

# 摂食ラットにおける耳下腺アミラーゼの胃内不活性化率の算定

著者名(日)	倉橋 昌司, 猪股 孝四郎
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	18
号	1
ページ	33-37
発行年	1999-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008381/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008381/</a>

〔原 著〕

## 摂食ラットにおける耳下腺アミラーゼの 胃内不活性化率の算定

倉橋 昌司, 猪股孝四郎\*

北海道医療大学看護福祉学部生命基礎科学講座  
\*北海道医療大学歯学部口腔生理学講座

(主任: 倉橋 昌司教授)  
\*(主任: 猪股孝四郎教授)

## The estimation of inactivation rate of parotid amylase in the stomach of rats during feeding

Masashi KURAHASHI and Koshiro INOMATA\*

Department of Medical Sciences, School of Nursing and Social Services,  
Health Sciences University of Hokkaido  
\*Department of Oral Physiology, School of Dentistry,  
Health Sciences University of Hokkaido

(Chief: Prof. Masashi KURAHASHI)  
\*(Chief: Prof. Koshiro INOMATA)

### Abstract

The inactivation rate of parotid amylase in the stomach during feeding was estimated in rats fed a pelleted or powdered diet. After 1 h of feeding, the inactivation rate of parotid amylase in the stomach was  $36.4 \pm 8.5\%$  in the rats fed the pelleted diet, and it was  $13.1 \pm 14.8\%$  in the rats fed the powdered diet. The pH in the gastric contents of the rats fed the powdered diet ( $6.61 \pm 0.05$ ) was significantly higher than that of the rats fed the pelleted diet ( $6.21 \pm 0.03$ ). The reducing sugar concentration in the gastric contents was  $248 \pm 13 \text{mM}$  in the rats fed the powdered diet, and it was not statistically different from that in the rats fed the pelleted diet ( $242 \pm 4 \text{mM}$ ). The higher pH in the gastric contents of the rats fed the powdered diet may explain the lower inactivation rate of parotid amylase.

**Key words:** Parotid amylase, Inactivation in stomach, Pelleted diet, Powdered diet.

## 緒 言

正常ラットでは、摂食に伴って耳下腺から口腔内に分泌されるアミラーゼは食餌とともに胃に移動し、胃において摂取したデンプンの3分の1をマルトースなどの還元糖に消化する<sup>1)</sup>。またインスリン依存性糖尿病や膵外分泌不全ラットでは、膵アミラーゼ分泌機能が著明に低下しており、胃において胃酸による不活性化を免れた耳下腺アミラーゼが小腸内のアミラーゼ活性の大部分を占め、膵アミラーゼに代わって小腸内のデンプン消化に主要な役割を果たしている<sup>1-3)</sup>。これらの知見は耳下腺アミラーゼが胃腸管において相当時間その活性を維持していることを示唆する。しかしながら、種々の制約があるため、これまで生理的な摂食条件下で胃における耳下腺アミラーゼの不活性化を定量的に測定した研究はなされていない。

そこで、本研究では、正常ラットにおける摂食時の耳下腺アミラーゼの胃における不活性化の程度を明らかにする目的で、我々の考案した算定式を用い、アミラーゼの不活性化率の算定を試みた。また耳下腺アミラーゼの不活性化に影響を及ぼす因子を明らかにする目的で、通常の高形食摂取に加え、高形食とは唾液分泌が異なると考えられている<sup>4)</sup>粉末食摂取についても同様の検討を行った。

## 材料および方法

全ての動物実験は北海道医療大学動物実験の指針に従って行った。

### 1. 実験動物

実験動物はWistar系雄ラット(静岡県実験動物農業組合産)を用いた。ラットは生後8週令、体重240~280gから室温22°C、人工照明下、午前8時から午後8時までを明、午後8時から翌朝午前8時までを暗とした条件で、個別ケージ内

