

平均ペプチド鎖長の異なる2種の大豆ペプチドの腸管吸収の 灌流モデルによる検討

全 活・佐々木雅也・辻川知之・藤山佳秀・馬場忠雄*

滋賀医科大学第二内科

Influence of Peptide Chain Length on Absorption of Soybean Hydrolysate in Rat Small Intestine

Hwal CHUN, Masaya SASAKI, Tomoyuki TSUJIKAWA, Yoshihide
FUJIYAMA and Tadao BAMBA

Second Department of Internal Medicine, Shiga University of Medical Science,
Otsu 520-21

ABSTRACT

Influence of peptide chain length on the absorption of soybean hydrolysate was investigated by the intestinal perfusion of the rat. Two types of soybean hydrolysate, one is small peptide (SP, average peptide chain length: 3.2) and the other is large peptide (LP, average peptide chain length: 5.2), were prepared for this experiment. Krebs-Ringer phosphate buffer (pH 7.0) which contains 0.5% of either of the two types of soybean hydrolysate was perfused in 15-cm of rat jejunum for 70 min. After the perfusion, samples were collected and the amounts of amino acids were measured by the amino acid analyzer (Hitachi L-8500) after the hydrolysis and the amount of absorption of each amino acid was determined. Absorption amounts of glycine, histidine, arginine, phenylalanine, and proline in SP were significantly greater than those in LP. Total amount of peptide absorption of SP was significantly greater than that of LP. It is concluded that the amount of absorption of SP was greater than that of LP in the intestinal perfusion model of rat small intestine. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 51-54, 1996.

Key words : soybean hydrolysate, perfusion, absorption, average peptide chain length

我々は、平均ペプチド鎖長が異なり、またアミノ酸組成のほぼ等しい small peptide (SP, 平均ペプチド鎖長 3.2) および large peptide (LP, 平均ペプチド鎖長 5.2) の2種類の大豆ペプチドの吸収を、ラット反転腸管を用いて *in vitro* の実験で検討し、ペプチド

の吸収は、SP でより速やかであることを報告した^{1,2)}。今回、平均ペプチド鎖長がペプチドの吸収に与える影響を、SP および LP 2種類の大豆ペプチドを用いて、ラット灌流モデルによる *in vivo* の実験で検討した。

*〒520-21 滋賀県大津市瀬田月輪町

方 法

実験動物

Wistar 系雄性ラット (250~300 g) を実験動物として使用した。市販固形飼料 (CE-2, クレア) および水の自由摂取下にて、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、明暗コントロールを 8 AM より 8 PM までの 12 時間サイクルの条件にて飼育した。

大豆ペプチド

SP および LP の 2 種類の大豆ペプチド (不二製油株式会社) は、アミノ酸組成はほぼ等しいが、平均ペプチド鎖長が SP では 3.2, LP では 5.2 となるように、大豆の加水分解によって作製した。

灌流モデルの作製およびペプチドの吸収実験

24 時間絶食後、麻酔下に開腹した。Treitz 靱帯より tubing し、15 cm の空腸を用いて灌流実験をおこなった。

SP あるいは LP の 2 種類の大豆ペプチドを各々 0.5 % 含み、また polyethylene glycol (PEG) 5 g/L を nonabsorbable marker として含む Krebs-Ringer リン酸緩衝液 (pH 7.0) を灌流液として使用した。各灌流液を Treitz 靱帯より 0.38 mL/min にて灌流した。緩衝液の温度は 37°C に維持した。SP あるいは LP を含む灌流液を 70 分毎に交互に 3 回灌流し、10 分おきに灌流液を採取した。回収した灌流液 1 mL に 10% トリクロロ酢酸 1 mL を加えて、3,000 rpm にて 10 分間遠心して除たん白質した。得られたサンプル 0.4 mL に各々 10N HCl 0.6 mL を加えた後、 110°C 24 時間にて加水分解した。加水分解後、得られたアミノ酸を日立 L-8500 形高速自動アミノ酸分析機にて測定した。そして吸収されたペプチドを、以下の計算式より求めた。

$$\text{Solute absorption} = V \times (S_i - S_D \times \text{PEG}_i / \text{PEG}_D)$$

V: infusion rate

S_i : infused concentration of solute

S_D : solute concentrations in the distal samples

PEG_i : infused concentration of PEG

PEG_D : PEG concentrations in the distal sample

灌流液中の PEG の濃度は Malawer らの方法³⁾により測定した。吸収が安定するように灌流 20 分以降

のサンプルの平均より、吸収の比率をもとめた。

トリプトファン、セリンおよびスレオニンは加水分解により多くが分解されるため、計算から除外した⁴⁾。
統計学的処理

数値は mean $\pm$ SEM で表記した。統計学的処理は Student's *t*-test により行い、 $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

