

分離大豆たん白質(SPI)にみられる消化管運動への特異作用

ENHANCEMENT OF THE SMALL INTESTINAL TRANSIT AFTER FEEDING OF SOYBEAN PROTEIN ISOLATE (SPI) IN RATS

原 博・森上英樹・桐山修八(北海道大学農学部)

Hiroshi HARA, Hideki MORIGAMI and Shuhachi KIRIYAMA

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

ABSTRACT

Soybean protein isolate (SPI) is known to have different effects from casein on the digestive and absorptive functions in rats. We examined the small intestinal transit speed, which is a factor determining digestive and absorptive rates, by duodenal instillation of unabsorbable radioactive markers in rats fed the diets containing 8% SPI, casein, and no protein. The transit speed was significantly higher in SPI diet group than those in casein and non-protein diet groups. We also compared the small intestinal transit speed between the rats fed SPI and two kinds of SPI hydrolysates: peptic digest of SPI (SPI-large peptide) and SPI-small peptide (Hinute PM). The transit speeds in the groups fed both large and small peptide containing diets were significantly higher than that in the non-protein diet group, and tended to be higher than that in the SPI-fed group. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **14**, 4-8, 1993.

私共はこれまでに、同時に摂取するたん白質によって、難消化性ペプチドであるオリゴメチオニンの消化性が異なることを見いだした^{1,2)}。すなわち、カゼインと同時に摂取したオリゴメチオニンの消化率は、約40%であり、分離大豆たん白質(SPI)の場合は、約20%であった(未発表データ)。また、オリゴメチオニンを含む低カゼイン食と低SPI食を投与した後の、門脈中へのメチオニン吸収も、低カゼイン食で速かった²⁾。一方、たん白質自身の門脈吸収もカゼインがSPIより速いことが観察された²⁾。これらの現象は消化吸收機能に対して食餌たん白質であるカゼインとSPIが異なった作用を有することを示唆している。

今回、消化吸收速度に影響の大きい小腸通過速度を、カゼインとSPIを摂取させたラットにおいて比較した。また、SPIに関してはそれらのペプチド化による小腸通過速度への影響を検討した。

実験方法

Sprague-Dawley 系雄ラット(日本 SLC, 浜松)、体重200 g 前後のものを Table 1 に示した基本飼料(25% casein diet)で1週間飼育し、1日絶食後、十二指腸上部にシリコンカテーテル(シラスコンNo00, ダウコーニング: 実験1)または、塩化ビニル製栄養カテーテル(テルモ, 東京)を加工したもの(Fig. 1, 実験2)を留置し、腹壁に固定した後皮下を通して頸背部より出し、そこでプロテクターにより固定した。基本飼料をさらに10日間摂取させ、手術侵襲より回復させた後、1日絶食し Table 1 に示した試験食を各2 g 給餌した。実験2では、SPI の代わりに large-peptide としてSPIをペプシンで分解したもの(平均分子量4000)、および small-peptide としてハイニート PM(不二製油, 大阪)を用いた飼料も調製し、給餌した。各ラットは給餌後40分目に断頭屠殺した。屠殺の6分前に、留置したカテーテルより1匹あたり37 kBq/2 mgの³H-

polyethylene glycol 4000 (PEG, NEN Research Products, Boston, USA: 実験1), ないし屠殺10分前に37 kBq の $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (ICN Biochemicals Inc. Costa Mesa, USA)を, 30 μL の0.05%インジゴカル

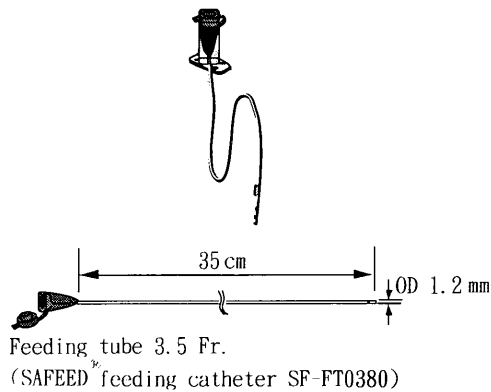


Fig. 1. Duodenal catheter for injection of a small intestinal transit marker in experiment 2.

ミン-生理食塩水に添加し, 1分間で投与した。屠殺後ただちに小腸を摘出し, 全長, インジゴカルミンが移動した距離(leading edge)を測定した。また, 小腸を8等分(実験1)または, 10等分(実験2)し, 各セグメント中の放射活性を測定した(geometric center)。

Leading edge は小腸全長に対するインジゴカルミンの移動距離を%であらわした。また, geometric center は次の式より算出した。

Geometric center = $\Sigma(\text{各セグメント中の放射活性} \times \text{セグメント番号}) / \text{小腸内全放射活性}$

ただし, セグメント番号は胃側より1とする。

また, 群間の有意差は Duncan の多重比較検定($p < 0.05$)を用いて行なった。

結 果

Fig. 2に実験1の結果, すなわち1日絶食後, 8%カゼイン食と8%SPI食2gを給餌して40分後の, 非吸収性マーカーである ^3H -PEGの小腸内分布を, 無たん

Table 1. Composition of diets

	Basal diet	8% Casein diet	8% SPI ¹ diet	Non-protein diet
	<i>g/kg diet</i>			
Casein ²	250	94	—	—
SPI ²	—	—	96	—
Sucrose	629	785	783	879
Corn oil ³	50	50	50	50
Mineral mixture ⁴	40	40	40	40
Vitamin mixture ⁵	10	10	10	10
Vitamin E ⁶	1	1	1	1
Choline chloride	20	20	20	20

¹ SPI was replaced with SPI-large peptide (peptic digest of SPI) or SPI small peptide (Hinute PM, Fuji Oil Co.) in experiment 2.

