— 解 説 —

小腸フィステル装着豚を用いる消化吸収試験法の開発

古谷 修

農林水産省九州農業試験場, 熊本県西合志町 861-11

飼料の栄養価を的確に判定することは、家畜の養分要求量を説明することとともに、家畜飼養の合理化にとって不可欠である。飼料の栄養価は、一般的には、動物による消化試験¹⁾によって評価されており、その成果はわが国においては日本標準飼料成分表²⁾に集大成されている。しかしながら、従来の消化試験のように栄養素の出入を外部から観察するだけでなく、体内の各消化器官にまで立ち入ってその機能を知りたいという要求が古くからあった。豚については、もっぱら屠殺法によって消化吸収過程が研究されてきたが^{3,4)}、この屠殺法には、1頭の動物で消化器官の種々の部位から内容物が採取できるという利点はあるものの、屠殺時の情報しか得られず、経時変化をみるには多頭数の動物が必要である。また、屠殺後の粘膜細胞の剥離も指摘されており⁵⁾、これが内容物の蛋白質やアミノ酸含量に影響する可能性も否定できない。そこで、著者らは、生きたままの豚から経時的に内容物を反復採取することを目的に小腸へのフィステル装着を試み⁶⁾、併せてそれを用いる消化吸収試験法を開発し⁷⁻⁹⁾、これまでにいくつかの知見を得た¹⁰⁻¹⁶⁾。

本稿では、まず、豚小腸へのフィステル装着手術について述べ、ついで、このフィステル装着豚を用いる消化吸収試験手法の開発、回腸末端でのアミノ酸消化率の測定、さらに、可消化アミノ酸要求量に基づく飼料設計について解説する。

1. 豚小腸への T 字型カニューレ装着の試み

小腸フィステルには、T 字型カニューレとリエントラント・カニューレがある。前者は、T 字型をしたカニューレを挿入するだけの簡単なものであるが、後者は、小腸の目的とする部位を切断し、それぞれの端を T 字型カニューレで体外に出して外部で両端を連結させるもので、内容物を全量採取することができる。しかしなが

ら、1頭の動物で装着できる部位は多くても2カ所であり、また、内容物の詰まりの問題があつて給与飼料の量と質が制限されるとともに、動物の管理に手間がかかる。一方、T 字型カニューレでは、内容物は部分採取しかできないが、1頭の豚で多くの部位から情報を得ることができる。豚の小腸への T 字型カニューレの装着は1972年に HORSZCZARUK ら¹⁷⁾によって最初に報告されたが、著者らはほぼ同時期に、MARKOWITZ の術式¹⁸⁾を参考にして T 字型カニューレの装着を試みた⁶⁾。

カニューレの構造は、図1に示した鈴木ら¹⁹⁾が用いたものと基本的には同じタイプである。鈴木らは、キャップとストッパーにネジを切って取り外しを容易にし、また、T 字型の溶接部分を強固にするなど、著者らが報告した原型⁶⁾に改良を加えた。カニューレの管の内径は、小腸上部に装着する場合は 8 mm 程度でよいが、回腸末端近くになると内容物の水分含量が低くて流出しにく

図1 T 字型カニューレのタイプおよび装着術式 (鈴木ら¹⁹⁾ 原図)

a: キャップ, b: ストッパー, c: 固定盤, d: カニューレ本体, e: 皮膚, f: 腸管

Development of methods for digestion and absorption study with pigs cannulated in the small intestine

Shu FURUYA

Kyushu National Agricultural Experiment Station, Nishigoshi, Kumamoto-ken 861-11

くなるため、12 mm 位はあった方がよい。カニューレの材質として、著者らはポリプロピレンを用いているが特に問題はない。

豚は手術前日の夕刻より絶食させるが、飲水は自由でよい。全身麻酔剤としてペントバルビタールナトリウム塩約 50 mg/kg を筋肉注射する。腹部正中線から左へ 2 cm のところで正中線に沿って約 15 cm の長さを開腹した後、腸管を露出させる。つぎに、目的とする部位を縦に切開し、カニューレを挿入した後、露出した粘膜を内側に反転させて巾着縫合する。装着したカニューレは左腹部に開けた約 2 cm の創口から体外に引き出し、漿膜と腹壁・皮膚を縫合する。最後に、固定盤を外側からはめ、ストッパーで軽く抑え、開腹部位は腹膜、筋層を縫合して閉じ、さらに皮膚を縫合する。手術に要する時間は装着するカニューレの数にもよるが、慣れれば 1 時間程度である。

手術後 1 日位は飼料を食べないが、その後良質の飼料を徐々に増量して与える。約 1 週間で手術前の状態に戻る。写真 1 には、開発初期の頃の装着豚を示したが、カニューレの強度が弱かったため腹帯を必要とした。現在使用しているものは強度が高まり、3～5 カ月の供用に

写真 1 小腸の 3 部位に T 字型カニューレを装着した初期（1973 年）の頃の豚。腹帯でフィステルを保護している

耐える。

T 字型カニューレ装着豚と対照豚で、発育および飼料の消化率に差はほとんど見られず、動物が生理的に正常な状態で消化吸収実験ができる^{7-9, 19)}。

2. 腸管における消化吸収実験法の開発

図 2 は、著者らがアミノ酸や単糖類の吸収速度を測定するために用いた還流実験法⁷⁾を模式化したものである。小腸の目的とする部位に 3 個のカニューレを装着した豚を用い、還流実験時にはカニューレ 1 と 2 の間にバルーンカテーテルを挿入して上部からの内容物の流れを遮り、小型ポンプにより還流液を一定速度でカニューレ 2 から 3 に還流する。検体の吸収速度はカニューレ 3 から回収した溶液の濃度を分析して測定するが、この方法では還流液全量の回収はできないので、水溶性指標物質としてポリエチレングリコール (PEG) を用いる。著者らはこの手法によって、豚小腸におけるグルコースおよび

