反芻動物における揮発性脂肪酸によるインスリン分泌 および作用の調節

佐 野 宏 明

岩手大学農学部, 盛岡市 020

Control of Secretion and Action of Insulin by Volatile Fatty Acids in Ruminants

Hiroaki SANO

Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka-shi 020

Key words : Insulin secretion, Glucagon secretion, Insulin action, Volatile fatty acids, Ruminants

は じ め に

反芻動物は、第一胃という特異な消化器官を有するために、極めて特徴的な栄養生理のしくみを持っている。すなわち、第一胃内微生物（バクテリア、プロトゾア）が本来哺乳動物の利用できないセルロース、ヘミセルロースなどの繊維性物質を分解し、揮発性脂肪酸（volatile fatty acids, 以下 VFA）を産生している。産生された VFA は主に第一胃上皮を通じて体内に吸収され、反芻動物の主要なエネルギー源となっている³⁾。反芻動物における VFA の第一胃内発酵、代謝およびその内分泌調節に関して、これまですぐれた総説が報告されている^{3,11,12,16,18,20,32)}。本総説では、主にヒツジにおける VFA によるインスリン分泌および作用の調節に焦点をあてて論述する。

1. 第一胃内 VFA 産生

第一胃内における VFA 産生量および産生比率は飼料の組成、給与量、給与方法などに影響される^{6,9,21,24,46,51)}。1960 年代、Bergman を中心とした Cornell 大学の研究者たちは、反芻動物の生体全体における「VFA の流れ」を総合的に解明するために、ヒツジに同位元素希釈法と

動静脈差 x 血流量法を実施し、VFA の第一胃内産生量、体内への吸収量（肝門脈血中への出現量）、各臓器でのとりこみ量、生体全体の代謝回転速度を測定した⁶⁻¹¹⁾。その結果、第一胃内における酢酸、プロピオン酸、酪酸の産生量は 3.3, 0.9, 0.6 mol/d、吸収量はそれぞれ 2.3, 0.44, 0.05 mol/d であり、第一胃内で産生された酢酸、プロピオン酸、酪酸がそのままの形で血中に出現する割合は約 70, 50, 10% にすぎないことを明らかにした。このことは第一胃で産生された VFA は第一胃内あるいは吸収される過程で広範な代謝を受け、さらに第三胃以降へ流出する可能性を示唆している。したがって、反芻動物の生体内における VFA 利用およびその生理的役割を解明するためには、第一胃内での VFA 産生量や産生比率のみならず、個々の VFA の吸収量、第一胃上皮での代謝を明らかにする必要がある。

2. VFA の代謝

酢 酸

第一胃で産生された酢酸の 65~80% は体内に吸収され、体内で利用される酢酸の大部分を賄っている。残りは、主に脂肪分解の結果生じた酢酸である⁹⁾。維持量の飼料を給与したヒツジにおいて外因性および内因性酢酸

の割合はそれぞれ約 80, 20% である⁷¹⁾。絶食動物では内因性酢酸産生量は給餌動物とほぼ同等であるが、消化管からの吸収量が低下するので、生体全体の代謝回転速度に占める内因性酢酸の割合が増加する¹⁰⁾。反芻動物にとって、第一胃内産生割合の高い酢酸は主要なエネルギー源であり、大部分は CO₂ にまで酸化され、他は脂肪合成などに用いられる⁹⁾。維持量給与のヒツジでは代謝される酢酸のうち約 50% が CO₂ にまで酸化され、生体全体の熱生産量の約 25% を賄っている⁷⁰⁾。泌乳ヒツジにおいて、生体全体で利用される酢酸の 10~20% が乳腺で利用される⁵⁵⁾。乳腺でとりこまれた酢酸は乳脂肪合成などの乳汁合成に用いられる。寒冷暴露時には酢酸の酸化率は増加するが、熱生産量も増加するため、酢酸の酸化寄与率はむしろ低下する^{70, 76)}。

プロピオン酸

第一胃内で産生されるプロピオン酸は量的に酢酸に次いで重要な VFA である。ウシにおいて第一胃内で産生されるプロピオン酸の 40~75% が第一胃から吸収され、残りは十二指腸に達する前に消失する^{53, 54, 67)}。Leng ら⁴³⁾ は血漿グルコースおよび乳酸の約 50% は第一胃内プロピオン酸由来であることを示した。一方、プロピオン酸由来の乳酸は約 15% にすぎないという報告もある⁸⁰⁾。体内に吸収されたプロピオン酸の最も重要な役割は糖新生の基質としてであろう。ウシおよびヒツジにおいて、吸収されたプロピオン酸の 90% 以上は肝臓でとりこまれる^{2, 9)}。吸収されたプロピオン酸の約 50~80% は肝臓内でグルコースに変換され、これは糖新生全体量の約 20~35% に相当する^{7, 9, 19, 39, 64, 77, 78)}。絶食ヒツジにおいて消化管からの吸収量に匹敵する量のプロピオン酸を肝門脈に注入する場合、プロピオン酸のほとんどすべてがグルコースへ変換される¹⁹⁾。残りのプロピオン酸は CO₂ にまで酸化されてエネルギーを産生するほか、乳酸およびアラニンなどにも変換される。

