

経腸及び中心静脈栄養への SPT-5 (大豆ペプチド) の利用

UTILIZATION OF SPI HYDROLYZATE (SPT-5) FOR ENTERAL AND PARENTERAL NUTRITION

新山喜昭・真鍋祐之 (徳島大学医学部)

Yoshiaki NIIYAMA and Sachinobu MANABE

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

ABSTRACT

Changes in levels of free and peptide form amino acids in serum were investigated in SPT-5 fed rats. In preliminary experiment, effects of various concentrations of sulfosalicylic acid (SSA) on free amino acids and average peptide chain length in deproteinized serum were examined. As a result, addition of 3.3% or more SSA (final concentration) to serum was suitable for detecting the constant values of free amino acids and endogenous small oligopeptides. If lower than 3.3% SSA was used for deproteinization, larger oligopeptides remained in deproteinized serum. Sprague-Dawley young adult rats were meal-fed 20% SPT-5 diet during 10:00-12:00. Changes in serum free and peptide form amino acids were investigated after feeding. Free amino acid concentration increased immediately after feeding and then decreased to fasting level. No changes in peptide form amino acids were observed after feeding, showing that a large amount of oligopeptides entered into blood stream as free amino acid form. *Nutr. Sci. Soy Protein*, Jpn. **11**, 104-107, 1990.

昨年、我々は大豆たん白質由来のペプチドを窒素源とした食餌を固形状、あるいは液体状で動物に与えた際、元の分離大豆たん白質 (SPI) と大差ない栄養効果を示すことを明らかにし、ペプチド (SPT-5) の有用性を示した。

ところで、近年アミノ酸輸送系とは別に、ペプチド輸送系が小腸上皮細胞に存在し、オリゴペプチド態での窒素吸収の起こることが明らかになっているが^{1,2)}、大量のペプチドを摂取した際、その吸収がどのように行われるかを、血中遊離アミノ酸、ペプチド態アミノ酸の経時的变化から明らかにしようとした。

なおこれに先立ち、血清を種々の濃度の除たん白剤で処理した際、上清中にいかなる鎖長のペプチドが残存するかを検討した。

実験方法

実験 1

血清除たん白上清中のペプチド鎖長と除たん白剤濃度

体重約280 g の SD 系雌白ネズミ (日本 SLC) を約 8 時間絶食後、エーテル麻酔下で断頭屠殺採血した。この血液を3,000 rpm, 10分間遠心し、得られた血清を以下の実験に用いた。

Fig. 1 に示したように、上記血清0.4 ml に除たん白剤として7, 8, 9, 10, 11あるいは12%のスルホサリチル酸 (SSA) を0.2 ml 加え、得られた除たん白上清について、遊離及び総アミノ酸 (加水分解試料, 6N HCl, 110°C, 24 hr) 及び平均ペプチド鎖長の測定を行った。

実験 2

SPT-5 投与時の血清遊離アミノ酸及びペプチド態アミノ酸の経時変化

体重約180 g の SD 系雄白ネズミ (日本 SLC) に、Table 1 に示した20%大豆ペプチド食を自由摂取させ、体重が約200 g に達した日から Fig. 2 に示したように meal-feeding (10:00-12:00) を開始した。その後、摂食量がほぼ一定 (約10 g) となり、かつ体重が200 g を超えた日 (meal-feeding 開始後、約15~18日目) に以下の処置を行った。すなわち meal-feeding 終了後、経時的に採取した血液を遠心分離し、得られた血清0.1 ml に、10%の SSA 溶液0.05 ml を加えて除たん白を行い、その上清について遊離及び総アミノ酸定量及び平均ペプチド鎖長測定を行った。

なお血清遊離及び総アミノ酸は、アミノ酸自動分析計 (IRICA, A-8700) を用いて定量した。また上清中に存在するペプチドの平均鎖長は、トリニトロペンゼンスルホン酸 (TNBS) 法³⁾により求めた。

結果と考察

実験 1

除たん白剤濃度と血清除たん白上清中のペプチド量、平均鎖長

血清に加える SSA 濃度を変えた際の血清遊離及び総アミノ酸濃度の変化を Fig. 3 に示した。遊離アミノ

酸は、SSA 濃度に関係なくほぼ一定であった。しかし除たん白上清の酸加水分解により得られた総アミノ酸、従ってペプチド態アミノ酸 (総アミノ酸-遊離アミノ酸) は、SSA 濃度の上昇に伴って低下し、濃度が10%あるいはそれ以上になると一定となった。また、TNBS 法により求めた各除たん白上清中に残存するペプチドの平均鎖長を Table 2 に示した。SSA 濃度の上昇に伴い、ペプチドの平均鎖長は短くなり、9%以上の濃度でほぼ一定 (3.4~3.7) となった。平均ペプチド鎖長3.3の SPT-5 がオリゴペプチドの形で吸収され、血中濃度が上昇した際に、血清を9%以上の

Table 1. Composition of experimental diets

	g/kg
SPT-5 ¹	200
α -Starch	449
Sucrose	225
Corn oil	50
Mineral mix. ²	35
Vitamin mix. ³	10
Cellulose	20
Choline-Cl	5
L-Met	6

¹ Hinate-PM (average chain length 3.3).

