

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22580309

研究課題名（和文）

発酵性糖質によるウサギの窒素利用性改善とその作用機構の解明

研究課題名（英文）

Research on the mechanism of improvement of nitrogen utilization by the feeding of fermentable sugars in rabbits

研究代表者

坂口 英 (Sakaguchi Ei)

岡山大学・大学院環境生命科学研究科・教授

研究者番号：40170584

研究成果の概要（和文）：

胃や小腸での消化を免れる糖質（難消化性糖質）フラクトオリゴ糖やマンニトールの摂取は、ウサギの飼料タンパク質利用効率を改善させ、その効果は「難消化性糖質が盲腸内微生物増殖を促し、血中尿素の微生物態タンパク質への移行量を増大させる。増大した微生物を良質のタンパク質源としてウサギが摂取する」ことにより発現することを示した。これは生産効率改善ならびに窒素排泄低減をもたらす飼養技術として実用化できる。

研究成果の概要（英文）：It was shown in this study that feeding of indigestible sugars fuructooligosaccharide and mannitol which escape gastrointestinal digestion improved the utilization of dietary protein and this should be resulted from the following effects: Indigestible sugars stimulated cecal bacterial proliferation using blood urea as a nitrogen source and the bacterial protein increased in the cecum was ingested by rabbits as nutritional quality protein. These findings must be put to practical use for the improvement of production efficiency and for reduction of nitrogen excretion.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：動物生命科学・動物生産科学

キーワード：ウサギ・発酵性糖質・窒素代謝・<sup>15</sup>N-尿素・盲腸内微生物・食糞・血中尿素

## 1. 研究開始当初の背景

ウサギはヨーロッパを始め多くの国々で

家畜として飼育されている。繊維質の飼料で飼育することができるウサギは、比較的飼料

の確保は容易であり、生産効率が高く経済性の高い家畜として位置づけられている。ウサギは、多くの小型の草食動物と比べて繊維消化能力は低いものの、タンパク質栄養に資するために摂取する盲腸糞中に高濃度にバクテリアを集積させる機能を大腸に備えている点で、他の動物種とは異なっている。すなわちウサギの結腸には微生物を食餌残渣から分離し盲腸に逆送するという特徴的な機能（図1）が備わっており、大容量の盲腸内でのバクテリアの増殖と集積を促し、良質のタンパク質を豊富に含む盲腸糞を大量に形成して摂取する。

ブタやラットなどの単胃動物では、難消化性糖質の摂取は大腸内のバクテリア増殖を促し糞中窒素排泄量の増大をもたらす。この時バクテリア増殖には血流から流入する尿素が窒素源として多く用いられ、その結果尿中窒素排泄量は低減する。これは体内の不要な窒素の大腸内バクテリアへの移行を促すことを意味する。

盲腸内で増殖したバクテリア態のタンパク質は日常的に摂取する草類に比べて栄養価（生物価）が高く、それらの大部分がウサギでは食糞によって摂取されタンパク質栄養に貢献している。盲腸は胃や小腸よりも下流にあるために、微生物にとっての栄養源は胃や小腸で消化されない不消化残渣であり容易に利用できるエネルギー源は少ない。したがって、盲腸内のバクテリアへのエネルギー源の供給が増加すれば、窒素源は血中尿素的供給は不断に行われると考えられることから、盲腸内バクテリア増殖が促されることによって増殖量が増大したバクテリアが摂取され、その結果窒素の利用効率が向上する可能性が高い。