² Casein (ALACID, New Zealand Dairy Board, Wellington, New Zealand) and soybean protein isolate (SPI, Fujipro R, Fuji Oil Co., Osaka) contained 13.7 and 13.4% nitrogen, respectively.

³ Retinyl palmitate (7.66 $\mu\text{mol/kg}$ diet) and ergocalciferol (0.0504 $\mu\text{mol/kg}$ diet) were added to the corn oil.

⁴ The mineral mixture is identical to the mineral mixture 2 (MM2) described by Ebihara, Imamura and Kiriya³⁾. It provided (mg/kg diet): Ca, 4491; P, 2997; K, 3746; Mg, 375; Fe, 38.0; I, 0.31; Mn, 81.1; Zn, 25.9; Cu, 15.3; Na, 4342; Cl, 6678; Se, 0.27; Mo, 1.12; Cr, 0.49; B, 0.35; V, 0.22; Sn, 1.05; As, 1.20; Si, 15.7; Ni, 3.00; F, 2.71 and Co, 0.20.

⁵ The vitamin mixture was prepared in accordance with the AIN-76 mixture except that menadione and L-ascorbic acid were added to make 5.81 and 284 $\mu\text{mol/kg}$ diet, respectively.

⁶ Vitamin E granule (Juvela, Eisai Co., Tokyo) supplied 423 μmol all-*rac*- α -tocopheryl acetate per kg diet.

白食群と比較した。無たん白食群および8%カゼイン食群では胃側に近いセグメント2に最も多くのマーカーが分布していた。これに対して、8% SPI 食群ではマーカーは小腸のほぼ中央である、セグメント4に最も多く分布していた。これらの結果は、SPI 食群では他の群より、6分間より速くマーカーが移動したことになる。Table 2 にインジゴカルミンの移動距離から求めた leading edge (%) と、Fig. 3 から求めた geometric center の値を示した。8% SPI 食群は、leading edge においても geometric center においても他の2群、8%カゼイン食群と無たん白食群より、有意の高値を示した。

Fig. 3 には、実験2の結果を示した。すなわち、たん白源として SPI, SPI をペプシンで加水分解した SPI large-peptide, また SPI を低分子ペプチドまで加水分解した SPI small-peptide を8%含む試験食を、実験1と同様絶食後給餌し、40分後のラベルの分布を

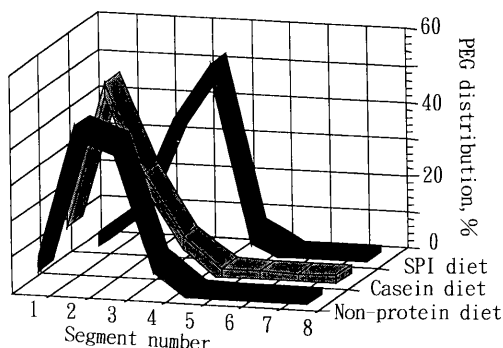


Fig. 2. The distribution of [^3H]-polyethylene glycol along the small intestine as divided into 8 equal segments 40 min after feeding of an 8% casein diet, SPI diet, or non-protein diet. The first segment is the most proximal side. The results express the percentages of radioactivity in each segment to the sum of all segments. Values represent mean $\pm$ SEM, $n=5-6$.

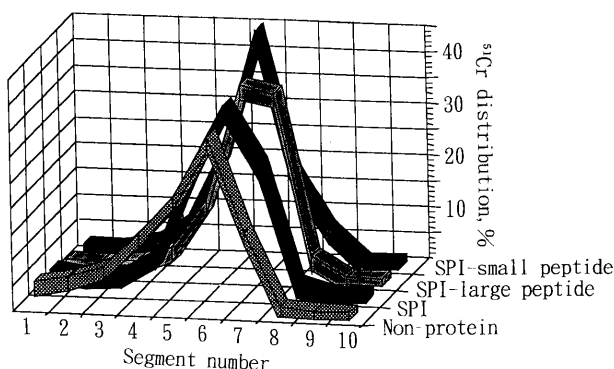


Fig. 3. The distribution of ^{51}Cr along the small intestine as divided into 10 equal segments 40 min after feeding of an 8% SPI, SPI-large peptide, SPI-small peptide, or non-protein diet. The first segment is the most proximal side. The results express the percentages of radioactivity in each segment to the sum of all segments. Values represent mean $\pm$ SEM, $n=8$.