酪酸

酪酸は第一胃内で産生される VFA の約 10~20% を占め、量的には 3 番目に重要な VFA であるが、体内に吸収される酪酸は第一胃内産生量に比べてかなり少ない⁴¹⁾。第一胃で産生された酪酸の約 20% は第一胃内で酢酸に変換される¹²⁾。また、大部分の酪酸は吸収される過程で第一胃上皮においてアセト酢酸や β -ヒドロキシ酪酸などのケトン体に変換される²⁵⁾。維持飼料を給与したヒツジにおける第一胃内酪酸産生量は 20~40 mmol/h であり、そのうち約 2 mmol/h がそのままの形で体内に吸収される。吸収された酪酸の約 80% は肝臓でとりこまれ、ケトン体に変換される⁹⁾。一方、内臓血管系におけ

るケトン体産生量は 15~20 mmol/h である²⁰⁾。このことはケトン体産生は第一胃で産生された酪酸の重要な代謝経路であることを示している。

3. VFA による膵内分泌調節

インスリンおよびグルカゴンは、反芻動物、非反芻動物いずれにおいても、栄養素代謝を調節し、エネルギー分配を支配する重要なホルモンであるといわれている。しかしながら、反芻動物の膵内分泌調節機構は非反芻動物とは異なっていると考えられている。すなわち、VFA による膵内分泌調節機構の存在が示唆されている。反芻動物では生理的用量を越える VFA はインスリンおよびグルカゴン分泌を刺激する^{4, 23, 33, 44, 45, 66)}。血漿インスリンおよびグルカゴン濃度は給与飼料の濃厚飼料の割合が高くなるほど増加し、採食時にも増加する^{5, 26, 66, 72, 75)}。給与飼料を粗飼料から濃厚飼料に変えると、第一胃内の VFA 産生量および比率が変化し³⁴⁾、VFA の吸収量および比率も変化する³⁶⁾。したがって、第一胃内発酵によって飼料性炭水化物から生成される VFA がインスリンおよびグルカゴン分泌調節要因としての生理的意義を持っている可能性が示唆されている^{29-31, 42)}。これに対して、Stern ら⁵⁸⁾ は、ヤギにおいてプロピオン酸および酪酸の第一胃内産生量が通常レベルを越え、血中プロピオン酸および酪酸濃度が 2 倍になるようにプロピオン酸、酪酸を第一胃内にそれぞれ注入しても、血漿インスリン濃度は変化しないことを観察した。このことから、通常飼養条件下の反芻動物においてプロピオン酸および酪酸はおそらくインスリン分泌を調節していないと結論している。以上のように、反芻動物におけるインスリンおよびグルカゴン分泌に対する VFA の生理的意義に関してはこれまで明確な結論が得られていない^{23, 37, 44, 68)}。

酢酸

前述したように、酢酸は、第一胃内発酵産物の中で最も多量に産生されている VFA であり、エネルギー産生および泌乳乳腺における脂肪合成の素材として利用されるなど、反芻動物にとって極めて重要な血液代謝産物である。しかしながら、酢酸のインスリンおよびグルカゴン分泌調節に関して、薬理的用量の酢酸が膵内分泌ホルモンの分泌を刺激するという点について必ずしも意見が一致しているわけではないが、少なくとも生理的意義を持たないという点では一致している^{1, 23, 49)}。

プロピオン酸

プロピオン酸は、インスリンおよびグルカゴン分泌に生理的意義を持つ可能性のある VFA の一つとして考えられている。第一胃からの VFA 吸収に関して、動静脈

差 x 血流量法を用いて数多くのデータが報告されている^{34-36, 41, 82)}。Huntington³⁴⁾はウシにおいて給与飼料をトウモロコシサイレージから濃厚飼料 92% の飼料に変えると、第一胃からのプロピオン酸吸収量は 135 mmol/h から 339 mmol/h に増加することを報告している。Reynolds ら⁵⁶⁾は粗飼料と濃厚飼料の比率が 3:2 の飼料を自由摂取した泌乳牛において、正味のプロピオン酸吸収量は 20.4 μ mol/kg BW/min であることを報告している。また、Gross ら^{30, 31)}は維持要求量のアルファルファ乾草を摂取したヒツジにおいて、プロピオン酸の正味の吸収量は 4.5~18 μ mol/kg BW/min の範囲であることを示している。これらのことから、反芻動物における通常のプロピオン酸の吸収量は 8~12 μ mol/kg BW/min 程度であると考えられる^{28, 36)}。

