

氏 名 (本籍)	ふじ 藤	た 田	まさ 正	のり 範
学位の種類	農	学	博	士
学位記番号	農	博	第 215	号
学位授与年月日	昭和 53年 3月 24日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 畜産学専攻			
学位論文題目	寒冷暴露時のめん羊における グルコース代謝の量的考察			

論文審査委員 (主査)

教授 津田恒之 教授 松本達郎

教授 木村修一

助教授 安保佳一

論文内容要旨

寒冷暴露時に、恒温動物はその生理反応ならびに代謝様式を変化させて、熱放散を防ぎ、熱生産を増すことによって体温および内的環境の恒常性を維持する。

従来、めん羊に対する寒冷暴露の影響については、体温、循環、呼吸機能などを中心とした一般生理諸元の変化が詳細に観察されてきた。しかしながら、めん羊の栄養生理的特徴と関連させて、寒冷暴露時の熱生産の材料を何に求めるのか、という観点から行われてきた研究は極めて少ない。

近年、単胃動物においては、寒冷暴露時に増大する熱生産にグルコース代謝が大きな意義をもつことが明らかにされてきた。ところが、反すう動物においては、第一胃発酵という特異な消化吸收過程があるために、その栄養の仕組みには大きな特徴があることが知られている。すなわち、その第一は、反すう動物のエネルギー要求量の約70%が第一胃発酵の産物である低級脂肪酸によってまかなわれていることであり、第二は、単胃動物における主要なエネルギー源であるグルコースは第一胃内で発酵されてしまい、消化管から殆ど吸収されず、従って、体利用されるグルコースの殆どすべてが体内で糖以外の物質から新生されることによってまかなわれているということである。

このような反すう動物が寒冷環境にさらされ、熱生産が増大する際には、単胃動物とは異なった代謝様式が見られるのではないかとということが考えられる。

そこで、本論文においては、反すう動物の栄養生理的特徴である糖新生に焦点をあて、常温および寒冷環境下のめん羊におけるグルコースならびに種々の糖前駆物質の代謝の動態を量的に考察することによって、反すう動物の栄養におけるグルコース代謝の意義を明らかにしようとした。

I：寒冷暴露時の生理諸元および血液・尿成分の変化

はじめに、寒冷環境がめん羊の一般生理反応および血液・尿成分にどのような影響を与えるかということを検索するために、めん羊をズートロン内で0℃に7日間暴露した(第二章)。

寒冷暴露後直ちに動物の四肢に激しい“ふるえ”が発現し、次第に軀幹にひろがった。それにともなって熱生産量は速やかに増加して約1.8倍となり、心拍数にも著しい増加がおこった。これらの生理反応の亢進は7日間の暴露期間を通じて同程度の値に保たれた。一方、呼吸数は減少の傾向を示し、飲水量、尿量には著しい減少がみられた。そして直腸温はほぼ一定に保たれた(図-1, 2, 3)。

血液pHには暴露初期にやや低下の傾向が、また血液 P_{CO_2} には暴露後期にやや上昇の傾向がみられた。ヘマトクリット値には変化はなかった(図-4)。

血漿遊離脂肪酸濃度は暴露によって明らかに増加したが、血液グルコース濃度は暴露後期にやや増加する傾向がうかがわれたにすぎず、血液乳酸、アミノ酸および低級脂肪酸には殆ど変化がみられなかった(図-5, 6)。

尿中ケトン体排泄日量は暴露後減少する傾向がみられたが、尿中窒素排泄日量には明瞭な変化はみられなかった(図-7)。

以上のように、めん羊を0℃に暴露すると、諸種の熱放散防止反応が生ずる一方、熱生産反応が活発化し、同時に循環機能が亢進することによって、骨格筋や肝臓で生産された熱が体組織全体に運ばれ、直腸温が一定に保たれたものと考えられた。しかし、そのような一般生理反応の変化を通して著しい代謝亢進が起こっていることが示唆されたにもかかわらず、血漿遊離脂肪酸濃度の増加を除いて、血液・尿成分には明瞭な変化がみられなかった。めん羊で観察されたこのような諸変化は従来イヌヤヒトなどで報告された所見とほぼ同様なものであることが確かめられた。

