

消化吸收障害ラットにおける大豆たん白質ペプチドの栄養効果

EFFECTS OF SOY PROTEIN PEPTIDE ON NUTRITIONAL STATE AND SMALL INTESTINAL FUNCTION IN SHORT-BOWEL AND METHOTREXATE TREATED RATS

井原美佳・宮ノ前朋子・木戸康博・岸 恭一（徳島大学医学部）

Mika IHARA, Tomoko MIYANOMAE, Yasuhiro KIDO and Kyoichi KISHI

Department of Nutrition, School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima 770

ABSTRACT

The effects of different forms of nitrogen source on nutritional state and small intestinal function were investigated in rats with short-bowel (Exp. 1) and injected with methotrexate (MTX) (Exp. 2). In Exp. 1, 80% small intestine resected rats (SB group) and control sham-operated rats (C group) were both fed *ad libitum* 10% (N×6.25) diets containing soy protein isolate (SPI), soy protein peptide (SPP) or amino acid mixture (SAA) simulating soy protein peptide for 13 days. As a result, body weight gain was greatest in SPP diet of both C and SB groups. The post-operative recovery period of SB group was shorter for SPI and SPP diets than SAA diet. Protein efficiency ratio (PER) tended to be better for SPP diet in SB group especially at the beginning of the recovery period. This tendency was also observed for mucosal weight, protein content and diamine oxidase (DAO) activity of the small intestine. From these results, it is concluded that in short-bowel rats when the small intestine is normal or relatively in good condition, there is no difference of nutritional effect among intact protein, peptides and amino acid mixture, but immediately after the operation, peptides seemed to be more effective than protein or amino acid mixture. In Exp. 2, MTX (0.2 mg/kg/day) was injected intraperitoneally for 14 days to rats receiving either 10% SPI, SPP, SAA or casein diet (M group). For control (C) group, saline was injected. PER of M group was highest for SAA diet, followed by SPP and SPI diets, whereas nitrogen balance was slightly higher for SPP diet than for other dietary groups. Differences in body weight, small intestinal mucosal weight and protein content were not observed between C and M groups. As a conclusion, in MTX injected rats, peptide or amino acid seemed to be better utilized than the intact protein. However, in the present experiment, since the intestinal damage caused by MTX seemed to be too light, in order to confirm the suitability of peptides for enteral source of nitrogen in the gastrointestinal disturbances, further studies are required employing other experimental designs or models. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 87-94, 1990.

消化吸収障害の栄養管理には、主にアミノ酸混合物を窒素源とする成分栄養剤が使われている¹⁾。しかし、ペプチドはアミノ酸とは別の機構で吸収され^{2,3)}、アミノ酸吸収が低下した疾患等においても、比較的良好な吸収が保たれると言われている^{4,5)}。従って、アミノ酸をペプチドに変えることによって、消化吸収障害患者の栄養状態をより速やかに改善できるのではないかとと思われる。

そこで我々は、分離大豆たん白質、その酵素加水分解物、またはそれと同組成のアミノ酸混合物を窒素源とした食餌で、短腸ラット（実験1）、あるいは methotrexate (MTX) ラット（実験2）を飼育し、窒素源の形態差の小腸機能等に対する影響について検討した。

実験方法

実験1

短腸モデル

体重約200 g の Wistar 系雄ラットを3群に分け、分離大豆たん白質 (SPI, 不二製油製フジプロ-R)、ペプチド (SPP, 不二製油製ハイニユート-PM, 平均鎖

長3.2), 又はペプチドと同組成のアミノ酸混合 (SAA) を窒素源とした10% (N×6.25) 食を、各々自由に摂食させた。そして各食餌群をさらに対照群 (C群)、短腸I群 (SB I群)、短腸II群 (SB II群) に分けた。一昼夜絶食後、短腸群にはトライツ帯より肛門側に4 cm の点から、回盲部より口側に4 cm の点まで (全小腸の約80%に相当) を切除する短腸手術を行った。対照群には、腹部を切開し縫合するだけの偽手術を施した。手術後、餌を再び与え始めた日を第1日とし、短腸I群を7日目に屠殺、短腸II群と対照群を14日目に屠殺した。屠殺後、直ちに小腸を取出し、短腸群においては吻合部で再び切断し、近位部と遠位部に分けた。対照群も、短腸手術と同じ部分を取り出し、近位部と遠位部のサンプルとした。

