

¹⁵N標識大豆を用いた食事性たん白質の体内移動速度に関する考察

ENTRY OF INTAKE PROTEIN-DERIVED NITROGEN INTO THE BODY : A STUDY WITH ¹⁵N-LABELLED SOY PROTEIN

荒井 綜一 (東京大学農学部)

木村 廣子 (女子栄養大学)

Soichi ARAI¹ and Hiroko KIMURA²

¹Faculty of Agriculture, The University of Tokyo,
Tokyo 113

²Kagawa Nutrition College, Tokyo 170

ABSTRACT

The entry of ingested soy protein-derived nitrogen into the body was investigated with ¹⁵N-labelled soy protein. The labelled soy protein was obtained as an acid-precipitated fraction from soybeans which had been harvested after fertilization with ¹⁵N ammonium sulfate. The acid-precipitated protein, containing 13.3% nitrogen and 1.75% ¹⁵N, was used to prepare a diet with a protein level of 10%. Male rats (Wistar strain) were given the diet by meal feeding and then sacrificed to investigate time-course changes in ¹⁵N in the small-intestinal tract and circulation system. A time-course change in ¹⁵N in urine was also analyzed. In the small-intestinal tract the nitrogen derived from the ingested soy protein reached a maximum 2 hr after feeding, representing almost 50% of the total nitrogen. A similar time-course profile was obtained by analysis of the amino acid nitrogen in the portal vein, whereas in the systemic blood the ingested soy protein-derived nitrogen reached a maximum 4-6 hr after feeding, account for 25% of the total amino acid nitrogen. Almost one-fourth of the ingested soy protein-derived nitrogen was excreted in the urine within 24 hr after feeding. The study suggests that it is possible to describe quantitatively the cascade of the dietary nitrogen after feeding by the present method using a protein labelled with the stable isotope ¹⁵N. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **10**, 28-30, 1989.

¹⁵N 硫安施肥により、生育時に ¹⁵N で標識した大豆たん白質を用いて、食事由来たん白質の小腸管腔内での共存状態、生体内での移動速度、更に分解後の尿中への排出等につき、動物実験により経時的に追跡した。

実験方法

¹⁵N 標識大豆の分離たん白質 (¹⁵N-SPI) の調製

¹⁵N 硫安アンモニウムを施肥して得られた大豆 (品種：キタムスメ、北海道農試産) を50メッシュ以下に

粉碎し、脱脂後、酸沈 (pH 4.5) によりたん白質を分離した (Fig. 1)。窒素含量とアミノ酸組成を測定した。¹⁵N の測定は発光法 (Dumas の変法¹⁾) により、¹⁵N アナライザー (日本分光, NIA-150型) を用いて ¹⁵N の存在比を求めた。

動物試験

前記により得た ¹⁵N-SPI を試料として、たん白質が10%となるよう常法により²⁾ 飼料を配合した。

被検動物には、ミールフィーデングを学習した7週

齢のウィスター系ラットを用い、実験期にはまず無標識 SPI 飼料を6日間投与し、解剖日のみ ^{15}N -SPI 飼料を投与した。

摂食後、0, 1, 2, 3, 4時間の各時点で門脈血および循環血を採取し、その血清を1%ピクリン酸処理した後 ^{15}N を測定した。

また各時点における小腸管腔内容物中 TCA 可溶区の ^{15}N 存在比の変化から、食事性たん白質と内因性たん白質との動的共存状態をみた。

時間を24, 48時間延長し、肝、腎、脾、脳など諸臓器への ^{15}N の移動をしらべた。

更に、食事性たん白質由来の窒素の体外排出をみるため採尿し、 ^{15}N -SPI 摂取後7日間にわたって、尿中総 N と ^{15}N 存在比を測定した。

糞中 ^{15}N から消化吸収率を算出した。

結果と考察

前記に従い調製した ^{15}N -SPI の窒素含量は13.3%, ^{15}N 濃度は1.713 atom%であった (Table 1)。

小腸管腔内の総 N 量と ^{15}N 存在比から算出された食事由来窒素量の経時的な変化を Fig. 2 (下半部) に示した。総窒素量から食事性窒素を差引き、内因性窒素として同図の空白部に示した。食事由来窒素は2時間で最高に達し、全窒素の52%を占めていた。しかし4時間後もそれほど減少せず、最高時の80%であり、

全窒素の50%が食事由来であった。

更にこの小腸内容物を限外濾過装置で分子量別に分離して ^{15}N の存在状態から内因性窒素の分子量別分布状態をしらべたところ、1,000~2,000ダルトン画分に

Table 1. Amino acid composition of the ^{15}N -labelled soy protein isolate

Amino acid	Content (%)
Lys	6.30
His	2.80
Arg	7.71
Asx	11.82
Thr	3.98
Ser	5.48
Glx	18.73
Pro	5.43
Gly	4.27
Ala	4.50
Cys	1.13
Val	4.57
Met	1.09
Ile	4.58
Leu	8.22
Tyr	3.74
Phe	5.89
Trp	0.98

