

飼料たん白質の種類によるオリゴメチオニン補足 効果の相違と膵酵素分泌パターンの関連性

DIFFERENTIAL EFFECTS OF OLIGO-L-METHIONINE SUPPLEMENTED TO VARIOUS DIETARY PROTEINS AND EXOCRINE PANCREATIC ENZYME SECRETION IN RATS

桐山修八・知地英征・尹 曉紅（北海道大学農学部）

Shuhachi KIRIYAMA, Hideyuki CHIJI and Xiaohong YIN

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo 060

ABSTRACT

When oligo-L-methionine (OM, a mixture of hexa- and hepta-peptides) was supplemented to an 8% casein- and a 10% soybean protein isolate (SPI) diets (8C and 10S), supplementary effect of OM was observed only in 8C diet. In order to clarify the cause of the differences, we compared the digestibility of OM by measuring the increments of Met concentration in the portal blood plasma 30 min after refeeding diets containing various protein sources with or without added OM to 30 hr-fasted rats. Dietary protein sources used here were rice powder, wheat gluten, defatted peanut powder, potato protein isolate and defatted-powder from tuna, salmon, scallop and cod meats. Also, the supplemental effect of 0.3% OM and 0.3% Met was studied on the Met-limited diets containing three proteins (6.2% cod, 8% potato and 7.5% gluten) in which each essential amino acid (EAA) content was equalized to the 8C diet by the addition of EAA except for Met. The supplementation of OM to a low cod protein diet did not improve the growth rate. When OM was supplemented to a low potato protein diet, the growth rate was significantly improved, but the weight gain was lower than that of rats fed the Met-supplemented diet. On the other hand, supplementation of OM to a low gluten diet significantly increased the growth rate, it being the same as that of rats fed the Met-supplemented diet. The different growth-promoting effect of OM supplemented to three diets roughly paralleled with the degree of increments of Met concentration in portal blood in rats refed diets containing various proteins with and without added 3% OM. From the present and previous results, we concluded that the digestibility of OM is dependent on the dietary protein source which changes exocrine pancreatic enzyme secretion. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 59-63, 1987.

0.3%オリゴメチオニン（OM、重合度6～7の混合物）を8%カゼイン飼料（8C）に添加すると、0.3%メチオニン（Met）と同程度の補足効果を示すが、肝脂肪の異常蓄積、即ちスレオニンインバランスが起これにくいことを報告した¹⁾。しかし、10%分離大豆たん白質

飼料（10S）に0.3% OM を添加しても遊離 Met ほど成長が改善されなかった。次に8Cと10SにOMを3%添加し、成長を比較してみると、8Cでは3%OMの添加によって初日から過剰毒性による成長の低下が見られるのに対し、10S+3%OMでは、0.3%Met 添加

時と同じ成長回復を示した²⁾。これはたん白質の種類によって OM の消化性が異なるためと推定した。そこで、絶食ラットに OM 添加飼料を投与し、30分後の門脈血 Met 濃度を測定した結果、8C+3% OM 投与群は 10S+3% OM 投与群より Met 濃度が有意に高かった²⁾。

本研究では、この飼料たん白質の種類による OM 補足効果の相違の原因を明らかにするため、胆膵液による OM の in vitro での加水分解速度と、3% OM を添加した動物性及び植物性たん白質（各 4 種類）飼料を投与後の門脈血中 Met 濃度を調べた。更にこの実験で、門脈 Met 濃度の変化に差のみられた、たら、馬鈴薯、小麦グルテンの 3 種たん白質源に対する OM 補足効果を比較した。

実験方法

OM 及び飼料たん白質の調製

OM は荒井ら³⁾と Jost ら⁴⁾の方法によって L-メチオニンエチルエステルから酵素的に合成した。飼料たん白質はまぐろ (tuna)、たら (cod)、さけ (salmon)、はたて貝柱 (scallop)、加熱処理落花生 (peanut)、小麦グルテン (gluten)、馬鈴薯たん白質 (potato)、こめ粉 (rice) を用いた。なお魚介たん白質は水煮後、クロロホルム-メタノール (2:1, v/v) で十分脱脂し、乾燥した。落花生はオートクレーブで加熱処理後、粉碎し、上と同様に脱脂した。馬鈴薯たん白質はデンプン採取後の搾汁液に等量のエタノールを添加し、加熱処理後、沈殿を 50% エタノールで繰返し洗浄し、乾燥したものを用いた。こめ粉はキタヒカリから作成し、小麦グルテンは市販品を用いた。

