

吸収不良症候群の栄養療法におけ大豆ペプチドの臨床評価

EFFECT OF PEPTIDES ON BRUSH BORDER TRANSPORTERS IN
RAT INTESTINE AND CLINICAL USEFULNESS OF SOY PEPTIDES
IN THE PATIENTS WITH MALABSORPTION SYNDROME

馬場忠雄・小畑寛純・西村昌子・細田友則・近持信男・細田四郎
(滋賀医科大学第二内科)

Tadao BAMBA, Hirozumi OBATA, Masako NISHIMURA, Tomonori
HOSODA, Nobuo CHIKAMOCHI and Shiro HOSODA
Second Department of Internal Medicine, Shiga University of Medical
Science, Otsu 520-21

ABSTRACT

In the previous study, we have reported that the number of amino acid and peptide transporters in the rat intestine significantly increased after the administration of peptides as intraluminal substrates. Present study was undertaken to reconfirm the previous results and to clarify the dipeptide intact absorption, by rapid filtration method using brush border membrane vesicles (BBMV). Male Wistar rats were fed amino acid mixture (AA) or small peptides (SP) isocalorically for 4 weeks. BBMV were obtained according to Kessler's method. L-¹⁴C-leucine uptake into BBMV obtained from the intestine of rats fed SP showed an overshoot and significantly increased under Na⁺ gradient, compared with that of rats fed AA. L-¹⁴C-leucylglycine uptake was also increased in the SP rat intestine, in spite of showing no overshoot. However, D-¹⁴C-glucose uptake was similar between SP and AA rat intestines. In kinetic parameters of those, J_{max} values of L-leucine and L-leucylglycine were significantly increased in the SP rat intestine, but K_t values were almost same. On the other hand, J_{max} and K_t values of D-¹⁴C-glucose were not different between SP and AA rat intestines. Therefore, these results indicated that amino acid and peptide transporters were significantly increased by the intraluminal peptides. Secondly, the effect of soy peptides in the patients with malabsorption syndrome was examined. Total energy was about 2,000 kcal/day, containing about 90 g of protein including about 70 g of soy peptides, 20 g of fat and 300 g of carbohydrate. Serum protein, albumin and rapid turnover protein were increased after 4-week soy peptide treatment. Soy peptides were effective to manage the patients with malabsorption syndrome, especially pancreatic insufficiency. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 113-119, 1990.

短腸症候群やクローン病などの実効吸収面積減少や
膵外分泌機能不全による消化障害などの吸収不良症候
群においては経腸栄養剤による栄養補給が病態改善に
著しい効果を示す。それには多数開発されている経腸
栄養剤の組成を熟知した上での適切な選択が望まれ

る¹⁾。経腸栄養剤の組成が小腸粘膜の形態と機能にど
のような影響を及ぼすかについてすでに報告してきた。
腸管基質としての窒素源がペプチドのものと、アミノ
酸混合物によって小腸粘膜の輸送系にどのような変化
をもたらすかについての報告はない。第10回大豆たん

白質栄養研究会において、窒素源がペプチドの成分栄養と、そのペプチドをすべてアミノ酸にまで水解した混合物の成分栄養剤を用いて、ハートレイ系雄モルモットを用いて刷子縁膜アミノペプチダーゼ活性を測定し、また、回腸を用いて、壁間電位測定により L-ロイシンと L-グリシルロイシンの ΔPD を求め、速度論的パラメーターの ΔPD_{max} と K_t を求めた。その結果、腸管内基質としてペプチドは刷子縁膜酵素アミノペプチダーゼ活性を上昇させ、アミノ酸やペプチドの輸送担体数が増加する興味ある成績をえた^{2,3)}。

今回は、電気生理的にえられたジペプチドの吸収増加がジペプチドのまま intact transport されているのか、あるいはアミノ酸にまで水解された後の吸収によるアミノ酸輸送担体数の増加であるのかを明らかにする目的でラット小腸粘膜刷子縁膜小胞を用いて検討した。さらに、臨床的に術後の消化吸収障害患者に大豆ペプチド食を窒素源として与えたときの栄養評価を検討した。

