

分離大豆たん白質由来低分子ペプチド混合物を窒素源とした経腸栄養剤

NUTRITIONAL EVALUATION OF OLIGOPEPTIDE MIXTURE, PREPARED FROM SOY PROTEIN ISOLATE (SPI) IN RATS RESECTED TWO-THIRDS OF THE SMALL INTESTINE

中坊幸弘・鈴木健史・岡本美由紀・葛原裕子・萩平 博(徳島大学医学部)

Yukihiro NAKABOU, Takeshi SUZUKI, Miyuki OKAMOTO, Yuuko KUZUHARA and Hiroshi HAGIHIRA

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

ABSTRACT

Nutritional evaluation of a chemically defined balanced diet (PM-S) containing oligopeptide (mean chain length, 2.1), prepared from soy protein isolate (SPI) supplemented with L-Met, as a nitrogen source was studied in rats resected two-thirds of the small intestine. After the operation, the animals were given intraduodenally one of the following diets; PM-S, ELENAL and ENTERUED for 10 days. The results were summarized as follows: (1) no differences in body weight gain and nitrogen balance were observed among three diets, (2) protein efficiency ratio and nitrogen balance index were somewhat lower in PM-S than in ENTERUED, (3) no appreciable differences in DNA content and brush border hydrolase activities of the small intestine were found in three groups, (4) concentration of plasma triglyceride in all groups was extremely lower than in unoperated control group. These findings suggest that oligopeptides prepared from SPI can be used as a good nitrogen source for enteral nutrition. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 108-112, 1990.

分離大豆たん白質を酵素処理して調製された低分子ペプチド混合物を、陽イオン交換樹脂を用いてさらに精製することにより、易溶解性のある低分子ペプチド混合物を得た¹⁾。そこで、精製した低分子ペプチド混合物を窒素源とした経腸栄養剤を試作した。そして、試作経腸栄養剤を小腸切除ラットに経管投与して、結晶アミノ酸あるいは卵白由来ペプチドを窒素源とした市販品を対照に比較検討した。

実験方法

今回使用した低分子ペプチド標品は遊離アミノ酸含

量33%、平均ペプチド鎖長2.1でアミノ酸組成は既報¹⁾の通りである。経腸栄養剤作成時にはL-Metを添加した。主要な組成はTable 1に示した。アミノ酸を窒素源とするELENALには脂質が含まれていないが、試作品(PM-S)には熱量割合で10%になるよう大豆油を加えた。なお、ENTERUEDの脂質熱量割合は11.4%とされている。

2日間絶食にしたSD系雄性ラットに小腸切除術を施した。小腸切除は回盲部より10 cmの個所から幽門側へ、小腸全長の70%を目途に行った。経腸栄養剤を幽門下5 cmの十二指腸内に注入出来るようチューブ

を留置して、ラットは代謝ケージに入れた。

経腸剤投与は覚醒後、術当日のみ50%濃度とし、以後は100%濃度(1 kcal/ml)とした。投与量は、術日と翌日は100 ml/kg BW/day, 3~4日目は200 ml/kg BW/day, 5日目から10日目までは300 ml/kg BW/dayと漸増させて(Fig. 1), Steiger らの方法²⁾で行った。

ラットは採血、屠殺後、肝、脾、腎、小腸を摘出した。小腸サンプルは全長と重さを測定後、幽門部から5 cm を十二指腸、幽門部より20 cm の所から5 cm を空腸、回盲部より胃側5 cm を回腸として採取した。そして、小腸各分画から剝離した粘膜を酵素活性³⁻⁵⁾、たん白質量⁶⁾、DNA 量⁷⁾測定に用いた。その他の分析は常法に従って実施した。

結 果

体重と臓器重量

実験終了後測定した小腸の切除率(長さ)は PM-S 群 $65 \pm 2\%$ 、ELENAL 群 $64 \pm 2\%$ 、ENTERUED 群 $66 \pm 1\%$ 、ではほぼ同様であった。10日間の体重増加量は3群間で有意差はなかった(Table 2)。体重100 g 当りの肝臓と腎臓重量は3群で変らなかったが、脾臓と小腸には差が見られ、PM-S 群と ENTERUED 群の方が ELENAL 群よりも重くなっていた(Table 2)。

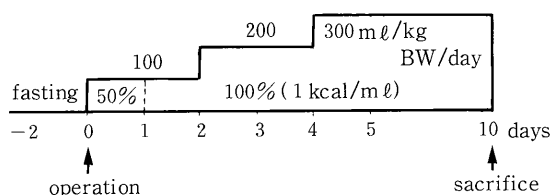


Fig. 1. Protocol of tube-feeding.

