

飼料たん白質源の種類によるオリゴメチオンin補 足効果の相違と膵酵素分泌パターンの関連性

ACUTE AND CHRONIC RESPONSES OF PANCREATIC EXOCRINE
CARBOXYPEPTIDASE A SECRETION TO DIFFERENT DIETARY
PROTEINS AND OLIGOMETHIONINE IN RATS

桐山修八・知地英征・国枝由紀（北海道大学農学部）

Shuhachi KIRIYAMA, Hideyuki CHIJI and Yuki KUNIEDA

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

ABSTRACT

1. Acute effects of dietary proteins on the rate of oligomethionine digestion associated with pancreatic exocrine protease secretion: Methionine (Met) is the common first limiting amino acid in both 8% casein (8C) and 10% soybean protein isolate (10S) diets, and has a significant supplementary effect to these diets as assessed by rat growth. Similarly when 8C diet was supplemented with 0.3% oligomethionine preparation (a mixture of hexa- and hepta-peptides, abbreviated as OM) weanling rats grew at the same rate as that attained with a 8C+Met or 10S+Met diet. When OM was supplemented to 10S diet, however, little or no growth promotion was observed. The first aim of this study was to clarify the mechanism by which OM digestion or absorption was changed by the kind of dietary protein used. Rats maintained on 25C and 25S diets for 2 weeks were refed a 8C+3% OM or 10S+3% OM diet (2 g each) after overnight fast, and portal blood was collected 30 min after the start of the refeeding. Met concentration of the portal blood plasma (PBP) from rats refed the 8C+3OM diet was significantly higher than that of rats refed 8C, 10S, or 10S+3 %OM, irrespective of prefed dietary proteins. These differences in OM digestibility paralleled trypsin or carboxypeptidase A (CPA) activity in small intestinal contents. 2. Adaptive increase in pancreatic carboxypeptidase A activity and OM-digestion due to chronic ingestion of OM: Rats prefed 8C or 10S diet with or without added 3% OM for 2 weeks were fasted overnight and refed 8C or 8C+3 %OM (2 g each). Met concentration in PBP and pancreatic CPA, trypsin, and chymotrypsin activities were determined 30 min after refeeding. Only the rats previously consumed OM showed a significantly higher Met concentration in PBP in response to refeeding the OM-containing diet. Pancreatic CPA level was also significantly higher in rats fed OM previously. From these results, we concluded that luminal OM-digestion is increased by concurrent ingestion of the protein such as casein that is known to have potential capacity to stimulate pancreatic exocrine protease secretion, and that prolonged OM-feeding specifically enhances pancreatic CPA production, probably via stimulation of unknown secretagogue-releasing site different from that dietary protein interacts with. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 7, 35-40, 1986.

8%カゼイン飼料(8% Cas), 10%分離大豆たん白質 飼料(10% SPI)の第一制限アミノ酸はいずれもメチオ

ニン (Met) であり, 0.3% の Met を補足することによって共に栄養価は飛躍的に改善される。ところが, 0.3% のオリゴメチオニン (OM, 重合度 6 と 7 の混合物) の補足時には, 8% Cas でのみ補足効果が認められ, 10% SPI ではほとんどこれがみられない。すなわち, ベースとして用いたたん白質の種類によって, OM の消化性 (利用性) が著しく異なる。これは飼料たん白質の相違に対する膵外分泌の短期応答の違いによると推定した。この点を明らかにするのが本研究の第 1 の目的である。

一方, この研究過程で, 8% Cas に 3% の OM を添加した飼料でラットを 1 ~ 2 週間飼育したのち, 上記の短期応答を比較すると, 基本飼料群に比べて, あらかじめ OM を摂取していたラットで OM 消化性が有意に高いことを見出した (OM 摂取の有無による膵外分泌の長期適応)。この現象の解明が本研究の第 2 の目的である。本報告では, OM 消化性に関するこの短期並びに長期の膵外分泌について報告する。