実験方法

ペプチドの小腸刷子縁膜酵素活性とアミノ酸、ジペプチド輸送系に及ぼす影響

Wistar 系雄ラット (4 週齢) に窒素源がスモールペプチド (SP) とそのペプチドを全てアミノ酸にまで水解した混合物 (AA) で、その他の糖質、脂肪、ミネラル、ビタミンなどは全て同一組成である飼料を 1 kcal/ml に溶解し、4 週間自由摂取させた。SP 群と AA 群の間には 1 日食事摂取量、体重増加量に差はなかった。

刷子縁膜酵素のアルカリフォスファターゼ (Kind-King 法)、マルターゼ、スクラーゼ (Dahlquist 法)、アミノペプチダーゼ (アミノサルチル酸法, Nicholson 法) を測定した。刷子縁膜小胞は Ca^{++} 沈殿法により調製した。なお、小胞の形態は電子顕微鏡で観察し、

両群に差がないことを確認した。また、刷子縁膜小胞のアルカリフォスファターゼ、マルターゼの enrichment は AA と SP 群とも 15~18 倍であり、また乳酸脱水素酵素、 Na^+-K^+ APTase の enrichment は 0.5~0.7 であり精製が確認された。

刷子縁膜小胞への D-グルコース、L-ロイシン、L-ロイシルグリシンの取り込みは、それぞれの ^{14}C -標識化合物をトレーサーとして Na 勾配下で、Millipore filter を用いて急速ろ過法にて行った。なお、L-ロイシルグリシンはロイシン tRNA シンセターゼにより ^{14}C -ロイシンから合成した。また、刷子縁膜小胞に取り込まれたロイシルグリシンの同定は HPLC で行った。なお、結果は mean $\pm$ SEM で表し、統計的処理は Student t-test で行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

術後の消化吸収障害に対する大豆ペプチドの効果

交通外傷による腹部損傷にて術後の消化吸収障害をきたした患者にたん白質 95 g (うち大豆ペプチド 64 g)、糖質 320 g、脂質 20 g を含む 1900 kcal/日の食事を与え、体重及び総たん白、アルブミン、総コレステロール、アミノ酸分析により評価した。

結果

ペプチドの小腸刷子縁膜酵素活性とアミノ酸、ジペプチド輸送系に及ぼす影響

刷子縁膜酵素のうちアミノペプチダーゼ活性は SP 群で有意に高値を示した (Fig. 1)。しかし、アルカリフォスファターゼ、マルターゼ活性は SP 群と AA 群で有意の差はなかった。

刷子縁膜小胞の確認

AA 群と SP 群のラット全小腸からえられた刷子縁膜小胞のたん白量には差はなかった。また、電顕観察においても、両群からえられた小胞の直径には差がなかった。刷子縁膜のマーカー酵素として測定したマル

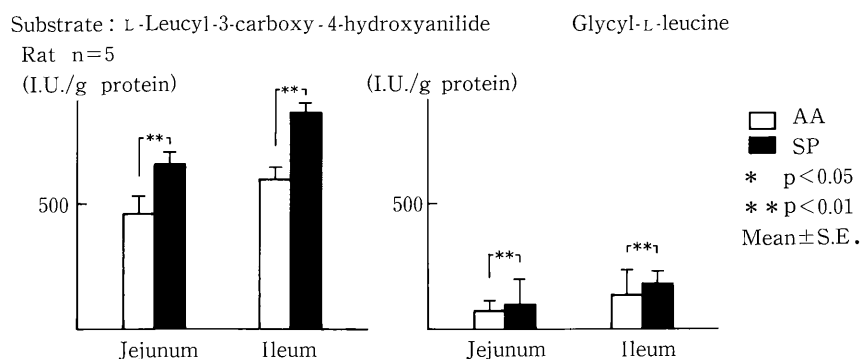


Fig. 1. Leucine aminopeptidase activities in the intestine of rat.

