

分離大豆たん白質とその類似アミノ酸混合物の消化・吸収および体内利用の比較検討

A COMPARISON OF DIGESTION, ABSORPTION AND UTILIZATION BETWEEN SOYBEAN PROTEIN ISOLATE AND ITS CORRESPONDING AMINO ACID MIXTURE IN ADULT RATS

山本 茂・岸 恭一・阿部明美・山本孝史・井上五郎（徳島大学医学部）

Shigeru YAMAMOTO, Kyoichi KISHI, Akemi ABE, Takashi YAMAMOTO and Goro INOUE
School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima 770

ABSTRACT

Digestion, absorption and utilization of soybean protein isolate and its corresponding amino acid mixture were compared in adult rats. Animals were fed either 20% soybean protein diet or 20% amino acid mixture diet for 3 days or 14 days. After fasting for 24 hours, rats were allowed to take each diet for 1 hour from 9 a.m.. Zero, 1, 2, 3, 4 and 5 hours after the final diets, rats were killed. Body weight gain, food intake, protein efficiency ratio, gastrointestinal nitrogen, portal and venous blood plasma aminogram, body water and body nitrogen were measured. All the results were similar in the two dietary groups, indicating that the digestion, absorption and utilization of soybean protein isolate and its corresponding amino acid mixture are similar.

アミノ酸組成が同じたん白質とアミノ酸混合物の消化・吸収や体内利用に関する報告は多数あるが、それらの結果は一致していない。ヒトにおける研究で Rose ら¹⁾は、カゼインとカゼインパターンのアミノ酸混合物の窒素出納はエネルギー摂取が45kcal/kgでは等しいが、35kcal/kgではカゼインの方が良いと報告している。しかし Watts ら²⁾は50kcal/kgのエネルギー摂取においても卵たん白質と卵たん白質パターンのアミノ酸混合物では前者の利用が優れていると述べている。著者ら³⁾は卵たん白質とその類似アミノ酸混合物の青年男子における利用を44kcal/kgのエネルギー摂取条件で比較したが差は認められなかった。Anderson ら⁴⁾ Clark ら⁵⁾もヒトにおいてたん白質とそれと類似アミノ酸混合物の利用に差のないことを報告している。一方動物実験で伊藤ら⁶⁾は、たん白質とアミノ酸混合食をラットに自由に食べさせた場合、食餌窒素レベルが1.6%（たん白質レベル約10%）までは摂食量に差はないが、3.2%（たん白質レベル約20%）ではアミノ酸に

よる浸透圧上昇のため、アミノ酸食の摂取量の低下がおこってくることを観察している。しかし摂食量を等しくした場合の窒素利用は同じであった⁷⁾。伊藤らの結果と同じように、動物におけるたん白質とアミノ酸混合物の利用は等しいとする報告⁸⁻¹¹⁾に対して、たん白質の利用の方が優れているとの報告もある^{12,13)}。

消化・吸収に関しても、消化管内滞留時間はアミノ酸食の方がたん白質食より長いとする報告^{7,14)}と、血中アミノ酸レベルの上昇がたん白質食よりもアミノ酸食で早いという報告¹⁵⁾に分かれる。

このように、食餌たん白質とアミノ酸の消化吸收や体内利用については不明な点が多いので、これら窒素源の摂取から体内利用に至るまでの過程を比較検討することにした。本実験では、分離大豆たん白質とその類似アミノ酸パターンのアミノ酸混合物を用いた。食餌窒素レベルは最大の成長を示すと考えられる3.2%⁶⁾とした。なおアミノ酸混合食は自由に与え、たん白質食はアミノ酸食摂取群の pair-feeding とした。

実験方法

実験1

体重約300gのWistar系雄ラット30匹にアミノ酸混合食を3日間自由に与えた(アミノ酸食群)。なおアミノ酸混合物のアミノ酸組成は分離大豆たん白質と同じにした。同様のラット30匹には、分離大豆たん白質食をアミノ酸食群のpair-feedingで与えた。両食餌の組成をTable 1に示した。水は全期間中自由に与えた。ラットは個別飼いと、毎朝9時に体重および食べ残しの食餌を測定し、食餌と水を新しいものと取りかえた。4日目の朝9時から24時間絶食とした後、9～10時の1時間それぞれの食餌を5gずつ与えた。10時を

