심 포 지 엄 초 록

[1]

아미노산 및 peptide 대사의 최근 연구 동향 - Review

지 규 만 (고려대학교 생명공학원)

서 론

아미노산 과 단백질의 영양에 관한 연구는 그 동안 많은 성과가 있었음에도 불구하고 여전히 앞으로 남은 숙제가 더 많은 듯한 생각이다. 새로운 사실이나 기능의 발견 과 확실한 mechanism의 이해 등으로 작용 원리에 대한 폭넓은 이해가 이뤄지면서 지금까지 정설로 인정되어 있던 것이 끊임없이 발전, 수정되고 있다. 이와 같은 새로운 발전은 한편 또 다른 문제를 제기하며 우리의 한없는 도전을 요구하고 있는 것 같다.

본 review에서는 섭취한 단백질(아미노산)의 대사, 영양에 초점을 맞추면서 FAO/WHO[7]에서 제시한 식품단백질의 품질평가방법에 관한 최근의 논점과, 소장에서 아미노산과 di-, tri-peptide 의 흡수기전, 그리고 소장에서 intact protein의 흡수 가능성에 관한 최근의 연구 내용을 소개코자 한다.

식품 단백질의 영양적 평가 문제

현재 세계적으로 식이 단백질의 품질 평가를 위한 가장 합리적인 방법으로 인정되고 있는 것은 FAO/WHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation[7]에서 채택한 protein digestibility-corrected amino acid score(PDCAAS) 방식이다. 이 방법은 기본적으로 과거의 amino acid score에 소화율을 추가한 개념으로 test protein의 제1제한 아미노산과 표준단백질 내 동일 아미노산과의 함량 비율(%)을 구하고 여기에 test protein의 순소화율(true fecal digestibility)을 적용하여 수정된 값을 PDCAAS로 정하는 것이다. 여기서 표준단백질의 아미노산 함량은 FAO/WHO/UNU[8]에서 발표한 취학 전 아동의 필수아미노산 요구량을 이용하며, 순소화율은 rat assay를 통해 구한다.

$$\text{PDCAAS}(\%) = \frac{\text{mg of limiting amino acid in 1 g of test protein}}{\text{mg of same amino acid in 1 g of reference protein}} \times \text{fecal true digestibility}(\%) \times 100$$

그러나 이 PDCAAS 방식에 몇가지 이론적인 문제점들이 지적되면서 그에 대한 보완 필요성이 대두되고 있다[4,20]. 지적된 것 중 하나는 취학전 아동의 아미노산 요구량으로 보고된 자료의 타당성에 관한 것이다. 이 자료는 영양부족상태에서 회복중인 2살된 어린이들에서 연구되어졌다는 점에서 정

상적인 건강한 어린이의 요구량과 동일하다고 보기 곤란하다. 인체의 아미노산 요구량에 관한 자료는 Table 1에서 보는바와 같이 연구자들간에 요구량의 평가치가 크게 다르다. 이 문제는 단백질 영양의 기본 자료의 신뢰성이라는 관점에서 매우 중요하다는 인식에서 가까운 시일 내에 국제기구에서 다시 정리될 것으로 전망되며 MIT[24]에서 동위원소를 활용하여 측정된 자료가 많은 관심을 받고있다.

순소화율의 평가를 위해 분(feces)을 이용하는 방법의 문제점은 아미노산이 대장을 통과하면서 미생물에 의해 변형된 것이 고려되지 않는다는 점이다. 따라서 회장 말단에서 채취한 내용물의 활용이 필요해 지는데 외과적인 수단이 필요해지는 어려움이 있지만[4] 보다 정확한 자료의 확보를 위해 역시 해결되어야만 하는 부분이다.

