

鶏의 膵臟消化酵素分泌에 미치는 사료성분에 관한 研究

梁 晟 益

名古屋大學 農學部 畜産學科

(1989. 12. 1. 接受)

Dietary Factors for Secretary Digestive Enzyme from the Pancreas in the Chicken

Sung Ik Yang

Dept. of Animal Science, School of Agriculture Nagoya University

(Received December 1, 1989)

SUMMARY

The present study was done to investigate the mechanism of pancreatic digestive enzyme secretion in response to dietary components in chicks.

A simplified pancreatic juice collection method, useful for a short-term experiment, was developed.

By wing vein injection, it was shown that phe increased trypsinogen and chymotrypsinogen, while neither other single amino acids nor glucose affected the secretion of enzymes, amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen. Cholecystokinin (CCK) had an immediate effect on pancreatic enzyme secretion and this response was in a dose dependent fashion. The injection of CCK seemed to have selective stimulation favoring the secretion of chymotrypsinogen followed by amylase and trypsinogen. Simultaneous injection of single amino acid with CCK increased digestive enzyme secretion to various extents depending on the kind of amino acids whereas the injection of glucose with CCK did not affect when compared with that of CCK'alone. By varying doses, synergetic action of CCK plus amino acid on the secretion of pancreatic digestive enzymes was observed at 0.5mM for Val and 5mM for Arg. A further attempt was made to examine the effect of combined administration of amino acids with CCK on pancreatic enzyme secretion. The injected substances were an AAs mixture and combination of selected amino acids, i.e. Thr + Phe + Ile, Thr + Phe. Thr + Ile or Phe + Ile. When increases in enzyme outputs for the first 30 min were compared, it was shown that the responses of three enzymes, amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen, brought about by the administration of the AAs mixture was almost entirely accounted for by the combined injection of Thr + Phe.

Thus, it was well demonstrated that CCK and amino acids had a synergetic action on the secretion of a specific pancreatic digestive enzyme depending on a kind of amino acid injected.

I. 緒 論

1. 外分泌性 膵臟의 구조와 기능

膵臟의 主要機能中의 하나는 外分泌機能으로서, 飼料로써 攝取한 營養素를 消化시키기 위한 여러가지 酵素를 分泌하는 기능이다.

닭의 膵臟은 엷은 황색으로 되어 있으며, 4개의 膵臟과 3개의 膵管으로 구성되며, 3개의 膵管은 肝管과 膽管과 함께 十二指腸으로 開口되어 있다(Fig 1, Mikami and Ono, 1962).

膵管을 통해서 分泌되는 膵臟消化酵素는 非活性狀態로 存在하는 Amylase, lipase, deoxyribonuclease 가 있으며, Chymotrypsinogen, trypsinogen, carboxypeptidases A와 B, elastase 등은 enterkinase 또는 trypsin에 의해 活性化되어 存在한다(Dal Borgo等, 1968 C).

膵液中에는 또한 bicarbonate가 함유되어 있으며 위에 언급한 各酵素의 活動을 最적의 pH로 調節하는 機能을 가지고 있다.

外分泌性 細胞는 腺房細胞와 管腔細胞로 構成되어 있으며, 統膵臟重量의 82%를 차지하고 있다(Boleender, 1974). 膵線房細胞는 많은 量의 分泌性蛋白質을 生産하며, 分泌果粒속에 貯藏되어(Scheele, 1975) hormone 등의 作用에 의해 exocytosis로써 分泌되지만 그分泌機構에 대해 아직 確실히 정의되어 있지 않다(Doyle and Jamieson, 1978).

2. 膵臟消化酵素分泌의 調節

飮食物 攝取에 對應해서 膵酵素分泌가 充進하는 것은 in vivo 또는 in vitro에서도 관찰되어 왔다(Meyer, 1975).

그러나 그分泌機構에 대한 確실한 調節因子는 糾明되지 않고 있으며, 動物種에 따라서도 많은 차이가 있다.

數種의 hormone과 營養素가 膵臟消化酵素分泌에 影響을 미친다고 報告되어 왔으며, 그중에서도 十二指腸에서 分泌되는 Cholecystkinin (CCK)가 가장 으뜸의 刺戟劑라고 定義되었다(Meyer, 1975). 그러나 鳥類에 있어서는 한정된 報告書 뿐이며, 腸粘膜 抽出物이 CCK와 같은 機能을 가졌다고 報告되었다(Dockray, 1977).

營養素中에서는, 먼저 개에 대한 反應에서, Phenylalanine, tryptophan 및 이들 아미노酸을 包含한

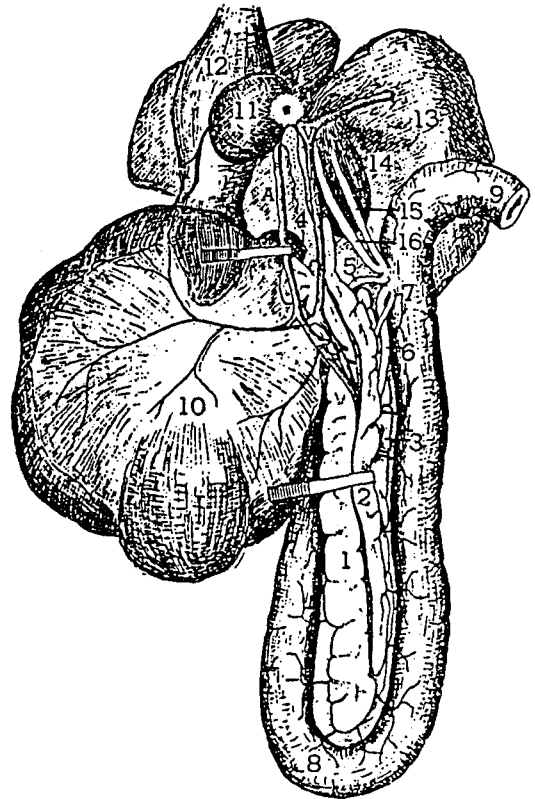


Fig. 1. Anatomic relationship of the 4 lobes of the pancreas, pancreatic duct and neighboring organs. 1. Dorsal lobe of the pancreas; 2. third lobe of the pancreas; 3. ventral lobe of the pancreas; 4. splenic lobe of the pancreas; 5. pancreatic duct from the dorsal pancreas; 6. pancreatic duct from the ventral pancreas; 7. pancreatic duct from the third lobe; 8. duodenum; 9. small intestine; 10. gizzard; 11. spleen; 12. proventriculus; 13. liver; 14. gallbladder; 15. ductus cysticus; 16. ductus hepaticus; A. artery; V. vein.

Oligopeptides, 胃液中的 pepsine에 의해 蛋白質로부터 分解된 peptide들이 膵臟消化酵素分泌刺戟을 惹起시킨다고 報告되었다(Meyer等 1976, a, b, c).

人間的 경우를 보면, 小腸上部에서 天然아미노酸이 trypsin, amylase, lipase 등의 消化酵素分泌刺戟을

일으킨다고 報告되어 있다(Go等, 1970).

그러나 rat의 경우를보면, 아미노酸, Oligopeptide等은 胰酵素分泌亢進作用이 없으며 蛋白質에 의해 分泌刺激이 일어난다고 보고되어 있다(Green等, 1973).

rat에 있어서 胰臟消化酵素分泌는 小腸上部에 分泌된 酵素를 除去함으로써 刺激되며, 腸管內에 trypsin을 다시 넣어 줌으로써 分泌는 다시 抑制된다. 또한 trypsin inhibitor를 써서 腸管內 trypsin의 活性를 除去하면 分泌刺激이 일어난다는 negative feedback mechanism에 의한다고 報告되었다(Schneeman and Lyman, 1975). 그러나 개의 경우에는 腸管內의 胰液의 除去 또는 trypsin inhibitor의 投與에 의해서는 效果가 없다고 報告되었다(Sale等, 1977). 人間에 있어서는 krawiaz等, 1980의 報告에 의하면 그러한 效果는 관찰되지 않았으며, 닭에 대해서도 아직 확실한 分泌機構는 確立되지 않았다.

