

ラット膵外分泌に及ぼすアスパルテームの影響

川崎医療短期大学栄養科

川崎医科大学附属病院栄養給食部*

小野章史・小野尚美*・寺本房子・守田哲朗

(昭和62年8月31日受理)

Effect of Aspartame on Rat Bile Pancreatic Excretion

**Akifumi ONO, Hisami ONO*, Fusako TERAMOTO
and Tetsuro MORITA**

*Department of Nutrition, Kawasaki College of Allied Health Professions,
Kurashiki, 701-01, Japan*

Department of Nutrition, Kawasaki Medical School Hospital,
Kurashiki, 701-01, Japan*

(Received on Aug. 31, 1987)

概 要

アスパルテーム (L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester : APM) を胃内投与した場合と静脈へ注入した場合とで膵外分泌に対し APM がいかなる作用を示すか、ラットを用いて調べた。1 mg/ml 濃度の APM 3 ml を胃内に投与すると胆汁中のアミラーゼ (Amy) 値や蛋白量を著しく増加させた。これに対し、足の静脈から APM 1 ml (1 mg/ml) を注入すると胃内投与に比べ時間的に遅れるもののゆるやかに刺激した。

そこであらかじめ噴門、幽門を結紮したラットを用い、APM を足の静脈に注入したところ Amy 値、蛋白量及び液量は全く分泌刺激を受けなかった。これらのことから APM を胃内に投与した場合、十二指腸で CCK-PZ の血中放出を誘導するが、血中に注入した場合には、胆汁分泌刺激に先だち胃液の分泌を促すのではないかとと思われる結果になった。このことは血中投与の APM は胃液分泌を刺激し、その結果増加した胃液が十二指腸に入ることによって間接的に膵外分泌を刺激したのではないかと推測した。

Abstract

We compared the responses of the rat exocrine pancreas to intragastric versus intravenous administration of Aspartame. Intragastric infusion of Aspartame (3ml 1mg/ml) after basal secretion resulted in a marked increase in the mixture of bile-pancreatic secretion of amylase and protein. In contrast, 1ml of Aspartame (1mg/ml) administered by femoral intravenous injection caused later and slowly responses of amylase and protein after basal secretion. And so Aspartame was injected through the femoral vein after 30min-period of basal secretion in cardia and pylorus-ligated rat, Aspartame given intravenously did not stimulate bile-pancreatic secretion of amylase, protein, or volume outputs.

Intragastric administration of Aspartame seemed to have an effect on CCK-PZ release in duodenum. And results suggest that the stimulation of secretion of bile-pancreatic mixture might be induced following the stimulation of secretion of gastric juice after intravenous injection of Aspartame.

はじめに

胃液あるいは膵液の外分泌に対しアミノ酸 (AA) がもたらす結果について今日まで幾つかの報告がある。それは AA の消化管内投与における胃液分泌との関係を示す報告^{1) 2)}や膵液分泌との関係を示す報告^{3) 4) 5)}などである。

また一方では、AA の消化管内投与とは異なり血中投与時における胃液分泌との関連性^{6) 7) 8)}や同じく膵液分泌との関連性^{3) 9) 10) 11) 12)}について調べた報告などがある。しかしこれらの報告の多くは互いに相容れない。特に膵外分泌に関して。その原因はおそらく方法の違いによるところが大きいと思われる。L-AA は protease による消化の必要性がなく、よって蛋白質ほどには pepsin, trypsin および chymotrypsin の分泌を要求しないとの見方が一般的である。また dipeptide に対しても小腸壁の dipeptidase による消化が期待されるため膵外分泌に対する研究は少ない。そこで我々は dipeptide 誘導体のひとつである APM を用いて消化管内の投与が膵外分泌とどう対応するか検討することにした。また最近では中心静脈栄養の窒素源として AA にかわり dipeptide の使用が検討されはじめて¹³⁾ので、dipeptide としての APM について、静脈内の投与が膵外分泌に対しどのような影響を及ぼすかについても検討することにした。

方法と材料

動物：動物は SD 系雄ラット (200~220g, BW) を 24 時間絶食させ、Nembutal (40mg/kg, BW) にて麻酔後開腹した。

実験 1：総胆管の十二指腸開口部と胃底部にそれぞれ PE50 チューブ (OD 0.97mm, ID 0.58mm, Intramedic) を挿入固定した (Fig. 1, Ex-1)。総胆管に挿入したチューブからは胆汁、膵液混合液 (bile-pancreatic juice: BPJ) を得、胃底部に挿入したチューブからは各試料を注入することを目的とした。