² AIN⁷⁶ mixture. ³ Harper's mixture.

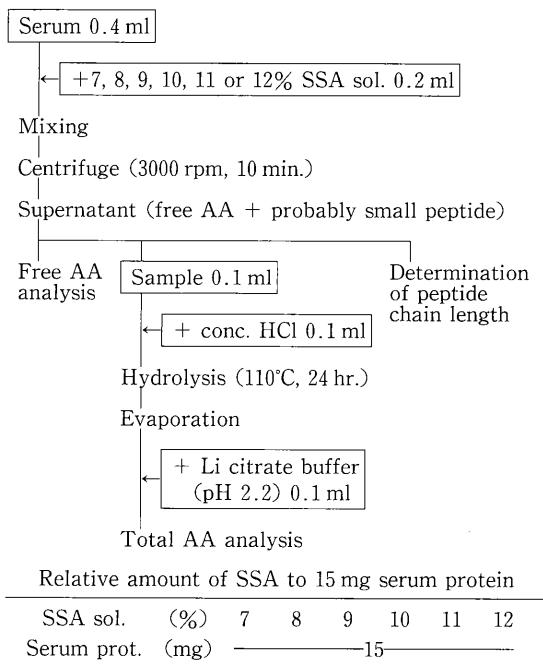


Fig. 1. Procedure for deproteinization.

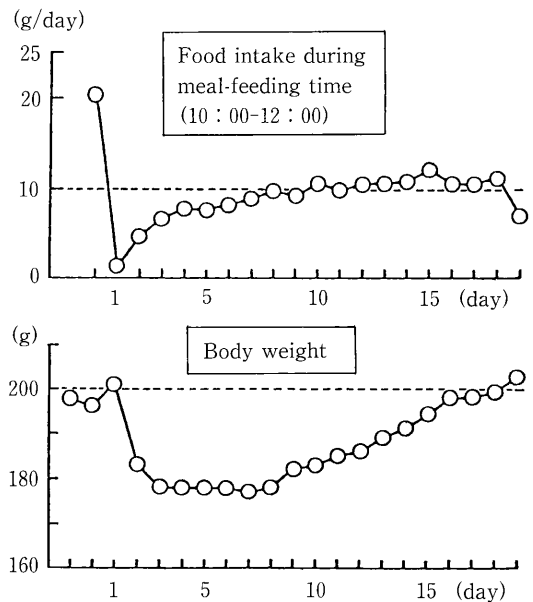


Fig. 2. Experimental design.

On the final day of meal-feeding (15 to 18 days after onset of meal-feeding) blood collection was performed at various time intervals after the end of meal-feeding.

SSA で処理すれば、この上昇を検出できることがわかった。以上総アミノ酸濃度及び平均鎖長の変化から、実験2で血清の除たん白に用いる SSA 濃度を10%とした。

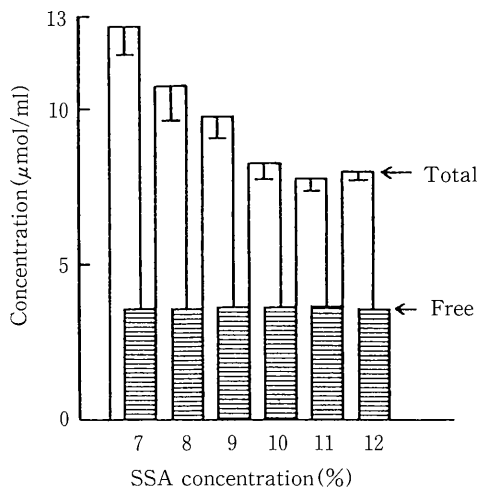


Fig. 3. Changes in serum free amino acid and oligopeptide concentrations by adding various amounts of sulfosalicylic acid (SSA).

実験2

SPT-5 摂取後の血清遊離及びペプチド態アミノ酸の経時変化

SPT-5 食を2時間 meal-fed した後の血清遊離及び総アミノ酸濃度の経時変化を Fig. 4 に示した。2時間の meal-feeding で約9 g を摂取しているが、食後2時間では35%が腸へ移動していた。遊離アミノ酸は、空腹時に比し食餌投与終了時に有意な上昇を示し、以後経時的に空腹時レベルあるいはそれ以下にまで低下した。また、総アミノ酸も遊離のものと同様の変化を示し、両者の差、即ちペプチド由来のアミノ酸と考えられる部分には、各時点で有意な差はなかった。従って、総アミノ酸でみられた変化は、主として遊離アミノ酸の変化によるものと考えられる。さらにペプチドの平均鎖長の変化は、Table 3 に示したように、平均鎖長3.3の SPT-5 を摂取した結果、経時的にやや低下傾向を示したものの、有意な差はみられなかった。以上から SPT-5 投与時には、オリゴペプチドのままで吸収されたとしても、その血清濃度を上昇させる程ではないことがわかった。しかし、個々の動物でみると(データ省略)、ペプチド由来のアミノ酸が、遊離アミノ酸と同じもしくは遅れて増加する傾向を示すものもあった。

