
反芻家畜におけるタンパク質合成の栄養制御

(研究課題番号 11660277)

平成11、12年度科学研究費補助金（基盤研究C）

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 佐野宏明

(岩手大学農学部助教授)

は し が き

反芻家畜では、飼料性タンパク質は主にルーメン内微生物によってアミノ酸やアンモニアにまで分解された後、微生物のタンパク質として取り込まれ、これが下部消化管で消化されて体内に吸収される。このように反芻家畜におけるタンパク質の消化吸収過程は単胃動物のそれよりも複雑である。しかしながら、反芻家畜の栄養の特徴をさらに詳細に解明することができれば、肉、乳などの生産を給与飼料によって制御することが可能となるなど、より効率的な飼養管理にもつながるものと期待される。畜産業、畜産学の最も重要な意義は、動物性タンパク質をより安全かつ効率的に生産、供給することにある。家畜の体内においてタンパク質、炭水化物、脂質の代謝は相互に関連し、バランスを取りながら恒常性を維持している。したがって、効率的な生産のために生体全体のタンパク質の代謝動態を明らかにすることばかりでなく、タンパク質代謝と他の栄養素代謝が互いにどのように影響し合うのかを明らかにしていくことが重要である。さらに、エネルギー不足の際、タンパク質はエネルギー源としても利用される。この際、排泄される窒素化合物は、メタン、二酸化炭素などとともに、家畜による環境汚染物質の一つであると指摘されている。したがって、これら環境汚染物質の排泄量を抑制することも我々に課せられた緊急かつ重要な課題である。

本研究はこのような観点に立ち、「反芻家畜におけるタンパク質合成の栄養制御」という研究題目で平成11、12年度科学研究費補助金（基盤研究C）に申請したところ、文部省（現文部科学省）より研究費補助金の交付を受け、申請した実験を実施することができた。その結果、興味ある結果が得られたので、ここに報告する。

平成13年3月

研究代表者 佐野 宏 明

研究組織

研究代表者： 佐野宏明 (岩手大学農学部助教授)

研究協力者： 藤田忠久 (岩手大学連合大学院農学研究科博士課程)
梶田昌裕 (岩手大学大学院農学研究科修士課程)

研究経費

平成11年度	2、500千円
平成12年度	1、100千円
計	3、600千円

研究発表

1) 学会誌等

- (1) Fujita, T., M. Kajita, H. Sano, and A. Shiga
Effects of supplemental energy as starch on kinetics of blood glucose and protein synthesis in mature goats .
J. Agr. Sci. (Camb.) 2001. (発表予定)

2) 口頭発表

- (1) 藤田忠久、梶田昌裕、佐野宏明、志賀隴郎 (2000)
ヤギのグルコース・タンパク質動態に及ぼすデンプン添加の影響
日本畜産学会第97回大会講演要旨 p. 39.

目次

緒論	1
試験 1 ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼすデンプン添加給与の影響	3
試験方法	3
結果	5
考察	8
試験 2 ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼす非タンパク質エネルギー 摂取量の影響	12
試験方法	12
結果	13
考察	17
試験 3 ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼす炭水化物給源の違いの影 響	20
試験方法	20
結果	20
考察	23
まとめ	27
参考文献	28

緒論

反芻家畜においても単胃家畜と同様に、動物に摂取もしくは投与されたエネルギーは血漿尿素態窒素濃度、尿中尿素態窒素排泄量、窒素保持量に大きな影響を及ぼす (Eskeland et al. 1974; Storm et al. 1983; Obara et al. 1994)。しかし、これらの測定値は、反芻家畜の場合には第一胃のアンモニアと血液の尿素の間で生じる窒素の交換 (窒素のリサイクリング) の影響を受けるため、体内のタンパク質代謝の指標としての信頼性は低いと考えられる (Asplund, 1994; Lobley et al. 1992)。従って体内のタンパク質代謝を研究するに当たっては体内のタンパク質の動態をより直接的に評価することが重要となる。反芻家畜の栄養において、給与するエネルギーの量や質が体内のタンパク質代謝に及ぼす影響を明らかにすることは給与した窒素のタンパク質への利用効率を向上させる飼養形態の確立につながると思われる。

同位元素希釈法は非侵襲的に体内のタンパク質の動態を評価する方法として有効な方法の一つである。この方法を用いて、飼料摂取量の増加が全身タンパク質合成速度を増加させることが成長中のヒツジ (Harris et al. 1992) および肥育時のウシ (Lobley et al. 1987) で明らかにされている。しかし、体内のタンパク質動態に対する摂取したエネルギーの効果を粗タンパク質の効果と区別して検討した研究は反芻家畜においては非常に限られている。Nissen & Ostaszeuski (1985) は、トウモロコシデンプンによるエネルギー摂取量の増加は採食後15時間以上経過後のヒツジの全身タンパク質合成速度を低下させると報告している。しかし、この時間帯では消化管からの栄養素の吸収はかなり低くなっているため、栄養素の吸収の変化に起因すると考えられるエネルギー摂取量の効果を十分に捉えているとは思われない。より栄養素の吸収が活発な状態において体内のタンパク質動態に対するエネルギー摂取量の効果を検討する必要がある。

本研究ではヤギにおいてエネルギー摂取量およびエネルギーの給源の違いが全身タンパク質合成速度に及ぼす影響を、採食後5~7時間において $[2\text{H}_5]\text{Phe}$ 、 $[2\text{H}_2]\text{Tyr}$ 、 $[2\text{H}_4]\text{Tyr}$ による同位元素希釈法を用いて検討した。この時間帯は栄養素の吸収がまだ活発であり、かつ比較的一定している時間帯であると考えた。エネルギー摂取量の影響を検討するために粗タンパク質摂取量を一定にして、トウモロコシデンプンの給与量を増加させた試験 (試験1)、および飼料の配合と給与量を変化させて非タンパ

ク質エネルギーを増加させた試験(試験2)を実施した。また摂取したエネルギーの種類の影響を検討するために、反芻家畜において主要な食餌性のエネルギー基質である炭水化物の給源の違いの影響をデンプンとショ糖で比較した試験(試験3)を実施した。

また、これらの試験において全身タンパク質合成速度の測定とともに、血液中に投与した際に窒素保持量を増加させることが知られているグルコース (Eskeland et al. 1974; Matras & Preston 1989; 柳沢と寺島 1994)の代謝回転速度を[U-13C]グルコースを用いて測定し、体内でのグルコース代謝とタンパク質代謝との関連についても検討した。

(試験1) ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼすデンプン添加給与の影響

[試験方法]

日本ザーネン種成雄ヤギ4頭(2歳, 体重 35.9 ± 3.3 kg; mean \pm SE)に左側頸動脈にループを作成して試験に供試した。動物は、実験室の代謝ケージ内で飼育した。基礎飼料にはアルファルファハイキューブ(10.25 g/kg BW/d)、粉碎トウモロコシ(6.02 g/kg BW/d)、粉碎大豆かす(1.82 g/kg BW/d)を用いた。粗タンパク質給与レベルはNRC飼養標準(NRC 1985)に基づいて維持の1.6倍量とし、代謝エネルギー給与レベルはNRC飼養標準の飼料の代謝エネルギー値に基づいて計算し、維持量(1.0xM)、維持の1.5倍量(1.5xM)、維持の2.0倍量(2.0xM)の3水準とした。1.0xM区では基礎飼料のみを給与し、1.5xMおよび2.0xM区では維持以上のエネルギー給与量の増加分を、日本標準飼料成分表(農林水産省農林水産技術会議事務局 1995)の代謝エネルギー値に基づいてトウモロコシデンプンで給与した。飼料給与は1日2回、8:30および19:30に行い、水、鈹塩は自由摂取させた。各区の割り当ては、2頭の動物ではエネルギー増加方向、他の2頭ではエネルギー減少方向とした。動物はいずれの区においても飼料を給与後30分以内に完全に摂取した。

各区の期間は20日間とし、12~14日に第一胃内容採取、15~20日に糞尿採取、19日に同位元素希釈実験を行った。体重測定は各区の開始前日および終了日に朝の給餌前に行った。

第一胃内容採取は採食終了後6時間目にルミナーを用いて経口的に行った。採取後直ちにpHを測定した。また遠心分離した上清の揮発性脂肪酸(VFA)濃度、アンモニア態窒素濃度を測定した。

糞と尿(1.5M H_2SO_4 100mlを添加)は分離して1日量を8:00に採取した。糞は窒素含量、尿はクレアチニン、尿素態窒素および窒素含量を測定し、これらに糞および尿の量に乗じてそれぞれの成分の日排泄量を求めた。

同位元素希釈実験では、実験前日に注入用のカテーテルを右側頸静脈に、当日の9:00に採血用のカテーテルを頸動脈ループに挿入した。トレーサー溶液は以下の試薬を滅菌0.9% (w/v) 食塩水に溶解して調製した。

D-glucose- $^{13}C_6$ (99atm % ^{13}C , ISOTEC; [U- ^{13}C]glucose)

L-Phenyl- d_5 -Alanine (98atm % D 以上, ISOTEC; [2H_5]Phe)

L-4-Hydroxyphenyl-3,5- d_2 -Alanine (98atm % D 以上, ISOTEC; [2H_2]Tyr)