Bassett⁴⁾はヒツジに 2.5 mmol/kg BW のプロピオン酸を静脈および第一胃に注入し、血漿インスリンおよびグルカゴン濃度を測定した。その結果、静脈注入時には血漿インスリンおよびグルカゴン濃度は著しく増加するが、同量のプロピオン酸を第一胃内に注入しても、その増加はわずかであることを報告している。これに対して、生理的レベルのプロピオン酸カルシウムを添加した飼料を給与したヒツジにおいて、採食に伴う血漿インスリン濃度の増加は増大する⁵⁸⁾。これはプロピオン酸として同量のナトリウム塩あるいはカリウム塩を添加した飼料の場合でも、カルシウム塩と同様な結果である⁵⁹⁾。Bines と Hart¹⁴⁾は酢酸 650 g、プロピオン酸 288 g、酪酸 190 g、イソ吉草酸 52 g から成る VFA 混合液を非泌乳牛の第一胃に 210 分間で注入し、各々の VFA を混合液から除去した時の血中ホルモンおよび血液代謝産物の反応を測定した。その結果、VFA 混合液からプロピオン酸を除去した時のみに血漿インスリン濃度が低下することを観察し、プロピオン酸がインスリン分泌の最も強い刺激物質であると結論している。また、血漿グルカゴン濃度もプロピオン酸の除去によって 226 pg/ml から 168 pg/ml になることを示している。さらに、非泌乳牛の第一胃にプロピオン酸を約 70 μ mol/kg BW/min で注入すると、血漿グルコース濃度が増加しなくとも血漿インスリン濃度は増加する³⁷⁾。

Sano ら⁶¹⁾はヒツジの後大静脈にプロピオン酸を段階的に 0~64 μ mol/kg BW/min の注入速度で 30 分間にわたって注入し、血漿インスリンおよびグルカゴン濃度はそれぞれ 4, 8 μ mol/kg BW/min の注入速度で増加することを報告した。反芻動物では、体内に吸収されたプロピオン酸の大部分は肝臓で除去されてしまうために、末梢血に現われるプロピオン酸は非常に少ない^{2, 9, 41)}し

たがって、後大静脈への注入では注入されたプロピオン酸は肝臓の前に脾臓に到達するため、インスリンおよびグルカゴン分泌に対するプロピオン酸の生理的意義を正しく評価することができない可能性が考えられる。このことは肝臓を通過する前の部位（腸間膜静脈、肝門脈）にプロピオン酸を注入することによって解決できる⁵²⁾。ヤギにおいて酢酸、プロピオン酸および酪酸の混合液（それぞれ 30.1, 7.4, 3.0 μ mol/kg BW/min の注入速度）を肝門脈に注入すると、血液プロピオン酸および酪酸濃度が生理的範囲内にあるにもかかわらず、血漿インスリン濃度が一時的に増加する²³⁾。ヒツジにおいて第一胃からの吸収量の 50, 100, 200% に相当するプロピオン酸を腸間膜静脈に段階的に注入すると、50% 以上の注入速度（5.7 μ mol/kg BW/min）で血漿インスリン濃度が増加し、血漿グルカゴン濃度は変化しない¹⁷⁾。Sano ら⁶²⁾は後大静脈あるいは腸間膜静脈にプロピオン酸を 1~64 μ mol/kg BW/min の注入速度で段階的にそれぞれ 30 分間注入し、血漿インスリンおよびグルカゴン濃度を測定した。その結果、腸間膜静脈注入時のインスリン分泌反応は後大静脈注入時よりも小さいものの、インスリン分泌を引き起こす最低のプロピオン酸注入速度は後大静脈注入時と差がなかった（図 1）。したがって、第一胃から吸収されたプロピオン酸がインスリン分泌に関与していると結論している。一方、腸間膜静脈注入におけるグルカゴン分泌を引き起こす最低のプロピオン酸注入速度は通常吸収速度よりもかなり高く、反応の大きさも後大静脈注入時よりも明らかに小さい（図 2）。ヒツジにおいて第一胃からの吸収速度の 200% に相当するプロピオン酸を腸間膜静脈に注入しても血漿グルカゴン濃度はほとんど変化しない¹⁷⁾。これらのことから、プロピオン酸に対するグルカゴンの反応はインスリンほど明瞭ではなく、通常のプロピオン酸吸収速度でグルカゴン分泌を刺激する可能性は小さいと考えられる^{17, 23, 48)}。

酪酸

薬理的用量の酪酸の静脈注入は血漿インスリンおよびグルカゴン濃度を著しく増加させる^{1, 23, 44, 45)}。したがって、酪酸はインスリンおよびグルカゴン分泌を刺激する要因の一つとして考えられている。Krehbiel ら⁴¹⁾は、ウシにおいて生理的用量の酪酸を第一胃内に注入しても血漿インスリン濃度およびインスリン放出は影響されないことを報告している。これに対して、Brockman¹⁷⁾はヒツジにおいて第一胃からの吸収量の 50%（0.9 μ mol/kg BW/min）で酪酸を腸間膜静脈に注入すると血漿インスリンおよびグルカゴン濃度がともに増加し、100% になるとさらに増加することを報告している。Bloom と

