

学 位 論 文 題 名

イオノフォア抗生物質サリノマイシンの
反芻家畜栄養への作用機序に関する研究

学位論文内容の要旨

近年の肉牛肥育において、給与飼料の利用効率をいかに向上させるかという観点から、第一胃内発酵の制御法としてイオノフォア抗生物質の飼料添加による投与が普及しつつある。サリノマイシン（SL）はわが国で開発されたイオノフォアであるが、第一胃内発酵におけるメタン産生の減少とプロピオン酸産生の増加を導くことから、飼料エネルギーの利用効率を高め、給与穀物の消費量削減に寄与できると言われている。しかしながらその作用の詳細については明かでない点が多く、しかもわが国の肉牛飼養実態に即した研究例は極端に少ない。

そこで本研究はSLの投与に対する発育成績および第一胃における消化・発酵様式の反応を明かにし、下部消化管における養分利用との関連を解析することで、本抗生物質投与の宿主栄養への貢献について検討しようとした。

第一編では、反芻家畜第一胃内消化・発酵の特性とその制御の意義および歴史を論ずるとともに、SLに関する従来の研究の紹介と本研究の意義ならびに目的を述べた。これまでのSLの研究例は短期間の投与試験がほとんどで10ヶ月以上の肥育期からなるわが国の実状にはそぐわないこと、幼畜への使用例が皆無なこと、作用機序の解析が不十分なことをあげ、有効な利用にはこれらの検討が必要であることを指摘した。第二編では、まずホルスタイン去勢雄肥育牛28頭、黒毛和種雌肥育牛16頭を供し、実際の肥育方式に即した試験でSL投与に対する発育成績と第一胃内発酵の反応を調査した。次にホルスタイン種雄子牛25頭を用い、同項目ならびに第一胃微生物叢の形成様相を調べ、早期若齢肥育体系下にある子牛へのSLの適用の可能性について検討した。第三編では、SLの作用機序の精査を目的として、めん羊をのべ23頭を用い、第一胃内消化・発酵への影響とその持続性、第一胃内脱アミノ反応への影響、消化管内容物の通過様相と養分利用への影響、消化管部位別にみた養分利用への影響について検討した。第四編では本研究結果を総合的に考察するとともに、SLのさらなる利用の可能性とその際の課題を提示した。

主な結果ならびに結論は以下のとおりである。

1) ホルスタイン種去勢雄牛(7ヶ月齢)を10ヶ月間, 黒毛和種雌牛(9ヶ月齢)を11ヶ月間, SL 添加飼料で各々自由摂取または制限給与条件下のもと肥育したところ, 濃厚飼料要求率が各々8または11%改善された。SL 投与に対する第一胃内性状の特徴的な反応として, プロピオン酸濃度の増加とアンモニア濃度の減少がみられた。これらより, これまで例のないわが国の代表的な肥育体系に即した SL 投与も効果的であることが示された。ただし, 試験期間を細分化して解析してみると, 肥育後期に SL の効果が消失するケースも認められた。同時に上記の第一胃内発酵における特徴的な反応が明確でなくなり, 投与初期に有意に低下していたプロトゾア密度が回復した。このことから, 長期にわたる SL の投与は, 場合によっては効果の低減を招く可能性があること, その一因として第一胃内微生物の SL への適応が考えられることを示唆した。

2) ホルスタイン種雄子牛に SL 添加飼料を3-25週齢の間与えたところ, 濃厚飼料要求率が6%改善されるとともに, 第一胃内のプロピオン酸生成の促進・アンモニア生成の抑制がみられた。このような SL 投与に対する発育成績と第一胃内発酵様相の反応は成畜の場合とよく一致することが明かとなった。プロピオン酸の増加は第一胃内グラム陰性かん菌の増加と連動していることから, SL による微生物群の選抜淘汰を介した作用と考えられた。SL 投与は子牛第一胃絨毛の発育にやや抑制的に働くことが, ファイバースコープによる観察で認められた。

