

ラット腸管の部分切除ならびに部分転移と術後の機能変化に対する大豆たん白質部分水解物（ペプチド）の投与効果

POSTOPERATIVE CHANGES IN METABOLIC FUNCTIONS IN RATS WITH RESECTION OF SMALL INTESTINE AND ADVANTAGE OF SOY-PROTEIN PEPTIDE INTAKE

杉山 薫・岩見公和・伊吹文男（京都府立大学農学部）

Kaoru SUGIYAMA, Kimikazu IWAMI and Fumio IBUKI

Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto 606

ABSTRACT

Rats with resection of about three-fourths (between both 10 cm from the Treitz ligament and from the ileocecal valve) of small intestine were examined for curing effects of protein, peptide and amino acid mixture intakes on postoperative changes in metabolic functions. The animals had been allowed free access to 5% fructose as drinking water for 2 days after operation, and then, fed the diets containing (A) 20% SPI, (B) 20% soy-protein peptide and (C) 16.6% amino acid mixture as nitrogen sources for 4 days. Similarly the animals with abdominal incision were arranged as the corresponding controls (D), (E) and (F) to (A), (B) and (C), respectively. Although the bowel-resected groups were far inferior to the controls in food intake (i. e. body weight gain), their relations were reversed as to the ileal mucosal weight per length. Interestingly group B was the highest in nitrogen retention as well as leucine aminopeptidase activity among the former groups. Accordingly it may be said that the peptide intake is more effective in functional restoration at early stages of postoperation than the protein or amino acid intake. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **12**, 67-73, 1991.

たん白質の消化吸收については、アミノ酸にまで分解をうけた後腸管から吸収されるものと長らく考えられてきた。その後、Newey & Smith (1962)¹⁾, Craft et al. (1968)²⁾, Adibi et al. (1971, 1975)^{3,4)}の研究により、たん白質消化産物中のオリゴ（ジ-またはトリ-）ペプチドの多くはそのままの形態で小腸粘膜上皮細胞中に取り込まれることが明らかにされた。ペプチド輸送系にはアミノ酸輸送系ほどの多様性はないが、たん白質の消化過程で生じた遊離アミノ酸とは競合せず、また或る種のアミノ酸輸送系に先天あるいは後天的な欠陥がある場合でも、ペプチドとして供給すれば当該アミノ酸の吸収不全が解消されることが知られる^{5,6)}

に及んで、ペプチド吸収のもつ栄養的役割の重要性が再認識されるに至った。

一方、小腸疾患や小腸切除により消化吸收機能表面が縮小すれば一時的にあるいは慢性的に栄養素の吸収不全症が起こる。このようなとき、たん白質投与の代りに部分水解産物（ペプチド）を投与すれば、消化にかかる負担を軽減しアミノ酸吸収量を増加させることが期待される。実際臨床的な観点から、カゼイン水解ペプチド^{7,8)}、卵白水解ペプチド⁹⁾、大豆たん白質水解ペプチドなど¹⁰⁻¹²⁾の経腸栄養剤としての有用性が数多く検討されている。また小腸機能に関しても、切除後縫合をうけた部位やその周辺に急激な修復の起きる

ことが知られており、ペプチド投与が機能回復にどのような影響を及ぼすか興味深い。本報告は、空回腸のおよそ4分の3を切除したラットの術後の初期における機能回復にペプチド食がたん白質食やアミノ酸混合食に比べてどの程度有効かを調べたものである。

実験方法

実験動物及び食餌条件

実験には体重250 g 前後のウィスター系雄ラットを用い、一夜(約12時間)絶食の後、手術を行なった。手順は、ペントバルビタール麻酔下、トライツ靱帯より下方10 cm、回盲弁より上方10 cmを残して小腸を切除し、その切断部を縫合した。術後2日間は5%フルクトース溶液を自由に与え、その後(A) SPI食、(B) 大豆たん白質水解ペプチド食、(C) アミノ酸混合食、の3群に分け当該試験食を投与した。飼料組成は、窒素源としてSPIまたは水解ペプチド(いずれもN×6.25換算で17%の不純物を含む)20%あるいはアミノ酸混合(ハイニュートPMの分析値に揃えた)16.6%、デキストリン65%(アミノ酸混合食は68.4%)、大豆油5

