Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-30

反芻動物のコバルト欠乏症に関する研究（第2報）：コバルト欠乏症作成試験における血漿成分の変化について

井上，良
大西，正登

(Citation)
兵庫農科大學研究報告．畜産学編,6(2):89-94

(Issue Date)
1964

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81006376

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81006376

KOBE UNIVERSITY

反芻動物のコバルト欠乏症に関する研究

第2報　コバルト欠乏症作成試験における血漿成分の変化について

井上　良・大西正登

Studies on the Cobalt Deficiency in Ruminants

II. Blood Levels of Nitrogen-Containing Compounds, Glucose and Volatile Fatty Acids in Cobalt Deficient Lambs

Ryo INOUE and Masato ONISHI

緒　言

反芻動物に特有な地域的栄養障害として知られる Co 欠乏症の発病機構を究明するため，われわれは実験的 Co 欠乏症をめん羊について作成し，前報[1]にその概要を報告した．

この疾病は原因が飼料中 Co の不足にあり，これに由来するビタミン B_{12} 欠乏が直接の病因で，血液中の B_{12} 含有量が 0.1mγ/ml 附近まで低下したときに，食欲減退，体重減少などの欠乏症状が表われることは前報に報告した．Co 欠乏症状のうち，貧血，発育低下などが B_{12} 欠乏によって起こる機構については，人類の悪性貧血，あるいは B_{12} の APF 効果などの研究からある程度まで解明されているが，最も重要な症状である食欲減退と B_{12} の関係は未だ全く不明のままである．

動物の食欲中枢は視床下部にあり，糖，アミノ酸，揮発性脂肪酸（V. F. A.）など血液成分の変動が，直接，あるいは間接に食欲中枢の chemoreceptor に作用して食欲が調整されるものと推定されている[2]．Co 欠乏症の食欲減退に対しても，おそらく，かような機構によって B_{12} 欠乏が作用していると思われるが，Co 欠乏症における血液成分の変動を継続的にしらべた報告は見当らない．この意味においてわれわれは，前報の実験的 Co 欠乏症作成に当り，血液とくに血漿成分の測定を行なってきたので，ここに報告する．

実験方法

試験動物，飼養管理，採血方法などについては前報に報告したので省略する．血液は糖の定量に用いる他は遠沈して血漿をとり，非蛋白態窒素測定のために HADEN の変法[3]により除蛋白した．各成分の定量方法は次の通りである．

総窒素：ミクロケルダール法
アミノ酸：ナフトキノン法[3]
尿　素：ヂアセチルモノキシム法[3]
尿　酸：燐タングステン酸法[3]
血　糖：NELSON-SOMOGYI の比色法[3]
揮発性脂肪酸：CONWAY の微量拡散分析法[4]

試験結果

1. 血漿中の総窒素量　試験期間中における血漿総窒素量の変化を示すと Fig. 1 の通りである．試験当初における値は5，6号は 9.5mgN/ml 程度，7，8号は 10mgN/ml 程度であって，個体による差はあるが，

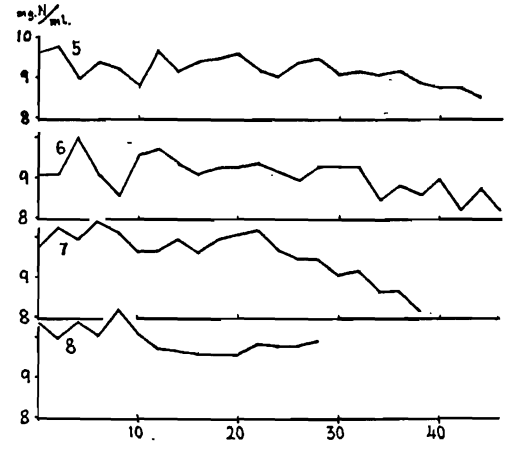


Fig. 1　Total nitrogen in blood plasma. At last stage of experiment, it markedly decreased.