実験方法

実験 1 (短期応答)

25% Cas でラット (平均体重約 70 g) を 2 週間飼育したのち, 5 群 (1 群 6 匹) に分け, 1 夜絶食後, 8% Cas, 8% Cas+3% OM, 10% SPI, および 10% SPI+3% OM の 4 種飼料を各 2 g 与え, 正確に 30 分後, 麻酔下で門脈血を採取し, 血漿 Met 濃度を測定した。同時に全小腸内容物を洗い出し, その中のカルボキシペプチダーゼ A, トリプシン, キモトリプシン活性を測定した。以下, 一般的方法是はほぼこれに準じて行った。

実験 2 (短期応答)

あらかじめ 25% Cas および 25% SPI で 2 週間飼育したラットを 1 夜絶食後, 8% Cas+3% OM あるいは 10% SPI+3% OM を各 2 g 与え, 30 分後の門脈血漿 Met 濃度を比較した。

実験 3 (長期応答)

8% Cas, 8% Cas+1% Met, および 8% Cas+3% OM 飼料でそれぞれ 2 週間飼育したラットを 1 夜絶食後, 8% Cas あるいは 8% Cas+3% OM を各 2 g 与え, 30 分後の門脈血漿 Met 濃度を比較した。

実験 4 (長期応答)

10% SPI および 10% SPI+3% OM でそれぞれ 2 週間飼育したラットに, 1 夜絶食後 10% SPI+3% OM を各々 2 g 与え, 30 分後の門脈血漿 Met 濃度を比較した。

実験 5 (長期応答)

8% Cas, 8% Cas+3% OM, 10% SPI, および 10%

SPI+3% OM の 4 種の飼料でラットを飼育し成長を比較するとともに, 2 週間後, 膵中のペプチダーゼ活性を比較した。

実験 6

60% 米粉飼料 (Rice), 5% フィブリン飼料 (5% Fib) にメチオニン以外の必須アミノ酸が 8% Cas と同レベルになるまで添加して Met を第一制限アミノ酸とした飼料をそれぞれ基本飼料とし, それぞれに Met あるいは OM を 0.3% 補足し, ラットの成長速度を比較した。

結果と考察

実験 1

あらかじめ標準飼料 25% Cas で 2 週間飼育したラットに 10% SPI, 8% Cas を与えた後の門脈血漿 Met は, 絶食時レベルに比べやや高くなる程度で大差はなかったが, 3% OM を添加した飼料では明らかに上昇した。この時の Met 上昇は Cas をベースとした飼料でとくに著しかった (Fig. 1)。

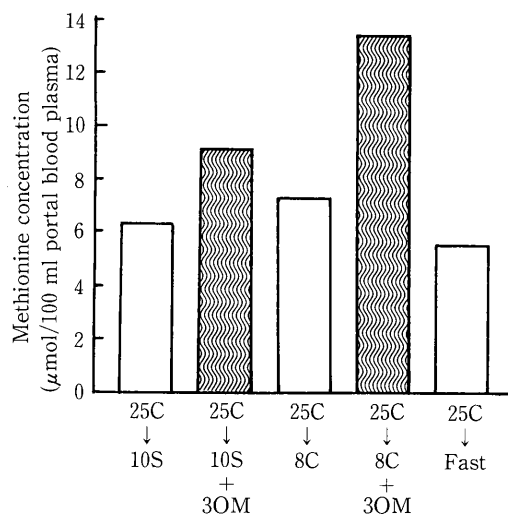


Fig. 1. Comparison of methionine concentration in portal blood plasma from 30-h fasted rats refed 8% casein (8C) and 10% SPI (10S) diets with or without addition of 3% oligomethionine (3OM, a mixture of hexa- and hepta-peptides). Rats were maintained on a 25% casein (25C) diet for 2 weeks before the fast (experiment 1).