Edwards¹⁵⁾ はヒツジにおいて酪酸を 0.02 mmol/kg BW/min の注入速度で頸静脈に注入し、血漿インスリンおよびグルカゴン濃度を測定した。彼らは、0.02

mmol/kg BW/min という頸静脈への酪酸の注入速度が生理的条件に入るか否かについては疑問を持っているが、酪酸の静脈注入によってインスリン分泌は増加し、

Fig. 1. Effect of propionate infusion (1, 2, 4, 8, 16, 32, and 64 μ mol/kg BW/min for 30 min) into the femoral vein (square) and the mesenteric vein (circle) on arterial plasma insulin concentrations in sheep (n=4). Vertical bars indicate standard errors. The solid horizontal bars represent the period of infusion. Open symbols indicate differences ($P < .10$) from the preinfusion values. The dose of propionate is shown above the response curve. Based on data of Sano *et al.*⁶²⁾.

Fig. 2. Effect of propionate infusion (1, 2, 4, 8, 16, 32, and 64 μ mol/kg BW/min for 30 min) into the femoral vein (square) and the mesenteric vein (circle) on arterial plasma glucagon concentrations in sheep (n=4). Vertical bars indicate standard errors. The solid horizontal bars represent the period of infusion. Open symbols indicate differences ($P < .10$) from the preinfusion values. The dose of propionate is shown above the response curve. Based on data of Sano *et al.*⁶²⁾.

反芻動物のインスリン調節

グルカゴン分泌は増加しないことを報告している。Sano *et al.*⁶³⁾ は、酪酸をヒツジの後大静脈に 0~64 μ mol/kg BW/min の注入速度で注入した。その結果、血漿インスリンおよびグルカゴン濃度はそれぞれ 2, 32 μ mol/kg BW/min

Fig. 3. Effect of n-butyrate infusion (0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, and 64 μ mol/kg BW/min for 30 min) on plasma insulin concentrations in sheep (n=4). Vertical bars indicate standard errors. The solid horizontal bars represent the period of infusion. Open circles indicate differences (P<.10) from the preinfusion values. The n-butyrate infusion dose is shown above the response curve. Based on data of Sano *et al.*⁶³⁾.

Fig. 4. Effect of n-butyrate infusion (0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, and 64 μ mol/kg BW/min for 30 min) on plasma glucagon concentrations in sheep (n=4). Vertical bars indicate standard errors. The solid horizontal bars represent the period of infusion. Open circles indicate differences (P<.10) from the preinfusion values. The n-butyrate infusion dose is shown above the response curve. Based on data of Sano *et al.*⁶³⁾.

以上の注入速度で増加した(図3, 4)。インスリン分泌を増加させる最低の酪酸注入速度はBloomとEdwards¹⁵⁾の値よりもかなり低く、ウシおよびヒツジにおける酪酸の吸収量に匹敵している^{9,29,35,57)}。酪酸の大部分は第一胃上皮および肝臓でケトン体に代謝されてしまうが、ケトン体はインスリンおよびグルカゴン分泌を刺激しない²³⁾。したがって、酪酸の $2\mu\text{mol/kg BW/min}$ という頸静脈への注入速度が生理的用量か否かという点について検討する必要があるが、インスリン分泌増加を誘起するプロピオン酸の注入速度($4\mu\text{mol/kg BW/min}$)⁶¹⁾よりも低い値である。このことは、少なくとも膵臓 β 細胞はプロピオン酸よりも酪酸に反応しやすいことを示している。また、グルカゴン分泌に対する酪酸の役割はこれまで得られている結果は必ずしも一致していない^{15,17,63)}。

4. VFAによるインスリン作用調節

インスリンは血糖降下作用を有するので、インスリン注入に伴う低血糖の2次的な要因のために、インスリン注入のみで生体全体におけるインスリンの作用を正しく評価することは困難である。グルコースクランプ法(Glucose Clamp Technique)は、この点を改善した実験方法であり、ヒトの臨床試験に広く用いられ^{13,22,40)}、反芻動物の研究にも利用されるようになってきた^{38,60,81)}。グルコースクランプ法のEuglycemic Clamp Technique (EGC法)は、血中にインスリンを注入して血中のインスリン濃度を高め、同時に血中にグルコースを注入し、血糖値が正常に維持されている状態でインスリン作用を評価する方法である。

反芻動物においてVFAによるインスリン作用の調節をグルコースクランプ法を用いて評価した研究はこれまでほとんど報告されていない。佐野と寺島(未発表)はヒツジにおけるインスリン作用に及ぼすプロピオン酸塩添加の影響をEGC法を適用して検討した。その結果、グルコース注入速度はプロピオン酸添加区が無添加区よりも低かった。このことはインスリン作用はプロピオン酸添加によって低下することを示している。EGC法におけるグルコース注入速度はインスリンによるグルコース利用速度の増加とグルコース産生速度の低下の2つの要因から成っている。したがって、プロピオン酸添加時のインスリン作用の低下にはこれらの要因が関与しているが、その原因の解明は今後の検討課題である。