実験2

MTX モデル

実験1と同様の動物を用いた。実験1の食餌の他に、10%カゼイン (CAS) 食を加えた4種類の餌を自由に摂食させて飼育した。各食餌群を対照群 (C群) と MTX 群 (M群) にそれぞれ分けた。対照群には生理食塩水

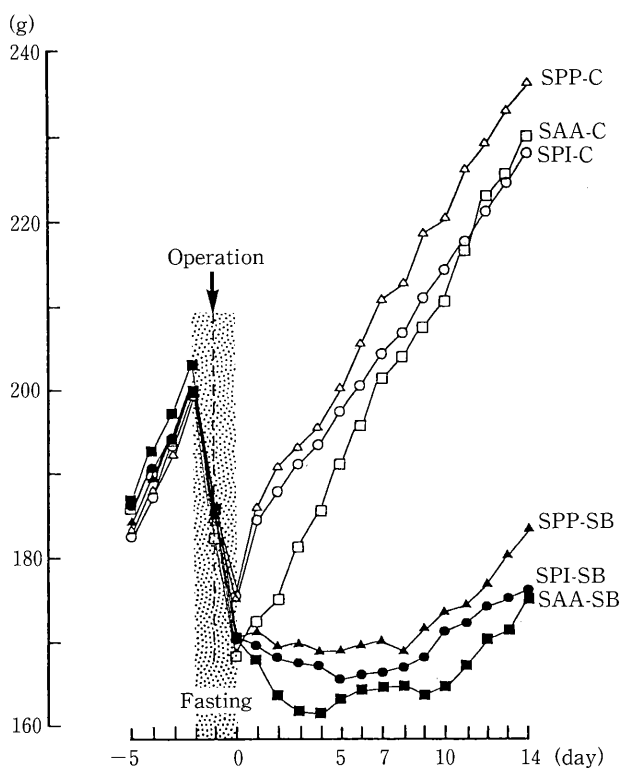


Fig. 1. Changes in body weight (Exp. 1). Mean body weight of C (control) and SB (short bowel) groups, receiving SPI (soy protein isolate), SPP (soy protein peptide) or SAA (amino acid) diet.

1.0 ml/kg を、MTX 群には MTX 0.2 mg/kg (0.2 mg/ml の MTX 生理食塩水溶液) を、第 1 日から毎日 1 回、14 日間腹腔内に投与した。両群とも 15 日目に屠殺し、トライツ帯から肛門側 10 cm の小腸を取出してサンプルとした。

測定

実験 1, 2 ともに、体重及び摂食量は毎日測定した。また、実験 1 では 4～6 日、11～13 日の 2 回、実験 2 では 12～14 日のそれぞれ 3 日間、窒素出納を観察した。小腸サンプルは長軸方向に切開し、スライドグラスを用いて粘膜を採取、たん白質量 (Lowry 法⁶⁾)、ジアミンオキシダーゼ活性 (ジアニシジンペルオキシダーゼ法⁷⁾) を測定した。実験 2 では MTX の造血機能に対する影響^{8,9)}を検討するため血液性状についても調べた。

結 果

実験 1

短腸モデル

各群の体重の変化を、Fig. 1 に示した。術前術後の絶食や手術の影響で明らかな体重減少が見られた。対

照群では順調に回復し、実験終了時には、ペプチド食群 (236.5±5.8 g) は、たん白質食群 (228.3±13.0 g)、アミノ酸食群 (230.4±12.5 g) より体重はやや大きい傾向にあった。短腸群では、たん白質食群とペプチド食群は術後 1 週間程度体重は横這い状態にあり、その後回復した。一方、アミノ酸食群の体重は術後減少し、10 日目過ぎから増加する方向に向かった。実験終了時の体重は、ペプチド食群 (183.7±9.2 g) がやや大きく、たん白質食群 (176.0±9.7 g) とアミノ酸食群 (175.2±8.8 g) は同じであった。