大きな変動は認められない．しかし，試験中期に至って全個体に共通して減少の傾向が認められる．すなわち，8号羊では10週目よりわずかではあるが，減少し，7号羊では24週より著しく減少して屠殺直前の38週目には8.6 mgN/ml まで低下している．5，6号羊でもそれぞれ30，34週目より減少が目立つ．この減少の時期を Co 欠乏症発病の時期と比較してみると，前報に示した通り，濃厚飼料食下量の低下し始める時期は5号26週，6号23週，7号21週，8号12週であるから，血漿中総窒素量の減少は Co 欠乏症の発病より0～11週だけ遅れて発現することがわかる．

2. 血漿中アミノ酸量　Co 欠乏症における窒素代謝の異常を推論する一つの手段として，血漿中の遊離アミノ酸量を測定した結果は Fig. 2 の通りで，全個体，全期間を通じて 0.14～0.27 mgN/ml の範囲にあり，大きな変動があるとはいえない．しかし，詳細に検討すると，試験初期には各個体とも 0.20mgN/ml 以下の値を示すことが多いが，中期に至ってやや高くなる傾向を示す．すなわち，5号羊では18，22週にやや高く，30～32週にも，0.24mgN/ml 以上の高値を示し，6，7号では16～32週の期間が連続して 0.20mgN/ml 以上である．8号羊ではこの傾向が明らかでないが，8，10週にやはり高い値が認められる．この程度の変動をもってアミノ酸量の増加と判定するのは危険であるが，あえて，増加と認めるならばその時期は Co 欠乏症の発病より4～8週前から，発病後0～10週，すなわち，濃厚飼料下量の著しい減少がみられる頃までと考えられる．かように，中期において増加の傾向をみせたアミノ酸量は末期に至って再び低下し，ほぼ開始時と同じ程度となっている．

3. 血漿中尿素量　窒素代謝を推論するためにアミノ酸とともに重要な役割をもつ尿素量を測定した結果は

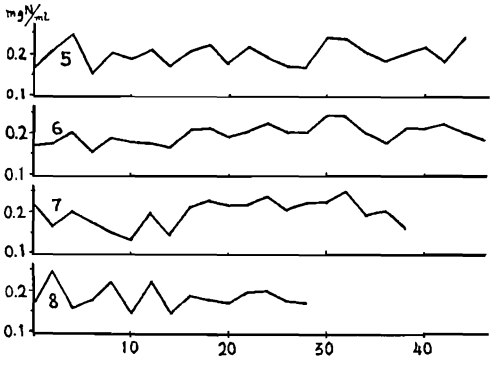


Fig. 2 Blood level of nitrogen in free amino acid form. Higher levels were observed at mid stage of the experiment.

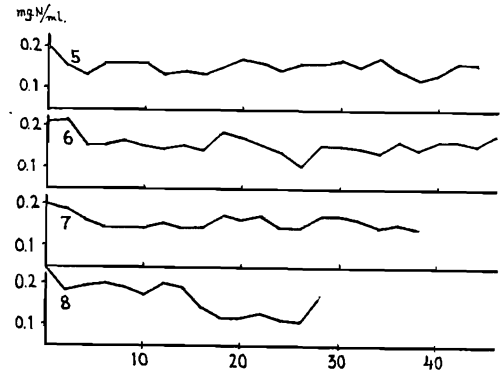


Fig. 3 Level of urea nitrogen in blood plasma. Decrease occured in a first few weeks, and higher levels were obtained at mid stage of the experiment.

Fig. 3 のごとくである．4頭の試験羊に共通して，試験開始後2～6週間に相当量の低下が認められる．その後は8号羊の16週以後に著しい低下を示す以外に大きな変動は認められない．しかし，中期において，これもアミノ酸の場合と同様に増加といえるかどうか疑問ではあるが，わずかに血中尿素増加の傾向が表われている．すなわち，5号羊20～32週，6号羊18～20週，7号羊18～22週および28～32週，8号羊12～14週には，その前後に比してやや高い値を示している．この増加はアミノ酸の場合より2～4週遅れて発現し，同じ頃に終り．アミノ酸の変化と相関連したものと考えられる．

4. 血漿中尿酸量　アミノ酸，尿素とともに血液中に存在する非蛋白態窒素の一つで，核酸代謝に関連をもつ尿酸についても測定を行なった．その変化はFig. 4 の通りで，試験当初における減少，中期における増加など尿素の場合と全く同様な傾向を示している．すなわち，5，6号では最初の2週間，7，8号ではやや長期にわ