インスリンはタンパク質代謝に対する効果が明確でない^{27,68,73)}、この点に関する研究報告は限られている。McGuireら⁴⁷⁾は乳牛に4日間のEGC法を実施し、インスリンは泌乳量および乳脂率に影響を与えず、乳タンパ

ク質合成量および乳タンパク質率を増加させることを報告している。インスリンはタンパク質合成促進というよりむしろタンパク質分解抑制に作用しており、その効果は絶食状態で顕著であることが明らかにされている^{51,74)}。前述したようにEGC法ではインスリンを注入すると同時にグルコースも注入するが、グルコースはそれ自体タンパク質節約効果があると考えられる⁴⁸⁾。したがって、グルコースクランプ法のみによってインスリンの糖・タンパク質代謝調節を評価することには限界があるものとする。反芻動物におけるインスリン作用を確実に評価できるより優れた実験方法の確立、導入が期待される。

おわりに

これまで、主に反芻動物におけるVFAによるインスリン分泌および作用の調節を中心に述べてきた。膵内分泌ホルモンの分泌調節に関する研究では、ほとんどの場合、血漿の濃度変化から実験結果が評価されている^{5,61,69,75)}。しかしながら、肝臓における除去率などホルモン自体の代謝も血漿濃度に影響を与えるため、血漿濃度のみで判断することには限界があろう。また、膵内分泌ホルモンは多岐にわたる調節因子によって統合され、複雑なメカニズムによって調節されている。したがって、VFAの生理的意義について最終的な結論を得る前に、これらの点に留意したより詳細な調査・研究が必要である^{29,52,57)}。

生体全体におけるVFAによるインスリンの分泌および作用を介した栄養素代謝調節に関して、これまでの研究報告は非常に限られているが、VFAによってインスリン作用が修飾される可能性が示唆されている。したがって、飼料の種類、給餌方法あるいは飼料添加物によってインスリン作用を人為的に調節することが可能であると期待される。もっとも、生体内における膵内分泌ホルモン濃度は乾物あるいはタンパク質摂取量と強い正の相関があり⁷⁹⁾、分泌は神経内分泌系によっても調節されている^{15,61)}。したがって、インスリン作用を評価する際、これらの要因についても充分に考慮する必要がある。

謝 辞

本稿をまとめるにあたり、ご校閲を賜りました北里大学獣医学部寺島福秋教授に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Ambo K, Takahashi H, Tsuda T. Effect of feeding and infusion of short-chain fatty acids and glucose on plasma insulin and blood glucose levels in sheep. *Tohoku J. Agr. Res.*, 24 : 52-64. 1973.
- 2) Baird GD, Lomax MA, Symonds HW, Shaw SR. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply. *Biochem. J.*, 186 : 47-57. 1980.
- 3) Ballard FJ, Hanson RW, Kronfeld DS. Gluconeogenesis and lipogenesis in tissue from ruminant and nonruminant animals. *Fed. Proc.*, 28 : 218-231. 1969.
- 4) Bassett JM. Plasma glucagon concentrations in sheep : their regulation and relation to concentrations of insulin and growth hormone. *Aust. J. Biol. Sci.*, 25 : 1277-1287. 1972.
- 5) Bassett JM. Dietary and gastrointestinal control of hormones regulating carbohydrate metabolism in ruminants. In : *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (McDonald IW, Warner ACI eds.) 383-398. The Univ. of New England Pub. Unit. Armidale. 1975.
- 6) Bergman EN, Reid RS, Murray MG, Brockway JM, Whitelaw FG. Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. *Biochem. J.*, 97 : 53-58. 1965.
- 7) Bergman EN, Roe WE, Kon K. Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. *Am. J. Physiol.*, 211 : 793-799. 1966.
- 8) Bergman EN, Katz ML, Kaufman CF. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turnover in sheep. *Am. J. Physiol.*, 219 : 785-793. 1970.
- 9) Bergman EN, Wolff JE. Metabolism of volatile fatty acids by the liver and portal-drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.*, 221 : 586-592. 1971.
- 10) Bergman EN, Brockman RP, Kaufman CF. Glucose metabolism : comparison of whole-body turnover with production by gut, liver and kidneys. *Fed. Proc.*, 33 : 1849-1854. 1974.
- 11) Bergman EN. Production and utilization of metabolites by the alimentary tract as measured in portal and hepatic blood. In : *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. (McDonald IW, Warner ACI eds.) 292-305. The Univ. of New England Pub. Unit. Armidale. 1975.
- 12) Bergman EN. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.*, 70 : 567-590. 1990.
- 13) Bergman RN, Finegood DT, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocr. Rev.*, 6 : 45-86. 1985.
- 14) Bines JA, Hart IC. The response of plasma insulin and other hormones to intraruminal infusion of VFA mixtures in cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 64 (Suppl.) : 304-305. 1984.
- 15) Bloom SR, Edwards AV. Pancreatic neuroendocrine responses to butyrate in conscious sheep. *J. Physiol. (Lond.)*, 364 : 281-288. 1985.
- 16) Britton R, Krehbiel C. Nutrient metabolism by gut tissues. *J. Dairy Sci.*, 76 : 2125-2131. 1993.
- 17) Brockman RP. Insulin and glucagon responses in plasma to intraportal infusions of propionate and butyrate in sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 73 A : 237-238. 1982.
- 18) Brockman RP. Pancreatic and adrenal hormonal regulation of metabolism. In : *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. (Milligan LP, Grovum WL, Dobson A eds.) 405-419. A Reston Book. Englewood Cliffs. 1986.
- 19) Brockman RP. Effect of insulin on the utilization of propionate in gluconeogenesis in sheep. *Br. J. Nutr.*, 64 : 95-101. 1990.
- 20) Brockman RP. Glucose and short-chain fatty acid metabolism. In : *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. (Forbes JM, France J eds.) 249-265. CAB International. Wallingford. 1993.
- 21) Casper DP, Schingoethe DJ, Eisenbeisz WA. Response of early lactation dairy cows fed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein. *J. Dairy Sci.*, 73 : 1039-1050. 1990.
- 22) DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique : a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.*, 237 : E214-E223. 1979.
- 23) DeJong A. Patterns of plasma concentrations of insulin and glucagon after intravenous and intraruminal administration of volatile fatty acids in the goat. *J. Endocrinol.*, 92 : 357-370. 1982.
- 24) DePeters EJ, Taylor SJ. Effects of feeding corn or barley on composition of milk and diet digestibility. *J. Dairy Sci.*, 68 : 2027-2032. 1985.
- 25) Emmanuel B. Oxidation of butyrate to ketone bodies and CO₂ in the rumen epithelium, liver,