%, ミネラル混合(オリエンタル配合)5%, ビタミン混合(オリエンタル配合)1%, セルロース粉末4%から成る。また小腸切除群に対応させてペントバルビタール麻酔下開腹縫合するだけの“対照”にも(D) SPI食、(E) ペプチド食、(F) アミノ酸混合食、を与えた。ラットは、術後6日目すなわち試験食投与開始後4日目に一夜絶食の後、頸動脈切断により屠殺した。小腸切除群からは、トライツ靱帯より回盲弁にいたる腸管を取り出し、縫合部で切断して上部(元空腸)と下部(元回腸)に2等分した。対照群ラットについては、切除群に対応するトライツ靱帯より下方10 cm、回盲弁より上方10 cm部分を取り出した。摘出小腸腸管は冷生理的食塩水で内部をよく洗った後、濾紙で余分の水分を吸い取りスライドグラスを用いて掻き取った粘膜を酵素活性測定用のサンプルとして-80℃に保存した。頸動脈切断により採取した血清(ヘパリン含有)は、ヘモグロビン測定に20 μ L 使用後、残りを遠心分離(1000 g, 15 min)により血漿に分け各種パラメーター測定まで-20℃に保存した。また、屠殺前日の糞および尿を集め、ケルダール窒素の測定に用いた。

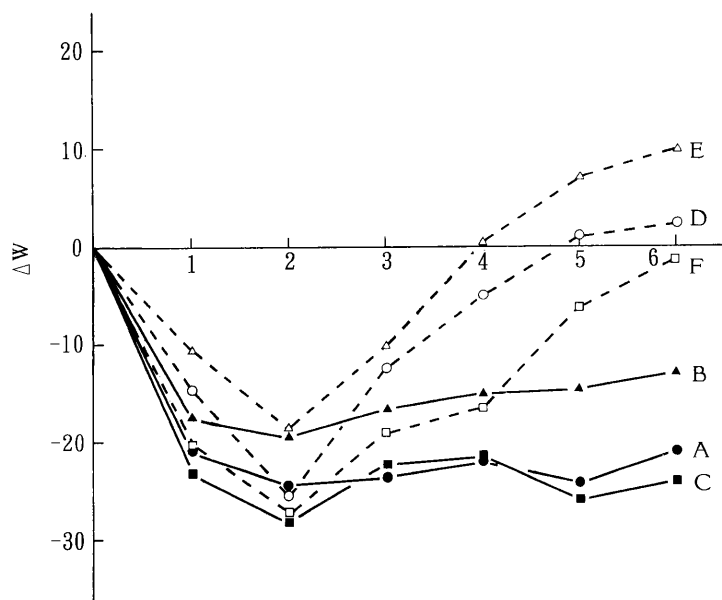
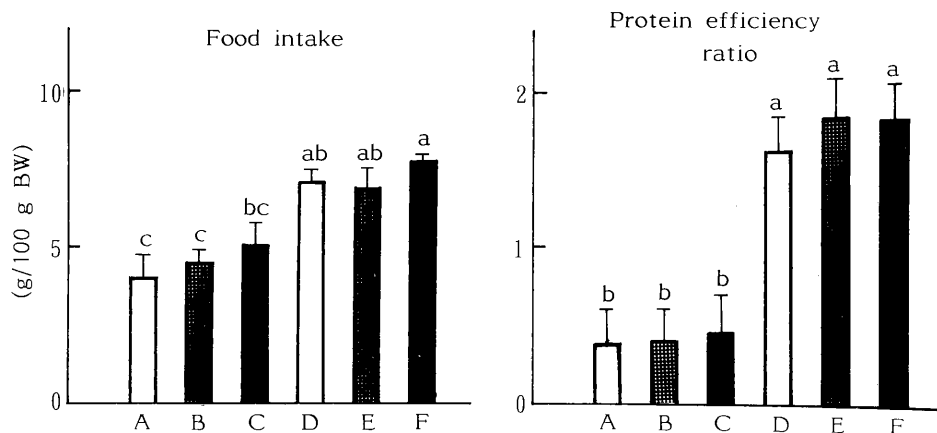


Fig. 1. Postoperative changes in body weight gain of rats with small intestinal resection (A, B, C) and abdominal incision (D, E, F). The animals were given their corresponding diets from the second day of postoperation. The change in body weight (ΔW) was expressed as the difference between before and after operation of the same animal. Symbols represent the means for 4 animals.