3) ホルスタイン種雄子牛を同様に飼養し, 子牛第一胃内の微生物叢形成における SL 投与の影響を検討したところ, SL はプロトゾアやセルロース利用菌の定着をやや阻害する傾向を示した。しかし一方で, デンプン, タンパク質および乳酸をそれぞれ利用する菌群の第一胃内占有率を上げることでプロピオン酸産生主体型の発酵を導き, 発酵のエネルギー効率を向上させ, 飼料利用効率の改善に貢献することが明かとなった。

4) めん羊に SL 添加飼料を30日間継続して給与した場合の, SL に対する第一胃内消化・発酵様式の反応が経日的にいかに移るかを調べたところ, 揮発性脂肪酸生成比とアンモニア濃度への作用は試験期間内でよく維持された。一方 SL 投与開始初期は第一胃内繊維質消化がやや抑制されたが, 投与開始2週間後には回復したことから, SL による繊維消化抑制傾向は永続的なものではないと推察された。これとほぼ同じ時期に SL 耐性プロトゾアが増加したことから, プロトゾアが繊維消化に関与していることが予想された。

5) カゼイン添加第一胃液を SL 存否下で培養すると, SL 存在時にカゼインからのアンモニア生成が抑えられ, 多量のアミノ態窒素が集積したことから, SL は脱アミノ反応を阻害することが明かであった。この作用は特にアスパラギン酸を基質にしたときに顕著であり, 菌叢の異なる第一胃液を用いても一律に認められた。一方供試微生物細胞を破壊した後の抽出液ではまった

く認められないことから、SLによる菌種選抜よりもアミノ酸の菌細胞内への透過阻害を介して発現することを示唆した。

6) 消化率の規制要因である飼料の消化管内通過速度のSL投与に対する反応を通過速度推定の数式モデルを使って検討したところ、SLは第一胃での固相ならびに液相の通過を遅らせる傾向にあった。一因として第一胃から流出しにくいサイズの飼料片の大半を占めるであろう繊維成分の分解がSLによって抑えられることが考えられるが、実測した粗繊維消化率の低下傾向はこれを裏づけるものであった。

7) 第一胃と十二指腸にカニューレをつけためん羊を用い、下部消化管への流下養分に及ぼすSLの影響を定量的にとらえたところ、SLは乾物、有機物および粗繊維の第一胃内消化をやや低めるが、下部消化管で補完的な消化がなされることが明かとなった。粗タンパク質の第一胃内分解度はSLにより抑えられ、第一胃以降へ流出する飼料由来の粗タンパク質が増加した。同時に第一胃内アンモニア濃度と尿中排泄窒素量の減少、窒素蓄積量の増加があることから、SLはこの作用をとおして飼料粗タンパク質の利用効率改善をもたらすものと推察された。SL投与で第一胃と十二指腸の内容物ならびに第一胃混合菌の不飽和脂肪酸割合が顕著に増加した。つまり、SLは第一胃での不飽和酸への水素添加を阻害することで第一胃以降への流出を助長し、宿主への必須脂肪酸供給に貢献することを示唆した。

8) 以上の結果より、SLは第一胃内でのプロピオン酸生成の促進、飼料粗タンパク質分解抑制をとおし、飼料エネルギーおよび窒素の利用効率を改善する方向へ第一胃内発酵を抑制することが明かとなった。またこれらの作用の基盤は、SL投与にともなう第一胃内微生物叢と微生物代謝様式の変化にあることを示した。さらに幼畜への適用可能性や不飽和脂肪酸の第一胃からの流出増といった新知見を提示した。