図 2 小腸における栄養素吸収速度測定のための還流システム⁷⁾

表 1 豚空腸におけるグルコースと L-ヒスチジン吸収の経時変化⁷⁾

測定時刻	吸 収 率 (%)		吸収速度 (g/時間)	
	グルコース	L-ヒスチジン	グルコース	L-ヒスチジン
10.00-10.30	60.2 ^a	36.7 ^a	3.61 ^a	2.20 ^a
16.00-16.30	52.7 ^a	34.3 ^a	3.16 ^a	2.06 ^a
22.00-22.30	45.2 ^b	29.2 ^b	2.71 ^b	1.75 ^b

a, b: 同列で異符号間に有意差 (P<0.05)

L-ヒスチジンの吸収能に経時変化のあることを明らかにしたが⁷⁾ (表1), ラットによる実験で栄養素の吸収能に食餌時刻と連動した日周変動のあることを見出して^{20, 21)}, これはその現象を豚で確かめたことになる。また, これらの吸収機構には, 単純な拡散だけでなく, 濃度勾配に逆らう能動輸送が介在することを示唆した⁷⁾。

T字型カニューレの場合には, 内容物の全量採取ができないため, 内容物の通過を量的に把握するには何らかの工夫が必要である。図3には, 著者が十二指腸を通過する内容物の量を知る目的で用いた手法⁸⁾を模式化して示した。幽門から50 cm 下方にカニューレ1, さらにそれより1 m 下方にカニューレ2を装着した豚を用い, 内容物の通過量を測定する場合には, 5% PEG

図3 腸管内容物の通過量を測定するための実験手法⁸⁾

溶液を一定速度でカニューレ1から注入し, カニューレ2より内容物を部分的に採取する。カニューレ1から注入されたPEGは十二指腸から流れてくる内容物と混合され, カニューレ2から採取したサンプルのPEGおよび目的とする物質の濃度を測定すれば, その物質の単位時間当たりの通過量が算出できる。著者らはこの方法により, 豚の胃潰瘍を予防することで知られるポリアクリル酸ナトリウム(PAS)を飼料に0.5%添加すると, 通過速度の指標として用いた酸化クロムの胃での平均通過時間が, 無添加の場合の3.8時間から8.8時間と著しく長くなることを明らかにし⁸⁾, PASの胃潰瘍予防効果の1つとして飼料の胃内滞留時間の遅延があることを裏付けた。また, 粗蛋白質の消化率は, PASの添加により88%から90%にわずかではあるが有意に高まった⁸⁾。蛋白質は胃内でペプシンにより予備的消化を受けることが知られており, その反応時間が長くなったことがその理由の1つと考えられた。

このように, フィステル装着豚を用いる実験により, 従来からの消化試験や屠殺試験では解明が困難であった消化吸收機構の経時変化についての情報が得られるようになった。

3. 消化管内容物の通過時間と消化吸收部位

豚の消化器管を, 胃, 小腸および大腸という連続した反応槽と見なせば, 飼料の消化率は各反応槽における反応(通過あるいは滞留)時間に依存する部分も大きいと考えられる。すでに述べたように, 胃においては滞留時間の遅延によって蛋白質の消化率が高まることが示唆されている⁸⁾。そこで, 小腸および大腸における内容物の通過時間と消化率の関係について調べた¹¹⁾。

トウモロコシ, 小麦および大豆粕等を配合した粗蛋白質含量が約20%の飼料にコーンスターチあるいはロシ粉末を10%添加した2種類の飼料を供試し, これらを

表2 飼料給与量および飼料の質が小腸および大腸における内容物の通過時間に及ぼす影響¹¹⁾

給与量 (体重の%)	コーンスターチ飼料*		ロシ粉末飼料	
	3	4.5	3	4.5
小 腸				
PEG	3.7 ^{ab}	3.0 ^a	3.6 ^{ab}	3.9 ^b
大 腸				
PEG	64 ^a	37 ^b	59 ^a	28 ^b
染色ワラ	65 ^a	39 ^b	57 ^a	30 ^c

a, b, c: 同行で異符号間に有意差 ($P < 0.05$)

*市販飼料(粗蛋白質約20%)にコーンスターチあるいはロシ粉末を10%添加

表 3 飼料給与量および飼料の質が回腸末端および全消化管における飼料の消化率に及ぼす影響¹¹⁾

給与量 (体重の%)	コーンスターチ飼料*		ロシ粉末飼料	
	3	4.5	3	4.5
飼料摂取量 (g/日)	845	1249	875	1331
回腸末端				
粗蛋白質	73	75	77	77
粗脂肪	74	78	83	72
粗繊維	-9	-6	0	-2
全消化管 (糞)				
粗蛋白質	86 ^a	85 ^a	82 ^b	82 ^b
粗脂肪	70	70	68	65
粗繊維	66 ^a	56 ^{ab}	61 ^a	47 ^b

a, b: 同行で異符号間に有意差 (P<0.05)

*市販飼料 (粗蛋白質約 20%) にコーンスターチあるいはロシ粉末を 10% 添加

1 日に体重の 3 あるいは 4.5% の割合で制限給飼した。

小腸および大腸における内容物の通過時間

小腸での通過時間は、小腸先端に装着したカニユーレから PEG を注入し、その後、小腸末端カニユーレから 1 時間毎に内容物を採取して平均通過時間として算出した。大腸での通過時間は、同じく小腸先端カニユーレから PEG およびフクシン染色ワラを注入し、4 時間毎に 4 日間の糞を採取して小腸+大腸の通過時間を求めた後、これから小腸での通過時間を差し引いて求めた。表 2 に、小腸および大腸における指標物質の通過時間を示したが、小腸においては、3~4 時間で、これは別に実施した試験結果¹⁰⁾ともよく一致している。一方、大腸での指標物質の滞留時間は処理によって大きな差が認められた。すなわち、飼料給与量によって明かな差がみられ、3% 給与区は滞留時間が約 2 倍になった。飼料の質による差では、コーンスターチ添加飼料で滞留が長引く傾向が認められた。別の実験¹⁰⁾でも、消化性のよい飼料の方が滞留時間は長くなった。また、小腸以下での通過時間は、指標物質の性状やそれらの注入時刻によってほとんど影響されない。