- kidney, heart and lung of camel (*Camelus dromedarius*), sheep (*Ovis aries*) and goat (*Capra hircus*). Comp. Biochem. Physiol., 65 B : 699-704. 1980.
- 26) Evans E, Buchanan-Smith JG, Macleod GK. Postprandial patterns of plasma glucose, insulin and volatile fatty acids in ruminants fed low- and high-roughage diets. J. Anim. Sci., 41 : 1474-1479. 1975.
 - 27) Fuller MF, Weekes TEC, Cadenhead A, Bruce JB. The protein-sparing effect of carbohydrate. 2. The role of insulin. Br. J. Nutr., 38 : 489-496. 1977.
 - 28) Goetsch AL, Patil AR, Galloway DL, Kouakou B, Wang ZS, Park KK, Rossi JE. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum. Br. J. Nutr., 77 : 769-781. 1997.
 - 29) Gross KL, Harmon DL, Avery TB. Net portal nutrient flux in steers fed diets containing wheat and sorghum grain alone or in combinations. J. Anim. Sci., 66 : 543-551. 1988.
 - 30) Gross KL, Harmon DL, Avery TB. Portal-drained visceral flux of nutrients in lambs fed alfalfa or maintained by total intragastric infusion. J. Anim. Sci., 68 : 214-221. 1990.
 - 31) Gross KL, Harmon DL, Minton JE, Avery TB. Effects of isoenergetic infusions of propionate and glucose on portal-drained visceral nutrient flux and concentrations of hormones in lambs maintained by total intragastric infusion. J. Anim. Sci., 68 : 2566-2574. 1990.
 - 32) Harmon DL. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants : a review. J. Anim. Sci., 70 : 1290-1301. 1992.
 - 33) Horino M, Machlin LJ, Hertelendy F, Kipnis DM. Effect of short-chain fatty acids on plasma insulin in ruminant and nonruminant species. Endocrinology, 83 : 118-128. 1968.
 - 34) Huntington GB. Net nutrient absorption in beef steers fed silage or high concentrate diets containing four levels of limestone. J. Nutr., 113 : 1157-1164. 1983.
 - 35) Huntington GB, Reynolds PJ. Net absorption of glucose, L-lactate, volatile fatty acids, and nitrogenous compounds by bovine given abomasal infusions of starch or glucose. J. Dairy Sci., 69 : 2428-2436. 1986.
 - 36) Huntington GB, Zetina EJ, Whitt JM, Potts W. Effects of dietary concentrate level on nutrient absorption, liver metabolism, and urea kinetics of beef steers fed isonitrogenous and isoenergetic diets. J. Anim. Sci., 74 : 908-916. 1996.
 - 37) Istasse L, MacLeod NA, Goodall ED, Ørskov ER. Effects on plasma insulin of intermittent infusions of propionic acid, glucose or casein into the alimentary tract of non-lactating cows maintained on a liquid diet. Br. J. Nutr., 58 : 139-148. 1987.
 - 38) Janes AN, Weekes TEC, Armstrong DG. Insulin action and glucose metabolism in sheep fed on dried-grass or ground, maize-based diets. Br. J. Nutr., 54 : 459-471. 1985.
 - 39) Judson JG, Leng RA. Studies on the control of gluconeogenesis in sheep : effect of propionate, casein and butyrate infusions. Br. J. Nutr., 29 : 175-195. 1973.
 - 40) Kahn CR. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness : a necessary distinction. Metabolism, 27 : 1893-1902. 1978.
 - 41) Krehbiel CR, Harmon DL, Schnieder JE. Effect of increasing ruminal butyrate on portal and hepatic nutrient flux in steers. J. Anim. Sci., 70 : 904-914. 1992.
 - 42) Lees JA, Oldham JD, Haresign W, Garnsworthy PC. The effect of patterns of rumen fermentation on response by dairy cows to dietary protein concentration. Br. J. Nutr., 63 : 177-186. 1990.
 - 43) Leng RA, Steel JW, Luick JR. Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. Biochem. J., 103 : 785-90. 1967.
 - 44) Manns JG, Boda JM, Willes RF. Probable role of propionate and butyrate in control of insulin secretion in sheep. Am. J. Physiol., 212 : 747-755. 1967.
 - 45) Manns JG, Boda JM. Insulin release by acetate, propionate, butyrate, and glucose in lambs and adult sheep. Am. J. Physiol., 212 : 756-764. 1967.
 - 46) McCarthy Jr RD, Klusmeyer TH, Vicini JL, Clark JH, Nelson DR. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. J. Dairy Sci., 72 : 2002-2016. 1989.
 - 47) McGuire MA, Griinari JM, Dwyer DA, Bauman DE. Role of insulin in the regulation of mammary synthesis. J. Dairy Sci., 78 : 816-824. 1995.
 - 48) Mineo H, Kanai M, Kato S, Ushijima J. Effects of intravenous injection of butyrate, valerate and their isomers on endocrine pancreatic responses in conscious sheep (*Ovis aries*). Comp. Biochem. Physiol., 95 A : 411-416. 1990.

