

## 無菌動物

|       |          |
|-------|----------|
| 誌名    | 栄養生理研究会報 |
| ISSN  | 02864754 |
| 著者    | 吉田, 勉    |
| 巻/号   | 16巻2号    |
| 掲載ページ | p. 21-34 |
| 発行年月  | 1972年10月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# 無 菌 動 物

— その栄養的特徴を中心に —

吉 田 勉 (都立立川短大)

## 1 はじめに

宿主からみて有用な消化管内微生物とは、代謝および代謝産物の生成、宿主組織の変化、異種微生物との共生拮抗などが、宿主に有利に働く微生物であり、逆ならば有害微生物である。

これらのことを検討する手段としては、抗生物質投与動物による実験とともに、無菌動物ないしは gnotobionte (存在する微生物のすべてが明確に知られている動物) による実験もきわめて有効である。

無菌動物の飼育、繁殖は米国インジアナ州ノートルダム大学 Reyniers 教授の手により 1940 年代に本格的成功をみた。無菌動物に関する全般的な知識を得る歴史的な成書としては Reyniers<sup>11)</sup> Luckey<sup>12)</sup>、宮川<sup>13)</sup> のものがあげられるけれども、最近の著書としては著者が総説<sup>14)</sup> 中に記したもののほか、Gordon ら<sup>15)</sup> の総説も参考になる。無菌動物飼育用のビニールアイソレーターとその使用に関しては前島ら<sup>16)</sup> による小冊子があり、その文末の文献も有用である。なお、無菌動物に関する研究を網羅して毎年発行されているものに Teah<sup>17)</sup> の文献集がある。

以下、本項では、はじめに消化管内微生物相を概観したのち、主に無菌動物の栄養的特徴に関して記し、あわせて無菌動物・gnotobionte の家畜 (家禽を含む、以下同じ) への応用につき言及する。

なお、反すう獣その他の大家畜を用いた無菌動物や gnotobionte の実験は極めて少なく、その成獣を用いた報告は皆無といえるため、ここには実験動物・鶏・豚を主にとりあげることとする。また対象となる微生物としては、研究の現状からしておおむね腸内細菌に限ることとする。

## 2 消化管内微生物相

消化管内常在微生物相およびその数は動物種によって異なり、たとえば糞中総菌数はラット・鶏・豚などでは  $10^{10}/g$  であるのに、反すう獣では  $10^7/g$  程度であり<sup>1)</sup>、表 1<sup>2)</sup> に示したように、

Table 1 The logarithms of the viable counts of different kinds of bacteria in the feces (g) of the animals<sup>2)</sup>

|        | <i>E. coli</i> | <i>Cl. welchii</i> | <i>Streptococci</i> | <i>Bacteroides</i> | <i>Lactobacilli</i> |
|--------|----------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| Cow    | 4.3            | 2.3                | 5.3                 | 0                  | 2.4                 |
| Sheep  | 6.5            | 4.3                | 6.1                 | 0                  | 3.9                 |
| Pig    | 6.5            | 3.6                | 6.4                 | 5.7                | 8.4                 |
| Rabbit | 2.7            | 0                  | 4.3                 | 8.6                | 0                   |
| Mouse  | 6.8            | 0                  | 7.9                 | 8.9                | 9.1                 |
| Man    | 6.7            | 3.2                | 5.2                 | 9.7                | 8.8                 |
| Chick  | 6.6            | 2.4                | 7.5                 | 0                  | 8.5                 |

糞中菌相にも差が認められる<sup>3)</sup>。

またこの微生物相・数は、年齢、生理状態、飼料あるいは環境などによっても変動するものであるが<sup>4)</sup>、単胃動物における消化管各部位の細菌数および特徴に関し、以下に略記する<sup>5)</sup>。

すなわち、胃やそのうでは内容物がつまっている状態ならば $10^5 - 10^7 / g$ の総菌数で、Lactobacilli が優勢で、乳酸さらには酢酸の生成が認められる。

小腸上部の総菌数は $10^6 - 10^8 / g$ で、Lactobacilli・Enterococci などが主で、乳酸などの生成と吸収が行なわれている。これら両菌群の腸管内各部の分布量はほぼ一定なので、小腸下部のように総菌数が $10^{10} - 10^{11} / g$ になると、総菌数中に占めるこれら菌群の比率はわずか0.1%程度になってしまう。小腸下部では盲腸内細菌相に似てきて、嫌気性菌が多くなり、酢酸生成量が増加する。

盲腸・虫垂では総菌数は $2 \times 10^{11} / g$ にも達し、消化管内でもっとも細菌数が多く、盲腸内容物中の20%を細菌体で占める。ほとんどが嫌気性菌で、Bacteroides・嫌気性Lactobacilli (Bifidobacteria など)・Clostridia<sup>4)</sup>・Catenabacteria<sup>5)</sup>などが多く、酢酸、プロピオン酸、酪酸(強嫌気性のFusiform 桿菌が揮発性脂肪酸とくに酪酸生成に関与<sup>18)</sup>)、 $C_5$ 酸、乳酸およびアルコール醗酵などが認められる。

結腸の総菌数は $10^{10} - 10^{11} / g$ である<sup>5)</sup>が、下記の糞中総菌数よりも低いという報告もある<sup>6)</sup>。盲腸同様の醗酵が起っているが、その量は少ない<sup>5)</sup>。人間における糞中総菌数は、 $10^9 - 10^{11} / g$ <sup>7)</sup>である。