Figs. 2 & 3. Daily food intake and protein efficiency ratio in rats fed experimental diets for 4 days. Data were expressed as the means \pm SE for 4 animals; there is a significant difference ($\alpha_7 < 0.05$) between the mean not sharing a common superscript.

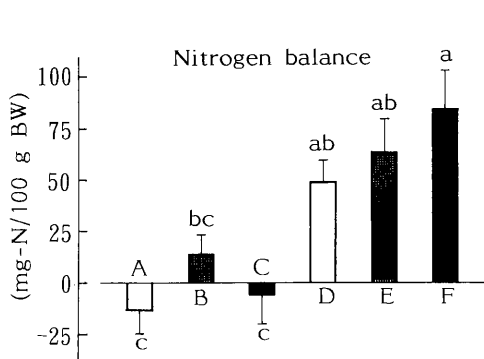


Fig. 4. Nitrogen balance in rats 6 days after small intestinal resection and abdominal incision. The nitrogen balance for a day before sacrifice was expressed as mg N per 100 g of body weight. The means \pm SE ($n=4$) without a common superscript are significantly different from one another.

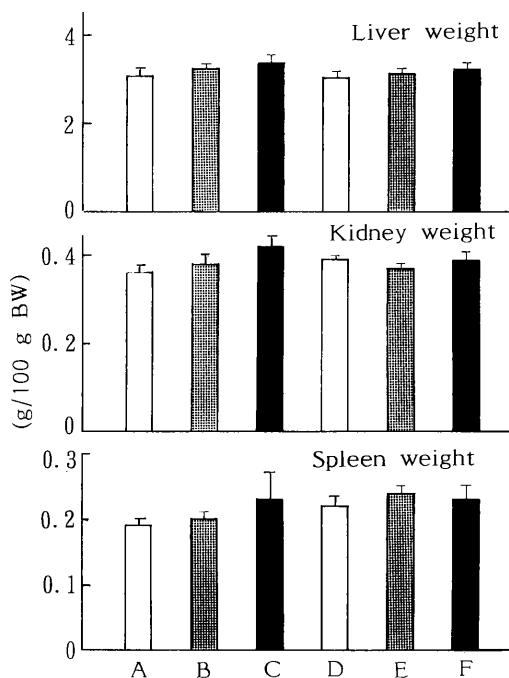


Fig. 5. Comparison of tissue weights (liver, kidney and spleen) in experimental rats. The animals were fasted overnight before sacrifice. The tissue weight was expressed as g per 100 g of body weight; significant differences were not observed among all the groups.

血漿成分の分析

血漿中総たん白質、アルブミン、尿素の各濃度は、ビウレット法、ブロムクレゾールグリーン法、ジアセチルモノオキシム法によって求めた。ヘモグロビン、グルコース、総コレステロール値の測定は、市販の測定キット“ヘモグロビンB-テストワコー”、“グルコー