또 하나의 논란은 PDCAAS가 100%를 초과할 경우 초과분을 무시하고 100%까지만 인정하는 것에 대한 것이다. Test protein이 식이 중 유일한 단백질 급원일 경우에는 그것이 타당할 수 있지만, 식이 단백질중 일부분을 차지할 경우에는 초과분의 단백질(아미노산)이 식이 단백질 전체의 아미노산 균형에 기여할 수 있는 것은 당연하다. 그러나 이 때도 초과분의 PDCAAS가 기여할 수 있는 경우는 test protein의 제1제한 아미노산과 식이 전체 단백질의 제1제한 아미노산이 일치하는 상황에서만 가능하며, PDCAAS 측정의 성격상 여러 test protein의 PDCAAS값으로 전체 식이 단백질의 PDCA AS를 계산하는 것이 가능하지 않기 때문에 이 부분은 기존의 개념을 그대로 적용하여도 무방하다고 판단된다.

Table 1. Estimates of amino acid requirements for preschool-ages and adults

Amino acid	Preschool		Adult		
	FAO[1]	Millward[2]	FAO[1]	Millward[2]	MT[3]
	mg · g protein^{-1}				
Lysine	58	39	16	31	50
Total AAA	63	41	19	33	65
Total SAA	25	29	17	27	25
Valine	35	28	13	23	35
Leucine	66	51	19	44	65
Isoleucine	28	33	13	30	35
Threonine	34	30	9	26	25
Tryptophan	11	8	5	6	10
TOTAL	320	259	111	220	310

[1] From FAO/WHO/UNU Expert Consultation[8]

[2] From Millward[17]

[3] From Young과 Borgonha[24]

아미노산의 흡수 기전

아미노산의 transport system은 기본적으로 두 가지 주요 특성에 의해 분류하고 있다. 1) 기질의 특이성, 즉 아미노산이 흡수되는 system에 따른 구분과, 2) 통과 속도에 대한 Na+ 의존성이다. 이런 기준에 의해 cationic amino acids의 통과 system은 B0,+, b0,+, y+ 및 y+L의 네 가지이다 (Table 2).

Table 2. Systems transporting amino acids across the intestinal cell brush border membranes

Transport systems	Sodium required	Substrates
L	No	Leu, other neutral a. a.
B	Yes	Threonine, neutral a. a.
IMINO	Yes	Proline
PHE	Yes	Phenylalanine, methionine
$B^{0,+}$	Yes	Lys, Arg, Ala, Val. BCO
$b^{0,+}$	No	Lys, Arg. Leu
y+	No	Lys, Arg, Orn
y+L	No	Lys, Arg
	Yes	Leu, Met, Gln

Groff 와 Gropper[9], Deves 와 Boyd[5]

이들 transport system의 상대적 중요성에 대한 연구가 계속되고 있는데 이중 dibasic amino acid인 lysine이나 arginine의 흡수는 50~85%가 b0,+ system에 의해, 25~35%가 y+ system에 의해 이뤄진다[22,23]. System B0,+는 Na+ 존재하에서 L-Alanine uptake의 큰 부분(35%)을 담당하며, System B는 중성 아미노산의 통과에만 관여한다[22].

Table 3. Systems transporting amino acids across the intestinal cell basolateral membrane

Transport systems	Sodium required	Substrates
L	No	Leu, other neutral a. a.
y+	No	Dibasic a. a.
A	Yes	Ala, other short-chain, polar, neutral a. a.
ASC	Yes	Ala, cysteine, ser, other three- and four-carbone a. a.
asc	No	Same substrate as ASC

Groff 와 Gropper[9]

Dipeptide 및 tripeptide의 흡수

섭취한 단백질의 많은부분이 장관 내에서 가수분해 되지 않은 상태로 di-와 tripeptide 형태로 흡수된다는 사실은 상당히 오래 전부터 알려졌다[16]. 이들의 흡수는 PEPT1[1,12]이란 single transport system을 통해 유리아미노산 보다 월등히 더 효율적으로 이뤄진다[18]. 이 system은 708 amino acids를 갖고있는 membrane-bound protein으로, 무려 400개의 dipeptide와 8000가지의 tripeptide들이 이동할 수 있는 능력을 갖고있다. 이렇게 흡수된 peptide들도 최종적으로는 모두 장세포

(enterocyte)내에서 여러 protelytic enzyme에 의해 완전히 유리 아미노산으로 분해되어 basolateral membrane을 통과해서 혈액으로 들어간다. 한편 renal tubule에서 di-와 tripeptide의 reabsorption을 도와주는 PEPT2 system은 proton pump에 의해 H+ ion이 cotransporter로 작용하는 매우 독특한 특징을 보유하고 있다.