今回我々は、経腸及び中心静脈栄養法に対する

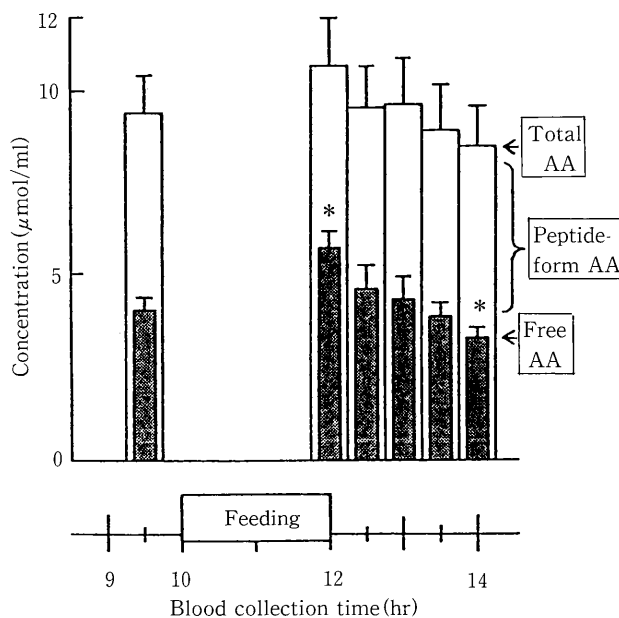


Fig. 4. Changes in free and peptide form amino acids in serum.

* : $p < 0.05$ to free AAs in serum sample from 22 hr starved rats.

Table 2. Peptide chain length¹

SSA(%)	Av. length
7	5.6±0.8
8	4.4±0.7
9	3.7±0.3
10	3.6±0.3
11	3.4±0.4
12	3.7±0.3

n=6. ¹ Measured by TNBS method.

SPT-5 の利用性を検討するための予備実験を行った。この実験に先立ち、除たん白剤濃度による血清除たん白上清中の残存ペプチドの変化を検討した。その結果、Fig. 3 及び Table 2 に示したように、SSA 濃度が10%以上になると除たん白効果が一定になることが明らかとなった。従来の遊離アミノ酸測定では、最終濃度1%になるよう SSA を加えている。しかし、血清0.4 ml に SSA 0.2 ml を加えた今回の我々の除たん白操作で最終濃度を1%にするには、3% SSA を用いねばならないことになるが、この際遊離アミノ酸測定に支障はないが、内因性の長鎖オリゴペプチドは血清除たん白上清中に残ることとなり、ペプチド態アミノ酸を多めに検出することになる。従って SPT-5 (平均鎖長3.3) 投与により血清オリゴペプチドが上昇するか否かを観察するには、SSA の最終濃度1%では不十分であり、少なくとも最終濃度3.3% (10% SSA 添加に相当) 程度としなければならない。

meal-feeding 法による食餌投与前後の血中遊離アミノ酸及びペプチド態アミノ酸の経時変化は、ペプチド由来のアミノ酸の吸収が遊離アミノ酸と同じかやや遅れて起こることを示した。しかし、ジペプチドからのアミノ酸吸収が遊離アミノ酸そのものの吸収よりも速いといわれており、この点について今後検討する

Table 3. Peptide chain length¹

Time	Av. length
9:30	3.8±0.7
12:00	3.7±0.4
12:30	3.8±0.7
13:00	3.9±0.8
13:30	3.6±1.0
14:00	3.6±0.6

n=4 to 5. ¹ Measured by TNBS method.

必要がある。また、SPT-5 由来の血清オリゴペプチドの上昇はみられなかったが、これはオリゴペプチドの形で吸収されたアミノ酸が、小腸上皮細胞で急速に分解されてしまうためか否かについても明らかにしたい。

さらに Fig. 4 に示したように、空腹時並びに食餌投与後の血清にペプチド由来のアミノ酸が遊離アミノ酸とほぼ同量存在したことは、血清中に大量のオリゴペプチドが常時存在することを示すものであるが、除たん白法そのものも含め、この意味については今後さらに十分な検討を加えたいと考えている。

文 献

- 1) 荒井総一 (1978): 食品ペプチドの栄養効果、とくにその腸管吸収の特異性に関連して. 栄養と食糧, **31**, 247-253.
- 2) 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.
- 3) Habeeb, A. F. S. A. (1966): Determination of free amino groups in proteins by trinitrobenzenesulfonic acid. *Anal. Biochem.*, **14**, 328-336.