II：常温時および寒冷暴露時のグルコース代謝の動態

Iで観測された事実は、その寒冷暴露期間には種々の物質代謝が協調しあって血液における恒常性の破綻が招来されなかったことを示唆するものであり、同時に個々の代謝物質の動態を血液中の濃度だけから知ろうとすることには、自ずから限界があることを示すものと考えられた。

そこで本論文の目的とするグルコース代謝の動態を量的に把握するために、同位元素希釈法を用いて検索をすすめた(第三章)。

すなわち、めん羊の頸静脈内にU-¹⁴C-グルコースの0.9%食塩水溶液を0.25 μCi/0.5 ml/分の割合で4~6時間定速注入し(continuous infusion)、経時的に血液および呼吸を採取して、グルコース代謝のパラメーターを測定した。

その結果、常温時におけるグルコースのターン・オーバー率は $4.72 \text{ mg/Kg}^{3/4}/\text{分}$ 、酸化率は31.2%、酸化寄与率(全身のCO₂産生量のうちグルコース由来のCO₂の割合)は7.9%であり、熱生産に占めるグルコース由来の熱量の割合は10.2%であった。

一方、寒冷暴露4日目においては、グルコースのターン・オーバー率は $7.39 \text{ mg/Kg}^{3/4}/\text{分}$ 、酸化率は33.8%、酸化寄与率は11.0%であり、熱生産に占めるグルコースの割合は11.0%であった(表-2)。

以上のように、寒冷暴露によりグルコースのターン・オーバー率は常温時の1.6倍に、また酸化寄与率も1.4倍に増加した。その結果、寒冷暴露時に熱生産量が著しく高まったにもかかわらず、その中に占めるグルコースの割合は常温時と変化しなかった。

本実験の結果、低級脂肪酸を主要な熱源とし、グルコースが消化管で殆ど吸収されないめん羊でも、単胃動物と同様に、寒冷暴露時には体内で糖新生を増加して常温時におけるよりも多量のグルコースを利用し、熱生産にも貢献していることが明らかになった。以後、このようなグルコース代謝がいかなる物質を材料とした糖新生によってささえられているのかという問題を中心に

研究を進めた。

Ⅲ：常温時および寒冷暴露時のグルコースのリサイクル

めん羊の体内で利用されるグルコースがいかなる物質から新生されるのかという問題を解明するにあたっては、まず、ターン・オーバーされるグルコースのうち、どの程度がリサイクルして再びグルコース生成にくみこまれるのかを明らかにしておくことが必要である。その量を把握することによって、はじめてグルコースの正味の利用率 (irreversible loss), すなわち正味の糖新生量を知ることができるからである。そこで、U- 14 C-および2- 3 H-グルコースを用いる同位元素希釈法によってグルコースのリサイクル率の測定を行った(第四章)。

すなわち、頸静脈内に2- 3 H-グルコース250 μ CiとU- 14 C-グルコース25 μ Ciを10 mlの0.9%食塩水とともに同時に注射し(single injection法), 経時的に採血して、グルコース代謝のパラメーターを測定した。

その結果、常温時にはグルコースのプール・サイズは382 $mg/Kg^{3/4}$, ターン・オーバー率は6.29 $mg/Kg^{3/4}/分$, リサイクル率は15.0%であり、正味の利用率は5.33 $mg/Kg^{3/4}/分$ であった。

一方、寒冷暴露4日目では、グルコースのプール・サイズは608 $mg/Kg^{3/4}$, ターン・オーバー率は11.10 $mg/Kg^{3/4}/分$, リサイクル率は23.7%であり、正味の利用率は8.44 $mg/Kg^{3/4}/分$ であった(表-3)。

以上のように、寒冷暴露によりグルコースのプール・サイズは1.6倍に、またターン・オーバー率も1.8倍に増加したが、その際リサイクルする量も増加はしているが、やはり正味の糖新生が増大する(1.6倍)ことによってその代謝がまかなわれていることが明らかになった。