### 3 無菌動物の栄養的特徴

既に著者は日本畜産学会報に総説を記した<sup>14)</sup>ため、ここでは主としてそれ以降の文献を紹介して行くこととするので、とくに記載のない文献については上記総説<sup>14)</sup>を参照されたい。

#### a 成長・繁殖・生存日数

通常群に比べて無菌群の成長は、げっ歯類ではやや劣るか大差のない例が多く、鶏やうずらでは初期の成長はよいけれども、その後逆転する例も報告されている。

ノートルダム大学ロバンド研究所の成績では、無菌繁殖に関し、マウス・ラットは20代以上、モルモットで4代<sup>19)</sup>、兎・うずらで3代、鶏で2代の繁殖例をみている。より大きな動物についての無菌繁殖例としては、犬の2代<sup>20), 21)</sup>繁殖以外にはほとんどない。







マウスでの生存日数をみると、無菌群は通常群よりも長命で、死亡時の体重も大であった。また、通常群では雌が長命なのに、無菌群では逆転した。

#### b 消化管

無菌群の胃・小腸壁は通常群よりも軽く薄く、粘膜固有層・細網内皮系は減少し、上皮組織は増加している。小腸粘膜表面積は無菌群のほうが小で(Table 2、Table 3)、とくに小腸下部で減少する<sup>9), 22)</sup>。ラット小腸の吸収面積は無菌群のほうが大で $895 \text{ cm}^2$ であり、通常群では

636 cm<sup>2</sup>という報告もある<sup>22)</sup>。

Table 2 Mucosal surface area and dimensions of average villi in the small intestine of germ-free and conventional male rats<sup>9)</sup>

| Item measured                | Part of small intestine   |   |   | Total    |
|------------------------------|---|---|---|----------|
|                              | Upper third   | Middle third  | Lower third   |          |
| GERM-FREE RATS               |   |   |   |          |
| Mucosal area (sq cm)         | 249 ± 29  | 144 ± 23  | 73 ± 14   | 466 ± 37 |
| Average villus<br>↓ = 0.1 mm |  |  |  |          |
| CONVENTIONAL RATS            |   |   |   |          |
| Mucosal area (sq cm)         | 296 ± 20  | 263 ± 24  | 112 ± 16  | 671 ± 35 |
| Average villus<br>↓ = 0.1 mm |  |  |  |          |

Seven rats in each group; 115 to 123 days of age; L-356 sterilized.  
Values for mucosal area are means ± S.D.

Table 3 Differences in the gastrointestinal tract between conventional and germ-free animals<sup>8)</sup>

| Items compared                 | Conventional animals (%) | Germ-Free animals (%) |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Mucosal surface                | 100                      | 70                    |
| Mucosal cell turnover          | 100                      | 60 to 70              |
| Hydration                      | 100                      | 90                    |
| Lamina propria                 | 100                      | 85                    |
| Reticuloendothelial elements   | 100                      | 30                    |
| Passive xylose transfer        | 100                      | 200                   |
| Portal blood NH <sub>3</sub>   | 100                      | 25                    |
| Cecal nonprecipitable nitrogen | Low                      | High                  |
| Urea hydrolysis                | 25% of daily excretion   | None                  |
| Bile acid hydrolysis           | Present                  | Absent                |

無菌げっ歯類の盲腸は異常に膨張するが、この現象は他の動物では余り認められない。盲腸の大きさ、*E. coli* 数、腸管組織および粘膜結合菌相の発達が通常群と同じになるのには、50種の嫌気性菌と80種の好気性菌を定着させることが必要であったという<sup>23)</sup>。盲腸壁の新鮮物・乾物重量はラットでは無菌群のほうが重く、とくにその筋肉組織において著しい。

無菌群の盲腸内容物および糞中水分含量が高いことも特徴である。盲腸内容物中N、水溶性蛋白質、ペプチドおよびhexosamine含量は、マウス・ラットでは無菌群のほうが高い(兎では各種N含量はこれと逆であることがTable 4のとうり知られている<sup>27)</sup>)。無菌ラットを用いて内因性糖蛋白質の組成をしらべ、N-Acetylglucosamine, N-Acetylgalactosamineおよびガラクトースがそれぞれ約20%を占めることがわかった<sup>24)</sup>。

Table 4 The pH values and N fractionations of cecal contents and hard and soft feces in conventional(CV) and germfree(GF) rabbits<sup>27)</sup>