食後0時間とし、0, 1, 2, 3, 4および5時間目にそれぞれの食餌群のラット5匹ずつにペントバルビツールナトリウム(50mg/ml) 0.1ml/100g体重を腹腔内注射し麻酔後胃および小腸をとりだした。胃および小腸内容物を生理食塩水で洗い出し、内容物のたん白質をビュレット法で、アミノ酸をDNP法で測定した。

実験2

体重220gのWistar系雄ラット10匹に実験1と同じ組成のアミノ酸混合(アミノ酸群)食を14日間自由に摂取させた。同様のラット10匹には分離大豆たん白質(たん白質群)食を14日間、アミノ酸食群と等量与えた。毎朝9時に体重と食べ残した食餌量を測定し、食餌と水を新しいものと取りかえた。15日目の朝9時よ

Table 1. Composition of experimental diets

Components	(g)	
	Soybean protein isolate diet	Amino acid mixture diet
Soybean protein	200	—
Amino acid mixture	—	200
α -Starch	447	447
Sucrose	223	223
Corn oil	50	50
Mineral mixture ¹	50	50
Vitamin mixture ²	10	10
Cellulose powder	20	20

1: Obtained from Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo. The mineral mixture contained (%): $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 14.56; KH_2PO_4 , 25.72; NaH_2PO_4 , 9.35; NaCl , 4.66; Ca-lactate , 35.09; Fe-citrate , 3.18; MgSO_4 , 7.17; ZnCO_3 , 0.11; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.12; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.03; KI , 0.01.

2: Obtained from Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo. Composition expressed in units or milligrams per 100g of vitamin mixture: thiamine-HCl, 120; riboflavin, 400; pyridoxine-HCl, 80; vitamin B_{12} , 0.05; ascorbic acid, 3,000; D-biotin, 2; folic acid, 20; calcium pantothenate, 500; *p*-amino benzoic acid, 500; niacin, 600; inositol, 600; choline chloride, 20,000; retinyl acetate (IU), 50,000; ergocalciferol (IU), 10,000; tocopheryl acetate, 500; menadione, 520.

Table 2. Amount of food intake in one hour after fasting for 24 hours (Experiment 1)

Group		Food intake
		g
AA group	(30) ¹	3.87±0.68
Protein group	(30)	4.36±0.51***

1: Number of rats

*** Significantly different ($p < 0.001$)

りラットを24時間絶食とした後、朝9時～10時の1時間にそれぞれの食餌を5gずつ与えた。10時を食後0時間として2および3時間目に、各食餌群のラット5匹ずつにペントバルビツールナトリウム(50mg/ml)0.1 ml/100g 体重を腹腔内注射して麻酔し、門脈と下大静脈より採血した。尿および糞の総窒素量はケルダール法により求めた。血漿アミノ酸は血漿を3%スルホサルチル酸で除たん白後、医理化アミノ酸自動分析計A-3300で分析した。カーカスは110℃で乾燥し、体水分量を求めた後、ミキサーで粉碎し、ケルダール法により窒素量を求めた。

結 果

実験1

Table 2 にアミノ酸食群およびたん白質食群の絶食24時間後1時間内の摂食量を示した。アミノ酸群は3.87gを摂取したのに対してたん白質群は4.36gを摂取した。Fig. 1 に胃および小腸内のたん白質およびアミノ

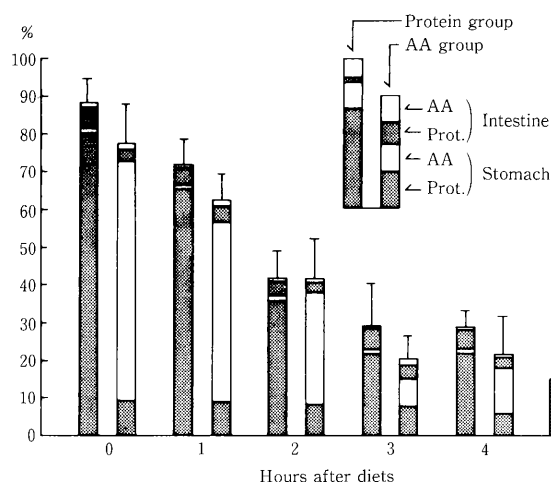


Fig. 1 Time course of gastrointestinal protein nitrogen and amino nitrogen expressed as percentages of ingested amount of nitrogen.