Ⅳ：常温時および寒冷暴露時のプロピオン酸代謝と糖新生

反すう動物における糖前駆物質として量的に最も重要なものは第一胃発酵産物であるプロピオン酸であるとされている。そこで、U- 14 C-プロピオン酸の第一胃内continuous infusion法(0.2 μ Ci/0.5 ml/分, 10時間)を行い、経時的に第一胃内容および呼気を採取して、プロピオン酸代謝のパラメーターを測定した(第五章)。

その結果、常温時における第一胃内プロピオン酸産生率は3.17 $mg/Kg^{3/4}/分$ であり、全熱生産の中でプロピオン酸由来の熱量が占める割合は8.7%であった。また、プロピオン酸の20.9%がグルコースに転換され、代謝回転するグルコースの33.3%がプロピオン酸由来のものであった。

一方、寒冷暴露4日目におけるプロピオン酸産生率は2.41 $mg/Kg^{3/4}/分$, 全熱生産の中のプロピオン酸の割合は6.3%であり、また、プロピオン酸の30.4%がグルコースに転換され、グルコ

ースの22.4%がプロピオン酸由来のものであった(表-4)。

本実験の結果、寒冷暴露時にはプロピオン酸の産生率がやや減少するために、高まった熱生産に占める割合は低下する傾向にあり、またプロピオン酸のグルコースへの転換割合は増加するものの、グルコースの代謝回転がその割合以上に増大するために、糖新生に対する貢献度も低下することが示された。

V: 常温時および寒冷暴露時のグルタミン酸およびアラニン代謝と糖新生

単胃動物において寒冷暴露時の糖前駆物質として重視されているアミノ酸に関して、グルタミン酸とアラニンとを対象としてそれらの代謝を検索した(第六章)。すなわち、U-¹⁴C-グルタミン酸またはアラニンの頸静脈内 continuous infusion法(0.5 μCi/0.5ml/分, 6時間)を行い、グルタミン酸およびアラニンの代謝のパラメーターを測定した。

その結果、常温時におけるグルタミン酸およびアラニンのターン・オーバー率はそれぞれ0.37; 1.02mg/Kg^{3/4}/分、熱生産に占める割合は1.2; 1.7%であり、グルコースに転換される割合は22.5; 7.7%, 代謝回転するグルコース中に占める割合は2.2; 3.3%であった。

一方、寒冷暴露4日目においては、グルタミン酸およびアラニンのターン・オーバー率は0.36; 0.94mg/Kg^{3/4}/分、熱生産に占める割合は0.8; 0.9%であり、グルコースに転換される割合は34.6; 12.9%, 代謝回転するグルコース中に占める割合は2.3; 3.3%であった(表-5, 6)。

以上のように、寒冷暴露時におけるグルタミン酸およびアラニンのターン・オーバー率はいずれも常温時と同程度であるが、寒冷暴露時には熱生産量が増大するため、全熱生産に占める両アミノ酸由来の熱量の割合は低下することが示された。さらに寒冷暴露時には両アミノ酸ともグルコースへの転換割合が増加するために、グルコースのターン・オーバー率が増大するにもかかわらず、その中に占める両アミノ酸由来のグルコースの割合は常温時と同程度に保たれることが明らかにされた。

VI: 常温時および寒冷暴露時のグリセロール代謝と糖新生

グリセロールは絶食時における糖新生に有意義な物質であることが知られているが、寒冷暴露時には、絶食時と同様に、血漿遊離脂肪酸濃度が上昇することから、糖新生に占めるグリセロールの割合が増大するのではないかとということが考えられた。そこで、U-¹⁴C-グリセロールの頸静脈内 continuous infusion法(0.2 μCi/0.5ml/分, 6時間)を行い、グリセロール代謝のパラメーターを測定した。