|                   |                    | pH                       | Total N<br>(A)               | Amino acid N<br>(B)          | Protein N                | Non-amino<br>acid N(A-B)     |
|-------------------|--------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Stomach           | CV(3) <sup>1</sup> | 2.37 ± 0.08 <sup>2</sup> |                              |                              |                          |                              |
|                   | GF(2)              | 2.28 ± 0.13              |                              |                              |                          |                              |
| g/100g dry sample |                    |                          |                              |                              |                          |                              |
| Cecal<br>contents | CV(3)              | 7.17 ± 0.28              | 6.75 ± 0.96                  | 3.79 ± 0.84                  | 4.47 ± 0.81              | 2.96 ± 0.13                  |
|                   | GF(2)              | 7.32 ± 0.07              | 4.24 ± 0.29                  | 2.47 ± 0.07                  | 1.26 ± 0.11 <sup>3</sup> | 1.77 ± 0.22 <sup>3</sup>     |
| Hard<br>feces     | CV(3)              | 8.20 ± 0.15              | 3.24 ± 0.47 <sup>4</sup>     | 2.31 ± 0.45                  | 2.93 ± 0.47              | 0.93 ± 0.06 <sup>4</sup>     |
|                   | GF(3)              | 7.13 ± 0.18 <sup>3</sup> | 2.12 ± 0.12 <sup>4</sup>     | 1.32 ± 0.09 <sup>3,4</sup>   | 1.14 ± 0.04 <sup>3</sup> | 0.80 ± 0.05 <sup>4</sup>     |
| Soft<br>feces     | CV(3)              | 6.65 ± 0.12 <sup>5</sup> | 6.34 ± 0.58 <sup>5</sup>     | 4.52 ± 0.52 <sup>5</sup>     | 5.06 ± 0.40 <sup>5</sup> | 1.82 ± 0.05 <sup>4,5</sup>   |
|                   | GF(3)              | 7.20 ± 0.03 <sup>3</sup> | 3.49 ± 0.07 <sup>3,4,5</sup> | 2.21 ± 0.04 <sup>3,4,5</sup> | 1.07 ± 0.13 <sup>3</sup> | 1.28 ± 0.04 <sup>3,4,5</sup> |

1. Number in parentheses indicate number of rabbits
2. Mean ± standard error
3. Difference from CV is significant at p<0.05
4. Difference from cecal contents is significant at p<0.05
5. Difference from hard feces is significant at p<0.05 using paired sample t test

ラットの実験で<sup>66)</sup>、80%エタノール可溶性N、および胨臓酵素・ムコ蛋白質区分を示す80%エタノール不溶・10%三塩化酢酸可溶性Nは通常群に比べて無菌群に多く、また腸上皮のN区分を示す80%エタノール・10%三塩化酢酸不溶性Nは無菌群にやや少なくて、飼料中たん白質含量の影響をうけないという。

無菌兎の盲腸内容物および糞は通常群よりも必須アミノ酸/総アミノ酸が小であり、無菌ラット・兎の糞ではリジン・メチオニンなどの必須アミノ酸が通常群より少なく(Table 5はYoshidaら<sup>53)</sup>から計算)、通常群における食糞の意義がこの面からも示された。

無菌ラット盲腸内Cl濃度は著しく低く、Cl型陰イオン交換樹脂を2-8週間投与して無菌ラットの盲腸膨脹をかなり緩和することができたという。

Table 5 Amino acid pattern of diet, cecal contents and hard and soft feces in conventional (CV) and germfree (GF) rabbits.

| Amino acid                           | Diet | Cecal contents       |                       | Hard feces            |                        | Soft feces           |                         |
|--------------------------------------|------|----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|-------------------------|
|                                      |      | CV (3) <sup>1</sup>  | GF (2)                | CV (3)                | GF (3)                 | CV (3)               | GF (3)                  |
| % of the total amount of amino acids |      |                      |                       |                       |                        |                      |                         |
| Gly                                  | 4.1  | 5.6±0.3 <sup>2</sup> | 5.5±0.0               | 4.4±0.2 <sup>4</sup>  | 5.6±0.2 <sup>3,4</sup> | 5.1±0.0 <sup>5</sup> | 5.5±0.1 <sup>3</sup>    |
| Ala                                  | 5.0  | 6.6±0.3              | 5.2±0.0 <sup>3</sup>  | 6.3±0.2               | 5.6±0.2 <sup>3</sup>   | 6.4±0.0              | 5.5±0.0 <sup>3,4</sup>  |
| Val                                  | 5.4  | 6.8±0.4              | 5.2±0.1 <sup>3</sup>  | 6.5±0.1               | 5.9±0.2 <sup>3,4</sup> | 6.4±0.2              | 5.2±0.2 <sup>3</sup>    |
| Leu                                  | 9.4  | 8.0±0.5              | 7.3±0.3               | 10.7±0.5 <sup>4</sup> | 8.6±0.4 <sup>3,4</sup> | 8.5±0.1              | 7.8±0.4                 |
| Ileu                                 | 4.9  | 5.2±0.1              | 4.2±0.2 <sup>3</sup>  | 5.6±0.2               | 4.6±0.2 <sup>3</sup>   | 5.3±0.1              | 4.2±0.2 <sup>3</sup>    |
| Ser                                  | 5.1  | 6.0±0.4              | 5.8±0.0               | 5.2±0.2               | 6.6±0.5 <sup>3</sup>   | 5.3±0.0              | 5.9±0.2 <sup>3</sup>    |
| Thr                                  | 4.3  | 7.4±0.5              | 6.1±0.3               | 5.8±0.1 <sup>4</sup>  | 7.3±0.4 <sup>3,4</sup> | 6.4±0.2 <sup>5</sup> | 6.2±0.2                 |
| Phe                                  | 5.0  | 4.1±0.2              | 3.3±0.1 <sup>3</sup>  | 6.4±1.6               | 4.3±0.2 <sup>4</sup>   | 4.5±0.1              | 3.6±0.1 <sup>3,4</sup>  |
| Tyr                                  | 2.8  | 3.8±0.1              | 2.6±0.1 <sup>3</sup>  | 2.7±0.1               | 2.5±0.1                | 3.5±0.2              | 2.3±0.0 <sup>3,4</sup>  |
| Try                                  | 0.7  | 1.5±0.1              | 1.4±0.3               | 0.9±0.1 <sup>4</sup>  | 0.9±0.2                | 0.9±0.0 <sup>4</sup> | 0.8±0.1 <sup>4</sup>    |
| Pro                                  | 6.1  | 5.0±0.6              | 6.0±0.1               | 4.8±0.1               | 5.8±0.3 <sup>3</sup>   | 4.7±0.1              | 5.6±0.1 <sup>3,4</sup>  |
| Cys                                  | 1.3  | 2.4±0.6              | 3.1±0.1               | 1.4±0.1               | 2.6±0.5 <sup>3</sup>   | 2.4±0.4              | 2.9±0.2                 |
| Met                                  | 1.3  | 1.7±0.2              | 1.2±0.0               | 1.4±0.0               | 1.0±0.1 <sup>3</sup>   | 1.7±0.0 <sup>5</sup> | 0.8±0.1 <sup>3,4</sup>  |
| Asp                                  | 10.4 | 12.3±0.1             | 15.4±0.3 <sup>3</sup> | 10.7±0.1 <sup>4</sup> | 10.8±2.5               | 11.9±0.6             | 14.8±0.3 <sup>3</sup>   |
| Glu                                  | 22.5 | 11.6±2.5             | 16.5±0.3              | 16.0±0.5              | 16.9±0.5               | 15.9±0.2             | 18.3±0.1 <sup>3,4</sup> |
| Lys                                  | 4.8  | 6.8±0.6              | 5.3±0.2               | 6.0±0.2               | 5.0±0.2 <sup>3</sup>   | 6.5±0.2              | 5.1±0.1 <sup>3</sup>    |
| Arg                                  | 4.8  | 3.6±0.2              | 3.7±0.4               | 3.3±0.1               | 3.6±0.1 <sup>3</sup>   | 3.6±0.2              | 3.3±0.1                 |
| His                                  | 2.1  | 1.6±0.1              | 2.2±0.0 <sup>3</sup>  | 1.9±0.1 <sup>4</sup>  | 2.4±0.1 <sup>3</sup>   | 1.8±0.0              | 2.2±0.1 <sup>3,5</sup>  |
| Total                                | 100  | 100                  | 100                   | 100                   | 100                    | 100                  | 100                     |

