

鶏における栄養素の利用に関する腸内細菌の役割

誌名	栄養生理研究会報
ISSN	02864754
巻/号	262
掲載ページ	p. 101-119
発行年月	1982年9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



鶏における栄養素の利用に関する腸内細菌の役割

名古屋大学農学部 横田 浩 臣

宿主に対する腸内細菌の重要性については、19世紀の後半から論議の対象となってきた。Pasteur (1885) と Schottelius (1902) は、腸内細菌は宿主にとって必要不可欠のものであり、存在しなければ宿主は生存できないと考えていた。一方、Metchnikoff (1903) はある種の腸内細菌は宿主に害作用をおよぼし、毒物を生産して生命を短くしたり、健康状態を悪くするという考えを発表した。これらの論議は1950年前後以降、鶏や豚に抗生物質を与えると成長を促進するという数多くの報告が発表されるまで、あまり進展しなかった。

第2次世界大戦中に米国における家禽生産高は飛躍的に増加した結果、家禽の飼料として用いられていた動物性蛋白質が不足するようになった。しかし米国内には、蛋白質源として大量の大豆粕があり、メチオニンを補足するだけで高い生物価が得られる蛋白質であった。この大豆粕に根本的に欠乏するものは“Animal Protein Factor”であると考えられ、その当時では魚粉の中に含まれている未同定物質であった。結果的には、この物質はビタミンB₁₂ (Cyanocobalamine) であったが、この物質の発見に至る過程で多くの微生物を研究した結果、各種の抗生物質が発見され、生物実験の結果、それらに動物に対する成長促進作用が存在することが報告された^{1・2・3)}。

成長促進作用物質としては抗生物質のほか、抗菌物質、駆虫薬が含まれるが、これらすべてのものはストレス(表面に現われない病気、飼育条件、栄養条件、密飼、温度、無管理の動物、若い動物)条件下で効力を発揮する。

腸内細菌の役割を考えると、抗生物質による研究の歴史をふまえ、その機構を無菌動物により解明することが賢明であろう。ここでは、まず鶏を中心とした抗生物質による研究の概要を示すことにする。

1. 抗生物質による成長促進の原因

1-1. 飼料の利用性

抗生物質によって成長が促進される場合は、飼料の摂取量が増加し、飼料効率(体重増加量を摂取飼料重量で除したのもの)も増加する⁴⁾。この場合、代謝エネルギー値(摂取エネルギーから排泄エネルギーを減じたものを摂取飼料重量で除したもの)が上昇する場合⁵⁾と変化がない場合^{6・7・8)}があるが、エネルギーの代謝率の上昇はない⁶⁾。また飼料効率の上昇および代謝エネルギーの上昇は、抗生

物質が飼料中に入っている場合にのみ出現するという直接的な報告もある⁹⁾。

1-2. ビタミン

成長促進の原因を追求する研究の初期には、ビタミンB群の要求量に対する節約作用¹⁰⁾が考えられたが、リボフラビン、ピリドキシン、葉酸について抗生物質を投与しても要求量には変化がなく¹¹⁾、ペニシリンを投与した場合には、逆にニコチン酸の要求量が増加した¹²⁾。

1-3. エネルギー成分物質

抗生物質を投与すると、ラットにおいては脂肪蓄積が多くなり¹³⁾、豚においてはエネルギー成分物質の消化率がよくなる¹⁴⁾。ヒナにおいてはグルコースまたはシュクロースを基本とした飼料を与えた場合に糞中脂肪は多くなるが、これに抗生物質を投与すると減少する¹⁵⁾。

1-4. 吸 収

ビタミン¹¹⁾およびカロリー源となる物質⁵⁾の吸収が上昇したであろうと示唆している報告がある。また逆に、腸内細菌は成長阻害作用を持つアミンを窒素含有物質から生産するが、そのアミンの吸収を抗生物質が阻害するから成長促進効果がある¹⁶⁾とするものもある。いずれにしても抗生物質を投与して成長促進効果が存在する場合に、その理論的説明が困難になると、その原因を栄養素の吸収の上昇に結びつける傾向があった。後述するように抗生物質を投与すると腸管が薄くなることから、腸管が薄くなれば単純に吸収もよくなると考え、栄養素の吸収率が上昇したと結論づけた報告が数多くある。

以上のように、抗生物質を投与したとき成長促進効果が出現する場合もあるし、出現しない場合もある。特に少数の動物を用いて実験を行ったような場合には、前述したようにストレスが少ないことも関係して、抗生物質による成長促進効果がないこともある¹⁷⁾。特に、近代的で清潔な設備をもった研究室で行われた場合は、成長を阻害するような病原体は少ない。野外の実験では、抗生物質を家畜に与えれば成長がよくなるのが一般的であるので、このような実験室で得られた結果で直接比較するのは注意を要する。

2. 栄養素の代謝における腸内微生物の影響

抗生物質を与えた場合の動物の反応に対するモデルとして、腸内細菌を保持しない動物すなわち無菌動物が考えられた。日本においては、1936年京都帝国大学において無菌ヒナを19日間にわたって飼育することに成功したという報告がある¹⁸⁾。しかしこの飼育は、飼料中の栄養素の欠陥が原因で長期間は続かなかったようである。1949年に米国においてRayniersらによって無菌鶏が作出された¹⁹⁾。その他の研究所でも無菌鶏が作出され、その成長が通常鶏と比較された。無菌ヒナは通常ヒナより成長はよいが、その動物に抗生物質を投与しても成長速度に変化はなかった^{20・21)}。

即ち、抗生物質の投与によるヒナの成長促進作用は、動物を無菌状態にしたときには現われないことを意味している。また無菌鶏の消化管の形態学的特徴は、抗生物質を投与した鶏と同様であり、消化管の単位長さ当りの重量は、通常鶏の70～90%の範囲まで減少する^{22・23・24・25}。これは飼料の組成により変動している可能性が考えられる。しかし、無菌鶏の盲腸の大きさは通常鶏の盲腸とほとんど変わらず^{25・26}、ラットやマウスで観察されるように無菌状態にすると盲腸が肥大するようなことはない。それゆえに、鶏は栄養実験において通常動物と同様に、体重の変化を第1の示標とすることができるという利点がある。