BPJ は 10 分単位で氷冷下のストックチューブに集めた。はじめの 3 回は基礎分泌とし、その後試料を胃内に一回注入、続く 120 分間同様に得た。個々のサンプルについては液量、蛋白量および Amy 値について測定した。

実験 2：実験 1 と同様、総胆管にはチューブを挿入したが、他のチューブは胃底に挿入せず BPJ の基礎分泌採取後注射にて足の静脈より試料を注入した (Fig. 1, Ex-2)。他は実験 1 と同様に行なった。

実験 3：あらかじめラットの噴門、幽門を結紮し、更に胃底部よりチューブを通じて胃液を排出させ、他は実験 2 と同じ方法にした (Fig. 1, Ex-3)。

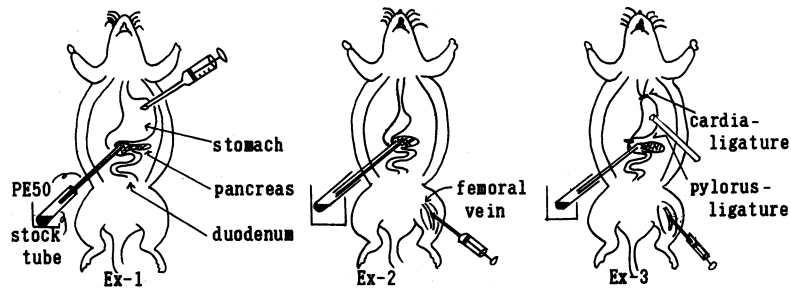


Fig. 1 Diagram of the procedure for three experiments. Rats were anesthetized with Nembutal (40mg/kg BW) and the abdomen was opened by a midline incision from below the xyphisternum. In all experiments, the mixture of bile-pancreatic juice was collected every 10min for 150min. After a 30-min period of basal secretion, stimulant was injected into the stomach (Ex-1; Casein-Na or Aspartame), or the femoral vein (Ex-2; Aspartame or CCK-PZ). In experiment-3, Aspartame was injected into the femoral vein after basal secretion in cardia and pylorus-ligated rat.

試料：実験1において胃内に注入した試料はカゼインナトリウム (C-Na) 3ml (50mg/ml, 生食) あるいは, APM3ml (1mg/ml, 生食) である。また実験2において血中に注入した試料は APM1ml (1mg/ml, 生食) あるいは CCK-PZ 1ml (5HP 単位) である。その他, 実験3については APM についてのみ注入した。

測定：液量はそれぞれ ml で表わし, 蛋白量は牛血清アルブミンを指標とする Lowry らの方法¹⁴⁾に従い単位は10分間に集めた重量 (mg) とした。また Amy 値についても同様に個々の BPJ について starch を基質とする Bernfeld らの方法¹⁵⁾に従い, 反応で生じる maltose の量を反応単位時間で求めそれを 1 Unit とした。

尚, C-Na は Merck 社, APM は Sigma 社, CCK-PZ は Boots 社のものを用いた。

結 果

実験1に従いC-Naを胃内投与した時のBPJの液量,蛋白量及びAmy値をFig.2に示した。C-Naを注入後10分でまず蛋白量に変化が認められ40分後にはピーク(基礎時の4倍)に達した。その後も高い値を維持し,120分後も尚ピーク値を示していた。これに対しAmy値は刺激30分後に急激に変化し蛋白量の場合と同様更に増加し続け40分後にはほぼピーク値を示した。しかし,変動は基礎分泌に対し12倍と著しい増加であった。一方,液量については蛋白量やAmy値のような劇的な変化は認められなかったが,刺激後120分値で基礎分泌値の1.5倍を示していた。次にAPMを胃内投与した場合のBPJ液量,蛋白量,Amy値の変動についてFig.3に示す。C-Na注入時に比べそれぞれの変化量が異なった。蛋白量及びAmyは経時的には増加したが,刺激後40分をピークにだんだん減少していった。しかしC-Naの胃内投与時に比べ刺激開始時間が10分程早まっていた。液量については刺激後30分値以外大きな変化は認