1. Numbers in parentheses indicate number of rabbits.

2. Mean  $\pm$  SE.

3. Difference from conventional, significant at  $P < 0.05$ .

4. Difference from cecal contents significant at  $P < 0.05$ .

5. Difference from hard feces significant at  $P < 0.05$  using paired sample  $t$  test.

### c 消化吸収・酵素

兎の飼料のみかけの消化率は無菌群が通常群よりも劣り、成分別では可溶性無N物(ラットも<sup>25)</sup>、粗繊維が悪く、一方、粗脂肪・粗たん白質・純たん白質は無菌群の方がよかった。粗脂肪につき鶏・ラット(γ線滅菌時のみで、蒸気滅菌時は逆<sup>25)</sup>、マウス<sup>26)</sup>で、飽和脂肪酸につきマウスで、粗・純たん白質につきマウス・うずらで、同様な結果を得ている。

しかし、ラットでたん白質の真の消化率は無菌群のほうが劣るという報告もあるが、生物価は勝り、真の消化率×生物価としては、結局無菌群のほうが優れていた。ただし、鶏のたん白質のnet protein utilizationは両群とも同様であり、マウス<sup>26)</sup>やうずらのたん白質蓄積率は無菌群が劣るという報告があり、動物種や飼料の違いをさらに検討すべきである。

吸収に関しては、アミノ酸(マウス・鶏)、パルミチン酸・ステアリン酸(鶏)・Ca(ラット)・Fe(マウス)・ビタミンB<sub>1</sub>については無菌群のほうがよく、キシロースでは逆であった。オレイン酸・リノール酸の吸収は、鶏では無菌群がやや劣ったが、ラットでは通常群と差がなかった。Na・K(マウス)やビタミンB<sub>12</sub>(ラット)の吸収に関しては無菌・通常両群間に差を認めない。小腸壁のdisaccharase類の活性は無菌ラット・兎の方が通常群より高く、単糖類のみからなる液体飼料を給与しても固型飼料の際と同様な酵素活性で、この点は膵臓の消化酵素についても同じであった<sup>28)</sup>。腸壁のアルカリphosphatase<sup>29)</sup>、腸brush borderの2種のATPaseやCa結合たん白質も無菌群のほうが大であった<sup>30,31)</sup>。SPFラットのmaltase・ATPase活性なども通常群より優れていた<sup>32)</sup>。また兎の小腸・大腸壁のamylase活性も無菌群のほうが高かった。

鶏膵臓中のtrypsin・amylase活性は加熱大豆飼料では無菌・通常両群間に差は認められなかったのに、生大豆飼料では無菌群の方が低かったということは、飼料による活性の差を示している。

小腸・大腸内容物の酵素活性は概して無菌群の方が高いけれども、24日令の鶏でdisaccharase活性が、小腸では無菌・通常両群間で等しく、大腸では無菌群が低いことが認められ<sup>33)</sup>、やはり動物種により違いのあることは注意する必要がある。なお鶏においては、乳糖は細菌Lactaseで分解を受けるという<sup>33)</sup>。

血清・肝・腎臓のアルカリphosphataseや肝・腎臓のCatalase活性は無菌・通常両群に差がなく<sup>31)</sup>、肝臓のXanthin oxidase活性は若令では無菌群が低く、高令では逆であった<sup>34)</sup>。