大豆ペプチドに含まれる中性アミノ酸のグリシンの吸収は、LP に比べて SP で有意に高値であった (Fig. 1)。また塩基性アミノ酸のヒスチジン、アルギン (Fig. 2)、芳香族のフェニルアラニン、プロリンなどのアミノ酸の吸収は、LP に比べて SP で有意に高値であった (Fig. 3)。またその他のアミノ酸の吸収も LP に比べて SP で高値である傾向が認められた (Fig. 4)。吸収されたペプチドの総量も LP に比べて SP で有意に高値であった (Fig. 5)。

考 察

食餌中のたん白質は胃でペプシンによる水解を受けた後、胰酵素による水解を受け、小腸管腔内でその約 1/3 は遊離アミノ酸に残りの 2/3 は構成アミノ酸数が 2 ~ 6 の小ペプチドとなる⁵⁾。

ラット反転腸管において吸収される大豆ペプチドの吸収速度は LP にくらべ SP で有意に亢進していた。

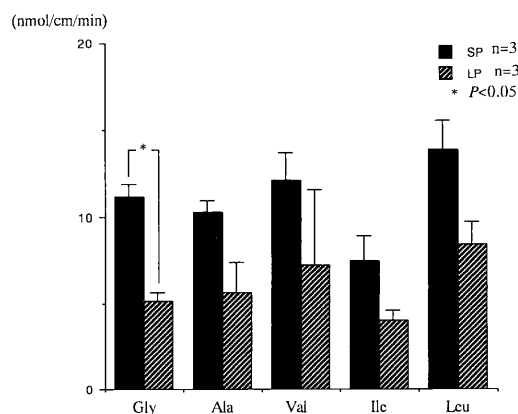


Fig. 1. Absorption of neutral amino acids of two types of soybean peptides in rat jejunal perfusion model. SP, small peptide; LP, large peptide. Each bar represents mean $\pm$ SEM. * $P < 0.05$, significant difference between the rate of absorption of SP and LP.

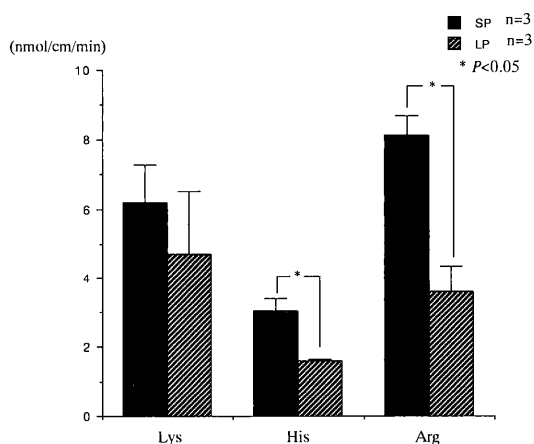


Fig. 2. Absorption of basic amino acids of two types of soybean peptides in rat jejunal perfusion model. SP, small peptide; LP, large peptide. Each bar represents mean $\pm$ SEM. * $P < 0.05$, significant difference between the rate of absorption of SP and LP.

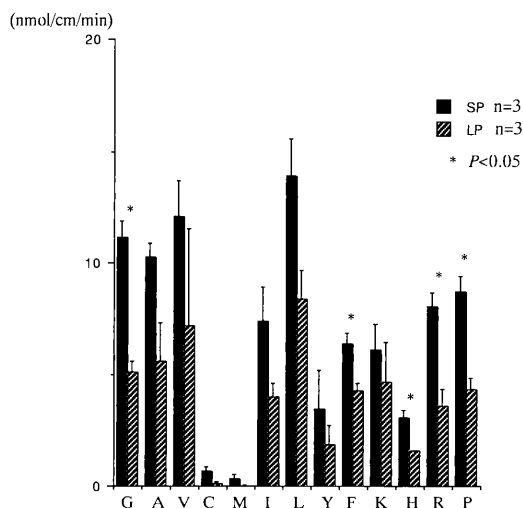


Fig. 4. Absorption of amino acids of two types of soybean peptides in rat jejunal perfusion model. SP, small peptide; LP, large peptide. Each bar represents mean $\pm$ SEM. * $P < 0.05$: significant difference between the rate of absorption of SP and LP.