飼料の消化吸收部位

つぎに、同じ実験¹¹⁾における各栄養素の消化率を小腸末端および全消化管で見たものが表 3 である。小腸末端での消化率にはいずれの栄養素においても有意差が認められず、粗繊維の消化率はほぼゼロと見なされた。小腸における栄養素の消化吸收はきわめて重要な意味をもつが、小腸での飼料の通過時間は、飼料給与量や飼料の質によってもほとんど変動せず、したがって小腸での消化率も大きな影響を受けないものと考えられる。

図 4 大腸での滞留時間と粗繊維の消化率の関係¹¹⁾
コーンスターチ飼料 (○), ロシ粉末飼料 (●)

全消化管での消化率をみると、粗蛋白質ではロシ粉末添加飼料で明らかに低くなった。これは、ロシ粉末添加により大腸での微生物の活動が活発になって代謝性窒素が増加し^{22, 23)}、見かけの消化率が低下したことが考えられる。粗繊維は大腸で消化されるが、飼料給与量および飼料の質により明らかに影響を受ける。図 4 には、大腸での滞留時間と粗繊維の消化率との関係を示したが、滞留時間が長くなると粗繊維の消化率はほぼ直線的に高まる。大腸の微生物による発酵分解作用で生じた物質がどのように利用されるかは重要な課題である。Imoto and

NAMIOKA²⁴⁾ は大腸から吸収される揮発性脂肪酸は維持に要するエネルギーの 10% 程度であるとしており、エネルギーの供給という点からすれば大腸は大きな役割を果たしているとはいえないが²³⁾、大腸での滞留時間が長くなることによって生じた発酵分解生産物が生体にとってどのような意味をもつものかは、さらに研究の必要がある。

4. 回腸末端におけるアミノ酸消化率の測定

蛋白質はエネルギーとともにきわめて重要な養分であるが、最近、とくに豚や鶏の飼料配合設計ではアミノ酸が重視されるようになってきた。これは、蛋白質の給与はそれを構成している個々のアミノ酸の供給が目的であり、それ以外のものではない²⁵⁾とする考え方が一般的になったことによる。さらに、飼料原料に含まれるアミノ酸の有効性は原料によって異なるため、この有効性が問題にされるようになった。たとえば、結晶として飼料に添加されるアミノ酸の消化吸収率は 100% と見なしてよいが、フェザーミールやミートボーンミールのアミノ酸有効性はかなり劣るとされており、これらと同じ価値のあるものと考えることには無理がある。

アミノ酸の有効性といった場合、一般的には、飼料に含まれるアミノ酸が実際に体内で蛋白質合成に使われる割合と解釈されるが、体内に吸収されてからのアミノ酸の利用性は、飼料に付随した特性よりも動物側の条件によって左右される。したがって、飼料原料の特性としてのアミノ酸有効性は、消化吸収率（簡単に消化率）で評価するというのが現在の世界的趨勢になっている。

アミノ酸の消化率は、初期には従来の消化試験と同様に消化管全体、すなわち糞の分析によって測定されていたが、乳蛋白であるカゼインを大腸に注入すると完全に吸収はされるがそのほとんど全てが尿中に尿素として排泄されることが見い出され²⁶⁾、小腸での消化吸収を免れて大腸に流入する蛋白質（アミノ酸）は生体の蛋白質合成にほとんど利用されないことが明らかにされた^{27, 28)}。また、糞中の窒素の 50% 以上は細菌性のもので²⁹⁾、アミノ酸組成がかなり異なる飼料を与えても糞中のアミノ酸組成は類似したものになる。このようなことから、飼料原料のアミノ酸有効性は、豚の場合には回腸末端の消化率として測定するのが簡単かつもっとも信頼できる方法であるというのが共通認識になりつつある。

見かけと真のアミノ酸消化率

アミノ酸消化率は、蛋白質の場合と同様に見かけと真の消化率に大別される。現在、世界的に通用しているアミノ酸消化率のほとんどは見かけのもので、最近改訂さ

図 5 リジンおよびトレオニンの飼料中含量と大豆粕のアミノ酸消化率との関係¹⁶⁾。リジンの真 (●) および見かけ (○)：トレオニンの真 (▲) および見かけ (△)

れた NRC 標準³⁰⁾においても主な飼料原料について見かけの回腸末端アミノ酸消化率を表示している。

真の消化率は、飼料に由来しないいわゆる内因性（代謝性）アミノ酸（AA）を差し引いて求めるが、つぎの式で定義されている。

真の AA 消化率 (%) =

$$\frac{\text{AA 摂取量} - (\text{回腸末端 AA 量} - \text{内因性 AA 量})}{\text{AA 摂取量}} \times 100 \quad \dots\dots(1)$$

この内因性アミノ酸量は飼料乾物摂取量当りで表現するのが一般的である。(1) 式の右項はつぎのように変形できる¹⁶⁾。

見かけの AA 消化率 (%) +

$$\frac{\text{内因性 AA (g/乾物摂取, kg)} \times 10}{\text{飼料乾物中 AA 含量 (\%)}} \quad \dots\dots(2)$$