その結果、常温時におけるグリセロールのターン・オーバー率は0.59mg/Kg^{3/4}/分、熱生産に

占める割合は1.6%であり、また、グリセロールの24.2%がグルコースに転換され、代謝回転するグルコースのうちの4.6%がグリセロール由来のものであった。

一方、寒冷暴露4日目においては、グリセロールのターン・オーバー率は $1.17\text{mg/Kg}^{3/4}/\text{分}$ 、熱生産に占める割合は1.8%であり、また、グリセロールの25.7%がグルコースに転換し、その量は代謝されるグルコースの6.9%に相当するものであった(表-7)。

以上のように、寒冷暴露時には、グリセロールのターン・オーバー率が増加するために、熱生産およびグルコースのターン・オーバー率が増大するにもかかわらず、それらの中に占めるグリセロールの割合は常温時よりもかえって増加する傾向が示された。

Ⅶ：結語

以上、本研究において、 0°C という寒冷環境に暴露されためん羊では、生体の熱放散防止反応ならびに熱生産反応がともに活発化するが、その際体内のグルコースのプール・サイズや代謝回転も明らかに増大すること、熱生産量が著しく高まるにもかかわらず、その中に占めるグルコース由来の熱量の割合は常温時と同程度に保たれること、代謝されるグルコースのうちリサイクルする割合も増加するが、主として正味の糖新生量が増すことによって増大するグルコースの代謝回転がまかなわれていること、さらに、糖新生に占める各糖前駆物質(プロピオン酸、グルタミン酸、アラニン、グリセロール)の貢献度は常温時のそれとほぼ同程度であることなどが明らかにされた(図-8)。

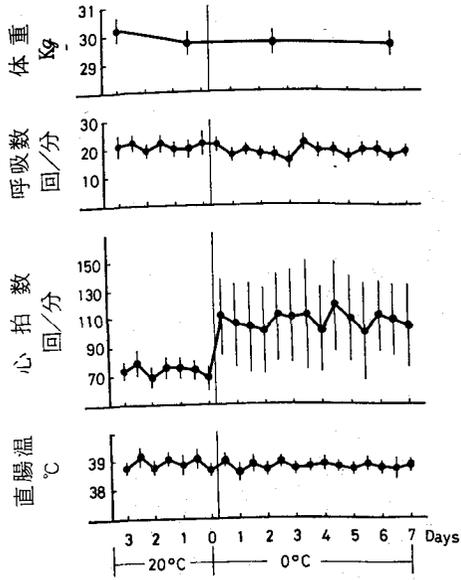


図1. 寒冷暴露時の体重，呼吸数，心拍数，直腸温の経日変化。

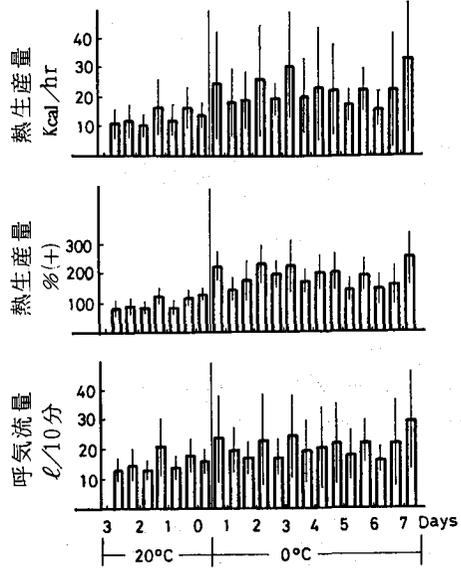


図3. 寒冷暴露時の熱生産量，呼吸流量の経日変化。
(+印は対照値平均を100とした値を示す。)

