ムチンの栄養学的研究 (第2報)

Nutritional Studies on Mucin (Part 2)

ラット腸管のアミノ酸吸収に及ぼすムチンの影響について

The effect of mucin on the amino acid absorption in the rat intestine

(昭和 42 年 9 月 10 日 受 理)

長 沢 太 郎 清 沢 功
(Taro Nagasawa) (Isao Kiyosawa)
前 田 正 躬 饒 村 護
(Masami Maeda) (Mamoru Niyomura)

The effect of mucin on the amino acid absorption in the small intestine of rat was studied through the perfusion technique.

A 10 cm section of the intestine was separated about 7 cm apart from the pylorus at the upper end, and connected to the circulation system. The perfusion solution containing 2 μ M amino acid was circulated through the system, at the rate of 0.7 ml per min. at 37°C.

Chemical analyses of the residual amino acids in the perfusing solution showed that, in the presence of 0.005% of mucin, the increase in absorption by the small intestine was observed in the following 8 amino acids, alanine, valine, leucine, proline, serine, methionine, aspartic acid and arginine, in comparison with the control system devoid of mucin.

ムチンはムコ多糖類、ムコ蛋白質などによって構成され、粘性の高い物質として生体内に広く分布している。

これらは分子量数百万の複雑な高分子物質であるが¹⁾生体内で起源を異にするムコ物質は化学的性状が異なるのみでなくその生理活性においても極めて特異な作用をもつことが一般に知られている。Glass²⁾によれば、gastric mucin は円柱上皮細胞から分泌される visible mucus, soluble mucus あるいは dissolved mucoprotease および胃腺の mucoid neck cell から分泌される glandular mucoprotein 等から成るという。さらに唾液腺ムチンも含めて、消化器系におけるこれらムコ物質は単なる滑剤、あるいは粘膜保護作用のみにとどまらず栄養学的にも興味ある生理活性をもつことが知られている。²⁾³⁾

前報において著者らは豚胃ムチンがラットの成長を促進しさらに運動機能が高めることを観察し報告した。Tomarelli⁴⁾ および宮原⁵⁾ も同様にムチンのラット成長促進作用を認め、その機作として前者はムチンの microbiological growth factor としての作用、すなわちムチンが bifidus factor の供給源であることを示した。⁵⁾ 一方後者ら⁶⁾ はラット腸管のアミノ酸吸収に対するムチンの効果について検討し、ロイシンの吸収がムチン

ンによって促進されることを明らかにした。

宮原らのアミノ酸吸収実験方法によれば、ロイシン溶液またはロイシン-ムチン溶液をラット腸管に一定時間循環灌流させ灌流前後のアミノ酸をニンヒドリン反応によって定量し、それに基づいて吸収量を算出している。

この方法のように還流液をモーターにより一定時間循環させることは流速を調節することが困難であるし、さらに還流液中のアミノ酸をニンヒドリン反応に基づいて定量しているが循環灌流液中には還流液として添加したアミノ酸以外にニンヒドリン反応陽性物質(アンモニア等)の排泄、剥離等も考えられ、単にニンヒドリン反応による定量値からアミノ酸の吸収量を求めることには検討の余地があろう。従って本実験ではこれらの点を改良しさらに18種類のアミノ酸についてそれらの吸収に対するムチンの影響を検討することとした。

実 験 方 法

1) 試験動物

生後 6~7 週間を経過したWistar 系雄ラットを用い1夜絶食して使用した。10%ウレタン溶液で麻酔下開腹し、胃幽門部より下部へ約7cm へだてた箇所と、さらに10cm へだてた箇所にカニユーレを挿入し還流

液がカニューレを通して小腸上部側より下部へ容易に流下するようにした。

2) 還流液の調製

リンゲル液を次の組成で調製した。

NaCl	9.00 g
KCl	0.42
CaCl ₂	0.34
NaHCO ₃	0.30

蒸留水で全量 1000 ml とする。

還流液はこのリンゲル液にアミノ酸濃度が $2 \mu \text{mole}$ となるように溶解した還流液 (以下(A)と記す) とさらに (A) にムチン濃度が 0.005% になるように溶解した還流液 (以下(M)と記す) を用いた。