もし、ここで、真のアミノ酸消化率および内因性アミノ酸量が一定値をとると仮定すれば、見かけのアミノ酸消化率は飼料中のアミノ酸含量の関数ということになり、飼料中のアミノ酸含量が低ければ低いほど見かけのアミノ酸消化率は低くなることを示している。図 5 は、著者が大豆粕の飼料中の配合割合を 2 段階に変えてアミノ酸消化率を測定した結果¹⁶⁾を示しているが、飼料中のアミノ酸含量が低いほど見かけの消化率は低い。

穀類の蛋白質（アミノ酸）含量は低いものの、配合飼料の主体を占めるため、そのアミノ酸有効性は重要な意味をもつ。ところが、穀類のアミノ酸消化率を単体で測定する場合には、内因性アミノ酸の影響を強く受けるため、その見かけのアミノ酸消化率は蛋白質飼料原料に比

表 4 大麦および大豆粕の回腸末端アミノ酸消化率ならびにこれらの混合飼料の消化率の実測値と計算値の比較 (古谷・梶, 未発表)

	見かけの消化率			真の消化率		
	大麦	大豆粕	大麦+大豆粕	大麦	大豆粕	大麦+大豆粕
アルギニン	60	85	80 (77)*	77	92	88 (88)
ヒスチジン	62	82	78 (75)	74	87	84 (83)
イソロイシン	62	77	78 (72)	80	84	86 (83)
ロイシン	67	78	78 (74)	80	84	85 (83)
リジン	55	80	78 (73)	75	87	86 (84)
メチオニン	67	80	80 (74)	79	88	88 (84)
フェニルアラニン	70	77	79 (75)	82	83	85 (83)
トレオニン	51	69	71 (63)	75	81	82 (79)
バリン	60	73	72 (68)	77	82	81 (80)

* () 内は大麦および大豆粕のアミノ酸消化率に基づいて算出した計算値

較して不当に低く見積られることになる。著者らが最近行った実験 (古谷・梶, 未発表) では、トウモロコシのリジンおよびトレオニン (いずれも養豚飼料で制限アミノ酸になり易い) の見かけの消化率は、それぞれ、50 および 53% で、大豆粕の 80 および 69% に比べてきわめて低くなったが、真の消化率では、それぞれ、75 および 78% で、大豆粕の 87 および 81% にかかなり近かった。

アミノ酸消化率の加法性

飼料の配合設計は、単体で測定した飼料原料のアミノ酸消化率はいくつかの飼料原料と組み合わせても変わらない、すなわち消化率の加法性が成立するとの前提で行う。しかしながら、見かけの消化率を用いる場合には、穀物で不当に低く評価されているため、個々の飼料原料のアミノ酸消化率から計算で求めた配合飼料の消化率は、配合飼料そのものの実測値よりも低くなり、消化率の加法性は成立しない。表 4 に、著者らが大麦および大豆粕の単体、ならびにこれらを組み合わせた配合飼料について見かけと真の消化率を測定した結果 (古谷・梶, 未発表) が示してあるが、見かけの消化率では、配合飼料の実測値と計算値で 3 (アルギニン) ~ 8 (トレオニン) % の差があったのに対し、真の消化率では 0 (アルギニン) ~ 4 (メチオニン) % とかなり小さくなっている。

このように、見かけの消化率では、とくに穀物のようにアミノ酸含量の低い飼料原料では、内因性アミノ酸の影響を強く受けて実際よりも低く見積られることになり、この値を飼料の配合設計に用いることには問題がある。内因性アミノ酸量の測定方法には、つぎに述べるように若干の問題があるとはいえ、真の消化率を用いることが妥当と考える。

表 5 回腸末端における内因性アミノ酸量 (g/kg 乾物摂取)¹⁶⁾

	回帰による方法	無蛋白質飼料
アルギニン	0.37	0.37
ヒスチジン	0.14	0.15
イソロイシン	0.23	0.23
ロイシン	0.41	0.41
リジン	0.26	0.26
メチオニン	0.14	0.14
フェニルアラニン	0.25	0.25
トレオニン	0.42	0.46
バリン	0.33	0.34

内因性アミノ酸量の測定

内因性アミノ酸量の測定法として、1 つには動物に無蛋白質飼料を与えて、回腸末端から排出されるアミノ酸を測定する方法がある。無蛋白質飼料では、蛋白質を含む飼料を給与した場合に比べてプロリンやグリシン等の内因性量が増加することが知られているが³¹⁾、少なくとも栄養学的にみて重要な必須アミノ酸の場合はほとんど影響が認められない。内因性アミノ酸を測定するもう 1 つの方法として、回帰による方法がある。これは、何らかの蛋白質飼料原料を唯一の蛋白質源とし、その飼料中含量を 3 水準以上に変化させた飼料を給与して回腸末端でのアミノ酸排泄量を測定し、そこで得られる直線回帰式で、飼料中蛋白質含量ゼロの点に外挿させると内因性アミノ酸量が求まる。著者らは、カゼインを蛋白質源に選んで回帰による方法で各アミノ酸の内因性量を測定し、その結果が無蛋白質飼料給与による場合とよく一致することを明らかにした¹⁶⁾ (表 5)。この 2 つの方法で同様

表6 飼料原料の豚回腸末端におけるアミノ酸の真の消化率^{9, 12, 15)}

(%)

[穀 類]	トウモロコシ	玄米	大麦	小麦	裸麦	グレインソルガム	平均
アルギニン	83	90	84	84	85	79	84
ヒスチジン	86	90	80	92	90	79	86
イソロイシン	87	86	87	92	87	83	87
ロイシン	89	86	86	91	85	86	87
リジン	89	81	84	88	89	83	86
メチオニン	85	87	86	90	87	84	87
フェニルアラニン	88	88	91	94	90	86	90
トレオニン	86	84	82	85	87	78	84
バリン	87	87	87	91	87	84	87
平 均	87	87	85	90	87	82	86