スB-テストワーク”, “コレステロールC-テストワーク”を用いて行なった。

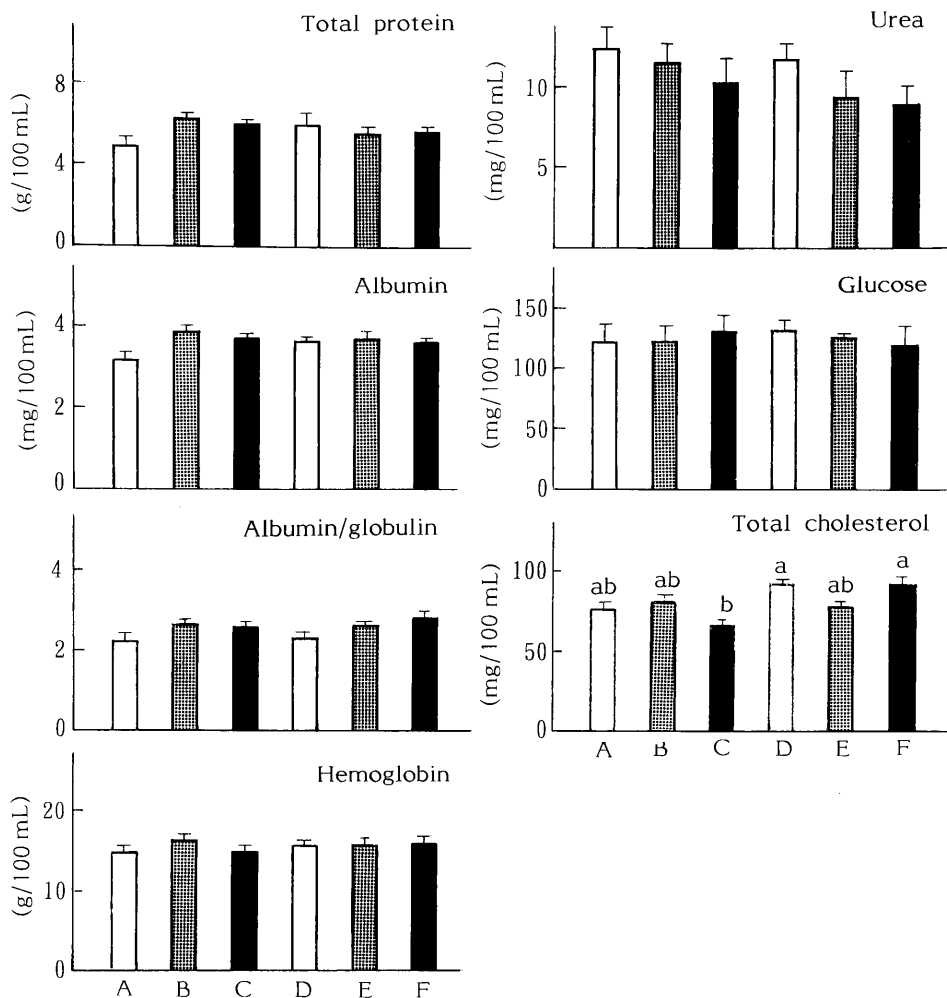
肝及び小腸粘膜 DNA, RNA, たん白質の定量

凍結保存しておいた肝切片及び小腸粘膜を解凍後, 5~10倍量の冷生理的食塩水でホモジネートとし, Schmidt-Thannhauser-Schneider 法によって分画したDNAとRNAを常法通りサケ精液由来のDNAと酵母由来のRNAを標準として測定した。たん白質量

は, 5%過塩素酸沈澱を1N苛性ソーダに溶かし牛血清アルブミンを標準として色素結合法(Bradford 法)により求めた。

小腸粘膜酵素活性の測定

凍結保存しておいた小腸粘膜に9倍量の冷生理的食塩水を加えてホモジネートとし, これを用いてスクラーゼ活性とロイシンアミノペプチダーゼ活性を測定した。



Figs. 6 & 7. Comparison of some biochemical parameters in the plasma of experimental rats. The plasma urea, glucose, cholesterol, protein, albumin and globulin concentrations were estimated as described in Methods. A significant difference was observed between C and D or F only as to the plasma cholesterol.

統計処理

各群4匹の測定値についてF検定を行ない、5%以下の危険率で有意差の認められたものを更に Student-Newman-Keuls test¹³⁾ で処理した。

結果と考察

Fig. 1 に各群ラットの体重変化を示した。術後2日間5%フルクトース溶液投与中は何れの群も体重を減少した。試験食の投与を開始すると、対照群が何れの食餌についても速やかな体重回復を示したのに対し、小腸切除群の体重増加は僅かであった。Fig. 2 に各群ラットの体重100 g、1日当たりの摂食量をまとめた。アミノ酸混合食投与は、消化管内での浸透圧が高まるため摂食量が少ないとの報告^{14,15)}があるが、我々の今回の実験では小腸切除、対照の何れの群でもそのような傾向はみられなかった。術後2日目より4日間の摂食量は、食餌の浸透圧よりむしろ腸管切断による侵襲に強く影響された。たん白質効率 (protein efficiency ratio) には、体重増加の違いを反映して小腸切除群と対照群間に著しい差が認められた (Fig. 3)。

屠殺前日の窒素出納をみると (Fig. 4)、小腸切除A、C群で負の出納を示し生体は未だ異化状態にあることが推察されたが、B群では僅かではあるが正の出納を

示しペプチド食の結果が確かめられた。これに対し、摘出した肝、腎、脾の重量 (100 g 当たり) には群間で有意な差は認められなかった (Fig. 5)。Figs. 6 & 7 に血漿中総たん白質、アルブミン、グロブリン、尿素、総コレステロール濃度及び血中ヘモグロビン量測定の結果をまとめた。これらのパラメーターの中で有意差の認められたのは、総コレステロール濃度 (C群とDまたはF群間) だけであった。小腸下部 (回腸) を切除すると血中ヘモグロビン量が低下するが、上部 (空腸) を切除しても変化しないとの報告¹⁶⁾がある。これについて我々の切除群では影響がみられなかったが、回盲弁より上方10 cmを残したことと関係があるのかもしれない。