一方、無菌動物または抗生物質を与えたヒナでは、腸内細菌がないこと、または減少することから成長促進効果を示すが、どんな種類の腸内細菌が主に成長を阻害しているかという研究が、ノートバイオートを用いて行われてきており、*Clostridium perfringens*²⁷、*Streptococcus faecalis*²⁸が腸内に与えられると成長は阻害された。Fullerらは *Strep. faecium* や *faecal filtrate* が成長を阻害すると報告した²⁹。

2-1. 蛋白質代謝

飼料中の蛋白質や内因性の蛋白質が消化管内へ入ると、その動物が分泌する消化酵素の他に、腸内細菌の蛋白質分解作用によって蛋白質が分解され、アミノ酸が生成される。さらにその一部は、腸内細菌によりアミンやアンモニアとなる。一方、尿素および尿酸も腸内細菌によって分解され、その最終産物もアンモニアとなる³⁰。生成されたアンモニアは、腸内細菌が菌体蛋白質を合成する場合の最初の物質である。このようにアンモニアがそのまま排泄されずに、腸内細菌に利用されれば宿主全体の窒素の出納を考えると、窒素の損失を少なくしていることになる (Fig. 1)。

無蛋白質飼料を無菌ヒナに与えると、通常ヒナに比べて窒素の排泄が多くなることから、腸内細菌には窒素の排泄を少なくする能力がある³¹。これは、腸内へ排泄される内因性窒素を腸内細菌が何らかの方法で利用していることを示している。

飼料の窒素源として必須アミノ酸と尿素を通常ヒナに与えると、無菌ヒナより成長がよく³²、腸内細菌が尿素をアンモニアに分解し、それがアミノ酸ひいては蛋白質の合成へと利用されたのであろう。さらに、無蛋白質飼料を給与された場合に、腸内細菌はアミノ酸を合成し、それを鶏が利用している³³。

ところが、良質の蛋白質を与えても、熱変性した蛋白質を与えても、ヒナの腸内細菌はその蛋白質の利用性に変化を及ぼさなかった³⁴ことから、蛋白質の消化そのものには腸内細菌は影響を及ぼさず、栄養的に窒素源が不足するような状態にヒナが置かれているような場合にのみ、腸内細菌の有無の影響が現われているようである。

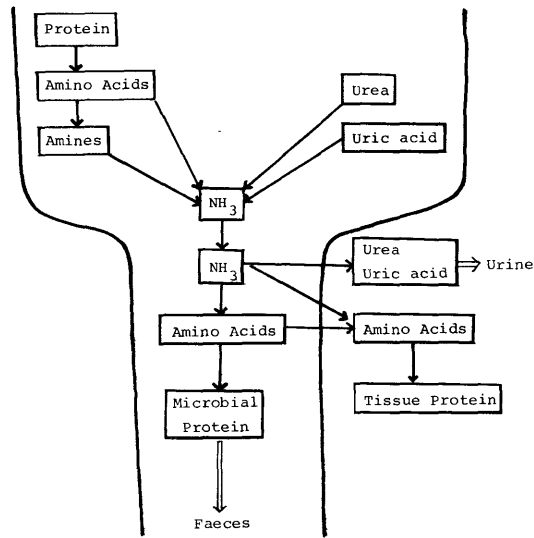


Figure 1. Digestion and utilization of N-compounds by a host and microbes in the intestinal tract

ヒナが最大成長するためのリジン³⁵⁾、ロイシンおよびバリン³⁶⁾の要求量は、腸内細菌の有無で変化がない。

ヒナの肝臓および空腸粘膜における蛋白質合成量に関しては、腸内細菌が存在しても有意には増加しないが、合成量はともに通常ヒナにおいてわずかに高い³⁷⁾。これは腸粘膜の代謝回転が腸内細菌が存在すると高い³⁸⁾ことと関連があるようである。

2-2. 脂肪代謝

バクテリアが不飽和脂肪酸に対し、水素を添加する能力を持っていることはよく知られていて、消化管内にもこの能力を持つ細菌が生棲している。しかし、ヒナにおける実験では、不飽和脂肪酸への水素の添加の程度が腸内細菌の有無によってはあまり変化がない³⁹⁾。消化試験において、無菌ヒナにおける脂質の蓄積率は通常ヒナに比較して高い⁴⁰⁾という実験結果は、飽和脂肪酸の消化吸収が腸内細菌により阻害される³⁹⁾ことから説明されるであろう。特にパルミチン酸とオレイン酸の蓄積率は無菌動物では高く、オレイン酸とリノレン酸は腸内細菌によりそんなに影響はされない³⁹⁾。

2-3. ミネラル代謝

前述したように、無菌ヒナは通常ヒナに比較して成長速度が大きいので、その骨格を作るにもカル

シウムが多く必要となるであろうという考えから、カルシウムの腸管からの吸収を測定している⁴¹⁾。腸内細菌は、カルシウムを腸管組織へ取り込む速度には影響しないが、腸管組織から除去する速度を遅くしている。これは、無菌ヒナがカルシウムの腸管からの吸収を高め、さらに骨の中への取り込みを高めるといふ報告⁴²⁾を支持するようである。

2-4. ビタミン代謝

腸内細菌がビタミンB複合体とビタミンKを合成することはよく知られている。通常動物の腸管内の微生物は、すべてのビタミンB複合体を大量に合成する⁴³⁾が、腸管下部で合成されるため、葉酸を除きほとんどが利用されず排泄される。そのため食糞をしないう限り、腸内細菌が合成したビタミンを宿主が利用することはほとんどない。

一方、腸内細菌が宿主のビタミン要求量を高めていることもある。ヒナにおいては、パントテン酸欠乏の飼料を給与すると通常ヒナが無菌ヒナよりひどい欠乏症を示す⁴⁴⁾。また無菌ヒナのパントテン酸要求量は通常ヒナの2/3程度である⁴⁴⁾。