小腸内容物中の膵外分泌酵素量は門脈血漿 Met 濃度とほぼ対応していた (Fig. 2)。

これらのことは, 飼料たん白質の種類によって膵

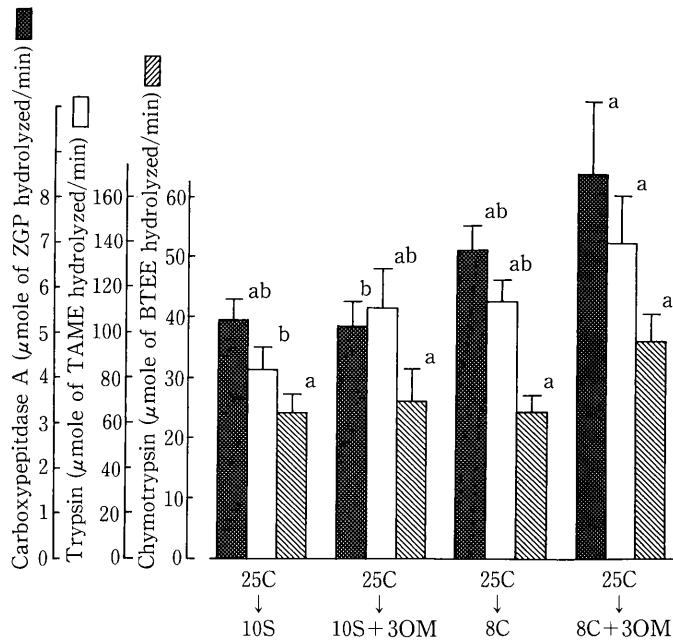


Fig. 2. Total activities of carboxypeptidase A, trypsin and chymotrypsin in small intestinal contents from 30h-fasted rats refed 8% casein (8C) and 10% SPI (10S) diets with or without addition of 3% oligomethionine (3OM). Rats were maintained on a 25% casein (25C) diet for 2 weeks before the fast (experiment 1). Values with different superscript letters within the same symbol differed significantly by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

ロテアーゼ類の分泌量が変わり、ひいてはOM消化速度に違いが生じることを示唆している。CasはSPIより膵外分泌刺激が大きいという一般的知見と一致している。

実験2

ここでは、あらかじめ与えてきたたん白質の違いによって、短期の膵外分泌応答が異なるかどうかを調べた。まず絶食後の門脈血漿 Met 濃度は SPI 飼料摂取群より Cas 飼料を摂取してきた群の方が高かった。また、それまで食べてきたたん白質の種類に関係なく、OM添加飼料投与30分後の門脈血漿 Met 濃度は有意に上昇した。しかし、両群とも、10% SPI+3% OM投与後よりも、8% Cas+3% OM投与後の方が更に有意な上昇が見られた (Fig. 3)。

これらの結果も、実験1と同様、短期応答におけるOMの消化性はCasと同時に摂取したときの方が高く、CasはSPIより膵外分泌を促進する効果の大きいことを示すものである。

実験3

この実験は、あらかじめOMを摂取していたかどうかによりOM消化能力が適応的に高まるかどうかを確認する目的で行ったものである。

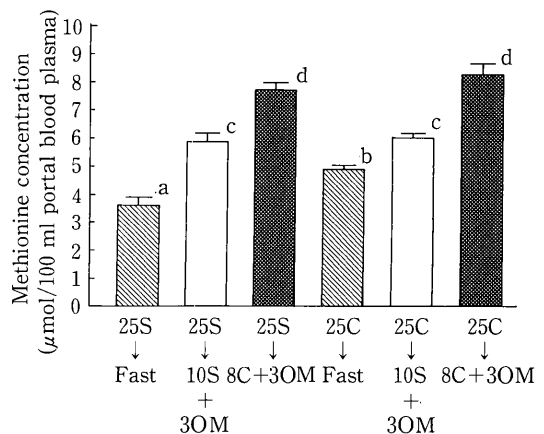


Fig. 3. Comparison of methionine concentration in portal blood plasma from 30h-fasted rats refed 8% casein (8C) and 10% SPI (10S) diets supplemented with 3% oligomethionine (3OM). Two groups of rats were fed 25% casein and 25% SPI diets, respectively, for 2 weeks prior to fasting (experiment 2). Values without common superscript letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