이와같이 胰臟消化酵素分泌에 대한 調節機構는 動物種에 의해서도 큰차이가 나타난다.

한편, 胰臟消化酵素分泌에 미치는 消化最終產物, 예를들면, 아미노酸, 지방 또는 glucose 등의 靜脈內 投與에 대한 反應은 단편적으로 報告되었을 뿐이다. Konturek等(1979)와 Klein等(1983)은 아미노酸과 脂肪의 投與에 대해 全部의 胰臟消化酵素를 分泌시켰다고 報告했으나, Fried等(1982)과 Stabile等(1984)은 위와같은 分泌反應은 靜脈內 投與에 의해서는 일어나지 않는다고 報告했다. 최근에 Niederer等(1985)을 消化最終產物의 體循環의 投與는 消化酵素分泌를 量的으로 增加시키지는 않으나 分泌된 酵素成分의 比率를 變化시킨다고 報告했다.

3. 飼料成分에 대한 分泌反應

최근까지는 飼料攝取에 의해 일어나는 胰酵素分泌는 分泌된 酵素의 量的인 增加만 있을뿐 胰酵素中에 含有되어 있는 酵素의 構成成分의 變化는 일어나지 않는다고 했다. 이러한 分泌反應을 parallel response라고 부른다. 그러나 얼마전부터 胰酵素分泌反應에 대해 飼料成分에 의해 分泌된 酵素中의 構成成分은 變化한다고 報告했다(Rothman, 1974). 이러한 分泌反應을 nonparallel response라고 부른다. 위와같은 飼料成分에 의한 胰臟消化酵素分泌反應은 一般的으로 長期應答과 短期應答으로 對別된다. 長期應答은 攝取한 飼料成分에 대해 胰臟中の 酵素成分의

構成이 適應되어지는 것을 意味한다. 최초로 Grossman等(1943)에 의하면, 飼料中에 炭水化合物이 많이 포함된 飼料를 給與하면 胰酵素中의 amylase가 增加하고, 脂肪이 많은 飼料를 給與하면 lipase가, 蛋白質이 많이 함유된 飼料에 대해서는 protease가 增加한다고 報告했다. Reboud等(1966)은 이러한 變化는 外分泌性 蛋白質의 生合成의 次元에서 일어나며 그時間은 數時間에서 數일이 걸리며, Howard and Yudkin(1963)과 Christophe等(1971)은 炭水化合物 또는 蛋白質에 의해 變化되는 amylase 또는 protease의 分泌反應은 같이 일어나지 않고 時間的인 差異도 일어난다고 했다. 이러한 長期反應에 대한 研究는 닭과(Imondi and Bird, 1967; Dal Borgo等, 1968b; Bird and Moreau, 1978) 개에 의해서도 관찰되었다(Behrmar and Kare, 1969).

한편, 위에 言及한 長期應答에 對別해서 短期應答은 腸內投與된 飼料에 의해 短時間內에 胰臟消化酵素分泌의 顯著한 增加를 일으키는 것으로, 胰臟內的 zymogen 果粒의 exocytosis에 의해서 일어난다고 報告되었다(Wang and Grossman, 1951; Green等, 1972; Schneeman等, 1977).

Scheele and Palade(1975)는 飼料攝取에 대한 短期反應에 있어서는 전체적으로 同一한 構成成分으로 分泌된다고 報告하였으나, Rothman(1974)은 腸內에 投與된 特定の 營養素를 消化 또는 加水分解하기 위해서는 分泌되는 酵素의 構成成分이 變化되어야 한다고 報告했다. 또한, hormone 投與에 의한 短期反應을 보면, Dargorn等(1977b), Rinderknecht等(1978)은 人間에 대해서 CCK 投與에 의해서 15分以內에 胰臟消化酵素中 amylase보다는 lipase와 Chymotrypsinogen의 分泌가 增加했다고 報告했으며 Rothman(1967)과 Rothman and Wilking(1978)은 토끼를 利用한 實驗에서 CCK 投與에 의해서 分泌된 胰臟消化酵素의 構成比率는 變化한다고 報告했다. 飼料成分에 있어서의 酵素의 比率의 變化는 주로 消化最終產物에 의해서 일어난다고 報告되어 왔다. Grendell and Rothman(1981)은 glucose는 zymogen 果粒으로부터 amylase를 選擇의으로 分泌시키고, lysine은 trypsinogen을 選擇의으로 放出시킨다고 報告했다. Grendell等(1984)의 假說에 의하면 CCK의 作用에 의해서 胰腺房細胞의 膜透過性이 變化하여 全部의 消化酵素가 分泌되며 이러한 作用이 進行되는 동안 特定の 消化最終產物에 의해 特定

의 消化酵素의 分泌比率이 變化하지만 CCK作用이 일어나지 않으면 消化最終産物에 의한 特定한 酵素의 量的인 增加는 일어나지 않는다고 報告했다.

Ni et al (1986)은 分泌되는 胰臟消化酵素의 比率의 變化는 體循環의 消化最終産物이 Zymogen 果粒에 直接作用함으로써 일어난다고 報告했다.

이와같이 飼料成分에 의해 變化하는 胰臟消化酵素의 選擇的인 分泌反應에 대해서, 本研究에서는 닭을 利用하여, 먼저 닭의 胰液採取法을 開發하고 뒤이어 CCK와 消化最終産物의 靜脈內投與에 對한 分泌機

構를 究明하기 위해 本實驗을 遂行했다.

II. 材料 및 方法

生後1日齡의 白色Leghorn 숫병아리를 電氣히-타附着飼育器에서, 2週齡에서 3週齡體重130~160g 까지 飼育했다. 手術前 하룻밤을 斷食시킨후 diethyl ether 麻醉하에서 遂行되었다. 胰液採取法은 Fig 2에 表示되어있는 바와 같이, 닭에는 3本의 胰管이 있고 그것이 肝管 및 膽管과 함께 十二指腸에 開

