

飼料中タンパク質含量が血漿脂質成分の日内変動に及ぼす影響

渡邊一史¹・高橋辰行²・高橋秀之¹・佐藤勝祥¹・加藤和雄²
大和田修一¹・渡邊康一¹・庄司則章³・麻生 久^{1,*}

東北大学大学院農学研究科機能形態学分野¹・動物生理科学分野²

宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1 981-8555

山形県農業総合研究センター畜産試験場³ 山形県新庄市鳥越 1076 〒996-0041

2012年4月23日受付, 2012年5月23日受理

要 約

摂取する飼料成分により、家畜の体内の脂質動態や内分泌動態が影響を受けることが報告されている。しかしながら、反芻動物において飼料成分、特に飼料中タンパク質含量の相違が血漿胆汁酸濃度の日内変動へ与える報告はほとんどない。本研究は、タンパク質摂取量がヒツジの血中胆汁酸濃度および血中脂質成分に与える影響を検討することを目的とした。低タンパク質飼料給与区（LP区）は、高タンパク質給与区（HP区）に比べて血漿胆汁酸濃度が常に高い値を示した。また、血漿胆汁酸濃度はHP区においてはほとんど変動しないのに対し、LP区においては採食後15時間以降に上昇が確認された。一方、血漿トリグリセリド濃度は、LP区においては採食時間に関わらずほとんど変動を示さないうが、HP区においては採食後11時間から上昇が認められた。血漿コレステロール濃度は両区とも採食時間に関わらずほぼ一定の値で推移し、LP区ではHP区に比べて常に高い値を示した。以上より、タンパク質摂取量により血漿胆汁酸濃度が変動することが示され、それにより血漿脂質成分が影響を受けることが示唆された。本研究の結果は、現在まで飼養管理技術の分野において、あまり注目されていなかった血中胆汁酸濃度を体内の栄養状態に与える効果の指標に加えることで、飼養効率向上に役立つことが期待される。

キーワード：家畜飼養, 胆汁酸, タンパク質

東北畜産学会報 62(1): 1～5 2012

緒 言

反芻動物は、単胃動物とは消化管の構造が異なり、複胃を有している。特に第一胃および第二胃には微生物が多く共生しており、微生物がセルロースやヘミセルロースを揮発性脂肪酸（VFA）に分解することで、反芻動物はこれを吸収し、エネルギー源としている。また、ホルモン分泌を制御すると考えられているVFAは、飼料成分により発酵パターンが影響を受け、そのルーメン内濃度も大きく変動することが知られている。特に、脂質代謝やインスリン分泌に関与するセロトニンやグレリン

といった消化管ホルモンは、摂取する飼料成分により分泌動態が異なることが報告されている。腸管からのセロトニン分泌は、短鎖脂肪酸や各種アミノ酸により誘導され、血中グレリン濃度は高脂肪食や高タンパク質給与によっても変動する（Leeら, 2002; Fukumotoら, 2003; Greenmanら, 2004; Kiddら, 2008; Takahashiら, 2008; 高橋ら, 2009）。したがって、摂取する栄養成分の相違が、内分泌動態やそれに伴う体内の脂質動態に著しく影響を与えていると考えられている。

摂食による刺激により胆嚢から十二指腸に放出される胆汁酸は、摂取した脂質をミセル化し、脂質の吸収を助ける役割を持つことが古くから知られている。また、胆汁酸の腸肝循環は高脂肪食摂取時だけでなく、高植物性タンパク質食摂取時においても大きく変動することが報告されている（大菅, 1972; 伊吹ら, 1988; 藤本, 1989）。

* 連絡者：麻生 久（あそう ひさし）
東北大学大学院農学研究科
宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1 981-8555
TEL: 022-717-8702
E-mail: asosan@bios.tohoku.ac.jp

近年、胆汁酸のレセプターが消化管以外の組織でも広く分布しており、従来の作用以外に胆汁酸の新しい作用が発見され、胆汁酸は血漿トリグリセリド濃度の低下やエネルギー代謝亢進を誘導し、体内の脂質代謝の恒常性に深い関係を持つと考えられている (Watanabe ら, 2004; Watanabe ら, 2006; Zhang ら, 2006)。加えて、消化管ホルモンであるセロトニンやグレリンが血中胆汁酸濃度に影響を与えることも報告されていることから (Watanabe ら, 2010; Roberts ら, 2011)、摂取する飼料成分が胆汁酸分泌や体内の胆汁酸動態を制御し、血中脂質成分にも影響を与えていることが推測される。