あらかじめ 8% Cas のみ、あるいは 8% Cas+1% Met を 2 週間食べていたラットでは、OM 含有飼料 (8% Cas+3% OM) を与えても、30 分後の門脈血漿 Met 濃度の上昇は 8% Cas+3% OM 飼料を 2 週間食べてきたラットに比べ小さく、後者において OM 消化が有意に加速されていることが明らかになった (Fig. 4)。

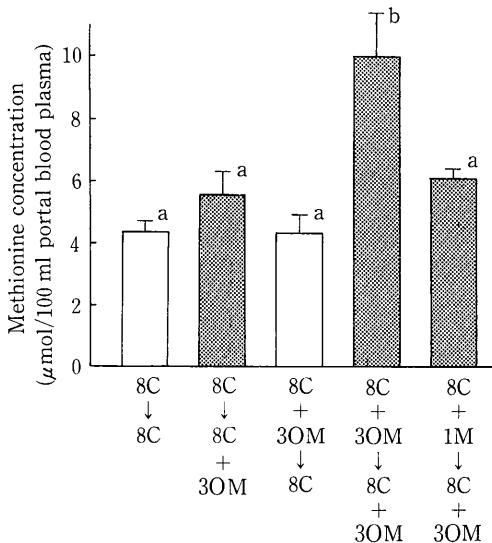


Fig. 4. Methionine concentration in portal blood plasma from 30h-fasted rats refed 8% casein (8C) diet with or without the addition of 3% oligomethionine (3OM). The rats were fed 8C, 8C+3OM, or 8C+1% Met (8C+1M) diet for 2 weeks before the fast (experiment 3). Values without common superscript letter are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

実験 4

Fig. 5 に示したように、SPI を飼料たん白質とした場合にも、あらかじめ過剰の OM を食べつづけてきた群では 10% SPI+OM 投与 30 分後の門脈血漿 Met 濃度の上昇は有意に高くなった。

実験 5

実験 3, 4 にみられた現象には種々の要因の関与が考えられるが、実験 1, 2 の短期応答の結果から類推して、まず主要因の 1 つとしては、過剰 OM の長期摂取によって膵のカルボキシペプチダーゼ A の合成能、外分泌能の亢進による可能性が推定されるので、これを調べた。

8% Cas, 10% SPI およびこれらにそれぞれ 3% OM

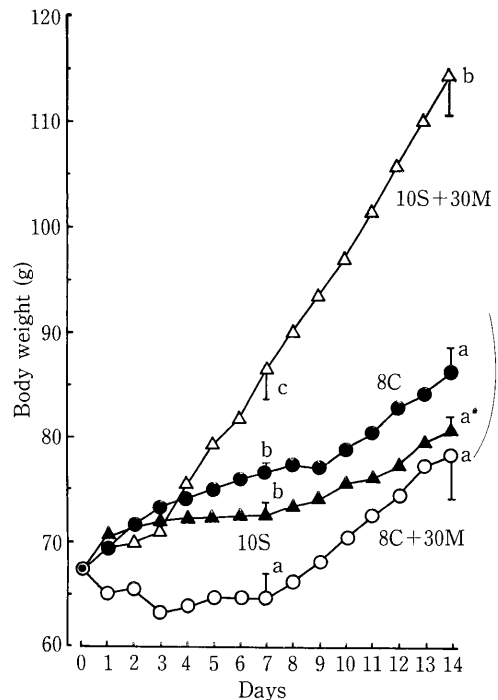


Fig. 5. Growth curves in weanling rats fed 8% casein (8C) and 10% SPI (10S) diets with or without the addition of 3% oligomethionine (3OM) (experiment 5). Values on day 7 and day 14 represent means \pm SEM from 6 rats. Values with different superscript letters differed significantly as determined by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