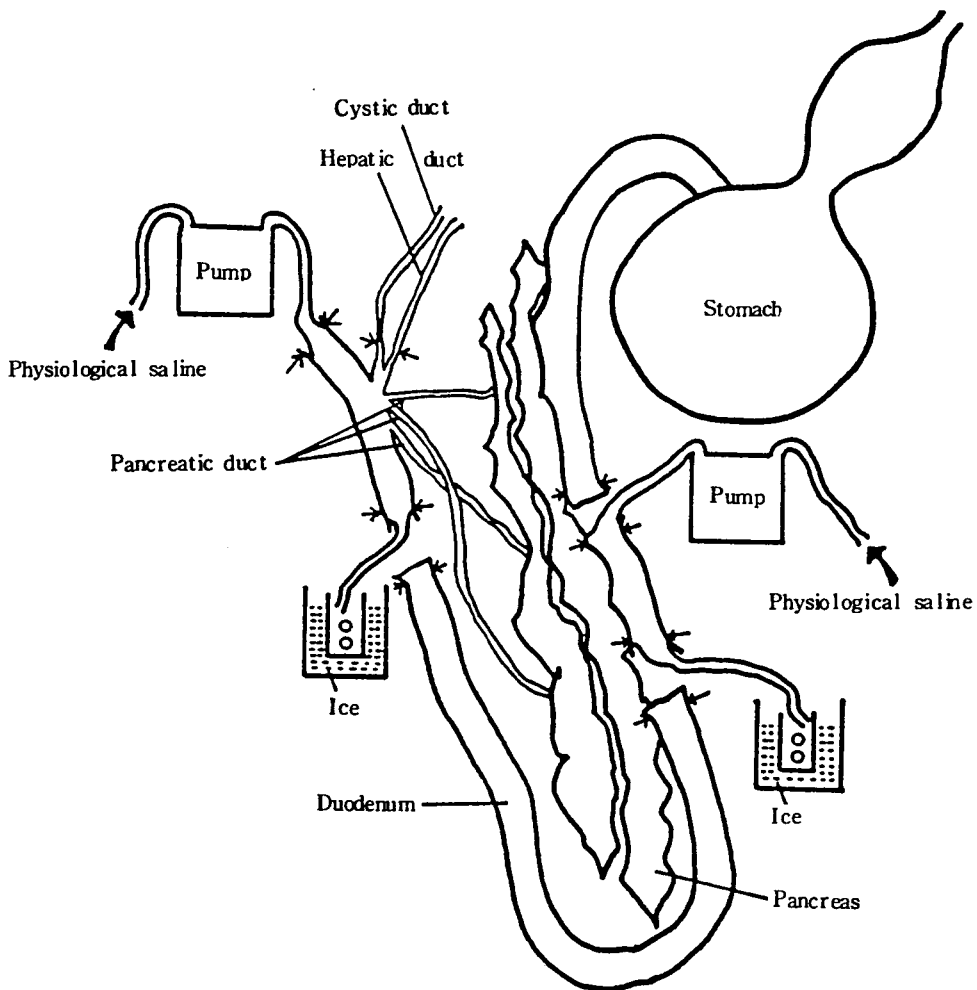


Fig. 2. A simplified scheme of the collection method of pancreatic juice in chicks. Physiological saline was perfused with a mini-pump at a rate of 0.07 ml/min. Arrows (↑) indicate the site at which ligation was made.

口하고 있다. 手術狀況은 胰管이 開口하고 있는 十二指腸에 그開口部位를 中心으로 前後 約 9mm의 位置에서 腸管을 切斷하고, 肝管 및 膽管은 開口部位의 直前에서 묶었다. 切斷한 十二指腸의 兩端에 各 各 길이 約 30mm의 Tygon 튜브를(內徑 1.59, 外徑 3.18mm) 삽입하고 묶은다음 고정시켰다. 그후 腸內部를 生理的食鹽水로 2回 洗滌후, 上部의 튜브에 低速펌프에 연결해 生理的食鹽水를 1分當 0.07 ml의 速度로 流入하고, 下部의 튜브로 胰液, 腸液 및 生理的食鹽水의 混合液을 採取했다. 또한 對照로써 腸의 옆部分에서 같은 길이 的 腸을 切斷해 같은 方法으로 腸液 및 生理的食鹽水의 混合液을 採取했다. 手術後 처음 10分間採取한 胰液은 버리고 그後 10分間隔으로 胰液을 採取했다. 手術後 20分後에 各營養素 및 CCK를 날개靜脈으로 投與했다.

投與한 物質은 다음과 같다.

第 1 實驗 : 0.85 % NaCl, 15 mM 및 30 mM glucose, 0.5 mM lysine 및 0.5 mM methionine, 0.31, 0.78 및 1.55 Crick unit CCK.

第 2 實驗 : 0.5 mM의 여러가지 아미노酸 單獨投與 및 0.31 Crick unit CCK와의 同時投與, 또한 여러가지 濃度의 glucose, arginine 및 Valine을 0.31 Crick unit CCK와 同時投與.

第 3 實驗 : AAS mixture (threonine, lysion, phenylalanine, leucine, isoleucine, glutamic acid, Valine, histidine 및 methionine), threonine + phenylalanine + isoleucine, threonine + phenylalanine, threonine + isoleucine 및 phenylalanine + isoleucine을 0.31 Crick unit CCK와 同時投與.

以上의 모든 投與物質은 生理的食鹽水에 溶解시켜 0.25 ml를 날개靜脈을 통해서 投與하고, 10分間隔으로 採取하여 즉시 동결시켜 - 20 °C에서 보존하여, 次後 胰液中의 amylose, trypsinogen 및 chymotrypsinogen의 活性을 測定했다.

酵素活性의 測定 : amylase의 活性은 Wako Amylase-test (Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Japan)를 使用하여 Caraway (1959)의 方法으로 分析하여 Caraway unit로 表示했다.

Trypsinogen 및 Chymotrypsinogen은 enteropeptidase (Seravac Corp. Ltd., South Africa)로 活性化시킨후 分光光度計를 使用하여 Hummel (1959)의 方法으로 測定하여 結晶 trypsin 및 chymotrypsin (Sigma Chemical Co., USA)을 標準으로 하

여 μg 으로 表示하였다.

各 data의 處理는 Duncan (1955)의 multiple range test를 利用하여 各平均을 比較했다.

III. 結 果

第 1 實驗에서 著者가 開發한 胰液採取法을 利用해서 消化最終產物인 glucose lysine, methionine 또는 生理的食鹽水의 投與에 대한 分泌反應은 比較的 적고 安定된 反應을 나타내, 胰臟消化酵素分泌機構를 밝히는데 有用한 方法임을 시사했다.

그림 3은 0.31, 0.78 및 1.55 Crick unit의 CCK를 날개靜脈으로 注射한 後 胰臟消化酵素中의 amylase, trypsinogen 및 chymotrypsinogen의 活性을 注射前의 值를 100 %로 나타낸것이다. 胰酵素分泌는 投與한 CCK의 量에 依存해서 그分泌率이 增

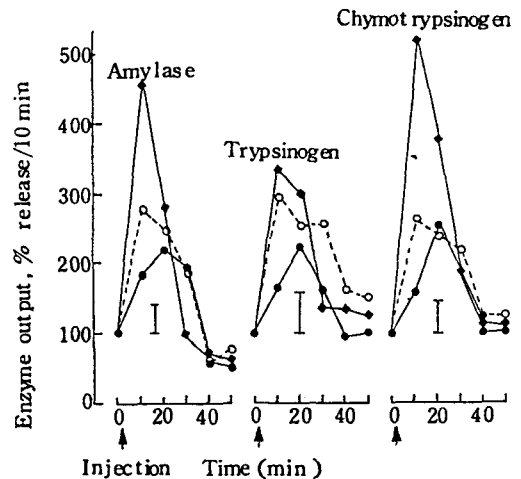


Fig. 3. Effect of wing vein injection of 0.31 (●-●), 0.78 (○-○) or 1.55 Crick unit CCK (◆-◆) on the pancreatic secretion of amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen in chicks. For each experiment enzyme secretion was expressed as percentage of the preinjection level (0 min) to compensate variance between chicks in basal (preinjection) enzyme secretion. Vertical bars represent pooled SEM of 5 observations (except for amylase in 0.31 or 1.55 Crick unit CCK and trypsinogen in 0.78 Crick unit CCK injection, 4 observations).

加하는 Dose-responst 를 나타내었으며, CCK 投與後 피-크에 달하는 時間도 10~20 分으로 빠른 分泌反應을 나타내었다. 酵素分泌의 pattern 을 보면 대체적으로 酵素間의 分泌率은 同一(parallel response) 하였으나 大量投與한 1.55 Crick unit에서는 chymotrypsinogen의 分泌率이 가장 높고, 그다음에 amylase, trypsinogen의 順으로 낮았다.

以上の 結果에서 0.31 Crick unit에서 充分한 酵素分泌反應이 나타났기 때문에 第2 實驗에서 0.31 Crick unit의 CCK와 各種營養素를 共同投與했다.