L-4-Hydroxyphenyl-2, 3, 5, 6-d₄-Alanine (98atm % D 以上, ISOTEC; [2H₄]Tyr) 溶液は頸静脈カテーテルより、11:30に1分間でPriming injectionし ([U-13C] glucose、[2H₅]Phe、[2H₂]Tyr、[2H₄]Tyrそれぞれ0.5、0.5、0.25、0.08mg/kg BW)、この後15:30まで4時間にわたりペリスタポンプ (AC-2102, ATT0) を介して連続注入した ([U-13C] glucose、[2H₅]Phe、[2H₂]Tyrそれぞれ0.12、0.5、0.25mg/kg BW/h)。溶液の注入速度は注入後半の2時間にわたり30分間隔で測定した。採血は注入30分前に1回、および注入2時間後より30分間隔で5回行った。

分析は血漿中の一般成分濃度としてグルコース、乳酸、遊離脂肪酸 (NEFA)、尿素態窒素、総アミノ態窒素、フェニルアラニン (Phe)、チロシン (Tyr)、VFA、インスリンを測定した。血漿中の [U-13C] glucose、[2H₅]Phe、[2H₂]Tyr、[2H₄]Tyrのエンリッチメント (mol % excess) はイオン交換樹脂により分離したグルコースもしくはアミノ酸を誘導体化した後、ガスクロマトグラフ-マススペクトロメーターによって測定した。この際、エンリッチメントが既知の標準溶液の分析から作成した検量線を用いた。

全身の代謝速度の算出は同位元素希釈実験の後半2時間のトレーサー注入速度およびトレーサーエンリッチメントの平均値を用いて行った。グルコースフラックスは1プールモデルにより (Tserng and Kalhan 1983)、全身タンパク質合成速度は遊離Pheプールおよびタンパク質結合Pheプールの2プールモデル (Thompson et al. 1989) により以下の式を用いて算出した。

(フラックス)

$$Q = I \times (100/E - 1)$$

Q : フラックス (mg or $\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

I : トレーサー注入速度 (mg or $\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

E : トレーサーエンリッチメント (mol % excess)

(タンパク質合成速度)

$$Q_{pt} = Q_t \times E_t/E_p \times Q_p / (I_p + Q_p)$$

Q_{pt} : Phe水酸化速度 ($\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

Q_t : Tyrフラックス ($\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

Q_p : Pheフラックス ($\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

I_p : [2H₅]Phe注入速度 ($\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

Et : [2H₄]Tyr エンリッチメント (mol % excess)

Ep : [2H₅]Phe エンリッチメント (mol % excess)

$$Sp = Qp - Qpt$$

Sp : Pheのタンパク質合成への利用速度 ($\mu\text{mol}/\text{kg BW}/\text{min}$)

Spから全身タンパク質合成速度への変換には、0.0333g Phe/g 体粗タンパク質 (Smith 1980)を用いた。

データはSASのGLMを用いて動物をブロックとした乱塊法により処理の効果について検定し、効果が有意 ($P < 0.05$) となった場合はTukey法により各処理間の平均値の差について検定した。

[結果]

各区の開始時体重および終了時の体重はエネルギー摂取量の影響を受けなかったが (Table 1, $P > 0.1$)、日増体量はエネルギー摂取量の増加に伴い増加する傾向がみられた ($P < 0.1$)。

エネルギー摂取量の増加により尿中クレアチニン排泄量は影響を受けなかったが (Table 1, $P > 0.1$)、尿中尿素態窒素排泄量は直線的に低下した ($P < 0.01$)。エネルギー摂取量の増加に伴い尿中窒素排泄量の低下 ($P < 0.01$)、糞中窒素排泄量の増加 ($P < 0.01$)がみられた。この結果、エネルギー摂取量の増加に伴う総窒素排泄量の低下は明らかではなかったが ($P > 0.1$)、窒素保持量はエネルギー摂取量の増加に伴い増加した ($P < 0.05$)。エネルギー摂取量の増加により見かけの可消化窒素量および窒素消化率は低下したが ($P < 0.01$)、摂取した窒素および可消化窒素の保持率は上昇した ($P < 0.05$)。総窒素排泄量中の尿中窒素排泄量の比率はエネルギー摂取量の増加により低下したが ($P < 0.01$)、糞中窒素排泄量の比率は増加した ($P < 0.01$)。尿中窒素排泄量:糞中窒素排泄量の比率は1.0xM区で約4:1、1.5xM区で約7:3、2.0xM区で約1:1であった。

採食後6時間において、第一胃pHおよびアンモニア態窒素濃度はエネルギー摂取量の増加に伴い低下した (Table 2, $P < 0.01$)。第一胃VFA濃度では、エネルギー摂取量の増加により酪酸濃度の増加 ($P < 0.05$)、プロピオン酸および総VFA濃度の増加傾向 ($P < 0.1$)がみられたが、他の酸の変化は明らかではなかった。第一胃VFA比率では、

Table 1. The effects of supplemental energy as starch on body weight and nitrogen balance in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M	Pooled SE
Body weight (kg)				
Initial	35.7	34.5	34.4	1.5
Final	34.0	34.0	36.0	1.6
Daily gain (kg/d)	-0.09	-0.02	0.08	0.03
Urinary creatinine excretion (g/d)	0.90	0.88	0.92	0.06
Urinary urea-nitrogen excretion (g/d)	10.1 ^a	7.9 ^{ab}	5.0 ^b	0.9
Nitrogen balance (g/d)				
Intake	17.7	17.2	16.9	0.8
Excretion				
Urine	13.7 ^a	11.0 ^{ab}	7.8 ^b	1.1
Feces	3.7 ^b	4.6 ^b	6.9 ^a	0.5
Total	17.4	15.6	14.7	1.0
Retention	0.3 ^b	1.6 ^{ab}	2.2 ^a	0.5
Apparent digestible nitrogen (g/d)	14.0 ^a	12.6 ^{ab}	10.0 ^b	0.8
Apparent nitrogen digestibility (%)	79.0 ^a	73.2 ^a	59.2 ^b	2.7
Ratio of nitrogen retention				
To nitrogen intake	0.022 ^b	0.097 ^{ab}	0.126 ^a	0.028
To apparent digestible nitrogen	0.028 ^b	0.123 ^{ab}	0.212 ^a	0.043
Ratio to total nitrogen excretion				
Urinary nitrogen excretion	0.783 ^a	0.704 ^a	0.526 ^b	0.036
Fecal nitrogen excretion	0.217 ^b	0.296 ^b	0.474 ^a	0.036

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

Table 2. The effects of supplemental energy as starch on ruminal characteristics at 6 hours after feeding in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M	Pooled SE
pH	6.49 ^a	6.23 ^a	5.95 ^b	0.09
NH ₃ -nitrogen (mg/dL)	20.1 ^a	17.3 ^a	8.3 ^b	2.6
VFA concentrations (mM)				
Acetate	47.0	54.7	50.2	4.3
Propionate	9.7	11.6	14.5	1.2
Isobutyrate	0.6	0.6	0.6	0.1
Butyrate	5.1 ^b	11.2 ^a	8.2 ^{ab}	1.1
Isovalerate	0.8	0.8	0.8	0.1
Valerate	0.4	0.5	0.6	0.1
Total	63.7	79.5	74.9	6.0
VFA percentages (mol %)				
Acetate	73.4	68.8	66.9	1.1
Propionate	15.4	14.5	19.6	1.0
Isobutyrate	1.0	0.8	0.8	0.1
Butyrate	8.2 ^b	14.3 ^a	10.9 ^{ab}	1.1
Isovalerate	1.2	1.0	1.0	0.1
Valerate	0.7	0.6	0.7	0.1
A / P ratio	4.8	4.9	3.6	0.3

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

Table 3. The effects of supplemental energy as starch on the concentrations of plasma metabolites and insulin during isotope dilution experiments in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M	Pooled SE
Before infusion (3 hours after feeding)				
Glucose (mg/dL)	68	68	74	2
Lactate (mg/dL)	4.60	3.92	6.17	0.51
NEFA (μEq/L)	244	82	62	47
Urea-nitrogen (mg/dL)	17.6 ^a	15.0 ^{ab}	11.0 ^b	1.1
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.43	4.27	4.45	0.13
Phenylalanine (μM)	46.3	40.9	42.3	1.3
Tyrosine (μM)	44.9	42.2	48.7	2.2
VFA concentrations (μM)				
Acetate	935	1298	1401	84
Propionate	20	42	37	5
Isobutyrate	3 ^b	4 ^a	4 ^{ab}	0
Butyrate	15	37	20	4
Isovalerate	9	11	11	1
Insulin (μU/mL)	13.0	13.9	14.2	2.5
During infusion (5 to 7 hours after feeding)				
Glucose (mg/dL)	75	72	75	2
Lactate (mg/dL)	3.78	4.68	4.55	0.29
NEFA (μEq/L)	240 ^a	119 ^b	75 ^b	23
Urea-nitrogen (mg/dL)	14.8 ^a	11.7 ^{ab}	7.5 ^b	1.0
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.40 ^b	4.55 ^{ab}	5.09 ^a	0.17
Phenylalanine (μM)	48.1	46.3	53.5	1.6
Tyrosine (μM)	48.7 ^b	49.0 ^b	68.7 ^a	3.6
VFA concentrations (μM)				
Acetate	827	979	1063	43
Propionate	13	19	26	2
Isobutyrate	3	3	3	0
Butyrate	10	17	13	2
Isovalerate	8	8	8	0
Insulin (μU/mL)	13.0	13.3	18.3	3.5

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

エネルギー摂取量の増加により酪酸で増加 (P<0.05)、プロピオン酸で増加する傾向 (P<0.1) がみられ、酢酸で低下する傾向 (P<0.1) が見られた。しかしA/P比に対するエネルギー摂取量の影響は明らかではなかった (P>0.1)。

