

氏 名(本籍)	はやし 林	ひで 英	あき 明
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	農 博 第 8 0 7 号		
学位授与年月日	平 成 1 7 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研究科専攻	農学研究科応用生命科学専攻 (博士課程)		
学位論文題目	反芻動物における窒素およびグルコース代謝動態と胃腸 管における栄養素輸送体発現の成長に伴う変動		
論文審査委員	(主 査)	教 授	小 原 嘉 昭
	(副 査)	教 授	西 田 朗
		教 授	山 口 高 弘
		助教授	加 藤 和 雄

論文内容要旨

1. 緒論

反芻動物は、哺乳期においては単胃動物と同様にミルクを消化し、下部消化管において諸栄養素を吸収しているが、離乳後はルーメンの発達とともに微生物との共生関係を持つようになり、下部消化管からの栄養素の吸収機能に変化すると考えられている。離乳後、ルーメン内では微生物の嫌気性発酵により、摂取された飼料中の炭水化物から酢酸、プロピオン酸、酪酸等の短鎖脂肪酸 (SCFAs) やメタン、二酸化炭素などが生成され、産生された SCFAs はルーメン壁より吸収され、主要なエネルギー源となる。また、タンパク質はペプチドやアミノ酸を経てアンモニアに分解され、一部はルーメン微生物タンパク質の合成に利用され、下部消化管においてアミノ酸として吸収される。ルーメン内での微生物発酵により、飼料中の炭水化物のほとんどが SCFAs へと変換されるために、下部消化管からグルコースとして吸収される量はわずかである。反芻動物は必要とするグルコースのほとんどを糖新生によってまかなっており、糖新生の主な前駆物質として、プロピオン酸、乳酸、アラニンやグルタミンなどのアミノ酸を利用している。反芻動物はグルコースの要求量が増加する妊娠および泌乳期において、コリサイクルを介してリサイクルされる量が顕著に増加する。また、反芻動物はルーメンの発達にともなって尿素をリサイクルする機能を有するようになる。ルーメン内で産生されたアンモニアはルーメン壁から吸収され、肝臓において尿素へと変換される。尿素は唾液分泌やルーメン壁拡散によりルーメン内へと供給され、微生物タンパク質合成のための重要な窒素源となっている。以上のように、反芻動物では離乳後の顕著なルーメンの発達に伴い、グルコース代謝や窒素代謝が大きく変化する。また、離乳前後で GH やインスリンなどの代謝性ホルモン分泌動態も大きく変化する。

反芻動物では、離乳によって体内における代謝が変化するだけでなく、腸管における栄養素の取り込みにも大きな変化が現れる。小腸に

において、グルコースの取り込みを行っているナトリウム依存性グルコーストランスポーター1 (SGLT1) の発現は、離乳後激減する。これは、ルーメン発酵が開始され、エネルギー基質の吸収がグルコースから SCFAs に置き換わり、小腸に到着するグルコース量が劇的に減少するためであると考えられている。小腸における SGLT1 の活性や発現の減少は、哺乳期間の延長によって遅らせることができ、成反芻動物十二指腸へのグルコース注入によって小腸 SGLT1 活性を哺乳期のレベルへ回復させることができることから、SGLT1 活性低下の原因は、腸管上皮吸収表面の構造的変化や年齢と関連したものではなく、基質の欠乏によると考えられてきた。近年、SGLT1 の発現はヒツジのルーメンばかりでなく、泌乳牛のルーメンや小腸以外の第三胃や盲腸においても確認されており、ヤギやシカにおいては離乳後も下部消化管での発現が高く維持されているという報告がある。また、離乳後ルーメンの発達により、脂質やタンパク質の消化吸收機構も変化するため、長鎖脂肪酸の取り込みに関与するとされている CD36 やオリゴペプチドの輸送体である PepT1 等の輸送体も離乳に伴って変化することが考えられる。

このように、反芻動物にとって離乳は、体内におけるグルコース代謝や窒素代謝のみならず、栄養素の取り込みにも影響を及ぼしている。しかし、哺乳期におけるグルコースや尿素カイネティクスに関する研究はこれまでほとんど報告されておらず、離乳前後におけるグルコースや尿素的代謝回転やリサイクルの変化については不明な点が多い。また、腸管からの栄養素の取り込みに関して、哺乳期における SGLT1 の局在はあまり検討されておらず、PepT1 に関しても哺乳期における発現動態は不明である。CD36 の反芻動物の消化管における発現にいたっては、まったく確認されていない。本研究では 1) 反芻動物のグルコースおよび尿素代謝動態の成長に伴う変化を明らかにするために、安定同位体元素希釈法により、離乳に伴うグルコースおよび尿素カイネティクスの変化を観察した。さらに、2) 胃腸管各部位における栄養素輸送体発現の離乳に伴う変化を明らかにするために、離乳前後におけ

るウシおよびヤギの胃腸管各部位の SGLT1、CD36 および PepT1 の mRNA 発現の離乳に伴う変化を Real time PCR を用いて観察した。

2. ウシのグルコース代謝および窒素代謝動態の成長に伴う変化

2-1. 1日2回および12回給餌の比較

仔ウシのグルコースおよび尿素カイネティクスを検討する目的で、安定同位体の頸静脈内単一注入を実施するためには、動物の代謝が定常状態となっているか確かめることが必要である。そのため、ホルスタイン種仔ウシを用いて1日2回給餌と12回給餌の際の血漿中代謝産物および代謝性ホルモン動態を観察した。

6週齢で離乳した9週齢のホルスタイン種仔ウシ6頭を用いた。1日分の飼料を2回(9:00, 21:00)に分けて給与し10日目に採血実験を行い、さらに1日当たりの飼料を12回(9:00より2時間間隔)に分けて給与して10日目に採血実験を行った。採血は9:00より20分間隔で12時間にわたって行った。その結果、血漿中グルコース濃度は2回および12回給餌ともに採食に伴う経時的な変化は観察されなかったが、2回給餌よりも12回給餌で高い濃度を維持した(Fig1)。NEFA、アミノ態窒素および尿素態窒素濃度に関しては、2回給餌では採食後に有意に減少した後回復したが、12回給餌では有意な変化は認められなかった(Fig2, Fig3, Fig4)。血漿中代謝性ホルモン濃度変化に関しては、2回給餌における採食後のGH濃度は12回給餌よりも有意に低く、インスリン濃度は採血の開始と終了時に有意に低かった(Fig5, Fig6)。IGF-Iは両区に差はなく、経時的な変化もみられなかった(Fig7)。これらの結果から、NEFA、アミノ態窒素、尿素態窒素およびインスリン濃度は12回給餌によってほぼ一定に維持され、定常状態に近いことが明らかとなった。

2-2. グルコースおよび尿素カインेटイクスの動態

ウシの成長に伴う代謝動態を観察するために、4週齢 (n=4)、13週齢 (n=5) および 24週齢 (n=6) のホルスタイン種仔ウシを用いて消化試験による乾物の消化率および窒素出納の測定、血漿中代謝産物および代謝性ホルモン濃度の測定、さらに、 ^{13}C および ^2H グルコース、 ^{13}C および ^{15}N 尿素を頸静脈より単一注入する安定同位体元素希釈法により、グルコースおよび尿素カインेटイクスの成長に伴う変化を観察した。グルコースおよび尿素的安定同位体単一注入後の ^{13}C および ^2H グルコース、 ^{13}C および ^{15}N 尿素的 atom% excess 変動を、それぞれ Fig8, Fig9 に示した。これらの指数関数を解析してグルコースおよび尿素プールサイズ、代謝回転速度およびリサイクル速度を求めた。