장관에서 모든 di-나 tripeptide가 동일한 system에 의해 흡수되며, 이 carrier의 수가 제한되어 있으므로 이들 간에도 아미노산의 흡수와 마찬가지로 경쟁 관계가 있다[2]는 것이 보고되고있다. Winckler등[23]은 돼지의 공장에서 glycyl-sarcosine의 흡수가 glycl-glutamine에 의해 현저히 억제됨을 보였다. 그러나 PEPT1 system에서 peptides간의 경쟁관계가 성립되는 원리는 아직 명확하게 알려져 있지 않다.

PEPT1과 유리아미노산 transport system 간에 서로 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있지만[13,21]. 그러나 최근에 장 세포 내 일부 아미노산의 농도가 peptide의 흡수에 영향을 미친다는 것이 보고되었다. Wenzel 등[22]은 유리 아미노산과 peptide간에 cellular uptake에서 기능적인 상호작용이 존재함을 보였는데 이는 PEPT1이 아미노산 transport의 modifier가 될 수 있음을 의미한다. 그들은 aminopeptidase inhibitor인 amastatin을 활용하여 PEPT1에 의해 다량의 peptide가 Caco-2 세포에 들어가 세포 안에서 가수분해되어 유리 아미노산이 되게하였다. 특정 cationic dipeptide 즉, glycyl-L-arginine이나 lysyl-L-lysine을 투여한 경우 trans-stimulation 원리에 의해 system $b^{o,+}$에 의해 L-arginine의 흡수가 증가되었다. 이는 peptide transporter가 두 가지 방식에 의해 특정 아미노산의 흡수를 더 촉진할 수 있는 수단이 됨을 의미한다.

Table 4. Effect of preincubatiion of Caco-2 cells with the hydrolysis-resistant dipeptide D-Phe-L-Ala or with Gly-L-Arg and the aminopeptidase inhibitor amastatin on uptake of 5 uM L-[^{3}H]Arg

Preincubation with	Uptake, % of control
D-Phe-L-Ala	94.8 ± 8.5
Gly-L-Arg	297 ± 26.6***
Gly-L-Arg + amastatin	102.5 ± 10.3
Gly + L-Arg	183.1 ± 4.8***
Gly + L-Arg + amastatin	175.8 ± 6.2***

Caco-2 cells were preincubated for 30 min at pH 7.4 with 10 mM of the hydrolysis-resistant dipeptide D-Phe-L-Ala. 10 mM Gly-L-Arg or 10 mM of the constitutent free amino acids (Gly+Arg) were used for preincubation either alone or in combination with 100 uM of theaminopeptidase-inhibitor amastatin. To enable penetration of amastatin, Caco-2 cells were incubated with 100 uM amastatin at pH 7.4 for 30 min prior to preincubation.
Values are means ± SEM (n=4).
***$p<0.001$ when compared to control.[22]

소장에서 intact peptide의 흡수

최근에 섭취한 단백질 중의 일부 peptide가 혈액으로 그대로 이전되는 현상에 관련한 연구 결과들이 계속 보고되고 있다.

Roberts 등[19]은 di-나 tri-peptide 보다 더 큰 peptide들이 체중 300~400g의 수컷 쥐 소장에서 흡수될 수 있다는 증거를 제시하고 있다. 이들은 intact peptide의 흡수를 증명하기 위하여 혈중