酸の窒素量の経時的変化を摂取窒素量に対するパーセントで示した。経時的にみた消化管内の総窒素量は、0, 1, 3 および 4 時間目で、アミノ酸群の方が少なく吸収の速い傾向がみられたが、有意差はなかった。両食餌群とも2時間で消化管内の窒素量が摂取量の約1/2となった。小腸内の窒素量は両食餌群で、どの時間においてもほとんど差がなく、摂取窒素量の10%以内であった。たん白質群の胃内窒素はほとんどたん白質であったが、アミノ酸群では摂取窒素量の約10%程度がたん白質であった。

実験2

Fig. 2 に体重変化を示した。両食餌群とも体重増加はほとんど同じであった。Table 3 に体重増加量、食物摂取量およびたん白質利用効率を示した。アミノ酸

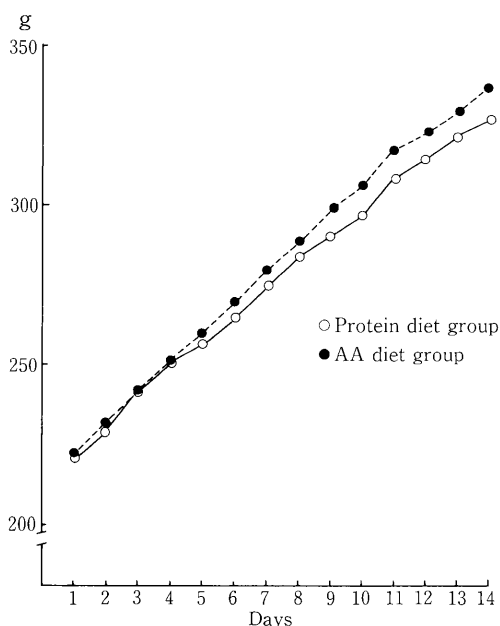


Fig. 2 Changes of body weight of rats in experiment 2.

Table 3. Body weight gain, food intake and protein efficiency ratio of rats fed soybean protein isolate diet or corresponding amino acid mixture diet

Group	Number of rats	Body weight gain	Food intake	Protein efficiency ratio
		(g/14 days)	(g/day)	(g/day)
AA group	10	116±12	8.2±0.8	23.7±1.9
Protein group	10	111±14	7.9±1.0	23.7±0.8
				1.74±0.14
				1.67±0.18

群およびたん白質群の1日当たりの体重増加量はそれぞれ8.2gおよび7.9gで有意差はなかった。食物摂取量は両食餌群ともに23.7g/日で全く同じであった。その結果、たん白質利用効率（PER）はアミノ酸群で1.74、たん白質群で1.67で、両食餌群に差はなかった。Table 4 に体水分および体たん白質のパーセントを示した。アミノ酸群およびたん白質群の体水分はそれぞれ59.3%および57.8%で差はなく、また体たん白質もそれぞれ19.6%および19.8%で差はなかった。Table 5 に絶食24時間後の1時間内の摂取量を示した。アミノ酸群は4.70gを摂取した。たん白質群では与えた食餌5gをすべて食べた。Fig. 3 および4 にそれぞれ門脈血漿および下大静脈血漿のアミノ酸パターンを示し

た。両食餌群による血漿アミノ酸パターンに差はみられなかった。

考 察

ラットにアミノ酸混合食とたん白質食を与えた本実験で、消化管の総窒素量の経時的変化には両食餌群でほとんど差がなく、また小腸内には投与量の10%足らずが常にあるのみで大部分は胃内にあった（Fig. 1）。もしアミノ酸混合物の吸収がたん白質と変わらないとすると、速やかな吸収を目的としたアミノ酸による経腸的栄養法は特別な場合を除き無意味である。吸収を必要としないアミノ酸の胃から小腸への移行が、たん白質と同じであった原因については、その移行が胃内

Table 4. Body composition of rats

Group	Water	Protein
	%	%
AA group	59.3±1.8	19.6±1.1
Protein group	57.8±2.6	19.8±1.4

Table 5. Amount of food intake in one hour after fasting for 24 hours (Experiment 2).