消化試験では、4週齢において顕著に高い乾物消化率を示した。窒素出納においては、尿中窒素排泄は成長に伴う変化は認められなかったが、糞中窒素排泄は4週齢において顕著に低下し、窒素蓄積量も4週齢において有意に高い値を示した (Table1)。血漿中代謝産物および代謝性ホルモン濃度においては、NEFA、アミノ態窒素、尿素態窒素、インスリンおよび IGF-I の濃度は成長とともに有意に増加した。グルコースは離乳後増加したがその後減少した。一方、GH 濃度は成長とともに有意に漸減した (Table2)。グルコースカインेटイクスにおいて、プールサイズは成長とともに有意に増加した。グルコース代謝回転速度は、 ^{13}C および ^2H グルコースともに離乳によって有意に減少し、13, 24週齢間では差はみられなかった。グルコースリサイクル速度もまた、離乳によって激減し、13, 24週齢間では差が認められなかった (Table3)。尿素カインेटイクスにおいて、尿素プールサイズは離乳によって変化しなかったが、その後加齢に伴って有意に増加した。 ^{15}N 尿素的代謝回転速度は成長による変化は認められなかった。 ^{13}C 尿素的代謝回転速度はプールサイズの変化と同様に、離乳によって変化しなかったが、24週齢では有意に増加していた。さらに、尿素リサイクル速度は離乳により変化しなかったが、24週齢では顕著に増加した (Table4)。

これらの結果から、糖代謝は離乳によって大きく変化するが、窒素代謝は離乳後のルーメンの発達に伴って徐々に変化していくことが観察され、ウシにおける消化管の発達は 13 週齢ではなく 24 週齢で顕著となる可能性が示唆された。

3. ヤギおよびウシの胃腸管各部位における栄養素輸送体発現の離乳に伴う変化

反芻動物の小腸において、SGLT1 の活性や発現は離乳によって激減することが知られているが、他の栄養素の取り込みに関与する輸送体に関しての研究は報告されていない。ルーメンの発達によってグルコースの代謝は劇的に変化するが、脂肪酸やタンパク質代謝もまた変化するため、これらの取り込みに関与する輸送体である CD36 や PepT1 の発現にも変化が起こると考えられる。また、SGLT1 も含めてこれらの胃腸管における局在はまだよく分かっていない。そのため、SGLT1、CD36 および PepT1 のヤギおよびウシの胃腸管各部位における発現の離乳前後での変化を Real time PCR を用いて検討した。

2 週齢のザーネン種仔ヤギと 4 週齢のホルスタイン種仔ウシを導入し、それぞれ 6 週齢時に離乳を行い、13 週齢まで飼育した。ヤギは 2 および 13 週齢、ウシは 4 週および 13 週齢時に第一胃、第二胃、第三胃、第四胃、十二指腸、空腸、回腸および結腸(ウシのみ)部位をそれぞれ採取し、粘膜部位を剥離したサンプルより抽出した mRNA から cDNA を作成し、Real time PCR を用いて SGLT1、CD36 および PepT1 (ヤギのみ)の発現を調べた。その結果、ヤギおよびウシの両動物種において、測定したすべての胃腸管各部位で、SGLT1、CD36 および PepT1 の mRNA 発現が確認された。離乳前の SGLT1 の発現は、ウシおよびヤギともに空腸部位でもっとも高い発現を示した。ウシでは空腸部位でのみで高い発現が確認された (Fig10) が、ヤギでは十二指腸および空腸部位で他の部位よりも高い発現が確認された (Fig11)。離乳後は、下部消化管に

おける SGLT1 の顕著な減少が確認された。

離乳前の CD36 の発現はヤギおよびウシのどちらも空腸部位で最も高い発現を示した。また、離乳前のウシでは下部消化管において、空腸のみで高い発現だったのに対してヤギでは十二指腸においても高い発現を示した (Fig12, Fig13)。また、離乳後は下部消化管における CD36 発現は顕著に減少した。

離乳前の仔ヤギの PepT1 発現は下部消化管で高く、特に空腸部位で高い発現を示した (Fig14)。離乳後、空腸の発現は激減した。

以上の結果から、哺乳期の反芻動物では、空腸部位がグルコース、長鎖脂肪酸およびペプチドを吸収する主要な部位であると考えられ、離乳後にこれら輸送体発現は減少するものの 13 週齢時においても発現は維持されていることから、離乳後も空腸はこれらの栄養素の吸収能を保持しているものと考えられる。また、ヤギとウシでは mRNA の発現部位に差が認められることから、食性などの違いが反映している可能性があると考えられる。

4. まとめ

反芻動物における窒素およびグルコース代謝動態と胃腸管における栄養素輸送体発現の成長に伴う変化に関する本研究結果から、以下のことが明らかとなった。

- 1) 13 週齢の仔ウシにおいて、1 日 12 回給餌は代謝産物や代謝性ホルモンなどのレベルを変えることがなかったことから定常状態に近いことを明らかにした。離乳は反芻動物の消化率や窒素出納に大きな影響を与えることが明らかとなった。また、血漿中グルコースやアミノ態窒素濃度もまた離乳によって変化した。一方、血漿中 NEFA、尿素態窒素および IGF-I 濃度は離乳時だけでなく、離乳後加齢に伴っても変化すること、GH およびインスリン濃度は離乳時には変化しないが、離乳後加齢に伴い変化することが示された。

グルコースの代謝回転速度およびリサイクル速度は離乳後に激減するが、尿素代謝回転速度やリサイクル速度は離乳によって変化せず、離乳後加齢に伴って有意に増加することが明らかとなった。これらの結果から、離乳とその後のルーメンの発達、グルコース代謝や窒素代謝に影響を与えており、内分泌機能もそれに合わせて変動していることが示唆された。

2)ウシおよびヤギにおいて、胃腸管各部胃の様々な部位で SGLT1、CD36 および PepT1 が発現していることが明らかとなった。栄養素輸送体の発現は哺乳期の空腸において非常に高く、離乳によってその発現は減少するが、離乳後においても空腸部位で高い発現を示すことが明らかとなった。これらのことから、空腸部位がグルコース、長鎖脂肪酸およびペプチドの主な吸収部位となっていることが示唆された。さらに、離乳後に認められた栄養素輸送体発現の減少は、これら栄養素輸送体の発現が小腸へ流入する栄養素の量や質に依存している可能性を示唆している。また、ウシとヤギで認められた SGLT1 および CD36 の発現の差は、摂食習性の違いによるものと思われる。

以上の結果より、反芻動物の離乳とその後の成長に伴うグルコースおよび尿素カイネティクスと栄養素輸送体の変動を Fig 15 にまとめて示した。ウシの哺乳期において栄養素の消化吸収能は非常に高く、空腸部位において、その多くが吸収されていると示唆される。また、グルコースの代謝回転速度やリサイクル速度も高く、コリサイクルなどを介して盛んにグルコースの再利用も行われていると考えられる。離乳によるグルコース再利用の減少は、SCFAs からのグルコース産生が増加することによって起こっているのかもしれない。ウシのルーメンは発達が遅く、13 週齢ではルーメンの発達が十分でないために、ルーメンで分解されずに下部消化管へ流入する栄養素も多く、下部消化管における輸送体の発現は保持されており、尿素再循環機構が十分に働いていないために尿素代謝回転速度やリサイクル速度も変化していない

可能性がある。その後のルーメンの発達により、尿素代謝回転速度やリサイクル速度は増加し、血漿中尿素態窒素濃度も増加していることが示唆される。

このように、反芻動物において、離乳による摂取飼料の変化と、それに伴うルーメン発酵の開始およびその後の発達は、体内におけるグルコースおよび窒素代謝のみならず、栄養素の消化や取り込みにおいても多大な影響を及ぼしていることが明らかとなった。