同位元素希釈実験においてトレーサー溶液注入前は採食3時間後に相当する。この時点ではエネルギー摂取量の増加に伴い、血漿中の尿素態窒素濃度の低下 (Table 3, P<0.05)、イソ酪酸濃度の増加 (P<0.05)、酢酸濃度の増加傾向 (P<0.1) がみられたが、他の成分の変化は明らかではなかった (P>0.1)。

採食5~7時間後に相当するトレーサー溶液注入中では、エネルギー摂取量の増加

Table 4. The effects of supplemental energy as starch on kinetics of plasma glucose, phenylalanine and tyrosine, and whole body protein synthesis (WBPS) during 5 to 7 hours after feeding¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M	Pooled SE
Flux				
Glucose (mg/kg BW/min)	1.89 ^b	2.41 ^{ab}	3.00 ^a	0.18
Phenylalanine (μmol/kg BW/min)	0.923 ^b	0.971 ^{ab}	1.193 ^a	0.065
Tyrosine (μmol/kg BW/min)	0.763 ^b	0.772 ^b	1.058 ^a	0.056
Phe kinetics				
Rate (μmol/kg BW/min)				
Hydroxylation	0.101 ^{ab}	0.097 ^b	0.130 ^a	0.006
Protein synthesis	0.822 ^b	0.874 ^{ab}	1.064 ^a	0.061
Ratio to total flux				
Hydroxylation	0.111	0.103	0.109	0.007
Protein synthesis	0.889	0.897	0.891	0.007
WBPS (mg/kg BW/min)	4.08 ^b	4.34 ^{ab}	5.28 ^a	0.30

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

に伴い血漿中のNEFA、尿素態窒素濃度の低下 (P<0.01)、総アミノ態窒素、Tyr濃度の増加 (P<0.05)、Phe、酢酸、インスリン濃度の増加傾向 (P<0.1) が認められた (Table 3)。

採食後5~7時間の全身のグルコース、Phe、Tyrのフラックスはいずれもエネルギー摂取量の増加に伴い直線的に増加した (Table 4, P<0.05)。Pheの水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度においても類似した応答がみられ (P<0.05)、この結果全身タンパク質合成速度はエネルギー摂取量の増加に伴い直線的に増加した (P<0.05)。しかしPheフラックス中の水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度の割合はエネルギー摂取量の影響を受けなかった (P>0.1)。

[考察]

本試験においてデンプン摂取量の増加に伴い採食後3時間および5~7時間での血漿尿素態窒素濃度の低下、採食後6時間での第一胃アンモニア態窒素濃度の低下、尿中尿素態窒素排泄量および尿中窒素排泄量の低下、糞中窒素排泄量の増加がみられた。第一胃アンモニア態窒素濃度の低下は、デンプン質飼料 (Norton et al. 1982) および可溶性糖類の給与時 (Obara et al. 1994; Whitelaw et al. 1991) と同様に第一胃でのアンモニアの微生物タンパク質合成への利用の増加によって生じたと考えられる。これは血液から第一胃への尿素的移行量を増加させる (Norton et al. 1982; Obara et al. 1994)。また糞中窒素排泄量の増加は大腸への炭水化物の流入

量の増加による大腸での微生物発酵の亢進のため、微生物タンパク質としての窒素の排泄量が増加したことによると考えられる (Orskov et al. 1970; Oncuer et al. 1990)。炭水化物の流入による大腸での発酵の亢進は血液から大腸への尿素の移行量を増加させる (Oncuer et al. 1990)。これらの血液から消化管への尿素の移行の結果、血漿尿素態窒素濃度、尿中尿素態窒素排泄量および尿中窒素排泄量が低下したと考えられる。この他にエネルギー摂取量の増加による体タンパク質分解の低下も血漿尿素態窒素濃度、尿中尿素態窒素排泄量および尿中窒素排泄量の低下の原因と考えられるが本試験の結果からはこれと尿素の移行を区別することは不可能である。しかし血中へのプロピオン酸もしくはグルコースの注入が血漿尿素態窒素濃度および尿中窒素排泄量を低下させることが知られており、これは注入されたこれらの基質が体タンパク質分解を抑制したと解釈される (Eskeland et al. 1974; Matras & Preston 1989)。

このようにデンプン摂取量の増加は窒素の排泄経路に影響を及ぼしたが、総窒素排泄量に明らかな影響を及ぼさなかった。しかし総窒素排泄量におけるわずかの差を反映して、窒素保持量はデンプン摂取量の増加に伴い増加した。このデンプン摂取量の増加に伴う窒素保持量の増加および可消化窒素量、窒素消化率の低下は、摂取した窒素の保持率および可消化窒素の保持率を明らかに増加させた。これらの結果および第一胃アンモニア態窒素濃度、血漿尿素態窒素濃度の低下は、デンプン摂取量の増加が体タンパク質としての窒素の保持を増加させることを示唆する。さらにこれらの結果は、反芻動物ではエネルギー摂取量を増加させることにより第一胃および体内に存在する窒素の利用効率を増加させ、摂取する窒素の量を制限できることを示唆する。

本試験において採食後6時間の第一胃VFA濃度にはデンプン摂取量の増加による大きな変動はみられなかった。第一胃VFA濃度が最高となるのは採食後2~4時間であること (Bergman 1990) を考えると、この小さな応答の原因の一つは試料採取の時間によるものかもしれない。もう一つの可能性のある原因は本実験で給与したデンプンが可溶化したものではなかったため、第一胃での分解の程度が低かったかもしれないということである。このためデンプン摂取量の増加は第一胃の酪酸比率の増加、プロピオン酸比率の増加傾向、酢酸比率の減少傾向といった第一胃VFA比率の変化から予想されるように第一胃でのデンプンの分解量を増加させたが、一方ではかなりの量が第一胃での分解を免れたのではないかと思われる。これは小腸へのデンプン

の流入によりグルコース吸収の増加を引き起こすとともに、大腸へのデンプンの流入の増加を引き起こすと思われる。

採食後3時間と採食後5～7時間での血漿成分の濃度を比較すると、採食後5～7時間においてデンプン摂取量の増加に伴うNEFAの低下、総アミノ態窒素、Phe、Tyr、インスリンの増加の程度はより明らかであった。これはデンプン摂取量の増加によるエネルギー基質およびアミノ酸の吸収の増加が採食後3時間よりも採食後5～7時間でより大きかったことを示唆している。また採食後5～7時間での全身のグルコース、Phe、Tyrフラックスはデンプン摂取量の増加に伴い直線的に増加した。この結果も採食後5～7時間において、デンプン摂取量の増加によりエネルギー基質およびアミノ酸の吸収の増加が生じたことを示唆している。エネルギー摂取量とグルコースフラックスとの間には正の関係があることが知られている (Elliot 1980)。アミノ酸吸収の増加には前述のように第一胃微生物タンパク質合成の増加が寄与していると思われる。エネルギー基質の吸収の増加には、この時間帯で血漿VFA濃度、血漿乳酸濃度にはデンプン摂取量による明らかな変化はみられなかったことおよび全身のグルコースフラックスがデンプン摂取量の増加に伴い直線的に増加したことから、第一胃分解を免れたデンプンに由来するグルコースの吸収の増加が寄与してものと考えられる。血漿グルコース濃度は採食後5～7時間においてデンプン摂取量の増加による明らかな変化はみられなかったが、血漿グルコース濃度に明らかな変化がなく、グルコース吸収および全身のグルコースフラックスが増加することは以前にトウモロコシ主体飼料を給与した子ヒツジにおいて報告されている (Janes et al. 1985)。

採食後5～7時間での全身タンパク質合成速度はデンプン摂取量の増加に伴い直線的に増加した。この結果はヒツジにおけるNissen & Ostaszeuski (1985)の結果とは異なっている。彼らはデンプンによるエネルギー摂取量の増加はロイジン代謝から推定した全身タンパク質合成速度を低下させると報告している。しかし彼らは栄養素の吸収の影響を避けるため採食後15時間以上経過後に測定を行っている。本試験の結果は、栄養素の吸収が活発で比較的安定している採食後5～7時間ではデンプンによるエネルギー摂取量の増加は全身タンパク質合成速度を増加させることを示している。

本試験でみられたデンプン摂取量の増加に伴う全身タンパク質合成速度の増加は、体重および尿中クレアチニン排泄量に変化がみられなかったことから、体タンパク質量の増加によるものではないと思われる。またPheフラックスにおけるPheの

水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度の比率はデンプン摂取量の影響を受けなかった。これは全身タンパク質合成速度の増加はPheフラックスの増加、すなわちアミノ酸供給量の増加によって引き起こされたことを示唆している。反芻動物においてアミノ酸供給量の増加が全身タンパク質合成速度を増加させることは、第一胃へ維持エネルギー相当のVFA混合物を、第四胃へカゼインを注入して飼養した子ヒツジにおいて報告されている (Liu et al. 1995)。

反芻動物においてタンパク質合成速度に対するインスリンの関与に関しては、*in vivo*の研究でからは否定的である (Oddy et al. 1987; Early et al. 1988; Tesseraud et al. 1993)。本試験においても全身タンパク質合成速度の増加と比較して、血漿インスリン濃度の増加は明らかではなかったため、インスリンは全身タンパク質合成速度に大きな影響は及ぼさないと考えられる。