Table 2. The small intestinal transit velocity evaluated by the leading edge and the geometric center (experiment 1)

	Leading edge	Geometric center
	%	
Non-protein diet	37.7 ± 2.2^b	2.52 ± 0.14^b
8% Casein diet	32.9 ± 4.5^b	2.38 ± 0.19^b
8% SPI diet	50.3 ± 1.2^a	3.45 ± 0.09^a

The values were estimated by a duodenal injection of carbon suspension (leading edge) containing 37 kBq [^3H]-PEG (geometric center) 6 min before sacrifice. The rats were killed 40 min after feeding of diets. The values not sharing superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Values represent mean $\pm$ SEM, $n=6$ (8% casein group, $n=5$).

Table 3. The small intestinal transit velocity evaluated by the leading edge and the geometric center (experiment 2)

Diet	Leading edge	Geometric center
	%	
Non-protein	66.9±1.6	5.07±0.30 ^b
SPI	68.7±1.9	5.62±0.19 ^{ab}
SPI-large peptide	71.7±2.0	5.99±0.15 ^a
SPI-small peptide	69.7±2.1	5.75±0.22 ^a

The values were estimated by a duodenal injection of the solution of indigo carmine (leading edge) and Na₂⁵¹CrO₄ (37 kBq, geometric center) 10 min before sacrifice. The rats were killed 40 min after feeding of diets. The values not sharing superscript letters are significantly different ($p < 0.05$). Values represent mean $\pm$ SEM, $n=8$.

無たん白食群と比較したものである。この実験では、非吸収性マーカーとして ⁵¹Cr を使用した。マーカーは各群はほぼ中央に分布し、最大値はいずれの群もセグメント 6 であった。このセグメントにおいては SPI small-peptide 食群の値が最も大きかった。無たん白食群では、最大値を示したセグメント 6 より前寄りに多くマーカーが分布していたのに対し、3 種のたん白食群ではいずれも盲腸寄りにより多くのマーカーが分布していた。とくに、SPI large-peptide 食群では他の群に比べてセグメント 7 に多くのマーカーが存在していた。

Table 3 に leading edge と geometric center の値をまとめた。Geometric center の値は群間の差は小さかったものの、無たん白食群に対して 2 種の SPI のペプチド食群で有意に高い値を示した。また、これらのペプチド群では SPI 食群に対しても高い傾向にあった。Leading edge は geometric center と群間の差では同じ傾向を示したものの、有意差は見られなかった。

考 察

Fig. 2, Table 2 に示した実験 1 の結果より、SPI 食群が無たん白食群ばかりでなく、カゼイン食群に対しても小腸通過速度が速いことが示された。このことは、SPI が何らかの機構によって、小腸通過速度を特異的に亢進させたことを示している。

Fig. 3, Table 3 に示した実験 2 においても、SPI 食群は無たん白食群よりも geometric center の値で有意に高く、SPI の小腸通過速度に対する特異作用は再現されたことになる。さらに、SPI をペプチド化してもこの亢進作用は消失せず、むしろさらに亢進する傾向にあった。これらの結果は SPI による小腸通過速度の亢進には、SPI 由来の小腸管腔内で生成するペプチドが関与していることを示唆している。ペプチド化に

よって、亢進作用がより強く現われたのは、SPI ペプチドを摂取した群で、より多くの亢進ペプチドが小腸内に存在したためかもしれない。SPI の管腔内消化産物中には、難消化性ペプチドの存在することが報告されており⁴⁾、小腸通過速度の亢進に関与しているかもしれない。

実験 2 では、無たん白食群と SPI 食群の差は小さくなっており、これはおそらく、マーカー投与後の時間が実験 2 では 10 分間であり、実験 1 での 6 分間より長かったためと思われる。小腸全体の通過速度は回腸で空腸より遅く、回腸の通過速度が律速になっているため、小腸の通過速度は一般的には 20—30 分間で測定されている。実験 2 ではこのことを考慮して測定時間を 10 分にしたが、結果的には差は小さくなった。このことから SPI による小腸の通過速度の亢進の作動部位は空腸が主であると考えられる。

今後、SPI の作動部位を明確にし、さらに活性ペプチドの分画や小腸通過速度を決定している主要な要因である小腸運動への SPI の作用を検討する必要があると思われる。

文 献

- 1) Chiji H, Harayama K and Kiriya S (1990): Effect of feeding rats low protein diets containing casein or soy protein isolate supplemented with methionine or oligo-L-methionine. *J Nutr*, **120**, 166-171.
- 2) Hara H and Kiriya S (1991): Absorptive behaviors of oligo-L-methionine and dietary proteins in a casein or soybean protein diet: Observations by porto-venous difference in unrestrained rats. *J Nutr*, **121**, 638-645.
- 3) Ebihara K, Imamura Y and Kiriya S

(1979): Effect of dietary mineral composition on nutritional equivalency of amino acid mixtures and casein in rats. *J Nutr*, **109**, 2106-2116.

4) Iwami K, Sakakibara K and Ibuki F (1986):

Involvement of post-digestion 'hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric Biol Chem*, **50**, 1217-1222.