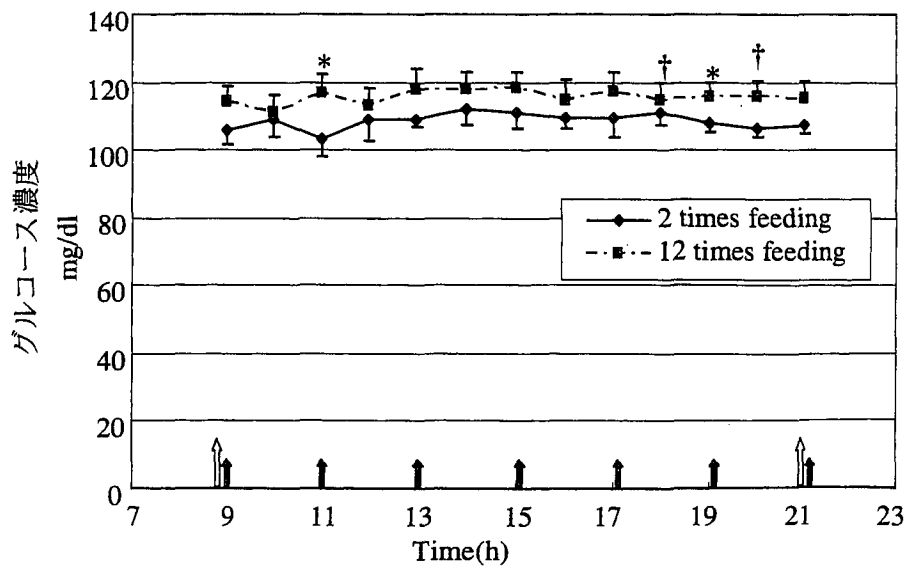


Fig 1. 1日2回および12回給餌における血漿中グルコース濃度の変化
 *:P<0.05; †:P<0.1; 処理区間に有意差あり (Student's *t*-test)
 矢印は飼料給与を示す

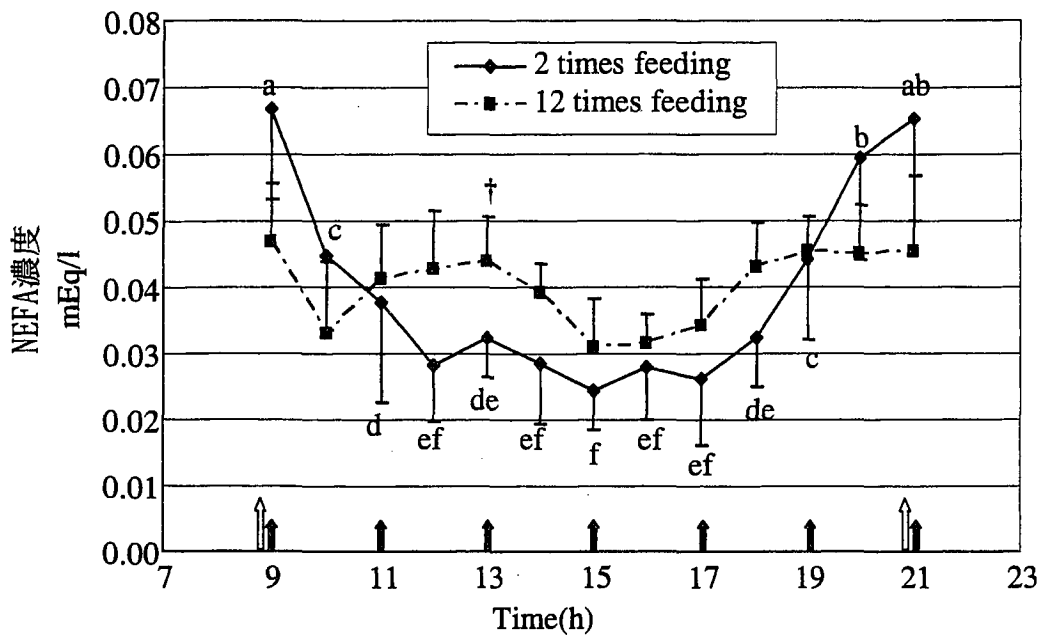


Fig 2. 1日2回および12回給餌における血漿中NEFA濃度の変化
 a,b,c,d,e,f: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 †: $P < 0.1$: 処理区間に有意差あり (Student's *t*-test)
 矢印は飼料給与を示す

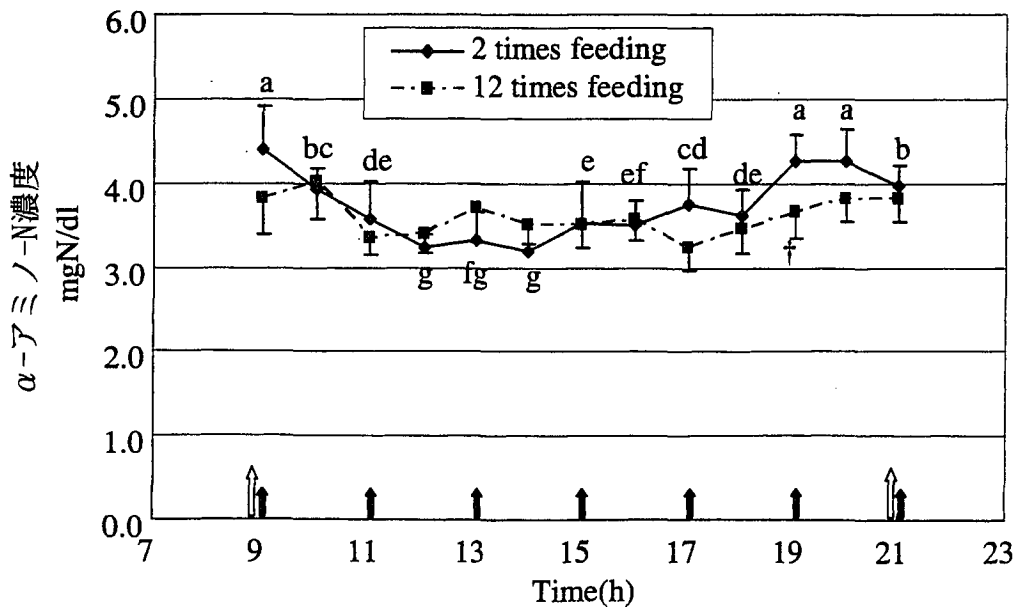


Fig 3. 1日2回および12回給餌における血漿中 α -アミノ-N濃度の変化
 a,b,c,d,e,f,g: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 †: $P < 0.1$: 処理区間に有意差あり (Student's *t*-test)
 矢印は飼料給与を示す

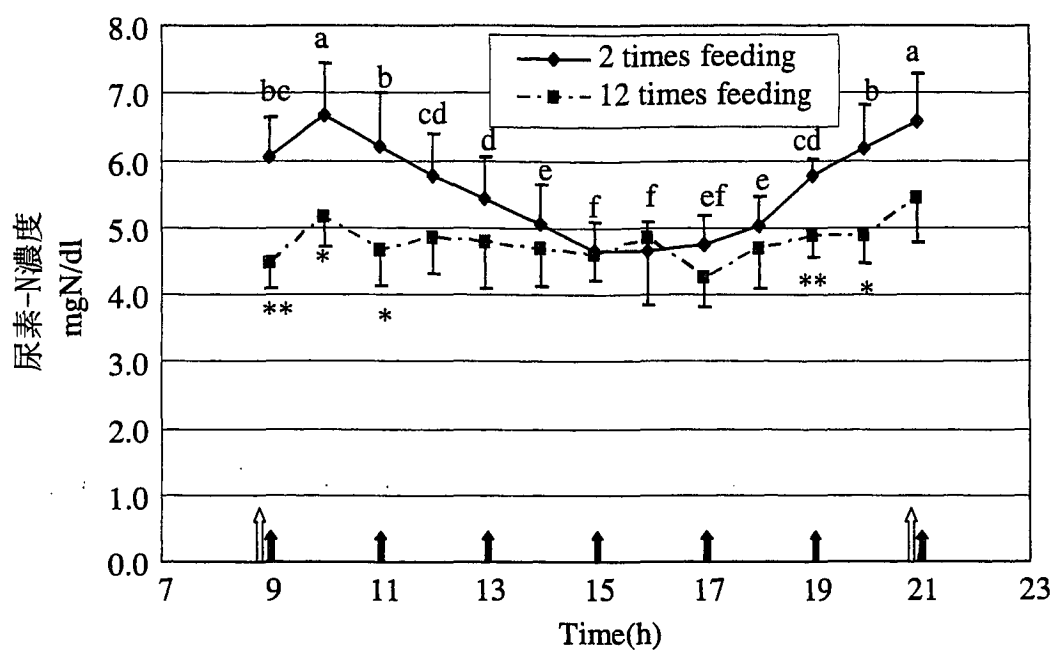


Fig 4. 1日2回および12回給餌における血漿中尿素-N濃度の変化
a,b,c,d,e,f: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$: 処理区間に有意差あり (Student's *t*-test)
矢印は飼料給与を示す