なおムチンは glanular mucin (Wilson Lab. 製) を精製して使用した。

3) 還流方法並びにアミノ酸吸収率の測定

還流液はあらかじめ 37°C に保温し、調節コックで流速を約 0.6~0.8 ml/min. になるよう調節して腸管を通過流下せしめた。腸管をリンゲル液で充分洗滌したのち、アミノ酸還流液 60 ml を流下させ、次いでリンゲル液 40 ml を同一速度で流下させて両者を合し 100 ml に定容してアミノ酸定量分析に供した。各アミノ酸につき2匹のラットを使用し1匹のラットでは(A)を流下して充分洗滌したのち(M)を流下させ、また他のラットについては最初に(M)を通過せしめた後(A)を通過させてその吸収量を測定した。アミノ酸の吸収率は還流後における還流液 100 ml 中のアミノ酸含量と還流前のアミノ酸含量との比率により求めた。アミノ酸の定量には日立 K L A-3 型アミノ酸分析計を使用した。

実 験 結 果

1) 腸管におけるアミノ酸吸収の経時的变化

本還流実験はラットを麻酔状態として 5~6 時間を要するので実験の経過に伴うラットの生理状態の変化をとくに考慮する必要がある。従って前記条件でアミノ酸のラット腸管吸収の経時的变化をロイシンについて先ず検討することとした。ロイシン $2 \mu \text{mole}$ リンゲル溶液を 5 時間流下させ各 20 ml ずつ採取し、それぞれについてロイシン吸収率を測定し Fig. 1 の如き結果を得た。図から明らかなように先に述べた条件ではアミノ酸の吸収量に顕著な経時的変動はみられなかった。

2) 各種アミノ酸吸収に対するムチンの影響

18 種類のアミノ酸についてムチン添加時と無添加時の腸管吸収の状態について観察し、Table 1 の如き結果を得た。それによるとグリシン、アラニン、バリン、ロ

Fig. 1. Variation of Amino Acid Absorption in Rat Intestine with Perfusion Times

イシン、プロリン、セリン、アスパラギン酸、アルギニンの 8 種類のアミノ酸は 2 匹のラットについてムチンによる吸収促進効果が認められた。またイソロイシン、フェニルアラニン、スレオニン、シスチン、メチオニン、トリプトファン、チロシン、ヒスチジンの 8 種類のアミノ酸は 1 匹のラットのみにムチンによる吸収促進効果が認められた。これらのアミノ酸の内、トリプトファンとヒスチジンを除いたいずれのアミノ酸も (M) を最初に通した後 (A) を通したラット (表の M_1-A_2) にその効果が認められている。またリジン、グルタミン酸は 2 匹のラットについてムチンによる吸収促進の効果が認められなかった。

2 匹のラットのアミノ酸の吸収率を還流液 (M) と還流液 (A) について平均して図示すれば、Fig. 2 の通りである。これによると、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、プロリン、セリン、メチオニン、アスパラギン酸、アルギニンおよびヒスチジンの各アミノ酸は (A) より (M) の方が吸収率が高かったが、その他のアミノ酸ではムチン添加の好結果が認められなかった。しかし (M) と (A) の吸収率において、ムチンの効果の認められないアミノ酸に比して、ムチンの吸収促進効果のみられるアミノ酸にその差が顕著である点は注目すべきである。

考 察

ムチンが栄養学的にすぐれた物質であることについては多数の報告がある。³⁾⁴⁾⁷⁾ 宮原⁵⁾ はムチンがアミノ酸の消化吸収において何等かの役割を果していると考え、ラットの腸管還流実験により、ロイシンの吸収に対するムチンの影響について観察した。その結果によれば、還流液にロイシンのみを含有する場合の吸収量は $0.066 \pm 0.031 \text{mM}$ であり、ロイシンおよびムチンを含有する場合の吸収量は $0.148 \pm 0.035 \text{mM}$ となり、ムチンがロイシンの腸管吸収を促進するという。然しこの方法は還流液中のアミノ酸をニンヒドリン反応に基づいて定量するものであるが、還流液中にはニンヒドリン反応陽性物質が分泌、排泄、剥離されるためアミノ酸の定量方法と