本試験では全身タンパク質合成速度の増加と全身グルコースフラックスの増加が同時に生じた。グルコースフラックスの増加はエネルギー基質としてのアミノ酸の利用を低下させることによってアミノ酸の酸化速度を低下させ、タンパク質合成へアミノ酸を回すという可能性がある。しかし本試験ではPheフラックス中のPhe水酸化速度の比率はデンプン摂取量の影響を受けなかったため、グルコースがこのようにして全身タンパク質合成速度に影響を及ぼしたとは考えにくい。本試験の結果からグルコース代謝とタンパク質代謝の関係を仮定するならば、消化管からのアミノ酸吸収の増加により増加したタンパク質合成に必要とされるエネルギーをグルコースが供給していると考えるのが妥当と思われる。しかしこれは体内へより直接的にグルコースを注入することによって確かめられるべきである。

(試験2) ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼす非タンパク質エネルギー摂取量の影響

[試験方法]

日本ザーネン種成雄ヤギ3頭(4歳, 体重 37.8 ± 6.4 kg; mean \pm SE)に左側頸動脈にループを作成して試験に供試した。動物は温度20℃、湿度70-90%の環境調節室内で代謝ケージで飼育した。照明は24時間点灯とした。飼料には乾草(リードカナリーグラス:オーチャードグラス = 3 : 2)、粉碎トウモロコシ、粉碎大豆かすを用いた。粗タンパク質給与レベルはNRC飼養標準(NRC 1985)に基づいて維持の1.5倍量とし、代謝エネルギー給与レベルはNRC飼養標準の代謝エネルギー値に基づいて計算し、維持量(1.0xM)、維持の1.5量(1.5xM)、維持の2.0倍量(2.0xM)の3水準とした。いずれの処理区においても乾草:(トウモロコシ + 大豆かす)の給与比率は1:2で一定とし、それぞれの飼料の給与量をTable 5に示したように変えて給与した。

飼料給与は1日2回、8:30および20:30に行い、水、鈹塩は自由摂取させた。処理区の割り当ては、1頭に対してエネルギー増加方向、他の2頭に対してはエネルギー減少方向とした。通常、動物は飼料を給与後30分以内に完全に摂取した。

各区の期間は20日間とし、13~15日に糞尿採取、17日に同位元素希釈実験、18~20日に第一胃内容採取を行った。体重測定は各区開始当日および糞尿採取終了後の16日目に朝の飼料給与前に行った。

試料採取ならび実験は試験1とほぼ同様であるため、試験1と異なる点についてのみ以下に述べる。

- ・糞と尿の採取は7:30に行った。
- ・同位元素希釈実験においてトレーサーのエンリッチメントの測定精度を高めるため、トレーサーの注入速度を以下のように増加させた。

Priming injection . . . [U-13C]glucose、[2H₅]Phe、[2H₂]Tyr、[2H₄]Tyrそれぞれ0.225、0.75、0.375、0.12mg/kg BWとした。

Continuous infusion . . . [U-13C]glucose、[2H₅]Phe、[2H₂]Tyrそれぞれ0.18、0.75、0.37mg/kg BW/hとした。

また注入前の採血を注入前30分より10分間隔で3回行った。

データはSASのGLMを用いて動物をブロックとした不完備型ブロック計画により処理の効果について検定した。処理の効果が有意(P<0.05)となった場合は

Table 5. Diet intake of goats in each treatment in experiment 2

Treatment ¹	Intake (g/kg BW/d)		
	Dried grass	Ground corn	Ground soybean meal
1.0 x M	5.49	7.47	3.52
1.5 x M	8.24	14.60	1.86
2.0 x M	10.98	21.74	0.20

¹1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

Table 6. The effects of non-protein energy increment on body weight and nitrogen balance in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M
n	3	3	2
Body weight (kg)			
Initial	42.6 (0.5) ^a	41.9 (0.5) ^a	35.6 (0.7) ^b
day 16	40.5 (0.5)	43.1 (0.5)	41.3 (0.6)
Daily gain (kg/d)	-0.14 (0.04) ^b	0.08 (0.04) ^b	0.38 (0.06) ^a
Urinary creatinine excretion (g/d)	1.07 (0.03)	0.97 (0.03)	0.86 (0.04)
Urinary urea-nitrogen excretion (g/d)	12.3 (0.7) ^a	7.5 (0.7) ^b	6.2 (0.9) ^b
Nitrogen balance (g/d)			
Intake	19.8 (0.3) ^a	19.4 (0.3) ^a	16.6 (0.3) ^b
Excretion			
Urine	13.7 (0.6) ^a	9.1 (0.6) ^b	7.5 (0.8) ^b
Feces	3.4 (0.3) ^b	5.5 (0.3) ^a	5.8 (0.4) ^a
Total	17.1 (0.4) ^a	14.6 (0.4) ^b	13.3 (0.5) ^b
Retention	2.7 (0.5)	4.9 (0.5)	3.3 (0.7)
Apparent digestible nitrogen (g/d)	16.4 (0.2) ^a	13.9 (0.2) ^b	10.7 (0.3) ^c
Apparent nitrogen digestibility (%)	82.9 (1.5) ^a	71.9 (1.5) ^b	63.9 (2.0) ^b
Ratio of nitrogen retention			
To nitrogen intake	0.145 (0.021)	0.255 (0.021)	0.213 (0.027)
To apparent digestible nitrogen	0.171 (0.034)	0.353 (0.034)	0.341 (0.045)
Ratio to total nitrogen excretion			
Urinary nitrogen excretion	0.802 (0.026) ^a	0.622 (0.026) ^b	0.533 (0.035) ^b
Fecal nitrogen excretion	0.198 (0.026) ^b	0.377 (0.026) ^a	0.467 (0.035) ^a

¹Values represent least-square means. Values in parenthesis represent SE of least-square means. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

Tukey-Kramer法により各処理間の最小二乗平均 (Least-square mean) の差について検定した。

[結果]

本試験では例数が3例と少なく、また2.0xM区ではエネルギー増加方向で割り当てた1頭が飼料を完全に摂取しきれず試料採取および実験が行えなかったため2例となった。このためデータを算術平均で示した場合、2.0xM区において大きな偏りが

Table 7. The effects of non-protein energy increment on ruminal characteristics at 6 hours after feeding in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M
n	3	3	2
pH	6.48 (0.02) ^a	6.36 (0.02) ^b	6.50 (0.02) ^a
NH ₃ -nitrogen (mg/dL)	22.7 (1.3) ^a	10.0 (1.3) ^b	4.7 (1.7) ^b
VFA concentrations (mM)			
Acetate	28.9 (1.3) ^b	38.7 (1.3) ^a	35.4 (1.7) ^{ab}
Propionate	6.4 (0.5) ^b	9.3 (0.5) ^{ab}	11.3 (0.7) ^a
Isobutyrate	0.7 (0.0) ^a	0.6 (0.0) ^{ab}	0.5 (0.0) ^b
Butyrate	4.7 (0.7)	5.9 (0.7)	3.4 (0.9)
Isovalerate	0.6 (0.3)	0.9 (0.3)	0.9 (0.3)
Valerate	0.4 (0.1)	0.7 (0.1)	0.6 (0.1)
Total	42.0 (1.3) ^b	56.1 (1.3) ^a	52.1 (1.7) ^a
VFA percentages (mol %)			
Acetate	68.7 (1.0)	69.1 (1.0)	67.9 (1.4)
Propionate	15.2 (0.6) ^b	16.4 (0.6) ^b	21.4 (0.7) ^a
Isobutyrate	1.6 (0.0) ^a	1.1 (0.0) ^b	1.0 (0.0) ^b
Butyrate	11.2 (1.3)	10.6 (1.3)	6.9 (1.7)
Isovalerate	2.2 (0.2)	1.6 (0.2)	1.7 (0.3)
Valerate	1.0 (0.1)	1.2 (0.1)	1.2 (0.2)
A / P ratio	4.5 (0.2) ^a	4.3 (0.2) ^{ab}	3.2 (0.2) ^b

¹Values represent least-square means. Values in parenthesis represent SE of least-square means. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

生じると思われた。よってデータはSASで算出した最小二乗平均とSEで示した。

各区の開始時の体重は2.0xM区で他の2つの区に比べて低かったが (Table 6, P<0.01)、16日後の体重ではエネルギー摂取量の増加により増加する傾向がみられた (P<0.1)。日増体量はエネルギー摂取量の増加に伴い直線的に増加した (P<0.05)。

尿中クレアチニン排泄量はエネルギー摂取量の増加に伴い低下する傾向がみられ (Table 6, P<0.1)、尿中尿素態窒素排泄量は有意に低下した (P<0.05)。窒素摂取量は2.0xM区で他の区より低かった (P<0.01)。維持以上のエネルギー摂取により尿中窒素排泄量の低下 (P<0.05)、糞中窒素排泄量の増加 (P<0.05)がみられた。総窒素排泄量は維持以上のエネルギー摂取により低下したが (P<0.05)、窒素保持量にはエネルギー摂取量の明らかな影響はみられなかった (P>0.1)。エネルギー摂取量の増加により見かけの可消化窒素量および窒素消化率は低下したが (P<0.01)、維持以上のエネルギー摂取において摂取した窒素および可消化窒素の保持率には増加する傾向がみられた (P<0.1)。総窒素排泄量に対する尿中窒素排泄量および糞中窒素排泄量の比