그림 4는 各種의 아미노酸單獨 및 CCK와의 共同投與한 後의 amylase, trypsinogen 및 chymotrypsinogen의 피-크때의 分泌率을 나타낸 것이다. 아미노酸單獨投與의 경우 phenylalanine만이 control과 比較해서 trypsinogen과 chymotrypsinogen에서 높은 增加를 보여주었으나 外의 아미노酸單獨投與에서는 差가 없었다. 아미노酸과 CCK와의 同時投與에서는 全體적으로 顯著한 酵素의 分

泌를 增加시켰으며 아미노酸의 種類에 따라 酵素間의 分泌率에도 差가 나타났다. 즉, amylase를 增加시킨것은 Valine, leucine 및 glutamic acid, trypsinogen은 phenylalanine, Valine, methionine 및 histidine, chymotrypsinogen은 phenylalanine 및 isoleucine이 CCK單獨投與와 比較해서 有意한 差가 있었다.

表 1은 各種의 아미노酸과 CCK와의 同時投與後 30分間 分泌한 酵素의 分泌量을 나타낸것이다. amylase分泌를 보면 threonine, leucine, glutamic acid, valine, histidine 및 methionine이며, trypsinogen에서는 lysine, leucine phenylalanine, glutamic acid, Valine, histidine 및 methionine이며 Chymotrypsinogen은 isoleucine 및 valine이 CCK單獨投與와 比較해서 有意하게 높은 增加를 나타냈다.

그림 5, 6, 7은 여러가지 濃度의 glucose (5, 15, 45, 135 및 405 mM), Valine 및 arginine (0.1, 0.5,

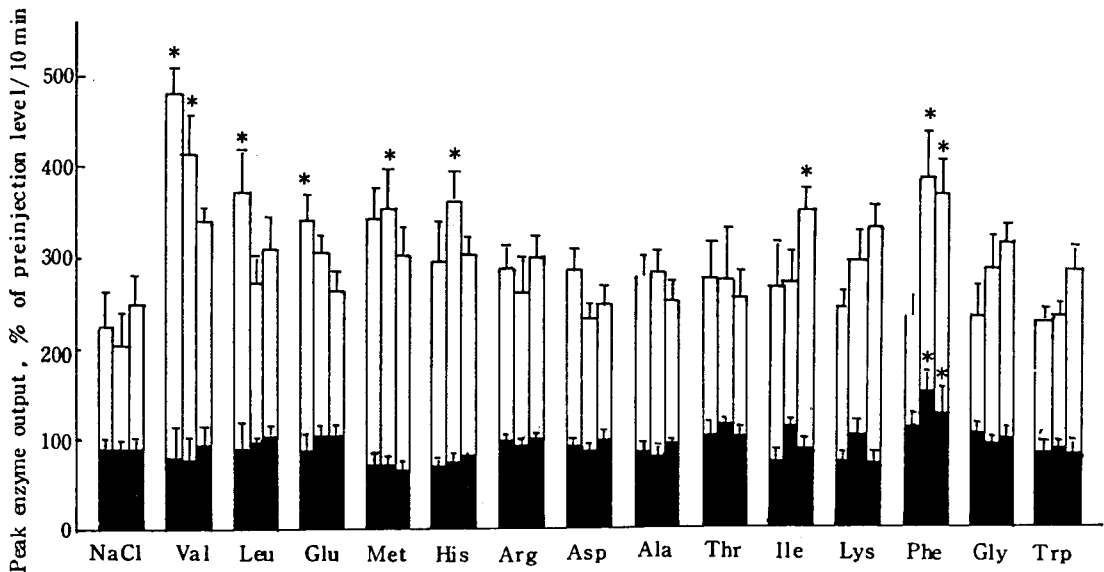


Fig. 4. Peak pancreatic secretion, occurred within the first 20 min, of amylase (left bars), trypsinogen (middle bars) and chymotrypsinogen (right bars) by the injection of various single amino acids with (total bars) or without (solid bars) CCK. Amino acids and CCK were injected into a wing vein at a dose of 0.5mM and 0.31 Crick unit respectively in 0.25ml of physiological saline. Values are the means (% of preinjection level) with SEM of 5 observations.

*Significantly different ($p < 0.05$) from the corresponding control values.

Table 1. Effect of the administration of various amino acids on pancreatic amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen secretions in the presence of cholecystokinin

AAs injected	Enzyme output for 30 min after injection		
	Amylase	Trypsinogen	Chymotrypsinogen
	Caraway unit	μg	μg
None (control)	269 \pm 57.9	23.1 \pm 5.1	101.1 \pm 22.8
Thr	435 \pm 57.8*	32.5 \pm 6.5	90.5 \pm 12.2
Lys	409 \pm 48.1	51.2 \pm 4.1*	134.0 \pm 5.1
Arg	301 \pm 59.6	23.0 \pm 3.5	107.9 \pm 32.6
Phe	278 \pm 22.0	42.6 \pm 4.3*	139.8 \pm 22.6
Leu	552 \pm 45.2*	38.1 \pm 1.4*	137.2 \pm 9.3
Ile	348 \pm 31.8	34.0 \pm 2.9	150.8 \pm 12.5*
Glu	631 \pm 42.5*	36.6 \pm 2.2*	104.0 \pm 10.9
Trp	243 \pm 28.3	29.6 \pm 2.6	122.4 \pm 18.7
Val	1,023 \pm 61.0*	45.4 \pm 4.4*	153.7 \pm 12.1*
His	439 \pm 47.7*	37.2 \pm 3.6*	131.8 \pm 11.1
Met	621 \pm 56.8*	47.5 \pm 4.4*	128.0 \pm 16.5
Gly	315 \pm 28.2	32.3 \pm 5.1	119.3 \pm 15.7
Asp	346 \pm 65.0	18.7 \pm 1.2	85.9 \pm 8.5
Ala	342 \pm 43.1	31.1 \pm 2.9	100.8 \pm 7.9

Values are means \pm SEM of 5 observations. Cholecystokinin was injected together with amino acids into a wing vein at a dose of 0.31 Crick unit.

* Significantly different ($p < 0.05$) from the control.

1.0, 5.0 및 25 mM)을 CCK와 同時投與한 後 分泌된 amylase, trypsinogen 및 chymotrypsinogen의 分泌量을 나타낸 것이다.

먼저 여러가지濃度の glucose를 投與한 경우를 보면 CCK單獨投與와 比較해서 差는 없었다(그림 5). Valine의 경우를 보면 0.5 mM일때 가장 높은 分泌反應을 보였으며, 그후 濃도가 增加함에 따라 分泌量은 減少했다(그림 6). Arginine의 경우에는 5mM일때 가장 높은 分泌反應을 보였으나, trypsinogen만이 有意한 差가 나타났다(그림 7).

以上的 結果에서 아미노酸과 CCK의 사이에는 協同作用이 있으며 또한 아미노酸의 種類에 따라 特異적인 酵素를 分泌하는 것이 觀察되었다. 여기에서 第3實驗에서는 CCK와 協同作用을 나타낸 아미노酸의 mixture와 어느 特定 酵素 한種類만을 分泌한 아미노酸의 組合을 CCK와 共同投與하여 그 分泌反應을 檢討했다.

表 2는 아미노酸mixture 및 特定아미노酸의 組合을 CCK와 共同投與하여 胰酵素分泌反應을 볼 것이다. 結果에 表示된 값은 分泌된 時間과 處理間에 統計적으로 有意한 相互關係가 檢出되었기 때문에 投與後 前半 30分과 後半 20分으로 表現했다. 前半 30分의 경우를 보면, 아미노酸mixture은 control group과 比較해서 세가지의 酵素 全部가 有意하게 增加했다.