Table 1. Effect of Mucin on Amino Acid Absorption in Rat Intestine

Amino acid		Amount of absorption (mg)	Absorption ratio (%)	Amino acid		Amount of absorption (mg)	Absorption ratio (%)
Glycine	M ₁	1.13	12.5	Cystine	M ₁	6.77	23.3
	A ₂	0.93	10.6		A ₂	6.24	21.5
	M ₂	2.20	24.3		M ₂	6.20	21.3
	A ₁	2.03	22.4		A ₁	7.16	24.6
Alanine	M ₁	1.88	17.3	Methionine	M ₁	7.53	41.8
	A ₂	1.25	11.5		A ₂	4.67	25.9
	M ₂	5.14	47.3		M ₂	5.72	31.8
	A ₁	1.11	10.2		A ₁	6.15	34.2
Valine	M ₁	4.97	35.1	Tryptophan	M ₁	2.90	11.8
	A ₂	3.08	21.8		A ₂	3.56	14.5
	M ₂	4.84	34.2		M ₂	8.40	34.2
	A ₁	3.58	25.3		A ₁	7.77	31.6
Leucine	M ₁	5.07	31.2	Tyrosine	M ₁	1.25	5.8
	A ₂	4.78	30.0		A ₂	1.00	4.6
	M ₂	7.33	46.5		M ₂	1.83	8.4
	A ₁	3.54	22.4		A ₁	2.56	11.8
Isoleucine	M ₁	4.82	30.4	Aspartic acid	M ₁	4.78	27.8
	A ₂	4.29	27.0		A ₂	4.23	24.6
	M ₂	2.87	18.1		M ₂	3.55	20.6
	A ₁	4.27	26.9		A ₁	2.27	13.2
Phenylalanine	M ₁	7.53	36.2	Glutamic acid	M ₁	2.76	15.1
	A ₂	6.96	33.5		A ₂	5.12	30.0
	M ₂	6.85	32.9		M ₂	2.32	13.2
	A ₁	9.10	43.7		A ₁	3.20	18.2
Proline	M ₁	5.89	42.0	Lysine	M ₁	2.18	12.3
	A ₂	4.15	29.6		A ₂	2.29	12.9
	M ₂	5.00	35.6		M ₂	2.10	11.8
	A ₁	3.43	24.4		A ₁	2.46	13.9
Serine	M ₁	2.83	22.3	Arginine	M ₁	4.75	18.8
	A ₂	1.30	10.2		A ₂	4.42	17.5
	M ₂	3.31	26.0		M ₂	7.90	31.3
	A ₁	2.63	20.7		A ₁	4.23	16.8
Threonine	M ₁	2.61	18.2	Histidine	M ₁	4.82	19.1
	A ₂	2.58	18.0		A ₂	5.03	20.0
	M ₂	1.63	11.4		M ₂	4.86	19.3
	A ₁	2.73	19.0		A ₁	4.23	16.3

M₁A₂ : A was perfused after perfusing M

M₂A₁ : Vice versa

しては検討の余地がある。そのため本実験では還流液中のアミノ酸はすべてアミノ酸分析計により定量することとした。

またかかる還流実験において考慮しなければならない問題は還流液の容積の増減である。還流中に水分の吸収、排泄があれば流出液中のアミノ酸濃度は当然変化する事が考えられる。この点について本実験では流出前後の還流液の容積の変動をみたところ、定量値に異常を来たす程の変化は認められなかった。

一方ムチンによるアミノ酸吸収の促進効果の機作を本実験の結果のみから解明することは不可能であるが、各アミノ酸の分子量と吸収促進効果との関係を見ると次のTable 2 の通りである。

これによるとムチンの吸収促進効果のみられるアミノ酸は主に低分子量のアミノ酸に多く、分子量の高いアミノ酸でムチンの効果を示すものは少ない。またムチン添

Fig. 2. Amino Acid Absorption in Rat Intestine

加の好影響が認められなかった8種類のアミノ酸のうちリジン、チロシン、トリプトファンおよびシスチンの4種類のアミノ酸は(M)と(A)のアミノ酸の吸収率に大差が認められなかったものである。