手術後 1 週目と 2 週目の各 1 週間毎の飼料効率及びたん白質利用効率 (PER) を Table 1 に示した。短腸群においては、初めの 1 週間の摂食量の平均は、対照群を 100% として、たん白質食群、ペプチド食群、アミノ酸食群でそれぞれ 46, 47 及び 40% と有意に低く、また体重増加量は、たん白質食群、ペプチド食群及びアミノ酸食群の対照群でそれぞれ 4.3, 5.1, 4.8 g/day であったのに対し、短腸群では -0.5, -0.04, -0.8 g/day といずれも減少した。飼料効率及び PER も短腸群では対照群よりも低くなった。術後 2 週目になると対照群と短腸群の差は狭まり、短腸群の対照群に対す

Table 1. Food and protein efficiencies (Exp. 1)

Group(n)	Food intake (A)	Protein intake (B)	Weight gain (C)	Food efficiency (C/A)	PER ¹ (C/B)
	g	g	g		
<days 1~7>					
SPI-C ² (6)	120.1±13.9 ***	12.1±1.5 ***	30.1±6.4 ***	0.25±0.03 ***	2.47±0.29 ***
SPI-SB(9)	55.7±12.8	5.5±1.3	-3.7±5.6	-0.04±0.09	-0.95±1.50
SPP-C(6)	131.9± 3.6 ***	13.0±0.4	35.8±1.5 ***	0.27±0.01 ***	2.75±0.13 ***
SPP-SB(8)	61.9±10.1	6.2±1.0	-0.3±5.2	-0.01±0.08	-0.13±0.86
SAA-C(4)	98.8±13.2 ***	9.4±1.3 ***	33.4±8.9 ***	0.33±0.05 ***	3.53±0.50 ***
SAA-SB(8)	39.8± 8.6 ***	3.8±0.8 ***	-5.9±5.0 ***	-0.19±0.22 ***	-1.99±2.28 ***
<days 8~14>					
SPI-C(6)	138.8±21.7 *	13.7±2.1 *	23.7±9.6 **	0.16±0.05	1.67±0.51 **
SPI-SB(5)	105.5± 9.7	10.5±1.0	8.3±4.6	0.08±0.04	0.77±0.38
SPP-C(6)	143.1± 8.2 *	14.1±0.8 **	25.7±4.3 *	0.18±0.02	1.82±0.21
SPP-SB(4)	118.9±15.1	11.7±1.4	16.5±8.2	0.13±0.05	1.37±0.50
SAA-C(4)	128.1±11.7 ***	12.2±1.1 ***	29.0±5.3 **	0.23±0.03 *	2.37±0.27 **
SAA-SB(4)	92.3± 1.8	8.8±0.2	9.4±8.3	0.10±0.09	1.07±0.96

Results are given as mean±SD. Results are significantly different from C (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001), SPI (#p<0.05, ##p<0.001) and SPP (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

1 Protein efficiency ratio 2 See Fig. 1 for abbreviations.

る摂食量及び体重はそれぞれ76, 83, 71%及び30, 65, 31%となった。その結果ペプチド食群では、飼料効率、PER とも対照群と差がなくなった。

Table 2 に、実験食期の窒素出納を示した。4～6 日では、短腸群の摂取窒素量は対照群より有意に少なかった。また食餌群間では、アミノ酸食群がたん白質食群、ペプチド食群に比べ少なかった。11～13 日になると、短腸群は対照群とはほぼ同レベルまで回復し、餌による差もなくなった。窒素出納値も同様の変化をみせ、4～6 日の短腸群においてはペプチド食群が高くなった。

Fig. 2 に、DNA 当りの小腸粘膜重量、たん白質量、ジアミンオキシダーゼ活性 (DAO) を示した。いずれも短腸群において対照群より高値であった。たん白質食群、ペプチド食群では、術後 1 週目から高くなったが、アミノ酸食群では 2 週目にその傾向がみられた。また上昇程度もやや小さかった。