또한, threonine + phenylalanine의 組合은 아미노酸mixture group과 거의 同等한 水準으로 높은 分泌反應을 나타냈다. threonine + phenylalanine group에 isoleucine을 添加해서 投與한것을 보면 threonine + phenylalanine group과 比較해서 더 이상의 增加는 없고 오히려, 統計적으로 差는 없지만 減少하는 傾向을 나타냈다. threonine + isoleucine 및 phenylalanine + isoleucine에서는 增加하는 效果는 觀察되지 않았다. 前半 30分에 對한 分泌反應

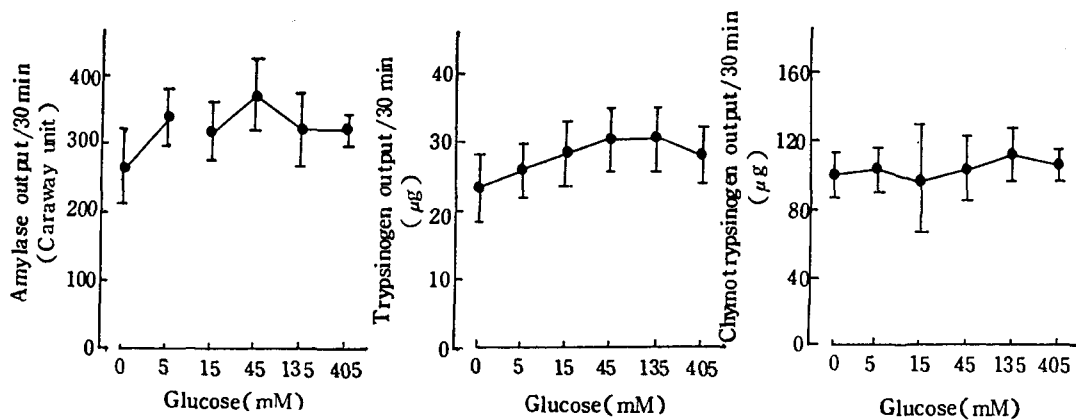


Fig. 5. Effect of wing vein injection of various concentrations of glucose in combination with CCK on the pancreatic secretion of amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen in chicks. The chick received glucose and CCK in 0.25ml of physiological saline (0.85% NaCl solution). Pancreatic enzyme secretion was expressed as enzyme output for the first 30 minutes above the preinjection level. Values are the means with SEM of 5 observations.

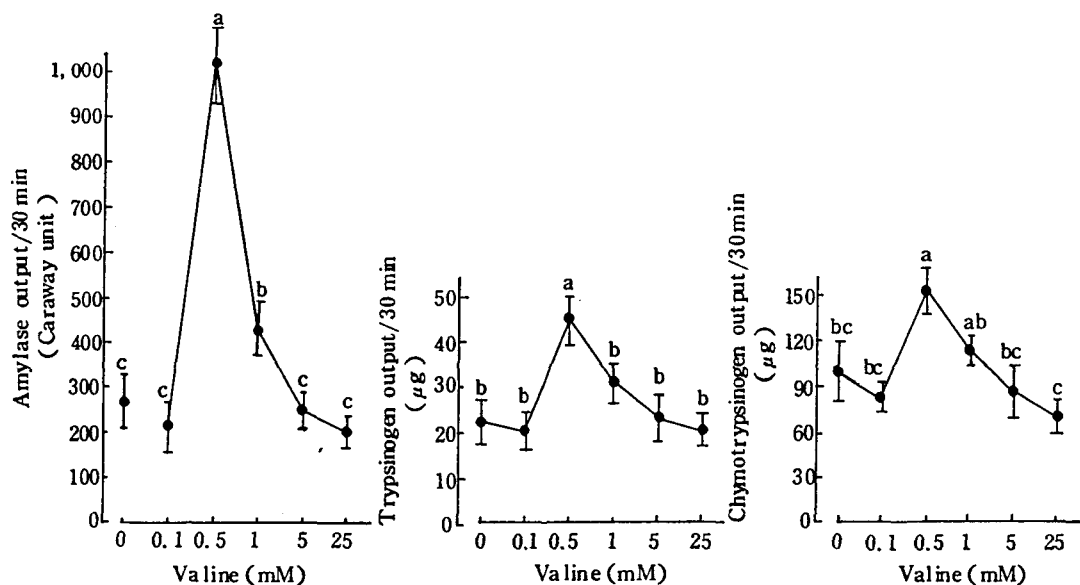


Fig. 6. Dose-response relationship demonstrating changes in pancreatic amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen secretions following wing vein injection of various concentration of valine in combination with CCK. The chick received valine and CCK in 0.25ml of physiological saline (0.85% NaCl solution). Pancreatic enzyme secretion was expressed as enzyme output for the first 30 minutes above the preinjection level. Each point represents means with SEM of 5 observations. Values without a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

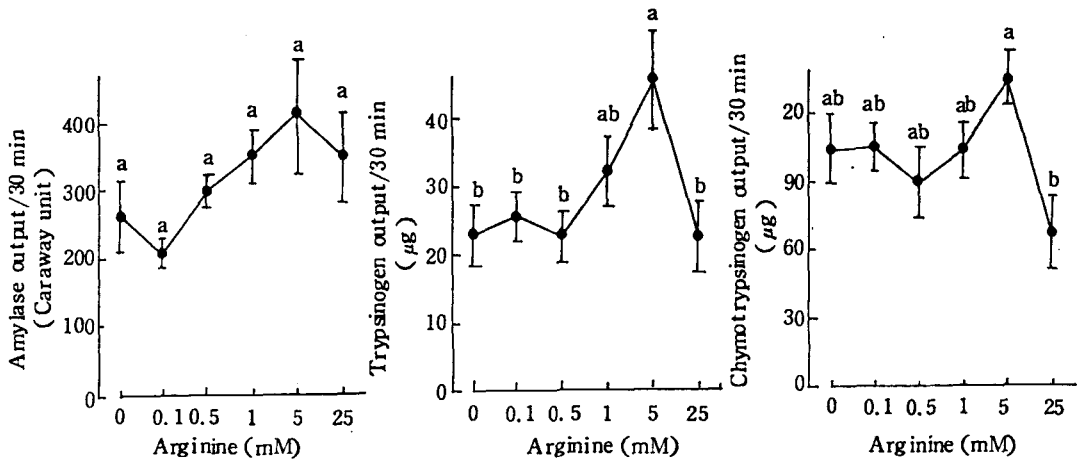


Fig. 7. Dose-response relationship demonstrating changes in pancreatic amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen secretions following wing vein injection of various concentration of arginine in combination with CCK. The chick received arginine and CCK in 0.25ml of physiological saline (0.85% NaCl solution). Pancreatic enzyme secretion was expressed as enzyme output for the first 30 minutes above the preinjection level. Each point represents means with SEM of 5 observations. Values without a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Effect of the administration of combined amino acids on pancreatic amylase, trypsinogen and chymotrypsinogen secretions in chicks

AAs injection	Increased enzyme output after injection					
	Amylase (Caraway unit)		Trypsinogen (μg)		Chymotrypsinogen (μg)	
	Period 1	Period 2	Period 1	Period 2	Period 1	Period 2
None (control)	240.4 a	30.6 a	19.6 a	8.0 a	115.5 ab	40.0
AAs mixture	419.4 b	87.4 ab	36.8 c	11.5 a	175.0 c	36.3
Thr + Phe + Ile	326.1 ab	77.4 ab	34.0 bc	8.6 a	167.7 bc	43.5
Thr + Phe	393.3 b	85.9 ab	37.1 c	7.7 a	184.6 c	60.6
Thr + Ile	307.4 ab	39.1 a	25.4 abc	6.1 a	174.6 c	36.6
Phe + Ile	230.4 a	131.8 b	22.0 ab	21.0 b	90.5 a	89.8
Pooled SEM	39.1	18.4	4.3	2.8	18.5	14.0

1. 0-30 min after injection.