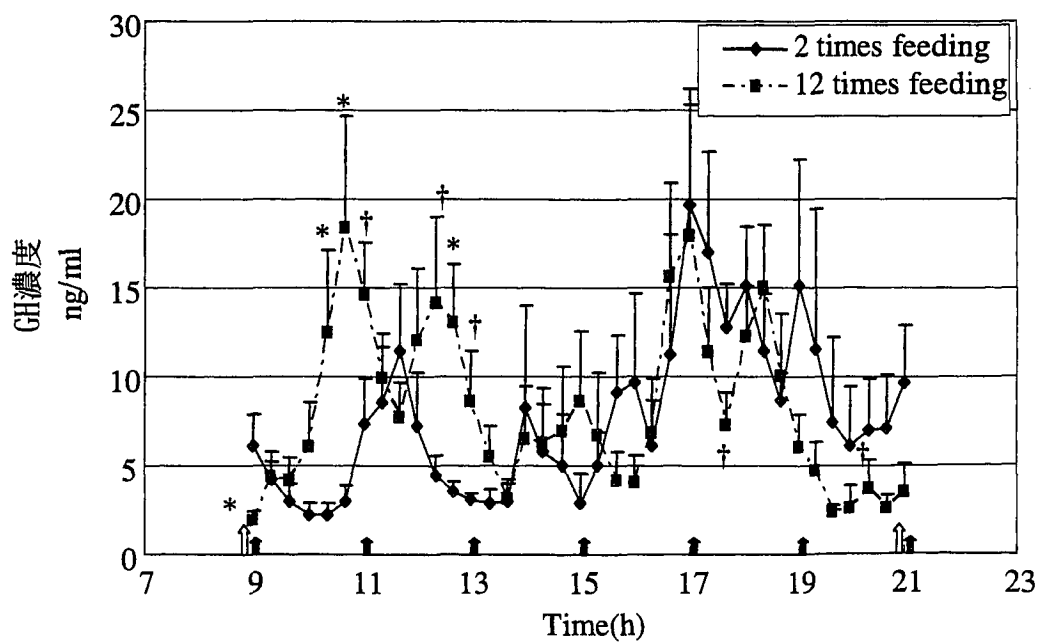


Fig 5. 1日2回および12回給餌における血漿中GH濃度の変化
*: $P < 0.05$; †: $P < 0.1$: 処理区間に有意差あり (Student's *t*-test)
矢印は飼料給与を示す

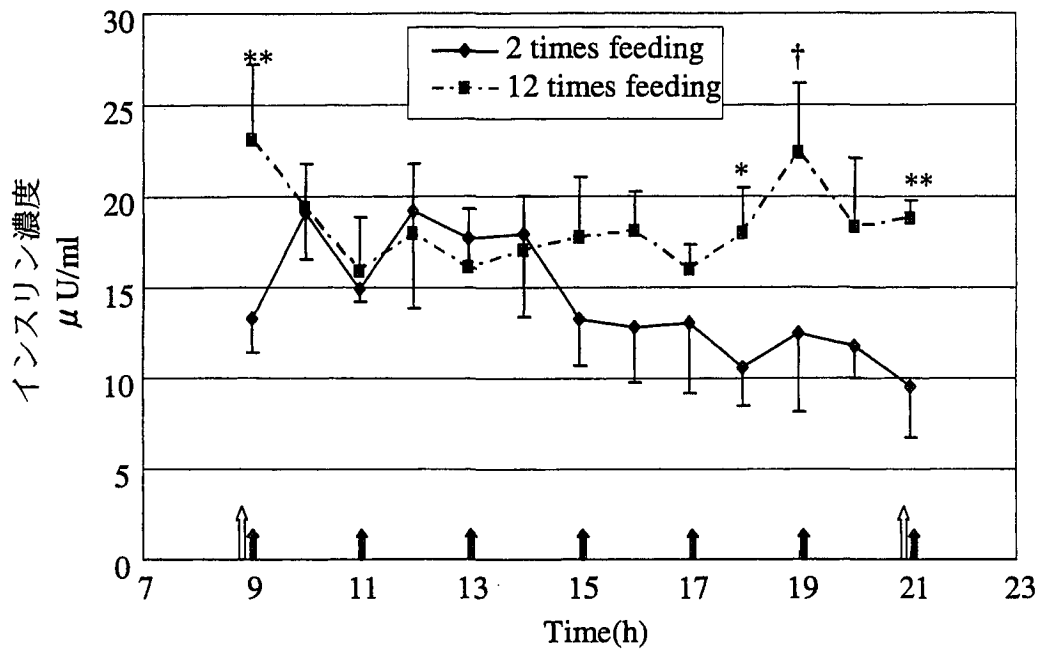


Fig 6. 1日2回および12回給餌における血漿中インスリン濃度の変化
 *:P<0.05; **:P<0.01; †:P<0.1:処理区間に有意差あり
 (Student's t-test)
 矢印は飼料給与を示す

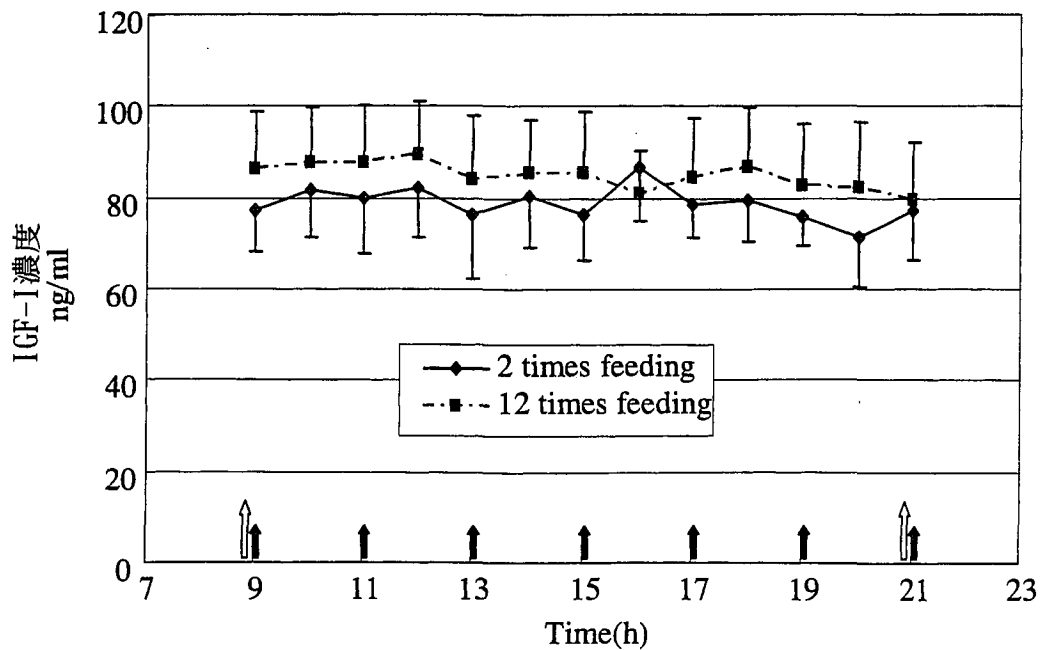


Fig 7. 1日2回および12回給餌における血漿中IGF-I濃度の変化
 矢印は飼料給与を示す

Table 1. ウシの加齢に伴う消化率およびN出納の変動

	4w	13w	24w
BW (kg)	48.1±1.3	105.6±3.1	182.2±7.3
DMI (g/d)	680.4±0.0	2211±1.4	3974±4.9
DM digestibility (%)	96.3±0.6 ^a	74.0±1.4 ^c	77.5±2.0 ^b
N intake (mgN/d·kg BW)	604±17	523±17	560±47
Feces-N output (mgN/d·kg BW)	32±3.2 ^b	163±8.2 ^a	179±20.5 ^a
Urine-N output (mgN/d·kg BW)	94±15.1	115±9.2	134±19.7
Retention-N (mgN/d·kg BW)	478±24.4 ^a	244±8.3 ^b	246±52.9 ^b

mean±S.E.