動物実験と分析

(1) 胆膵液による OM の in vitro での加水分解速度 (実験 1)

ラットの総胆管から採取した胆膵液 (1 ml) とトリス塩酸緩衝液 (pH 7.6)、または 2% エンテロキナーゼ (0.5 ml) の混合液に OM (5 mg) を加え、37°C で 0、20、40、60、80、150 分間振盪培養し、加熱失活後、上澄液についてアミノ酸分析を行った。

(2) たん白質源の種類による OM の消化性 (実験 2, 3)

3 週令 SD 系雄ラット (体重約 50 g) を 25% casein 飼料で 14 日間飼育し、1 日絶食後、実験飼料 2 g を与え、30 分後、麻酔下門脈から採血し、Met 濃度を測定した。実験 2 の飼料としては 8% tuna、8% tuna+3% OM、8% cod、8% cod+3% OM、12.6% peanut、12.6% peanut+3% OM を、実験 3 では 8% salmon、

8% salmon+3% OM を用い、各群 6 匹で行った。

(3) 各種たん白質飼料に対する Met 及び OM の補足効果 (実験 4)

8C と同じ Met+Cys 含量になるように各たん白質レベルを調節し、他の必須アミノ酸は casein と同等になるよう遊離アミノ酸を添加し、更に不足する窒素量はクエン酸二アンモニウム (DAC) で補足した飼料 (7.5% gluten, 8% potato, 6.2% cod) を用いた。なおその他の栄養素は十分量含まれている。これらの基本飼料に 0.3% Met、又は 0.3% OM を補足し、3 週令の SD 系雄ラットの成長速度を比較した。

結果と考察

胆膵液による in vitro での OM の加水分解速度 (実験 1)

実験 1 の結果を Fig. 1 に示した。OM を添加しないと、エンテロキナーゼを同時添加しても Met は全く増加しなかった。エンテロキナーゼにより活性化した場合 OM を添加するとほぼ直線的に Met が増加し、Met 遊離速度は無添加時の約 3 倍に上昇した。di-Met も Met とほぼ同量検出された。したがって OM は膵プロテアーゼによって遊離 Met や di-Met (一部は tri-Met) 迄加水分解され吸収されていると推定される。

たん白質源の種類による OM の消化性 (実験 2, 3)

Fig. 2 に示したように、実験 2 の結果では、tuna、gluten 群で門脈血 Met 濃度が高く、次いで cod 群の順で、peanut 群が一番低かった。実験 3 では、rice、scallop、salmon 群が高く、potato 群が一番低かった。そこで各たん白質に 3% OM を添加した群と無添加群の門脈血 Met 濃度の差をとって大きい順に並べて比較したのが Fig. 3 である。scallop、rice、gluten、tuna、salmon の順で高く、peanut、potato、cod が低かった。この結果から OM の消化性の良否は必ずしも動物性たん白質と植物性たん白質で区別することが出来ないと言える。次にこの門脈血 Met の増加量と各たん白質中の Lys+Arg 含量との相関関係を調べた結果、Fig. 4 に示したように両者の間には相関が認められなかった。たん白質の種類による OM の消化性の相違について、トリプシン親和性基 (Lys 及び Arg 残基) の数だけでは説明できず、今後の興味ある課題である。

各種たん白質飼料に対する Met 及び OM の補足効果 (実験 4)

実験 2、3 で門脈血 Met 濃度に差の認められた cod、potato、gluten のたん白質を用い、8C と同じ Met+Cys レベルになるよう添加量を定め、不足する必須ア