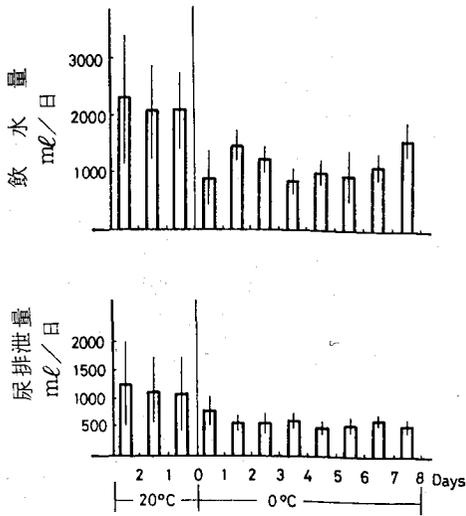


図2. 寒冷暴露時の飲水量，尿排泄量の経日変化。

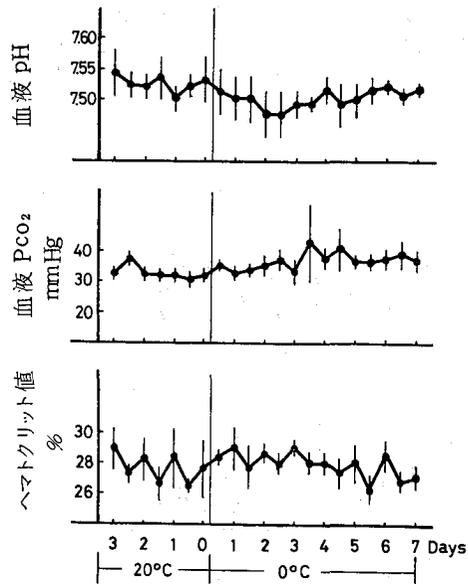


図4. 寒冷暴露時の血液pH，血液PCO₂，ヘマトクリット値の経日変化。

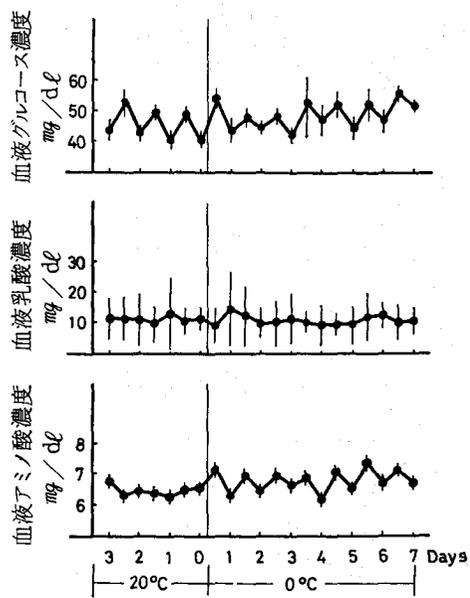


図5. 寒冷暴露時の血液グルコース、乳酸、アミノ酸濃度の経日変化。

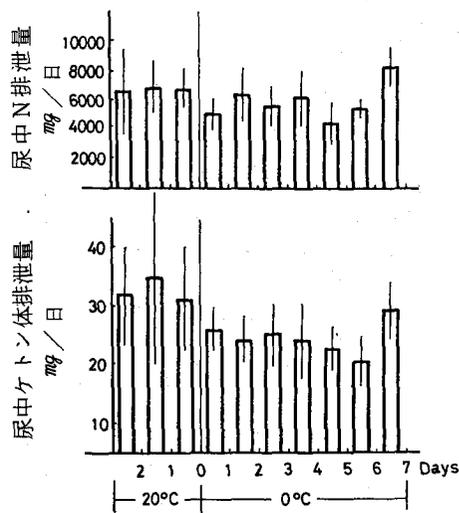


図7. 寒冷暴露時の尿中N排泄量、ケトン体排泄量の経日変化。

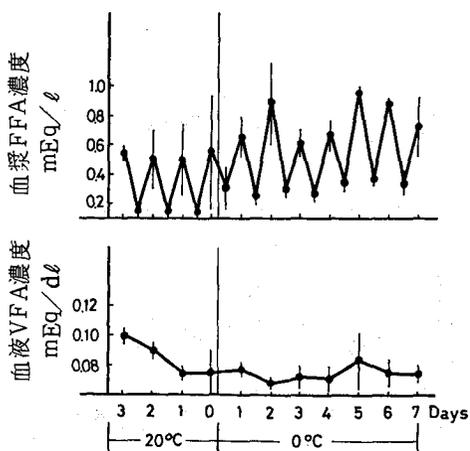


図6. 寒冷暴露時の血漿FFA、血液VFAの経日変化。

表1. 寒冷暴露時の生理反応および血液・尿成分の変化。

変 化	項 目
増 加	心拍数 ^{**} 、熱生産量 [*] 血液PCO ₂ 、血漿FFA ^{**} 血液グルコース、血液アミノ酸
減 少	飲水量 ^{**} 、尿量 ^{**} 、呼吸数 [*] 尿中ケトン体排泄
変化なし	直腸温、血液pH 血液乳酸、血液VFA 尿中N排泄、ヘマトクリット値

**、*印はt検定において、各々P<0.01, P<0.05で対照との間に有意差があることを示す。

表-2 常温時および寒冷暴露時のグルコース代謝

環境温度	n	体重	ターン・オーバー率	酸化率	酸化寄与率	グルコース由来の熱量割合
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4} /min	%	%	%
20	16	34.2 ±5.1	4.72 ±0.96	31.2 ±11.4	7.9 ±2.7	10.2 ±3.4
0	16	32.9 ±6.1	7.39*** ±1.67	33.8 ±12.3	11.0** ±3.7	11.0 ±4.6

***印はP<0.01 でt検定において両環境温度値の間に有意差があることを示す。

** P<0.025

表-3 常温時および寒冷暴露時のグルコースのリサイクル

環境温度	n	体重	プール・サイズ	ターン・オーバー率	リサイクル率	利用率
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4}	mg/Kg ^{3/4} /min	%	mg/Kg ^{3/4} /min
20	3	32.8 ±2.7	381.9 ±22.1	6.29 ±0.69	15.0 ±2.8	5.33 ±0.42
0	4	27.9 ±4.2	608.3*** ±44.6	11.10** ±1.91	23.7* ±4.4	8.44* ±1.41