a,b,c: 異なる文字間に有意差あり (P<0.05; Duncan's test)

Table 2. ウシの加齢に伴う血漿中代謝産物および代謝性ホルモンの変動

	4w	13w	24w
Plasma glucose (mg/dl)	103.1±7.5 ^b	115.4±3.9 ^a	91.6±2.2 ^c
Plasma NEFA (mEq/L)	0.013±0.001 ^c	0.040±0.005 ^b	0.067±0.007 ^a
Plasma α -amino-N (mgN/dl)	1.99±0.09 ^b	3.60±0.13 ^a	3.89±0.21 ^a
Plasma Urea-N (mgN/dl)	3.86±0.45 ^c	4.77±0.28 ^b	7.79±0.29 ^a
Plasma GH (ng/ml)	9.06±1.53 ^a	8.08±0.85 ^a	5.25±0.68 ^b
Plasma Insulin (μ U/ml)	1.21±0.26 ^b	18.72±1.65 ^b	62.71±14.30 ^a
Plasma IGF-1 (ng/ml)	28.77±6.72 ^c	84.70±10.88 ^b	106.32±11.48 ^a

mean±S.E.

a,b,c: 異なる文字間に有意差あり (P<0.05; Duncan's test)

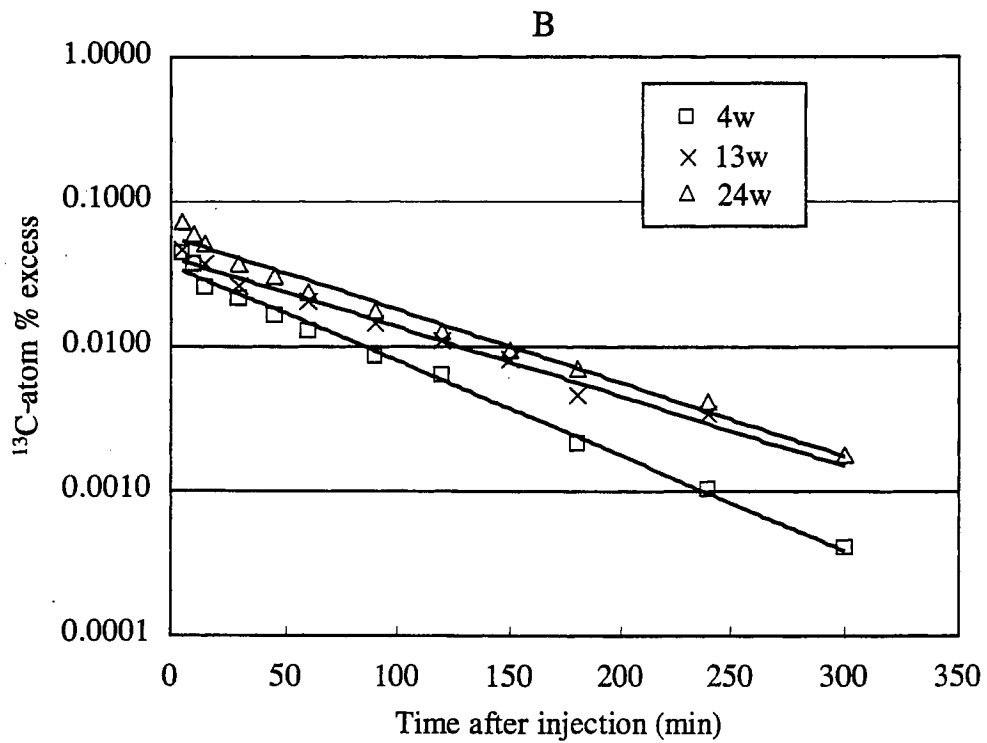
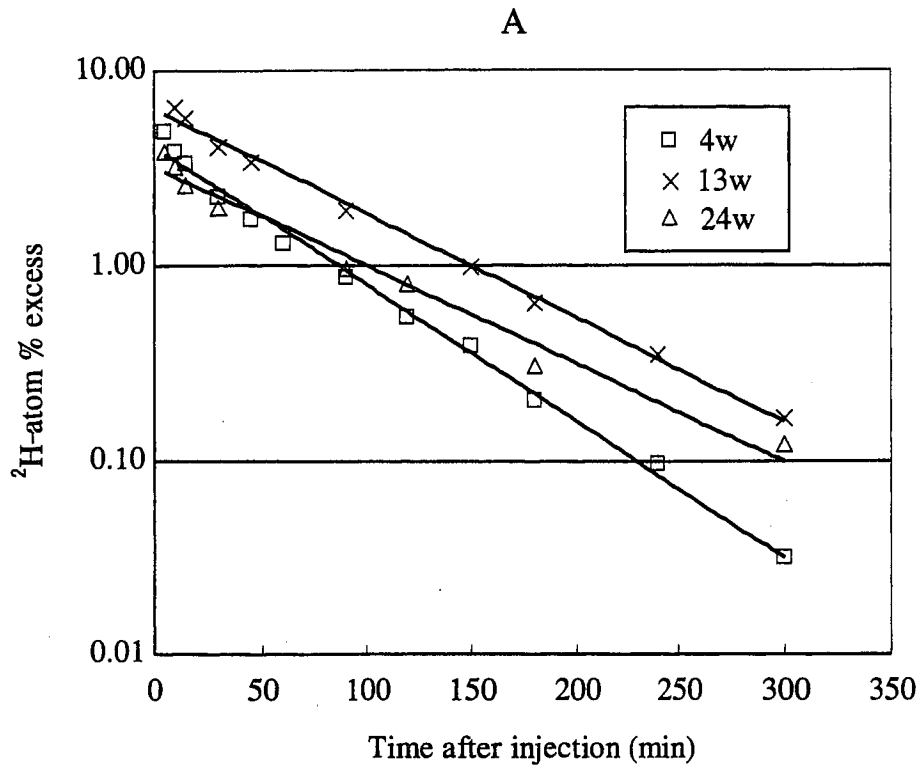


Fig8. ^2H , ^{13}C グルコースのatom% excessの推移
 Aは ^2H グルコース、Bは ^{13}C グルコースの週齢ごとの推移を示す