実験 2

MTX モデル

各群とも、実験期を通して体重はゆるやかに増加した。増加量は、対照群、MTX 群それぞれにおいて、SPI, ペプチド, アミノ酸食群 (21～28 g) 間では差が

なかった。

飼料効率とたん白質利用効率 (PER) を Fig. 3 に示した。両効率ともに、対照群では SPI, ペプチド, アミノ酸食群で差がなかった。一方、MTX 群では、アミノ酸食群が高値を示した。

Fig. 4 に、体重約 100 g 当りの窒素出納値を示した。MTX 群において、ペプチド食群 (158.3±27.9 mg) が SPI (89.1±32.3 mg), アミノ酸 (117.0±14.0 mg) 食群より有意に高かった。

これら体重、飼料効率、PER、窒素出納値においては、4 つの食餌群とも対照群と MTX 群間に差はみられなかった。

Fig. 5 には血液性状を示した。ヘマトクリット (Ht), ヘモグロビン (Hb), 白血球数 (WBC) が MTX 群で有意に低下していたが、食餌による違いはなかった。

また、小腸の粘膜重量、たん白質量、ジアミンオキシダーゼ活性は、各食餌群ともに対照群に比べ MTX 群で低下傾向にあった。

考 察

現在、成分栄養剤は主にアミノ酸混合物を窒素源と

Table 2. Nitrogen balance (Exp. 1)

Group(n)	(mg/100 g BW/3 days)			
	Intake N	Urinary N	Fecal N	N balance
<days 4~6>				
SPI-C(6)	479.7±61.2	224.6±21.0	43.3± 8.8	211.7±47.6
SPI-SB(9)	281.2±69.6 ^{***}	207.2±32.8	61.0±14.0 [*]	13.0±46.2 ^{***}
SPP-C(6)	503.7±20.6 ^{***}	239.3±24.1	39.0±13.1	225.4±35.8 ^{***}
SPP-SB(8)	321.1±49.2 [*]	217.1±24.7	49.9± 7.8	54.1±35.3 [*]
SAA-C(4)	433.3±56.2 ^{***#}	234.0±25.3 ^{***#}	33.2± 8.8 [#]	166.1±38.1 ^{***}
SAA-SB(8)	211.8±52.2 ^{***#}	157.3±37.8 ^{***#}	42.8±16.1	11.6±46.4 ^{***}
<days 11~13>				
SPI-C(6)	416.5±55.3	194.0±23.3	49.3±18.8 [*]	173.3±44.3
SPI-SB(5)	409.0±47.4	205.1±16.6	78.7±23.5	125.1±19.8
SPP-C(6)	417.9±18.4 [*]	211.7±14.9	37.3±11.4 ^{***}	169.0±16.4
SPP-SB(4)	460.2±35.5 [*]	228.8±16.1	82.7± 9.5	148.7±23.8
SAA-C(4)	384.5±30.5	220.1±38.0	29.0± 9.1 [*]	135.3±18.2 [*]
SAA-SB(4)	383.9±30.4	198.1±39.6	65.8±24.7 [*]	120.0±47.3

Results are given as mean±SD. Results are significantly different from C (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.01), SPI(#p<0.05), and SPP(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). See Fig. 1 for abbreviations.

している。しかし、小腸大量切除後、窒素源をアミノ酸ではなくたん白質またはペプチドとして与えた方が体重減少の抑制や小腸粘膜の増殖に有利である^{10,11)}ことが報告されている。また、腸管内基質としてのペプチドがアミノ酸よりも小腸刷子縁膜酵素活性を誘導しやすい¹²⁾とも報告されている。そこで本研究では、消

化吸収障害時における窒素源の形態差の影響について、体重、窒素出納、小腸粘膜の諸量等の点から検討した。

今回の実験でも、ペプチドを与えた群では体重が順調に回復し、特に術後早い時期において体重減少が抑えられた。飼料効率、PER、窒素出納値も同様にアミノ酸よりもペプチドを与えた群で高かった。その傾向