を添加した飼料で 2 週間飼育したのち、膵酵素活性の変化をみると、Fig. 6 のようにカルボキシペプチダーゼ A およびトリプシン活性は OM 摂取歴の有無により明らかに異なった。8% Cas+3% OM では Met 過剰毒性が生じ、8% Cas 群より成長が抑制されているにもかかわらず (Fig. 7), これら酵素活性は約 2 倍に上昇していた。

SPI をベースとする飼料では 3% OM 添加でも過剰毒性は生じないから (Fig. 7), SPI は共存する OM の消化性に対して Cas 程の効果のないことは明らかであるが、膵カルボキシペプチダーゼ A の総活性は高かった。これは 3% OM でむしろ補足効果を示し、最終体重が大きく膵重量も大きかったことによるものである。実際比活性で比較すると有意差はなくなった。

これらの結果は、膵酵素活性はそれまで摂取してきた飼料たん白質の量、質のみならず、現存生物がかつ

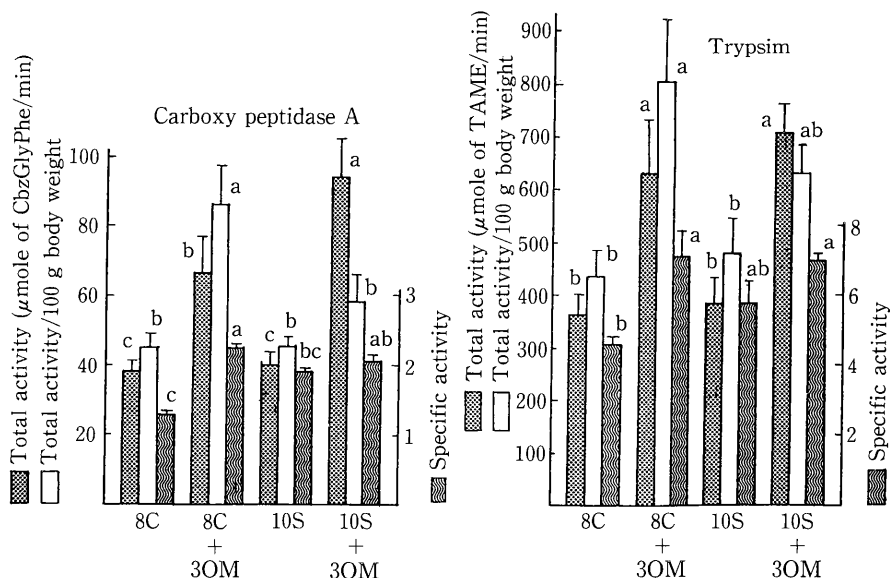


Fig. 6. Pancreatic protease activity of rats fed 8% casein (8C) and 10% SPI (10S) diets with or without 3% oligomethionine (30M) for 2 weeks (experiment 5). Values of each bar with different superscript letters are significantly different within the same symbol by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

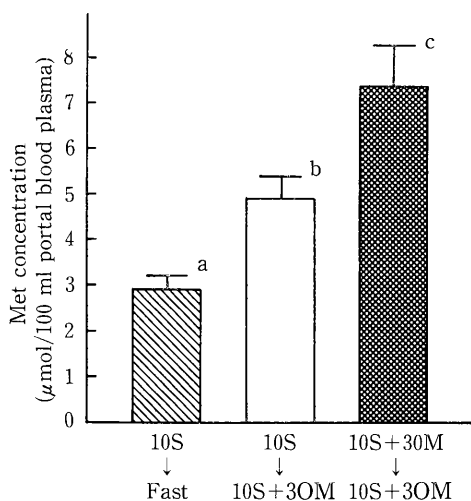


Fig. 7. Methionine concentration in portal blood plasma from 30 h-fasted rats refed 10% SPI diet (10S) supplemented with 3% oligomethionine (30M). The rats were fed 10S or 10S+30M diet for 2 weeks before the fast. Values with different superscript letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