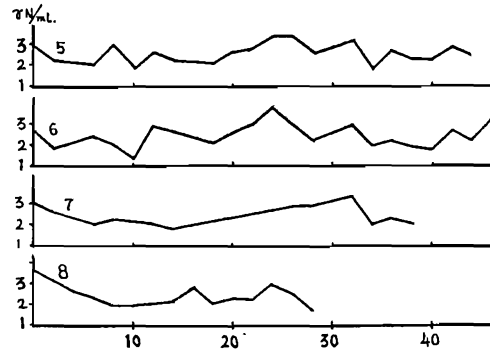


Fig. 4 Uric acid nitrogen in blood plasma. It changed almost similar with urea nitrogen.

たって減少した後，5号羊は20～32週，6号羊は22～26週，7号羊では18～32週にわたって高い値を示している．中期における増加はむしろ尿素の場合よりも明瞭に表われるようである．8号羊ではこの変化が明らかではないが，やはり16，24週に高い値を示している．この増加の時期は尿素の場合とほぼ同期間であるが個体によっては尿素よりさらに遅れて発現している．

5. 血　糖　NELSON-SOMOGYI の比色法によって測定した血糖の変化は Fig. 5 の通りで，測定方法にも問題があって比較的変動が大きい．しかし，食欲減退など Co 欠乏症の症状が表われる頃までは，その後にくらべると変動が少なく，0.2mg/ml 前後であることが多いのに反して，欠乏症状の表われた後においては8号羊22週の 0.01mg/ml から，6号羊34週の 0.54mg/ml まで，測定時毎の変動が非常に大きい．かように血糖が正常値を保てず，大きく変動し，時折異常な低血糖を示すことが一つの特徴といえよう．

6. 血漿中 V.F.A.　反芻動物では V.F.A. が energy 代謝に重要な要素となっているので，試験途中からではあったが，血漿中の総 V.F.A. 量を CONWAY の方法により求めた．試験開始後18週から測定を始めたのであるがここには信頼できる値として28週以後の成績を Fig. 6 に示した．この時期は既に4頭とも発病しており，発病期の経過を追えないのは残念であるが，一応28週以後についてみると，個体によって経過が尐く異なっており，5号羊では 0.60μ^M/ml から次第に減少して，40週には 0.08μ^M/ml の最低値を示すのに反して，6号羊では 0.70μ^M/ml から漸増して斃死前日の46週には 6.50μ^M/ml を記録している．7号羊では 28 週の 1.64 μ^M/ml から一旦減少するが再び増加して，屠殺1週間前の38週には 2.12μ^M/ml となった．これら試料の採取はすべて朝の給飼前であるから，血漿中 V.F.A. は少ないのが通例で，正常羊あるいはビタミン B_{12} の投与によって治療したものの成績から推察すると 0.3～0.6μ^M/ml 程度が正常値と考えられる．従って，5号羊は正常あるいは以下であるが，6，7号羊では異常に高い値といえよう．8号羊は28週に斃死したので唯1回の測定値しかないが，これも 1.60μ^M/ml で高い値といえる．

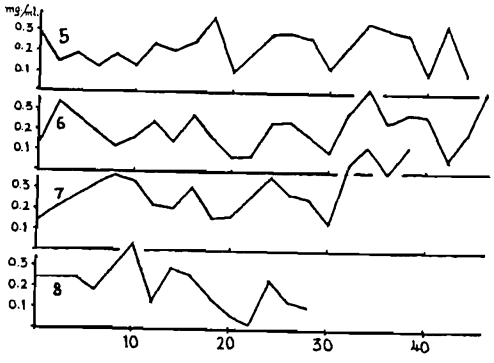


Fig. 5 Change in blood glucose. Severe changes were observed at the latter half of experiment.