peptide를 직접 측정하는 대신 tube feeding한 biologically active peptide 물질들에 의한 체내의 생리적 반응을 측정하는 방법을 채택하였다. 아미노산의 구성이 다양한 peptide로 실험하기 위해 tripeptide 물질로 thyrotropin- releasing hormone(TRH), decapeptide로 luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)를, 그리고 51개의 아미노산으로 구성된 polypeptide로서 insulin을 선택하여 쥐의 소장에 투여하였다. 그 결과 이들 peptide에 대한 반응으로 혈중 TSH(thyroid stimulating hormone), FSH(follicle stimulating hormone) 및 혈당 수준이 현저히 증가됨을 보였다. 물론 구성 아미노산의 수가 많을수록 생리적 반응이 줄어들 긴하였으나 이 실험 결과는 섭취한 단백질이 체내에서 예상치 않은 생리적 작용을 나타낼 수 있음을 의미한다. 이 peptide들이 어떻게 소장에서 분해되지 않고 장벽을 통과할 수 있는지에 대한 이유는 아직 명확하게 제시된 것이 없다.

모유를 포함한 여러 포유동물의 젖에는 IGF이외에 epidermal growth factor(EGF) 같은 peptide들이 존재하며 어린 동물의 소장에서 이들이 변형되거나 소화되지 않은 상태로 흡수 되는 것과 관련해서 흥미 있는 사실들이 보고되고 있다. 유단백질 중에서 특히 insulin-like growth factor(IGF-I, IGF-II))의 운명에 대해 많은 관심이 모아지고 있는데, 어린 동물에서는 모유내 IGF가 GIT와 기타 장기의 발달에 중요한 역할을 할 수 있으나[6] 성인에서는 혈중 IGF의 증가가 유방암 발생 원인[3]이 될 수 있기 때문이다.

IGF는 구성 아미노산이 70개에 달하는 매우 큰 분자량의 물질임에도 불구하고 이것이 소화기내에서 안정한 상태를 유지할 수 있는 것은 milk에 들어 있는 casein을 포함한 peptidase inhibitor들의 도움[5]과 어린 동물에서의 낮은 위산 농도 등에 의한 것으로 보고 있다. 그런데 성숙한 동물의 소화기에서도 IGF가 흡수될 수 있다는 연구가 최근에 보고되었다. Kimura 등[11]은 경구투여한 rhIGF-1가 adult rat의 혈중에 9.3% 수준으로 나타나며, 여기에 aprotinin이나 casein을 같이 투여하였을 때 그 수준이 각각 47과 67%로 크게 증가함을 보였다. 이들은 rhIGF-1의 흡수 mechanism이 absorptive-mediated endocytosis 일수 있다고 제안하였다. 그러나 또 다른 mechanism의 가능성으로 인접한 상피세포의 접촉부위에서 구조적인 장벽을 형성하는 tight junction (TJ)의 이상이 장내용물의 통과(흡수)와 관련이 있을 수 있다는 실험결과들[10,14]도 보고되고 있다. Ma 등[15]은 noncytotoxic dose인 저 농도의 ethanol (0, 1, 2.5, 5, 7.5%) 처리에 의해서도 Caco-2 cell의 paracellular permeability가 dose-dependent하게 증가하며 이는 myosin light chain kinase activity의 증가에 의해서 TJ의 functional 및 structural opening이 발생함을 보이고 있다. 이는 TJ의 변화에 의해 장내 peptide들의 흡수 가능성을 제기하는 것이다.

결 론

여기서 제시한 예 중 특히 intact protein의 흡수 현상과 그 mechanism에 관한 연구는 그 동안 단백질의 식생활과 관련되는 것으로 판단되는 Crohn's disease를 포함한 여러 가지 증세들과 관련해 매우 중요한 의미를 갖는다. 또한 현재 의, 약학계에서 활발히 추진되고 있는 섭취용 peptide 약품의 개발과도 직접적인 연관이 있어 많은 관심이 필요한 분야라고 판단된다.

인 용 문 헌

1) **Adibi SA.** 1997. The oligopeptide transporter (Pept-1) in human intestine: biology and function. Gastroenterology 113:332-340.

2) **Brody T.** 1999. Nutritional Biochemistry (2nd ed.), Academic Press

3) **Clayton SJ, Westley BR, May FE.** 1997. Insulin-like growth factors control the regulation of oestrogen and progesterone receptor expression by oesrogens. Mol Cell Endocrinol 128:57-68.