Group	Food intake
	g
AA group (10) ¹	4.70±0.83
Protein group(10)	5.00±0.00

1: Number of rats.

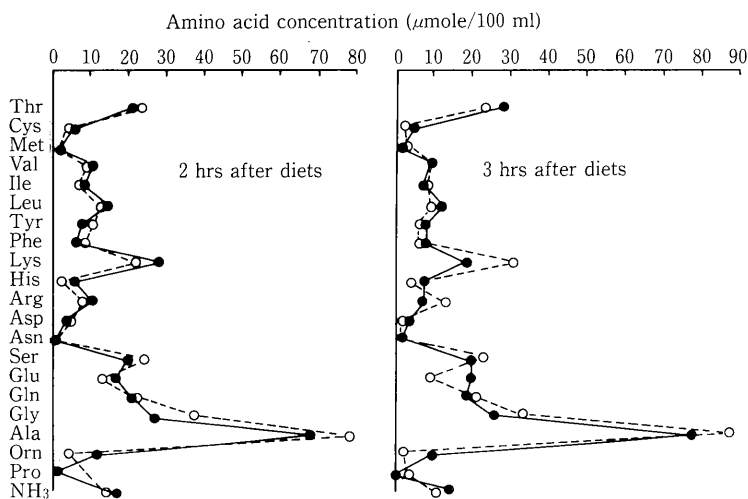


Fig. 3 Aminogram of portal blood of adult rats, 2 and 3 hours after intake of protein (○) or amino acid (●) diet.

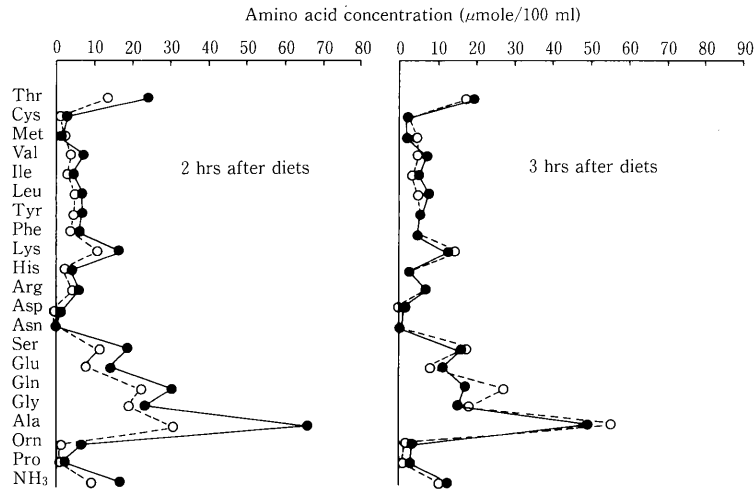


Fig. 4 Aminogram of venous blood of adult rats, 2 and 3 hours after intake of protein (○) or amino acid (●) diet.