### d 熱量素・ステロイド

無菌ラットの代謝活性は通常群に比べて低い。

ラットのブドウ糖耐性試験では、無菌・通常両群に差を認めない報告と、無菌群の方が血漿からのブドウ糖消失が遅いという結果とがあり、一定していない。

熱量制限下の無菌乳幼ラット脳内のグルタミン酸・グルタミン・アラニンは、通常群に比べ著し

く低下した。無菌マウスのアミノ酸要求量は通常群よりも少ないようで、リジン<sup>35)</sup>やトリプトファン<sup>36)</sup>では通常群の2/3程度で、アミノ酸合成飼料による gnotobiot ouse マウスの成長は0.4-0.6%リジン群が最高であった。また、無菌ラットの方が通常群よりもメチオニン欠乏に耐性があることも、メチオニン要求量の低い可能性を示している。

無菌ラット肝臓からの胆汁酸分泌量は通常群の3倍もあって結合型が多く、腸管からの胆汁酸再吸収は無菌群で99.5%、通常群で97%である。無菌鶏・豚での観察によると、allocholic acid や hyodeoxycholic acid などは第一次生産胆汁酸であるという<sup>37)</sup>。無菌・通常両群の血清コレステロール含量については一定の傾向を認め難いが、肝臓コレステロール含量は概して無菌群の方が大である。胆汁色素 bilirubin → urobilin の変化は無菌ラットでは認められず、*Clostridium* の単独汚染で認められ、*E. coli* の重感染でその量は増大し、このことは試験管内でも確かめられた<sup>38)</sup>。

#### e 無機質

ラットの尿中無機質排泄は、Mg・K・Naでは無菌・通常両群間に大差なく、Caでは無菌群の方が著しく多く(兎でも)、Pでは無菌群の方が少なかった(兎は逆)。無菌ラット、うずらにおけるCa・Mg・Pの体内蓄積は通常群よりもよく、無菌ラットのNa蓄積も同様<sup>30)</sup>であったが、K蓄積には差が認められなかった。脛骨中の灰分・Ca・Mg・P<sup>34)</sup>・Zn<sup>31)</sup>含量は無菌ラットの方が通常群より大で、加齢とともに増大していた。

Fe・Cuの要求量は、無菌ラットの方が通常群より低いことを推定させる結果がある。Feのみかけの消化率および蓄積率は無菌ラットの方が劣る<sup>31)</sup>。Znについてはこれらの率は無菌・通常両群に差はない<sup>31)</sup>けれども、Zn要求量は無菌群の方が低く、*Str. sp.* や *Sta. epidermis* はZn要求量に影響を及ぼすという<sup>39)</sup>。

#### f ビタミン

通常動物に要求されるビタミンはすべて無菌動物にも必要である。腸内微生物が合成しうるビタミン(例、B群やK)の欠乏に対しては、一般に無菌群の方が抵抗性がない。

ビタミンA欠乏に対する抵抗性は、ラット・鶏で無菌群の優れている例や、ラットで両群間に差のない報告、モルモットで無菌群の劣ることも知られ一定していないが、ラットでは無菌群のほうが勝るといえそうである<sup>40, 65)</sup>。

ビタミンD欠乏への抵抗性については無菌・通常両群間の差は明らかでなく、B欠乏については、鶏では両群間に差が認められず、ラットで無菌群の欠乏耐性が大であったという。

腸内細菌により合成されるビタミンKが宿主に利用され、宿主の要求量が満たされることはよく知られている。無菌ラットのK欠乏耐性は雌の方が勝り、無菌雄ラットのK<sub>1</sub>要求量は飼料100gあたり20μg程度で、1分子あたりのmenadioneの効力はK<sub>1</sub>の1/10である。ビタミンA含量がふえると無菌ラットのK欠乏症状は加速される。

ビタミンB<sub>1</sub>・B<sub>2</sub>・B<sub>6</sub>・ニコチン酸・パントテン酸・B<sub>12</sub>・葉酸・ビオチンなどは、腸内微



生物により合成され、あるものは食糞を通じて（例、ラット・鶏でパントテン酸）または直接（例、ラット・鶏で葉酸）腸管から吸収利用される。ラットで $B_{12}$ <sup>41)</sup>、鶏で $B_1$ ・パントテン酸の必要量は無菌群の方が通常群よりも低いが、ラット成長時の $B_1$ 必要量は両群で同じであるという。

一方、飼料中のコリン・オロツト酸・ビタミンCは腸内微生物が利用分解するので、それらの要求量は無菌群の方が通常群よりも低いようである。

#### 4 無菌動物・gnotobioticの家畜への応用

##### a 無菌・gnotobiotic家畜を利用した研究

家畜における病原性微生物の検索：

無菌鶏に対して、*Alcaligenes faecalis*・*B. subtilis*・*Sta. albus*の単独汚染は心臓疾患による死亡を招き、*Cl. sporogenes*・*Cl. perfringens*は腸壁を損傷し、後者は成長を阻害し、細網内皮系細胞や血中リンパ球を増加する<sup>42)</sup>。一方、*Str. faecalis*・*B. cereus*・*Cl. bif fermentans*などは悪影響がないという報告がある<sup>42),43)</sup>。

無菌七面鳥に対しては、*Escherichia intermedia*・*Str. faecalis*・*L. fermenti*・*B. cereus*などは悪影響がなく、*Mycoplasma gallinarum*（鶏も<sup>56)</sup>）の単独汚染は慢性呼吸器疾患を生ずる<sup>42)</sup>。