しかしながら、反芻動物においては飼料成分、特に高タンパク質摂取が血中胆汁酸濃度の日内変動に与える影響についての報告はほとんどない。よって本研究では、飼料中脂質による影響を取り除くために飼料中粗脂肪含量を一定にした飼料を用い、飼料中タンパク質含量がヒツジの血中胆汁酸濃度および血中脂質成分に与える影響を解析した。

材料および方法

本研究における動物実験は、東北大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

1. 供試動物

去勢雄成ヒツジ(49.3±1.8kg) 5頭を低タンパク質飼料区(LP区)および高タンパク質飼料区(HP区)の順に各2週間の飼養を行い、最終日に調査した。飼料給与は、両区とも1日1回とし、鉱塩および飲水は自由摂取とした。LP区は1度の飼料給与当たり大麦 250g、トウモロコシ 185g、チモシー乾草 140gを与え、HP区は1度の飼料給与当たり大豆ミール 435g、チモシー乾草 140gを与えた。飼料中成分は、飼料成分表を用いて算出し、粗タンパク質(CP)はLP区 50g、HP区 211gとした。また、粗飼料含量はLP区 15g、HP区 14g、可消化養分総量(TDN)は両区とも 403g、とそれぞれ両区において等しくなるように調製した。また、TDN量は維持量であり、両区の試験とも体重の変化は認められなかった。

2. 試料採取方法および測定方法

採血は、採食1時間前から採食3時間後まで15分間隔、その後の10時間を1時間間隔、採食13時間後の10時間を2時間間隔で行った。採取した血液をヘパリン(10 unit/ml)の入ったチューブに移して遠心分離(9,000×g, 10分間)し、得た血漿をサンプルとした。血漿サンプルは測定まで-20℃で保存した。血漿胆汁酸濃度、血

漿トリグリセリド濃度および血漿コレステロール濃度は、それぞれ胆汁酸-テストワコー(和光純薬工業, 大阪, 日本)、トリグリセライドE-テストワコー(和光純薬工業)およびコレステロールE-テストワコー(和光純薬工業)を用いて測定した。

3. 統計解析

各採血時間における血漿胆汁酸濃度、血漿トリグリセリド濃度および血漿コレステロール濃度についてt検定を用いることにより、2つの飼料区間で比較した。

結果

血漿胆汁酸濃度は、両区において採食直後に上昇がみられ、採食後の時間に関わらずLP区がHP区に比べて常に高い値を示した(図1)。興味深いことに、HP区における血漿胆汁酸濃度は、採食後の時間により変動しないのに対し、LP区では採食後1時間から13時間まではほぼ一定の値で推移し、採食後15時間以降に上昇することが確認された。

血漿トリグリセリド濃度は、LP区およびHP区において、採食後わずかに上昇し一旦下降後、採食10時間まではLP区で採食2時間後に有意に高くなったが、両区間において大きな差は認められなかった(図2)。しかしながら、HP区における血漿トリグリセリド濃度は、採食11時間後以降にLP区比べ著しく上昇することが明らかとなった。

一方で、血漿コレステロール濃度は、両区ともに採食により若干上昇したが、採食後ほとんど有意な変動は認められなかった。しかしながら、LP区の血漿コレステロール濃度はHP区に比べて常に高い傾向を示した(図3)。

考察

血中胆汁酸濃度は、飼料中粗脂肪含量により影響を受けることが考えられるため、本研究では飼料中粗脂肪含量を一定にした飼料を用い、飼料中タンパク質含量がヒツジの血中胆汁酸濃度および血中脂質成分に与える影響を解析した。胆汁酸は、採食に伴い胆嚢から十二指腸に放出され、摂取した脂質をミセル化し脂質の吸収を担った後、約90%以上が小腸において再吸収される。再吸収された胆汁酸は門脈を通り、肝臓に運ばれた後に肝細胞より約80%が取り込まれ、残りは体内を循環する(Lefebvre ら, 2009)。胆汁酸は消化管で脂質の吸収に働くことが知られているが、全身の組織で胆汁酸のレセプターの発現が確認され、血漿トリグリセリド濃度低