2-5. 栄養素の消化吸収

無菌動物の消化生理に関しては、通常動物とは異った特徴をいくつか持っている。なかでも前述したように、無菌動物の腸管重量は通常動物に比較して少なく、特に粘膜が薄いのが特徴である。また、無菌ヒナの小腸粘膜の代謝回転は通常ヒナより遅く^{38・45)}、その差は腸管を下るにつれて大きくなる³⁸⁾。さらに、ヒナにおける実験では報告されてはいないが、ラットにおいては摂取した飼料が胃から小腸へ移動する時間および小腸内を移動するのに要する時間は、無菌状態において遅い^{46・43)}。それゆえに、通常動物の栄養生理に対して腸内細菌の役割を知るために無菌動物が使われるときには、これらの特徴を十分に考え合わせる必要がある。

2-5-1. 栄養素の消化

蛋白質：飼料蛋白質の酵素による加水分解は、胃においてペプシンと塩酸の作用で始まり、腸においては膵臓から分泌される蛋白質分解酵素と、小腸粘膜から分泌されるペプチダーゼにより分解される。

ヒナの膵臓から分泌されるキモトリプシノーゲンとトリプシノーゲンの組織中の活性⁴⁸⁾および小腸内容物中の活性⁴⁹⁾はともに腸内細菌の有無に関係なく一定である。しかし、ヒナの盲腸内容物中の膵臓蛋白質分解酵素の活性は、腸内細菌により減少する⁴⁹⁾。無菌ヒナの膵臓重量は、通常ヒナに比べて有意差はないが、飼料中の蛋白質含量にかかわらず少ない²⁵⁾。これは、通常動物の膵臓蛋白質分解酵素が腸内細菌により分解されるので、代償的に膵臓が大きくなっているのかもしれない。

炭水化物：飼料中の炭水化物は唾液により加水分解されたのち、主に膵臓アミラーゼにより分解され、小腸粘膜の二炭糖分解酵素により分解される。

無菌ヒナの嗦のうにはアミラーゼが存在し⁵⁰⁾、あらかじめ加熱された澱粉は、この酵素により十二指腸へ到達する前に完全に分解される⁵¹⁾。膵臓組織中のアミラーゼ活性は、腸内細菌により影響を受けない⁴⁸⁾が、下部腸管では部分的に不活性化される⁴⁹⁾。二炭糖分解酵素のマルターゼ、シュクラーゼ、ラクターゼの活性は、腸内細菌の有無にかかわらず一定である⁵²⁾。

脂質：脂質は主に膵臓リパーゼで分解される。この過程には胆汁酸塩が関与している。ヒナの消化管下部のリパーゼ活性は、腸内細菌で影響されない⁴⁹⁾。

以上のように、無菌ヒナの消化酵素は、通常ヒナに比べて同等かそれ以上の活性を持っている。さらに、無菌動物では摂取した飼料の消化管内の移行速度は通常ヒナに比べて遅いので、小腸内での酵素による消化は、無菌動物より高いと仮定できるが、実際に測定した結果はない。

2-5-2. 栄養素の吸収

Coatesは無菌ヒナと通常ヒナの小腸粘膜を電子顕微鏡を用いて観察し、粘膜表面積をTable 1のようにまとめた⁵³⁾。小腸粘膜の微絨毛の直径は、通常動物では腸の部位で変化はないが、無菌動

Table 1. Dimensions of microvilli in the small intestine of germ-free and conventional chicks

		Diameter (μm)	Height (μm)	Surface area (μm^2)	No. of microvilli per μm^2	Total area a) ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^2$)
Lower small intestine	GF	0.092	3.13	0.91	56	51
	CV	0.104	2.33	0.74	57	41
Mid-small intestine	GF	0.087	3.07	0.84	57	47
	CV	0.102	2.33	0.75	55	40
Duodenum	GF	0.081	2.44	0.62	52	32
	CV	0.102	1.98	0.63	52	32

a) Total microvillus area in square micrometres ($\text{m} \times 10^{-6}$) per square micrometre of gut

GF, Germ-free ... free from any detectable microbial associate

CV, Conventional ... carrying the usual, though undefined, burden of micro-organisms

物では小腸部位が下降するにつれて減少する。しかし微絨毛は無菌ヒナでより長く、粘膜単位面積当りの微絨毛の総表面積は、無菌ヒナが大きい。これらの事実から、腸内細菌が存在しなければ腸管における吸収可能面積が広く、栄養素が多く吸収されるであろうと仮定できる。

栄養素の吸収能に関して、これまで行われてきた実験結果をヒナに限らずラット、マウスをも含めてTable 2 にまとめた。

Table 2. Absorptive activities of some nutrients in small intestine of germfree (GF), gnotobiotic (GN) and conventional (CV) animals.

Substrate	Species	Method	GF	CV	GN	Reference
xylose	mouse	everted sac	129	46***	94 ^a	45 (1)
					167*** ^b	
					154*** ^c	
xylose	rat	everted sac	70	23**		
		perfusion	80	39**		
		Cori	204	108**		
L- methionine	mouse	everted sac	11.6	9.4*	5.6 ^d	51 (2-1)
			12.7	4.6***	3.5 ^d	51 (2-2)
L- leucine	chick	everted sac	4.7	4.4		52 (3)
			3.6	3.0		52 (4)
			2.5	2.3		52 (5)
			3.88	2.65		53 (6)
nicotinic acid			2600	1500***		53 (7)
pantothenic acid			390	140***		
riboflavine			17	12		
thiamine			25	17*		
biotin			4.2	2.2***		
folic acid			3.2	2.2		
oleic acid	chick	sac	14.6	14.5		54 (8)
			0.6	0.4		54 (9)
			1.8	1.6		54 (10)
			3.1	3.0		54 (11)
			80.1	81.6		54 (12)

Significantly different, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (次頁に続く)