て食べたことのなかった OM のような特殊なペプチ

ドにも応答する可能性を示唆するものであ。

以上の結果を総合して、(1) 飼料たん白質が胃から十二指腸に送り出されたとき、膵外分泌を刺激する活性が異なるため、共存する OM の消化性が異なり、これが Cas と SPI 飼料への OM 補足効果の相違の主要因であると考えられる。(2) 過剰の OM を 1～2 週間摂取しつづけると、ラットの OM 消化性は高まるが、この主要因の 1 つは膵カルボキシペプチダーゼ A の合成能、外分泌機能の亢進にもとづくものである。この機構の解明は、たん白質とアミノ酸混合物の栄養価の相違の原因を知る上で 1 つの鍵を与えると予想され、今後の重要な課題と考えている。

実験 6

本実験は実験 1, 2 の現象がその他のたん白質でもみられるかどうかみるため、米たん白質、フィブリンについて調べたものである。結果は Fig. 8 に示した。Rice では Met と OM の間で有意差はなかったが、OM の補足効果はやや劣るようで、SPI に近い性質を示した。一方、5% Fib では Cas と同様、Met と OM の間の補足効果に全く差がみられなかった。このような飼料たん白質のどのような性質が OM 消化性、すなわち膵酵素引き出し能に関与するかを明らかにすることは、食品たん白質の栄養価との関連で重要な側面と思われる。

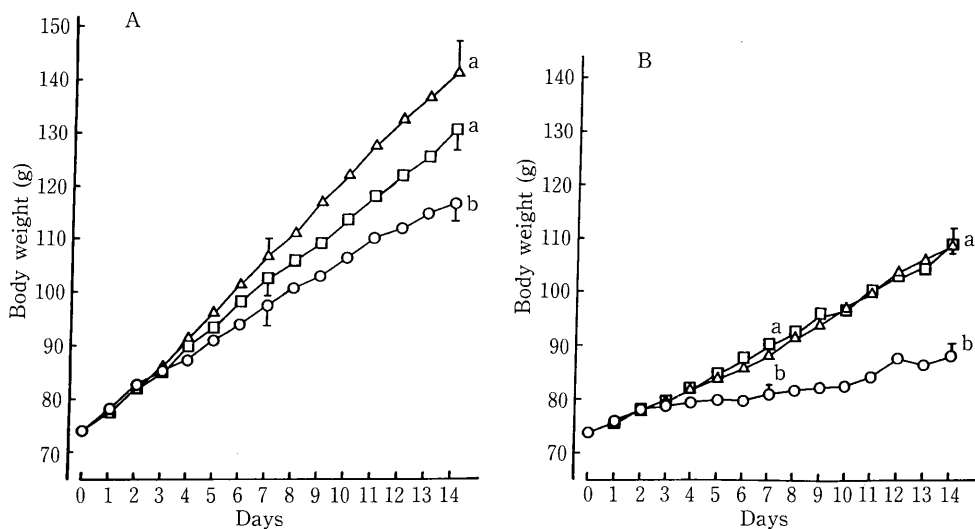


Fig. 8. Growth curves in rats fed diets containing 60% rice (○—○), 60% rice+0.3% methionine (△—△), and 60% rice+0.3% oligomethionine (□—□) (A), and in rats fed diets containing 5% fibrin (○—○), 5% fibrin+0.3% methionine (△—△), and 5% fibrin+0.3% oligomethionine (□—□) (B). Values with different superscript letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).