められなかった。次に、実験2に従い血中にアスパルテームを注入した時のBPJのそれぞれの変化についてFig. 4に示す。蛋白量, Amy値ともに刺激40分後に増加が開始することが認められた。しかもその変化は時間とともにゆるやかに伸び、続く50分後にまず蛋白量がそして60分後にAmy値がピークに達した。その後、蛋白量はしばらくピーク値を維持していたが、Amy値は低下していった。一方液量については刺激40分まで変化は認められなかった。次にCCK-PZを血中に注入した時のBPJのそれぞれの変化についてFig. 5に示す。CCK-PZは膵外分泌酵素の分泌を刺激することはよく知られた事実だが、今回も同様に著しい刺激を見た。しかも注入後即応し10分値がピーク値であった。CCK-PZは膵外分泌の水分量にはSecretinの場合とは異なり、激的な変化を与えないこともここで確認できる。

最後に実験3に従ってラットの噴門、幽門結紮後実験2と同様、血中にAPMを注入した場合の結果をFig. 6に示す。実験1や2で認められたBPJの蛋白量やアミラーゼ値の変化は全く認められることがなかった。

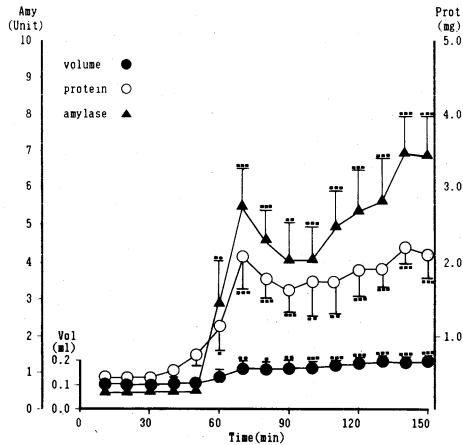


Fig. 2 Bile-Pancreatic volume, protein and amylase output in response to intragastric injection of 3ml of 50mg/ml Casein-Na. Results are mean \pm SD of 5 rats. Basal secretion was recorded for 30min. Protein output was gradually increased after 10min of Casein-Na injection. Amylase output was significantly increased after 30min of casein-Na injection. (■) : $P < 0.05$, (■) : $P < 0.01$, (■) : $P < 0.001$.

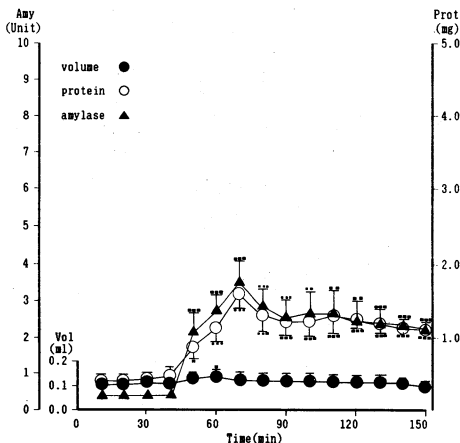


Fig. 3 Bile-Pancreatic volume, protein and amylase output in response to intragastric injection of 3ml of 1mg/ml Aspartame. Results are mean \pm SD of 5 rats. Basal secretion was recorded for 30min. Protein and amylase output were gradually increased from 20 to 40min after injection of stimulant, but each secretion was decreased thereafter. (■) : $P < 0.05$, (■) : $P < 0.01$, (■) : $P < 0.001$.

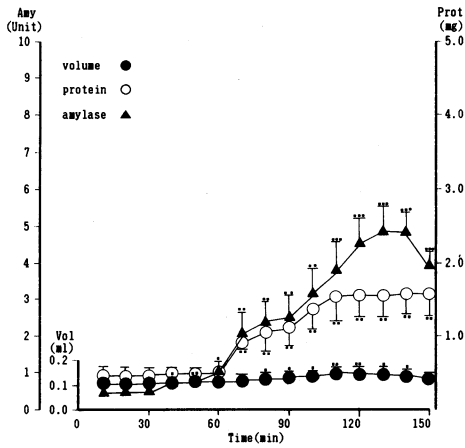


Fig. 4 Bile-Pancreatic volume, protein and amylase output in response to intravenous injection of 1ml of 1mg/ml Aspartame. Results are mean \pm SD of 6 rats. Basal secretion was recorded for 30min. Protein and amylase output were gradually increased from 40min after injection of stimulant. (■) : P<0.05, (■■) : P<0.01, (■■■) : P<0.001.