ターゼ, アルカリフォスファターゼの比活性は SP 群と AA 群で有意差はなく, enrichment はマルターゼが16~18倍, アルカリフォスファターゼが15倍であったが乳酸脱水素酵素や $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase の比活性には両群に差はなかった。

刷子縁膜小胞へのD-グルコース, L-ロイシン, L-ロイシルグリシンの取り込み

刷子縁膜小胞膜の外から内への Na^+ 勾配下におけ

るD-グルコースの取り込みの time course は AA 群と SP 群とも overshoot を示し, 有意差はなかった。また D-グルコースの濃度依存曲線は, 両群とも二相性の Michaelis-Menten 型を示した (Fig. 2)。

L-ロイシンの刷子縁膜小胞への Na^+ 勾配下での取り込みは, SP 群と AA 群とも overshoot がみられたが, 15秒, 30秒, 1分では SP 群での取り込みが有意に亢進していた。また, L-ロイシンの取り込みの濃度

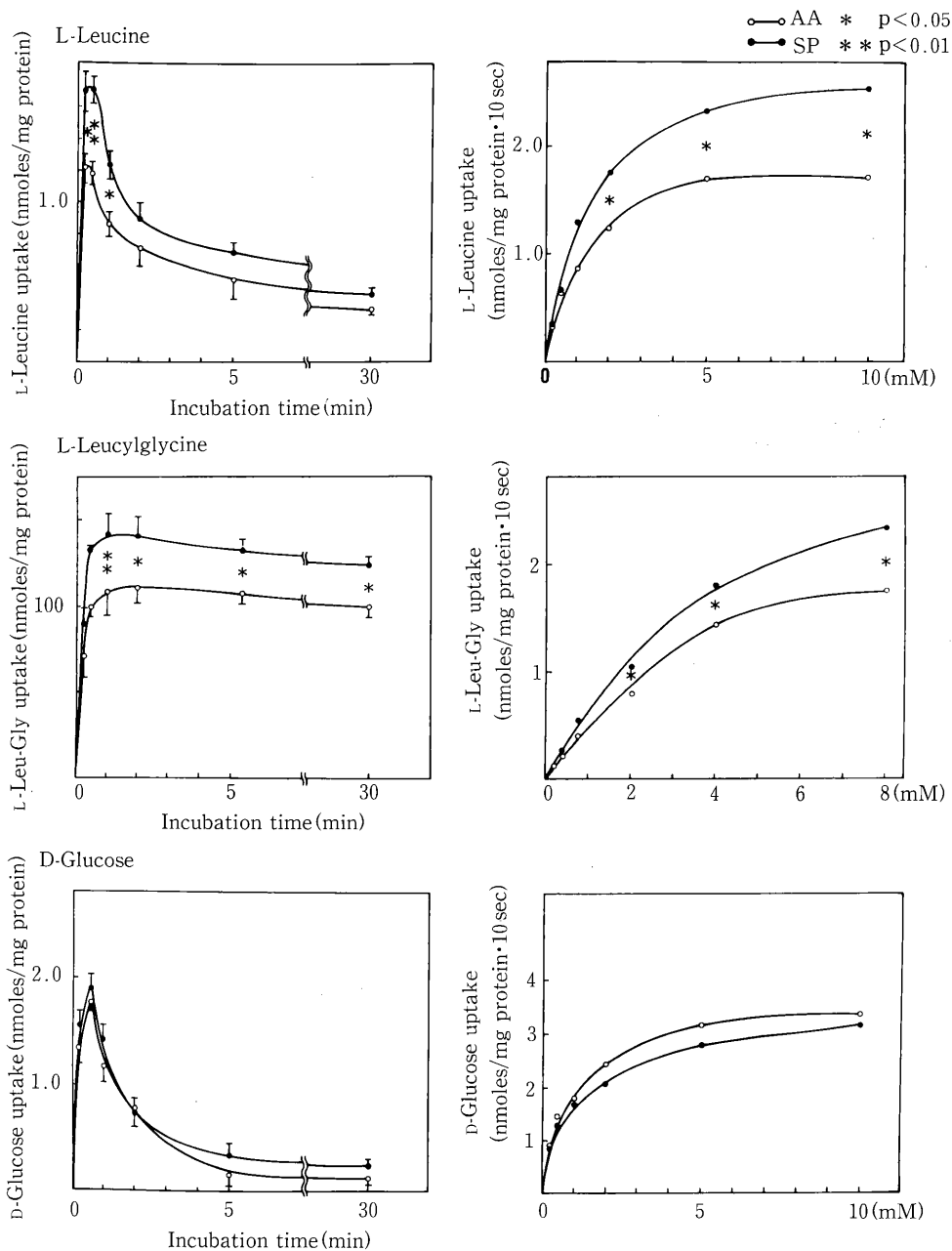


Fig. 2. Uptake of substrates into brush border membrane vesicles.

依存曲線はD-グルコースと同様、両群とも二相性の Michaelis-Menten 型を示した。

L-ロイシルグリシンの取り込みの time course は Na^+ 勾配下では、D-グルコースやL-ロイシンで見られたような明らかな overshoot は認めなかった。しかし、30秒以降、SP 群の取り込みが有意に亢進していた。また、L-ロイシルグリシンの取り込みの濃度依存曲線も、D-グルコースやL-ロイシンと同様に Michaelis-Menten 型を示した。

D-グルコース、L-ロイシンやL-ロイシルグリシンの kinetic parameter を Wolfram らの方法に準じて求めると、D-グルコースの K_m , $J_{\max}$ と AA と SP 両群で差はなかった。ところが、L-ロイシンの K_m は SP 群と AA 群では有意差はなかったが、 $J_{\max}$ は SP 群が AA 群に比べ約1.65倍有意に高値を示した (Fig. 3)。