4) **Darragh AJ, Hodgkinson SM.** 2000. Quantifying the digestibility of dietary protein. J Nutr 130:1850S-1856S.

5) **Deves R and Boyd CAR.** 1998. Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure, and function. Physiol Rev 78:487-545.

6) **Fellah AM, Philipps AF, Gillespie TJ, Galo JR, Dvorak B.** Degradation of insulin-like growth factors in small intestine of suckling rats. Regulatory Peptides 98:19-25.

7) **Food and Agriculture Organization.** 1991. Protein Quality Evaluation: Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. Bethesda, MD, USA, 4-8 December 1989. FAO Food and Nutrition Paper No. 51. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

8) **FAO/WHO/UNU Expert Consultation.** 1985. Energy and protein requirements. Technical Report Series 724. World Health Organization, Geneva.

9) **Groff JL and Gropper SS.** 2000. Advanced nutrition and human metabolism. Wadsworth

10) **Hollander D.** 1988. Crohn's disease - a permeability disorder of the tight junction? Gut 26:1621-1624.

11) **Kimura T, Murakawa Y, Ohno M, Ohtani S, Higaki K.** 1997. Gastrointestinal absorption of recombinant human insulin-like growth factor-1 in rats. J Pharmacol Exp Therap 283:611-618.

12) **Leibach FH, Ganapathy V.** 1996. Peptide transporters in the intestine and the kidney. Annu Rev Nutr 16:99-119.

13) **Liang R, Fei YJ, Prasad PD., Ramamoorthy S, Han H, Yang-Feng TL, Hediger MA, Ganapathy V, Leibach FH.** 1995. Human intestinal H+ / peptide cotransporter. Cloning, functional expression, and chromosomal localization. J Biol Chem 270:6456-6463.

14) **Ma TY.** 1997. Intestinal epithelium barrier dysfunction in Crohn's disease. Proc. Soc. Exp.Biol. Med. 214:318-37.

15) **Ma TY, Nguyen D, Bui V, Nguyen H, Hoa N.** 1999. Ethanol modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. Am J Physiol. 276(Gastro-intest. Liver Physiol. 39):G965-G974.

16) **Matttews DM, Adibi SA.** 1976. Peptide absorption. Gastroenterology 7:151-161.

17) **Millward DJ.** 2000. Post-prandial protein utilization: implications for clinical nutrition. In: Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition. Proceedings of 3rd Nestle Nutrition Workshop, Stockholm, Sweden, Sep. 9-10, 1999.

18) **Rerat A, Simoes-Nunes C, Mendy F, Vaissade P, Vaugelade P.** 1992. Splanchnic fluxes of amino acids after duodenal infusion of carbohydrate solutions containing free amino acids or oligopeptides in the non-anaesthetized pig. Br J Nutr 68:111-138.

19) **Roberts PR, Burney JD, Black KW, Zaloga GP.** 1999. Effect of chain length on absorption of

biologically active peptides from the gastrointestinal tract. Digestion 60:332-337.

20) **Schaafsma G.** 2000. The protein digestibility -corrected amino acid score. J Nutr 130:1865S-1867S.

21) **Twaites DT, Hirst BH, Simmons NL.** 1993. Direct assessment of dipeptide?H+ symport in intack human intestinal (Caco-2) epithelium: a novel method utilizing continuous intracellular pH measurement. Biochem Biophys Res Commun 194:432-438.

22) **Wenzel U, Meissner B, Doring F, Daniel H.** 2001. PEPT1-mediated uptake of dipeptides enhances the intestinal absorption of amino acids via transport system $b^{0,+}$. J Cell Physiol 186:251-259.

23) **Winckler C, Breves G, Boll M, Daniel H.** 1999. Characteristics of dipeptide transport in pig jejunum in vitro. J Comp Physiol B. 169:495-500.

24) **Young VR, Borgonha S.** 2000. Nitrogen and amino acid requirements: The Massachusetts Institute of Technology amino acid requirement pattern. J Nutr 130:1841S-1849S.