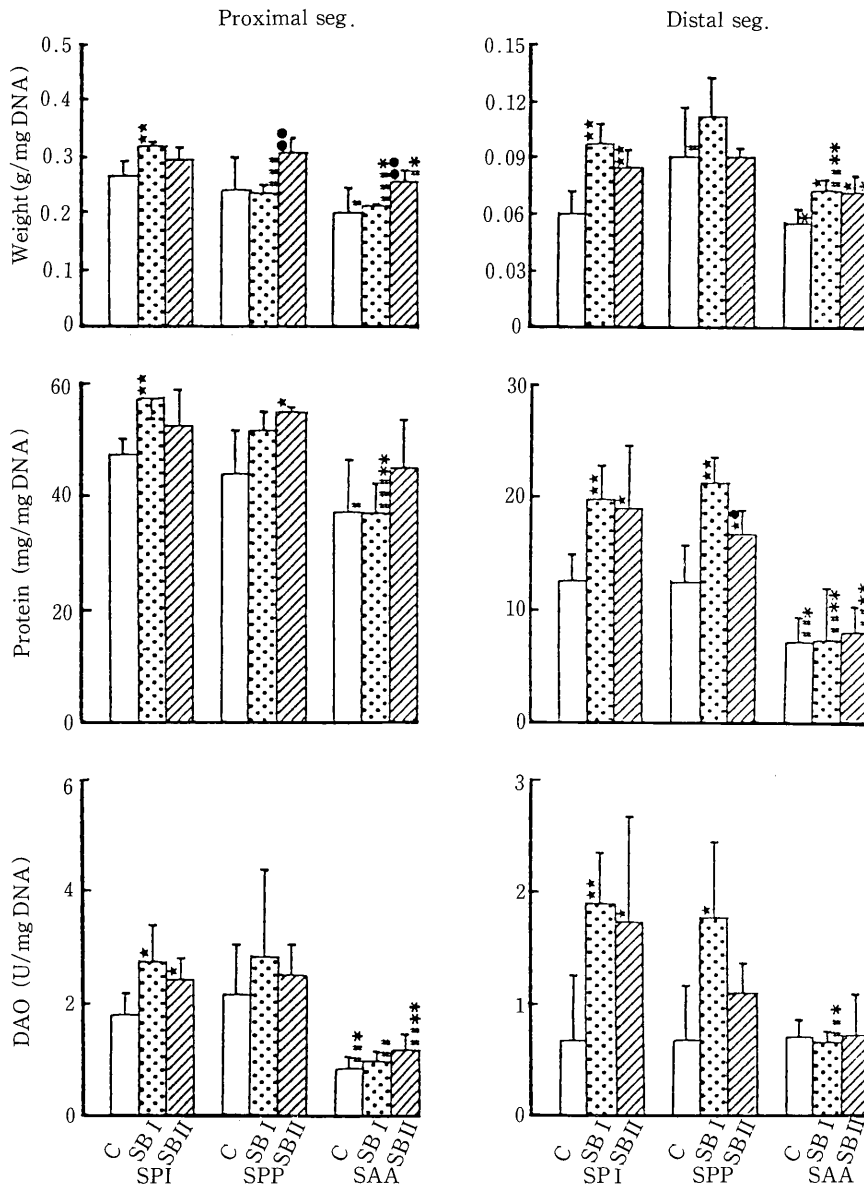


Fig. 2. Small intestinal mucosal weight, protein content and diamine oxidase activity (Exp. 1).

Results are given as mean $\pm$ SD. Results are significantly different from C (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$), SBI (● $p < 0.05$, ●● $p < 0.01$), SPI (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$) and SPP (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). See Fig. 1 for abbreviations.

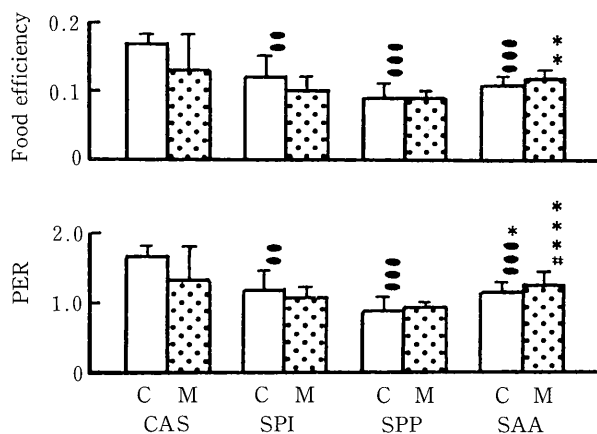


Fig. 3. Food and protein efficiencies (Exp. 2).