L-ロイシルグリシンの K_m は SP 群と AA 両群で有意差はなかったが、 $J_{\max}$ は SP 群が AA 群に比べて約2.05倍有意に高値を示した。

刷子縁膜小胞へのL-ロイシルグリシンの10秒間における取り込み後 HPLC にて分析したところ、L-ロイシルグリシンの約30%が水解されていたが、残り70%はL-ロイシルグリシンのまま取り込まれていた。これはスモールペプチドおよびアミノ酸群ともほぼ同じであった。

術後の消化吸収障害に対する大豆ペプチドの効果

症例 K.I. 38歳、男、主訴：全身倦怠感、現病歴：昭和59年3月、交通事故により臍頭部切除術、胃亜全摘術 (Billroth II法) および胆摘術を受けた。手術後より低たん白血症、低コレステロール血症があり、過去に2度精査加療のため当科に入院している。平成2年1月頃より全身倦怠感と下肢浮腫が出現したため近院に入院後、当科に転院。現症：身長163 cm、体重46.7 kg、貧血あり。舌に発赤と舌乳頭の消失がある。腹部には手術瘢痕を認める以外、腹水もない。下肢の浮腫は軽減していた。検査成績：RBC $316 \times 10^4/\text{mm}^3$, Hb 10.2 g/100 ml, Ht 30%, WBC 6300/ mm^3 , TP 6.4 g/100 ml, ALB 4.2 g/100 ml, CHB 42 mg/100 ml, GOT 97 IU/l, GPT 66 IU/l, ALP 318 IU/l, AMY 31 IU/l, Ca 8.3 mg/100 ml, P 0.8 mg/100 ml, Zn 44 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, Cu 29 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ と低下, V.B₂ 46 ng/ml, FAD 31.7 ng/ml と低下, V.E 0.19 mg/100 ml, ニコチン酸 3.8 ng/ml と低下, PFD 32%, 脂肪吸収率 40%と著しく低下していた。入院中の経過：本症は術後消化吸収障害による吸収不良症候群であると診断し、他院にて IVH を施行され、