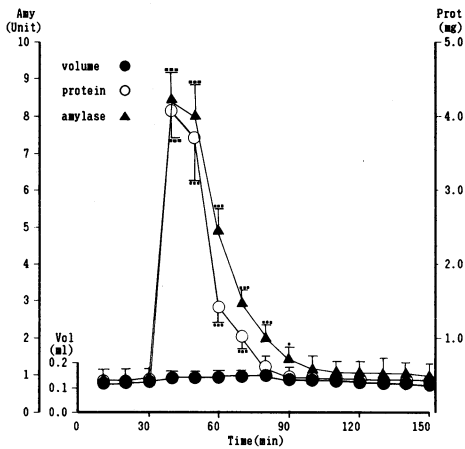


Fig. 5 Bile-Pancreatic volume, protein and amylase output in response to intravenous injection of CCK-PZ (5 Harper units/kg BW). Results are mean \pm SD of 5 rats. Basal secretion was recorded for 30min. Protein and amylase output were dramatically increased after injection of stimulant. (■) : P<0.05, (■■) : P<0.01, (■■■) : P<0.001.

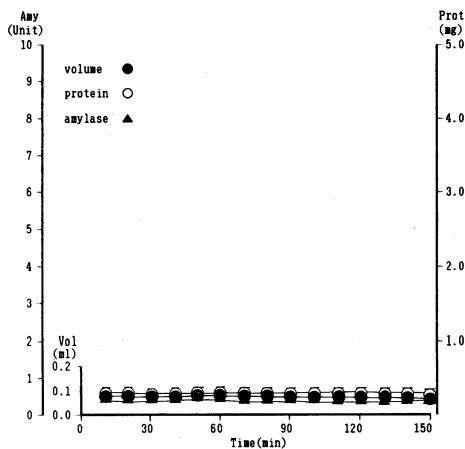


Fig. 6 Bile-Pancreatic volume, protein and amylase output in response to intravenous injection of 1ml of 1mg/ml Aspartame in cardia and pylorus-ligated rat. Results are mean \pm SD of 5 rats. Basal secretion was recorded for 30 min. Protein and amylase output were not changed after injection of stimulant.

考 察

我々ははじめ APM は C-Na などの蛋白質に比べ低分子であり、しかも dipeptide 誘導体であることから小腸壁に存在する dipeptidase¹⁶⁾によりすみやかに分解を受け吸収されるものと考え、消化管ホルモン (DH) を介して膵外分泌を著しく刺激する必要はないと考えた。しかし、実際には C-Na 時に比べ各値は低いものの膵外分泌を刺激していることが確認できた。そこで、この結果からこの濃度での APM は膵外分泌に対し CCK-PZ など DH の内分泌を刺激し間接的に膵外分泌を刺激したのか、あるいは吸収した APM または APM の代謝産物が血中より直接的に膵外分泌を刺激しているのかという疑問をもった。そこで APM を血中投与して膵外分泌状態を把握することにした (Fig. 4)。その結果 APM が DH の分泌を直接刺激しなくても膵外分泌を促進していることが分かった。しかし、ここで第二の疑問が生じた。それは Fig. 3 と Fig. 4 における反応時間のずれについてである。仮に APM あるいはその代謝産物が直接膵外分泌細胞に対して刺激したとするならば、少なくとも胃内投与時に比べ速い反応を示すと推測され得るからである。

しかし血中投与群の方が時間的に遅く、しかも幾分高値を示していた。そこで APM が膵外分泌細胞を DH 類似的 (Asp-Phe は Gastrin の C 末端と同じ) に直接刺激したとするならば、CCK-PZ を注入した時と同様の分泌反応も考えられる。そこで更に CCK-PZ に対する反応とを比較した。しかし、CCK-PZ は非常に短時間の内に膵外分泌を刺激していることが分かる。つまり、血中に入った APM あるいはその代謝産物は何かを介して膵外分泌を刺激していると思われる。これが、APM あるいはその代謝産物、更には他のホルモンや神経系を介しているのかは分からない。しかし、胃内投与に比べ血中投与の方が20分も遅れた。そこでラットの噴門、幽門を結紮して血中に APM を注入することを試みた。すると、今までの結果と全く異なり膵外分泌が刺激されない結果となったのである。このことは血中の APM あるいはその代謝産物が直接か間接的に胃液分泌を促したのではないかと考えられた。つまり、APM あるいは代謝産物による胃壁の外分泌細胞から胃液が放出され小腸に入り、この胃液により小腸壁が徐々に刺激を受け CCK-PZ などの DH が血中に内分泌したのではないかと考えた。しかし、Bianchi¹⁷⁾らは胃内投与した APM は胃液分泌をしないという報告をしている。ただし彼らは幽門結紮したラットの胃内に APM を注入し胃液を集めている点で今回とは異なる。つまり、APM は胃内腔から直接胃を刺激しなくても、血中に APM あるいはその代謝産物がそのままの形で吸収されるものがあれば胃液分泌をするのではないかということである。