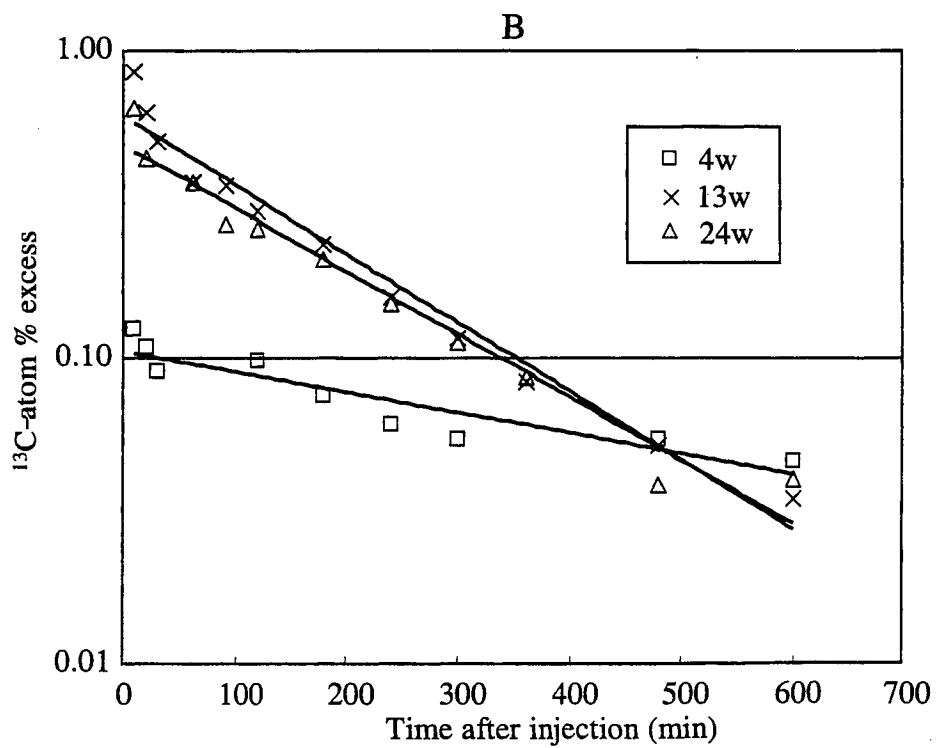
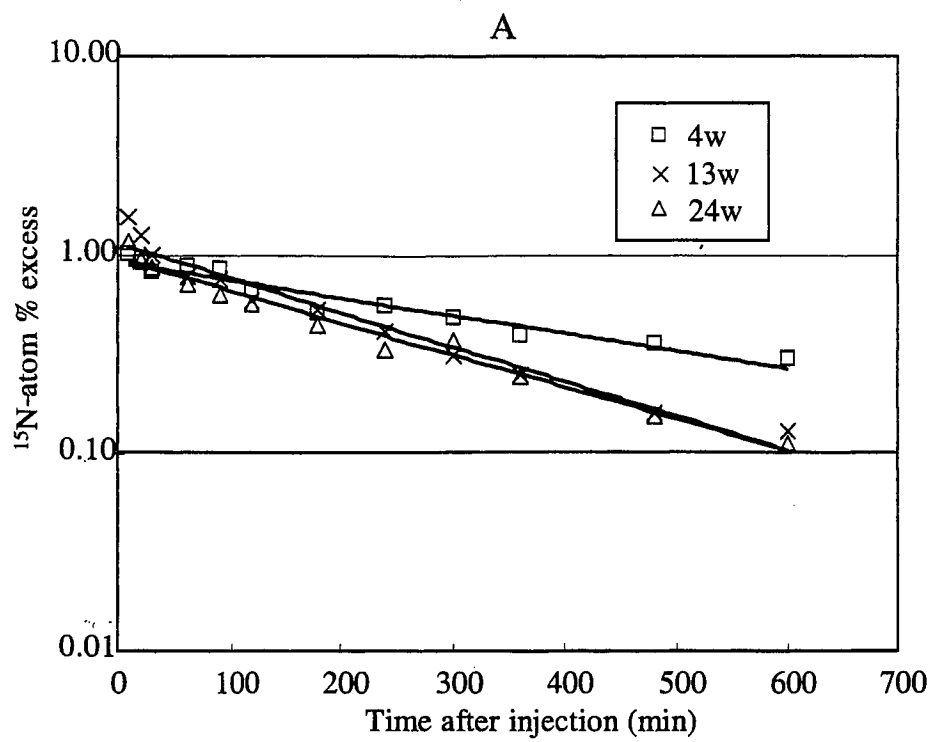


Fig9. ^{15}N , ^{13}C 尿素的atom% excessの推移

Aは ^{15}N 尿素、Bは ^{13}C 尿素的週齢ごとの推移を示す

Table 3. ウシの加齢に伴うグルコースカイネティクスの変化

	4w	13w	24w
Body weight (kg)	48.1±1.3 ^c	105.6±3.1 ^b	190.0±4.6 ^a
Plasma glucose (mg/dl)	103.1±7.5 ^b	115.4±3.9 ^a	91.6±2.2 ^c
Glucose pool size (g)	22.78±1.08 ^c	37.15±3.11 ^b	59.93±3.48 ^a
Glucose irreversible loss (mg/min·kg BW)			
U- ¹³ C-glucose	14.18±2.40 ^a	8.94±0.81 ^b	8.73±0.48 ^b
6,6- ² H ₂ -glucose	16.64±3.14 ^a	9.01±0.99 ^b	8.93±0.47 ^b
Glucose recycle rate (mg/min·kg BW)	2.46±1.741 ^a	0.07±0.39 ^b	0.21±0.24 ^b

mean±S.E.

a,b,c: 異なる文字間に有意差あり (P<0.05; Duncan's test)

Table 4. ウシの加齢に伴う尿素カイネティクスの変化

	4w	13w	24w
Plasma Urea-N level (mgN/dl)	3.86±0.45 ^c	4.77±0.28 ^b	7.79±0.29 ^a
Urea pool size (gN)	1.49±0.32 ^b	1.32±0.30 ^b	3.89±0.15 ^a
Urea irreversible loss (mgN/min·kg BW)			
¹⁵ N-Urea	0.199±0.033	0.178±0.039	0.236±0.015
¹³ C-Urea	0.213±0.066 ^b	0.199±0.054 ^b	0.472±0.065 ^a
Urea recycle rate (mgN/min·kg BW)	0.014±0.043 ^b	0.021±0.018 ^b	0.236±0.069 ^a

mean±S.E.

a,b,c: 異なる文字間に有意差あり (P<0.05; Duncan's test)

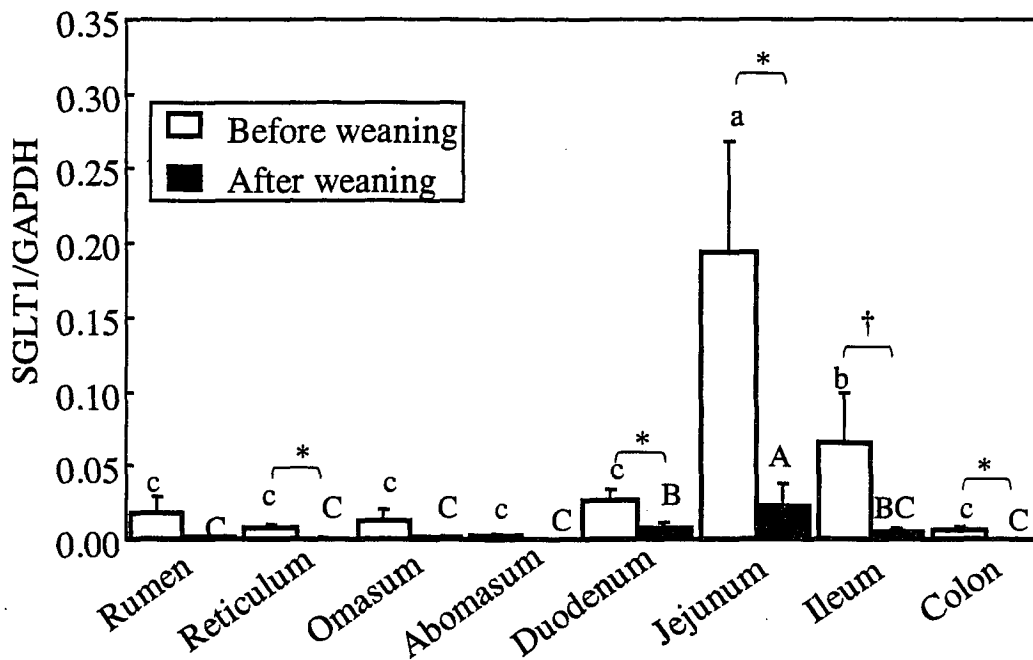


Fig 10. ウシ胃腸管各部位におけるSGLT1発現
 a,b,c; A,B,C: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 *: $P < 0.05$; †: $P < 0.1$: 離乳前後に有意差あり (Student's *t*-test)