全身状態が改善後、当科に転院してきたため、消化器病食 (1700 kcal/日) と半消化態栄養剤ベスビオン800 kcal/日で経過を観察した。しかし、消化器病食の全量摂取が困難であること、また、経過中、血清総たん白、アルブミン濃度が低下してきたので、窒素源を消化吸収し易い大豆ペプチドにして、調理の工夫を行って約2000 kcal/日 (たん白質88 g, 脂肪15 g, 糖質320 g) とした。また必須脂肪酸欠乏を防ぐため脂肪乳剤220 kcal/日を毎日静注した。Fig. 4 に示すごとく、大豆ペプチドを主体としたたん白質の補給で、体重、血清たん白、アルブミン、総コレステロールは上昇傾向にあり、栄養指標となる rapid turnover protein の prealbumin (PA), retinol-binding protein (RBP), なかでも PA は確実に上昇しており、この食事療法の有効性が示された。なお、経過中の薬剤については全て同一であり、処方の変更はあり、大豆ペプチドを材料とした場合には、調理を工夫する必要がある、Table 1 にその1例を示した。

大豆ペプチド食投与中の血漿アミノ酸分析の結果は、投与前のものと比べてほとんど差はなかった (Table 2)。

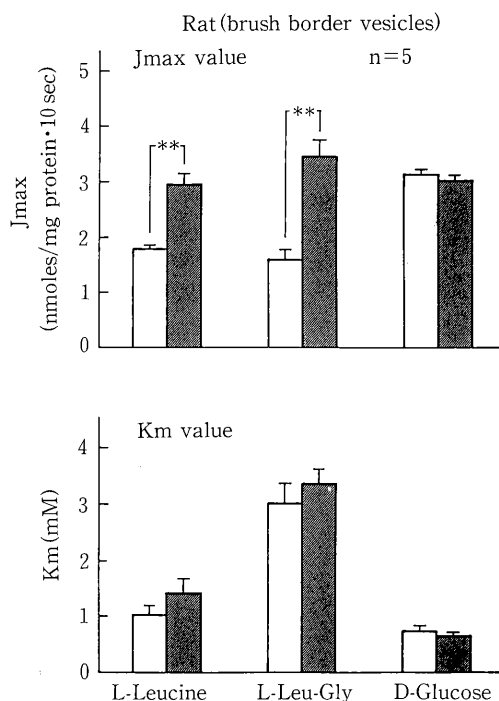


Fig. 3. Kinetic parameter of substrate uptake into brush border membrane vesicles.

考 察

消化吸収障害を有し、通常の食事摂取では栄養管理が困難な疾患に対しては、成分栄養剤をはじめとする各種経腸栄養剤が広く用いられている。しかし、成分栄養剤の長期投与においては、腸粘膜の萎縮が認められるとの報告⁴⁾もあり、われわれも確認している⁵⁾。経腸栄養剤の組成が小腸粘膜の形態と機能に及ぼす影響については十分な検討が行われていない。われわれは、腸管内基質としての窒素源がスモールペプチドか、アミノ酸かにより、腸粘膜の機能、とくにアミノ酸輸送系がどのように影響されるかについて注目し²⁾、すでに第10回大豆たん白質栄養研究会において発表してきた³⁾。

今回は基礎的に窒素源がスモールペプチドとアミノ酸である以外すべて組成が同一の飼料にて4週間飼育したラット小腸から、刷子縁膜小胞をとり出し、D-グルコース、L-ロイシン、L-ロイシルグリシンの刷子縁膜小胞への取り込みをみた。スモールペプチドにより小胞刷子縁膜のアミノペプチダーゼが特異的に高値を示