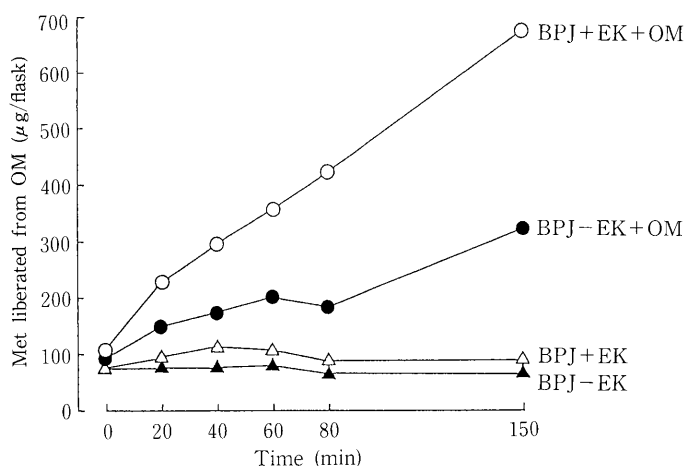


Fig. 1. Hydrolysis of oligomethionine (OM) by bile-pancreatic juice (BPJ) in vitro. EK, enterokinase

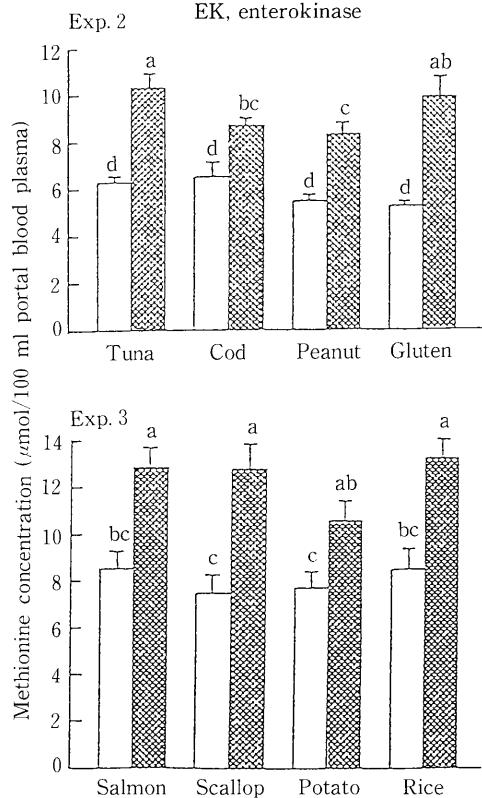


Fig. 2. Comparison of methionine concentration in portal blood plasma from 30-h fasted rats refed the diets containing various proteins with or without 3% oligomethionine (3%OM, a mixture of hexa- and hepta-peptides)(Expts. 2 and 3). Rats were maintained on a 25% casein diet for 2 weeks before the fast. Values with different superscript letters among the same symbol of each experiment are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) 3% OM-supplemented diet, non-supplemented diet

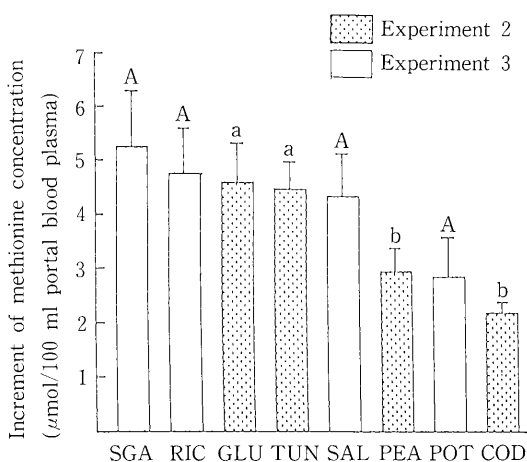


Fig. 3. Increments of methionine concentration in portal blood plasma about fasting level of 30h-fasted rats refed the diets containing various proteins with and without 3% oligomethionine (3% OM). Rats were maintained on a 25% casein diet for 2 weeks before the fast. Values with different superscript letters within the same symbol differed significantly as determined by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Dietary protein sources and their dietary levels are as follows: SGA; 11.1% scallop, RIC; 88.3% rice, GLU; 10.3% gluten, TUN; 8% tuna, SAL; 8% salmon, PEA; 12.6% peanut, POT; 8.8% potato, COD; 8% cod.