[動物質飼料]	カゼイン	魚粉	ミートボーンミール	フェザーミール	平均
アルギニン	103	100	84	88	94
ヒスチジン	99	93	73	66	83
イソロイシン	94	98	73	85	88
ロイシン	99	96	74	82	88
リジン	101	98	74	67	85
メチオニン	97	94	75	74	85
フェニルアラニン	100	96	76	84	89
トレオニン	96	93	68	72	82
バリン	96	97	72	81	87
平 均	98	96	74	78	87

[粕・ヌカ類]	大豆粕	綿実粕	ナタネ粕	フスマ	脱脂米ヌカ	平均	全平均
アルギニン	91	93	93	94	86	91	89
ヒスチジン	86	78	83	89	77	83	84
イソロイシン	87	80	80	83	66	79	85
ロイシン	84	76	80	85	68	78	84
リジン	86	73	77	86	71	79	83
メチオニン	86	77	89	83	69	81	84
フェニルアラニン	87	83	83	88	66	81	87
トレオニン	83	77	74	80	62	75	80
バリン	85	80	79	80	66	78	84
平 均	86	80	82	85	70	81	84

の結果が得られることは他の多くの研究者も報告している³²⁻³⁴⁾。

内因性アミノ酸量の測定法に関連して、この値が飼料中の繊維含量によって変動するとの報告が見られるが^{32, 35)}、これを否定する報告もある³⁶⁾。また、内因性アミノ酸量を乾物摂取量当たりで表示することの妥当性に

についても疑問がないわけではない(古谷・梶, 未発表)。代謝性糞中窒素については古くから研究されており、飼料中の繊維含量の影響を受けること、また、乾物摂取量が極端に少ない限り乾物飼料摂取量に比例することはほぼ事実として確立されていると考えてよい^{37, 38)}。しかしながら、これらのことが、回腸末端の内因性アミノ

酸の排出に当てはまるか否かについてはさらに研究が必要と思われる。また、豚の体重によっても内因性アミノ酸量が変わる可能性も示唆されている³⁶⁾。

回帰による真のアミノ酸消化率の測定

真のアミノ酸消化率を測定するには内因性アミノ酸量を把握する必要があることはすでに述べたが、著者らは蛋白質飼料原料における真のアミノ酸消化率を回帰による方法で測定することを提唱している⁹⁾。この方法によれば内因性アミノ酸量を直接測定する必要がない。

供試飼料原料の配合量をコーンスターチとの置換で段階的に3水準に変えた飼料を給与し、それぞれの飼料の回腸末端までの見かけのアミノ酸消化率を測定する。T字型カニューレ装着豚では内容物は部分採取であるので、指標物質として酸化クロムを用いる。図6には、カゼイン、魚粉、大豆粕および綿実粕の飼料中含量を3水準に変えた場合のそれぞれの原料に由来するリジンの摂取量

図6 回腸末端で吸収されるリジン (y) と各蛋白質飼料に由来するリジン摂取量 (x) の関係⁹⁾。
大豆粕 (○): $y=1.9+0.86x$, カゼイン (●): $y=1.4+1.01x$, 魚粉 (△): $y=1.3+0.98x$, 綿実粕 (▲): $y=1.5+0.73x$. 直線回帰式の勾配×100 が各蛋白質飼料のリジンの真の消化率を示す

(横軸)と回腸末端におけるリジンの吸収量(縦軸)の関係を示した。いずれの飼料原料においてもリジンの摂取量が増加するにつれて吸収量も直線的に増加しているが、この直線回帰式の勾配(×100)が真の消化率を表す。このようにして求めた各必須アミノ酸の真の消化率が表6にまとめてある。

回帰による方法は、飼料を3種類以上配合する手間を除くと、供試頭数、試験期間、必要飼料量などは従来の見かけの消化率測定と変わりはなく、フィステル装着豚さえ準備すれば比較的簡単に実施できる。試験飼料給与開始から内容物採取までの予備期間は2日間で十分で、従来の全消化管を対象とする消化試験の予備期間とされる4日³⁹⁾よりも短くてよい。これはすでに述べたように、胃および小腸での内容物の通過時間が大腸に比較してきわめて短いことによる。また、1日の飼料給与を8時間等間隔で3回にしているため、内容物の採取は昼間の一定時刻に行えば、ほぼ1日の代表的なサンプルが採取できる⁹⁾。なお、著者らは、飼料の飼料中含量を3水準に変えることによって1日のアミノ酸摂取量を変えているが、同一飼料を用い、1日の給与量を変えることによってアミノ酸の摂取量は変えられるわけであり、その可能性については今後検討する予定にしている。

穀類のように蛋白質(アミノ酸)含量が少ない飼料原料では回帰による真の消化率の測定は困難であり、従来のように差による方法に頼らざるを得ない。そこで、著者らは、コーンスターチを主体とし、これにトウモロコシ、アルファルファミール等を加えた粗蛋白質3%程度の基礎飼料を調製し、各飼料原料をこの基礎飼料中のコーンスターチで置換して消化試験に供している¹²⁾。供試原料のアミノ酸消化率は、基礎飼料のみを与えた場合の回腸末端アミノ酸量を差し引いて求めるが、後者には内因性のアミノ酸も含まれているため、このようにして求めたアミノ酸消化率は真の消化率である(表6)。

5. 子豚における可消化リジン要求量

アミノ酸の有効性を考慮した要求量

養豚飼料では一般にリジンが第1制限アミノ酸になる。

表7 子豚の発育ステージ別の可消化リジン要求量¹³⁾

	体 重 (kg)			
	5-10	10-20	20-35	45-60
飼料中含量 (%)	1.24	1.38	0.72	0.63
1日量 (g)	6.0	10.2	13.0	16.6
増体 kg 当たり (g)	17.8	17.5	15.6	18.2