***印はP<0.01 でt検定において両環境温度値の間に有意差があることを示す。

** P<0.025

* P<0.05

表-4 常温時および寒冷暴露時のプロピオン酸代謝

環境温度	n	体重	産生率	酸化率	酸化寄与率	プロピオン酸由来の熱量割合	プロピオン酸のグルコースへの転換割合	プロピオン酸由来のグルコース割合
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4} /min	%	%	%	%	%
20	2	32.8 ±1.3	3.17 ±0.19	36.6 ±4.8	10.5 ±1.7	8.7 ±0.1	20.9 ±1.9	33.3 ±2.8
0	3	30.7 ±3.5	2.41* ±0.30	32.6 ±6.7	6.7 ±1.9	6.3 ±2.0	30.4** ±2.8	22.4 ±5.9

**印はP<0.025でt検定において両環境温度値の間に有意差があることを示す。

* P<0.05

表-5 常温時および寒冷暴露時のグルタミン酸代謝

環境温度	n	体重	ターン・オーバー率	酸化率	酸化寄与率	グルタミン酸由来の熱量割合	グルタミン酸のグルコースへの転換割合	グルタミン酸由来のグルコース割合
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4} /min	%	%	%	%	%
20	3	43.0 ±1.4	0.37 ±0.05	42.2 ±4.5	1.2 ±0.1	1.2 ±0.1	22.5 ±1.4	2.2 ±0.1
0	3	43.0 ±1.4	0.36 ±0.03	55.2 ±5.9	0.9*** ±0.04	0.8*** ±0.1	34.6 ±10.7	2.3 ±0.6

***印はP<0.01でt検定において両環境温度値の間に有意差のあることを示す。

表-6 常温時および寒冷暴露時のアラニン代謝

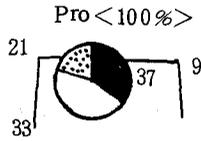
環境温度	n	体重	ターン・オーバー率	酸化率	酸化寄与率	アラニン由来の熱量割合	アラニンのグルコースへの転換割合	アラニン由来のグルコース割合
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4} /min	%	%	%	%	%
20	3	29.7 ±2.0	1.02 ±0.07	30.0 ±4.0	1.4 ±0.1	1.7 ±0.1	7.7 ±1.5	3.3 ±0.4
0	3	30.0 ±2.5	0.94 ±0.10	29.0 ±1.0	0.8*** ±0.1	0.9*** ±0.1	12.9 ±4.4	3.3 ±0.3