の消化あるいは浸透圧調節といったことにどの程度依存し、また小腸での消化・吸収にどの程度依存するかを明らかにしなければならない。もちろん移行には窒素化合物以外の栄養素の影響もあろうが、今回の実験のように窒素源以外の栄養素を全く同じとし、なおかつ窒素レベルの低くない条件では、両窒素源そのものの移行に差がなかったと考えられる。現在のところ、なぜアミノ酸混合物の吸収がたん白質と差がないのかを明らかにしようとした研究は見当たらないが、ペプチドの吸収に関する報告はこの問題に対するヒントになるかも知れない。近年たん白質はアミノ酸にまで分解されなくても、ジペプチドあるいはトリペプチドの形で吸収されることが明らかとなっている¹⁶⁻¹⁸⁾。しかもペプチドの吸収はアミノ酸よりも速く、なおかつ吸収した部分のアミノ酸のバランスがよく整っていることが報告されている^{19,20)}。このようなことがたん白質がペプチドになるまでにある程度の時間を要するものの、結果的には消化を必要としないアミノ酸混合物と吸収速度に差を生じなかったのかも知れない。

今回の結果で門脈血のアミノグラムに両食餌群で差がなかったことは、たん白質が消化されてペプチドになることを考えると、ペプチドはアミノ酸混合物よりも吸収アミノ酸パターンが良いという Silk ら^{19,20)} の考えとは矛盾する。彼らの考えは少量の窒素源を直接小腸内に入れた短時間の実験条件のみで成立するのもかも知れない。普通の経口的な食物摂取を行った時には、相当多量の食物が胃内にあり、それが比較的長時間にわたって少量ずつ徐々に小腸へ送りこまれていく。こ

のような条件においても Silk らのこのようなバランスの悪い吸収がアミノ酸混合食の場合に起こっているとすると、吸収の遅いアミノ酸が小腸内にどんどん蓄積してゆかねばならないことになる。しかしわれわれの得た結果では、たん白質群でもアミノ酸群でも小腸内窒素量は割と少なく、特にアミノ酸量は極めて少なかったことから (Fig. 1), アミノ酸食で吸収の遅いアミノ酸が小腸内に蓄積していたとは考えられない。このようなことから、胃から小腸への窒素源の移行速度は吸収の速いアミノ酸ではなく、中あるいは遅いアミノ酸の吸収速度に近いのではないかと考えられる。もしこの考えが正しければ、Silk ら^{18,19)} の実験条件で生じるような投与アミノ酸の小腸内吸収の差は、正常な食餌摂取では起こらないか、あるいは起こったとしても小さいであろう。また仮にアミノ酸の体内への取り込み速度に差があるとしても、それが生体の窒素利用にどの程度の差として表れるかについては不明であり、今後の課題である。このように考えると、ペプチドを与えた時のバランスのとれた吸収アミノ酸パターンが、結局生体内での窒素利用をアミノ酸混合食を与えた時より高めるであろうという推測^{19,20)} には否定的にならざるを得ない。事実われわれの結果では、たん白質とアミノ酸混合物の食餌で、成長、窒素利用効率、体たん白質といった窒素利用を示す値に全く差が見られなかった。

以上考察したように、たん白質とアミノ酸の利用に差があるかないかは、主に消化・吸収の差によって考えられるので、今後はペプチドを加えてより詳細な研

究を進めて行く必要があろう。

要 約

分離大豆たん白質とその類似アミノ酸混合物の消化・吸収および生体内利用などを成熟ラットで比較した。

実験1では、1群のラットに20%アミノ酸混合食を3日間自由に与え、他群のラットにはアミノ酸群と等量の20%たん白質食を3日間与えた。その後24時間絶食とした後、それぞれの食餌を5g, 1時間のみ与えた。食後0～5時間まで1時間ごとにラットを殺し、胃、小腸内容物を洗い出して、たん白質とアミノ酸量を測定した。その結果、両食餌群の消化管内窒素量に差はみられなかった。

実験2では、実験食期間を2週間とした以外は実験1と全く同じ食餌条件とした。体重変化、食物摂取量、体水分、体たん白質を測定した。また最後の食餌をとって、2および3時間後の門脈および下大静脈血中遊離アミノ酸を測定した。その結果いずれの測定項目についても、たん白質食とアミノ酸食による差はみられなかった。