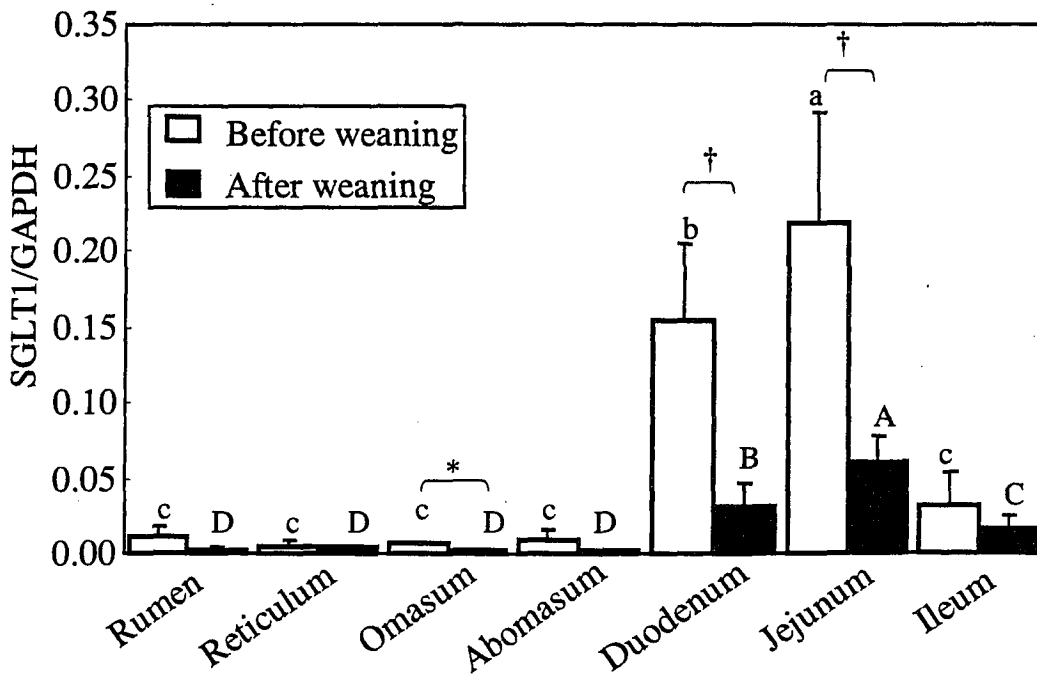


Fig 11. ヤギ胃腸管各部位におけるSGLT1発現
 a,b,c; A,B,C,D: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 *: $P < 0.05$; †: $P < 0.1$: 離乳前後に有意差あり (Student's *t*-test)

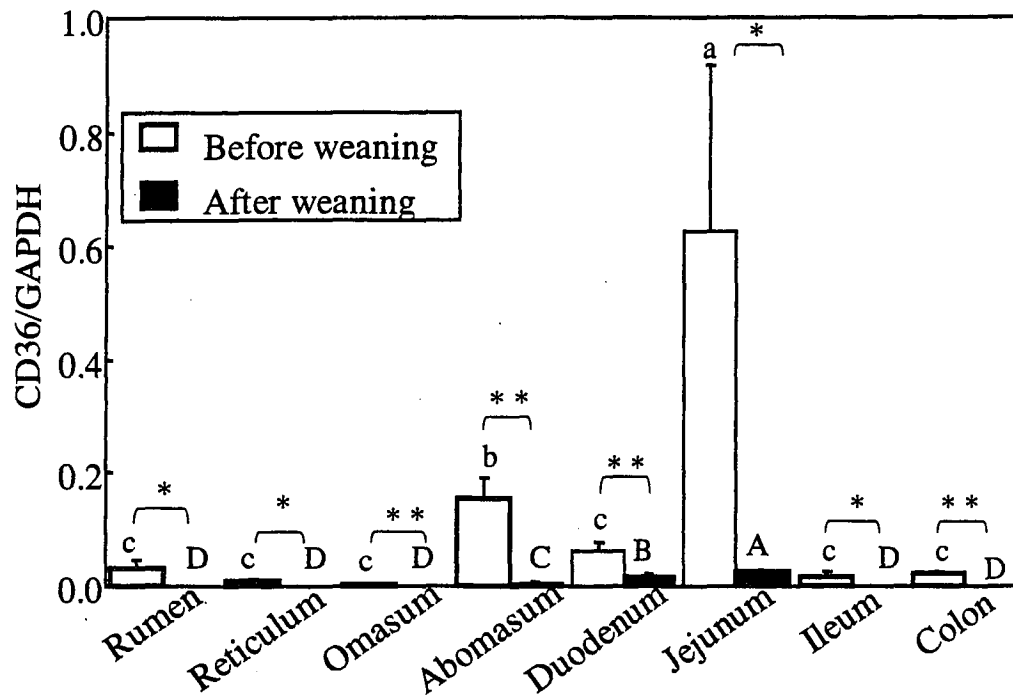


Fig 12. ウシ胃腸管各部位におけるCD36発現
 a,b,c; A,B,C,D: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$: 離乳前後に有意差あり (Student's *t*-test)

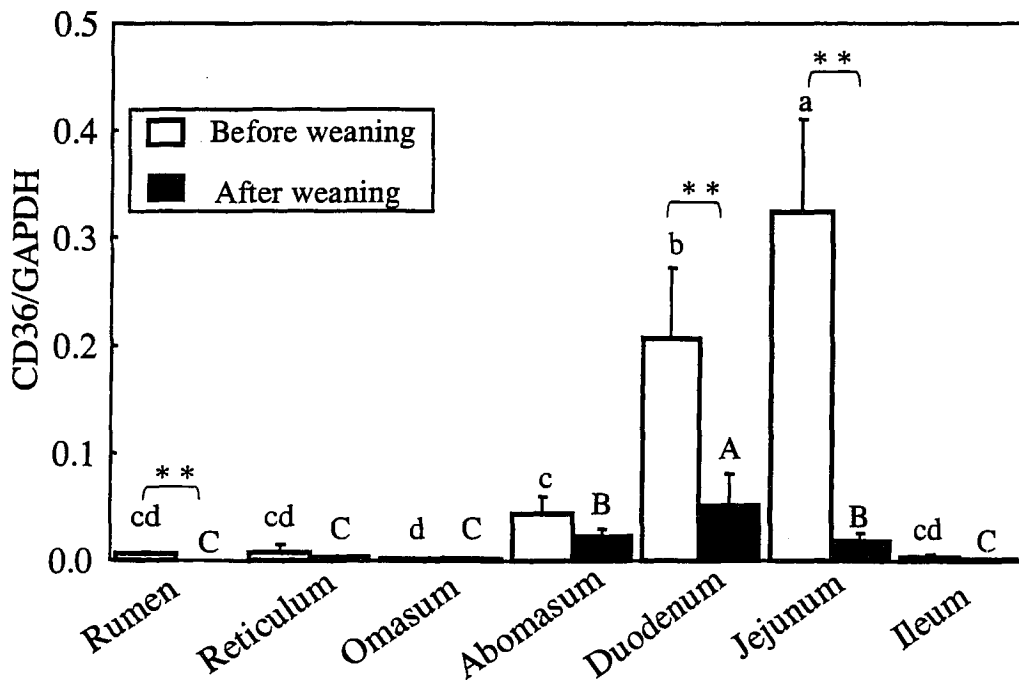


Fig 13. ヤギ胃腸管各部位におけるCD36発現
 a,b,c,d; A,B,C: 異なる文字間に有意差あり ($P < 0.05$; Duncan's test)
 **: $P < 0.01$: 離乳前後に有意差あり (Student's *t*-test)