***印はP<0.01でt検定において両環境温度値の間に有意差のあることを示す。

表-7 常温時および寒冷暴露時のグリセロール代謝

環境温度	n	体重	ターン・オーバー率	酸化率	酸化寄与率	グリセロール由来の熱量割合	グリセロールのグルコースへの転換割合	グリセロール由来のグルコース割合
℃		Kg	mg/Kg ^{3/4} /min	%	%	%	%	%
20	3	34.5 ±1.5	0.59 ±0.11	34.3 ±5.4	1.1 ±0.3	1.6 ±0.5	24.2 ±7.2	4.6 ±1.5
0	3	34.8 ±1.5	1.17 ±0.31	41.4 ±4.6	1.5 ±0.3	1.8 ±0.3	25.7 ±2.5	6.9 ±1.8

例



21: Pro のグルコースへの転換割合
 33: グルコースに占める Pro 由来の割合
 37: Pro の酸化される割合
 9: 熱生産に占める Pro 由来の割合

< % > は 20℃時のター
 ン・オーバー率を 100 と
 したときの 0℃時の値の
 変化割合を示す。

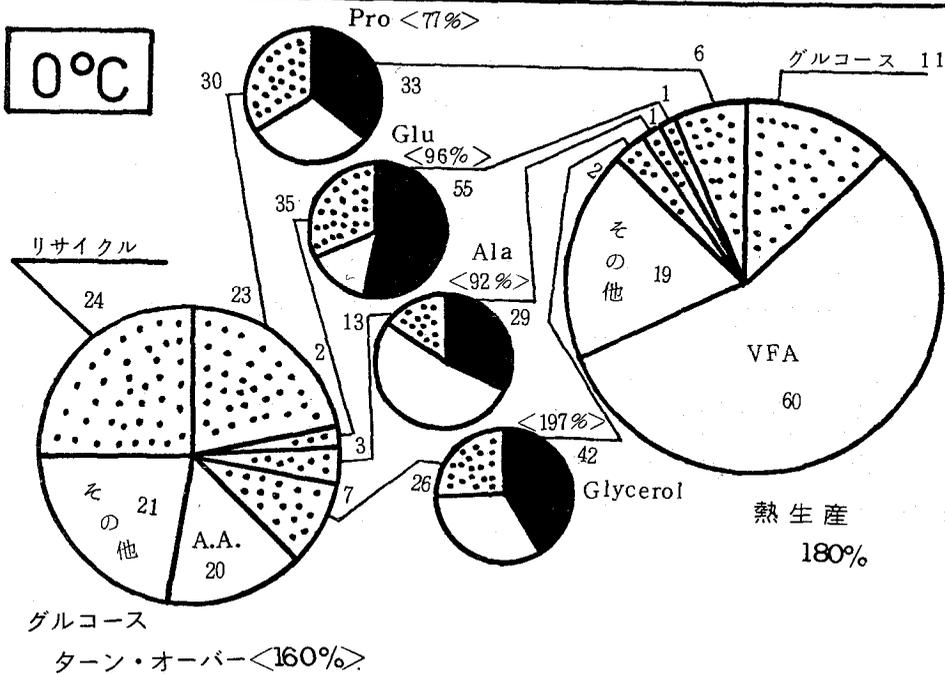
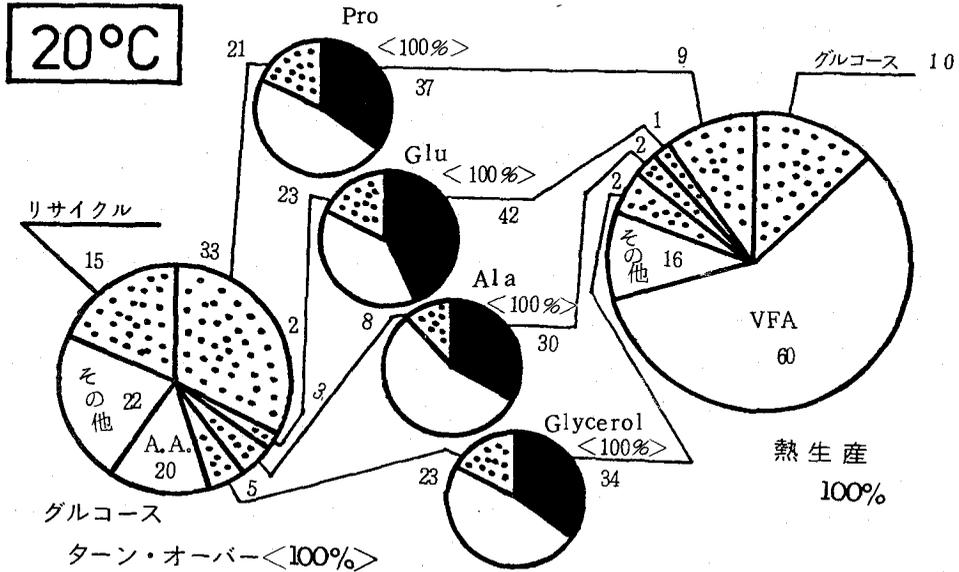