- 49) Mineo H, Kitade A, Kawakami S, Kato S, Ushijima J. Effects of intravenous injection of acetate on the pancreas of sheep. *Res. Vet. Sci.*, 48 : 310-313. 1990.
- 50) Oddy VH, Lindsay DB, Barker PJ, Northrop AJ. Effect of insulin on hind-limb and whole-body leucine and protein metabolism in fed and fasted lambs. *Br. J. Nutr.*, 58 : 437-452. 1987.
- 51) Overton TR, Cameron MR, Elliott JP, Clark JH, Nelson DR. Ruminal fermentation and passage of nutrients to the duodenum of lactating cows fed mixtures of corn and barley. *J. Dairy Sci.*, 78 : 1981-1988. 1995.
- 52) Peters JP, Bergman EN, Elliot JM. Changes of glucose, insulin and glucagon associated with propionate infusion and vitamin B-12 status in sheep. *J. Nutr.*, 113 : 1229-1240. 1983.
- 53) Peters JP, Shen RYW, Chester ST. Propionic acid disappearance from the foregut and small intestine of the beef steer. *J. Anim. Sci.*, 68 : 3905-3913. 1990.
- 54) Peters JP, Shen RYW, Robinson JA, Chester ST. Disappearance and passage of propionic acid from the rumen of the beef steer. *J. Anim. Sci.*, 68 : 3337-3349. 1990.
- 55) Pethick DW, Lindsay DB. Acetate metabolism in lactating sheep. *Br. J. Nutr.*, 48 : 319-328. 1982.
- 56) Reynolds CK, Huntington GB, Tyrrell HF, Reynolds PJ. Net metabolism of volatile fatty acids, D- β -hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gases by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 71 : 2395-2405. 1988.
- 57) Reynolds CK, Huntington GB, Elsasser TH, Tyrrell HF, Reynolds PJ. Net metabolism of hormones by portal-drained viscera and liver of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 71 : 1459-1468. 1989.
- 58) Sano H, Lee SR, Sato F, Orlandi M, Sasaki Y, Tsuda T. Effect of dietary propionate and heat exposure on insulin response to feeding in sheep. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 58 : 1086-1094. 1987.
- 59) Sano H, Terashima Y, Senshu T. Insulin secretory response to feeding in sheep fed a diet supplemented with calcium, potassium and sodium propionate. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 60 : 70-77. 1989.
- 60) Sano H, Matsunobu S, Abe T, Terashima Y. Combined effects of diet and cold exposure on insulin responsiveness to glucose and tissue responsiveness to insulin in sheep. *J. Anim. Sci.*, 70 : 3514-3520. 1992.
- 61) Sano H, Hattori N, Todome Y, Tsuruoka J, Takahashi H, Terashima Y. Plasma insulin and glucagon responses to intravenous infusion of propionate and their autonomic control in sheep. *J. Anim. Sci.*, 71 : 3414-3422. 1993.
- 62) Sano H, Hayakawa S, Takahashi H, Terashima Y. Plasma insulin and glucagon responses to propionate infusion into femoral and mesenteric veins in sheep. *J. Anim. Sci.*, 73 : 191-197. 1995.
- 63) Sano H, Tano S, Takahashi H, Terashima Y. Dose response of plasma insulin and glucagon to intravenous n-butyrate infusion in sheep. *J. Anim. Sci.*, 73 : 3038-3043. 1995.
- 64) Sano H, Mowat DN, Ball RO, Trout DR. Effect of supplemental chromium on whole-body kinetics of glucose, lactate and propionate in rams fed a high grain diet. *Comp. Biochem. Physiol. B.* (in press)
- 65) Sasaki Y, Weekes TEC, Bruce JB. Effects of glucose and butyrate on insulin release from perfused fragments of sheep pancreas. *J. Endocrinol.*, 72 : 415-416. 1977.
- 66) Sasaki Y, Hiratsuka H, Ishida M. Effect of cold exposure on insulin response to feeding in sheep. *Can. J. Anim. Sci.*, 64 (Suppl.) : 269-270. 1984.
- 67) Sharp WH, Johnson RR, Owens EN. Ruminal VFA production with steers fed whole or ground corn grain. *J. Anim. Sci.*, 55 : 1505-1514. 1982.
- 68) Stern JS, Baile CA, Mayer J. Are propionate and butyrate physiological regulators of plasma insulin in ruminants? *Am. J. Physiol.*, 219 : 84-91. 1970.
- 69) Sumner R, Weekes TEC. Effect of insulin infusion on nitrogen excretion in sheep. *Proc. Nutr. Soc.*, 42 : 39 A. 1982.
- 70) 砂川勝徳・藤田正範・高橋 潔・彦坂和雄・大谷文博・安保佳一・庄司芳男・津田恒之. 低温環境下におけるめん羊の血中酢酸代謝の動態. *口畜会報*, 54 : 770-776. 1983.
- 71) 砂川勝徳・大谷文博・萩野顕彦・高橋 潔・大友泰・庄司芳男・安保佳一・津田恒之. 低温環境下におけるめん羊の外因性および内因性酢酸の動態. *日畜会報*, 57 : 201-208. 1986.
- 72) Sutton JD, Hart IC, Morant SV, Schuller E, Simmonds AD. Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk fat concentration. *Br. J. Nutr.*, 60 : 265-274. 1988.
- 73) Tesseraud S, Grizard J, Makarski B, Debras E,