窒素出納と窒素の利用効率

投与濃度を1 kcal/ml としたため、投与窒素量は含量の多い ELENAL が最も多くなった。窒素出納は3群とも術後3日目から正になり、10日間の累積値に有意差はなかった。しかし、利用効率は ENTERUED が最も良く、他の2群間に有意差はなかったが、やや PM-S 群が高値であった(Fig. 2)。

小腸粘膜酵素活性、たん白質量、DNA 量

長さによる切除率は3群とも、ほぼ同様であったにもかかわらず、残存小腸の単位長さ当りの重量は PM-S 群と ENTERUED が有意に重くなっていた(Table 2)。粘膜 DNA 量は有意差が見られず、たん白質量とたん白質量/DNA 量に特別な傾向は観察されなかった。粘膜酵素活性については、十二指腸と空腸の二糖類分解酵素活性は PM-S 群が低値であった。Alk-Pase は PM-S, ENTERUED 群に比べ ELENAL 群の回腸で極めて低くなっていた。LAP活性はどの部位も PM-S群と ELENAL群は同様で ENTERUED 群よりも低くなっていた(Table 3)。

血液分析値

Ht 値は PM-S, ENTERUED 群に比べ ELENAL 群が高値であった(Table 4)。血漿総たん白質とアルブミン濃度は3群間で有意差はなかったが PM-S と ENTERUED 群に比べて ELENAL 群は有意に高くなっていた。

市販固型飼料で飼育した正常ラットの血中 TG 値は通常100 mg/100 ml 前後であり、ここで観察された TG 濃度は極めて低値であった(Table 4)。また、肝臓内 TG 濃度は PM-S 群 155 ± 23 mg/g wwt, ENTERUED 群 146 ± 11 mg/g wwt, ELENAL 群 136 ± 11 mg/g wwt と蓄積が認められた。測定した他の生化学検査値については、特記すべき変化は観察さ

Table 1. Composition and energy percent of enteral feeding solutions¹

	ELENAL	ENTERUED	PM-S
Amino acids	14.1	—	0.4 ²
Oligopeptides	—	11.3	11.7
(total-N)	2.00	1.76	1.92
Dextrin	63.5	54.0	55.5
Lipid	0.51 ³	3.75 ⁴	3.34 ³
Vitamin and mineral			
Protein, %	16.2	15.3	16.0
Carbohydrate, %	82.3	73.2	74.0
Fat, %	1.5	11.4	10.0

¹ g in 300 ml, ² L-Met, ³ soy bean oil,

⁴ soy bean oil : corn oil, 1 : 1.

れなかった。

考 察

今回窒素源として用いた低分子ペプチド混合物は元の混合物に比べ、反転小腸法による吸収実験では明らかに良くなっていた¹⁾。小腸にはアミノ酸輸送系とは別にペプチド輸送系が存在しており、前者は後者に比べて小腸障害や病的状態で影響され易いことが知られている⁸⁾。また、アミノ酸混合物とペプチド混合物を等窒素溶液で比較したとき、後者の浸透圧は明らかに低くなる。この様な理由から SPI 由来低分子ペプチド混合物を窒素源とした経腸栄養剤を試作した。

試作品の窒素利用効率が ENTERUED に及ばなかった理由の一つに、アミノ酸組成の違いがあるのかもしれない。SPI のアミノ酸のうち、動物には不足するとされている Met のみを補足しただけで、今回は質については配慮しなかった。また、私達は卵白ペプチドと SPI ペプチドからのアミノ酸吸収が異なり、前者は小腸上部で良く吸収されるのに対し、後者はむしろ小腸下部での吸収が優れていることを確認している（未発表）。両ペプチドのアミノ酸組成の違いだけでなく、ペプチド組成の違いも影響している可能性がある。