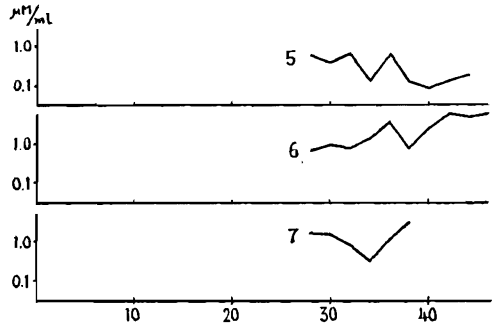


Fig. 6 Volatile fatty acid in blood plasma (logarithmic scale), determined after the 28th week, when all animals had developed simptomes of cobalt deficiency.

考　　察

1. 窒素代謝について

以上の結果から窒素代謝に関係のある総窒素，アミノ酸，尿素，尿酸量の変化を総合すると，1）試験当初における尿素，尿酸量の減少，2）試験中期，すなわち，欠乏症状発現の数週前より，食欲の著しく減退するまでの期間におけるアミノ酸，尿素，尿酸量の増加，3）試験末期における総窒素の減少が主な変化といえよう．

まず，試験当初の変化であるが，これは純粋に Co 欠乏のためというよりは，粗飼料が野青草から稲わらに切替えられたために起こった現象と考える方が妥当であろう．すなわち，野草の D.C.P. は乾燥物に換算して4％程度，稲わらのそれは1％程度であるから，試験開始とともに蛋白摂取量の大幅な減少があったとみなければならない．米村ら[5]は乳牛の栄養障害に関する実験から，T.D.N. が NRC標準の80％以上ある場合は血中尿素が摂取した蛋白量にほぼ比例して変動すると述べており，われわれの試験では T.D.N. が充分与えられているから，摂取蛋白量の減少によって血漿中尿素量が減少したと考えられる．尿酸の場合も機構は同様で，これは核酸の分解産物であるから，野草にくらべて柔組織に乏しい稲わらを与えられれば当然核酸摂取量が減少し，外因性尿酸の低下によって血漿中尿酸量が減少するのであろう．

次に，試験中期に血漿中アミノ酸，尿素，尿酸量が共に高まる現象であるが，この時期における血中 B_{12} 量を

前報[1]より参照すると，どの個体でも 0.2mγ/ml 程度，あるいはそれ以下まで低下しており，外面的には欠乏症状が表われずとも，実際上B_{12}欠乏の状態にあり，この影響が血液成分のわずかな変化として表われたものと考えることが可能である．CHARKEYら[6]は B_{12} 欠乏の鶏雛において血液中の非蛋白態窒素，および数種のアミノ酸の増加を認め，また，HSUら[7]も鶏雛の血中非蛋白態窒素，とくに尿素の増加を報告している．反芻動物については，かような報告をみないが，同様の機構によって，非蛋白態窒素が増加するのではあるまいか．

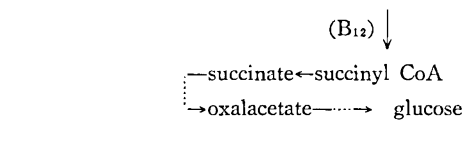
これについて，われわれは次のような機構を推定している．すなわち，B_{12} の重要な生理作用の一つとして，核酸の合成に関するものが知られている．これは purin, pyrimidine などに ribose あるいは deoxyribose が結合して nucleoside を作る段階にB_{12}が必要で，これが欠乏すると nuceoside の不足から核酸の新生，ひいては細胞分裂が妨げられるというものである[8]．もし，B_{12} の不足が起っても飼料から摂取される栄養に変化がなければ，体細胞を形成すべきアミノ酸，核酸に合成されるべき purin, pyrimidine に余剰を生じ，血中アミノ酸が増加する筈である．血液中に余剰のアミノ酸などが多くなれば，当然オルニチン回路が活動して尿素形成が盛んとなり，一方 purin からは尿酸が形成されて排泄を促すこととなり，ここに血液中尿素，尿酸の増加が起こる．また，核酸合成が妨げられて細胞の新生が阻害されれば，体内には次第に老化細胞が増加し，崩壊が盛んとなるから，ここからもアミノ酸などが遊離され，この傾向はますます助長される．これが，B_{12} 欠乏によってアミノ酸，尿素，尿酸などが増加する理由と思われる．しかし，鶏雛では非蛋白態窒素が B_{12} 欠乏群と投与群の間に明確な差があるのに反して，われわれの試験では正常時との差が少なく，個体により，測定時によっては正常程度の値も得られている．また，B_{12} 欠乏は続いていても非蛋白態窒素の増加傾向は永続せず，試験末期には正常程度あるいは以下にまで低下してしまう．これには反芻動物 Co 欠乏症の特徴である食欲の減退が関与しているものと思われる．すなわち，食欲減退は蛋白摂取量の低下を招き，もし，外界からの補給量減少が細胞崩壊による窒素の血中供給量を上回るならば，かえって血中非蛋白態窒素は減少する結果となる．前報[1]に示した食下量の急激に低下し始めた時期と，一旦増加していたアミノ酸などの減少し始める時期の一致することはこの関係を物語るものであろう．