- (1) mg xylose/hour/mg dry wt of intestine 10^{-3}
- (2-1) μ mole methionine/g wet tissue weight at one week
- (2-2) " " at two week
- (3) μ mole leucine/8.5 cm intestine/hour
- (4) " /8.0 cm " / "
- (5) " /10.0 cm " / "
- (6) ratio of serosal to mucosal concentrations after one hour
- (7) ng nutrients passed/cm intestine/hour
- (8) % 14 C incorporation into phospholipid
- (9) " monoglyceride
- (10) " diglyceride
- (11) " free fatty acid
- (12) " triglyceride
- a. *Micrococcus aureus*
- b. *Clostridium carnis*
- c. *Lactobacillus casei*
- d. *Escherichia coli*

栄養素の吸収能を測定する研究には、いろいろの方法が用いられている。最も多く用いられている方法は、反転腸管法である。動物から腸管を切り離し、粘膜側と漿膜側に少量の溶液（栄養素を入れたり、入れなかったり）を注入して両端を結さつし、栄養素の入った大量の溶液の中へ入れ、吸収量を測定する方法である。この方法では、一定時間後の粘膜側と漿膜側の溶液の濃度差、または粘膜側から漿膜側への移行量を測定する。次に多く用いられる方法は還流法である。これには腸管を動物から取り出して行う方法と、腸管へ分布する血管をそのままにして行う方法とがある。また還流する液を1度だけ腸管に流す方法と、同じ液を繰り返し腸管へ流す方法とがある。血流をそのままにした方法を採用すれば、腸管へ分布する神経系も吸収に関与させることができ、吸収実験中も吸収の過程を動物の支配下に置くことができる。loop法もしばしば用いられる。これは腸管を動物から切り離さず血流をそのままにして、栄養素を腸管へ注入して両端を結さつし、腸管を腹腔内へ戻し、一定時間後腸管内に残った栄養素を測定して、吸収能を推定する方法である。最も自然の状態に近い方法がCoriの方法である。これは、ある程度の時間動物を絶食させ、腸内容物を除去し、口から栄養素を

与え、一定時間後に開腹し、腸管内に残った栄養素と給与した栄養素との差から吸収量を測定する方法である。

Heneghan⁵⁴⁾は吸収速度が遅いキシロースを用いて、ラットとマウスの腸管で、3つの測定方法を用いて吸収能を測定している。いずれの動物種と測定方法でも、無菌動物の腸管は約2倍のキシロースを吸収した。単一感染させた動物の腸管を用いた実験では、無菌動物と比較して吸収能が増加したり減少したりしている。この原因を腸管組織の透過性の違いと結論している。

Herskovicら⁵⁵⁾は、マウスの1週齢時と2週齢時の腸管からのメチオニンの吸収量を測定している。日齢がすすむと、無菌動物と通常動物の腸管の違いがはっきりしてくる結果、吸収能も通常動物で減少してくる。

しかし、Riedelら⁵⁶⁾はヒナの反転腸管を用い、ロイシンの吸収能を測定した。3回にわたる実験の結果、無菌ヒナの吸収能はわずかに高いが有意差はなかった。

FordとCoates⁵⁷⁾は、無菌ヒナの腸管におけるビタミンB群とグルコースの吸収能を測定し、一部のビタミンで通常ヒナより高い吸収能を示すことを報告した。

脂肪に関してはScharrerら⁵⁸⁾が報告している。これはオレイン酸が腸管内でどのような代謝物に取り込まれたかを示すものであるが、腸内細菌の有無で差はない。

このように、直接、栄養素の吸収能を測定した報告は少なく、その結果も一定ではない。

以上のように、無菌動物の腸管における栄養素の吸収能を測定しようとするときには、腸内細菌により腸管組織が変化するので、吸収能をどのように比較するかが問題である。また吸収能を測定する方法にもいろいろあり、それぞれ一長一短がある。これらの問題を解決するためには、いろいろな方法を取り、できるだけ多くの動物を用いてデータを積み重ねるより方策がないようである。

そこで、著者らは吸収量を測定する方法としてloop法および還流法を採用し、メチオニンおよびグルコースの吸収量を測定した^{23・24・59)}。吸収時の腸管組織中、腸間膜静脈血液中および体循環血液中のメチオニンおよびグルコースの濃度を時間の経過とともに測定し、腸管腔から腸管組織、腸管組織から血液中へと栄養素の移行の状態を測定して、吸収を考えた。

動物：無菌ヒナおよび通常ヒナに加えて、Fullerら²⁹⁾が成長を阻害すると報告した *Streptococcus faecium* および *faecal filtrate* (糞尿混合物からバクテリアを除いて作成) を与えたヒナ (GNヒナ) を用いた。2週間のそれぞれのヒナの増体重は、無菌ヒナを100とすると通常ヒナでは80~83、GNヒナでは80~101であった。

グルコースの吸収量の測定：グルコースの類似物質で、活性吸収の過程はグルコースと同じである⁶⁰⁾

3-0-[¹⁴C]-methyl- α -D-glucopyranoseを用いた。この物質は体内で代謝されない物質であるので、腸管組織や血液中への移行量を測定するには便利である。

メチオニンの吸収量の測定：L-[2(n)-³H]methionineを用いた。

方法：吸収実験に用いるヒナは20時間前後絶食し、腸管内容物をできるだけ少くした。ペントバルビタール(60 mg/kg体重)を筋肉内注射して麻酔し、さらに必要があるときはエーテル吸入麻酔を行った。開腹し、腸間膜静脈を傷つけないようにして空腸全体を用いた。

還流法：使用する腸管の内容物を生理食塩水(8.5 g NaCl/l)で洗い出し、腸管の両端にガラスカニューレをつけてTasakiとTakahashi^{6,1)}の装置で吸収を測定した。

loop法：還流法と同様に腸管内容物を洗い出し、腸管の両端を結ぶつすると同時にメチオニンまたはグルコース溶液を腸管腔へ注入し、腸管を腹腔へ戻して一定時間後、腸管に残った溶液を洗い出し、吸収量を測定した。吸収時の血液採取は、使用している腸管へ分布する腸間膜静脈が1本となる部分へプラスチック製のカニューレを入れて行った。体循環血液は心臓穿刺で採取した。