2. 30-50 min after injection

CCK was injected at a dose of 0.31 Crick unit together with combined amino acids (0.5 mM each) into a wing vein. Means ($n = 5$) not sharing a common superscript letter within the same column are significantly different at $p < 0.05$ (a, b, c).

과 對應해서 後半 20 分의 分泌反應은 확실히 다른 樣相을 나타냈다. Phenylalanine + isoleucine group에서만 增加하는 分泌反應을 보였으며, amylase

및 trypsinogen이 control group과 比較해서 有意한 差를 나타내었다.

IV. 考 察

本研究에 利用된 胰液採取法은 胰酵素分泌의 短期 應答에 有用한 方法임이 立證되었으나, 여러가지 手術과 機器가 必要한 點이 있었다. 또한 純粹한 胰液만을 採取할 수 없으며, 5~10 倍 稀釋된 狀態이나 酵素의 活性에는 差가 없었다.

本實驗에서 大體적으로 세가지의 두렛한 胰酵素分泌反應을 나타냈다. 첫째로 生理的食鹽水 또는 消化最終產物의 靜脈內投與에서는 相對적으로 安定되고 적은 分泌反應을 나타냈다. 둘째로, 消化管 hormone인 CCK의 投與에서는 卽刻的인 分泌反應과 投與量에 依存하는 Dose-response가 觀察되었다. 셋째로 CCK와 消化最終產物을 共同으로 投與하면 CCK와의 協同作用을 나타내었으며 그 協同作用은 最終消化物의 種類에 따라 特定의 酵素를 選擇의 으로 分泌시켰다.

Rat를 利用해서 CCK投與時의 胰臟消化酵素分泌反應에 關한 報告를보면 Dargorn(1977)은 Chymotrypsinogen이 가장 높은 分泌反應을 나타내었으며, Tseng等(1982)은 trypsinogen보다는 amylase가 높은 比率로 分泌되었다고 報告했다. 本實驗에서 보면 0.31 및 0.78 Crick unit 投與時에서는 選擇의 인 分泌反應을 나타내지 않았으나, 大量의 1.55 Crick unit 投與時는 chymotrypsinogen이 amylase나 trypsinogen보다 높은 比率로 分泌되는것이 觀察되었다(Fig. 3).

飼料中の 어떤 特定한 營養素에대한 胰臟消化酵素의 選擇的인 分泌反應에 關한 研究은 오랫동안 확실한 대답을 얻지 못했다. 그러나 最近에 들어와서 細胞內 次元에서 이러한 選擇的인 分泌反應에 關한 研究가 報告되고 있다.

Grendell and Rothman(1981)은 消化最終產物이 胰臟의 腺房細胞의 저장 pool에 作用해서 特定한 酵素만을 分泌시킨다고 報告했다.

그後 rat를 利用해서(Grendell等, 1984; Niederau等, 1986), 人間에 있어서는 Niederau等(1985)이 이러한 假說을 뒷받침 했다.

本研究에서는 닭을 利用해서 消化最終產物單獨 및 CCK와의 共同投與에 依한 胰臟消化酵素分泌의 選擇的인 反應에 關해 檢討했으며 選擇된 消化最終產物의 濃度는 닭의 plasma濃度에 가깝게 選擇되었다. 本研究에서 아미노酸을 單獨으로 날개 靜脈에 投

與한 結果 phenylalanine만이 效果가 觀察되었으며, 外의 아미노酸에서는 胰酵素의 分泌增加의 效果는 觀察되지 않았다(Fig. 4). 에서, Magee and Hong(1959)은 정해진 飼料에 isoleucine, threonine 및 lysine을 添加한 結果 amylase만이 增加하는 것이 觀察되었으며, phenylalanine을 添加한 結果 全部의 胰消化酵素가 增加하는 것이 觀察되었다고 報告했다. Go等은 phenylalanine, valine 및 methionine이 人間에 있어서 胰酵素分泌를 촉진시킨다고 報告했다. 그러나 rat에서는 어떠한 아미노酸도 胰消化酵素分泌에는 效果가 없다고 報告했다(Green and Nasset, 1983; Fushiki等, 1984) 이러한 相異點은 明白하지는 않지만, 動物의 種 또는 實驗에 使用된 方法, 즉 人間은 口腔으로부터 投與했으며, rat는 腸內에 投與했으며, 닭은 血管內에 投與한 때문인지도 모른다.

아미노酸 單獨投與에 對應해서, 胰酵素分泌에 미치는 CCK와 아미노酸의 相互作用은 아주 重要하게 나타난다(表 1).

CCK와 threonine을 共同投與하면 amylase가 더 높은 分泌反應을 보였으며, lysine phenylalanine 및 isoleucine을 CCK와 共同投與하면 trypsinogen 또는 chymotrypsinogen쪽이 amylase보다 높은 分泌反應을 나타냈다. Valine을 CCK와 共同投與하면 全部의 胰酵素가 높은 分泌反應을 나타냈다. 이와같이 CCK와 어떤種類的의 아미노酸은 胰酵素分泌에 選擇的인 協同作用이 있는것이 觀察되었다. Grendell等(1984)의 假說에 依하면 CCK는 胰臟의 腺房細胞膜의 透過性을 크게 變化시키고 胰臟素를 크게 增加시키며, 이때 CCK에 依해 細胞膜 透過性을 높여 주지 않으면 그힘을 발휘할 수 없는 消化最終產物의 作用이 CCK와의 協同作用에 依해 選擇的인 胰酵素分泌를 일으킨다고 했다. 本實驗에서는 CCK를 外的으로 投與했으나 著者의 다른 Data에 依하면 蛋白質 또는 아미노酸에 의해 plasma中の CCK濃度를 增加시키는 것이 觀察되어 있다. 따라서 胰酵素의 選擇的인 分泌反應 및 CCK와 消化最終產에 依한 調節機構는 닭에 있어서 生理的 條件下에서 이루어진다고 볼 수 있다.

또한, 아미노酸과 CCK의 協同作用에 대해 投與한 아미노酸의 濃度依存性을 檢討하기 위해 Valine과 arginine을 使用해서 調查했다. Valine은 本研究에서 높은 分泌反應을 보였으며(表 1), arginine

은 Niederau 등(1986)에 의해 그 효과가 보고되었다. Valine은 0.5 mM일때 arginine은 5 mM의 농도에서 가장 높은 분비 반응을 나타냈다. 그러나 이러한 농도가 생리적으로有意함이 있는지에 대해서는 아직 불명인 점이 많다(Fig. 5, 6).

Valine과 arginine에 추가해서 여러가지 농도의 glucose를 이용해서 그 췌 효소 분비의 協同作用에 대해 檢討했으나, glucose에 대해서는 어떠한 有意한 분비 반응은 觀察되지 않았다. 以上の 結果로부터 닭은 다른 哺乳動物과는 달리 消化最終產物에 의해 일어나는 選擇的인 췌 효소 분비에는 glucose는 효과가 없으며 아미노산에 의해 調節된다고 정의 되어진다.

第3實驗에서 아미노산mixture를 CCK와 共同投與한 結果 全部의 췌 효소가 control과 比較해서 前半 30分에서 有意하게 높은 분비 반응이 觀察되었다(表2). 또한 threonine, phenylalanine 및 isoleucine이 amylase, trypsinogen 또는 chymotrypsinogen만을 各各 분비 반응을 增加시켰기 때문에 이 세가지의 아미노산을 組合해서 그 분비 반응을 檢討했다.

아미노산의 組合投與에 의한 췌 효소 분비 반응에 관한 報告를 보면, Go 등(1970)은 必須아미노산에 非必須아미노산을 添加해서 投與해도 必須아미노산의 增加 以上으로 附加的인 效果는 없었다.

Meyer 등(1976a) 및 Niederau 등(1986)은 個個로 效果있는 아미노산을 組合해서 投與하면 附加的으로 增加하는 췌 효소 분비 반응을 나타냈다고 報告했다.