小腸切除群残存小腸粘膜量を対照群の対応部分のそれと比較すると (Fig. 8)、上部 (空腸) では大豆たん白質水解ペプチド食投与B群が、下部 (回腸) ではB群に加えてSPI食投与A群が高い傾向を示した。小腸粘膜の増加にペプチド態アミノ酸の補給が有効との報告¹⁷⁾があるが、今回の実験結果もそれを支持している。一方、粘膜中のDNA量を単位粘膜湿重当たりで表すと、小腸切除群より対照群で高い傾向が認められ、むしろ小腸切除群ラットの残存粘膜細胞の肥大による影響が考えられた。また、たん白質量・RNA量を対DNA

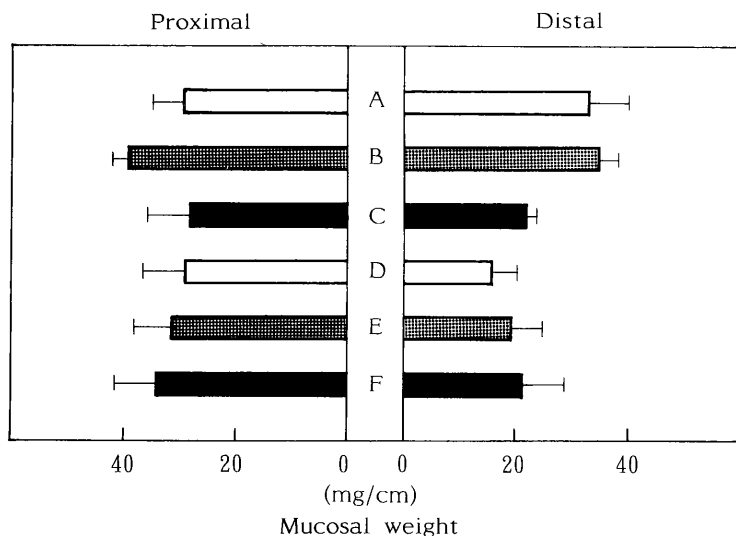


Fig. 8. Compensatory hyperplasia in residual mucosa of small intestine-resected rats. The weights of jejunal and ileal mucosa in the resected rats were compared with those of the corresponding segments in the control ones. Group B tended to become the most hyperplastic both in jejunum and ileum, although not significant.

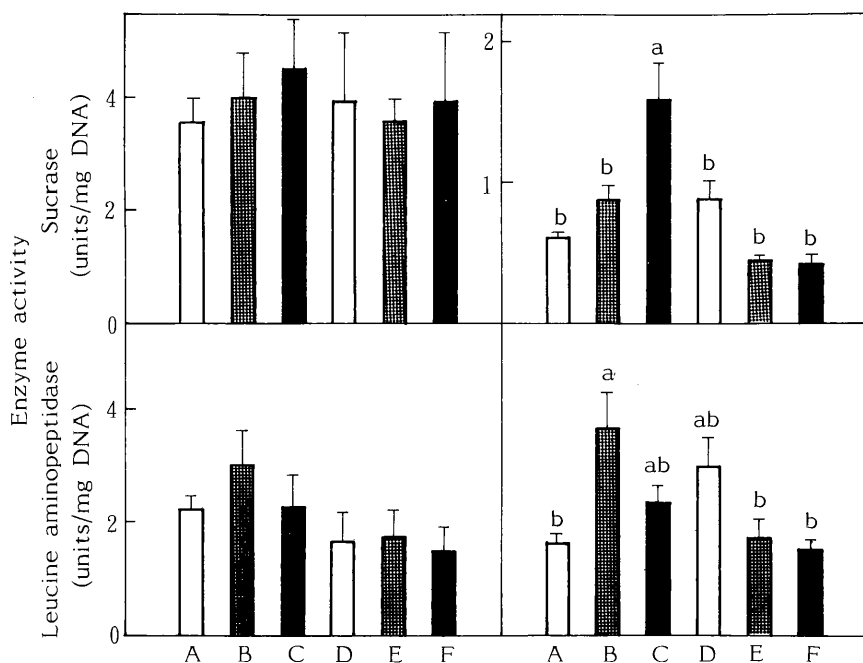


Fig. 9. Variation of membrane-bound enzyme activity in residual small intestine of resected rats. The activities of sucrase and leucine aminopeptidase were measured as usual. As a result, group B was significantly high in the ileal leucine aminopeptidase activity, while group C was significantly high in the ileal sucrase activity.

