼料性のアミノ酸が胃壁から直接吸収されて血中に出現すると結論づけることには少々問題があろう。血中に出現するアミノ酸は飼料から直接移行したものでないと結論づけることより、従来いわれてきたように反芻家畜のたんぱく飼料は質 (アミノ酸の適度なバランス) よりも量、という概念が正当化されるのであろう。

不可欠アミノ酸の可欠アミノ酸に対する比 (E : N Ratio) を Table 3 に示した。反芻家畜において不可欠アミノ酸という考え方は前述のごとく少々問題があるが、一応ここでは Table 3 に示したように10種類を不可欠アミノ酸とみなした。血液遊離アミノ酸では E : N Ratio は0.87から絶食により1.15と増加、つまり不可欠アミノ酸の割合が増加したのに対して、胃内上澄液では0.71から0.75と有意な変動は認められなかった。アミノ酸比という概念は単胃動物ではかなり広く取り入れられており、たんぱく質の栄養価、生体の栄養状態の判定などに実用されている^{13),14)} が、反芻家畜では先に述べた理由によりほとんど用いられていない。しかし反芻家畜においてもすべてのアミノ酸が難易の差なく胃内で供給されるとは考えがたく、反芻

Table 3. Ratios of essential to non-essential amino acids in blood serum and rumen liquid before and after starvation. $\left(\frac{\text{EAA}}{\text{Non-EAA}} \right)$

	Starvation	
	before	after
Blood serum	0.87	1.15
Rumen liquid	0.71	0.75

EAA : Try Lys Thr Val Met
Ile Leu Phe His Arg

家畜特有のいわゆる「不可欠アミノ酸」といった考え方も将来必要になるものと予測される。今後反芻家畜でのアミノ酸代謝を考える場合、津田ら¹⁾の述べているごとく、第1胃を単なる飼料の貯蔵や発酵を行なう器官としてみるのではなく、積極的に物質代謝と関与している器官としてとらえていく事が大切であろう。

要 約

めん羊2頭を8日間絶食させ、絶食が第1胃内容液および血中遊離アミノ酸に及ぼす影響を検討した。

1. 絶食により胃内容液諸成分はVFA, アンモニア, 全窒素および全糖とも経時的に減少した。胃内 pH は絶食により上昇し、8日後には pH 8.0 に近づいた。
2. 遊離アミノ酸総量は、血液中では8日間の絶食によっても減少しなかったが、胃内上澄液では絶食4日後にすでに絶食前値の1/10以下となった。血中遊離アミノ酸組成は、絶食により、リジン、グリシンが増加し、グルタミン酸、アラニンが減少した。胃内上澄液では、グルタミン酸、バリン、ロイシンの割合が増加し、リジン、アスパラギン酸、アラニンの割合が減少した。
3. 不可欠アミノ酸の可欠アミノ酸に対する比(E:N Ratio)は絶食により血液で0.87から1.15へと増加したが、胃内上澄液では0.71から0.75となり、有意な変化は認められなかった。

文 献

- 1) ANNISON, E. F. and LEWIS, D.: *Metabolism in the Rumen*, Methuen, London (1959).
- 2) 梅津元昌編: 乳牛の科学, 第5版, p90-111, 農山漁村文化協会, 東京 (1968).
- 3) 佐々木正雄・山谷洋二・大谷 勲: 広島大学水畜産学部紀要, **11**, 53~58 (1972).
- 4) 森本 宏: 動物栄養試験法, 第1版, p428-431, 養賢堂, 東京 (1971).
- 5) DuBois, M.: *Anal. Chem.*, **28**, 350-361 (1956).
- 6) SPIES, J. R. and CHAMBERS, D. S.: *Anal. Chem.*, **21**, 1249-1261 (1949).
- 7) RUMSEY, T. S., PUTNAM, P. A., WILLIAMS, E. E. and SAMUELSON, G.: *J. Animal Sci.*, **35**, 1248-1256 (1972).
- 8) 佐々木正雄・山谷洋二・大谷 勲: 第60回日畜学会講演要旨集, p35, (1972).
- 9) EADIE, L. M.: *J. Gen. Microbiol.*, **39**, 563-572 (1962).
- 10) GRIMBLE, R. F. and WHITEHEAD, R. G.: *Br. J. Nutr.*, **24**, 557-564 (1970).
- 11) COOK, R. M., BROWN, R. E. and DAVIS, C. L.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 475-483 (1965).
- 12) MENAHAN, L. A. and SCHLTZ, L. H.: *J. Dairy Sci.*, **47**, 1086-1091 (1964).
- 13) SWENDSEID, M. E., TUTTLE, S. G., FIGUEROA, W. S., MULCARA, D., CLARK, A. J. and MASSEY, F. J.: *J. Nutr.*, **88**, 239-248 (1966).
- 14) YOUNG, V. R. and SCRIMSHAW, N. S.: *Br. J. Nutr.*, **22**, 9-20 (1968).

SUMMARY

The study, in which two sheep were put on fast for eight days was carried out in order to investigate the effects of starvation on rumen liquid and amino acids of the blood serum.

1) The constituents of rumen liquid—VFA, ammonia, total nitrogen and total sugar contents, all decreased rapidly as the starvation intensified. The pH value of the rumen liquid went up approximately to 8.0 on the eighth day of the fasting.

2) The level of total free amino acids of blood serum didn't vary significantly throughout the starvation. That of rumen liquid, on the other hand, decreased rapidly and resulted in a tenth of

the value of pre-experimental period on the fourth day of the fasting. The ratio of lysine and glycine increased but that of glutamic acid and alanine decreased in the blood serum as the effect of the starvation, while the ratio of glutamic acid, valine and isoleucine increased and that of lysine, aspartic acid and alanine decreased in rumen liquid.

3) As the result of the eight-day fasting the essential to non-essential amino acid ratio increased from 0.87 to 1.15 in the blood serum. However, no significant change of the ratio was observed in rumen liquid.