Table 8. The effects of non-protein energy increment on the concentrations of plasma metabolites and insulin during isotope dilution experiments in adult goats¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M
n	3	3	2
Before infusion (3 hours after feeding)			
Glucose (mg/dL)	63 (1) ^b	60 (1) ^b	69 (1) ^a
Lactate (mg/dL)	6.03 (0.83)	7.72 (0.83)	11.93 (1.10)
NEFA (μEq/L)	99 (18)	101 (18)	45 (24)
Urea-nitrogen (mg/dL)	17.4 (0.3) ^a	12.6 (0.3) ^b	8.0 (0.4) ^c
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.13 (0.29)	4.67 (0.29)	5.45 (0.38)
Phenylalanine (μM)	37.3 (2.4) ^b	45.9 (2.4) ^{ab}	57.6 (3.2) ^a
Tyrosine (μM)	58.7 (3.4) ^b	79.1 (3.4) ^a	91.1 (4.4) ^a
VFA concentrations (μM)			
Acetate	893 (30) ^b	1129 (30) ^a	1042 (40) ^{ab}
Propionate	14 (3)	20 (3)	31 (4)
Isobutyrate	3 (0)	3 (0)	2 (0)
Butyrate	16 (3)	21 (3)	15 (4)
Isovalerate	8 (1)	9 (1)	9 (1)
Insulin (μU/mL)	9.0 (4.6)	19.2 (4.6)	20.6 (6.1)
During infusion (5 to 7 hours after feeding)			
Glucose (mg/dL)	65 (1)	59 (1)	66 (2)
Lactate (mg/dL)	5.38 (0.71)	5.11 (0.71)	5.98 (0.94)
NEFA (μEq/L)	106 (18)	93 (18)	39 (23)
Urea-nitrogen (mg/dL)	16.9 (0.3) ^a	11.7 (0.3) ^b	7.3 (0.3) ^c
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.19 (0.25)	4.76 (0.25)	5.87 (0.33)
Phenylalanine (μM)	46.4 (3.9)	53.7 (3.9)	70.7 (5.1)
Tyrosine (μM)	69.8 (5.0) ^b	91.3 (5.0) ^{ab}	114.3 (6.6) ^a
VFA concentrations (μM)			
Acetate	864 (46)	1018 (46)	744 (61)
Propionate	11 (2)	16 (2)	17 (2)
Isobutyrate	3 (0)	2 (0)	2 (0)
Butyrate	12 (2)	19 (2)	11 (3)
Isovalerate	7 (1)	9 (1)	8 (1)
Insulin (μU/mL)	13.9 (0.6)	14.2 (0.6)	17.7 (0.8)

¹Values represent least-square means. Values in parenthesis represent SE of least-square means. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

率は、維持以上のエネルギー摂取によりそれぞれ低下 (P<0.05) もしくは増加し (P<0.05)、尿中窒素排泄量:糞中窒素排泄量は1.0xM区で約4:1、1.5xM区で約3:2、2.0xM区で約1:1となった。

第一胃pHは1.5xM区で他の区よりも低かった (Table 7, P<0.05)。第一胃アンモニア態窒素濃度はエネルギー摂取量の増加に伴い明らかに低下した (P<0.01)。維持以上のエネルギー摂取により第一胃酢酸濃度 (P<0.05)、プロピオン酸濃度 (P<0.05) および総VFA濃度 (P<0.01) の増加、第一胃イソ酪酸濃度の低下 (P<0.05) がみられた。第

Table 9. The effects of non-protein energy increment on kinetics of plasma glucose, phenylalanine and tyrosine, and whole body protein synthesis (WBPS) during 5 to 7 hours after feeding¹

	1.0 x M ²	1.5 x M	2.0 x M
n	3	3	2
Flux			
Glucose (mg/kg BW/min)	1.75 (0.06) ^c	2.21 (0.06) ^b	2.69 (0.08) ^a
Phenylalanine (μmol/kg BW/min)	0.815 (0.049) ^b	1.040 (0.049) ^{ab}	1.138 (0.064) ^a
Tyrosine (μmol/kg BW/min)	0.766 (0.065)	0.923 (0.065)	1.022 (0.086)
Phe kinetics			
Rate (μmol/kg BW/min)			
Hydroxylation	0.074 (0.014)	0.094 (0.014)	0.118 (0.018)
Protein synthesis	0.741 (0.039) ^b	0.945 (0.039) ^{ab}	1.020 (0.052) ^a
Ratio to total flux			
Hydroxylation	0.091 (0.009)	0.091 (0.009)	0.102 (0.011)
Protein synthesis	0.909 (0.009)	0.909 (0.009)	0.898 (0.011)
WBPS (mg/kg BW/min)	3.68 (0.19) ^b	4.69 (0.19) ^{ab}	5.06 (0.25) ^a

¹Values represent least-square means. Values in parenthesis represent SE of least-square means. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²1.0 x M : energy intake for maintenance, 1.5 x M : 1.5 times energy intake for maintenance, 2.0 x M : 2.0 times energy intake for maintenance.

一胃VFA比率では、エネルギー摂取量の増加に伴うプロピオン酸比率の上昇 (P<0.05)、イソ酪酸比率の低下 (P<0.01) がみられたが、他の酸の比率の変化は明らかではなかった (P>0.1)。この結果A/P比はエネルギー摂取量の増加に伴い低下した (P<0.05)。

同位元素希釈実験のトレーサー溶液注入前 (採食後3時間) において、血漿グルコース濃度は2.0xM区で他の区よりも高かった (Table 8, P<0.05)。エネルギー摂取量の増加に伴う血漿尿素態窒素濃度の低下 (P<0.01)、血漿乳酸濃度の増加傾向 (P<0.1) がみられた。血漿総アミノ態窒素濃度に対するエネルギー摂取量の影響は明らかではなかったが (P>0.1)、PheおよびTyr濃度は増加した (P<0.05)。血漿VFA濃度では、維持以上のエネルギー摂取で酢酸の増加 (P<0.05)、プロピオン酸の増加傾向 (P<0.1) がみられた。血漿NEFAおよびインスリン濃度にはエネルギー摂取量による明らかな変化はみられなかった。

トレーサー溶液注入中 (採食後5~7時間) では、血漿グルコース濃度は1.5xM区で他の区よりも低い傾向がみられたが (Table 8, P<0.1)、乳酸およびNEFA濃度には明らかな変化はみられなかった (P>0.1)。エネルギー摂取量の増加に伴う血漿尿素態窒素濃度の低下 (P<0.01)、血漿総アミノ態窒素およびPhe濃度の増加傾向 (P<0.1)、Tyr濃度の増加 (P<0.05) がみられた。血漿VFA濃度では、酢酸で2.0xM区で他の区よりも低い傾向がみられたが (P<0.1)、それ以外の酸には明らかな変化はみられなかった。

($P > 0.1$)。血漿インスリン濃度は2.0xM区で他の区よりも高い傾向がみられた ($P < 0.1$)。

全身のグルコース ($P < 0.01$) およびPheフラックス ($P < 0.05$) はエネルギー摂取量の増加に伴い増加した (Table 9)。Tyrフラックスも同様な変化の傾向を示したが統計的に有意ではなかった ($P > 0.1$)。Pheの水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度はPheフラックスと同様な変化の傾向を示したが、タンパク質合成への利用速度においてのみ変化は有意であった ($P < 0.05$)。この結果、全身タンパク質合成速度はエネルギー摂取量の増加に伴い増加した ($P < 0.05$)。しかしPheフラックス中の水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度の比率はエネルギー摂取量の影響を受けなかった ($P > 0.1$)。

[考察]

本試験では例数が少なく、また2.0xM区で体重の重かった1頭の動物で実験が行えなかったため、2.0xM区の値が低めに推定されている測定項目もある。このため統計的な分析の信頼性はやや低いと思われる。また試験内容は試験1と同様であるため、試験1の結果との比較により考察を行う。

各区の開始時の体重は2.0xM区で他の2つの区と比べて低かったが、これは欠測値のためと思われる。この欠測値による偏りにも関わらず、各区の16日目の体重には維持以上のエネルギー摂取による増加傾向がみられた。また日増体量も非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い増加した。これには体組織の増加の他に、非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴う飼料摂取量の増加のため、消化管内容物が増加したことも関与しているかもしれない。尿中クレアチニン排泄量は非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い低下する傾向がみられたが、これも欠測値のため2.0xM区の値が低く推定されていると思われる。実際には試験1と同様に非タンパク質エネルギー摂取量の影響は大きくはないと思われる。

本試験においても試験1と同様に、非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴う採食後3時間および5~7時間での血漿尿素態窒素濃度の低下、採食後6時間での第一胃アンモニア態窒素濃度の低下、尿中尿素態窒素排泄量および尿中窒素排泄量の低下、糞中窒素排泄量の増加がみられた。これはおそらく試験1で述べたようなメカニズムにより血液からの第一胃および大腸への尿素的移行と体タンパク質分解の低下によって生じたものと思われる。

本試験において総窒素排泄量は非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い低下したが、窒素摂取量にも低下がみられた。この窒素摂取量の低下は欠測値による偏りのためと思われる。このため、窒素保持量は維持以上のエネルギー摂取量の処理区で数値的には高かったが、統計的には有意ではなかった。しかし可消化窒素量および窒素消化率は非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い低下したため、摂取した窒素および可消化窒素の保持率には増加傾向がみられた。これらの結果は試験1の結果ほどは明らかではないが、非タンパク質エネルギー摂取量の増加が体タンパク質としての窒素の保持を増加させること、および反芻動物ではエネルギー摂取量の増加により第一胃および体内に存在する窒素をより効率的に利用できることを示唆している。