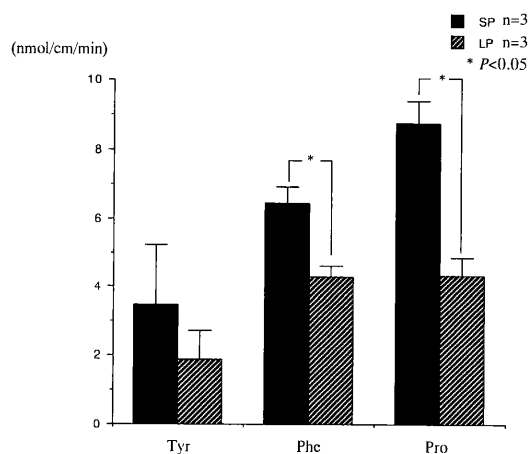


Fig. 3. Absorption of the amino acids of two types of soybean peptides in rat jejunal perfusion model. SP, small peptide; LP, large peptide. Each bar represents means $\pm$ SEM. * $P < 0.05$, significant difference between the rate of absorption of SP and LP.

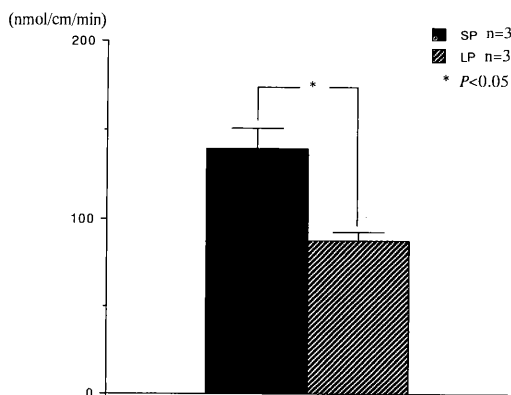


Fig. 5. Total amount of absorption of amino acids of two types of soybean peptides in rat jejunal perfusion model. SP, small peptide ; LP, large peptide. Each bar represents means $\pm$ SEM. * $P < 0.05$: significant difference between amount of absorption of SP and LP.

この吸収速度の差は, intact transport により吸収されるペプチドの吸収速度の差に起因すると考えられた^{1,2)}。ペプチドの一部は刷子縁膜に存在する各種ペプチダーゼによって水解され, 遊離アミノ酸やより小さなペプチドとなり, 遊離アミノ酸は刷子縁膜に存在するそれぞれのアミノ酸に対応する転送系を介して小腸吸収上皮細胞内に吸収される⁶⁾。今回, 灌流モデル

を用いて, SP および LP2種類の大豆ペプチドの吸収を *in vivo* の実験で比較し, 平均ペプチド鎖長のペプチドの吸収に与える影響を検討した。大豆ペプチドを用いた吸収実験においても, ジペプチド, トリペプチドを主体とした低分子ペプチドの速やかな吸収が確認された。以上より, 低分子ペプチドが経腸栄養の窒素源として有効であることが確認された。

要 約

ラット灌流モデルを用いて, SP および LP の 2 種類の大豆ペプチドの吸収を検討した。大豆ペプチドに含まれる中性アミノ酸のグリシン, 塩基性アミノ酸のヒスチジン, アルギニン, 芳香族アミノ酸のフェニルアラニン, またプロリンなどのアミノ酸の吸収は, LP に比べて SP で有意に高値であった。また吸収されたペプチドの総量も LP に比べて SP で有意に高値であった。正常腸管における SP および LP の吸収は, SP でより高値であることが *in vivo* の実験で確認された。

文 献

- 1) 馬場 忠雄, 全 活, 佐々木 雅也, 細田 四郎 (1994): 正常および傷害腸粘膜における大豆ペプチド吸収について—平均ペプチド鎖長の異なる 2 種の大豆ペプチドによる検討—。大豆たん白質研究会会誌, **15**, 63-69.
- 2) Chun H, Sasaki M, Fujiyama Y and Bamba T (1996): Effect of peptide chain length on absorption and intact transport of hydrolyzed soybean peptide in rat everted intestinal sac. *J Clin Biochem Nutr*, (in press).
- 3) Malawer SJ and Powell DW (1967): An improved turbidimetric analysis of polyethylene glycol utilizing an emulsifier. *Gastroenterology*, **53**, 250-256.
- 4) Gardner MLG, Lindblad B, Burston D and Matthews DM (1983): Trans-mucosal passage of intact peptides in the guinea-pig small intestine *in vivo*: a re-appraisal. *Clin Sci*, **64**, 433-439.
- 5) Chung YC, Kim YS, Shadchehr A, Garrido A, Macgregor IL and Sleisenger MH (1979): Protein digestion and absorption in human small intestine. *Gastroenterology*, **76**, 1415-1421.
- 6) Castro GA (1981): Principles of digestion and absorption. In: *Gastrointestinal Physiology*. Johnson LR, ed., The CV Mosby Co., St Louis, Toronto, London, pp. 95-106.