## 2. 研究の目的

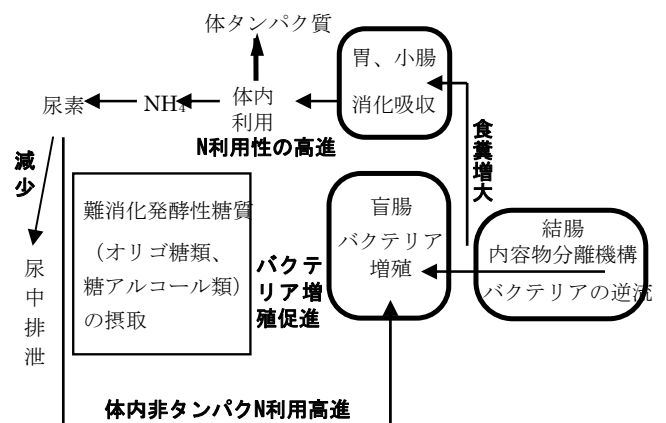
ウサギの大腸機能と日常的な食糞行動を考慮すると、盲腸まで到達する可能性の高い難消化・発酵性糖質摂取によって、盲腸内バクテリア増殖促進が可能になり、増大した盲腸内バクテリアを栄養源として摂取することによって、窒素利用効率促進がもたらされる可能性が考えられる（図1参照）。

本研究では、ウサギの盲腸内で菌体の増殖

を促すと予想される難消化性糖質を与えることによって、窒素利用性を向上させる糖質の種類と、効果発現のメカニズムを明確に示し、タンパク質利用性を格段に向上させる方策として、難消化発酵性糖質の有効性の評価をめざした。この目標を達成するために本研究では、以下の点についての明確なデータを得ることを目的とした。

- (1) 大腸内での発酵性が異なる数種の難消化性糖質の飼料への添加がウサギの窒素利用性と成長におよぼす効果の検証と糖質間比較
- (2) 体内窒素動態に及ぼす発酵性糖質の効果を把握することによる効果発現の作用機序の解明
- (3) 難消化性糖質の窒素排泄低減効果が成長中ウサギの産肉量に及ぼす影響

図1 発酵性糖質摂取の窒素利用性促進機序（予想）



## 3. 研究の方法

### (1) 窒素の体内蓄積に対する難消化性糖質の効果

成熟ウサギの飼料タンパク質（窒素）利用効率に及ぼす異なる難消化性糖質（フラクトオリゴ糖（FOS）、D-マンニトール、ペクチン）を、それぞれ個別に5%飼料に添加してウサギに与え、代謝ケージに収容して2週間飼育した。その間の糞や尿中に排泄される窒素量を測定し、飼料効率、消化率、窒素蓄積率などを評価した。また飼育試験終了時に盲腸を採取し内容物量や内容物中の有機酸量と組成を測定し、窒素蓄積に及ぼす効果の有無との関連性を調べ、糖質の発酵性と効果発現との関連性を検証した。

次に難消化性糖質の効果が顕著に認められた糖質について、その効果発現が盲腸内での微生物増殖と食糞量（タンパク質を含む栄養素量）の増大が関与しているかを検証するために、プラスチックカラーを首に装着して食糞を阻止したウサギに難消化性糖質を与え、その効果の有無を検証した。同時に、回収される盲腸糞（軟糞）中の成分含量、微生物態タンパク質量、有機酸組成を測定し、盲腸バクテリア増殖への難消化性糖質の効果を評価した。

## (2) 窒素利用効率改善効果の発現機序の解明

発酵性糖質の体内窒素動態に及ぼす効果を明らかにし、効果発現のメカニズムを解明するために、血中尿素のトレーサーとして<sup>15</sup>N標識尿素を静脈内投与し、1時間経過後に門脈血、循環動脈血、盲腸・結腸内容物、尿を採取し、血液・尿中の尿素態窒素・アンモニア態窒素、盲腸内総窒素、盲腸内バクテリア態窒素、盲腸内アンモニア態窒素の窒素濃度または量、さらにこれらの窒素中の<sup>15</sup>N含有率（atom % excess）を測定し、体内尿素態窒素の動態に及ぼす難消化発酵性糖質摂取の影響を調べた。

## (3) 難消化性糖質が成長中ウサギの産肉量に及ぼす影響

ウサギ飼料への難消化性糖質の飼料への添加が窒素利用性を改善することから、この効果が実際にウサギの増体や成長率に反映するか確認することをめざして、難消化・発酵性糖質マンニトールの飼料への添加が成長中のウサギの成長や窒素蓄積に及ぼす影響を調べた。