本研究에서 threonine + phenylalanine의 組合를 投與하면 全部의 췌 효소가 control과 比較해서 有意하게 높은 분비 반응을 보였으며, 그 분비 반응은 아미노산mixture와 거의 同等한 반응을 나타냈다(表2). 그러므로 threonine + phenylalanine의 組合은 닭에 있어서 췌 효소 분비 반응에 아주 特異한 作用을 나타낸다고 假定할 수 있다. 그러나 threonine + phenylalanine에 isoleucine을 添加해서 投與해도 어떠한 附加的인 반응은 觀察되지 않았다. 이것은 아미노산의 組合에 의한 效果는 各아미노산 個個의 特性만큼, 有力한 아미노산사이에서 相互作用에 依한다고 할수있다. 哺乳類에 있어서 phenylalanine의 效果는 췌 효소 분비에 있어서는 Go 등(1970), Meyer 등(1976) 및 CCK에 있어서는 Chang and Chey (1983), Owyang 등(1986)의 報告가 있다. 나아가

서 著者の Data에 依하면 phenylalanine 投與에 의해 아미노산과 同等한 plasma中の CCK濃도가 닭에서 觀察되었다. isoleucine과 아니고 threonine과의 組合에 依한 強한 췌 효소 분비 效果를 理解하면 消化生理에 대해 좀더 理解가 될것이다.

本實驗(表2)에서 확실히 나타났것은 效能있는 아미노산을 組合해서 投與해도 附加的인 效果는 항상 나타나지는 않았다. 著者の 췌 臟消化 효소 분비에 대한 附加的인 效果는 豫想밖으로 달랐다. 즉, threonine + isoleucine의 投與에서 chymotrypsinogen만이 有意하게 높은 增加를 보였으며, 이것과는 다르게 phenylalanine + isoleucine에서는 amylase 및 trypsinogen이 後半에 增加하는 遲延된 분비 效果가 觀察되었다.

췌 효소 분비 반응에 대한 組合한 아미노산의 投與에 依한 이러한 變則的인 效能에 대한 理由에 대해서 本實驗에서는 確실히 알 수 없으나 아마 臟內로의 그들 아미노산의 輸送에 대한 競爭에 依할 것이다. 예를들면, Oxender and Christensen (1963)의 報告에 依하면 phenylalanine의 細胞內 輸送에 대한 競爭은 threonine의 存在下에서는 적은 影響을 주었지만 isoleucine의 存在下에서는 半以上이 抑制되었다.

以上の 結果로부터 닭에 대한 췌 臟消化 효소 분비 반응은 選擇的인 분비 반응의 意味로 어떤量의 消化最終產物 - 주로 어떤 아미노산 - 과 CCK의 協同作用에 의해 個個의 消化進行이 일어난다고 본다.

V. 要 約

本研究은 닭에 있어서 飼料成分에 대한 췌 臟消化 효소(amylase, trypsinogen 및 chymotrypsinogen) 분비機構에 대해서 檢討했다.

먼저, 췌 효소 분비의 短期應答實驗에 有用한 새로운 胰液採取法을 開發했다. 이 方法을 利用해서 아미노산 및 glucose를 날개靜脈으로 投與한 結果 phenylalanine만이 trypsinogen 및 Chymotrypsinogen이 增加되었지만 그외의 아미노산 및 glucose에 依해서는 분비 增加 效果가 없었다. Cholecystokinin(CCK)投與에 의해 췌 효소 분비는 即刻的으로 높은 분비 반응을 보였으며, 이 반응은 또한 濃度依存性을 나타냈다. CCK投與는 chymotrypsinogen의 速度가 amylase 및 trypsinogen보다 높은 比率로

分泌되는 選擇的인 分泌反應을 나타냈다.

아미노酸과 CCK을 共同投與하면 添加한 아미노酸의 種類에 따라 胰酵素分泌反應은 여러가지 形態로 增加되었지만 glucose와의 共同投與에서는 CCK 單獨投與와 比較해서 差가 없었다. Valine 과 arginine을 여러가지 濃度로 CCK와 共同投與한 結果, valine에서는 0.5 mM일때, arginine에서는 5 mM일때 가장높은 分泌反應을 보였다. 위의 結果로 부터 아미노酸의 組合에 의한 胰酵素分泌反應에 대해서 檢討했다. 즉, 아미노酸mixture, threonine + phenylalanine + isoleucine, Threonine + phenylalanine, threonine + isoleucine 및 phenylalanine + isoleucine과 CCK를 共同投與했다. 各物質을 投與한 後 30分間 分泌한 酵素를 比較하면, threonine + phenylalanine에 의한 胰酵素分泌反應은 아미노酸mixture에 의한 分泌反應과 同一하게 높은 反應을 보였다.

以上の 結果로 부터 닭에 있어서 胰臟消化酵素分泌는 CCK와 아미노酸의 사이에 協同作用이 있으며, 그協同作用은 아미노酸의 種類에 따라 選擇的인 分泌反應을 함으로써 腸內消化가 進行된다고 본다.

VI. 引用 文 獻

1. Behrman, H. R. and Kare, M. R. (1969) Adaptation of Canine pancreatic enzymes to diet composition. *J. Physiol.*, 205: 667-676.
2. Bird, F. H. and Moreau, G. E. (1978) The effect of dietary protein levels in isocaloric diets on the composition of avian pancreatic juice. *Poult. Sci.*, 57: 1622-1628.
3. Bolender, R. P. (1974) Stereological analysis of the guinea pig pancreas. 1. Analytical model and quantitative description of non-stimulated pancreatic exocrine cells. *J. Cell. Biol.*, 61: 269-287.
4. Caraway, W. I. (1959) A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. *Am. J. Clin. Pathol.*, 32: 97-99.
5. Chang, I. and Chey, W. Y. (1983) Radioimmunoassay of Cholecystokinin. *Dig. Dis. Sci.*,

28: 456-468.

6. Christophe, J., Camus, J., Deschodt-Lanckman, M., Rathe, J., Robberecht, P., Vandermeers-Piret, M. C. and Vandermeers, A. (1971) Factors regulating biosynthesis, intracellular transport and secretion of amylase and lipase in the rat exocrine pancreas. *Horm. Metab. Res.*, 3: 393-403.
7. Dal Borgo, G., Salman, A. J., Pubols, M. H. and McGinnis, J. (1968b) Exocrine function of the chick pancreas as affected by dietary soybean meal and carbohydrate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 129: 877-881.
8. Dal Borgo, G., Sulman, A. J., Pubols, M. H. and McGinnis, J. (1968c) Enzyme composition of chick pancreatic juice. *Fed. Proc.*, 27: 419.
9. Dargon, J. C., Parodis, D. and Morisset, J. (1977a) Non-parallel response of amylase and chymotrypsinogen biosynthesis following pancreatic stimulation: a possible explanation for observed non-parallelism in pancreatic secretion. *Digestion*, 15: 110-120.
10. Dargon, J. C., Sahel, J. and Sarles, H. (1977b) Nonparallel secretion of enzymes in human duodenal juice and pure pancreatic juice collected by endoscopic retrograde catheterization of the papilla. *Gastroenterology*, 73: 42-45.
11. Dockray, G. J. (1977) Molecular evolution of gut hormones: application of comparative studies on the regulation of digestion. *Gastroenterology*, 72: 344-358.
12. Doyle, C. M. and Jamieson, J. D. (1978) The development of secretagogue response in rat pancreatic acinar cells. *Develop. Biol.*, 65: 11-27.
13. Dun can, D. B. (1955) Multiple range and multiple F. test. *Biometrics*, 11: 1-42.
14. Fried, G. M., Ogden, W. D., Rhea, A., Greeley, G. and Thompson, J. C. (1982) Pancreatic protein secretion and gastrointestinal hormone release in response to parenteral amino acid and lipid in dogs. *Surgery*, 92: 902-905.