Results are given as mean $\pm$ SD. Results are significantly different from CAS (●● p <0.01, ●●● p <0.001), SPI (# p <0.05) and SPP (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001). C (control) and M (MTX injected) groups receiving CAS (casein), SPI (soy protein isolate), SPP (soy protein peptide) or SAA (amino acid) diet.

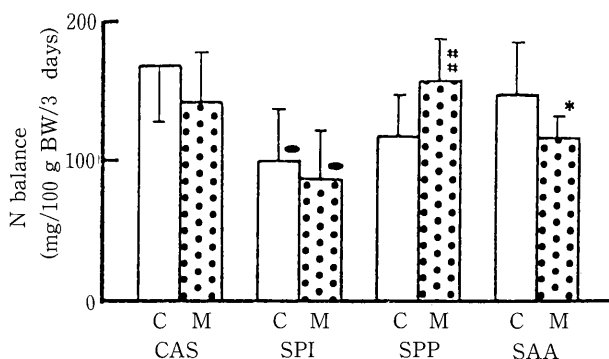


Fig. 4. Nitrogen balance (Exp. 2).

Results are given as mean $\pm$ SD. Results are significantly different from CAS (● p <0.05), SPI (# p <0.01) and SPP (* p <0.05). See Fig. 3 for abbreviations.

は術後早い時期に一層強く、ペプチド食は手術直後に特に有利であると考えられた。また、小腸粘膜の増殖や酵素活性の上昇についても、ペプチドを与えた方が速やかに起こり、ペプチドの有効性が窺われた。

MTX 投与モデルにおいても、ペプチド吸収よりもアミノ酸吸収の方が強く障害される⁵⁾と報告されている。今回の実験では、体重や飼料効率、PER 等において、そのような報告を支持する結果は得られなかった。窒素出納値は、ペプチドを与えた群で高値を示した。

これは、ペプチド食群の摂取窒素量が多かったことが影響していると考えられる。先の短腸モデル場合も同様に、今回の我々の実験ではペプチド食群で摂食量が多かった。原因は分からないが、小腸切除や MTX 投与など傷害を与えることにより他の餌を与えた群との差が大きくなった。