比で表すと全般的に小腸切除群で高い傾向がみられ、たん白質合成能は亢進していることが示唆された。Fig. 9 は小腸粘膜スクラーゼ、ロイシンアミノペプチダーゼ活性測定の結果を示したものである。スクラーゼ活性には、小腸上部で有意な差は認められなかったが、小腸下部でC群が他の群より有意に高かった。これに対し、ロイシンアミノペプチダーゼ活性は空腸部・回腸部共にB群で高くなる傾向が認められた。腸腔内ペプチドは刷子縁膜アミノペプチダーゼを活性化あるいは誘導するとの報告¹⁸⁾もあるが、対照E群に何ら変化の見られなかったことより、B群における現象説明には他の要因も考慮する必要がある。

いずれにせよ、小腸広範囲切除ラットに対する大豆たん白質水解ペプチドの投与は、窒素出納の改善、残存小腸粘膜の増殖、膜酵素活性の亢進をもたらし、少なくとも術後回復の初期においては他の食餌形態(たん白質またはアミノ酸混合)より有効であると考えられる。

文 献

- 1) Newey, H., and Smith, D. H. (1962): Cellular mechanisms in intestinal transfer of amino acids. *J. Physiol.*, **164**, 527-551.
- 2) Craft, I. L., Geddes, D., Hyde, C. W., Wise, I. J., and Matthews, D. M. (1968): Absorption and malabsorption of glycine peptides in man. *Gut*, **9**, 427-437.
- 3) Adibi, S. A. (1971): Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption. *J. Clin. Invest.*, **50**, 2266-2275.
- 4) Adibi, S. A., Moore, E. L., Massilamani, S. S., and Amin, P. M. (1975): Evidence for two different modes of tripeptide disappearance in human intestine: uptake by peptide carrier system and hydrolysis by peptide hydrolases. *J. Clin. Invest.*, **56**, 1355-1363.

- 5) Navab, F., and Asatoor, A. M. (1970): Studies on intestinal absorption of amino acids and a dipeptide in a case of Hartnup disease. *Gut*, **11**, 373-379.
- 6) Matthews, D. M. (1980): Intestinal absorption of peptides. *Physiol. Rev.*, **55**, 537-608.
- 7) Kishi, T., Iwasawa, Y., Itoh, H., and Chibata, I. (1978): Effect of nitrogen source on nutritional management after small bowel resection in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 167-176.
- 8) 中坊幸弘, 山田かよ子, 萩平 博 (1985): 胃全摘あるいは75%小腸切除ラットの窒素代謝におよぼす食餌性窒素源形態の影響. 日本栄養・食糧学会誌, **38**, 57-62.
- 9) 真島吉也 (1990): ペプチドを用いたエレメンタルダイエット. ペプチド栄養, 桐山修八・荒井総一編, 北海道大学図書刊行会, pp. 167-186.
- 10) 井原美佳, 大中政治, 新山喜昭 (1989): 経腸及び非経腸栄養への SPT-5 の利用. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 71-79.
- 11) 井原美佳, 宮ノ前朋子, 木戸康博, 岸 恭一 (1990): 消化吸収障害ラットにおける大豆たん白質ペプチドの栄養効果. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 87-94.
- 12) 中坊幸弘, 鈴木健史, 岡本美由紀, 葛原裕子, 萩平 博 (1990): 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. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 108-112.
- 13) Grnatz, S. A. (1987): "Primer of Biostatistics" 2nd ed., McGraw-Hill, pp. 91-95.
- 14) Itoh, H., Kishi, T., Ema, M., and Chibata, I. (1974): Effect of hydrochloride-free amino acid mixture on growth and food intake in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **20**, 431-436.
- 15) Itoh, H., Kishi, T., Ema, M., and Chibata, I. (1976): Nitrogen source primarily supplied by amino acids and the efficacy for maximal growth of rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 457-466.
- 16) Nygaard, K. (1966): Resection of the small intestine in rats. (I) Nutritional status and adaptation of fat and protein absorption. *Acta Chir. Scand.*, **132**, 731-742.
- 17) 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.
- 18) 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たん白質ペプチドの意義. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 117-121.