小腸への影響に関しては、脂質を含んでいるか否かの違いが出ていた。測定した血液の臨床生化学的分析値のうちで、中性脂肪が3群とも異常に低値となり、肝への蓄積が観察された。この現象は、もともと脂質を含んでいない ELENAL 群で生じており、投与し

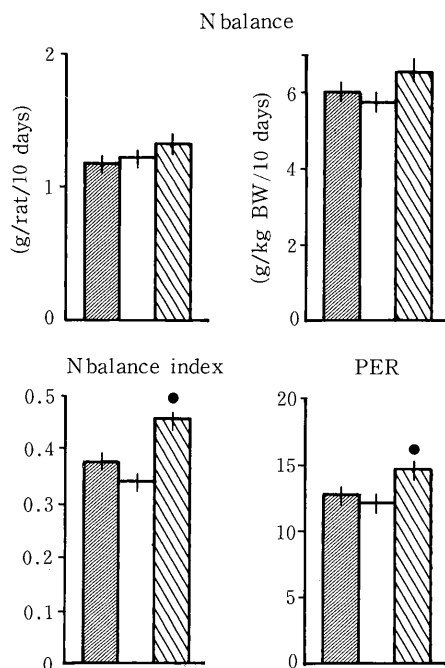


Fig. 2. Nitrogen balance, nitrogen balance index, and protein efficiency ratio (PER) in enterectomized rats given enteral nutrition for 10 days. ■ PM-S, □ ELENAL, and ▨ ENTERUED. ● different from PM-S and ELENAL, $p < 0.05$.

Table 2. Body weight and relative organ weight in enterectomized rats given enteral nutrition for 10 days

	ELENAL	ENTERUED	PM-S
(n)	6	5	6
Body weight, g			
Initial	192±2	180±4	178±5
Final	235±3	223±6	218±6
Gain	43±3	43±3	40±2
Organ weight, g/100 g BW			
Liver	4.2 ±0.4	4.3 ±0.2	4.3 ±0.2
Kindney	0.70±0.08	0.66±0.02	0.67±0.02
Spleen	0.23±0.01 ^a	0.27±0.01 ^b	0.27±0.01 ^b
Small intestine	1.54±0.06 ^a	1.76±0.07 ^{ab}	1.88±0.11 ^b
Remainder of small intestine			
Wet weight, g	3.6 ±0.1 ^a	3.9 ±0.2 ^b	4.1 ±0.2 ^c
Total length, cm	42 ±3	39 ±1	41 ±3
Weight/length, g/10 cm	0.86±0.05 ^a	1.01±0.07 ^b	1.00±0.07 ^b

Values are means±SD. Means with a different superscript letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Intestinal brush border enzyme activities in enterectomized rats given enteral nutrition for 10 days

		ELENTAL	ENTERUED	PM-S
Alk-Pase ¹	duodenum	3.03±0.36	3.25±0.28	2.91±0.33
	jejunum	1.23±0.08 ^a	0.82±0.09 ^b	0.94±0.08 ^b
	ileum	0.02±0.00 ^a	0.17±0.03 ^b	0.13±0.02 ^b
Sucrase ²	duodenum	40±6 ^{ab}	42±5 ^a	30±3 ^b
	jejunum	55±5 ^a	74±8 ^b	44±5 ^a
	ileum	7±2 ^a	13±2 ^b	12±1 ^b
Lactase ²	duodenum	1.7±0.3 ^a	1.3±0.1 ^b	0.9±0.1 ^b
	jejunum	10.4±0.7 ^a	6.2±1.4 ^b	3.8±0.6 ^b
	ileum	1.1±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1
LAP* ²	duodenum	20±2 ^a	28±2 ^b	21±2 ^a
	jejunum	41±4	45±4	39±4
	ileum	24±2 ^a	39±4 ^b	26±2 ^a
Protein (mg/g)	duodenum	130±4 ^{ab}	124±3 ^a	140±4 ^b
	jejunum	131±4 ^{ab}	117±3 ^{ab}	134±6 ^b
	ileum	117±5 ^a	101±4 ^b	117±3 ^a
DNA (mg/g)	duodenum	7.1±0.5	8.0±0.4	7.6±0.3
	jejunum	6.5±0.3	7.5±0.4	7.7±0.6
	ileum	7.7±0.4	8.9±0.5	8.3±0.4
Prot/DNA	duodenum	17.5±1.0 ^{ab}	15.7±0.6 ^a	18.7±1.2 ^b
	jejunum	20.4±1.1 ^a	16.1±1.3 ^b	18.5±3.0 ^{ab}
	ileum	15.3±0.8 ^a	11.1±0.6 ^b	14.4±1.7 ^a