無菌豚に対して *E. coli* のある種は病原性があり<sup>42),44)</sup>、胃腸炎の原因菌となりうることが知られており、激しい腸炎で死亡した豚や乳牛の組織からほぼ純粋に *E. coli* を分離している<sup>45)</sup>。しかし、無菌豚に *L. bifidus* D-20 を単独汚染させると  $10^{11}$ 個/糞 $1g$ になり、*L. acidophilus* や溶血性 *E. coli* O:26 が存在していてもその菌数は変化せず、とくに *E. coli* O:26 の病原性を抑える。そして、幼豚人工乳へ *Bifidobacterium* を添加するとその健康や一般の状態がよくなる。また通常化した豚をテトラサイクリン添加豚スターター用飼料で飼育すると、*L. bifidus* は腸管から除去されるようであるが、下痢や体重ロス是对照群より少ない<sup>46)</sup>。なお、豚コレラはウイルス感染によって起り、細菌の二次感染は無関係なことが示された<sup>47)</sup>。豚腸管内 *E. coli* は絨毛をおおう単純酸性ムコ多糖類層上又は内に存在し増殖するが、*mucinase* 生産により腸壁の機械的保護と潤滑機能を減少し、それがある種の腸疾患の原因となっているという仮説は否定的である<sup>48)</sup>。

無菌山羊に対して *B. subtilis* の病原性は認められなかった<sup>42)</sup>。

飼料成分による消化管内微生物の意義の差：

鶏に生脱脂大豆を給与すると加熱脱脂大豆給与時よりも増体が遅れ、消化管内微生物が存在するとその成長はさらに低下する<sup>49)</sup>。この理由としては、微生物の存在により消化生成物の利用が悪くなるか、あるいは生大豆中の熱不安定物質の毒性が微生物によって増すかの可能性が考えられている。

一方、フィッシュソルブルを給与した実験では、無菌鶏への成長効果はわずかなのに、無菌鶏に新

鮮または滅菌した通常鶏の糞尿を同時に投与するとその成長効果は著しかった。すなわち、フィッシュソルブルの成長促進効果は、全面的とは言えないが消化管内微生物の存在によるところが多いのである<sup>50)</sup>。

上記の2例のように、給与する飼料によって消化管内微生物の意義の異なる事実が認められ、かかる問題についてはさらによく究明される必要がある。

抗生物質の効果の検討：

抗生物質の投与は消化管内有害微生物の活動を抑圧し<sup>9)</sup>、腸炎防止・腸粘膜更新速度低下<sup>8)</sup>・ビタミンその他栄養素の消化吸収増加などにより、成長促進や飼料効率の改善をもたらすことはよく知られている。しかし、正常な消化管内菌相の変化が起り、有害微生物の増加をまねきそれに対する宿主の防衛作用を乱すこともある。すなわち、消化管内菌相の変化が宿主に有利に働くか否かは、多くの因子の関与があると思われるので種々の面からの検討が望まれる。

無菌鶏あるいは *E. coli*・*L. lactis*・*Str. liquefaciens* 3種の菌を有する鶏に *Cl. welchii* (*Cl. perfringens*) A型を汚染させると成長率が低下し、上記3種の菌の単独汚染鶏では無影響であった<sup>51)</sup>。ところが、ペニシリン投与で *Cl. welchii* 単独汚染鶏の成長は無菌群と同じになったので、Levら<sup>51)</sup>は、鶏の成長に *Cl. welchii* が悪影響を及ぼすことおよびペニシリンの効果がここにあることを推論した。

しかし、*Cl. welchii* は鶏の盲腸や糞中に余り存在せず、また上記の様な影響を認めない実験<sup>52)</sup>もあり、Eyssenら<sup>52)</sup>は *Str. faecalis* が鶏の成長率低下をもたらし、抗生物質投与でこの菌が除去され、その結果、鶏の成長が改善されると報じている。

#### b) SPF動物の畜産への導入

実験動物中に病原性微生物が潜在していると、実験中に動物が衰弱死亡したり、実験に不測の誤差を与えたりする。とくに慢性毒性や老人病・老衰などの長期実験のためには、潜在感染による障害の少ないSPF動物の需要が増大している。SPF動物を得るには、無菌動物の作出と同様な方法で無菌胎児の摘出・無菌卵のふ化を行ってから、清浄な環境で自然に微生物を定着させてSPF化し、規制された環境で維持飼育することが一般化している。

(マウスでは抗生物質を2代にわたって投与して、ほぼ無菌化<sup>54)</sup>したのちSPF動物にすることも成功している)。

SPF動物の畜産面における利用としては、SPF鶏・七面鳥<sup>55,56)</sup>、SPF山羊あるいはとくにSPF豚<sup>55,58-62)</sup>の飼育管理の研究が活発である。

SPF豚生産は、経済的に損失の大きくしかも他の方法では抑制しにくい萎縮性鼻炎やウイルス性肺炎(これらは極めて感染しやすい幼豚期に母豚から直接感染する)の防止のために行なわれている。無菌摘出の豚胎児は、数週間ないし数ヶ月間はSPF豚飼育地域において維持され、これらの疾病に充分耐える大きさになったのちに、清潔な畜舎に戻り、SPF豚飼育群の核となって第二世代を作ることとなる。SPF豚の飼育により、養豚時の衛生管理面の改善とともに、肉生産性の