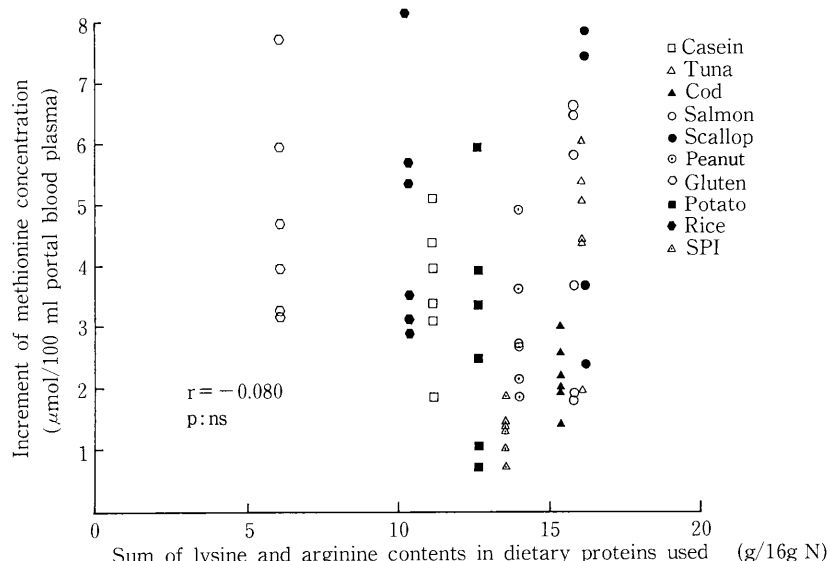


Fig. 4. Correlation between the contents of basic amino acids (lysine plus arginine) of dietary proteins and increments of methionine concentration in portal blood plasma from 30h-fasted rats refed the diets containing these proteins with and without addition of 3% oligomethionine.

ミノ酸と窒素量は遊離アミノ酸とクエン酸二アンモニウムを加え(Table 1), 含硫アミノ酸のみが不足する飼料を作成した。これらの飼料に0.3% Met 及び 0.3%

OM を添加し、その補足効果を調べた結果を Fig. 5 に示した。

Cod 飼料の場合、OM 添加群は Met 添加群に比べ

Table 1. Amino acid composition in dietary proteins and amino acid contents supplemented to the diets containing these proteins

	8% Casein		7.5% Gluten diet		8% Potato diet		6.2% Cod diet	
	AA		AA	AA added	AA	AA added	AA	AA added
	%		%	%	%	%	%	%
Arg**	0.230		0.208	0.027	0.333	—	0.337	—
His**	0.181		0.126	0.074	0.130	0.069	0.116	0.088
Leu	0.604		0.404	0.200	0.684	—	0.438	0.166
Ile	0.329		0.237	0.092	0.408	—	0.267	0.062
Lys**	0.464		0.104	0.500	0.483	—	0.509	—
Met	0.172		0.084	—	0.136	—	0.170	—
Cys	0.067		0.155	—	0.102	—	0.069	—
Phe	0.377		0.340	0.221	0.453	—	0.176	0.376
Tyr	0.376		0.192	—	0.329	—	0.201	—
Thr	0.244		0.143	0.101	0.329	—	0.250	—
Val	0.425		0.231	0.194	0.451	—	0.293	0.132
Trp*	0.095		0.051	0.044	0.077	0.018	0.057	0.038
N from								
Protein (%)	1.13		0.82		1.03		0.88	
AA added (%)	—		0.183		0.016		0.096	
DAC (%)	—		0.127		0.084		0.154	

* Values were taken from Standard Tables of Food Composition in Japan, Amino Acid Composition of Foods, revised edition (1986), Resources Council, Science and Technology Agency.