本試験では採食後6時間での第一胃VFA濃度は試験1よりも非タンパク質エネルギー摂取量の増加の影響を受け、酢酸濃度、プロピオン酸濃度、総VFA濃度に明らかな増加がみられた。また第一胃プロピオン酸比率の上昇、A/P比の低下もみられた。本試験では試験1とは異なり、いずれの処理区においても粗飼料:濃厚飼料比は1:2で一定であり、給与した乾草も5~10cm程度の長さであった。これが反芻および第一胃運動を促進させ、第一胃発酵が促進されたために、非タンパク質エネルギー摂取量の影響が試験1よりも明確になったのかもしれない。

採食後3時間での血漿グルコース濃度は2.0xM区で高く、また非タンパク質エネルギー摂取量の増加により血漿酢酸濃度の増加、プロピオン酸および乳酸濃度の増加傾向がみられた。しかしこれらの変化は採食後5~7時間ではみられなかった。これは採食後3時間でVFA吸収がより活発であったことを示唆している。

採食後5~7時間において、血漿総アミノ態窒素濃度、Phe濃度、Tyr濃度はいずれも非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い増加もしくは増加する傾向がみられ、Pheフラックスも増加した。Tyrフラックスにも統計的に有意ではなかったが同様な変化がみられた。これらの結果は試験1の結果と類似しており、非タンパク質エネルギー摂取量の増加によるアミノ酸吸収の増加を示唆する。また試験1と同様に採食後5~7時間での血漿グルコース濃度および血漿VFA濃度に非タンパク質エネルギーによる明らかな変化はみられなかったが、グルコースフラックスは非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い増加した。本試験では採食後6時間での第一胃プロピオン酸濃度が非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い増加していることから、グルコースフラックスの増加には試験1で推測されたグルコース吸収の増加の他に、プ

ロピオン酸からの糖新生の増加も寄与していると思われる。

全身タンパク質合成速度は試験1と同様に非タンパク質エネルギー摂取量の増加に伴い直線的に増加した。またPheフラックス中のPheの水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度の比率は非タンパク質エネルギー摂取量の影響を受けなかった。よって非タンパク質エネルギー摂取量の増加もまた試験1でのデンプン摂取量の増加と同様にアミノ酸供給量の増加によって全身タンパク質合成速度の増加を引き起こすと思われる。またインスリンの変化の程度は全身タンパク質合成速度の変化と比較してかなり小さいため、試験1と同様に全身タンパク質合成速度に対してインスリンは大きな影響を及ぼさないと考えられる。グルコース代謝とタンパク質代謝との関係も試験1と同様にタンパク質合成へのエネルギー供給源としてのグルコースの役割が考えられる。

(試験3) ヤギのグルコース、タンパク質代謝に及ぼす炭水化物給源の違いの影響

[試験方法]

日本ザーネン種成雄ヤギ4頭(2~5歳、体重 39.6 ± 4.8 kg; mean \pm SE)を試験に供試した。このうち2頭は左側頸動脈にループを作成して用いた。動物は温度20°C、湿度70~90%の環境調節室内で代謝ケージで飼育した。照明は16時間点灯、8時間消灯とした。代謝エネルギーおよび粗タンパク質給与レベルは、NRC飼養標準(NRC 1985)に基づいていずれも維持の1.2倍量とし、この代謝エネルギー量の70%をアルファルファハイキューブ、粉碎トウモロコシ、大豆かすで給与した。処理は、代謝エネルギーの30%を日本標準飼料成分表(農林水産省農林水産技術会議事務局 1995)に基づき、トウモロコシデンプン(ST)、トウモロコシデンプン + ショ糖(代謝エネルギー比で1 : 1; ST+SU)、ショ糖(SU)として給与する3処理とした。いずれの処理区においても乾草:(トウモロコシ + 大豆かす + デンプンおよびショ糖)の給与比率は1:2であった。

飼料給与は1日2回、8:30および20:30に行い、水、鈹塩は自由摂取させた。頸動脈ループが装着されているものといないもの1頭ずつをペアとし、2頭にはショ糖割合が増加方向、他の2頭には減少方向で処理を割り当てた。動物はいずれの区においても飼料を給与後15分以内に完全に摂取した。

試料採取および実験は試験2と同様であった。

データはSASのGLMを用いて動物をブロックとした乱塊法により処理の効果について検定し、効果が有意($P < 0.05$)となった場合はTukey法により各処理間の平均値の差について検定した。

[結果]

各区の開始時および16日目の体重には処理による影響はみられなかったが(Table 10; $P > 0.1$)、日増体量にはショ糖給与量の増加に伴い増加する傾向がみられた($P < 0.1$)。

ショ糖給与量の増加は尿中クレアチニンおよび尿素態窒素排泄量に影響を及ぼさなかった(Table 10, $P > 0.1$)。また尿中および糞中窒素排泄量、窒素保持量にも処理による明らかな変化はみられなかった($P > 0.1$)。窒素消化率はいずれの処理区においても80%程度であった。窒素の保持率および総窒素排泄量に対する尿中窒素排泄量お

Table 10. The effects of different carbohydrate sources on body weight and nitrogen balance in adult goats¹

	ST ²	ST+SU	SU	Pooled SE
Body weight (kg)				
Initial	39.9	40.2	39.4	2.8
day 16	38.2	39.5	40.7	2.9
Daily gain (kg/d)	-0.12	-0.05	0.08	0.03
Urinary creatinine excretion (g/d)	1.14	1.15	1.19	0.10
Urinary urea-nitrogen excretion (g/d)	8.2	9.3	8.3	0.3
Nitrogen balance (g/d)				
Intake	16.1	16.1	16.1	0.7
Excretion				
Urine	10.2	11.1	10.3	0.4
Feces	3.5	3.1	3.3	0.3
Total	13.7	14.1	13.6	0.5
Retention	2.4	2.0	2.5	0.4
Apparent digestible nitrogen (g/d)	12.6	13.0	12.9	0.5
Apparent nitrogen digestibility (%)	78.3	80.9	80.3	0.9
Ratio of nitrogen retention				
To nitrogen intake	0.142	0.116	0.147	0.022
To apparent digestible nitrogen	0.180	0.143	0.186	0.027
Ratio to total nitrogen excretion				
Urinary nitrogen excretion	0.746	0.783	0.765	0.013
Fecal nitrogen excretion	0.254	0.217	0.235	0.013

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²ST : 30 % in energy intake as starch, ST+SU : 30 % in energy intake as starch and sucrose (1:1), SU : 30 % in energy intake as sucrose.

Table 11. The effects of different carbohydrate sources on ruminal characteristics at 6 hours after feeding in adult goats¹

	ST ²	ST+SU	SU	Pooled SE
pH	6.48 ^b	6.58 ^{ab}	6.74 ^a	0.04
NH ₃ -nitrogen (mg/dL)	11.6 ^b	11.9 ^b	17.3 ^a	1.1
VFA concentrations (mM)				
Acetate	37.7 ^a	32.2 ^{ab}	26.6 ^b	2.0
Propionate	10.3	10.8	13.0	0.8
Isobutyrate	0.6	0.5	0.5	0.1
Butyrate	7.1	5.4	4.7	0.5
Isovalerate	0.7	0.7	0.7	0.1
Valerate	0.4	0.3	0.8	0.1
Total	56.7	50.0	46.3	2.4
VFA percentages (mol %)				
Acetate	66.5 ^a	63.9 ^a	57.4 ^b	1.7
Propionate	17.8 ^b	22.4 ^{ab}	28.3 ^a	2.0
Isobutyrate	1.0	1.1	1.1	0.1
Butyrate	12.7	10.6	9.9	0.7
Isovalerate	1.3	1.4	1.5	0.1
Valerate	0.6	0.5	1.1	0.1
A / P ratio	4.1 ^a	3.1 ^{ab}	2.1 ^b	0.4

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²ST : 30 % in energy intake as starch, ST+SU : 30 % in energy intake as starch and sucrose (1:1), SU : 30 % in energy intake as sucrose.

Table 12. The effects of different carbohydrate sources on the concentrations of plasma metabolites and insulin during isotope dilution experiments in adult goats¹

	ST ²	ST+SU	SU	Pooled SE
Before infusion (3 hours after feeding)				
Glucose (mg/dL)	68 ^b	70 ^{ab}	79 ^a	2
Lactate (mg/dL)	6.61	7.20	9.51	0.72
NEFA (μEq/L)	80	63	71	4
Urea-nitrogen (mg/dL)	14.9 ^a	14.7 ^{ab}	11.5 ^b	1.0
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.19	4.94	4.98	0.31
Phenylalanine (μM)	35.5	45.5	44.0	2.5
Tyrosine (μM)	53.9	66.6	61.2	7.6
VFA concentrations (μM)				
Acetate	872 ^a	684 ^b	606 ^b	77
Propionate	18	19	32	3
Isobutyrate	3 ^a	2 ^b	2 ^b	0
Butyrate	19	14	11	2
Isovalerate	6	5	4	1
Insulin (μU/mL)	18.3	21.9	28.8	4.2
During infusion (5 to 7 hours after feeding)				
Glucose (mg/dL)	70	70	74	2
Lactate (mg/dL)	5.87	5.91	6.34	0.37
NEFA (μEq/L)	75	73	111	12
Urea-nitrogen (mg/dL)	13.2	13.2	11.3	1.0
Total amino-nitrogen (mg/dL)	4.33	4.85	4.83	0.19
Phenylalanine (μM)	46.5	50.9	49.5	1.6
Tyrosine (μM)	65.4	70.9	66.2	4.6
VFA concentrations (μM)				
Acetate	654	581	474	67
Propionate	11	10	13	1
Isobutyrate	2	2	1	0
Butyrate	13	8	6	2
Isovalerate	5	4	3	0
Insulin (μU/mL)	17.5	13.7	19.8	2.5

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at P<0.05.