図8 常温時および寒冷暴露時の糖新生と熱生産。

審査結果の要旨

反すう動物においては、飼料の炭水化物は第一胃発酵の結果、ほとんど揮発性脂肪酸等に変換されるので、グルコースとして吸収されることはない。しかし体内には、かなりの量のグルコースが存在しており、これはすべて糖新生によって生成されたものである。

反すう動物を含む恒温動物を寒冷環境にさらすと、その生理反応ならびに代謝様式を変化させて熱放散を防ぎ、熱生産を増すことによって体温ならびに内的環境の恒常性を維持している。

本論文は、めん羊が寒冷環境下におかれた場合のグルコースならびに種々の糖前駆物質の代謝の動態を量的に明らかにし、めん羊におけるグルコース代謝の意義を知ることを目的としたものである。

まず、寒冷環境（0℃、湿度70%）下におけるめん羊の一般生理諸元ならびに血液性状の変化を7日間にわたり観察した結果、熱生産量を含む諸生理反応に著しい変化が生ずるに拘らず、血液遊離脂肪酸濃度を除いて、血液・尿成分に明瞭な変化はみられなかった。この結果から、体内代謝像の変動が必ずしも血液濃度には反映しないことを知ったので同位元素希釈法により代謝の動態をより量的に把握することを試みた。

すなわち、頸静脈内にU-¹⁴C-グルコースを定速注入し、経時的に血液および呼気を採取してグルコース代謝のパラメーターを算出した。寒冷環境下では熱生産量は常温（20℃、70%）下の1.8倍に、グルコースのターン・オーバー率は1.6倍に増加した。この増加したグルコースの代謝量が、いかなる物質からの糖新生によってまかなわれているかを知るにあたって、まず、そのリサイクル量を知る必要があった。そこで²-³HおよびU-¹⁴C-グルコースを用いて実験した結果、リサイクル率は常・低温環境下で、それぞれ15.0、23.7%であった。これらのことから、寒冷環境下で明らかに正味の糖新生量が増加していることを知ったので、その素材としてプロピオン酸、グルタミン酸、アラニンおよびグルセロールのそれぞれU-¹⁴C化合物を用い、グルコースへの転換率、熱生産量に占める割合など各種のパラメーターについて測定した結果常・低温下でいずれもほぼ同程度であることを知った。

以上、本論文は、常温・寒冷環境下におけるめん羊のグルコース代謝像を量的に明らかにしたものであって、家畜生理学上、貢献するところ極めて大きく、審査員一同、農学博士の学位を授与するに値すると判定した。