^{15}N ; 1.713 atom%

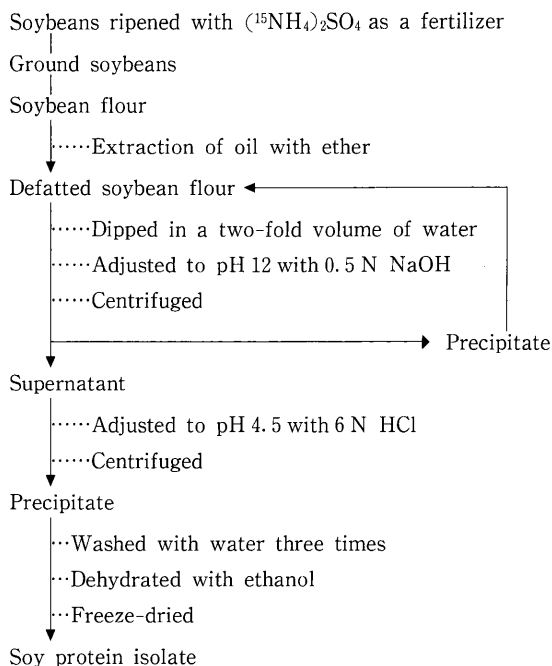


Fig. 1. Process for producing ^{15}N -SPI from soybeans.

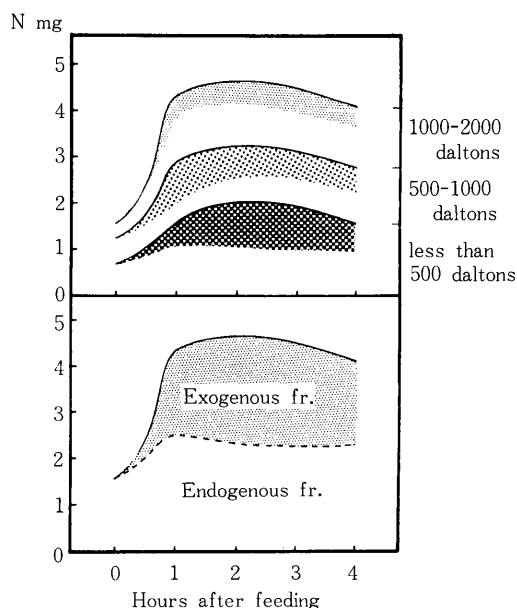


Fig. 2. Time-course change in endogenous and exogenous (dietary) peptide fractions in the small-intestinal tract.

多く存在した (Fig. 2 上部) 内因性窒素の比率は大きな変動を示さなかった。

門脈血清 (ピクリン酸処理) 中の食事性窒素は小腸管内のそれと全く同じ経時変化を示した。

循環血中食事性窒素の挙動は、門脈血と異なり 1～3 時間ではピークに達せず、4～6 時間の時点で最高に達し血清 (ピクリン酸処理) 中全窒素量の 25% に及んでいた。

肝臓 (切片全窒素) への移動は速く、食事性窒素の寄与率は摂食開始後 1 時間で 1.4%、4 時間で 2.1%、24 時間で 5.0% に及んでいた (Fig. 3)。この移動速

度は、 ^{15}N 標識 (単一) アミノ酸を用いた他の研究者の結果と幾分ちがいがあがあるが、包括的に考えれば、24～36 時間は食事性窒素由来の組織たん白質はほとんど失われていない。

食事性窒素の尿中への排出は、一日尿として総窒素の 22% が、3 日間累積尿中に 33% が、7 日尿で 42% であった。

以上、通常の食品たん白質への安定同位体の標識はヒトにおいても応用でき、極めて自然な状態で消化、吸収およびアミノ酸代謝に関する直接的な情報を得ることが出来、特にアミノ酸等の臨床研究に有用であると考ええる。

文 献

- 1) 木村廣子 (1983) : 発光法による ^{15}N 分析法. 臨床検査, **27**, 506-511.
- 2) Harper, A. E. (1959) : Amino acid balance and imbalance. I. Dietary level of protein and amino acid imbalance. *J. Nutr.*, **68**, 405-418.
- 3) 山本 茂, 力丸 徹, 上江州典子, 井上五郎 (1980) : “重窒素研究法” (三井他編), 学会出版センター p. 240.

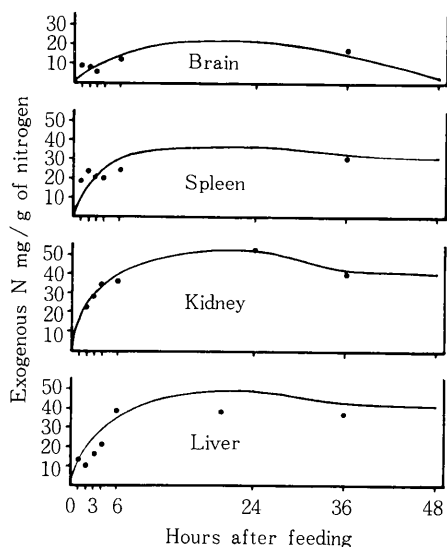


Fig. 3. Time-course changes in exogenous (dietary) nitrogen in organs.