Values are means±SD. Means with a different superscript letter are significantly different (p<0.05). ¹ μmol/mg prot/min, ² nmole/mg prot/min.

Table 4. Clinical characteristics of plasma in enterectomized rats given enteral nutrition for 10 days

	ELENTAL	ENTERUED	PM-S
Hematocrit, %	45.2±2.1 ^a	39.3±0.9 ^b	39.7±1.0 ^b
Glucose, mg/100 ml	135±3 ^a	156±4 ^b	148±5 ^b
Total Prot, g/100 ml	5.6±0.1	5.6±0.1	5.5±0.1
Albumin, g/100 ml	2.7±0.1	2.7±0.1	2.5±0.1
A/G	0.93±0.04	0.97±0.01	0.91±0.03
Triglyceride, mg/100 ml	37±3 ^a	17±2 ^b	29±6 ^a
Total chol, mg/100 ml	59±7	51±4	47±5
PL, mg/100 ml	102±3 ^a	78±5 ^b	81±6 ^b
NEFA, mEq/l	217±49	261±38	216±30
GOT, IU/l	99±7	124±14	98±11
GPT, IU/l	34±5	38±6	41±4
CPK, IU/l	605±125 ^a	667±112 ^a	443±33 ^b
Alk-Pase, IU/l	512±33	526±40	474±40
Urea-N, mg/100 ml	13.1±1.4 ^a	9.9±1.1 ^b	10.3±1.1 ^b
Creatinine, mg/100 ml	0.46±0.03	0.40±0.01	0.44±0.02
Uric acid, mg/100 ml	1.22±0.05	1.16±0.09	1.18±0.06

Values are means±SD. Means with a different superscript letter are significantly different (p<0.05).

た経腸栄養剤によるものとは考え難く、今回用いた実験モデルに起因したものかどうかを現在検討中である。

以上、SPI 由来低分子ペプチド混合物は経腸栄養剤の窒素源として充分利用可能であることを小腸切除動物で明らかにした。

文 献

- 1) 中坊幸弘, 宇都宮玲子, 鈴木健史, 萩平 博, 松尾高明, 木本 実, 大島芳枝 (1989): SPI から調製したペプチド混合物の脱塩精製と精製標品の腸管吸収. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 76-80.
- 2) Steiger, E., Vars, H. M. and Dudrick, S. J. (1972): A technique for long-term intravenous feeding in unrestrained rats. *Arch. Surg.*, **104**, 330-332.
- 3) Forstner, G. G., Sabesin, S. M. and Isselbacher, K. J. (1968): Rat intestinal microvillus membranes, purification and biochemical characterization. *Biochem. J.*, **30**, 381-390.
- 4) Lloyd, J. B. and Whelan, W. J. (1969): An improved method for enzymic determination of glucose in the presence of maltose. *Anal. Biochem.*, **30**, 467-470.
- 5) Goldbarg, J. A. and Rutenburg, A. M. (1958): The colorimetric determination of leucine amino-peptidase in urine and serum of normal subjects with cancer and other diseases. *Cancer*, **11**, 283-291.
- 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) Burton, K. (1968): Determination of DNA concentration with diphenylamine. *Methods Enzymol.*, **12B**, 163-166.
- 8) 萩平 博, 中坊幸弘 (1989): 病的状態のラット小腸によるアミノ酸吸収. 消化と吸収, **12**, 60-62.