実験終了後、腸管の一端に12gの重量をかけて垂直にして、腸管の長さを測定後、腸管を切り開き生理食塩水で洗ったのち、水分を除去して重量を測定した。

グルコースの吸収量をloop法で測定した結果をTable 3に示す。5回にわたる実験の結果を平均値と比較すると、吸収量は無菌ヒナで最大で、GNヒナで最少であったが、すべての群で有意差がなかった。この実験方法からは、吸収実験を開始する前に腸管腔をできるだけ清潔に洗い流すので、吸収

Table 3. Effect of intestinal flora in the chick on absorption during 20 min of 3-0-methyl- α -D-glucose (3MG) (μ g/mm small intestine)

Experiment	CF	GF	<i>S. faecium</i> SYI	Faecal filtrate	<i>S. faecium</i> SYI+faecal filtrate	Pooled SDb)
1	39 (11) ^{a)}	42 (11)				8.2 (18)
2	25 (15)	30 (14)				10.6 (25)
3		30 (8)	27 (6)	29 (8)	29 (8)	6.0 (21)
4		38 (8)	38 (8)	37 (5)	38 (8)	3.3 (21)
5	30 (9)	27 (10)			19 (8)	8.1 (21)
Mean	32	34	33	33	29	

a) Figures in parentheses show number of observations.

b) Based on pooled variation between chicks within treatments and sexes; number of degrees of freedom in parentheses.

を左右するかもしれない微生物またはその微生物が生産する物質がすべて洗い出されて、吸収量に差が出てこないという疑いがある。この点を明確にするために、グルコースの吸収量を測定するときに、グルコース溶液の中へ *S. faecium* を加えて吸収量を測定した (Table 4)。その結果、吸収量には差がなく、腸管の重量は増加した。このように 20 分間という短時間でも、*S. faecium* と接触した腸管は重くなった。

Table 3 に示した実験に用いたヒナの体重と腸管重量とを Table 5 に示した。無菌ヒナの体重は最大であったが、腸管重量は最少であった。

メチオニンの吸収量を還流法を用いて測定した結果を Table 6 に示した。無菌ヒナに比較して通常ヒナの体重は有意に減少し、GNヒナの体重はさらに低かった。しかし、通常ヒナとGNヒナの腸

Table 4. Effect of presence of *S. faecium* SYI on absorption of 3-0-methyl- α -D-glucopyranose (3MG) by intestine of gnotobiotic birds associated with droppings filtrate

<i>S. faecium</i> SYI	Present	Absent
3MG uptake (μ g/mm)	40 \pm 0.7 ^{a)}	37 \pm 0.8
Intestinal thickness (mg/mm)	9.1 \pm 0.3	8.3 \pm 0.2
Body weight(g) on test day	169	163

a) Means of 10 chicks \pm standard deviation

Table 5. Effect of the microflora on gut thickness in chicks (mg/mm)

Experiment	CV	GF	<i>S. faecium</i> SKI	Faecal filtrate	<i>S. faecium</i> SYI+faecal filtrate	Pooled SD b)
2	7.8 (135)	6.0 (161)				1.06 (25)
3		5.4 (173)	5.9 (158)	6.4 (160)	6.3 (147)	0.76 (22)
4		5.0 (183)	5.3 (186)	5.5 (184)	5.7 (175)	0.99 (21)
5	5.5 (158)	4.8 (192)			5.7 (166)	0.84 (21)
Mean	6.7	5.3	5.6	6.0	5.9	

a) For numbers of chicks see Table 3. Average body weights are given in parentheses.

b) See Table 3

管重量は増加した。メチオニンの吸収量は、腸管組織重量あたりで示すと通常ヒナとGNヒナで減少しているが、これは腸管重量が増加していたからであり、腸管の長さあたりで計算すると差はなかった。

Table 6. Uptake in 30 min of [³H]methionine from perfused segments of small intestine of germ-free (GF) and conventional (CV) chicks, and chicks (GN) associated with *Strep. faecium* strain SYI and a faecal filtrate (Mean values with their standard errors for groups of groups of eight chicks)

Type of chick	GF		CV		GN	
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Body-wt gain (g)	96.0	5.67	82.5*	2.65	76.9**	3.78
Uptake :						
μmol/g	84.9	7.80	65.5*	5.0	63.0*	4.3
μmol/mm	0.68	0.07	0.59	0.02	0.57	0.04
Segment length (mm)	186.0	9.6	179.0	5.3	202.0	5.1
Segment wt (mg/mm)	8.0	0.33	9.4*	0.60	9.1	0.34

Significance of difference from GF value: * P < 0.05, ** P < 0.01.

Table 7 には、loop 法によるメチオニンの吸収量と血液中への現われ方を示した。体重と腸管重量は Table 5 に示したものとほぼ同じ傾向にあった。15分後の通常ヒナの腸間膜静脈血液中のメチオニンの濃度は無菌ヒナに比べて高くなり、20分後には体循環血液中で高くなった。一方、無菌ヒナの腸管組織中の遊離のメチオニン濃度は、腸管の重量、長さあたりのどちらで換算しても有意に高かった。しかし、蛋白質として結合しているメチオニン（TCA不溶性メチオニン）の量は、両者で差がなかった。

Table 8 には、loop 法によるグルコースの吸収量と血液中への現われ方を示した。吸収量には差はなかったが、20分後には体循環血液中の濃度は通常ヒナで高く、腸管組織中の濃度は低かった。

Table 9 には、短時間でメチオニンとグルコースの吸収量を測定した結果を示した。これまでの実験結果と同様に、通常ヒナの吸収量は、腸管重量で測定すると減少するが、腸管の長さで測定すると変化はなかった。

以上の実験から、体重増加量はどの実験でも無菌ヒナが大きく、腸管の長さあたりの重量は無菌ヒナが少なかった。腸管から消失したメチオニンとグルコースの量を腸管重量あたりで表わすと、通常ヒナで常に少なかった。しかし、これは明らかに通常ヒナの腸管重量の影響であり、腸管長さあたりの吸収量は両者間に差はなかった。通常動物の腸管が肥厚するのは主に結合組織であり⁶²⁾、栄養素