- Bayle G, Champredon C. Effect of insulin in conjunction with glucose, amino acids and potassium on net metabolism of glucose and amino acids in the goat mammary gland. *J. Dairy Res.*, 59 : 135-149. 1992.
- 74) Tesseraud S, Grizard J, Makarski B, Debras E, Papet I, Bonnet Y, Bayle G, Champredon C. Leucine metabolism in lactating and dry goats : effect of insulin and substrate availability. *Am. J. Physiol.*, 265 : E402-E413. 1993.
- 75) Trenkle A. Effects of short-chain fatty acids, feeding, fasting and type of diet on plasma insulin levels in sheep. *J. Nutr.*, 100 : 1323-1330. 1970.
- 76) Tsuda T, Ambo K, Shoji Y, Fujita M, Sunagawa K. Distribution of energy source expenditure in warm- and cold-exposed sheep. *Can. J. Anim. Sci.*, 64 (Suppl.) : 265-266. 1984.
- 77) Van der Walt JG. Volatile fatty acid metabolism in sheep. 3 Diurnal variation in the contribution of ruminal propionic acid production to the whole body glucose turnover of Merino sheep fed lucerne hay twice daily. Onderstepoort J. *Vet. Res.*, 45 : 125-132. 1978.
- 78) Veenhuizen JJ, Russell RW, Young JW. Kinetics of metabolism of glucose, propionate and CO₂ in steers as affected by injecting phlorizin and feeding propionate. *J. Nutr.*, 118 : 1366-1375. 1988.
- 79) Waghorn GC, Flux DS, Ulyatt MJ. Effects of dietary protein and energy intakes on growth hormone, insulin, glucose tolerance and fatty acid synthesis in young wether sheep. *Anim. Prod.*, 44 : 143. 1987.
- 80) Weekes TEC, Webster AJF. Metabolism of propionate in the tissues of the gut. *Br. J. Nutr.*, 33 : 425-438. 1975.
- 81) Weekes TEC, Sasaki Y, Tsuda Y. Enhanced responsiveness to insulin in sheep exposed to cold. *Am. J. Physiol.*, 244 : E335-E345. 1983.
- 82) Whitt J, Huntington G, Zetina E, Casse E, Taniguchi K, Potts W. Plasma flow and net nutrient flux across gut and liver of cattle fed twice daily. *J. Anim. Sci.*, 74 : 2450-2461. 1996.