血清中のアミノ酸量と食欲の間に逆の関係があるというMELLINKOFFら[9]の報告から考えて，Co 欠乏症における食欲減退にもアミノ酸など非蛋白態窒素の増加が関与しているのではないかという疑問が起こる．しかし，われわれの成績で，これら血中成分の増加する時期は食欲減退よりかなり早くから表われ始めたこと，試験末期にこれらが正常程度まで低下しても食欲は一向回復しないこと，あるいはまた，鶏雛の B_{12} 欠乏症では血中非蛋白態窒素が増加しても著しい食欲減退は起らぬことなどを綜合すると，この考えは否定した方が妥当であろう．

第3の問題，試験末期における血漿中総窒素量の減少についてみると，Co あるいは B_{12} の欠乏によって血漿総窒素減少を報告したものは他に見当らないが，われわれは牛の実験的「くわず」症の試験に当り，B_{12} 投与によって一旦治癒した試験牛の再発病過程の血漿をしらべ，やはり発病後に血漿総窒素の減少を観察している．志賀ら[10]は山羊に水のみを与えた飢餓実験において，血清中総窒素が減少したと報告していることから，蛋白摂取量の極端な減少は血漿蛋白の低下を招くものと考えられる．っ従て，この現象はB_{12} 欠乏による第1次的変化ではなく，極度の食欲減退に基く第2次的なものと解釈すべきであろう．

2. energy 代謝について

反芻動物にとっては V.F.A. すなわち醋酸，プロピオン酸，酪酸などが主な energy 源であり，単胃動物のごとく炭水化物が糖の形で吸収されることはほとんどないものとされている[11]．しかしながら，反芻動物でも糖質代謝は常に行なわれており，この糖質が主としてプロピオン酸から形成されることは，プロピオン酸を静脈中に注入すれば，血液中から急速に消失すると共に血糖が急上昇するという REID ら[12]の報告，あるいはプロピオン酸を単独で第1胃内に注加すれば，血中の V.F.A. は増加せず，血糖が高まるという柴田[13]の報告によっても明らかである．この径路には今もって疑問が残されているが，およそ次のようなものと推定されている．



この径路において図のごとく B_{12} が関与することが，最近 MARSTONら[14]によって明らかにされた．彼らは *in vitro* の実験で Co 欠乏症羊の肝臓はプロピオン酸をコハク酸に変える働きがなく，methylmalonate が蓄積するが，BARKERら[15]によって作られた活性型B_{12}，すなわち，5, 6 dimethylbenzimidazole cobamide coenzyme を添加することにより methylmalonate は消失し，コハ

ク酸が増加すると報告している．B_{12} 欠乏動物の尿中に methylmalonate が大量に検出されるという報告[16,17]もあり，この径路に B_{12} の必要なことは異論の余地がない．

かように，Co 欠乏症ではプロピオン酸代謝に必要な B_{12} が不足するために糖質の形成が阻害され，動物は糖質の欠乏状態に陥ることが想像される．久葉ら[18]は実験的「くわず」症牛の肝臓について glycogen 顆粒の減少または消失を組織学的に観察しているが，これは前述の推定を裏書きするものであろう．体内に糖質の蓄積が少なくなれば血糖はその時の糖形成，あるいは消費の増減をそのまま反映して，消費の増大するときは低血糖となるであろう．前述の試験結果で，Co 欠乏症の症状が明らかとなった頃から血糖変動が激しくなり，ときには著しい低血糖を示すようになるのは，おそらく，かようなプロピオン酸代謝の欠陥に基くものであろう．