**Arg, His and Lys were used in the form of HCl salt.

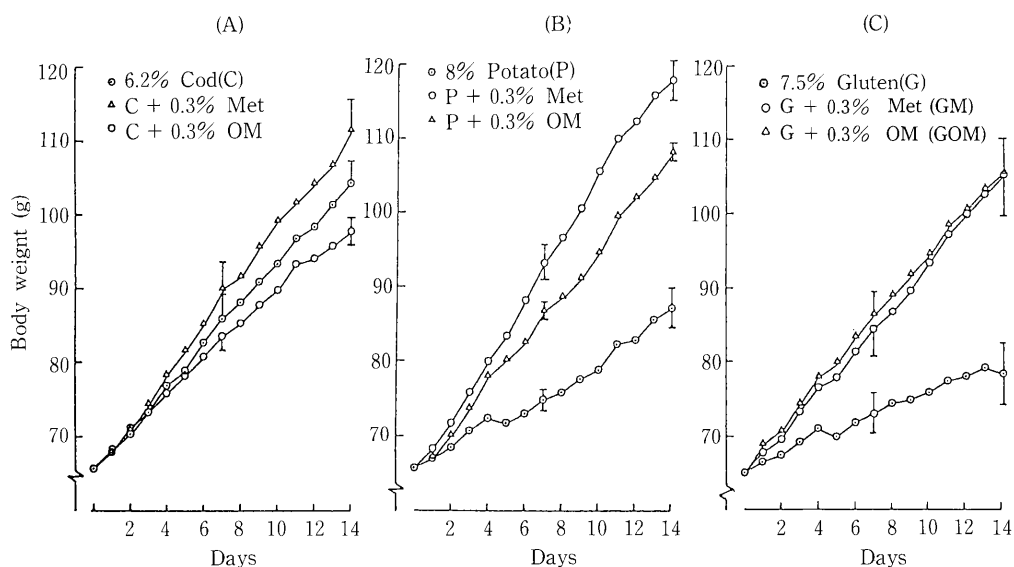


Fig. 5. Growth curves in rats fed diets containing 6.2% cod (●—●), 6.2% cod + 0.3% Met (△—△), and 6.2% cod + 0.3% OM (○—○) (A), in rats fed diets containing 8% potato (●—●), 8% potato + 0.3% Met (○—○), and 8% potato + 0.3% OM (△—△) (B), and in rats fed diets containing 7.5% gluten (●—●), 7.5% gluten + 0.3% Met (○—○), and 7.5% gluten + 0.3% OM (△—△) (C).

補足効果は小さく、基本飼料群との間に有意差がなかった。ただし、cod 飼料は含硫アミノ酸が同程度不足しているにもかかわらず他の基本飼料群より成長速度が大きい理由は不明である。potato 飼料に Met, OM を補足すると、有意に成長が改善されたが、OM 添加群は Met 添加群より低かった。gluten 飼料に OM を添加すると基本飼料に比べ有意に成長が改善され、その補足効果は Met 添加群と同じであった。これらの結果は、実験 2 の門脈血 Met 濃度の結果とほぼパラレルであり、今後、たん白質源の種類を増やして実験を行うことにより、たん白質源の種類による OM の補足効果の相違と膵酵素分泌活性との関連性が明らかになると思われる。

文 献

- 1) 桐山修八, 葛西隆則, 知地英征, 原山耕一, 西野圭子 (1984): 低カゼイン, および低大豆たん白質飼料に対するメチオニンとオリゴメチオニン補

足の栄養的相違. 大豆たん白質栄養研究会誌, **5**, 31-37.

- 2) 桐山修八, 知地英征, 国枝由紀 (1986): 飼料たん白質源の種類によるオリゴメチオニン補足効果の相違と膵酵素分泌パターンとの関連性. 大豆たん白質栄養研究会誌, **7**, 35-40.
- 3) Arai, S., Yamashita, M. and Fujimaki, M. (1979): A novel one-step process for enzymatic incorporation of amino acids into proteins: papain-catalyzed polymerization of L-methionine ethyl ester and its regulation by adding a protein substrate. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1069-1074.
- 4) Jost, R., Brambilla, E., Monti, J. C. and Luis, P. L. (1980): Papain catalyzed oligomerization of α -amino acids. Synthesis and characterization of water-insoluble oligomers of L-methionine. *Helv. Chim. Acta*, **63**, 375-384.