そのため、リジン要求量の研究は数多いが、そのほとんどは有効性を考慮していない総量としての要求量である。トウモロコシおよび大豆粕を主体とした飼料を用いてアミノ酸の要求量を求め、給与する飼料もそれらを主体とした配合飼料であれば、アミノ酸の有効性を問題にすることなく、総量のアミノ酸要求量で事足りる。しかしながら、アミノ酸有効性の異なる様々な飼料原料を用いるとすれば、有効性を考慮して飼料の評価を行い、一方では、動物のアミノ酸要求量も有効量として示すのがより合理的と考えられる。

そこで、著者らは、子豚の発育ステージ別に可消化リジンの要求量を測定した¹³⁾。飼料中の可消化リジン含量が異なる 5 種類の飼料を給与して、1 日増体量がプラトーに達する点を可消化リジン要求量とした。子豚は、不断給飼、群飼の実際の条件で飼育し、供試飼料の回腸末端におけるリジンの真の消化率は、前述の穀物と同様に差による方法で測定した。その結果得られた可消化リジンの要求量を表 7 に示したが、飼料中含量としてのリジン要求量は、体重 5~10 kg および 10~20 kg でそれぞれ 1.24 および 1.38% とかなり高く、体重がさらに増加すると著しく低下した。一方、増体 1 kg 当たりのリジン要求量は発育ステージにかかわらずほぼ一定で、全体を平均すると 17.3 g となった。

従来のアミノ酸要求量の表示方法には問題がある

アミノ酸要求量は、豚や鶏の場合には飼料中含量として表示するのが普通であるが、この表し方には問題がある。すなわち、発育ステージで大きく変化することはよく知られているが⁴⁰⁾、その他に、飼料中のエネルギー含量、動物の発育の速さ、用いる飼料のアミノ酸有効性、環境温度等様々な要因で変化する性質のものである。表 8 には、変化をもたらすであろう要因とその変化の方向を示した。発育がよく、赤肉の生産性が高いほどアミノ酸の要求量は高く、また、寒冷時には飼料のアミノ酸含量を低くしてよい。

一方、増体当たりの可消化リジン要求量が発育ステー

ジでほとんど変化しないのは、豚体中の蛋白質の割合が発育ステージでほとんど変わらない⁴¹⁾ことも 1 つの理由であろう。ここで得られた増体 1 kg 当たり 17.3 g の可消化リジン要求量は、現行のわが国飼養標準（豚、1987 年版）⁴²⁾の子豚におけるアミノ酸要求量を算出する上での基礎データになっている。

飼料中含量としてのアミノ酸要求量の算出

以上に述べたようにアミノ酸要求量を飼料中含量で表すことは問題であるが、飼料の配合設計を行うには飼料中含量として表示する必要がある。そこで、つぎの手順で飼料中含量を求める。

まず、豚の 1 日の期待あるいは予想増体量を設定する。1 日増体量は豚の品種・系統、性別、飼養環境など様々な要因で変化するが、この豚の発育速度が飼料中含量として表したアミノ酸要求量に影響することはすでに述べた。1 日の増体量が決まると、1 日に必要な可消化リジン量は前述の 17.3 g/kg 増体の数値を用いて算出できる。

つぎに、その期待（予想）増体量に応じた 1 日のエネルギー要求量を把握する。これは日本飼養標準⁴²⁾に示された計算式から算出できる。冬期においては環境温度の影響を考慮するのが望ましい。

一方で、給与飼料のエネルギー含量を設定する。これは、ある範囲内であればかなり自由に決めてよい。このエネルギー含量と先に求めたエネルギーの 1 日要求量から、1 日飼料摂取量（あるいは給与量）が算出される。

すでに求めた 1 日可消化リジン要求量をこの 1 日飼料摂取量で除すことにより、飼料中の可消化リジン含量（%）が算出される。このようにして求めたリジン要求量（飼料中含量）は、従来のように表からの読み取りによる‘標準的’な要求量とは異なり、経営の実態を反映したきわめて合理的な数値になっているはずである。

リジン以外の可消化必須アミノ酸要求量は、ARC 標

表 9 理想蛋白におけるアミノ酸パターン (%)

	ARC ⁴³⁾	WANG and FULLER ⁴⁴⁾
リジン	7.0	6.5
トレオニン	4.2	4.3
バリン	4.9	4.9
ロイシン	7.0	7.2
ヒスチジン	2.3	2.5
メチオニン+シスチン	3.5	3.9
トリプトファン	1.0	1.2
イソロイシン	3.8	3.9
フェニルアラニン+チロシン	6.7	7.8

表 8 アミノ酸要求量（飼料中含量）に影響を及ぼす要因

要 因	条 件	変化の方向
体重（日齢）	小さい（若い）	↗
飼料のエネルギー含量	高い	↗
発育（赤肉の生産性）	速い（高い）	↗
飼料のアミノ酸有効性	優れる	↘
環境温度	寒い	↘

準⁴³⁾が示した理想蛋白におけるアミノ酸パターンから推定できる。理想蛋白は、全ての必須アミノ酸および非必須アミノ酸の総量が等しく制限になっている状態にある蛋白質として定義できるが、最近、WANG and FULLER⁴⁴⁾はこれらを若干修正した数値を報告しているので、ARC 標準とともに表 9 に示す。