Table 7. Uptake during 20 min of [³H]methionine from *in vivo* segments of small intestine of germ-free (GF) and conventional (CV) chicks at 3 weeks of age

(Mean values with their standard errors ; numbers of birds in parentheses)

	Period of uptake (min)	Type of chick			
		GF		CV	
		Mean	SE	Mean	SE
Body-wt gain (g)	—	184.9	5.7 (15)	151.1	3.8 (18)
Segment length (mm)	—	259.0	12.99 (15)	302.0	13.59 (18)
Segment wt (mg/mm)	—	7.8	0.4 (15)	10.0***	0.2 (18)
Uptake:					
μmol/g	10	11.19	2.23 (8)	9.88	0.80 (8)
	20	19.47	2.68 (7)	14.48	0.48 (10)
μmol/mm	10	0.086	0.015 (8)	0.095	0.008 (8)
	20	0.142	0.016 (7)	0.149	0.008 (10)
[³ H]methionine (μmol):					
Mesenteric blood (/ml)	5	1.7	0.65 (8)	1.53	0.06 (7)
	10	1.2	0.45 (8)	1.35	0.22 (8)
	15	0.48	0.09 (7)	0.80*	0.12 (10)
	20	0.41	0.09 (7)	0.79*	0.16 (10)
Cariac blood (/ml)	10	0.14	0.04 (7)	0.21	0.03 (5) †
	20	0.15	0.04 (4) †	0.26	0.02 (8)
Intestinal tissue (/g)					
Free	10	3.10	0.63 (8)	1.39*	0.44 (8)
	20	1.98	0.46 (7)	0.67*	0.16 (10)
Bound	10	0.051	0.004 (8)	0.038	0.014 (8)
	20	0.056	0.009 (7)	0.047	0.009 (10)
nmol/mm					
Free	10	24.21	5.16 (8)	13.26	3.85 (8)
	20	15.36	3.45 (7)	6.94*	1.71 (10)
Bound	10	0.41	0.05 (8)	0.37	0.14 (8)
	20	0.42	0.06 (7)	0.49	0.11 (10)

Significance of difference from GF values: *P < 0.05.

† Adequate samples were not obtained from all birds.

の吸収には直接関与しない組織である。腸管全体の長さは腸内細菌によりほとんど変化しない⁸³⁾ので、栄養素の吸収を論ずる場合は、腸管の長さを単位とするのが妥当であろう。これらを考え合わせると、通常ヒナや、*Streptococcus faecium* や *faecal filtrate* を与えられて成長が阻害されたヒナでも、メチオニンやグルコースの腸管における吸収能は阻害されないと結論づけられる。

この結論は、無菌ヒナの腸間膜静脈血液中のメチオニンとグルコースの濃度が通常ヒナより高くないことから裏付けられる。反対に、通常ヒナのメチオニン濃度は、15分後に腸間膜静脈血液中で高くなり、20分後に体循環血液中で高くなる。無菌ヒナの腸管の厚さは薄いにもかかわらず、

Table 8. Uptake during 20 min of 3-O-methyl [14 C] glucose (3MG) from *in vivo* segments of small intestine of germ-free (GF) and conventional (CV) chicks at 3 weeks of age

(Mean values with their standard errors ; nos. of chicks in parentheses)

	Period of uptake (min)	Type of chick			
		GF		CV	
		Mean	SE	Mean	SE
Body-wt gain (g)	—	172.0	6.5 (17)	140.0	4.4 (21)
Segment length (mm)	—	270.0	11.2 (17)	270.0	10.1 (21)
Segment wt (mg/mm)	—	8.3	0.3 (17)	10.7*	0.3 (21)
Uptake:					
mol/g	10	15.37	0.85 (8)	12.30	1.79 (10)
	20	28.34	2.29 (9)	25.14	1.49 (11)
μ mol/mm	10	0.134	0.012 (8)	0.135	0.021 (10)
	20	0.228	0.019 (9)	0.264	0.013 (11)
3MG (μ mol) in:					
Mesenteric blood (/ml)	5	0.283	0.063 (8)	0.298	0.053 (10)
	10	0.302	0.073 (8)	0.281	0.045 (10)
	15	0.321	0.060 (8)	0.275	0.045 (11)
	20	0.287	0.034 (9)	0.288	0.029 (11)
Cardiac blood (/ml)	10	0.84	0.08 (6)†	1.10	0.146 (10)
	20	1.22	0.09 (9)	1.77*	0.240 (10)
Intestinal tissue: (/g)	10	10.2	1.29 (8)	11.2	0.95 (10)
	20	9.7	2.17 (9)	6.1	0.86 (11)
	10	0.122	0.056 (8)	0.104	0.026 (10)
	20	0.127	0.094 (9)	0.057*	0.022 (11)

Significance of difference from GF value: *P < 0.05.

† Adequate samples were not obtained from all birds.

腸管組織中のメチオニンの量は、長さあたりで測定しても通常ヒナより高かった。3-メチルグルコースは代謝されない糖であるので、腸管組織内での代謝を考えなくてもいいが、おおむねメチオニンと同じ傾向であった。腸間膜静脈血液中のグルコースの濃度には差がなかったけれども、通常ヒナの体循環血液中の濃度は、20分後には無菌ヒナより高かった。そのときの腸管組織中の濃度は低かった。

これらの結果は、ヒナにおいてFordとCoates⁵⁷⁾が*in vitro*で報告したグルコースとビタミンB群の吸収に関する結果と異っているが、*in vitro*のように動物体から切り離れた腸管は、拡散による吸収の比率が多くなるであろうから、小腸が薄くなればそれだけ移行量は多くなり、数種のビタミンで無菌ヒナが多い移行量を示したのであろう。

Table 9. Uptake during 10 min of [^3H]methionine or 3-O-methyl [^{14}C] glucose (3MG) from *in vivo* segments of small intestine of germ-free (GF) and conventional (CV) chicks at 2 weeks of age
(Mean values with standard errors ; nos. of chicks in parentheses)