しかし、実験3で設定した胃チューブからは経時的に測定でき得る程の胃液が得られないので胃液分泌が実際に刺激されたのかの事実は確認していない。

文 献

- 1) Lenz, H. J., Hogan, D. L., and Isenberg, J. I. (1985): Intestinal phase of gastric acid secretion in humans with and without portacaval shunt. *Gastroenterology*, 89, 791-796.
- 2) Taylor, I. L., Byrne, W. J., Christie, D. L., Ament, M. E. and Walsh, J. H. (1982): Effect of individual L-amino acids on gastric acid secretion and serum gastrin and pancreatic polypeptide release in humans. *Gastroenterology*, 83, 273-278.
- 3) Stabile, B. E., Borzatta, M., Stubbs, R. S., and Debas, H. T. (1984): Intravenous mixed amino acids and fats do not stimulate exocrine pancreatic secretion. *Am. J. Physiol.*, 246, G274-G280.
- 4) Murthy, S. N. S., Dinoso, V. P., and Clearfield, H. R. (1983): Bile acid and pancreatic trypsin outputs are parallel during intraduodenal infusion of essential amino acids. *Dig. Dis. Sci.*, 28, 27-32.
- 5) Schneeman, B. O., Chang, I., Smith, L. B., and Lyman, R. L. (1977): Effect of dietary amino acids, casein, and soybean trypsin inhibitor on pancreatic protein secretion in rats. *J. Nutr.*, 107, 281-288.
- 6) Isenberg, J. I., and Maxwell, V. (1978): Intravenous infusion of amino acids stimulates gastric acid secretion in man. *N. Engl. J. Med.*, 298, 27-29.
- 7) McArthur, K. E., Isenberg, J. I., Hogan, D. L., and Dreier, S. J. (1983): Intravenous infusion of L-isomers of phenylalanine and tryptophan stimulate gastric acid secretion at physiologic plasma concentrations in normal subjects and after parietal cell vagotomy. *J. Clin. Invest.*, 71, 1254-1262.
- 8) Varner, A. A., Isenberg, J. I., Elashoff, J. D., Lamers, C. B. H. W., Maxwell, V., and Shulkes, A. A. (1980): Effect of intravenous lipid on gastric acid secretion stimulated by intravenous amino acids. *Gastroenterology*, 79, 873-876.
- 9) Konturek, S. J., Tasler, J., Cieszkowski, M., Jaworek, J., and Konturek, J. (1979): Intravenous amino acids and fat stimulate pancreatic secretion. *Am. J. Physiol.*, 236, E678-E684.
- 10) Grendell, J. H., Tseng, H. C., and Rothman, S. S. (1984): Regulation of digestion. I. Effect of glucose and lysine on pancreatic secretion. *Am. J. Physiol.*, 246, G445-G450.
- 11) Bivins, B. A., Bell, R. M., Rapp, R. P. and Toedebusch, W. H. (1984): Pancreatic exocrine response to parenteral nutrition. *J. P. E. N.*, 8, 34-36.
- 12) Stabile, B. E., Borzatta, M., and Stubbs, R. S. (1984): Pancreatic secretory responses to intravenous hyperalimentation and intraduodenal elemental and full liquid diets. *J. P. E. N.*, 8, 377-380.
- 13) 惣中一郎, 小林哲男, 弓狩康三, 高見徹, (1987): 経静脈投与されたペプチドの生体利用性: N末端アミノ酸残基の影響, 第41回日本栄養食糧学会総会講演要旨集, 179.
- 14) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- 15) Bernfeld, P. (1955): Enzymes of carbohydrate metabolism, in *Methods in Enzymology*, Vol. 1, ed. by Colowick, S. P., and Kaplan, N. O., Academic Press, Inc., New York, 149-158.
- 16) Tobey, N., Heizer, W., Yeh, R., Huang, T., and Hoffner, C. (1985): Human intestinal brush border peptidases. *Gastroenterology*, 88, 913-926.
- 17) Bianchi, R. G., Muir, E. T., Cook, D. L., and Nutting, E. F. (1980): The biological properties of Aspartame II, Actions involving the gastrointestinal system, *J. Environ. Path., Toxicol.*, 3, 355-362.