し、誘導されたことが示された。一方、刷子縁膜小胞へのNa勾配下でのL-ロイシンの取り込みは、スモールペプチド飼育小腸において、アミノ酸がより有意に上昇した。また、L-ロイシルグリシンの取り込みも上昇していた。kinetic parameter を求めると、L-ロイシン、L-ロイシルグリシンの J_{max} は、スモールペプチド群が有意に高く、しかし、 K_t はほぼ同じであった。すなわち、基質としてのスモールペプチドが、L-ロイシンやL-ロイシルグリシンの輸送担体数を増加させたことが明らかとなった。これはすでに壁間電位測定によっても明らかにされており²⁾、今回の実験によって確認できた。また、L-ロイシルグリシンの取り込みは、ジペプチドのままの型で行われており、刷子縁膜アミノペプチダーゼ活性によりアミノ酸にまで分解されて、吸収されたものでないことから、刷子縁膜酵素が輸送担体と関係するとの仮説は否定された。

このように経腸栄養剤として、窒素源にアミノ酸混合物を用いるより、ペプチドの方がよいことは以上の実験成績からでも明らかである。

そこで、臨床的に消化障害型吸収不良症候群患者に

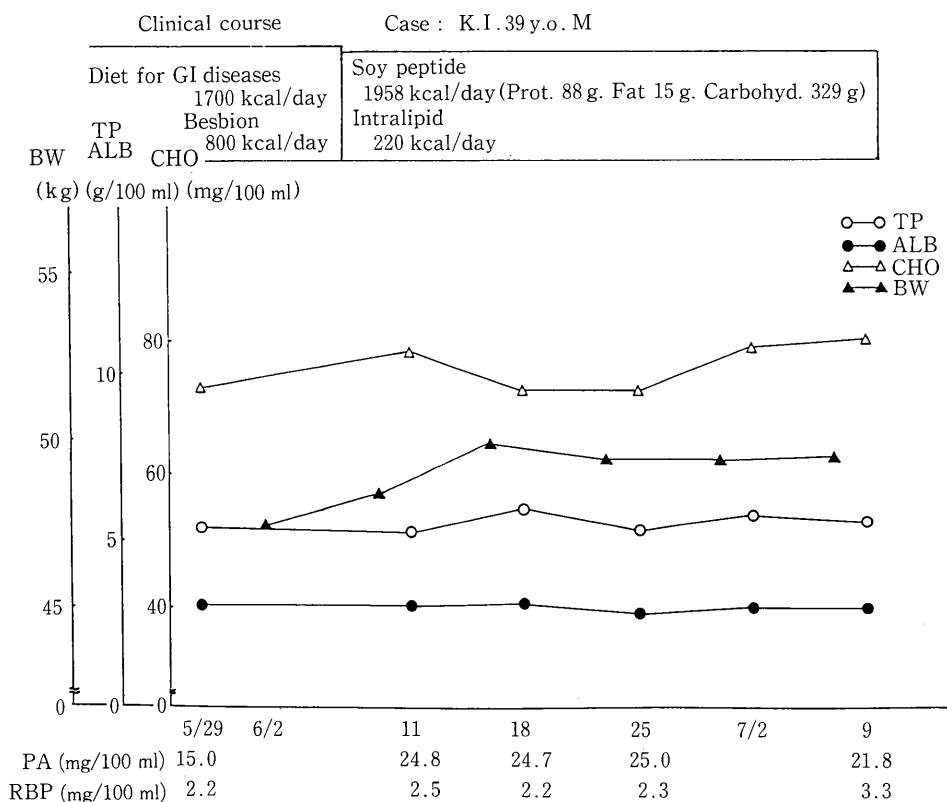


Fig. 4. Clinical course after soy peptide intake as nutritional treatment for the patient with malabsorption syndrome.