Table 2. Relation of Amino Acid Molecular Weight to the Effect of Mucin on Amino Acid Absorption in Rat Intestine

Amino acid	Mol. weight	Effect of mucin
Glycine	75	+
Alanine	89	+
Serine	105	+
Threonine	111	—
Proline	115	+
Valine	117	+
Leucine	131	+
Isoleucine	131	—
Aspartic acid	133	+
Lysine	146	±
Glutamic acid	147	—
Methionine	149	+
Histidine	155	±
Phenylalanine	165	—
Arginine	174	+
Tyrosine	181	±
Tryptophan	204	±
Cystine	240	±

ところで中性アミノ酸の腸管吸収機構について、これらのアミノ酸は中性アミノ酸輸送系によって腸管から能動的に吸収されることが知られている。アミノ酸が中性アミノ酸輸送系から吸収される条件について荻原ら⁸⁾は(1)アミノ基が α -位に存在する。(2) α -カルボキシル基は遊離の状態が存在する。(3)側鎖に正または負の電荷を持たないこと等があげられている。中性アミノ酸のうち無極性残基によって構成されるアミノ酸にはグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニンがあり、これらのうちムチン効果(—)のアミノ酸はイソロイシンとフェニルアラニンのみである。しかしこれらのアミノ酸でも2匹のラットの吸収率の平均値ではムチン効果(—)であるが、いずれも1匹のラットではムチン効果(+)に出ている点は注目すべきである。また有極性残基を有する中性アミノ酸にはチロシン、トリプトファン、セリン、スレオニン、シスチン、メチオニンがあるが、ムチン効果(—)を示すアミノ酸としてチロシン、トリプトファン、スレオニン、シ

スチンがある。これらの諸点から推察して、ムチンは中性アミノ酸輸送系に何らかの影響を及ぼしていると考えられる。

塩基性アミノ酸が腸管から能動的に吸収されることは最近の実験によって明らかにされた。本実験の結果ではアルギニンはムチンによる効果がはっきり現われているがヒスチジン、リジンはその差が明確に示されていない。これは塩基性アミノ酸吸収量は中性アミノ酸のそれに比して少なく、結局輸送系の capacity の小さい点に起因しているものとも考えられる。

ムチンがかような中性アミノ酸輸送系のメカニズムにどのような影響を及ぼすかについては今後引き続き検討したい。

要 約

Wistar 系雄ラットの腸管を用いて各種アミノ酸吸収におけるムチンの促進効果について観察した。

その結果、アラニン、セリン、プロリン、バリン、ロイシン、アスパラギン酸、メチオニン、アルギニンの各アミノ酸にはムチンの吸収促進効果が認められたが、それ以外のアミノ酸には認められなかった。かようなムチンの効果はアミノ酸の中性アミノ酸輸送系に何等かの影響を及ぼすことが推察された。

本研究結果の概要は、第21回日本栄養・食糧学会総会(1967年)において発表した。

文 献

- 1) Bettelheim, F. A., Hashimoto, Y. & Pigman, W.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **63**, 235 (1962)
- 2) Glass, G.B. Jerzy: *Gastroenterology*, **23** (4), 636 (1953)
- 3) Tomarelli, R.M., Linden, E., Durbin, G. T. & Bernhart, F.W.: *J. Nutr.*, **51**, 251 (1953)
- 4) Miyahara, H.: *Studies of Seinan Jogakuin Junior College*, **9**, 45 (1963)
- 5) Tomarelli, R.M., Norris, R.F., György, P., Hassinen, J. B. & Bernhart, F. W.: *J. Biol. Chem.*, **181**, 879 (1949)
- 6) Miyahara, H., Tanahashi, Y.: *Kyushu J. Med. Sci.*, **15**, 159 (1964)
- 7) 宇佐美孝: 九州歯科学会雑誌, **13**, 176 (1959)
- 8) Lin, E. C. C., Hagihira, H. & Wilson, T. H.: *Am. J. Physiol.*, **202**, 919 (1962)

(森永乳業中央研究所)
(経 費 著 者 負 担)