在来小型種ウサギ（35日齢）を用い試験飼料（グルコース5%（対照）、マンニトール5%）を与えて61日間飼育し、その間2回代謝試験を行い、窒素出納を評価し、飼育試験終了時には、血液（動脈、門脈）、肝臓、盲腸、結腸、枝肉を採取した。盲腸、結腸については内容物中の有機酸量、微生物態タンパク質量、総タンパク質量などを測定し、血液については尿素態窒素濃度を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 窒素の体内蓄積に対する難消化性糖質の

## 効果

食糞を許可したウサギでは、フラクトオリゴ糖やマンニトールの飼料への添加によって尿中窒素排泄量が有意に減少し、摂取窒素量に対する体内窒素保持量の割合（窒素蓄積率）が増加することが示された。しかしペクチンの飼料への添加では尿中窒素排泄量、窒素蓄積率に影響は見られず、糖質の種類によって効果が異なることも判明した。

一方、食糞を阻止されると、フラクトオリゴ糖やマンニトールの窒素蓄積率改善効果は消失した。そのとき採取した盲腸糞中の窒素含量や、摂取窒素量に対する盲腸糞中窒素の割合は有意に増加していた。

以上から、フラクトオリゴ糖やマンニトールはウサギの飼料タンパク質の利用効率を向上させることが示され、この作用は、これらの糖質が盲腸内微生物増殖を促すことにより、血中尿素を素材にして増殖した微生物体タンパク質のウサギによる摂取が増大したことによる可能性が示された。しかし、ペクチン摂取ではフラクトオリゴ糖やマンニトール摂取でみられる効果は見られず、難消化性糖質の種類によって効果の程度が異なることが判明し、これは盲腸内での発酵性の違いに係る可能性が示唆された。

## (2) 窒素利用効率改善効果の発現機序

<sup>15</sup>N-尿素態窒素の動態に及ぼす難消化発酵性糖質摂取の影響を調べた結果、マンニトール投与により、血中からの盲腸内への<sup>15</sup>Nの移行量、盲腸内バクテリアへの<sup>15</sup>Nの取り込みが増大し、尿中への<sup>15</sup>Nの排泄が減少した。

これらのことにより、すでに代謝試験等でも示唆されてきたように、難消化性糖質摂取による窒素利用改善効果の発現は、「難消化性糖質が盲腸内微生物増殖のためのエネルギー源となり、十分なエネルギー源を得た盲腸内微生物が血中尿素を窒素源として活発に増殖し、増大した盲腸内微生物タンパク質が効率よくウサギに摂取（食糞）されることによって発現する」という機序によることを明らかにできた。

## (3) 難消化性糖質が成長中ウサギの産肉量に及ぼす影響

マンニトールを与えて長期飼育したウサギの窒素バランスから、試験期間の前半と後半のマンニトールの効果に差異があることが認められた。すなわち飼育試験後半にのみ所期に期待されたマンニトール添加による窒素利用効率改善効果（尿中窒素排泄量の減少と吸収された窒素量（可消化窒素量）に対する蓄積窒素の割合の増大、盲腸内微生物態タンパク質量の増大）が発現したものの、試験期間全体では飼料効率や窒素蓄積効率、枝肉重量にはマンニトール添加効果を示すことはできなかった。

試験前半では、尿中窒素排泄量や窒素利用効率に対するマンニトール添加の効果が認められなかっただけでなく、むしろマンニトール添加群の増体量がわずかではあるが、グルコース群と比べて低下傾向にあった。このことは、試験期間前半ではマンニトールの窒素代謝に対する効果はほとんど発現せず、マンニトールのエネルギー源としての利用性がグルコースと比較して低いことと関係する可能性が示唆された。以上からマンニトールの窒素利用性改善効果発現の条件として、ウサギの成長段階と関係する盲・結腸の機能の成熟が必須と考えられる。したがって、難消化性糖質の窒素利用性改善効果は成長期の後期以後に顕著に発現することが示唆される。