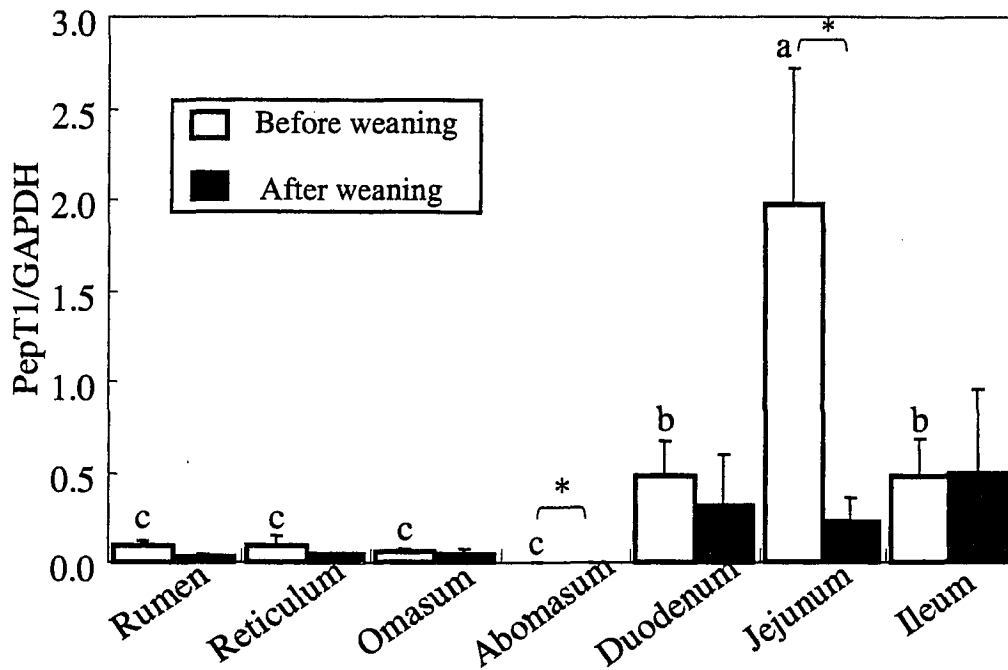


Fig 14. ヤギ胃腸管各部位におけるPepT1 発現
 a,b,c: 異なる文字間に有意差あり (P<0.05; Duncan's test)
 *P<0.05: 離乳前後に有意差あり (Student's t-test)

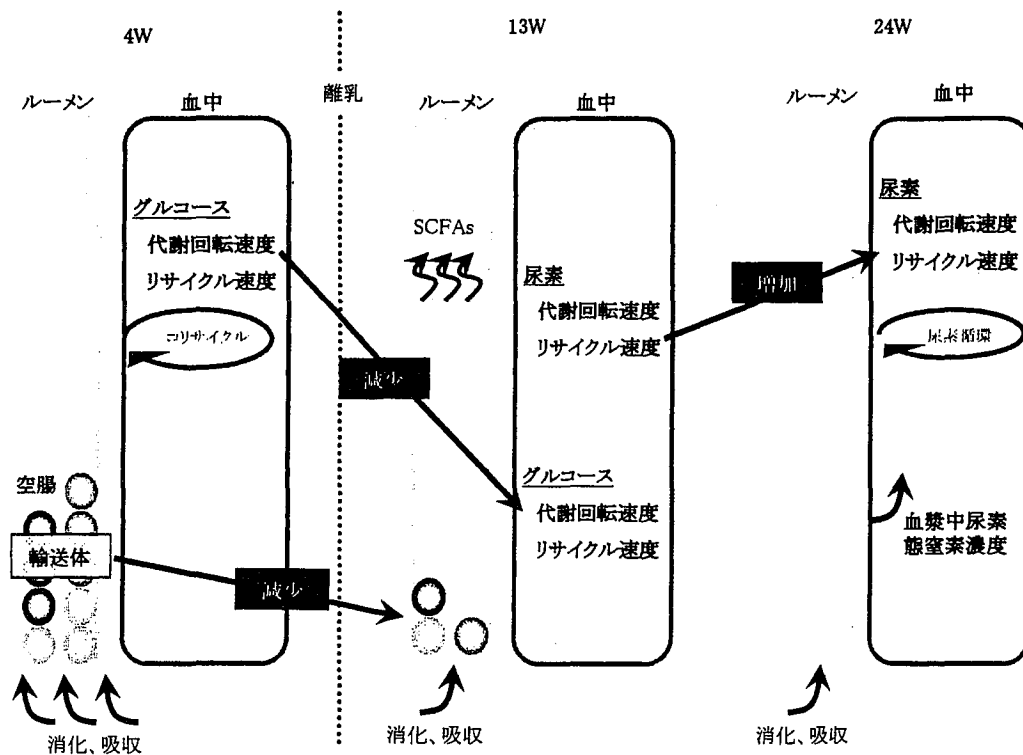


Fig 15. 加齢に伴う代謝および輸送体の変動

論文審査結果要旨

反芻動物においては、離乳によって体内における代謝が変化するだけでなく、腸管における栄養素の取り込みにも大きな変化が現れると予想される。本研究では、1) 反芻動物のグルコースおよび尿素代謝動態の成長に伴う変化を明らかにするために、安定同位体を用いた同位元素希釈法により、離乳に伴うグルコース及び尿素のカイネティクスの変化を観察した。さらに、2) 胃腸管各部位における栄養素輸送体発現の離乳に伴う変化を明らかにするために、離乳前後におけるウシ SGLT1, CD36 および PepT1 の mRNA 発現の離乳に伴う変化を Real time PCR を用いて観察した。

1) ウシの成長に伴う代謝動態を観察するために4週齢、13週齢、24週齢のホルスタイン種雄子ウシを用いて実験を行い、血漿代謝産物、代謝ホルモン濃度を測定し、 $^{13}\text{C}\cdot^2\text{H}$ グルコースと $^{13}\text{C}\cdot^{15}\text{N}$ 尿素による同位元素希釈法によりグルコースと尿素代謝のカイネティクスを推定した。血漿中グルコースやアミノ酸濃度は離乳によって変化した。一方、血漿中 NEFA、尿素態窒素および IGF-1 濃度は離乳時だけでなく、離乳後加齢に伴って変化するが、GH およびインスリンは離乳によって変化しないが離乳後加齢に伴い変化することが示された。グルコースの代謝回転速度およびリサイクル速度は離乳後に激減するが、尿素代謝回転速度やリサイクル速度は離乳によって変化せず、離乳後加齢に伴って有意に増加することが明らかになった。これらの結果から、離乳とその後のルーメンの発達にグルコース代謝や窒素代謝に影響を与えており、内分泌機能もそれに伴って変化していることが示唆された。

2) 2週齢および13週齢のザーネン種ヤギと4週齢および13週齢のホルスタイン種雄子ウシを用いて消化管上皮各部位の SGLT1, CD36 および PepT1 の mRNA 発現を Real time PCR を用いて調べた。胃腸管の各部位で SGLT1, CD36 および PepT1 が発現していることが明らかになった。栄養素輸送体の発現は哺乳期の空腸において非常に高く、離乳によってその発現が減少するが、離乳後においても空腸において発現することが明らかになった。これらのことから、空腸部位がグルコース、長鎖脂肪酸およびペプチドの主要な吸収部位であることが示唆された。さらに、離乳後に認められた栄養素輸送体の発現の減少は、これら栄養素輸送体の発現が小腸へ流入する栄養素の量や質に依存している可能性を示唆している。

以上の結果から、ウシの哺乳期における栄養素の消化・吸収能は非常に高く、空腸部位において多くの栄養素が吸収されていると示唆される。また、離乳によるグルコースの再利用の減少は、短鎖脂肪酸からのグルコース産生が増加することによって起こると考えられる。ウシのルーメンは発達が遅く13週齢でもその発達が十分でなく、尿素再循環機構が十分に働いていないために尿素代謝回転速度やリサイクル速度が変化せず、その後ルーメンの発達に伴って尿素再循環が活発になると思われる。

反芻動物において、離乳による摂取飼料の変化と、それに伴うルーメン発酵の開始およびその後の発達は、体内におけるグルコースおよび窒素代謝のみならず、栄養素の消化や吸収に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は、反芻動物の栄養生理学の発展に多大の貢献が出来るばかりでなく、子ウシの飼養管理技術の改善に貢献できる画期的な研究と言える。審査員一同は、博士（農学）の学位を授与するに値するものと認定した。