15. Fushiki, T., Fukuoka, S. and Iwai, K. (1984) Stimulation of rat pancreatic enzyme secretion by diet components. *Agric. Biol. Chem.*, 48: 1867-1874.
16. Go, V. L. W., Hoffmann, A. F. and Summerskill, W. H. J. (1970) Pancreozymin bioassay in man based on pancreatic enzyme secretion: potency of specific amino acids and other digestive products, *J. Clin. Invest.*, 49: 1558-1564.
17. Green, G. M. and Lyman, R. L. (1972) Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin inhibitor-induced hypersecretion in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 140: 6-12.
18. Green, G. M. and Nasset, E. S. (1983) Role of dietary protein in rat pancreatic enzyme secretory response to a meal. *J. Nutr.*, 113: 2245-2252.
19. Green, G. M., Olds, B. A., Matthews, G. and Lyman, R. L. (1973) Protein as regulator of pancreatic enzyme secretion in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 142: 1162-1167.
20. Grendell, J. H. and Rothman, S. S. (1981) Digestive end products mobilize secretory proteins from subcellular stores in the pancreas. *Am. J. Physiol.*, 241: G67-G73.
21. Grendell, J. H., Tseng, H. C. and Rothman, S. S. (1984) Regulation of digestion. 1. Effect of glucose and lysine on pancreatic secretion *Am. J. Physiol.*, 246: G445-G450.
22. Grossman, M. I., Greengard, H. and Ivy, A. C. (1943) The effect of dietary Composition on pancreatic enzymes. *Am. J. Physiol.*, 138: 676-682.
23. Howard, F. and Yudkin, J. (1963) Effect of dietary change upon the amylase and trypsin activities of the rat pancreas. *Br. J. Nutr.*, 17: 281-294.
24. Hummel, B. C. W. (1959) A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 31: 1393-1399.
25. Imondi, A. R. and Bird, F. H. (1967) Effect of dietary protein level on growth and proteolytic activity of the avian pancreas. *J. Nutr.*, 91: 421-428.
26. Klein, E., Shrebaum, S., Ben-Ari, G. and Dreiling, D. A. (1983) Effects of total parenteral nutrition on exocrine pancreatic secretion. *Am. J. Gastroenterol.*, 78: 31-33.
27. Konturek, S. J., Tasler, J., Creszouski, M., Jaworek, J. and Konturek, J. (1979) Intravenous amino acids and fat stimulate pancreatic secretion. *Am. J. Physiol.*, 236: E678-E684.
28. Krawisz, B. R., Miller, L. J., Oimagno, E. P. and Go, V. L. W. (1980) In the absence of nutrients pancreaticbiliary secretions in the jejunum do not exert feedback control of human pancreatic or gastric function. *J. Lab. Clin. Med.*, 95: 13-18.
29. Magee, D. F. and Hong, S. S. (1959) Daily output of pancreatic juice and some dietary factors which influence it. *Am. J. Physiol.*, 197: 27-30.
30. Meyer, J. H. (1975) Release of secretin and cholecystokinin. In: *Gastrointestinal Hormones*, pp. 475-489. edited by Thompson, J. C., Univ. of Texas press, Texas.
31. Meyer, J. H., Kelly, G. A., Spingola, L. J. and Jones, R. S. (1976a) Canine gut receptors mediating pancreatic responses to luminal L-amino acids. *Am. J. Physiol.*, 231: 669-677.
32. Meyer, J. H., Kelly, G. A. and Jones, R. S. (1976b) Canine pancreatic responses to intestinally perfused oligopeptides. *Am. J. Physiol.*, 231: 678-681.
33. Meyer, J. H. and Kelly, G. A. (1976c) Canine pancreatic reponses to intestinally perfused proteins and protein digests. *Am. J. Physiol.*, 231: 681-691.
34. Mikami, S. and Ono. K. (1962) Glucogon deficiency induced by extirpation of alpha islets of the fowl pancreas. *Endocrinology*, 61: 464-473.
35. Niederau, C., Grendell, J. H. and Rothman, S. S. (1986) Digestive end products release pancreatic enzymes from particulate cellular pools, particularly zymogen granules. *Biochem. Biophys.*

- Acta, 881: 281-291.
36. Niederau, C., Sonnenberg, A. and Erckenbrecht, J. (1985) Effect of intravenous infusion of amino acids, fat or glucose on unstimulated pancreatic secretion in healthy humans. *Dig. Dis. Sci.*, 30: 445-455.
 37. Owyang, C., Louie, D. S. and Tatum, D. (1986) Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion: Suppression of Cholecystokinin release by trypsin. *J. Clin. Invest.*, 77: 2042-2047.
 38. Oxender, D. L. and Christensen, H. N. (1963) Distinct mediating systems for the transport of neutral amino acids by the Ehrlich cell. *J. Biol. Chem.*, 238: 3686-3699.
 39. Rebord, J. P., Marchis-Mouren, G., Cozzone, A. and Desnuelle, P. (1966) Variation in the biosynthesis rate of pancreatic amylase and Chymotrypsinogen in response to a starch-rich or a protein-rich diet. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 22: 94-99.
 40. Rinerknecht, H., Renner, I. G., Douglas, A. P. and Adham, N. F. (1978) Profiles of pure pancreatic secretions obtained by direct pancreatic duct cannulation in normal healthy human subjects. *Gastroenterology*. 75: 1083-1089.
 41. Rothman, S. S. and Wilking, H. (1978) Differential rates of digestive enzyme transport in the presence of cholecystokinin-pancreozymin. *J. Biol. Chem.*, 253: 3543-3549.
 42. Rothman, S. S. (1967) "Non-parallel transport" of enzyme protein by the pancreas. *Nature*, 213: 460-462.
 43. Rothman, S. S. (1974) Molecular regulation of digestion: Short term and bond specific. *Am. J. Physiol.*, 226: 77-83.
 44. Sale, J. K., Goldberg, D. M. Fawcett, A. N. and Wormsley, K. G. (1977) Chronic and acute studies indicating absence of exocrine pancreatic feedback inhibition in dogs. *Digestion*, 15: 540-555.
 45. Scheele, G. A. and Palade, G. E. (1975) Studies on the guinea pig pancreas: Parallel discharge of exocrine enzyme activities. *J. Biol. Chem.*, 250: 2660-2670.
 46. Scheele, G. A. (1975) Two-dimensional gel analysis of soluble proteins: Characterization of guinea pig exocrine pancreatic proteins, *J. Biol. Chem.*, 250: 5375-5385.
 47. Schneeman, B. O., Chang, I., Smith, L. B. and Lyman, R. L. (1977) Effect of dietary amino acid, casein, and soybean trypsin inhibitor on pancreatic protein secretion in rats. *J. Nutr.*, 107: 281-288.
 48. Schneeman, B. O. and Lyman, R. L. (1975) Factors involved in the intestinal feedback regulation of pancreatic enzyme secretion in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 148: 897-903.
 49. Stabile, B. E., Borzatta, M., Stubbs, R. S. and Debas, H. T. (1984) Intravenous mixed amino acids and fat do not stimulate exocrine pancreatic secretion. *Am. J. Physiol.*, 246: G274-G-280.
 50. Tseng, H. C., Grendell, J. H. and Rothman, S. S. (1982) Food, duodenal extracts, and enzyme secretion by the pancreas. *Am. J. Physiol.*, 243: G-304-G321.
 51. Wang, C. C. and Grossmam, M. I. (1951) Physiological determination of release of secretin and pancreozymin from intestine of dogs with transplanted pancreas. *Am. J. Physiol.*, 164: 527-545.