	Period of uptake (min)	Type of chick					
		GF			CV		
		Mean	SE	(nos.)	Mean	SE	(nos.)
Body-wt gain (g)	—	94	5.1	(20)†	76**	1.9	(20)†
(a) [^3H]methionine							
Segment length (mm)	—	298.0	7.9	(10)	313.0	8.6	(10)
Segment wt (mg/mm)	—	5.7	0.02	(10)	7.8***	0.3	(10)
Uptake							
$\mu\text{mol/g}$	5	9.28	0.53	(5)	8.28	0.58	(5)
	10	15.29	0.74	(5)	9.75***	0.60	(5)
$\mu\text{mol/mm}$	5	0.055	0.002	(5)	0.063	0.002	(5)
	10	0.080	0.003	(5)	0.076	0.002	(5)
(b) [^{14}C]3MG							
Segment length (mm)	—	324.0	7.1	(9)	301.0	12.8	(10)
Segment wt (mg/mm)	—	5.5	0.1	(9)	7.9***	0.3	(10)
Uptake							
$\mu\text{mol/g}$	5	18.50	1.24	(5)	13.73	1.35	(5)
	10	26.16	1.37	(4)	18.55***	0.65	(5)
$\mu\text{mol/mm}$	5	0.106	0.065	(5)	0.106	0.047	(5)
	10	0.138	0.061	(4)	0.147	0.054	(5)

Significance of difference from GF values: ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

† Five birds were selected at random from the group of twenty for measurement of uptake of each compound at each time.

in vivo での実験では、グルコースまたはメチオニンの吸収量にはほとんど差がなかったが、栄養素の腸間膜静脈血液中、ひいては体循環血液中への栄養素の移行は通常ヒナが速かった。これは通常ヒナの腸管へ流れる血液量が多かったのかもしれない。

3. 結 論

腸内細菌が存在すると、ヒナの増体重は少なくなり、以上述べてきたように栄養素の吸収およびその利用には、それほど大きな差があるとは考えられない。ごく最近のヒナにおける実験結果²⁵⁾によると、通常ヒナでは飼料の代謝エネルギー値は高いが、体に蓄積するエネルギーは低くなる。これは、通常ヒナでは腸内細菌により炭水化物が醗酵し、醗酵産物が利用されずに損失されるため、宿主

自身で利用できるエネルギーが少くなり、体に蓄積するエネルギーが少なくなると考えられる。

Coates⁶⁴⁾ は、通常ヒナの腸管内の pH は下方に行くにしたがって無菌ヒナより低くなると報告している。宿主のエネルギー源となるべき栄養素の一部が醗酵により乳酸や酢酸のような有機酸に転換され、ヒナに利用されずに排泄されるのであろう。

豚における最近の研究⁶⁵⁾ では、回腸下部の腸内細菌の活性でグルコースが乳酸や V F A へ転換されて宿主に利用されず排泄されるとしている。しかし、これは抗生物質の投与により防止できるとし、損失したエネルギーと宿主の成長との関連についてくわしく考察している。

このように従来の研究では、腸内細菌が存在しないか、または存在しても抗生物質などで少くなったヒナが、大きな増体重を示す原因として、栄養学的には栄養素の吸収、栄養素特に蛋白質の利用、ビタミン・ミネラルの利用の向上で考えられていたが、腸内細菌の関与による醗酵が飼料中のエネルギーを損失させている可能性があり、今後の課題として残されている。

文 献

1. Moore, P. R., A. Evenson, T. D. Luckey, E. McCoy, C. A. Elvehjem and E. B. Hart, *J. Biol. Chem.*, 165 : 437 (1946)
2. Stokstad, E. L. R., T. H. Jukes, J. Pierce, A. C. Page Jr. and A. L. Franklin, *J. Biol. Chem.*, 180 : 647 (1949)
3. Stokstad, E. L. R. and T. H. Jukes, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 73 : 523 (1950)
4. Borgo, G. D. and J. McGinnis, *Poultry Sci.*, 47 : 1612 (1968)
5. Nelson, F. E., L. S. Jensen and J. McGinnis, *Poultry Sci.*, 42 : 909 (1963)
6. Sibbald, I. R., S. J. Slinger and G. C. Ashton, *Poultry Sci.*, 40 : 945 (1961)
7. Slinger, S. J., W. F. Pepper, I. Motzok and I. R. Sibbald, *Poultry Sci.*, 41 : 460 (1962)
8. Beggin, J. J., *Poultry Sci.*, 50 : 1496 (1971)
9. March, B. E., A. Akinwande and R. Soong, *Poultry Sci.*, 51 : 1409 (1972)
10. Biele, J. and B. March, *Science*, 114 : 330 (1951)
11. March, B. E. and J. Biele, *Poultry Sci.*, 46 : 831 (1967)