向上という経済効果が得られる。(SPF豚の体重は通常豚に比べて、56日令で30%、154日令で25%重いという<sup>55)</sup>)。ただし、このようなSPF豚生産法では、土壌由来の寄生虫は防止できず、初乳を飲ませない幼豚は*E. coli* のようなものにも感受性が強く腸炎などを起すが、後者の点はSPF乳母を用いれば解決する<sup>55)</sup>。

SPF鶏としては、慢性呼吸器障害を起すマイコプラズマ病のみならず、ニューカッスル病、ひな白痢その他の病気にかかっていない鶏の作出に成功している<sup>55,56)</sup>。

## 5 おわりに

無菌動物の研究に関しては、今後とくに、無菌動物用の微生物検索法をより徹底し、あわせてより完全に近い無菌動物を得るための技術開発は大切である。とくに無ウイルス動物や完全無抗体動物の作出は有意義である。後者に関しては、Diaflo 限外濾過膜を使用した研究<sup>63)</sup>や、化学組成の明確な液体飼料給与ラットは通常群で脾臓疾患が認められるのに無菌群では治ること<sup>64)</sup>、などが知られた。一方、現在の無菌動物飼育が栄養学的に望ましいものであるか否かの検討も充分になされる必要がある。

既述のような実験動物としての意義もさることながら、産業動物としての無菌・SPF家畜は、今や大きな関心事となっている飼料添加剤などの抗生物質の使用を必要とせず、また、ある種の薬品投与の問題を排除しうる家畜である。したがって、安易な生産手段に附随する食品としての安全性への懸念をとり除き得る一方法としても、無菌・SPF飼育に関する研究開発は有意義である。その点、反すう獣を含めた各種の無菌・SPF家畜に関する応用研究は、今後の畜産学における重要な分野の一つであると考えられる。

(無菌動物飼育技術そのものが、一つの精密な総合的生物学システムであることは、宇宙科学・医学などの別の面の応用開発にも役立っている<sup>14)</sup>)。

## 文 献

- (1) 平戸勝七篇：獣医微生物学(上)、p 65、養賢堂(1964)
- (2) 尾形学ら：家畜微生物学、p 246、朝倉書店(1970)
- (3) 西川哲三郎：日畜会報、27、161(1956)
- (4) 吉田 勉：昭和学院栄養科学研究所報告№2、40(1972)
- (5) Moore, W.E.C:Current Research On the Anaerobic Flora of the Gastrointestinal Tract, in (10), p107(1969)
- (6) Gorbach, S.L.:Gastroenterology, 60, 1110 (1971)
- (7) Gorbach, S.L. et al.:Intestinal Flora in Health and in Gastrointestinal Diseases, in progress in Gastroenterology vol. II ed. Glass, G.B.J., p252, Grune & Stratton, New York & London (1970)
- (8) Visek, W.J.:Discussion on Advances, Problems, and Future Research Need on Use of Drugs in Feeds, in (10), p135 (1969)
- (9) Wostmann, B.S.:The Gnotobiotic Animal as a Research Tool. in (10), p123 (1969)
- (10) National Academy of Sciences:The Use of Drugs in Animal Feeds, p 407, National Academy of Sciences, Washington, D.C. (1969)
- (11) Reyniers, J.A.:Germfree Vertebrate:Present Status, Ann.N.Y.Acad. Sci., 78, 1 (1959)
- (12) Luckey, T.D.:Germfree Life and Gnotobiology, Academic Press, New York (1963)
- (13) 宮川正澄：無菌動物、医歯薬出版(1963)
- (14) 吉田 勉：日畜会報、43、1 (1972)
- (15) Gordon, H.A. & Pesti, L.:Bact. Rev., 35, 390 (1971)
- (16) 前島一淑・森田茂男・田嶋嘉雄・柴田俊夫：ビニールアイソレーター組立と操作、東大医科研非売品(1969)
- (17) Teah, B.A.:Bibliography of Germfree Research, 1964, ..., 1969 Supplement, Lobund Lab., Univ. Notre Dame, (1964...1969)
- (18) Lee, A. & Gemmell, E.:Infection and Immunity, 5, 1 (1972)
- (19) Pleasants, J.R., Reddy, B.S., Zimmerman, D.R., Bruckner-Kardoss, E. & Wostmann, B.S.:Zschr. Versuchstierk., 9:195 (1967)
- (20) Heneghan, J.B., Longoria, S.G. & Cohn, Jr., I.:Gnotobiotic beagles :Maintenance, Growth and Reproduction, in Defining the Laboratory