下作用およびエネルギー代謝促進作用などの脂質代謝に関与することが報告されている (Watanabe ら, 2004; Watanabe ら, 2006; Zhang ら, 2006)。本研究により, HP 区においては採食後の血漿胆汁酸濃度はほとんど変化せず, 血漿トリグリセリド濃度は採食後 10 時間から有意に上昇することが判明したが, 血漿胆汁酸濃度との関連性は認められなかった。一方, LP 区においては採食後の血漿胆汁酸濃度は採食後 13 時間以降に上昇し, 血漿トリグリセリド濃度はほとんど変化しないことが判明した。これより, LP 区では血漿胆汁酸濃度を上昇さ

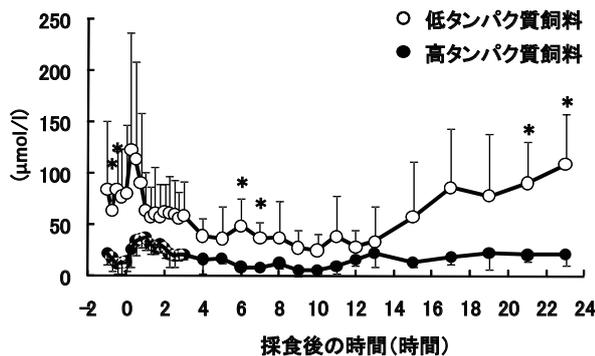


図1 ヒツジへの低タンパク質あるいは高タンパク質飼料給与が血漿胆汁酸濃度の日内変動に与える影響
* $P < 0.05$: 両飼料間における有意差

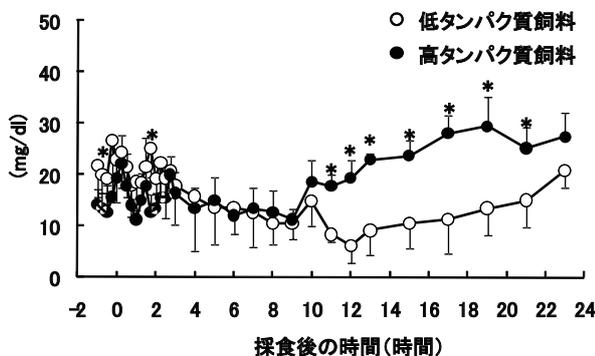


図2 ヒツジへの低タンパク質あるいは高タンパク質飼料給与が血漿トリグリセリド濃度の日内変動に与える影響
* $P < 0.05$: 両飼料間における有意差

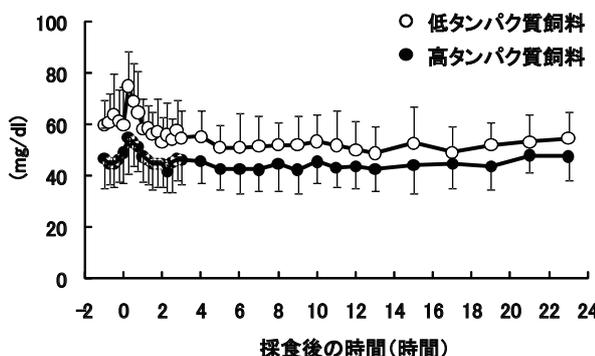


図3 ヒツジへの低タンパク質あるいは高タンパク質飼料給与が血漿コレステロール濃度の日内変動に与える影響

せることで, 採食後 11 時間以降に上昇が誘導される血漿トリグリセリド濃度上昇を抑制したと考えられる。逆に, HP 区では血漿胆汁酸濃度が上昇しないために血漿トリグリセリド濃度を一定に維持できず, 上昇を引き起こしたのではないかと考えられた。また, 動物は糞中に排出された胆汁酸を補うために, 肝臓においてコレステロールから胆汁酸の合成を行う (Houten ら, 2006)。加えて, 植物性のタンパク質摂取は, 血中コレステロール濃度を低下させる (Anderson ら, 1995)。これは, 植物性タンパク質が腸管でのステロールの吸収を抑制し, 排出を促すことで誘導されると考えられている。そのため HP 区では, 高植物性タンパク質給与により胆汁酸の排出が促され, 体内の胆汁酸を維持するためにコレステロールを消費することによって血中コレステロール濃度の基礎値が LP 区に比べて低下していると考えられる。一方で, 飼料中植物性タンパク質量が相対的に低い LP 区においては, 血漿胆汁酸濃度および血漿コレステロール濃度が HP 区に比べて高く, 胆汁酸の腸管における再吸収およびコレステロールからの合成もまた HP 区に比べて高いと考えられる。