MTX を慢性的に投与することにより体重が減少する⁶⁾ことが報告されている。今回の我々の投与条件では、窒素形態差に関係なくいずれの食餌群でも、血液

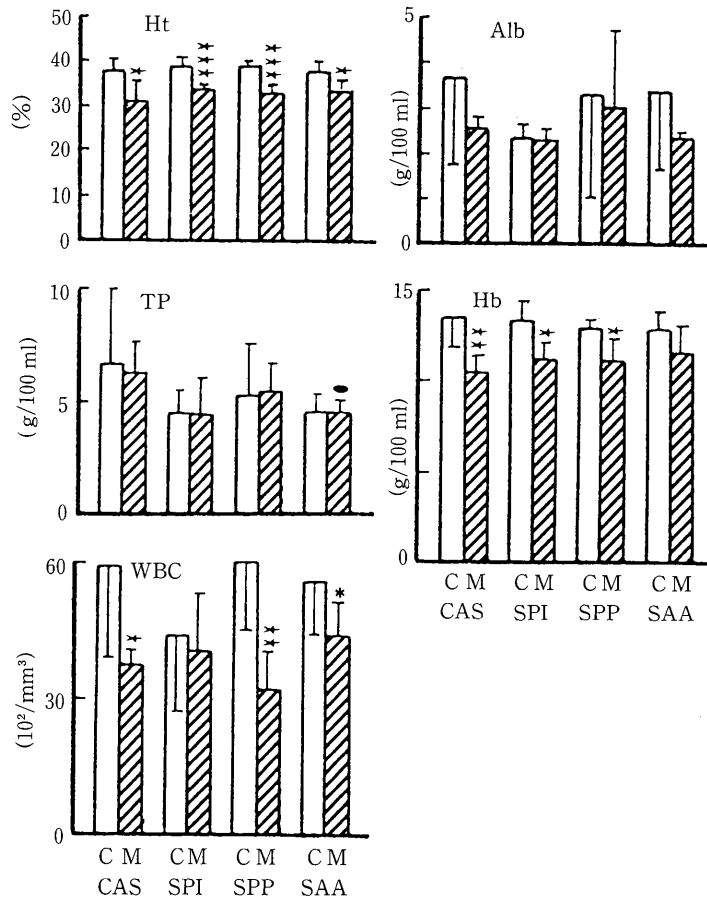


Fig. 5. Plasma constituents (Exp. 2).

Results are given as mean±SD. Results are significantly different from C (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001), CAS (●p<0.05) and SPP (*p<0.05). See Fig. 3 for abbreviations.

性状や小腸の指標は対照群に比べ MTX 群でやや低下したが、体重や飼料効率等は差がなかった。見掛けの消化吸収率（（摂取窒素量－糞中窒素量）÷摂取窒素量×100）も同様に差がみられなかった。したがって、今回の MTX 投与量では、消化吸収障害が十分に起きていなかったと考えられる。

以上のことから、ペプチドは小腸大量切除後早い時期において、栄養状態や残存小腸機能の回復に対し有用であると考えられる。MTX 投与による消化吸収障害に対するペプチド食の効果については、投与量、投与方法等を変え、さらに検討を加える必要がある。

文 献

- 1) 畠山勝義, 山寺陽一, 岡本春彦, 武藤輝一 (1989): 短腸症候群の栄養管理. 臨床外科, **44**, 645-652.
- 2) Craft, I. L., Geddes, D., Hyde, C. W., Wise, I. J. and Matthews, D. M. (1968): Absorption and malabsorption of glycine and glycine peptides in man. *Gut*, **9**, 425-437.
- 3) Adibi, S. A. and Phillips, E. (1968): Evidence for greater absorption of amino acids from peptide than from free form in human intestine. *Clin. Res.*, **16**, 446.
- 4) Adibi, S. A., Fogel, M. R. and Agrawal, R. M. (1974): Comparison of free amino acid and dipeptide absorption in the jejunum of sprue patients. *Gastroenterology*, **67**, 586-591.

- 5) 中坊幸弘, 戸田芳子, 萩平 博 (1988): 大豆たん白質の酵素加水分解によって得られたペプチド混合物の腸管吸収, ペプチド栄養—その吸収と効用—, ペプチド栄養研究会編, 不二製油株式会社, 大阪, pp. 21-39.
- 6) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- 7) 鈴木 剛, 奥山典生 (1967): *O*-ジアニシジン・ペルオキシダーゼ共役によるジアミン酸化酵素の測定法. 生化学, **39**, 399-404.
- 8) Ferguson, F. C., Thiersch, J. B. and Philips, F. S. (1950): The action of 4-amino-N¹⁰-methyl-pteroylglutamic acid in mice, rats and dogs. *J. Pharm. Exptl. Ther.*, **98**, 293-299.
- 9) 可世木成明, 西川良樹, 原 孝子, 広川清二, 古橋義人, 石塚隆夫, 後藤節子, 友田 豊 (1982): 絨毛癌治療をめぐる問題. 産婦人科の実際, **31**, 1213-1222.
- 10) 松尾吉庸, 高木洋治, 岡田 正 (1988): 経腸栄養における窒素源としての結晶アミノ酸とoligopeptideの実験的検討, ペプチド栄養—その吸収と効用—, ペプチド栄養研究会編, 不二製油株式会社, 大阪, pp. 77-88.
- 11) Al-Jurf, A. S., Younoszai, M. K. and Chapman-Furr, F. (1985): Effect of nutritional method on adaptation of the intestinal remnant after massive bowel resection. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **4**, 245-252.
- 12) 馬場忠雄, 近藤信男, 布施建治, 細田四郎 (1989): クローン病の栄養療法における大豆ペプチドの意義. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 117-121.