で水および高形飼料(オリエンタルMF)を自由に摂取させ飼育した。飼育開始2週間後、ラットを2群に分け、1群を高形食群として高形飼料(オリエンタルMF)を、他の1群を粉末食群として高形飼料と同一組成の粉末飼料(オリエンタルMF粉末)を、後の摂食実験において一定の摂食量を得るために、10日間、午前10時から午後2時までの一日4時間の制限給餌を行った。いずれの場合も水は自由に摂取させた。

### 2. 摂食実験

制限給餌開始後11日目、両群をさらに2つに分け、1群を摂食前群とし、他の1群を摂食群とし、摂食群は午前10時よりそれぞれの食餌を1時間摂取させ、摂食量、摂水量を記録した。摂食前群は午前10時に、また摂食群は摂食終了直後に、頸椎脱臼、頸動脈切断により屠殺し、速やかに両側の耳下腺を摘出し、重量測定後、アミラーゼ活性測定用に凍結保存した。摂食群はさらに胃を摘出し、その内容を取り出し、湿重量を測定、これを氷冷した試験管に移し、ガラス棒を用いてよく攪拌した。次にその一部をとり、4°C、2,000g、20分間遠心分離し、得られた上清についてpHを測定後、アミラーゼ活性および還元糖濃度測定用に凍結保存した。残りの胃内容は110°Cで15~18時間乾燥させ、その乾燥前後の重量から胃内容水分量および乾燥胃内容重量を求めた。摂取した高形食および粉末食も胃内容と同様に乾燥し、乾燥摂食量を求めた。

### 3. アミラーゼ活性および還元糖濃度の測定

耳下腺および胃内容上清のアミラーゼ活性は青色デンプン法<sup>5)</sup>(ネオアミラーゼテスト第一、第一化学薬品)により、胃内容上清の還元糖濃度はジニトロフタル酸法<sup>6)</sup>により、それぞれ測定した。

4. 胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率の算定

胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率 (%)

$$= (1 - \frac{\text{胃腸管内耳下腺アミラーゼ活性(U)}}{\text{分泌耳下腺アミラーゼ活性(U)}}) \times 100 \quad (1)$$

(1)式において

分泌耳下腺アミラーゼ活性 (U)

= 摂食前耳下腺アミラーゼ活性 (U)

- 摂食後耳下腺アミラーゼ活性 (U) (2)

また

胃腸管内アミラーゼ活性 (U)

$$= \frac{\text{胃内容耳下腺アミラーゼ活性 (U)}}{\text{胃内容食餌残存率}} \quad (3)$$

(3)式において

胃内容耳下腺アミラーゼ活性 (U)

= 胃内容耳下腺アミラーゼ活性 (U/ml)

× 胃内容水分量 (ml) (4)

また

$$\text{胃内容食餌残存率} = \frac{\text{乾燥胃内容重量 (g)}}{\text{乾燥摂食量 (g)}} \quad (5)$$

ここで、摂食前耳下腺アミラーゼ活性を a、摂食後耳下腺アミラーゼ活性を b、胃内容耳下腺アミラーゼ活性を c、胃内容水分量を d、乾燥摂食量を e、乾燥胃内容重量を f、胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率を g とし、(4)式および(5)式を(3)式に、(2)式および(3)式を(1)式にそれぞれ代入すると、

$$g = [1 - \frac{c \cdot d \cdot e}{(a - b) \cdot f}] \times 100 \quad (6)$$

の関係が成立する。(6)式において a は摂食前群

ラット10匹の平均値を用い、b, c, d, e, f は摂食群ラット個々の値を用い g を算定した。

5. 統計処理

実験結果についての有意差検定はStudent's t 検定法を用いた。

結 果

1. 胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率 (表1)

固形食群と粉末食群との間で、摂食前耳下腺アミラーゼ活性、摂食後耳下腺アミラーゼ活性、胃内容水分量、乾燥摂食量および乾燥胃内容重量のいずれにも有意な差はなかった。胃内容耳下腺アミラーゼ活性は固形食群に比較し、粉末食群において有意に高かった。胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率は固形食群に比較し、粉末食群において低かったが有意な差ではなかった。