- 1 2. Coates, M. E., C. D. Dickinson, G. F. Harrison and S. K. Kon, *Biochem. J.*,
49 : 1xviii (1951)
- 1 3. Calet, C. and R. Jacquot, *C.R. Acad. Sci.*, 240 : 1370 (1955)
- 1 4. Corril, A. O. L., J. M. Bell and C. M. Williams, *Can. J. Anim. Sci.*,
40 : 100 (1960)
- 1 5. Eyssen, H. and P. deSommer, *Poultry Sci.*, 42 : 1373 (1963)
- 1 6. Melnykowycx, J. and K. R. Johansson, *J. Exp. Med.*, 101 : 507 (1955)
- 1 7. O'Conor, In "Growth in Animal", T. L. J. Lawrence (ed) Butterworths,
London-Boston (1980)
- 1 8. 内藤良一, 小林盈蔵, 日本微生物学病理学雑誌, 31 : 1867 (1936)
- 1 9. Reyniers, J. A., P. C. Trexler, R. F. Ervin, M. Wagner, T. D. Luckey and
H. A. Gordon, *Lobund Rep. Notre Dame University*, 2 : 1 (1949)
- 2 0. Forbes, M. and J. T. Park, *J. Nutr.*, 67 : 69 (1959)
- 2 1. Coates, M. E., R. Fuller, G. F. Harrison, M. Len and S. F. Suffolk, *Br. J.*
Nutr., 17 : 141 (1963)
- 2 2. Gordon, H. A., *Lobund colloquim, Univ. of Notre Dame, Ind.*
- 2 3. Coates, M. E., C. B. Cole, R. Fuller, S. B. Houghton and H. Yokota, *Br.*
Poultry Sci., 22 : 289 (1981)
- 2 4. Yokota, H. and M. E. Coates, *Br. J. Nutr.*, 47 : 349 (1982)
- 2 5. Furuse, M. and H. Yokota, unpublished data
- 2 6. Rolls, B. A., *Lab. Animals*, 11 : 99 (1977)
- 2 7. Lev, M. and M. Forbes, *Br. J. Nutr.*, 13 : 78 (1959)
- 2 8. Huhtanen, C. N. and J. M. Pensack, *Poultry Sci.*, 44 : 830 (1965)
- 2 9. Fuller, R., M. E. Coates and G. F. Harrison, *J. Applied Bacteriol.*,
46 : 335 (1979)
- 3 0. Salter, D. N., *Proc. Nutr. Soc.*, 32 : 65 (1973)
- 3 1. Salter, D. N., M. E. Coates and D. Hewitt, *Br. J. Nutr.*, 31 : 307 (1974)
- 3 2. Okumura, J., D. Hewitt, D. N. Salter and M. E. Coates, *Br. J. Nutr.*,
36 : 265 (1976)
- 3 3. Okumura, J., D. Hewitt and M. E. Coates, *Br. J. Nutr.*, 39 : 99 (1978)
- 3 4. Salter, D. N. and M. E. Coates, *Br. J. Nutr.*, 26 : 55 (1971)

- 3 5. Ishibashi, T., M. Kametaka, A. Osaki, T. Yamamoto and T. Mitsuoka, Jpn. J. Zootech. Sci., 48 : 641 (1977)
- 3 6. Ishibashi, T., M. Kametaka, A. Osaki, T. Yamamoto and T. Mitsuoka, Jpn. J. Zootech. Sci., 48 : 741 (1977)
- 3 7. Muramatsu, T., M. E. Coates, D. Hewitt, D. N. Salter and P. J. Garlick, Proc. Nutr. Soc., 40 : 15A (1980)
- 3 8. Rolls, B. A., A. Turvey and M. E. Coates, Br. J. Nutr., 39 : 91 (1978)
- 3 9. Boyd, F. M. and H. M. Edwards, Jr., Poultry Sci., 46 : 1481 (1967)
- 4 0. Cole, C. B., R. Fuller and M. E. Coates, In "Recent Advances in Germfree Research," p 365, Sasaki, S. et al. (eds). Tokai University Press, Tokyo (1981)
- 4 1. Parmer, M. F. and B. A. Rolls, Br. J. Nutr., 46 : 549 (1981)
- 4 2. Edwards, H. M. and F. M. Boyd, Poultry Sci., 42 : 1030 (1963)
- 4 3. Coates, M. E., J. E. Ford and G. F. Harrison, Br. J. Nutr., 22 : 392 (1968)
- 4 4. Latymer, E. A. and M. E. Coates, Br. J. Nutr., 45 : 441 (1981)
- 4 5. Cook, R. H. and F. H. Bird, Poultry Sci., 52 : 2276 (1973)
- 4 6. Abrams, G. D. and J. E. Bishop, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 126 : 301 (1967)
- 4 7. Sacquet, E., H. Garnier and P. Raibaud, C. R. Soc. Biol., 164 : 532 (1970)
- 4 8. Coates, M. E., D. Hewitt and P. Glob, Br. J. Nutr., 24 : 213 (1970)
- 4 9. Lepkovsky, S., M. Wagner, F. Furuta, K. Ozone and T. Koike, Poultry Sci., 43 : 722 (1964)
- 5 0. Ivorec - Szylit, O., P. Raibaud and P. Schellenberg, In "Germ-free Research," p 225, Heneghan, J. B. (ed.), Academic Press, New York and London (1973)
- 5 1. Bewa, H., G. Charlet-Lery and O. Szylit, Ann. Nutr. Aliment., 33 : 213 (1979)
- 5 2. Siddons, R. C. and M. E. Coates, Br. J. Nutr., 27 : 101 (1972)
- 5 3. Coates, M. E. In "Growth in Animals," p 175, Lawrence, T. L. J. (ed.),

- Butterworths, London-Boston (1980)
- 5 4. Heneghan, J. B., *Am. J. Physiol.*, 205 : 417 (1963)
 - 5 5. Herskovic, T., J. Katz, M. H. Flock, R. P. Spencer and H.M. Spiro, *Gastroenterology*, 52 : 1136 (1967)
 - 5 6. Riedel, G., E. Scharer and U. Losch, *Zbl. Vet. Med. A*, 19 : 563 (1972)
 - 5 7. Ford, D. J. and M. E. Coates, *Proc. Nutr. Soc.*, 30 : 10A (1971)
 - 5 8. Scharer, E. and G. Riedel, *Z. Tierphysiol., Tierernahr. u. Futtermittelkde.*, 30 : 264 (1972)
 - 5 9. Yokota, H., In "Recent Advances in Germfree Research", p 343, Sasaki, S. et al. (eds), Tokai University Press, Tokyo (1981)
 - 6 0. Semenza, G., *Biochim. Biophys. Acta*, 173 : 104 (1969)
 - 6 1. Tasaki, I. and N. Takahashi, *J. Nutr.*, 88 : 359 (1964)
 - 6 2. Gordon, H. A. and E. Bruchner-Kardoss, *Acta anat.*, 4 : 210 (1961)
 - 6 3. Coates, M. E. and D. J. Jayne-Williams, In "Physiology of Domestic Fowl", p 182, Horton-Smith, C. and E. C. Amoroso (eds), Oliver and Boyd Ltd, Edinburgh and London (1966)
 - 6 4. Coates, M. E., *Proc. Jpn. Soc. Anim. Nutr. and Metab.*, 21 : 110 (1977)
 - 6 5. Veruaeke, I. J., J. A. Ducuyper, N. A. Dierick and H. K. Henderickx, *J. Anim. Sci.*, 49 : 846 (1979)