²ST : 30 % in energy intake as starch, ST+SU : 30 % in energy intake as starch and sucrose (1:1), SU : 30 % in energy intake as sucrose.

よび糞中窒素排泄量の割合には処理による明らかな影響はみられず (P>0.1)、尿中窒素排泄量:糞中窒素排泄量はいずれの処理区においても3:1程度であった

採食後6時間での第一胃のpHおよびアンモニア態窒素濃度はシヨ糖給与量の増加により増加した (Table 11, P<0.05)。第一胃VFA濃度においては、酢酸においてシヨ糖給与量の増加に伴う低下がみられたが (P<0.05)、他の酸には大きな変化はみられなかった (P>0.1)。これに対し第一胃VFA比率では、シヨ糖給与量の増加による酢酸の低下 (P<0.01)、プロピオン酸の増加 (P<0.05)がみられ、この結果A/P比はシヨ糖給与量の増加に伴い直線的に低下した (P<0.05)。

Table 13. The effects of different carbohydrate sources on kinetics of plasma glucose, phenylalanine and tyrosine, and whole body protein synthesis (WBPS) during 5 to 7 hours after feeding¹

	ST ²	ST+SU	SU	Pooled SE
Flux				
Glucose (mg/kg BW/min)	2.40	2.31	2.65	0.23
Phenylalanine (μmol/kg BW/min)	0.975	0.888	0.967	0.061
Tyrosine (μmol/kg BW/min)	1.018	0.910	1.023	0.080
Phe kinetics				
Rate (μmol/kg BW/min)				
Hydroxylation	0.126	0.118	0.130	0.010
Protein synthesis	0.848	0.771	0.837	0.051
Ratio to total flux				
Hydroxylation	0.128	0.131	0.133	0.004
Protein synthesis	0.872	0.869	0.867	0.004
WBPS (mg/kg BW/min)	4.21	3.82	4.15	0.25

¹Values represent means of four animals. Different superscripts within a row are significantly different at $P < 0.05$.

²ST : 30 % in energy intake as starch, ST+SU : 30 % in energy intake as starch and sucrose (1:1), SU : 30 % in energy intake as sucrose.

同位元素希釈実験におけるトレーサー溶液注入前(採食後3時間)において、血漿グルコース濃度はシヨ糖給与量の増加に伴い増加し (Table 12, $P < 0.05$)、血漿乳酸およびプロピオン酸濃度は増加する傾向がみられた ($P < 0.1$)。これに対し血漿酢酸およびイソ酪酸濃度はシヨ糖給与量の増加に伴い低下し ($P < 0.05$)、イソ吉草酸濃度は低下する傾向がみられた ($P < 0.1$)。血漿尿素態窒素濃度はシヨ糖給与量の増加に伴い低下したが ($P < 0.05$)、血漿総アミノ態窒素、Phe、Tyr濃度のいずれにも処理による明らかな変化はみられなかった ($P > 0.1$)。血漿NEFAおよびインスリン濃度も処理による明らかな影響を受けなかった ($P > 0.1$)。

トレーサー注入中(採食後5~7時間)では測定したいずれの血漿成分の濃度においても処理による変化はみられなかった (Table 12, $P > 0.1$)。

全身のグルコースフラックスはSU区で数値は高かったが統計的に有意ではなかった (Table 13, $P > 0.1$)。PheおよびTyrフラックス、Pheの水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度のいずれにおいても処理による大きな変化はみられず ($P > 0.1$)、結果として全身タンパク質合成速度も処理による明らかな影響はみられなかった ($P > 0.1$)。Pheフラックス中の水酸化速度およびタンパク質合成への利用速度の比率も処理による影響を受けなかった ($P > 0.1$)。

[考察]

本試験では炭水化物給源の違いによる第一胃発酵パターンの変化がグルコース、

タンパク質代謝に及ぼす影響を検討しようとした。第一胃VFA比率はシヨ糖給与量の増加に伴い酢酸比率が低下、プロピオン酸比率が上昇し、A/P比もS T区の4.1からS U区の2.1へと明らかに低下した。これは報告されているシヨ糖添加の効果 (Obara et al. 1994; Sutoh et al. 1996)と同様であり、可溶性糖類であるシヨ糖給与量の増加は第一胃発酵をプロピオン酸優勢型にした。しかし第一胃VFA濃度ではシヨ糖給与により酢酸が低下し、プロピオン酸には数値的なわずかな増加がみられたものの、総VFA濃度は統計的には有意ではなかったが数値的には減少した。これらの結果は、シヨ糖給与はデンプン給与と比較して第一胃発酵をプロピオン酸優勢型にするが、第一胃総VFA濃度には影響を及ぼさないかもしくは低下させることを示唆している。しかしこれにはデンプンとシヨ糖の第一胃での発酵速度の違いが影響しているかもしれない。本試験で用いたデンプンは可溶化していないため、可溶性であるシヨ糖よりも第一胃での発酵はゆっくりと長時間にわたると思われる。これに対してシヨ糖は給与後かなり早い時間で急速に発酵されることが予想される。このため試料を採取した採食後6時間での第一胃発酵はS T区ではまだ活発な段階にあり、VFA産生は大きい、S U区ではすでに発酵は低下しており、VFA産生はかなり低下していたかもしれない。この影響は第一胃アンモニア態窒素濃度にも現れていると思われる。第一胃アンモニア態窒素濃度はS U区で他の2つの区よりも高かった。第一胃での微生物タンパク質合成は窒素源とエネルギー源の利用性が一致しているときに最も活発であると言われている (Huber & Herrera-Saldana 1994)。本試験では窒素源は主にアルファルファ乾草と大豆かすであった。これらの第一胃での分解はシヨ糖よりもゆっくりと生じると思われる。このためS U区ではシヨ糖と窒素源の分解の時間帯が一致せず、採食後6時間ではエネルギー不足によりアンモニア態窒素の微生物タンパク質合成への利用が低かったため、第一胃アンモニア態窒素濃度が高かったと考えられる。

尿中のクレアチニン、尿素態窒素排泄量および窒素出納試験の結果にはシヨ糖給与の影響はみられなかった。Obara et al. (1994)、Sutoh et al. (1996)はヒツジにおいてシヨ糖添加により尿中窒素排泄量の低下および窒素保持量の増加を報告している。これらの研究では飼料は連続給与されているため第一胃での窒素利用が高まり、血漿中の尿素の第一胃への移行が増加するとともに、VFA、特にプロピオン酸の供給が恒常的に生じた結果、体タンパク質の分解が低下して、シヨ糖給与の効果がより顕著に現れたものと思われる。またこれらの研究では粗飼料にシヨ糖をエネル

ギーで30%程度添加しているため、シヨ糖の効果の他にエネルギー摂取量の増加の効果も現れたのではないと思われる。

採食後3時間では血漿グルコース濃度はシヨ糖給与量の増加に伴い増加し、血漿尿素態窒素濃度は低下した。血漿プロピオン酸濃度は統計的に有意ではなかったがSU区で高く、血漿インスリン濃度もシヨ糖給与量の増加に伴い数値的に増加した。しかしこれらの変化は採食後5~7時間ではみられなかった。これは採食後5~7時間と比較して採食後3時間においてプロピオン酸吸収がより高く、これにより糖新生、インスリン分泌が刺激されたことを示唆する。また血漿酢酸濃度は採食後3時間ではシヨ糖給与により低下し、採食後5~7時間でも統計的に有意ではなかったが同様な変化を示した。これはシヨ糖給与量の増加による第一胃酢酸濃度の低下を反映したものと思われる。

採食後5~7時間での血漿総アミノ態窒素濃度、Phe濃度、Tyr濃度にはシヨ糖給与による影響はみられず、またPheおよびTyrフラックスもシヨ糖給与により変化しなかった。これは本試験において採食後5~7時間のアミノ酸吸収には炭水化物給源の違いの影響がほとんどなかったことを示唆する。またグルコースフラックスにもシヨ糖給与の影響はみられなかった。Obara & DeLlow (1993)はシヨ糖の第一胃内注入、Sutoh et al. (1996)は飼料へのシヨ糖添加により、ヒツジにおいてグルコースフラックスの増加を認めているが、これらの実験は連続給餌であること、またシヨ糖の添加によりエネルギー摂取量が増加していることがシヨ糖の効果を明確にしたと思われる。エネルギー摂取量とグルコースフラックスと間には正の関係があることが知られている (Elliot 1980)。

全身タンパク質合成速度もまたシヨ糖給与の影響を受けなかった。全身タンパク質合成速度に対するシヨ糖給与の影響を検討した研究は見当たらない。しかし第一胃発酵パターンもしくはプロピオン酸塩添加が全身タンパク質合成速度に及ぼす影響を検討した研究は報告されている。Abudul-Razzaq & Bickerstaffe (1989)は子ヒツジに処理の異なる大麦を給与し第一胃発酵パターンを変えた場合、プロピオン酸型の発酵では酢酸型の発酵と比較して全身タンパク質合成速度は低かったと報告している。またvan Houtert et al. (1993)は飼料へのプロピオン酸塩の添加は全身タンパク質合成速度を低下させたと報告している。本試験ではシヨ糖給与により第一胃発酵はプロピオン酸型になったが、発酵が活発な時間帯に全身タンパク質合成速度の測定が行われなかった可能性がある。消化、吸収がより活発な状態において、