反芻動物では糖質が酢酸代謝にも影響を与える．柴田[13]はめん羊に対する酢酸の単一給与により，一時的な高血糖の後に低血糖を招来することを認め，これは血液の酢酸過剰が糖の動員を促し，酢酸処理のために糖消費が増大して低血糖をもたらしたものと説明している．すなわち，酢酸が代謝系に入るためには，まず acetyl 化されて acetyl CoA となり，TCA 系に入るか，脂肪酸回路へ向うなどの経過をたどるものであるが，この acetyl 化のための energy は解糖系あるいは TCA 系から得ねばならぬわけで，このために糖消費が増大するものと考えられる．従ってもし rumen で産生され，吸収される酢酸の量に対して，利用しうる糖質が不足するならば，酢酸は活性化されず遊離の状態で血中に蓄積されるであろう．本実験では5号羊を除いて血漿中の V.F.A. 量の上昇が認められており，その後に行なった分別定量の結果では，このうち80～90%程度が酢酸であって，組成においては健康羊あるいは Reid[11] の測定値と大差のないことからみて，血漿中 V.F.A. の増大は前述のごとく処理しえない酢酸，プロピオン酸が血中に蓄積したものと考えられる．5号羊においては血漿中 V.F.A. が増加せず，むしろ試験末期に減少しているが，これには rumen における酢酸の産生量が関係していると思われる．もちろん，この実験では酢酸産生量を測定したわけではないが，前報[1]に示した濃厚飼料食下量から，ある程度まで V.F.A. 産生量の増減を伺い知ることができる．すなわち，濃厚飼料食下量は5号羊では異常に少なく，33週以後1日当り 200g 以下，38週以後は 100g 程度しか消費していない．これに対して6号羊では37週まで 240g 程度の食下量を維持しており，最後まで日量 150g を割っていない．この食下量の差が血漿中 V.F.A. 量の差となって表われたのであろう．食下量と V.F.A. 量の関係は7号羊にも認められ，34週までに食下量は日量 60g まで減少し，この期間 V.F.A. 量は低下しているが，36週に至り，食欲がやや回復して 150g 程度を消費すると V.F.A. 量が再び増加している．つまり，濃厚飼料の食下量によって rumen 中の V.F.A. 産生量が変動し，これに対して体内で利用しうる糖質が不足の場合は6号羊のごとく血漿 V.F.A. が増加し，V.F.A. 産生量のあまりに少ない場合は糖質が充分でなくても5号羊のごとく血漿 V.F.A. は増加しないということになる．

最後に，energy 代謝における前述のような異常と Co 欠乏症における食欲減退の原因との関係について述べてみたい．Dowden ら[19]は酢酸，プロピオン酸の点滴投与により，投与期の食欲が対照にくらべて低下したと述べており，血液中にこれら V.F.A. の増加することが直接食欲を支配するのではないかと考えた．しかし，彼等も点滴投与を中止すると直ちに採食が始まることを認めており，またわれわれが，健康羊に対して相当多量の酢酸あるいはプロピオン酸を静注した実験でも明瞭な食欲減退は見受けられなかったことから，単に血中 V.F.A. 量が高まっただけでは食欲減退が起らぬものと考えられる．しかし，B_{12} 欠乏によって食欲減退が起こるのは反芻動物に限られていること，V.F.A. をenergy として大量に利用するのも反芻動物のみであること，プロピオン酸代謝に B_{12} が必要であることなどを考え合わせると，食欲減退の現象は何らかの形で，この energy 代謝の異常と結びついたものではないかと想像されるのである．

要　　約

第1報に報告した実験的 Co 欠乏症作成試験における血漿成分の変化をしらべ，次の結果を得た．

1. 試験開始直後に血漿中尿素，尿酸が減少した．これは飼料の変化により，蛋白摂取量の減少した結果と考えられる．

2. Co 欠乏症状の表われるよりやや前から，著しい食欲減退の始まるまでの期間において，血漿中アミノ酸，尿素，尿酸はやや高い値を示した．この現象は B_{12} の欠乏に基く核酸代謝の障害によるものと考察された．

3. 試験末期に至り，血漿中アミノ酸，尿素，尿酸は正常程度まで低下すると共に，総窒素が減少した．これは著しい食欲減退により，蛋白摂取量が極度に減少したためと思われる．