文 献

- 1) Rose, W.C., Coon, M.J. and Lambert, G.F. (1954): The amino acid requirements of man. VI. The role of the caloric intake. *J. Biol. Chem.*, **210**, 331-342.
- 2) Watts, J.H., Tolbert, B. and Ruff, W.L. (1964): Nitrogen balance for young adult male fed two sources of nonessential nitrogen at two levels of total nitrogen intake. *Metabolism*, **13**, 172-180.
- 3) Komatsu, T., Kishi, K., Yamamoto, T. and Inoue, G. (1983): Nitrogen requirement of amino acid mixture with maintenance energy in young men. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **29**, 169-185.
- 4) Anderson, H.L., Heindel, M.B. and Linkswiler, H. (1969): Effect on nitrogen balance of adult man of varying source of nitrogen and level of caloric intake. *J. Nutr.*, **99**, 82-90.
- 5) Clark, H.E., Stuff, J.T., Moon, W-H. and Bailey, B. (1975): Nitrogen retention and plasma amino acids of men who consumed isonitrogenous diets containing egg albumin or mixtures of amino acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **28**, 316-324.
- 6) Itoh, H., Kishi, T. and Chibata, I. (1973): Comparative effects of casein and amino acid mixture simulating casein on growth and food intake in rats. *J. Nutr.*, **103**, 1709-1715.
- 7) Itoh, H., Kishi, T. and Chibata, I. (1974): Plasma amino acids and stomach contents of rats fed casein and the corresponding amino acid mixture. *J. Nutr.*, **104**, 386-393.
- 8) Metta, V.C., Firth, J.A. and Johnson, B.C. (1960): Energy requirements of the adult rat fed an amino acid diet. *J. Nutr.*, **71**, 332-336.
- 9) Bosshardt, D.K., Brand, E. and Barnes, R.H. (1961): Nutritional equivalence of β -lactoglobulin and its corresponding amino acids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **107**, 979-981.
- 10) Sauberlich, H.E. (1961): Growth of rats fed protein-free diets supplemented with purified amino acid mixtures. *J. Nutr.*, **74**, 298-306.
- 11) Nakagawa, I. and Masana, Y. (1971): Effect of protein on growth and life span in the rat. *J. Nutr.*, **101**, 613-620.
- 12) Rama Rao, P.B., Metta, V.C. and Johnson, B.C. (1960): The amino acid composition and the nutritive value of proteins. II. amino acid mixtures as a dietary source of nitrogen for growth. *J. Nutr.*, **71**, 327-331.
- 13) Ahrens, R.A., Wilson, J.E. and Womack, M. (1966): Utilization of calories and nitrogen by rats fed diets containing purified casein versus a mixture of amino acid simulating casein. *J. Nutr.*, **88**, 219-224.
- 14) Katherine, D.B. and Jambunathan, G. (1974): Effects of elemental diets on gastric emptying and gastric secretion in man. *Am. J. Surg.*, **127**, 59-64.
- 15) 中辻博尊, 佐藤織江, 大塚慎一郎, 弓狩康三 (1979): 成分栄養剤 (ED-AC) の栄養学的効果に関する研究. 薬理と治療, **7**, 3551-3559.
- 16) Adibi, S.A. (1971): Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption. *J. Clin. Invest.*, **50**, 2266-2275.
- 17) Cook, G.C. (1973): Independent jejunal mechanisms for glycine and glycyglycine transfer in man in vivo. *Brit. J. Nutr.*, **30**, 13-19.
- 18) Adibi, S.A., Morse, E.L., Masilamani, S.S. and Amin, P.M. (1975): Evidence for two different

- modes of tripeptide disappearance in human intestine: uptake by peptide carrier systems and hydrolysis by peptide hydrolases. *J. Clin. Invest.*, **56**, 1355-1363.
- 19) Silk, D.B.A. and Clark, M.L. (1975): Jejunal absorption of an amino acid mixture simulating casein and an enzymic hydrolysate of casein prepared for oral administration to normal adults. *Brit. J. Nutr.*, **33**, 95-100.
- 20) Silk, D.B.A., Fairclough, P.D., Clark, M.C., Hegarty, J.H., Marrs, T.C., Addison, M., Burs-ton, D., Katherine, M.C. and Matthews, D.M. (1980): Use of peptide rather than free amino acid nitrogen source in chemically defined "elemental" diets. *JPEN* **4**, 548-553.