高橋ら (2009) は, 低タンパク質および高タンパク質給与が成長ホルモン (GH) およびグレリンの日内変動に与える影響に関する研究結果を報告している。血漿 GH 濃度は両給与区とも採食後に低下するが, 高タンパク質給与区における血漿 GH 濃度は低タンパク質給与区よりも低下する傾向だった。さらに, ラットへの GH 投与は血漿トリグリセリド濃度に変化を与えることなく, 血漿コレステロール濃度の上昇を誘導することが報告されている (Matasconi ら, 2004)。このことは, 本実験で確認された LP 区における血漿コレステロール濃度が HP 区に比べて高いこと, 高橋ら (2009) が示した低タンパク質給与区における血漿 GH 濃度が高タンパク質給与区に比べて高くなったことと一致する。

また, ヒトにおいて血漿グレリン濃度と血漿胆汁酸濃度との間には負の相関関係がある (Roberts ら, 2011)。また高橋ら (2009) は, 血漿グレリン濃度が両給与区とも採食前に高くなって採食後に低下し, 高タンパク質給与区における血漿グレリン濃度は採食前後に関わらず常に低タンパク質給与区に比べて高い値を示すことを明らかにしている。血漿グレリン濃度が高い HP 区では血漿胆汁酸濃度が低く, 血漿グレリン濃度が低い LP 区では血漿胆汁酸濃度が高くなった。これらの結果から, ヒトやラットで確認されている下垂体や消化管ホルモンが血漿脂質成分に与える影響は, 反芻動物であるヒツジにおいても同様に観察されることが示された。さらに, 血漿脂質成分は, 血漿 GH 濃度, 血漿グレリン濃度および血

漿胆汁酸濃度など様々な因子によって複雑な制御を受けると考えられる。

本研究では、ヒツジへの飼料中タンパク質含量が血漿脂質成分の日内変動に影響することを明らかにした。特に近年、脂質およびエネルギー代謝における重要な因子として考えられている血漿胆汁酸濃度がタンパク質摂取量により大きく影響を受けることが判明した。本研究の結果より、家畜へ給与する飼料成分を調製し、血漿胆汁酸濃度を制御することで、血中胆汁酸濃度を体内の栄養状態に与える効果の指標とした新たな飼養管理技術の開発への応用が期待される。

謝 辞

本研究は、農林水産省の新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業（研究領域設定型研究）「遺伝子発現調節による和牛肉の不飽和度向上技術の開発」の研究費を用いて行われた。