2. 胃内容pHおよび還元糖濃度 (表2)

胃内容pHは固形食群に比較し、粉末食群において有意に高かったが、還元糖濃度は両群で差はなかった。

表2 胃内容pHおよび還元糖濃度

	固形食	粉末食
pH	6.21±0.03	6.61±0.05*
還元糖濃度 (mM)	242±4	248±13

各値は 8 または10匹の平均値±標準誤差。\*は固形食に対してp<0.05で有意差あり。

表1 胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率

	固形食	粉末食
a : 摂食前耳下腺アミラーゼ活性 (U)	30300±2800	31800±2600
b : 摂食後耳下腺アミラーゼ活性 (U)	13600±1300	13600±800
c : 胃内容アミラーゼ活性 (U/ml)	869±56	1282±189*
d : 胃内容水分量 (ml)	8.53±0.29	8.85±0.43
e : 乾燥摂食量 (g)	8.35±0.27	7.91±0.39
f : 乾燥胃内容重量 (g)	6.33±0.20	6.11±0.40
g : 胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率 (%)	36.4±8.5	13.1±14.8

各値は 8 または10匹の平均±標準誤差。\*は固形食に対してp<0.05で有意差あり。

## 考 察

本研究では、摂食期間中のアミラーゼ生合成量は分泌量に比較し少ないと仮定し、耳下腺からのアミラーゼ分泌の指標として摂食前後の耳下腺アミラーゼ活性の差を用いた<sup>7)</sup>。交感神経刺激薬イソプロテレノールの投与によって耳下腺アミラーゼ活性のほとんどが投与後1時間以内に分泌され、同時に耳下腺蛋白へのアミノ酸の取込みが増加するが、投与後数時間は耳下腺アミラーゼ活性の回復は見られない<sup>8)</sup>。一方、交感神経と副交感神経の同時的電気刺激により、耳下腺からのアミラーゼ分泌とともにアミラーゼ合成が増加し、その合成量は30分間の刺激期間で刺激前のアミラーゼ活性の約20%に相当すると言う<sup>9)</sup>。摂食時の正確なアミラーゼ分泌量を求めるためには、技術的に困難ではあるが、アミラーゼ生合成の測定が必要である。

摂食中、胃運動により胃内容は混和され、十二指腸に移送される。同時に食餌とともに口腔から胃に移動した耳下腺アミラーゼも十二指腸に移動する。胃内容耳下腺アミラーゼ活性を乾燥摂食量と乾燥胃内容重量の比で補正することにより、腸への移動量を含む胃腸管内に存在する耳下腺アミラーゼ活性を求めた。耳下腺アミラーゼ活性は摂食開始直前に最大であるので、乾燥摂食量当たりの耳下腺アミラーゼ分泌量も摂食開始直後が最大で、その後徐々に低下するものと考えられる。耳下腺アミラーゼ分泌量と同様に、胃から十二指腸に移動する乾燥胃内容重量当たりの耳下腺アミラーゼ活性も摂食開始直後に最大で、その後徐々に低下すると考えられる。そこで胃内容耳下腺アミラーゼ活性として摂食終了直後の値を用いた場合、胃腸管内耳下腺アミラーゼ活性を低く評価し、結果として胃内耳下腺アミラーゼ不活性化率を少し高く評価してしまう恐れがある。しかしながら、本研究では摂食時間が1時間と短く、また十二指腸