第一胃発酵パターンと全身タンパク質合成速度との関係をさらに調査する必要があると思われる。

まとめ

本研究は反芻家畜の体内のタンパク質代謝に及ぼす摂取エネルギーの影響をエネルギーの量および質の両方の面から検討するために実施したものである。本研究の結果から以下のことが示唆された。

エネルギー摂取量の増加は、第一胃アンモニア態窒素濃度、血漿尿素態窒素濃度、尿中窒素排泄量を低下させるとともに、血漿総アミノ態窒素、Phe、Tyr濃度、全身のPheおよびTyrフラックス、窒素保持量および全身タンパク質合成速度を増加させた。これらの結果より、反芻家畜においてエネルギー摂取量の増加はおそらく第一胃での微生物タンパク質合成の増加により動物へのアミノ酸供給を増加させて動物のタンパク質合成を増大させるとともに、血液中の尿素的第一胃への移行を促進させて体内の窒素の再利用を促進させることにより、摂取した窒素および体内の窒素の体タンパク質としての保持を増加させることが示唆された。またエネルギー摂取量の増加により、全身のグルコースフラックスも増加したが、これは組織へのグルコース供給を増加させることによってタンパク質合成の増加に必要なエネルギーを供給する役割を担っていると考えられた(試験1、試験2)。

エネルギー源としてのデンプンとショ糖は、第一胃VFA組成には異なる影響を及ぼしたが、第一胃総VFA濃度、血漿アミノ酸濃度、窒素保持量、アミノ酸およびグルコースのフラックスおよび全身タンパク質合成速度に対する効果の違いはみられなかった。これらの結果から、炭水化物の給源の違いは反芻家畜の窒素代謝および体内のグルコース、タンパク質代謝に対して大きな影響を及ぼさないことが示唆された(試験3)。

本研究の結果を総合的に検討すると、反芻家畜における窒素代謝、タンパク質代謝およびグルコース代謝はエネルギーの質よりも量によって大きな影響を受けると思われる。これは反芻家畜において摂取した窒素をより効率的にタンパク質として保持させるには、エネルギーおよび粗タンパク質の個々の摂取量に配慮する以外に、エネルギーと粗タンパク質の摂取量の比率にも配慮する必要があることを示唆する。この比率が適当であれば、第一胃での摂取された窒素の微生物タンパク質合成への利用と動物体内の窒素のタンパク質合成への利用の両面が改善され、生産効率が向上するとともに、排泄物中の窒素の量も低減することができると考えられる。

参考文献

Abdul-Razzaq, H. A. & Bickerstaffe, R. (1989) The influence of rumen volatile fatty acids on protein metabolism in growing lambs. *British Journal of Nutrition* 62, 297-310.

Asplund, J. M. (1994) The influence of energy on amino acid supply and utilization in the ruminant. In *Principles of Protein Nutrition of Ruminants*, pp. 179-186. [J. M. Asplund, editor]. Boca Ration : CRC Press.

Bergman, E. N. (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews* 70, 567-590.

Early, R. J., McBride, B. W. & Ball, R. O. (1988) Phenylalanine metabolism in sheep infused with glucose plus insulin. 1. Effects on plasma phenylalanine concentration, entry rate and utilization by the hindlimb. *Canadian Journal of Animal Science* 68, 711-719.

Elliot, J. M. (1980) Propionate metabolism and vitamin B₁₂. In *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*, pp 485-503. [Y. Ruckebusch & P. Thivend, editors]. Lancaster : MTP Press.

Eskeland, B., Pfander, W. H. & Preston, R. J. (1974) Intravenous energy infusion in lambs: effects on nitrogen retention, plasma free amino acids and plasma urea nitrogen. *British Journal of Nutrition* 31, 201-211.

Harris, P. M., Skene, P. A., Buchan, V., Milne, E., Calder, A. G., Anderson, S. E., Connell, A. & Lobley, G. E. (1992) Effects of food intake on hind-limb and whole-body protein metabolism in young growing sheep: chronic studies based on arterio-venous techniques. *British Journal of Nutrition* 68, 389-407.

Huber, J. T. & Herrera-Saldana, R. (1994) Synchrony of protein and energy supply to enhance fermentation. In *Principles of Protein Nutrition of Ruminants*, pp. 113-126. [J. M. Asplund, editor]. Boca Ration : CRC Press.

Janes, A. N., Weekes, T. E. C. & Armstrong, D. G. (1985) Absorption and metabolism of glucose by the mesenteric-drained viscera of sheep fed on dried grass or ground, maize-based diets. *British Journal of Nutrition* 54, 449-458.

Liu, S. M., Lobley G. E., Macleod, N. A., Kyle, D. J., Chen, X. B. & Ørskov, E. R. (1995) Effects of long-term protein excess or deficiency on whole-body protein turnover in sheep nourished by intragastric infusion of nutrients. *British Journal of Nutrition* 73, 829-839.

Lobley, G. E. (1992) Control of the metabolic fate of amino acids in ruminants: a review. *Journal of Animal Science* 70, 3264-3275.

Lobley, G. E., Connell, A. & Buchan, V. (1987) Effects of food intake on protein and energy metabolism in finishing beef steers. *British Journal of Nutrition* 57, 457-465.

Matras, J. & Preston, R. L. (1989) The role of glucose infusion on the metabolism of nitrogen in ruminants. *Journal of Animal Science* 67, 1642-1647.

Nissen, S. & Ostaszewski, P. (1985) Effects of supplemental dietary energy on leucine metabolism in sheep. *British Journal of Nutrition* 54, 705-712.

農林水産省農林水産技術会議事務局編, 日本標準飼料成分表 (1995). 東京 : 中央畜産会

Norton, B. W., Mackintosh, J. B. & Armstrong, D. G. (1982) Urea synthesis and degradation in sheep given pelleted-grass diet containing flaked barley. *British Journal of Nutrition* 48, 249-264.

NRC (1985) Nutrient Requirements of sheep, 6th revise edition. Washington, DC : National Academy Press.

Obara, Y. & Dellow, D. W. (1993) Effects of intraruminal infusion of urea, sucrose or urea plus sucrose on plasma urea and glucose kinetics in sheep fed chopped lucerne hay. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 121, 125-130.

Obara, Y., Fuse, H., Terada, F., Shibata, M., Kawabata, A., Sutoh, M., Hodate, K. & Matsumoto, M. (1994) Influence of sucrose supplementation in sheep fed with lucerne hay cubes. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 123, 121-127.

Oddy, V. H., Lindsay, D. B., Barker, P. J. & Northrop, A. J. (1987) Effect of insulin on hind-limb and whole-body leucine and protein metabolism in fed and fasted lambs. *British Journal of Nutrition* 58, 437-452.

Oncuer, A., Milne, J. S. & Whitelaw, F. G. (1990) The effect of a hindgut fermentation on urea metabolism in sheep nourished by intragastric infusion. *Experimental Physiology* 75, 689-700.

Ørskov, E. R., Fraser, C., Mason, V. C. & Mann, S. O. (1970) Influence of starch digestion in the large intestine of sheep on caecal fermentation, caecal microflora and faecal nitrogen excretion. *British Journal of Nutrition* 24, 671-682.

SAS Institute (1985) SAS User's Guide: Statistics. Version 5th edition. Cary : SAS Institute.

Smith, R. H. (1980) Comparative amino acid requirements. *Proceedings of the Nutrition Society* 39, 171-178.

Storm, E., Ørskov, E. R. & Smart, R. (1983) The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 2. The apparent digestibility and net utilization of microbial N for growing lambs. *British Journal of Nutrition* 50, 471-478.

Sutoh, M., Obara, Y. & Miyamoto, S. (1996) The effects of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 126, 99-105.

Tesseraud, S., Grizard, J., Debras, E., Papet, U., Bonnet, Y., Bayle, G. & Champredon, C. (1993) Leucine metabolism in lactating and dry goats: effect of insulin and substrate availability. *American Journal of Physiology* 265, E402-E413.

Thompson, G. N., Pacy, P. J., Merritt, H., Ford, G. C., Read, M. A., Cheng, K. N. & Halliday, D. (1989) Rapid measurement of whole body and forearm protein turnover using a [$^2\text{H}_5$]phenylalanine model. *American Journal of Physiology* 256, E631-E639.

Tserng, K-Y. & Kalhan, S. C. (1983). Estimation of glucose carbon recycling and glucose turnover with [U- ^{13}C]glucose. *American Journal of Physiology* 245, E476-E482.

van Houtert, M. F. J., Nolan, J. V. & Leng, R. A. (1993). Protein, acetate and propionate for roughage-fed lambs. 2. Nutrient kinetics. *Animal Production* 56, 369-378.

Whitelaw, F. G., Milne, J. S. & Chen, X. B. (1991) The effects of a rumen microbial fermentation on urea and nitrogen metabolism by intragastric infusion. *Experimental Physiology* 76, 91-101.

柳沢哲夫, 寺島福秋 (1994) めん羊の窒素出納に対する静脈内グルコースおよびVFA混合物溶液注入の影響. 日本畜産学会報 65, 355-361.

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、岩手大学農学部農業生命科学科志賀隴郎教授から懇切丁寧なるご指導を賜わった。岩手大学大学院連合農学研究科藤田忠久君ならびに岩手大学大学院農学研究科梶田昌裕君には本研究を実施するに当たり、研究協力者として絶大なるご協力をいただいた。さらに、動物栄養学講座の卒論学生には動物管理などご協力をいただいた。ここに深く感謝の意を表す。