可消化アミノ酸要求量（飼料中含量）の算出例

体重 50 kg の子豚で、1 日増体量が 750 g と仮定した場合のリジン要求量（%）を算出してみる。

1 日に必要な可消化リジン量は 13.0 g (0.75×17.3) である。

エネルギーの要求量は、維持分、赤肉生産分および脂肪生産分の総和として求めることができる。ここでは、エネルギーの単位は可消化エネルギー（DE, kcal）とする。

$$\textcircled{1} \text{ 維持分} = 137 \times W^{0.75}$$

$$\textcircled{2} \text{ 赤肉生産分} = (WG - (WG / (1 + 8.872 \times W^{-0.4}))) \times 0.22 \times 5.66 / 0.54$$

$$\textcircled{3} \text{ 脂肪生産分} = (WG / (1 + 8.872 \times W^{-0.4})) \times 0.9 \times 9.46 / 0.71$$

ここで、W は体重 (kg)、WG は 1 日増体量 (g) である。W^{0.75} はメタボリックボディサイズと称されるもので、維持に必要なエネルギーはこれに比例するとされている。0.22 および 0.9 は赤肉および脂肪組織におけるそれぞれ蛋白質と脂肪の割合（%/100）、5.66 と 9.46 はそれぞれ蛋白質と脂肪のエネルギー含量 (kcal/g)、0.54 と 0.71 はそれぞれの蓄積効率（%/100）で、カッコ内は赤肉あるいは脂肪組織の 1 日生産量 (g) である。ただし、1 日当たりの赤肉生産量は 500 g が上限とみなしている。詳しくは日本飼養標準（豚、1987 年版）⁴²⁾の解説を参照されたい。この例のエネルギー要求量は、以上の式から、維持分 2576 kcal、赤肉生産分 1124 kcal、脂肪生産分 3150 kcal で、合計 6850 kcal となる。可消化養分総量 (TDN) に換算すれば 1553 g (6850/4.41) である。寒冷環境で豚を飼育する場合には、さらに体温保持のためのエネルギーが必要とされる。

つぎに、給与飼料のエネルギー含量を設定する。その時の飼料事情等から、TDN を 73 に設定したとすれば、1 日の予想飼料摂取量あるいは給与量は 2127 g (1553/0.73) である。

したがって、以上の条件下での体重 50 kg の豚の可消化リジン要求量は 0.61% ($13.0 / 2127 \times 100$) と算出される。この数値は、従来の表示方法と同じ飼料中含量であるが、それに変動を及ぼすと考えられる表 8 に示した全ての要因を組み込んだもので、経営の実態にあった

ものといえる。

なお、現行の飼養標準⁴²⁾では、飼料原料のアミノ酸有効性がいまだ十分に解明されていないとして、アミノ酸要求量を総量として表示するにとどめている。ここで求めた体重 50 kg の豚の可消化リジン要求量 0.61% に基づいて、飼料原料の平均的なリジン消化率を 85% と仮定して総量としてのリジン要求量を算出すると 0.72% ($0.61 / 0.85$) となり、これは日本飼養標準⁴²⁾で示されている体重 35~70 kg のリジン要求量 0.72% と一致する。

6. 可消化アミノ酸に基づく飼料の配合設計

飼料の配合設計では、各飼料原料の可消化アミノ酸含量ならびに豚のステージ毎の可消化アミノ酸要求量の把握が必要である。表 6 には、著者らがこれまでに測定した 15 種類の飼料原料における必須アミノ酸の真の消化率を示してある。この消化率に各飼料原料のアミノ酸含量を乗じることにより可消化アミノ酸含量が算出できる。飼料原料のアミノ酸含量は日本標準飼料成分表²⁾等に記載されているが、原料内でのばらつきを考えると実際に用いる原料のアミノ酸分析を行うのが望ましい。また、著者らの研究では、シスチンおよびトリプトファン消化率を測定していないが、各飼料原料の必須アミノ酸の平均消化率を用いても大きな誤りにはならないと思われる。表 6 に記載のない飼料原料のアミノ酸消化率は、これまでに報告されている見かけの消化率のデータによることになるが、もし測定時の飼料中アミノ酸含量が明らかであれば、既述の (2) 式によって真の消化率が推定できる。内因性アミノ酸量は表 5 に示された回帰による数値を用いればよい。

一方、可消化アミノ酸要求量は既述の方法により経営の実態に合わせて算出できるので、この両者を用いて線型計画法による飼料配合設計が可能である。なお、非必須アミノ酸については考慮していないが、少なくとも実用的飼料原料を用いる限り、非必須アミノ酸あるいは蛋白質が不足することはない。

あ と が き

著者が、少しでも豚の内部を覗きたい一心で、小腸へのフィステル装着に着手してからすでに 20 余年が経過した。カニューレを自分で造り、MARKOWITZ の手術の教科書を傍らに、試行錯誤しながら先輩諸氏の援助を受けてようやく口頭報告にこぎ着けたのは 1973 年である。丁度その年に ZEBROWSKA²⁶⁾が、また、翌年には HOLMES ら⁴⁵⁾がリエントラント・カニューレを用い

た回腸末端でのアミノ酸消化率の測定について発表している。今でこそ、回腸末端へのフィステル装着豚が豚のアミノ酸消化率の測定に不可欠のものになっているが、その当時はこのような発展は全く予想できないことであった。フィステル装着豚は、栄養素の消化吸収実験や飼料のアミノ酸有効性の評価に今後とも有効な手段の1つとして使用されることは間違いないが、一方では、動物福祉の立場からの動きも無視できないものがある。純粹の研究目的ならともかくとして、この手法をルーチンとして飼料の栄養評価に用いることには将来何らかの制限が加えられる可能性がある。著者らは、これまでも、飼料栄養価を *in vitro* で簡易に推定する方法の開発⁴⁶⁾を行ってきたが、今後は以前にもましてこの面での研究が重要になるものと考えている。

なお、本稿では、小腸フィステル装着豚を用いて著者らが行った研究について解説するにとどめたため、豚小腸液を用いる人工消化試験等を含めた全体的な飼料栄養評価法については著者の総説⁴⁷⁾を参照願えれば幸いである。