本研究は、難消化・発酵性糖質を利用して、ウサギの飼料中窒素の利用性を向上させ、草類からの動物性タンパク質生産を、効率よく達成するための理論の構築とその応用をめざしたものである。上述のように、フラクトオリゴ糖やマンニトールには飼料窒素利用性改善効果があり、その効果発現メカニズムは、血中の尿素が盲腸内バクテリア増殖に利用され、さらにウサギの特徴的な栄養摂取戦略である盲腸内容物の摂取（食糞）が関係することを明らかにすることができた。このことは、確実な理論的背景のある効率的なウサギ生産技術創出に寄与するものとみなされる。また動物生産にともなう環境への窒素排泄量を低減させる技術に応用できる点でも意義は大きい。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計7件）

Xiao Min, Xiao LI, Shouko Hiura, Kiyonori Kakwasaki, Jin Xiao, Ei Sakaguchi Effect of D-mannitol on Nitrogen Retention, Fiber Digestibility, and Digesta Transit Time in Adult Rabbits. Animal Science Journal, 査読有, 2013, published online, DOI: 10.1111/asj.12041

Kiyonori Kawasaki, Xiao Min, Ai Nishiyama, Ei Sakaguchi. Effect of fructooligosaccharide on nitrogen utilization in guinea pigs, Animal Science Journal, 査読有, 84, 2013, 328-333 DOI:10.1111/asj.12009

Xiao L., Xiao M., Jin X., Kawasaki K., Ohta N., Sakaguchi E. Transfer of blood urea nitrogen to cecal microbial nitrogen is increased by mannitol feeding in growing rabbits fed timothy hay diet, Animal, 査読有, 6, 2012, 1757-1763 DOI:10.1017/S1751731112000754

Xiao L., Xiao M., Jin X., Kawasaki K., Ohta N. and Sakaguchi E. Utilization of dietary urea nitrogen is stimulated by D-mannitol feeding in rabbits, Animal Science Journal, 査読有, 83, 2012, 605-609 DOI: 10.0000/j.1740-0929.2011.01004.x

Xiao Li, Xiao Min, Tsuzuki Y. and Sakaguchi E. Effect of indigestible sugars on nitrogen utilization in adult rabbits, Animal Science Journal, 査読有, 82, 2011, 296-301 DOI: 10.1111/j.1740-0929.2010.00849.x

〔学会発表〕（計7件）

暁敏, 川崎浄教, 金暁, 坂口英 フラクトオリゴ糖（FOS）が成熟ウサギの血中尿素動態に及ぼす影響 日本畜産学会第116回大会 2013年3月28-30日 安田女子大学（広島市）

Naoko Ota, Xiao Li, Xiao Min, Ei Sakaguchi Effect of fructooligosaccharide on nitrogen utilization in growing rabbits fed on different dietary protein levels Asian-Australasian Animal Production (AAAP) Congress 2012年11月26-30日 バンコク（タイ）

Kiyonori Kawasaki, Xiao Min, Xiao Li, Ena

Hasegawa, Ei Sakaguchi. Transfer of blood urea nitrogen to cecal microbial nitrogen is increased by fructooligosaccharide feeding in guinea pigs. Ninth Biennial Symposium of the Comparative Nutrition Society 2012年7月18-23日パシフィックグローブ (カリフォルニア, USA)

Yuta Tsuzuki, Xiao Li, Ei Sakaguchi Fermentable sugar fructooligosaccharide increases nitrogen utilization through cecotrophy in rabbits. Ninth Biennial Symposium of the Comparative Nutrition Society 2012年7月18-23日 パシフィックグローブ (カリフォルニア, USA)

Xiao Li, Sakaguchi Ei Fermentable sugar increases transfer of blood urea N to cecal microbial N in growing rabbits fed timothy hay 日本畜産学会第113回大会 2011年3月 東京農業大学 (東京都)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坂口 英 (Sakaguchi Ei)

岡山大学・大学院環境生命科学研究科・教授

研究者番号：40170584

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし