

우유단백질 유래 혈당 조절 기능성 펩타이드

Anti-diabetic peptides derived from milk proteins

김선영¹ · 임지영^{1,*}

Seonyoung Kim¹, Jee-Young Imm^{1,*}

¹국민대학교 식품영양학과

¹Department of Foods and Nutrition, Kookmin University, Korea

Abstract

Bioactive peptides generated from milk proteins play an important role in the prevention and alleviation of diabetes. Whey proteins possess direct insulinotropic effect by amino acids (especially branch chain amino acids) produced through its gastrointestinal digestion. Additionally, blood glucose level can be lowered by gut hormone which called incretin [glucose dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1)]. However, physiological effects of incretin readily disappeared by dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) causing degradation of GLP-1. Several DPP-4 inhibitors are cur-

rently used as therapeutic medicines for the treatment of type II diabetes. More than 60 natural peptide (2-14 amino acids) DPP-4 inhibitors were identified in milk proteins. Peptide DPP-4 inhibitors act as substrate inhibitor and delay breakdown of GLP-1 both in vitro and in vivo. This review summarizes nutritional quality of milk proteins, absorption and mode of action of bioactive peptides, and finally up-to-dated knowledge on DPP-4 inhibitory peptides derived from milk proteins.

Key words: milk protein, peptide, glucagon-like peptide-1, dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, anti-diabetic agent

Corresponding Author

Jee-Young Imm

Department of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 02707, Korea.

Tel: 82-2-910-4772

Fax: 82-2-910-5249

E-mail address: jyimm@kookmin.ac.kr

Received November 27, 2018; revised December 03, 2018; accepted December 03, 2018



서론

생체 내에서 단백질은 뇌하수체, 내분비계, 및 신경계 말단에서 펩타이드 호르몬의 형태로 분비되어 체내 항상성 유지를 위한 대사과정(신경전달, 혈압조절, 혈당조절 등)을 조절함은 물론 신경전달물질 또는 면역조절물질로서 인지기능과 생체방어기능에도 기여한다(Hruby와 Balse, 2000). 우리가 섭취하는 식품에 존재하는 단백질은 영양소를 제공하는 에너지원의 기능뿐만 아니라 소화과정에서 다양한 펩타이드를 형성하여 생체 조절 효과를 나타낸다. 식이 유래 다양한 기능성 펩타이드에 대한 연구는 우유단백질을 대상으로 한 연구가 가장 많이 이루어졌으며, 최근에도 새로운 관점에서 리뷰 논문이 꾸준히 발표되고 있다(Nielsen 등, 2017; Nongonierma와 FitzGerald, 2015). 본 논문에서는 우유단백질의 영양학적 특성, 기능성 펩타이드의 흡수, 식품가공 공정이 기능성 펩타이드의 효과에 미치는 영향과 최근 관심이 모아지고 있는 우유단백질 유래 혈당조절 기능성 펩타이드에 대한 연구 결과를 소개하고자 한다.

우유단백질의 영양학적 특성

우유단백질을 분류하는데 가장 널리 사용되는 방법은 등전침전(isoelectric precipitation)으로 탈지유의 pH를 casein의 등전점인 4.6으로 조정하여 침전하는 불균일한 인단백질(α_{s1} , α_{s2} , β , kappa-casein)인 casein과, 이때 용해상으로 존재하는 유청단백질로 구분한다. 유청단백질에는 β -lactoglobulin(β -LG), α -lactalbumin(α -LA), bovine serum albumin(BSA) 등의 단백질을 포함한다. 이 같은 분류는 산업적 관점에서 치즈 생산 시 커드를 구성하는 casein과 부산물인 유청으로 분류되는 구분과 유사하다(엄밀히 말하면 치즈의 제조 시에는 κ -casein의 C-말단

부분인 macropeptide가 유청으로 이동하므로 등전침전으로 얻어지는 유청단백질과는 차이를 나타낸다). 우유에는 casein과 유청단백질의 비율이 약 4:1 수준이며, 우유에 존재하는 유청단백질의 함량은 0.55~0.70 g/100 g 수준인 반면 모유의 경우는 유청단백질이 0.68~0.83 g/100 g으로 존재하여 우유와는 뚜렷한 차이를 나타낸다(Guo 등, 2007). 또한, 모유에는 우유에 다량으로 존재하는 α_{s1} -casein과 β -LG를 함유하지 않는 이유로 α_{s1} -casein과 β -LG, 은 유아에서 나타나는 우유 알레르기의 주요 원인으로 작용한다(Lara-Villoslada 등, 2005).

우유 casein을 구성하는 아미노산들의 가장 큰 특징은 Pro 함량이 높다는 것으로, α_{s1} , α_{s2} , B, K-casein은 각각 17/199, 10/207, 35/200, 20/169 아미노산의 Pro 잔기를 함유한다. 높은 Pro 함량은 α -helix 나 β -sheet과 같은 2차 구조의 형성을 방해하여 자연상태에서도 가수분해에 민감하며, 높은 열안정성을 나타낸다. Pro를 포함한 펩타이드는 일반적으로 소화효소의 저항성을 나타내며, 특히, C-말단에 Pro-Pro를 포함하는 tripeptide는 Pro 특이적 peptidase에도 강한 저항성을 나타낸다(FitzGerald와 Meisel, 2000).

Casein의 두번째 특징은 모든 casein이 Ser(혹은 일부 Thr)에 에스터 결합으로 연결된 인산기를 함유하고 있다는 점이다. 각 casein에 함유된 인의 비율은 칼슘에 대한 민감성(침전여부)을 결정한다. Casein에 존재하는 인산기는 균일하게 분포되어 있지 않고 부분적으로 밀집되어 존재한다. 따라서, 적절한 조건에서 casein을 가수분해하면 인산기가 밀집된 펩타이드 분획의 회수가 가능하게 되어 caseinphosphopeptide(CPP)를 생산할 수 있다. CPP는 칼슘이나, 철 등의 금속이온과 결합하여 중성 pH에 가까운 소장관에서 용해도를 높여 체내 흡수율 향상에 도움을 줄 수 있다. 또한 casein은 소수성 아미노산의 비율이 높아 casein의 가수분해물에서

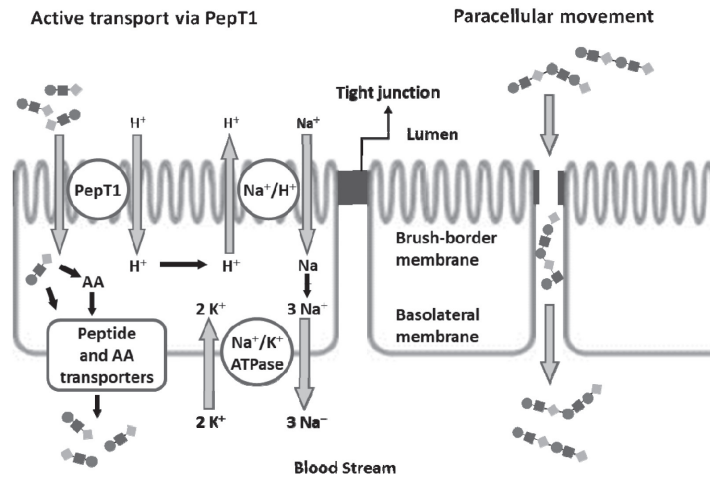


Fig. 1. Routes for peptide transport. Adapted from Gilbert et al. (2008).

는 쓴맛이 빈번하게 관찰된다.

이에 반하여 유청단백질은 casein과 비교하여 고도로 구조화된 구상단백질로 소화 효소에 대한 저항성을 나타낸다. 우유단백질의 섭취 시 casein과 유청단백질은 장관에서 다른 특성을 나타내는데 casein은 위에서 응고되어 curd를 형성하므로 위에서 배출이 지연되며 소장 상피세포로 흡수되기 전 단백질의 분해가 증가하는 반면 유청단백질은 위에서 분해가 제한적으로 이루어진 상태로 매우 빠르게 공장으로 배출된다. 유청단백질의 느린 가수분해 속도는 유청단백질 유래 펩타이드의 고유한 전달 특성을 부여한다(Boirie 등, 1997). 모든 식이단백질 중에서 유청단백질은 가장 높은 분지사슬아미노산(branch chain amino acids; Ile, Leu, Val) 비율을 가지고 있다. 분지사슬아미노산은 근육단백질의 합성에 필수적이며, 간 보다는 근육조직에서 빠르게 대사되는 특성을 가지고 있으므로 운동과정 중 근육단백질의 분해를 억제하며, 당의 생체이용성에 도움을 줄 수 있으며(Walzem 등, 2002) 뇌로 흡수되는 Trp의 흡수를 제한하여 serotonin의 합성을 감소시키므로 피로감을 덜 느끼도록 한다.

동일한 열량의 섭취 시 단백질의 섭취가 탄수화

물이나 지방의 경우와 비교하여 열 발생 효과를 증가시키고 포만감을 쉽게 느끼도록 함으로써 체중 조절에 도움이 된다는 흥미로운 연구보고(Layman 등, 2009; Halton과 Hu, 2004)가 알려짐에 따라 단백질의 원천에 따른 체중 증가 및 포만감 자극 효과에 대한 연구가 진행되었다. 유청단백질은 섭취 시 casein이나 콩 단백질과 비교하여 체내에서 더 많은 열 생산을 유도하는 것으로 알려져 있으며, 이는 단백질 합성이나 그 신호경로(mammalian target of rapamycin signaling)에 도움을 주는 높은 Leu 함량과 관련이 있는 것으로 보고되었다(Layman과 Walker, 2006; Appuhamy 등, 2012).

기능성 펩타이드의 흡수 및 기능성의 발현

단백질은 아미노산들이 펩타이드 결합으로 연결된 중합체로, 생리적 효과를 발휘하기 위해서는 일차적으로 장관상피세포를 통하여 흡수되어 혈액을 통하여 표적기관에 도달하여야 한다. 장관 상피세포에서 기능성 펩타이드의 흡수는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 peptide transporter(Pep T1)를 이용한 운반체 매개 능동수송이나 세포간극(tight junction)을

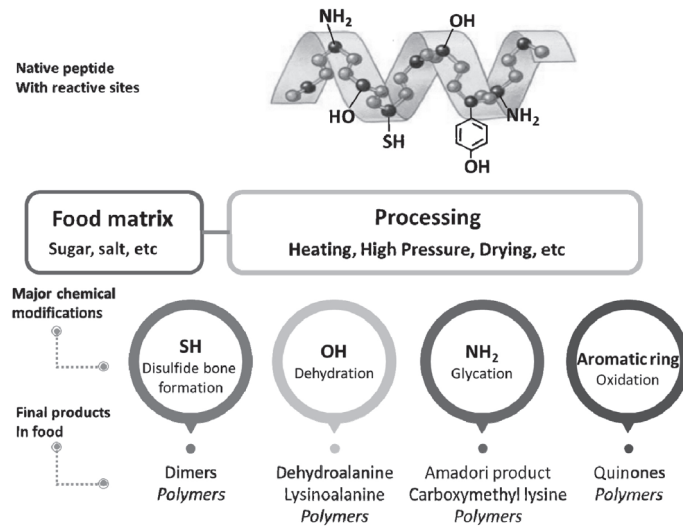


Fig. 2. Modification of amino acid residues of peptides during food processing. Adapted from Udenigwe and Fogliano (2017).

통한 흡수 경로(paracellular route)가 존재한다. 아미노산 2~3개로 이루어진 저분자 펩타이드는 펩타이드 수송체, 그 이상의 oligopeptide는 세포간 경로를 통한 흡수가 주로 이용된다. PepT1은 400여개의 dipeptide와 8,000 여종의 tripeptide를 수송할 수 있다고 알려져 있으며, 수송의 에너지 효율성은 유리아미노산의 수송과 유사하다(Daniel, 2004). 흡수된 펩타이드는 수용체 결합을 통하여 생체조절기능을 발휘하거나, 체내 대사의 조절에 관여하는 다양한 효소의 활성을 억제함으로써 기능을 발휘하기도 한다

기능성 펩타이드는 in vitro 실험에서 유효한 효과가 확인되었지만 소화과정에서 더 분해되어 활성이 소실되는 경우도 빈번히 관찰되며, 유사한 효능을 가진 약물과 비교하면 생체이용성(bioavailability)은 현저히 낮다고 할 수 있다(Adessi와 Soto, 2002). 소화과정에서 일어나는 구조 변화에 의한 기능성의 소실을 막기 위해서는 아미노산이 10개 미만으로 이루어진 펩타이드가 바람직한 것으로 보고되어 있다. 일반적으로 의약품과 같은 치료제로 사용될 것

을 제외하고 건강기능소재로 식품에 사용되는 경우를 주로 고려하면 펩타이드는 쓴맛을 나타내지 않고 다수의 기능성(multibioactivities; 예를 들어 혈압 감소효과와 항산화효과를 함께 보유)을 가지는 것이 바람직하다고 볼 수 있다. 혈압 감소 효과와 관련하여 많은 연구가 이루어진 angiotensin converting enzyme (ACE) 억제 활성을 가진 펩타이드의 경우 최소 세개의 아미노산으로 이루어진 tripeptide가 쓴맛의 유의적 증가와 관계 없이 다수의 기능성을 나타내기 위한 구조적 다양성을 보유할 수 있다고 보고되었다(Wang 등, 2013; Pripp과 Ardo, 2007).

식품가공 공정이 펩타이드의 생산과 기능성에 미치는 영향

기능성 펩타이드의 생산을 위하여 거치게 되는 살균(열처리), 고압 처리, 분획, 건조 등의 식품가공 공정은 생성된 펩타이드의 profile 및 기능성 유지에 중요한 영향을 미칠 수 있음에도 불구하고 그 중요성은 간과되기 쉽다. 우유단백질로부터 단백질

가수분해 효소(산업적 현장에서는 주로 상업용 가수분해효소)를 이용한 기능성 펩타이드의 제조과정 중 casein과 같이 2차 구조가 제한적인 경우는 가수분해효소에 의한 펩타이드의 생산이 용이한 반면, 구조화된 2차구조를 가진 유청단백질은 상대적으로 낮은 가수분해율을 나타낸다. 따라서, 가수분해 전 열처리나 고압 처리를 시행하면 α -helix 구조를 감소시키거나, 이황화결합을 붕괴시켜 endoproteases의 기질 내 접근성을 증가시킴으로써 가수분해율을 높일 수 있다(Wada와 Lönnerdal, 2014; Fernández와 Riera, 2013). 유청단백질의 열에 의한 변성 과정은 단백질 접힘 구조의 풀림과 응집의 2단계 과정으로서 열처리에 의한 접힘 구조의 풀림의 증가가 가수분해 작용을 용이하게 하는 것으로 설명될 수 있다. 열처리나 고압처리와 같은 단백질의 가수분해 전처리와 제조된 펩타이드의 기능성과의 상관관계는 아직 명확하게 결론을 내리기는 쉽지 않으며, 단백질 원천의 종류 및 전처리 방법에 따라, 그 효과는 다르게 나타날 수 있다(Dullius 등, 2018).

기능성 펩타이드는 Fig. 2와 같이 식품 성분에 포함되어 있는 다양한 친핵성 기능기(NH_2^- , COOH^- , SH^- 등) 또는 환원당과의 Maillard 반응을 통하여 기존의 펩타이드와는 상이한 생성물을 만들 수 있다(Udenigwe와 Fogliano, 2017). 예를 들어, Lys 잔기에 결합된 소수성 아미노산은 당과의 glycosylation에 민감한 반면 염기성 잔기들은 이와 같은 당화 반응에 민감하지 않은 것으로 보고되었다(Mennella 등, 2006). Maillard 반응은 상온에서도 진행되는 매우 자발적인 반응임을 고려할 때 펩타이드의 제조 시 환원당의 존재는 예상하지 못한 결과를 초래할 수 있으며, 가열과정에는 Maillard 반응이 가속화된다. Maillard 반응 결과 생성된 산물(lysinoalanine, lanthionine 및 이황화결합으로 생성된 응집체)은 소화 효소에 의하여 분해되지 않으며, 더불어

Maillard 반응에 민감한 Lys 잔기의 단백질 구조 표면 노출을 현저히 저하시킬 수 있다. 또한, 펩타이드의 제조 과정뿐만 아니라 기능성 펩타이드가 포함된 식품의 경우 그 식품의 기질(food matrix)과 펩타이드 간에는 보관, 저장 과정 중 상호작용의 가능성을 배제할 수 없으며, 이러한 부분에 관해서는 아직 충분한 연구가 이루어진 바 없다.

유청단백질의 혈당 감소 효과와 관련 작용 기전

대사증후군은 복부비만, 혈당조절장애, 고혈압, 이상지질혈증 등 심혈관계질환의 위험요인을 포함하는 복합질환으로써 정확한 병리 기전은 알려져 있지 않으나 그 기전의 바탕에는 인슐린 저항성을 공통적으로 포함하고 있다(DeFronzo와 Ferrannini, 1991). 우리나라의 당뇨병유병률(2016년 기준)은 진단 방법에 따라 차이를 나타내기는 하나 공복혈당(126 mg/dL)만을 기준으로 할 때 30세 이상의 전체인구 중 13%에 해당하며, 당화혈색소를 포함하는 경우 14.3%, 65세 이상의 고령층에서는 약 30%로 집계되어 당 대사는 심혈관계 질환의 예방을 위한 핵심 관리지표이다(KDA, 2018). 국제적인 동향에서도 당뇨 인구는 지속적으로 증가하고 있으며, 2010년에 2억 8,500만 명(6.4%)에서 2030년에는 4억 3,900만 명(7.7%)으로 증가될 것으로 예측된다(Shaw 등, 2010). 현재 사용되고 있는 당뇨의 치료제는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 췌장, 간, 소장, 근육 등 다양한 신체 기관을 타겟으로 한 약물이 사용되고 있으나, 여러가지 부작용이 보고되고 있다. 기능성 펩타이드는 기능성의 유지 시간이 약물에 비교하여 낮은 단점이 있으나 체내 축적이 일어나지 않으며, 세포 독성을 나타내지 않으므로 기능성 소재가 갖추어야 할 안전성의 측면에서 뚜렷한 장점을 가지고 있다.

단백질은 종류에 따라 체내 흡수 속도에 차이를

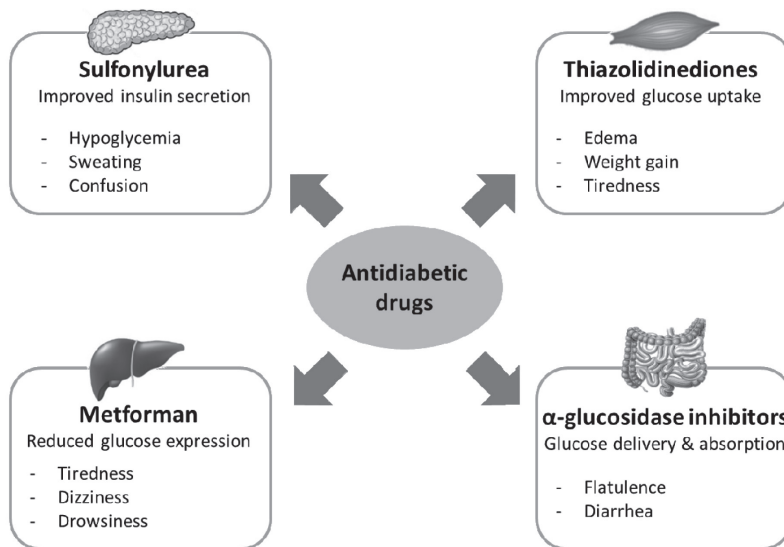


Fig. 3. Action mechanism of antidiabetic drugs and their side effects. Adapted from Marya et al. (2018).

나타내며, 혈장에 흡수된 아미노산의 일부, 특히 Leu, Ile, Val, Lys, Thr 은 인슐린 분비를 촉진하여 혈당 감소를 나타낸다(Nilsson 등, 2004). 단백질 함량을 보정하여 준비된 네 가지 시료, 참치, 칠면조, 유청, 난백 식단 중 특히 유청은 인슐린 분비 촉진 효과가 가장 높았으며, 혈당 저하 효과도 다른 단백질 식단과 비교하여 유의적으로 우수하였다(Pal과 Ellis, 2010). 유청단백질의 식후 혈당 감소 효과는 여러 연구자에 의하여 재확인되었으며, 유청단백질 혹은 유청단백질 가수분해물(20 g/1회 분량)의 공급은 건강한 성인에서 고탄수화물 섭취 전후에 모두 농도의존적으로 인슐린 분비를 증가시키고, 혈당을 감소시켰다(Petersen 등, 2009; Akhavan 등, 2010). 유청단백질의 인슐린 분비 촉진 및 혈당 감소 효과는 건강한 성인의 경우 이외에도 2형 당뇨병환자의 경우에도 동일한 효과가 관찰되었다(Frid 등, 2005).

유청단백질 섭취에 의한 혈당 감소 효과의 정확한 작용 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았지만 두 개 이상의 경로를 통하여 효과가 나타나는 것

으로 유추할 수 있다. 첫째로 유청단백질에 풍부하게 함유되어 있는 분지사슬 아미노산에 의한 인슐린 분비 촉진 효과는 그 중요한 작용 기전 중의 하나이며, 특히 Leu은 아미노기가 제거된 대사체인 α -ketoisocaproic acid (KIC)를 통하여 인슐린 생성을 위한 췌장의 β -cell 합성 증가시킨다고 보고되었다(Yang 등, 2010). 두 번째 기전으로는 소화과정 중 위장관에서 분비되어 췌장의 내분비 기능을 조절하는 incretins 이라고 불리는 펩타이드 호르몬 [glucose dependent insulinotropic polypeptide(GIP)와 glucagon-like peptide 1(GLP-1)]의 작용에 영향을 미치는 과정을 생각할 수 있다. 체내 인슐린에 대한 저항성으로 인슐린 생산이 저하된 2형 당뇨병환자의 경우에는 GIP 보다는 GLP-1의 분비 저하가 혈당 조절 장애 및 높은 당화혈색소의 원인이 라고 보고되었다(Toft-Nielsen 등, 2001). GLP-1의 효과는 cAMP와 protein kinase A의 활성화에 의한 췌장 β -cell GLP-1 수용체의 활성화에 의하여 유도되며 이 과정은 핵 내 인슐린 유전자 발현을 증가시키는 전사 인자인 PDX-1의 핵 내 유입이 증

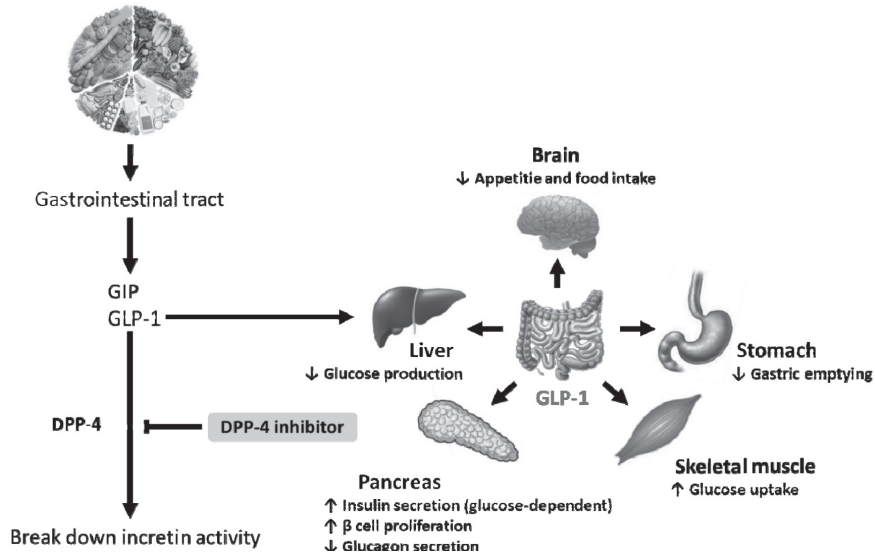


Fig. 4. Physiological effects of incretin hormones and DPP-4.

GIP: glucose dependent insulinotropic polypeptide, GLP-1: glucagon-like peptide-1, DPP-4: dipeptidylpeptidase-4

가함으로써 일어난다(Portha 등, 2011). Nilsson 등 (2007)은 유청 음료의 섭취는 GIP의 분비를 유의적으로 증가시킨 반면, 분지사슬 아미노산의 혼합물의 섭취를 통해서는 그 효과가 관찰되지 않았다고 보고하였다. 이상의 결과를 근거로 할 때 유청 단백질 섭취가 incretin 반응에 미치는 효과는 유청 단백질의 소화과정에서 생성되는 저분자 기능성 펩타이드에 의한 것으로 생각할 수 있으며, 유청단백질이나 casein의 가수분해물은 가수분해 전 단백질과 비교하여 50% 이상 GIP의 분비를 촉진시켰다는 연구 결과는(Calbet과 Holst, 2004) 이와 같은 가설을 뒷받침한다

Incretin에 의한 혈당 조절과 dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4)

Incretin 중 GLP-1은 특히 인슐린 저항성을 나타내는 당뇨 환자에게 중요한 역할을 담당하는데 GLP-1의 주요 기능을 정리하면 Fig. 4와 같다. GLP-1은 위에서 음식물의 배출을 지연시키거

나, 췌장에서 인슐린의 분비를 촉진하며, glucagon의 분비를 감소시켜 혈당을 감소시킨다(Drucker와 Nauck, 2006). GLP-1의 증가는 췌장의 β -세포 전구세포로부터 β -세포로의 분화를 촉진하여 proinsulin 합성이나 인슐린 저장 증가 및 세포 사멸로부터의 보호 효과를 나타낸다(Brubaker와 Drucker, 2004). 또한 식욕을 억제하는 과정에도 관여하여 혈당조절에 부가적인 도움을 주기도 한다(Cho 등, 2014). 그러나, 음식물의 섭취 후 GLP-1은 GLP-1을 가수분해하여 불활성화시키는 DPP-4(dipeptidylpeptidase-4; EC 3.4.14.5)에 의하여 빠르게 분해되어 incretin의 효과를 일정기간 동안 유지하기는 어렵다.

DPP-4는 신장, 간, 부신, 골격근, 췌장, 폐, 소장, 골수, 비장 등을 포함한 거의 모든 조직에서 발현되는 serine protease로서 X-Pro, X-Ala dipeptides를 선택적으로 분해하는 amino peptidase 활성을 나타낸다(Ohnuma 등, 2008; Thoma 등, 2003). 따라서, 체내 incretin 유지 시간을 연장하기 위한 방법으로는 활성형 GLP-1을 주사하거나, GLP-1과 유사한

구조를 가진 DPP-4를 억제하여 GLP-1의 체내 유지 시간을 연장하는 방법이 가능하다. 이 중 활성형 GLP-1의 체내 투입은 표적 기관에 대한 특이성의 측면에서는 장점을 가지고 있으나 주사의 형태를 이용하여야 하며 구토, 어지러움 등을 유발하는 단점을 가진 것으로 보고되어 상대적으로 부작용이 적은 DPP-4 억제제를 이용한 incretin 활성 연장 방법이 선호되고 있다(Mentlein, 2005).

DPP-4 억제제는 incretins 혈중 농도를 상승시키며, DPP-4 억제 의약품이 우리나라를 비롯한 미국과 캐나다 등에서 당뇨병 치료제로 임상적으로 활용되고 있다(Hunziker 등, 2005). DPP-4 억제제의 사용은 인슐린 합성과 분비 촉진, glucagon 억제 및 간에서의 포도당 합성 억제를 통해 혈당을 조절한다(Russell-Jones와 Gough, 2012). 그러나, 현재 사용되고 있는 합성 DPP-4 억제제의 장기적 안전성에 대한 부분은 아직 충분한 연구가 부족한 실정이며, 전신무력증, 심장이나 혈관계의 일부 부작용에 대한 내용이 보고된 바 있다(Gooben과 Graber, 2012). 따라서, 안전성이 확보된 천연물 유래 DPP-4 억제 기능성 소재의 개발은 높은 잠재력을 가질 수 있다.

우유 단백질 유래 DPP-4 억제 기능성 펩타이드

DPP-4 억제 효과는 평가하고자 하는 시료를 DPP-4에 의하여 가수분해되면 색을 발현할 수 있는 기질[예를 들어, Gly-Pro-p-nitroanilide(pNA), Gly-Pro-aminomethylcoumarin(AMC) 등]과 함께 배양하고 효소 반응의 종료 후 흡광도를 측정하여 분석한다. 일반적으로 시료의 DPP-4 억제 활성은 IC₅₀ 값으로 표현할 수 있으며, 이때 양성대조구로는 Diprotin A(최종농도: 0.125~12.5 μg/mL)가 빈번히 사용된다(Nongonierma와 FitzGerald, 2014a).

Lacroix and Li-Chan (2012)은 다양한 단백질 가

수분해 효소를 이용하여 분리유청단백(WPI), milk protein concentrate(MPC), 탈지분유(SMP), 케이신산 나트륨(Na-CNate) 등의 유단백질 소재의 가수분해를 실시하고 DPP-4 억제 펩타이드의 특성을 분석하였다. Na-CNate의 분해물은 유청단백질 분해물보다 높은 DPP-4 억제 활성을 보인다고 하였으며, 개별 casein 가운데서는 β-casein이 가장 많은 DPP-4 억제 펩타이드를 생성하였다. 우유 단백질 유래 DPP-4 억제 펩타이드는 약 64 종이 보고되었으며, 그 원천은 lactoferrin(25%), β-casein(22%), β-LG(17%), κ-casein (13%), α-LA(8%), α_{s2}-casein(6%), α_{s1}-casein(5%) 등으로 다양하였으며 주로 2-14개의 아미노산으로 이루어져 있다고 보고되었다(Nielsen 등, 2017).

DPP-4 억제 활성을 나타내는 펩타이드의 물리화학적 특성은 아직 명확하게 규명되어 있지는 않으나, N-말단에 Trp이 존재하고, 2번째 위치에 Pro이 위치할 경우 상대적으로 높은 DPP-4 억제 활성(IC₅₀<200 mM)을 나타낸다고 보고되었다(Nongonierma와 FitzGerald, 2014a). 앞서 언급한 바와 같이 casein은 Pro를 다량 함유하고 있으므로 아직 확인되지 않은 DPP-4 억제 펩타이드가 casein의 아미노산 서열에 포함되어 있을 가능성도 배제할 수 없다. 현재까지 알려진 가장 높은 활성을 가진 DPP-4 억제 펩타이드는 κ-casein 유래 Ile-Pro-Ile 펩타이드로 알려져 있으며 (난백가수분해물에서도 동일한 펩타이드가 발견 됨) 그 효능은 상용화된 DPP-4 억제제인 gliptins와 비교하여 약 1,000배 이상 낮은 것으로 보고되었다(Nongonierma와 FitzGerald, 2013). 식품 단백질 유래 DPP-4 억제 펩타이드의 작용기전은 주로 DPP-4의 기질로 작용하는 기질 억제제로 작용하여 DPP-4에 의하여 쉽게 분해됨으로써 GLP-1의 분해를 억제하는 것으로 알려져 있다. DPP-4에 의하여 분해된 펩타이드는 더 이상 생물학적 활성을 유지하지 못하는 경우가 대부분이지

만 일부는 β -casein 유래 펩타이드 [f135-139, Leu-Pro-Leu-Pro-Leu (IC_{50} : 325 mM)]는 DPP-4에 의하여 Leu-Pro-Leu (IC_{50} : 241 mM)으로 분해되어 오히려 생물학적 활성이 증가하는 경우도 존재하였다 (Nongonierma와 FitzGerald, 2014b). 이와 같은 작용 기전을 근거로 할 때 식품 유래 DPP-4 억제 펩타이드는 DPP-4 억제 의약품과 상승효과를 기대해 볼 수 있다. 실례로, DPP-4의 활성 부위와 비공유결합을 형성하며 DPP-4의 해리를 지연시키는 DPP-4 억제제인 Sitagliptin®과 casein 펩타이드의 혼합물을 사용하였을 때 DPP-4 억제 효과의 증가가 관찰되었다 (Nongonierma와 FitzGerald, 2014b). 이와 같은 결과는 의약품과 활성 펩타이드를 함께 사용 시 필요한 약의 용량을 줄임으로써 부작용을 감소시킬 수 있음을 의미한다.

Hsieh 등, (2016)은 컴퓨터 데이터 베이스를 활용하여 DPP-4 억제 활성을 가진 펩타이드의 적합한 원천과 단백질 가수분해 효소를 탐색하는 in silico 방법을 이용하여, DPP-4 억제 펩타이드를 생산하고 in vitro와 in vivo 실험을 통하여 제조된 펩타이드의 효과를 분석하였다. 그 결과, Bromelian을 이용하여 제조한 casein의 분해물 (<1 kDa 분획)을 6주간 쥐에게 투여 시 (250-500 mg/kg bw) streptozotocin으로 유도한 당뇨쥐에서 혈중 DPP-4, GLP-1, insulin 농도가 유의적으로 증가하였으며, 경구 포도당 내성검사에서 혈당량이 감소함을 확인하였다. 이와 같은 사례는 in silico 방법이 효율적으로 혈당 조절 기능성을 가진 펩타이드 생산에 활용될 수 있는 잠재력을 가지고 있음을 의미한다.

단백질의 효소적 가수분해 이외에 유산균 발효를 이용한 DPP-4 억제 펩타이드 생산에 대한 연구는 상대적으로 부족한 실정이다. Zeng 등(2016)은 DPP-4 억제 활성을 가진 probiotics 선발에 관한 연구를 수행하였다. *Lactobacillus plantarum* 균주 3종과 *L. brevis* 균주 1종으로부터 얻어진 cell free excre-

tory supernatants는 농도의존적으로 DPP-4에 대한 억제 활성을 나타냈으며, 산, 알칼리, 당 분해효소, 열처리 등의 조건이나 장내 환경의 모사 조건에서도 활성을 유지하는 것으로 나타나 향후 probiotics 선발에 활용될 가능성을 제시하였다.

현재까지 보고된 연구 결과를 근거로 할 때 우유 단백질 유래 기능성 펩타이드가 DPP-4 억제 효과를 나타냄으로써 혈당 감소에 도움을 줄 수 있는 잠재력은 충분하다고 할 수 있다. 그러나, 인체 적용 연구 결과를 통한 효과의 검증은 아직 초보적으로 향후 많은 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 더불어, 당뇨 조절 의약품과의 상호작용에 관한 연구는 흥미로운 연구주제가 될 것으로 생각된다.

요약

우유 단백질과 같은 식이 단백질은 분해되기 전에는 대사 조절을 위한 생물학적인 활성을 나타내지 않으나 장에서의 소화과정이나 단백질 분해 효소, 또는 미생물 발효 과정을 통하여 저분자의 펩타이드로 분해되어 수용체 결합을 통하여 생체조절 기능을 발휘하거나, 체내 대사의 조절에 관여하는 다양한 효소의 활성을 억제함으로써 기능을 발휘하기도 한다. 우유단백질의 섭취에 의한 혈당 감소 효과는 여러 연구자에 의하여 확인되었으며, 그 작용 기전은 주로 분지사슬 아미노산에 의한 인슐린 분비 촉진 기전과 음식물의 소화 과정 중 위장관에서 췌장에서 인슐린 분비 촉진, glucagon의 분비를 감소시켜 혈당을 감소시키는 역할을 담당하는 내분비 호르몬의 일종인 GLP-1의 작용에 영향을 미치는 기전을 생각할 수 있다. 생리적 환경에서 GLP-1은 GLP-1을 가수분해하여 불활성화시키는 DPP-4에 의하여 빠르게 분해되어 생물학적 활성을 소실하기 때문에 DPP-4 억제제는 제 2형 당뇨의 새로운 치료 방법으로써 주목을 받고 있다. DPP-4의 억제 효



능을 가진 다수의 기능성 펩타이드가 우유단백질의 분해에 의하여 생성됨이 보고되었으며 그 효능이 *in vitro* 연구는 물론 동물 모델을 이용한 연구에서도 증명되었다. 이상의 연구 결과를 근거로 할 때 우유 단백질 유래 DPP-4 억제 펩타이드는 인체 적용 연구를 통하여 혈당 조절에 도움을 주는 기능성 소재로 개발될 수 있는 충분한 가능성을 가지고 있다고 판단된다.

참고문헌

- Adessi C, Soto C. Converting a peptide into a drug: Strategies to improve stability and bioavailability. *Curr. Med. Chem.* 9: 963-978 (2002)
- Akhavan T, Luhovyy BL, Brown PH, Cho CE, Anderson GH. Effect of premeal consumption of whey protein and its hydrolysate on food intake and postmeal glycemia and insulin responses in young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 966-975 (2010)
- Appuhamy JA, Knoebel NA, Nayananjalie WA, Escobar J, Hanigan MD. Isoleucine and leucine independently regulate mTOR signaling and protein synthesis in MAC-T cells and bovine mammary tissue slices. *J. Nutr.* 142: 484-491 (2012)
- Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL, Beaufre B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 14930-14935 (1997)
- Brubaker PL, Drucker DJ. Minireview: glucagon-like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology* 145: 2653-2659 (2004)
- Calbet JA, Holst JJ. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. *Eur. J. Nutr.* 43: 127-139 (2004)
- Cho YM, Fujita Y, Kieffer TJ. Glucagon-like peptide-1: glucose homeostasis and beyond. *Annu. Rev. Physiol.* 76: 535-559 (2014)
- Daniel H. Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. *Annu. Rev. Physiol.* 66: 361-384 (2004)
- DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14: 173-194 (1991)
- Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 368:1696-1705 (2006)
- Dullius A, Goettert MI, de Souza CFV. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods-Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *J. Func. Foods* 42: 58-74 (2018)
- Fernández A, Riera F. β -Lactoglobulin tryptic digestion: A model approach for peptide release. *Biochem. Eng. J.* 70: 88-96 (2013)
- FitzGerald RJ, Meisel H. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Br. J. Nutr.* 84: 33-37 (2000)
- Frid AH, Nilsson M, Holst JJ, Bjorck IM. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 82: 69-75 (2005)
- Gilbert ER, Wong EA, Webb Jr. KE. Peptide absorption and utilization: Implications for animal nutrition and health. *J. Anim. Sci.* 86: 2135-2155 (2008)
- Gooben K, Graber S. Longer term safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes. Metab.* 14: 1061-1072 (2012)
- Guo HY, Pang K, Zhang XY, Zhao L, Chen SW, Dong ML, Ren FZ. Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. *J. Dairy Sci.* 90: 1635-1643 (2007)
- Halton TL, Hu FB. The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: a critical review. *J. Am. Coll. Nutr.* 23: 373-85 (2004)
- Hruby VJ, Balse PM. Conformational and topographical considerations in designing agonist peptidomimetics from peptide leads. *Curr. Med. Chem.* 7: 945-970 (2000)
- Hsieh CH, Wang TY, Hung CC, Jao CL, Hsieh YL, Wu SX, Hsu KC. In silico, in vitro and in vivo analyses of dipeptidyl peptidase IV inhibitory activity and the antidiabetic effect of sodium caseinate hydrolysate. *Food Func.* 7: 1122-1128 (2016)
- Hunziker D, Hennig M, Peters JU. Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV - recent advances and structural views. *Curr. Topics Med. Chem.* 5: 1623-1637 (2005)
- Lacroix IME, Li-Chan ECY. Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of dairy protein hydrolysates. *Int. Dairy J.* 25: 97-102 (2012)
- Lara-Villoslada F, Olivares M, Xaus J. The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. *J. Dairy Sci.* 88: 1654-1660 (2005)
- Layman DK, Evans EM, Erickson D, Seyler J, Weber J, Bagshaw D, Griel A, Psota T, Kris-Etherton P. A moderate protein diet produces sustained weight loss and long-term changes in body composition and blood lipids in obese adults. *J. Nutr.* 139: 514-521 (2009)
- Layman DK, Walker DA. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J. Nutr.* 136: 319S-

- 23S (2006)
- Marya, Khan H, Nabavi SM, Habtemariam S. Anti-diabetic potential of peptides: future prospects as therapeutic agents. *Life Sci.* 193: 153–158 (2018)
- Mennella C, Visciano M, Napolitano A, Del Castillo MD, Fogliano V. Glycation of lysine-containing dipeptides. *J. Pept. Sci.* 12: 291–296 (2006)
- Mentlein R. Therapeutic assessment of glucagons-like peptide-1 agonists compared with dipeptidyl peptidase IV inhibitors as potential antidiabetic drugs. *Expert Opin. Invest. Drugs* 14: 57–64 (2005)
- Nielsen, SD, Beverly, RL, Qu Y, Dallas DC. Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization. *Food Chem.* 232: 673–682 (2017)
- Nilsson M, Holst JJ, Bjorck IM. Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *Am. J. Clin. Nutr.* 85: 996–1004 (2007)
- Nilsson M, Stenberg M, Frid AH, Holst JJ, Bjorck IM: Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 1246–1253 (2004)
- Nongonierna AB, FitzGerald RJ. The scientific evidence for the role of milk protein-derived bioactive peptides in humans: A review. *J. Func. Foods* 17: 640–656 (2015)
- Nongonierna AB, FitzGerald RJ. An in silico model to predict the potential of dietary proteins as sources of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides. *Food Chem.* 165: 489–498 (2014a)
- Nongonierna AB, FitzGerald RJ. Susceptibility of milk protein-derived peptides to dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) hydrolysis. *Food Chem.* 145: 845–852 (2014b)
- Nongonierna AB, FitzGerald RJ. Dipeptidyl peptidase IV inhibitory properties of a whey protein hydrolysate: Influence of fractionation, stability to simulated gastrointestinal digestion and food-drug interaction. *Int. Dairy J.* 32: 33–39 (2013b)
- Ohnuma K, Takahashi N, Yamochi T, Hosono O, Dang NH, Morimoto C. Role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in human T cell activation and function. *Front Biosci.* 13: 2299–2310 (2008)
- Pal S, Ellis V. The acute effects of four protein meals on insulin, glucose, appetite and energy intake in lean men. *Br. J. Nutr.* 104: 1241–1248 (2010)
- Petersen BL, Ward LS, Bastian ED, Jenkins AL, Campbell J, Vuksan V. A whey protein supplement decreases post-prandial glycemia. *Nutr. J.* 8: 47 (2009)
- Portha B, Tourrel-Cuzin C, Movassat J. Activation of the GLP-1 receptor signaling pathway: a relevant strategy to repair a deficient beta-cell mass. *Exp. Diabetes Res.* Article ID 376509 doi:10.1155/2011/376509 (2011)
- Pripp AH, Ardo Y. Modelling relationship between angiotensin-(I)-converting enzyme inhibition and the bitter taste of peptides. *Food Chem.* 102: 880–888 (2007)
- Russell-Jones D, Gough S. Recent advances in incretin-based therapies. *Clin. Endocrinol.* 77: 489–499 (2012)
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 87: 4–14 (2010)
- Thoma R, Löffler B, Stihle M, Huber W, Ruf A, Hennig M. Structure basis of proline-specific exopeptidase activity as observed in human dipeptidyl peptidase-IV. *Structure*, 11: 947–959 (2003)
- Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, Hilsted LM, Hughes TE, Michelsen BK, Holst JJ. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in Type 2 diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 3717–3723 (2001)
- Udenigwe CC, Fogliano V. Food matrix interaction and bioavailability of bioactive peptides: Two faces of the same coin? *J. Func. Foods* 35: 9–12 (2017)
- Wada Y, Lönnerdal B. Effects of different industrial heating processes of milk on site-specific protein modifications and their relation to in vitro and in vivo digestibility. *J. Agric. Food Chem.* 62: 4175–4185 (2014).
- Walzem RL, Dillard CJ, German JB. Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42: 353–375 (2002)
- Wang JH, Liu YL, Ning JH, Yu NJ, Li XH, Wang FX. Is the structural diversity of tripeptides sufficient for developing functional food additives with satisfactory multiple bioactivities? *J. Mol. Struc.* 1040: 164–170 (2013)
- Yang J, Chi Y, Burkhardt BR, Guan Y, Wolf BA. Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev.* 68: 270–279 (2010)
- Zeng Z, Luo J, Zuo F, Zhang Y, Ma H, Chen S. Screening for potential novel probiotic *Lactobacillus* strains based on high dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase inhibitory activity. *J. Func. Food* 20: 486–495 (2016)