への移動量も摂食量の約25%と少なく、胃内容耳下腺アミラーゼ活性として摂食終了直後の値を用いたことによって生じる不活性化率の算定誤差は少ないものと考えられる。

固形食摂取の場合、摂食開始1時間後においても胃内耳下腺アミラーゼの不活性化率は約35%であり、分泌された耳下腺アミラーゼの約3分に2が酵素としての活性を維持したまま存在することが明らかとなった。粉末食摂取の場合、胃内pHが固形食群に比較し高く、胃内容耳下腺アミラーゼ活性も高く、アミラーゼ不活性化率も低い傾向であった。ヒト唾液腺アミラーゼの場合、そのデンプン消化産物であるマルトースなどの還元糖により胃内pHに近い条件下でもその不活性化が抑制されることが報告されている<sup>10)</sup>。従って、ラットの場合も、耳下腺アミラーゼ不活性化率への影響因子として最も重要なのは胃内容pHと胃内容還元糖濃度と考えられる。固形食および粉末食いずれの摂取の場合も、その胃内容の還元糖濃度は約240mMと非常に高く、両群で差はなかった。この高濃度の還元糖が胃の酸性条件下での耳下腺アミラーゼの不活性化に抑制的に作用したのと考えられる。粉末食群の耳下腺アミラーゼ不活性化率は固形食群に比較し低い傾向にあったが、両群の差は胃内容pHの差によって説明される。粉末食群では、唾液の重炭酸分泌が亢進している可能性が示唆される。

ラットの場合、通常の固形食摂取後、耳下腺アミラーゼは胃においてもその活性のかなりの部分が保持された。生理的条件下での耳下腺アミラーゼ分泌の測定が困難なラットでは、摂食前後の耳下腺アミラーゼ活性の差に加え、摂食後の胃内容耳下腺アミラーゼ活性が耳下腺アミラーゼ分泌機能の指標となるものと考えられる。

## 結 論

正常ラットにおいて、固形食および粉末食摂

取時の耳下腺から分泌されるアミラーゼの胃における不活性化率を算定した。1時間の摂食直後、胃内耳下腺アミラーゼの不活性化率は、固形食で $36.4 \pm 8.5\%$ 、粉末食で $13.1 \pm 14.8\%$ であった。両食餌における不活性化率の違いの主な原因は胃内容pHの違いであり、粉末食摂取ラットでは摂食直後の胃内pHが高く、摂食時の唾液重炭酸分泌の亢進が示唆された。

## 文 献

1. Kurahashi M, Inomata K: Role of parotid amylase in starch digestion in the gastrointestinal tracts of diabetic rats, *J Dent Res*, **68**: 1366-1369, 1989.
2. Kurahashi M, Inomata K: Starch digestion by parotid amylase in the gastrointestinal tract of rats with pancreatitis, *Jpn J Oral Biol*, **38**: 326-334, 1996.
3. Kurahashi M, Inomata K: Starch digestion by parotid amylase in the gastrointestinal tract of exocrine pancreatic insufficient rats, *Jpn J Oral Biol*, **38**: 335-344, 1996.
4. Murai S, Saito H, Nakamura K, Masuda Y, Itoh T: The effects of a long-term powdered diet on the amounts of two principal neurotransmitters in the major salivary glands and on stimulated salivary secretion in mice, *Meth Find Exp Clin Pharmacol*, **18**: 459-463, 1996.
5. Ceska M, Birath K, Brown B: A new and rapid method for the clinical determination of  $\alpha$ -amylase activities in human serum and urine. Optimal conditions, *Clin Chim Acta*, **26**: 437-444, 1969.
6. Momose T, Mukai Y, Watanabe M: Determination of reducing sugars with 3,6-dinitrophenolic acid, *Talanta*, **5**: 275-278, 1960.
7. Schneyer CA: Role of sympathetic pathway in secretory activity induced in rat parotid by feeding, *Proc Soc Exp Biol Med*, **147**: 314-317, 1974.
8. Johnson DA, Sreebny LM: Effect of isoproterenol on synthesis and secretion in the rat parotid gland, *Lab Invest*, **28**: 263-269, 1973.
9. Asking B, Gjørstrup P: Synthesis and secretion of amylase in the rat parotid gland following nerve stimulation *in vivo*, *Acta Physiol Scand*, **130**: 439-445, 1987.
10. Rosenblum JL, Irwin CL, Alpers DH: Starch and glucose oligosaccharides protect salivary-type amylase activity at acid pH, *Am J Physiol*, **254**: G775-G780, 1988.