- Animal, p597, National Academy of Sciences, New York (1971)
- (21) Heneghan, T.B., Longoria, S.G. & Chon, Jr., I.: Reproduction in germfree beagles, in *Germfree Biology* ed. Mirand, E.A. et al., p367, Plenum Press, New York (1969)
- (22) Meslin, J.C.: *Ann. Biol. Anim.*, 11, 334 (1971)
- (23) Syed, S.M., Abram, G.D. & Freter, R.: *Infection and Immunity*, 2, 376 (1970)
- (24) Wold, J.K., Khan, R. & Midtvedt, T.: *Acta Path. microbiol. Scand.*, B79, 525 (1971)
- (25) Hiller, H.H. & Schoen, A.: *Z. Tierphysiol. Tierernäh. u. Futtermittelk.*, 28, 12 (1971)
- (26) 山中聖敬・岩井宏・斉藤宗雄・山内忠平・野村達次: *日畜会報*, 43, 272 (1972)
- (27) Yoshida, T., Pleasants, J.R. & Westmann, B.S.: *Jap. J. Zootech. Sci.*, 43, 284 (1972)
- (28) Reddy, B.S., Pleasants, J.R. & Westmann, B.S.: *J.Nutr.*, 95, 413 (1968)
- (29) Yolton, D.P., Stanley, C. & Savage, D.C.: *Infection and Immunity*, 3, 768 (1971)
- (30) Reddy, B.S.: *Fed. Proc.*, 30, 1815 (1971)
- (31) Reddy, B.S., Pleasants, J.R. & Westmann, B.S.: *J.Nutr.*, 102, 101 (1972)
- (32) Hietanen, E. & Hänninen, O.: *Scand. J. Gastroent.*, 6, 127 (1971)
- (33) Siddons, R.C. & Coates, M.E.: *Brit.J.Nutr.*, 27, 101 (1972)
- (34) Reddy, B.S. & Pollard, M.: *J.Nutr.*, 102, 299 (1972)
- (35) Stoewsand, G.S., Dymysa, H.A., Ament, D. & Trexler, P.C.: *Life Sci.*, 7, 689 (1968)
- (36) Doft, F.S.: *NATO Advanced Study Institute on the Germfree Animal in Research*, Hampshire. England, p39 (1965)
- (37) Haslewood, G.A.D.: *Biochem. J.*, 123, 15 (1971)
- (38) Fahmy, K., Gray, C.H. & Nicholson, D.C.: *Biochim. Biophys. Acta*, 264, 85 (1972)
- (39) Smith, J.C., McDaniel, E.G., McBean, L.D., Doft, F.S. & Halsted, J.A.: *J.Nutr.*, 102, 711 (1972)
- (40) Rogers, Jr., W.E., Bieri, J.G. & McDaniel, E.G.: *Fed. Proc.*, 30, 1773 (1971)

- (41) Oace, S.M. & Abbott, J.M.:J.Nutr., 102, 17 (1972)
- (42) Luckey, T.D.:Effects of Microbes on Germfree Animals, Adv. in Appl. Microbiol., 7, 169 (1965)
- (43) Simbert, R.M., Forbes, M., Faber, J.E., Gabuten, A.R. & Devolt, H. M.:Poultry Sci., 38, 676 (1959)
- (44) Meyer, R.C.:Bact. Proc., 69, 69 (1969)
- (45) Waxler, G.L.:Agric. Sci. Rev., 14, 28 (1966)
- (46) Malyoth, R.S. & Sickel, E.:Abst. of Adv. Study Inst. of germfree Animal as a Tool in Research, p16 (1969)
- (47) Weide, K.D., Waxler, G.L., Whitehair, C.K. & Morrill, C.C.:J.Am. Vet.Med. Assoc., 140, 1056 (1962)
- (48) Arbuckle, J.B.R.:J.Path., 104, 93 (1971)
- (49) Coates, M.E. & Hewitt, D.:Brit.J. Nutr., 24, 213 (1970)
- (50) Harrison, G.F. & Coates, M.E.:Abst. of Adv. Study Inst. of Germfree Animal as a Tool in Research, p42 (1969)
- (51) Lev, M. & Forbes, M.:Brit.J.Nutr., 13, 78 (1959)
- (52) Eyssen, H. & DeSomer, P.:Poultry Sci., 46, 323 (1967)
- (53) Yoshida, T., Pleasants, J.R., Reddy, B.S. & Wostmann, B.S.,:J.Nutr., 101, 1423 (1971)
- (54) Van der Waaij, D.:Advances in Germfree Research and Gnotobiology, ed. Miyakawa, M. et al., p30, Chemical Rubber Co., Cleveland (1968)
- (55) Waxler, G.L.:The Role of the " Specific Pathogen-free " System for Improving Animal Production, in (10) p114, (1969)
- (56) 佐藤静夫:畜産の研究 26、177(1972)
- (57) 波岡茂郎:畜産の研究 19、1306(1965);26、173(1972)
- (58) 藤倉孝夫・猪貴義:畜産の研究 19、1431(1965)
- (59) 猪貴義・藤倉孝夫:畜産の研究 19、1571(1965)
- (60) 原田熊幸:畜産の研究 20、8(1966)
- (61) 守本富昭・猪貴義・高取一郎:畜産の研究 20、402(1966)
- (62) Waxler, G.L., Schmidt, D.A. & Whitehair, C.K.:Am.J.Vet. Res., 27, 300 (1966)
- (63) Wostmann, B.S., Pleasants, J.R. & Reddy, B.S.:Nutritional and Physiological Parameters Influencing Function and Metabolism in the Germfree Rat, in Defining the Laboratory Animals, p 567. National Academy of Sciences, New York (1971)

- (64) Geever, E.F., Seifter, E. & Levenson, S.M.: Brit. J. Exp. Path.,  
101, 341 (1970)
- (65) Reica, N., Jr., Stedham, M.A., Herman, Y.F. & Sauberlich, H.E.:  
Vitamin A Deficiently in Germ-free Rats, in Fat-Soluble Vitam.,  
Proc. Symp., 1969, ed. DeLuca, H.F., p283, Univ. Wis. Press,  
Madison, Wis. (1970)
- (66) Combe, E., Pion, R. & Sacquet, E., Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.,  
10, 697 (1970)