文 献

- 森本 宏監修：動物栄養試験法，191-257，養賢堂，東京，1971.
- 農林水産技術会議事務局：日本標準飼料成分表，中央畜産会，1987.
- ISHIKAWA, S: Agric. Biol. Chem., **30**, 278-284, 1966.
- 吉本 正：千葉大園芸学部特別報告，**11**, 5-22, 1974.
- BADAWY, A.M., R.M. CAMPBELL, D.P. CUTHBERTSON and B.F. FELL: Nature (London), **180**, 756-757, 1957.
- FURUYA, S., S. TAKAHASHI and S. OMORI: Jpn. J. Zootech. Sci., **45**, 42-44, 1974.
- FURUYA, S. and S. TAKAHASHI: Br. J. Nutr., **34**, 267-277, 1975.
- FURUYA, S., SAKAMOTO, T. ASANO, S. TAKAHASHI and K. KAMEOKA: J. Anim. Sci., **47**, 159-165, 1978.
- FURUYA, S., R. NAGANO and Y. KAJI: Jpn. J. Zootech. Sci., **57**, 859-870, 1986.
- FURUYA, S. and S. TAKAHASHI: Jpn. J. Zootech. Sci., **46**, 630-641, 1975.
- 古谷 修・高橋正也：日畜会報，**51**, 33-39, 1980.
- 古谷 修・梶 雄次：日畜会報，**58**, 228-235, 1987.
- 古谷 修・梶 雄次：日畜会報，**58**, 658-663, 1987.
- 古谷 修・梶 雄次：日豚会誌，**24**, 87-93, 1987.
- 古谷 修・梶 雄次・浅野 猛・村山隆一：日畜会報，**59**, 407-413, 1988.
- FURUYA, S. and Y. KAJI: Anim. Feed Sci. Technol., **26**, 271-285, 1989.
- HORSZCZARUK, F., T. ZEBROWSKA and W. DOBOWOLSKI: Roczn. Nauk Roln., B-94, 99-105, 1972.
- MARKOWITZ, J.: Experimental Surgery, 3rd ed., 225-247, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1954.
- 鈴木 健・野本敏郎・小牧 弘・森本 宏：日畜会報，**52**, 354-361, 1981.
- FURUYA, S. and Y. YUGARI: Biochim. Biophys. Acta, **241**, 245-248, 1971.
- FURUYA, S. and Y. YUGARI: Biochim. Biophys. Acta, **343**, 558-564, 1974.
- LLOYD, L.E. and E.W. CRAMPTON: J. Anim. Sci., **14**, 693-699, 1955.
- FARRELL, D.J. and K.A. JOHNSON: Anim. Prod., **14**, 209-217, 1972.
- IMOTO, S. and S. NAMIOKA: J. Anim. Sci., **47**, 467-478, 1978.
- 有吉修二郎：アミノ酸飼料学，73-83，チクサン出版社，東京，1983.
- ZEBROWSKA, T.: Roczn. Nauk Roln., B-95, 85-89, 1973.
- GARGALLO, J. and D.R. ZIMMERMAN: J. Nutr., **111**, 1390-1396, 1981.
- JUST, A., H. JØRGENSEN and J.A. FERNANDEZ: Br. J. Nutr., **46**, 209-219, 1981.
- MASON, V.C.: Proc. Nutr. Soc., **43**, 45-53, 1984.
- NRC: Nutrient Requirements of Swine, 9th rev. ed., National Academy Press, Washington, DC, 1988.
- DE LANGE, C.F.M., W.C. SAUER and W. SOUFFRANT: J. Anim. Sci., **67**, 755-762, 1989.
- TAVERNER, M.R., I.D. HUME and D.J. FARRELL: Br. J. Nutr., **46**, 149-158, 1981.
- LEIBHOLZ, J.: Br. J. Nutr., **48**, 509-517, 1982.
- KIES, A.K., P.J. MOUGHAN and W.C. SMITH: Anim. Feed Sci. Technol., **16**, 169-178, 1986.
- SAUER, W.C., S.C. STOTHERS and R.J. PARKER: Can. J. Anim. Sci., **57**, 775-784, 1977.
- DRAKE, A.P.: The development of an *in vitro* system for predicting nutrient digestibility in feeds for pigs. Aberdeen

- University, PhD Thesis, 1990.
- 37) ARMSTRONG, D.G. and H.H. MITCHELL : J. Anim. Sci., **14**, 49-68, 1955.
 - 38) WHITING, F. and L.M. BEZEAU : Can. J. Anim. Sci., **37**, 95-105, 1957.
 - 39) 杉本亘之・古谷 修 : 日畜会報, **55**, 227-233, 1984.
 - 40) 梶 雄次・古谷 修 : 日畜会報, **58**, 574-582, 1987.
 - 41) SHIELDS, R.G., Jr., D.C. MAHAN and P.L. GRAHAM : J. Anim. Sci., **57**, 43-54, 1983.
 - 42) 農林水産技術会議事務局 : 日本飼養標準, 豚 (1987 年版), 中央畜産会, 1987.
 - 43) ARC : The Nutrient Requirements of Pigs, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, 1981.
 - 44) WANG, T.C. and M.F. FULLER : Anim. Prod., **50**, 155-164, 1990.
 - 45) HOLMES, J.H.G., H.S. BAYLEY, P.A. LEADBEATER and F.D. HORNEY : Br. J. Nutr., **32**, 479-489, 1974.
 - 46) FURUYA, S., K. SAKAMOTO and S. TAKAHASHI : Br. J. Nutr., **41**, 511-520, 1979.
 - 47) 古谷 修 : 日畜会報, **60**, 899-907, 1989.