4. Co 欠乏症状の明確となった頃から血糖変動が激しくなり，時に低血糖を示した．B_{12} 欠乏による プロピオン酸代謝の欠陥が伺われる．

5. 途中から測定を開始した血漿中 V.F.A. は濃厚飼

料の食下量と関連して変動し，食欲のある程度持続した個体では異常に増加した．

本実験に当り，終始御指導，御援助をいただいた京都大学上坂教授，本学福島教授に対し深甚の謝意を表する．

（家畜育種学講座，昭和39，8，31．受理）

文　献

1）井上　良，勝川周郎：兵庫農大研究報告，畜産学編，**6**：37，1963．

2）広瀬可恒：日畜会報，**32**：213，1961．

3）吉川春寿：臨床医化学，実験編，第4版，1955，協同医書．

4）石坂音治訳，CONWAY E. J.：微量拡散分析及び誤差論，第2版，1957，南江堂．

5）米村寿男，新林恒一，牛見忠蔵，小倉幸子，小華和　忠，志賀鑑時，伊出　優，板庇外茂雄：水曜会記事，**12**(7)：7，1963．

6）CHARKEY, L.W., H.S. WILGUS, A.R. PATTON and F.X. GASSNER : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **73** : 21, 1950.

7）HSU, P.T. and G.F. COMBS : *Arch. Biochem. Biophys.*, **38**: 29, 1952.

8）GIRDWOOD, R. H. : *Blood*, **7**: 77, 1952.

9）MELLINKOFF, S. M., M. FRANKLAND, D. BOYL and M. GREIPEL : *J. Appl. Physiol.*, **8** : 535, 1956.

10）志賀鑑時，米村寿男，飯塚三喜，新林恒一，小倉幸子，市川　収：家畜衛試研究報告，**34**：193，1958．

11）REID, R. L. : *Aust. J. Agr. Res.*, **1**: 338, 1950.

12）REID, R. L. and S. C. MILLS : *Ibid.*, **12** : 913, 1961.

13）柴田章夫：名大農学部家畜飼養学教室業績，No.3，1963．

14）MARSTON, H. R., S. H. ALLEN and R. M. SMITH : *Nature*, **190** : 1085, 1961.

15）BARKER, H. A., R. D. SMITH, H. WEISSBACH, J. I. TOOHEY, J. N. LADD and B. E. VOLCANI : *J. Biol. Chem.*, **235** : 480, 1960.

16）COX E. V. and A. M. WHITE : *Lancet*, **1962-II** : 853, 1962.

17）BARNESS, L. A., D. YOUNG, W. J. MELLMAN, S. B. KAHN and W. J. WILLIAMS : *New Eng. J. Med.*, **268** : 144, 1963.

18）KUBA, N., Y. ONO and T. FUKUSHIMA : *Japanese J. Vet. Sci.*, **25** : 363, 1963.

19）DOWDEN, D. R. and D.R. JACOBSON : *Nature*, **188** : 148, 1960.

Summary

A cobalt deficiency was experimentally developed in four lambs, and levels of total nitrogen, free amino acids, urea, uric acid, glucose and volatile fatty acids in the venous blood, collected in the morning, before feeding, were determined biweekly.

At the begining of the experiment, urea and uric acid levels in the blood plasma decreased. Itseemes to be a result of lowered nitrogen intake, but not of lacking in cobalt.

Blood levels of free amino acids, urea and uric acid were higher at mid stage of the experiment, when the blood level of vitamin B_{12} already decreased, but anorexia was not severe. These were possibly the effect of B_{12} deficiency such as observed in chick by CHARKEY et al. and HSU et al., in last stage of the experiment, these simpotomes disappeard because of a extremely decreased nitrogen intake, and simultaneously total nitrogen in the blood plasma decreased.

After the simptomes of cobalt deficiency had developed, blood glucose sometimes decreased, and in some animals which consumed relatively much ration, volatile fatty acids level of blood plasma increased. It was suggested that the metabolic abnormality in cobalt deficient lambs was derived capacity to metabolize propionic acid.