学位論文審査の要旨

主査	教授	朝日田	康司
副査	教授	上山	英一
副査	助教授	大久保	正彦

この論文は、表37、図19、引用文献151を含む、総ページ数115の和文論文であり、4編に分け

て論述されている。別に参考論文26編が添えられている。

抗生物質等の薬剤の投与により反芻家畜第一胃内発酵を人為的に制御し、発酵の効率化ひいては飼料の利用効率の改善をはかろうとする試みは以前から注目されてきた。最近では肉牛肥育産業において、給与穀物の利用効率をいかに向上させるかという観点から制御法の模索が進む中、第一胃内発酵におけるメタン生成阻害・プロピオン酸増強剤としてイオノフォア抗生物質サリノマイシン(SL)の使用が普及しつつある。しかしながら、その作用機序の詳細については明らかでない点が多く、しかもわが国の飼養実態に即した研究例は非常に少ない。このような薬物の使用は作用機序を明確にしたうえで展開されるべきであり、それによって有効な利用が可能となる。

そこで著者は、SLの反芻家畜栄養への作用機序を解明し、その利用に資する目的で、SL投与に対する第一胃内消化・発酵様式の反応およびそれらと宿主栄養との関連について詳細に検討した。すなわちホルスタイン種去勢雄肥育牛28頭、黒毛和種雌肥育牛16頭、ホルスタイン種雄子牛25頭を用い、SL投与に対する発育成績と第一胃内発酵の応答をフィールドレベルの試験で明らかにし、さらに、めん羊23頭を供し、これらの反応の詳細な分析と宿主栄養への貢献について検討した。

主な成果は以下のとおりである。

1) SLの投与は、わが国の典型的の肥育体系に準じて飼養した肥育牛の濃厚飼料要求率を8-11%改善する。その際の第一胃内発酵における特徴的な反応として、プロピオン酸産生の増加とアンモニア産生の減少が認められる。

2) 現在使用が許可されていない子牛へのSLの投与は飼料要求率および第一胃内発酵において成畜と同様の反応を導く。すなわち高プロピオン酸・低アンモニア産生という特徴的な反応は、第一胃内微生物叢の変化により導かれるものである。これはSL投与にともなうグラム陰性細菌数およびデンプン、タンパク質、乳酸利用菌数の増加、ならびにプロトゾア数の減少で説明できる。

3) めん羊にSLを継続投与しても、SLによって導かれるプロピオン酸産生主体型第一胃内発酵はよく維持される。一方、SL投与でみられる繊維消化の阻害傾向は、投与開始2週目までのみ認められ、永続的な作用ではない。これには耐性プロトゾアの出現が関与しているらしい。

4) 第一胃内細菌によるアミノ酸の分解はSLにより抑えられ、抑制の程度は飼料タンパク質の主要構成アミノ酸であるアスパラギン酸でとくに大きい。この作用はSL存在下での菌叢の変化よりも、むしろアミノ酸の菌細胞内への透過阻害により発現する可能性が高い。

5) 数式モデルをつかって推定した消化管内容物の移動速度は、固・液両相ともSL投与によ

り低下する。

6) SL 投与は飼料タンパク質の第一胃内分解度を抑えることで、過剰なアンモニア生成を防ぎ、尿中へ損失する窒素を減少させる。その結果、家畜体内に蓄積する窒素量が増える。なお第一胃内微生物体タンパク質合成には有意な影響をおよぼさない。

7) SL は飼料中の不飽和脂肪酸の第一胃内水素添加を阻害し、下部消化管への流出量を高めることで、宿主への必須脂肪酸供給に貢献する。

以上のように、本研究は、SL の作用を反芻家畜第一胃内消化・発酵様式の中で特定し、さらに宿主への養分供給という栄養学的観点からその解析を行い、学術的に高く評価される。実用的にも、本研究は、本抗生物質の使用に際し有益な知見を提供しており、特に幼畜への適用可能性を実証している。これらの成果は今後の肉畜生産の効率化に大きく寄与するものである。

よって、審査員一同は、別に実施した学力確認の成績と合わせて、小林泰男は農学博士の学位を受ける資格十分なものとして判定した。