

ハタネズミにおける直接吸飲によるVFAsのエネルギー源としての栄養的効果

誌名	日本獣医畜産大学研究報告 = The bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnical College
ISSN	03738361
著者	菅原, 盛幸 田中, 哲夫 大木, 与志雄
巻/号	34号
掲載ページ	p. 1-7
発行年月	1985年12月

ハタネズミにおける直接吸飲による VFAs のエネルギー源としての栄養的効果

菅原盛幸・田中哲夫・大木与志雄

日本獣医畜産大学 生理化学教室

要約 体重30~40gのハタネズミ (*Microtus arvalis* Pallas) を用いて、30日間にわたって低級脂肪酸 (VFAs) の給与試験を行なった。対照群、実験群ともに草食動物用ペレット (ZC) を1匹当たり1日6.5g給与したが、この量は平均体重維持量 (ZC 約8g) より若干低い値である。さらに実験群には酢酸、プロピオン酸、酪酸のソーダ塩をそれぞれ20mM/dlの濃度で自由に吸飲させた。対照には水を自由に吸飲させた。

対照群は30日以内にいずれも体重が10g以上低下し、途中で死亡する例も見られた。VFAs 給与実験群では、いずれの酸でも死亡することなく、平均的に体重が維持された。血糖値は正常動物は70mg/dlであるが、対照では33mg/dlまで低下した。実験群では60mg/dlと僅かな低下にとどまった。肝グリコーゲン量は、対照群は正常動物の約1/3に低下したが、実験群は僅かに低下するか変わらなかった。血中アセトン、いずれの群も高値をしめしたが、尿中へのケトン体の排泄はみられなかった。

キーワード：ハタネズミ、VFAs、エネルギー源

日獣畜大研報, 34, 1~7, 1985.

反芻動物では、ルーメン発酵によって産生される VFAs が主たるエネルギー源として利用されていることは、よく知られている。柴田¹⁰⁾は、牛や山羊のルーメン内に VFAs 溶液を注入して、長期間動物を維持できることを明らかにし、各々の酸が生体に与える影響についても研究を行なった。また VFAs のルーメン内比率が産肉やミルク生産に及ぼす影響の研究も多数行なわれ^{5,6,7,8)}、この場合にも基礎飼料を与えた上で、ルーメン内に VFAs を添加する実験が数多く行なわれている。

ところで草食性ハタネズミは、反芻動物と同様に前胃を有しており、前胃と盲腸では微生物による嫌氣的発酵が行なわれている^{2,3)}。ここでは、酢酸を主体とする VFAs が産生されており^{3,12)}、これを吸収しエネルギー源として利用しているものと考えられる。これらの VFAs を直接ハタネズミに吸飲させ、反芻動物と同様にエネルギー源として吸収利用されていることを明確に証明しようとして本実験を行なった。

実験材料および方法

飼育条件および方法：当研究室で維持繁殖しているハタネズミ *Microtus arvalis* Pallas (体重30~40g) を用いた。各動物には草食動物用ペレット (ZC; オリエンタル酵母製) を1日1匹当たり6.5g 給与した。この量は平均体重維持量 (ZC 約8g) より若干低い値である。この

飼料のみを給与した群を対照とし、実験群には酢酸ナトリウム (以下酢酸 Na と略す)、プロピオン酸ナトリウム (同、プロピオン酸 Na)、酪酸ナトリウム (同、酪酸 Na) をそれぞれ20mM/dl の濃度で自由に吸飲させた。対照群には水を自由に吸飲させた。実験は30日間にわたって行ない、毎日午前11時~12時のあいだに体重、採食量、飲水量、尿中ケトン体を調べた。

飼育条件は、14時間点燈 (午前7時~午後9時)、室温20~27°Cとした。

血糖値の測定法：ハタネズミの眼底静脈叢より1週間ごとに採血し、トリクロロ酢酸で除蛋白後-20°Cで凍結保存し、血糖測定用サンプルとした。血糖は Glucose oxidase 法¹⁾によって測定した。

肝グリコーゲン測定法：実験終了後 (あるいは死亡直前) 肝臓を摘出して、肝グリコーゲン含量を調べた。供試動物の屠殺は午後1時~2時の間に行なった。肝臓は採取後直ちにドライアイス・メタノールで凍結した後、-20°Cで凍結保存した。肝グリコーゲンは冷トリクロロ酢酸抽出法¹¹⁾により抽出した後、アントロン法⁴⁾によって測定した。

血液および尿ケトン体測定法：血中アセトンは、屠殺時全血を蒸留水で5倍希釈した後、25% (w/v) メタリン酸含有5N-H₂SO₄で除蛋白し、-20°Cで凍結保存した。血中アセトンの分析は、ガスクロマトグラフィーで

行なった。内部標準物質はプロパノールとし、カラムは Silicon OV-17 (日本クロマト工業) を用いた。尿中ケトン体は、新鮮尿をケトスティックス (三共製薬) によって検定した。

実験結果

1. 各種 VFAs 給与が体重におよぼす影響

対照群の雄の体重の変化を Fig. 1 に、雌の体重の変化を Fig. 2 に示した。対照群では、給与した飼料 (ペレット 6.5 g) を全て摂取した。飲水量は平均 21 ml (n=11) であった。図からも明らかなように、飼料が維持量より若干低い量であるため、いずれも体重が徐々に減少し、実験期間の 1 ヶ月以内に 10 g 以上も低下し、また途中で死亡する例も見られた。

これに対し、雄を用いてペレット 6.5 g を与えたうえ、20 mM/dl の酢酸-Na 液を自由吸飲させた時の体重の変化を Fig. 3 に示した。飼料はこの群でも全て摂取し、酢酸-Na 液は平均 34 ml (n=11) 吸飲した。酢酸-Na 液を給与した初日には、酢酸-Na 液に馴れないこともあって体重が若干減少した。その後は多少体重が減少する例も見られたが、対照に比べて、平均的に良く体重が維持された。

同様に、雌を用いてペレット 6.5 g を与えたうえ、20

mM/dl のプロピオン酸-Na 液を自由吸飲させた時の体重の変化を Fig. 4 に示した。飼料はこの群でも全て摂取、プロピオン酸-Na 液は平均 31 ml (n=6) を吸飲した。この群でも 30 日間にわたって良く体重が維持された。

同様に、雄を用いてペレット 6.5 g を与えたうえ、20 mM/dl の酪酸-Na 液を自由吸飲させた時の体重の変化を Fig. 5 に示した。飼料はこの群では多少残す例もみられた。酪酸-Na 液は平均 50 ml (n=7) を吸飲した。この群でも 30 日間にわたって極めて良く体重が維持された。

2. 各種 VFAs 給与による体内代謝産物の変化

20 mM/dl の各々の VFA 溶液を吸飲させた時の、血糖値の週ごとの変化を Fig. 6 に示した。正常な成熟ハタネズミの血糖値は約 70 mg/dl である。対照群では、実験開始後 1 週間目に 50 mg/dl まで低下し、その後さらに低下して、4 週間目には 33 mg/dl と半分以下になった。

これに対して、VFA 溶液を給与している実験群においては、概ね 60 mg/dl 程度に血糖値が維持された。

Table 1 に VFAs 溶液を給与した時の血糖値、肝グリコーゲン含量、血中アセトンおよび尿中ケトン体量を示した。血糖値は、対照群では正常時の半分以下に低下し

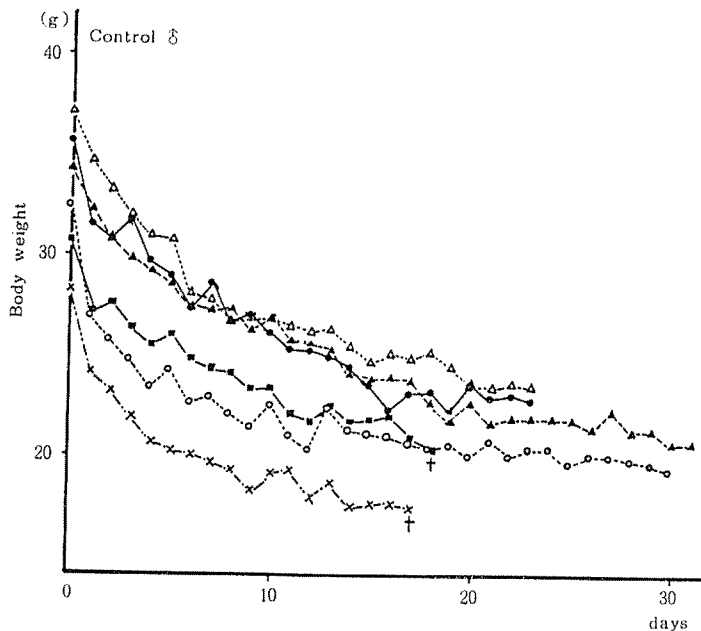


Fig. 1. Effects of a limited diet on the body weights of male voles. The male voles were fed a limited diet corresponding to 6.5 g of pellets for herbivores.

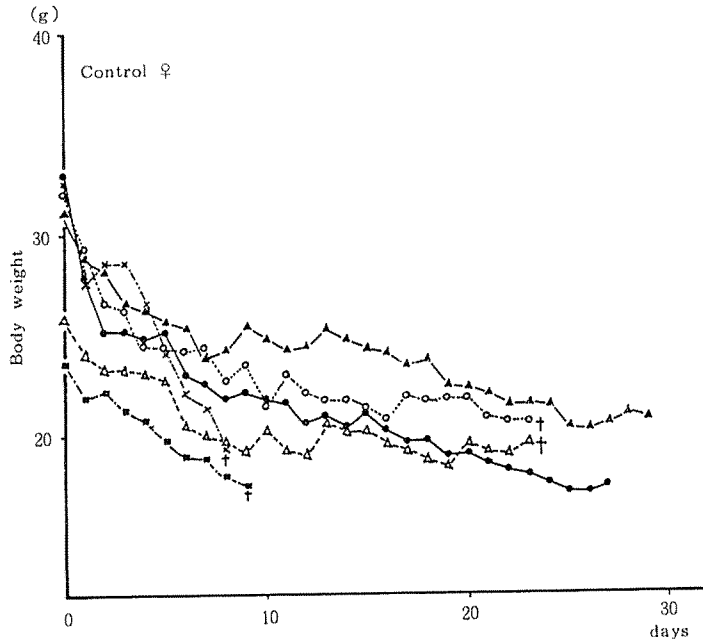


Fig. 2. Effects of a limited diet on the body weights of female voles. The female voles were fed a limited diet corresponding to 6.5g of the pellets.

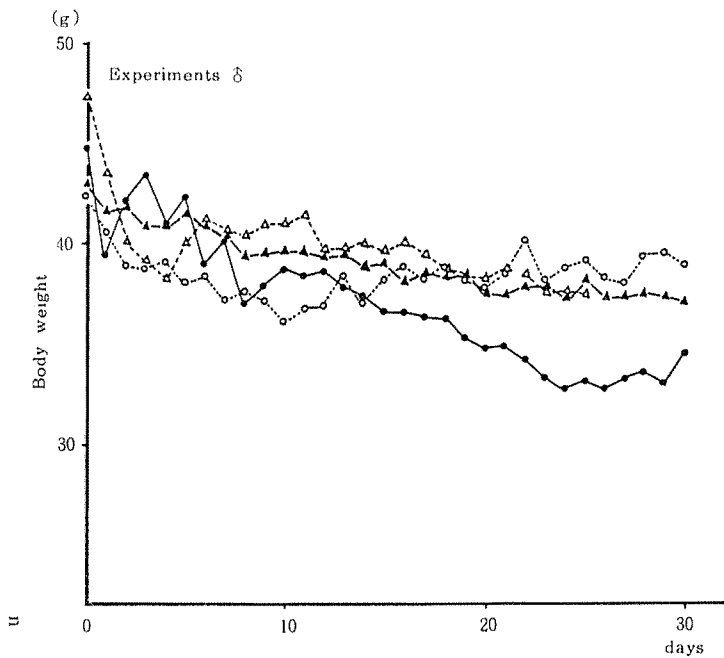


Fig. 3. Effects of supplying a limited diet with sodium acetate (20 mM/dl) on the body weights of male voles.

エネルギー価を持つ。今回与えた 6.5 g の ZC は約 20 Cal に相当する。酢酸 1 モル当りのエネルギー価は 208 Cal と評価⁹⁾されており、酢酸-Na を給与したハタネズミは 20 mM/dl の溶液を平均 34 ml 吸飲したのであるから、酢酸-Na によるエネルギー摂取は 1.4 Cal である。ZC (6.5 g) とこの酢酸-Na のエネルギーを合わせると 21.4 Cal となり、これは必要なエネルギーの 86% に達する。

プロピオン酸 1 モルは、365 Cal と評価⁹⁾されている。プロピオン酸-Na を給与したハタネズミは 20 mM/dl の溶液を平均 31 ml 吸飲したのであるから、プロピオン酸-Na によるエネルギー摂取は 2.3 Cal である。ZC (6.5 g) とプロピオン酸-Na のエネルギーを合わせると 22.3 Cal となり、これは必要なエネルギーの 92% に成る。

同様に、酪酸 1 モルは 517 Cal と評価⁹⁾されている。酪酸-Na を給与した群は 20 mM/dl の溶液を平均 50 ml 吸飲したので、酪酸-Na によるエネルギー摂取は 5.2 Cal である。それ故 ZC (6.5 g) と酪酸-Na のエネルギーを合わせると 25.2 Cal となり、これは必要なエネルギーの 101% に相当する。

このように、VFAs が全て吸収され利用されれば、平均体重を維持するのに必要なエネルギーがほぼ充足されるものと思われる。VFAs を給与したハタネズミは、いずれも体重が平均的に維持されており、従っていずれも良く VFAs が吸収利用されたものと考えられる。

ハタネズミの血糖値は、飢餓にすると急速に低下し、24 時間後に 55.2 mg/dl, 48 時間後には 47.2 mg/dl にまで低下する¹²⁾。今回の実験では、対照群において、体重維持量より若干低い量の飼料が給与されているため、その血糖値の低下はゆるやかであった。しかし、30 日目には 33.2 mg/dl まで低下した。これに対し、VFAs 給与群においては、血糖値は僅かに低下したのみで、一定に保たれた。柴田¹⁰⁾は、山羊を単一酸のみで維持すると、酢酸、酪酸では血糖値が低下し、プロピオン酸では血糖値が正常値を維持することを報告している。しかし、今回の実験では VFAs のみの給与では無いため、VFAs の酸の違いによる血糖値への影響はみられなかった。

ただし、肝グリコーゲン含量においては、給与する酸による違いがうかがわれた。正常な成熟ハタネズミの肝グリコーゲン含量は約 22 mg/g である。酢酸-Na, 酪酸-Na 給与群においては、給与後 30 日で約 3/4 に低下したが、糖形成的に働くプロピオン酸では全く低下が認められなかった。

いっぽう、血中アセトンはいずれの群も高値を示したが、尿にはケトン体の排泄はみられなかった。ハタネズミは、短期間の絶食で容易にケトン体が増加する^{12,13)}。

しかし、今回の実験では、対照群においても不十分ではあるが飼料給与されているため、消化管より栄養素の供給があり、ケトン体の生成量も飢餓時に較べると比較的少なく、また栄養素の不足が比較的緩慢であるため、ケトン体を利用する酵素活性が順応して上昇していることも考えられる。VFAs 給与群においても、同様にケトン体が良く利用されていると思われるが、特にプロピオン酸-Na 給与群においては尿中ケトン体が常に陰性であり、より良くエネルギー源として利用されているものと思われる。

いっぽう、酪酸-Na に関して、飼料を十分に給与したうえで過剰に吸飲させると、完全燃焼されずに血中ケトン体が増加するとともに、過剰のケトン体が尿中に出現する¹³⁾。しかし、今回の実験における酪酸-Na 給与群では、尿中にケトン体が出現しなかった。その理由は、これらの実験群では飼料が若干不足しているために、ケトン体のエネルギー源として利用され、尿中には出現しなかったものと考えられる。

文 献

- 1) HUGGETT, A. G. and NIXSON, D. A. (1957). Enzymic Determination of Blood Glucose. *Biochem. J.*, **66**, 12 p.
- 2) KUDO, H., OKI, Y. and MINATO, H. (1979). *Microtus* Species as Laboratory Animals I. Bacterial Flora of the Esophageal Sac of *Microtus montebelli* Fed Different Rations and Its Relationship to the Cellulolytic Bacteria. *Bull. Nippon Vet. Zootech. College*, **28**, 13-19.
- 3) 小原嘉昭・後藤信男 (1980). ハタネズミ Japanese Field vole (*Microtus montebelli*) 消化管における揮発性脂肪酸と消化管および肝組織におけるその消費。日畜会報, **51**, 393-396.
- 4) 原田篤也・小泉岳夫 (1974). 総合多糖類科学 (上). 東京, 講談社. p. 49-50.
- 5) ORSKOV, E. R. and ALLEN, D. M. (1966). Utilization of salts of volatile fatty acids by growing sheep. I. Acetate, propionate and butyrate as sources of energy for young growing lambs. *Brit. J. Nutr.* **20**, 295-305.
- 6) ROOK, J. A. F. and BALCH, C. C. (1961). The effects of intraruminal infusion of acetic, propionic and butyric acids on the yield and composition of the milk of the cow. *Brit. J. Nutr.* **15**, 361-369.
- 7) ROOK, J. A. F., BALCH, C. C., CAMPLING, R. C. and FISHER, L. J. (1963). The utilization of acetic, propionic and butyric acids by growing heifers. *Brit. J. Nutr.* **17**, 399-406.
- 8) SENEL, S. H. and OWEN, F. G. (1966). Relation

- of Dietary Acetic and Butyric Acids to Intake, Digestibility, Lactation Performance, and Ruminal and Blood Levels of Certain Metabolites. *J. Dairy Science*, **50**, 327-333.
- 9) 柴田章夫(1981). 反芻動物の比較栄養生化学(12). 畜産の研究, **35**, 463-468.
- 10) 柴田章夫(1981). 反芻動物の比較栄養生化学(13). 畜産の研究, **35**, 585-591.
- 11) STETTEN, M. R., KATZEN, H. M. and STETTEN, D. Jr. (1956). METABOLIC INHOMOGENEITY OF GLYCOGEN AS A FUNCTION OF MOLECULAR WEIGHT. *J. Biol. Chem.*, **222**, 587-599.
- 12) 菅原盛幸・大木与志雄(1982). ハタネズミの消化管内発酵生産物と体内代謝産物におよぼす飼料給与と絶食の影響. 日畜会報, **53**, 400-405.
- 13) 菅原盛幸・大木与志雄(1982). ハタネズミにおける実験的ケトーンズに関する研究. 日獣畜大研究報告, **31**, 9-12.

Nutritional Effects of Acetate, Propionate and Butyrate Fed as Energy Sources in Field Voles.

Moriyuki SUGAWARA, Tetsuo TANAKA and Yoshio OKI

Department of Physiological Chemistry,
Nippon Veterinary and Zootechnical College

ABSTRACT

An experiment was conducted in which sodium salts of acetic, propionic or butyric acid were respectively given to each group of voles as supplemental nutrient of a limited diet (6.5 g) of pellets for herbivores. Control group was fed only the limited diet with drinking of water *ad libitum*. Twenty-five voles, *Microtus arvalis* Pallas, of 12 weeks of ages and 30~40 g body weight were used for these experiments. The experimental groups were supplied the limited diet with drinking *ad libitum* of 20 mM/dl aqueous solution of the volatile fatty acid (VFA) salts over periods of 30 days. The results are summarized as follows. (1) The body weights of the control group decreased more than 10 grams and fatal decrease was a common case. However, the body weights of the experimental groups were maintained. (2) Blood glucose concentrations of the control group decreased from the normal level of 70 mg/dl to 33 mg/dl. But, blood glucose concentrations of the experimental groups were maintained to the level of about 60 mg/dl. (3) Hepatic glycogen contents in the voles of the control group decreased from the normal level of about 22 mg/g to about 9 mg/g. However, the contents of the groups drinking acetate or butyrate solution decreased only to the levels of about 16 mg/g, and the contents in the voles drinking propionate solution were maintained to the levels of about 30 mg/g. (4) The concentrations of acetone in blood increased rapidly in all groups, but the concentrations of the keton body in urine did not increase.

Key words: Field voles, VFAs, Energy source

Bull. Nippon. Vet. Zootech. Coll., No. 34. 1~7, 1985.