Table 1. Menu for patient with malabsorption syndrome
 <Menu of diet using soy peptide>

	Edible amount	Energy	Water	Protein	Fat	Carbo- hydrate
	<i>g</i>	<i>kcal</i>	<i>ml</i>	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>
Dinner						
Boiled rice (soft)	300.0	444.0	195.0	7.8	1.5	95.1
Food broiled with soy						
Soy protein	30.0	112.0	1.4	27.6	0.2	0.0
Salt	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Salad oil	2.0	18.0	0.0	0.0	2.0	0.0
Soy sauce	10.0	6.0	7.0	0.8	0.0	0.7
Hon-mirin	3.0	7.0	1.4	0.0	0.0	1.3
Starch	1.0	3.0	0.2	0.0	0.0	0.8
Curry-saute						
Macaroni	10.0	38.0	1.2	1.3	0.2	7.2
Onion	20.0	7.0	18.1	0.2	0.0	1.5
Green pea	5.0	4.0	3.9	0.2	0.0	0.7
Margarine	3.0	22.0	0.5	0.0	2.5	0.0
Salt	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Curry powder	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
Vegetables						
Lettuce	10.0	1.0	9.6	0.1	0.0	0.2
Cabbage	30.0	7.0	27.7	0.4	0.0	1.5
Cucumber	20.0	2.0	19.2	0.2	0.0	0.3
Tomato	40.0	6.0	38.0	0.3	0.0	1.3
Salt	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Baked laver						
Baked laver	2.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Soy-sauce pack	5.0	3.0	3.5	0.4	6.4	0.4
Total	492.6	680.0	316.8	39.3	6.4	111.1

Table 2. Plasma aminogram during soy peptide treatment
 (nmol/ml)

	Normal range	5/29	7/4
Total amino acid		8380.9	9910.6
Threonine	110-240	33.1	30.5
Valine	180-370	145.9	140.6
Methionine	21- 40	18.3	18.7
Isoleucine	43-110	51.3	53.5
Leucine	88-200	83.5	81.6
Phenylalanine	50- 83	47.3	51.2
Histidine	75-110	100.5	93.6
Tryptophan	39- 76	18.3	9.9
Lysine	150-260	11.5	80.6
Fischer ratio	3.0-3.5	3.25	3.15

大豆ペプチドを窒素源としたメニューを作り、患者に与えたところ、体重、血清たん白、アルブミンの増加がみられた。とくに栄養指標として最近注目されているプレアルブミンが上昇したことは、大豆ペプチドの有用性が示されたものといえる。

ただ、大豆ペプチドを用いる場合、調理法の工夫を行って、広く用いられるようにしなければならない。とくに、吸収不良症候群の患者においては、脂肪摂取量を1日20~30gに制限しなければならない。というのは、脂肪が最も消化吸収障害を受け易いからである。今後、大豆ペプチドが吸収不良症候群患者の窒素源として用いられることが期待される。

ま と め

腸管内基質としてのペプチドは刷子縁膜アミノペプチダーゼ活性を誘導し、また、アミノ酸およびジペプチドの輸送担体数を増加させ、しかも、ジペプチドのままでも取り込まれることを明らかにした。臨床的には

大豆ペプチド食を窒素源として，消化吸收障害型吸収不良症候群患者に与えて，栄養評価を行い，有用であることを示した。

文 献

- 1) 馬場忠雄，近持信男，中條 忍，細田四郎 (1986)：効率的栄養治療にかかわる諸因子の解析. 消化器病学の進歩'85, 163-164.
- 2) 布施建治，馬場忠雄，佐々木雅也，細田四郎 (1989)：低分子ペプチド食投与のアミノ酸吸収に及ぼす影響とその機序について. 日消誌, 86, 26-31.
- 3) 馬場忠雄，近持信男，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.
- 4) Young, E. A., Cioletti, L. A., Winborn, W. B., Traylor, J. B. and Weser, E. (1980) : Comparative study of nutritional adaptation to defined formula diets in rats. *Am. J. Clin Nutr.* 33, 2106-2118.
- 5) 中條 忍，馬場忠雄 (1990)：経腸栄養療法の現況と問題点—成分栄養療法における小腸粘膜の形態および機能的変化. 小腸研究会シンポジウム, *JJPEN*, 12, 1068-1070.