引用文献

- Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N. Engl. J. Med.*, 333: 276-282. 1995.
- 藤本隆由. アルコールならびに食事組成のコレステロール・胆汁酸代謝に及ぼす影響. *奈良医学雑誌*, 40: 762-773, 1989.
- Fukumoto S, Tatewaki M, Yamada T, Fujimiya M, Mantyh C, Voss M, Eubanks S, Harris M, Pappas TN, Takahashi T. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. *Am. J. Physiol.*, 284: R1269-R1276. 2003.
- Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, Stern N. Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 60: 382-388. 2004.
- Kidd M, Modlin IM, Gustafsson BI, Drozdov I, Hauso O, Pfragner R. Luminal regulation of normal and neoplastic human EC cell serotonin release is mediated by bile salts, amines, tastants, and olfactants. *Am. J. Physiol.*, 295: G260-G272. 2008.
- Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology*, 143: 185-190. 2002.
- Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *EMBO. J.*, 25: 1419-1425. 2006.
- 伊吹文男, 北川優, 岩見公和. 胆汁酸の腸肝循環と食餌性阻害因子. *大豆たん白質栄養研究会*, 9: 37-43. 1988.
- Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol. Rev.*, 89: 147-191. 2009.
- Matasconi M, Angelin B, Rudling M. Pituitary control of lipoprotein and bile acid metabolism in male rats: growth hormone effects are not mediated by prolactin. *Am. J. Physiol.*, 287: E114-E119. 2004.
- 大菅俊明. 肝の機能 (VI) 胆汁酸代謝. *代謝*, 9: 209-218. 1972.
- Roberts RE, Glicksman C, Alaghband-Zadeh J, Sherwood RA, Akuji N, le Roux CW. The relationship between postprandial bile acid concentration, GLP-1, PYY and ghrelin. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 74: 67-72. 2011.
- Takahashi T, Kobayashi Y, Hasegawa S, Touno E, Otani Y, Haga S, Katoh K, Obara Y. Different responses in postprandial plasma ghrelin and GH levels induced by concentrate or timothy hay feeding in wethers. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 34: 432-439. 2008.
- 高橋辰行, 萩野顕彦, 小原嘉昭, 加藤和雄. ヒツジへの給与飼料の相違により誘起される成長ホルモン, グレリンおよびインスリンの分泌動態およびその制御機構. *栄養生理研究会報*, 53: 9-17. 2009.
- Watanabe H, Akasaka D, Ogasawara H, Sato K, Miyake M, Saito K, Takahashi Y, Kanaya T, Takakura I, Hondo T, Chao G, Rose MT, Ohwada S, Watanabe K, Yamaguchi T, Aso H. Peripheral serotonin enhances lipid metabolism by accelerating bile acid turnover. *Endocrinology*, 151: 4776-4786. 2010.
- Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta A, Mangelsdorf DJ, Heyman RA, Moore DD, Auwerx J. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J. Clin. Invest.*, 113: 1408-1418. 2004.
- Watanabe M, Houten SM, Matakic C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, Messaddeq N, Harney JW, Ezaki O, Kodama T, Schoonjans K, Bianco AC, Auwerx J. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature*, 439: 484-489. 2006.
- Zhang Y, Lee FY, Barrera G, Lee H, Vales C, Gonzalez FJ, Willson TM, Edwards PA. Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 103: 1006-1011. 2006.

Effect of protein contents in diet on metabolism of lipid in sheep

Watanabe H¹, Takahashi T², Takahashi H¹, Sato K¹, Katoh K²,
Ohwada S¹, Watanabe K¹, Shoji N³, Aso H¹

¹Cellular Biology Laboratory and ²Laboratory of Animal Physiology, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 1-1 Tsutsumidori Amamiya-machi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981-8555, Japan

³Yamagata Prefectural Animal Industrial Institute, Agricultural Research Center, 1076 Torigoe, Shinjo, Yamagata 996-0041, Japan

Correspondences: Hisashi Aso, Tel.: +81-22-717-8704; Fax: +81-22-717-8880, E-mail address: asosan@bios.tohoku.ac.jp

The secretion and circulation of endocrine hormones were influenced by the nutrient components of feeding. Recently, some reports show that bile acids are regulated by several gastrointestinal hormones and deeply affect the lipids circulations. However, it has not yet been fully elucidated how the nutrient compositions affect the plasma bile acids concentration in ruminants. In this study, we investigated the effect of the amount of protein in diet on the level of plasma bile acids and lipids in sheep. The concentration of plasma bile acids in low protein feeding (LP) group was higher than that in high protein feeding (HP) group. The LP induced the elevation of plasma bile acids content from 15 hours after feeding, but not HP. In contrast, the concentration of plasma triglyceride increased in HP group after 11 hours of intake, but not in LP group. Additionally, the plasma cholesterol level was not affected in both groups by the time after feeding, but higher in LP group than in HP group. These results suggest that the circulating level of bile acids depends on the feeding amount of protein and influence the plasma lipids concentrations. Furthermore, the plasma bile acids levels as the index of feeding effect may improve the efficiency of animal feeding.

Key words: animal feeding, bile acids, protein