

대두단백질과 그의 가수분해물 및 펩타이드 분획물이 흰쥐의 지질대사 및 식욕 관련 호르몬에 미치는 영향

박지혜¹ · 박미나¹ · 이임식² · 김용기² · 김완식² · 이연숙^{1*}

서울대학교 식품영양학과/생활과학연구소,¹ 매일유업(주) 중앙연구소²

Effects of Soy Protein, its Hydrolysate and Peptide Fraction on Lipid Metabolism and Appetite-Related Hormones in Rats

Park, Ji-Hye¹ · Park, Mi-Na¹ · Lee, Im-Sik² · Kim, Yong-Ki² · Kim, Wan-Sik² · Lee, Yeon-Sook^{1*}

¹Department of Food and Nutrition & Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²R & D Center, Maeil Dairies Co. Ltd., Pyungtaek 451-861, Korea

ABSTRACT

This study was aimed to investigate whether soy protein hydrolysates had beneficial effects on serum and tissue lipid contents and appetite-related hormones as compared with intact soy protein. Four-week-old male Sprague-Dawley rats were fed AIN-93M diet containing high fat (18% w/w) with low protein (10% w/w). After four weeks, the rats were divided into four groups (n = 8/group) and fed experimental diets with different nitrogen sources and levels, respectively; 10% soy protein isolate (10SPI), 25% soy protein isolate (25SPI), 25% soy protein hydrolysates (25SPH) and 25% soy macro-peptide fractions (25SPP, MW ≥ 10,000) for six weeks. Weight gain was significantly higher in 25% nitrogen sources-fed groups than in 10% group (10SPI). In 25SPP, perirenal fat mass and serum total lipid were significantly lower than in other groups. As for appetite-related hormones, serum ghrelin concentration was not shown to be different among groups but leptin concentration was significantly decreased in 25SPP. It can be concluded that soy macro-peptide fractions as compared with intact soy protein may have beneficial effects on reducing fat mass and serum lipid. (Korean J Nutr 2010; 43(4): 342~350)

KEY WORDS: soy protein, hydrolysate, macro-peptide fraction, lipid, appetite.

서 론

고단백 식이는 다른 영양소에 비해 체내 열 발생과 포만감을 증가시킨다는 점에서 비만개선과 식욕조절에 효과적인 방법 중 하나로 주목받고 있는데,¹⁾ 특히 식물성 단백질인 대두단백질의 섭취가 카제인 및 유청단백질과 같은 동물성 단백질에 비해 열 발생과 포만감 조절에 보다 효과적인 것으로 알려져 왔다.^{2,3)} 또한 대두단백질 식이는 혈중 콜레스테롤 저하, 지질대사 개선 및 만성질환의 예방에 효과적인 것으로 널리 알려져 왔다.⁴⁾ 즉, 대두 단백질은 동물성 단백질 보다 체중 및 지질증가를 더 억제시키고,⁵⁾ 혈중 지질과 체지방을

감소시키는 등 심혈관 질환 및 비만과 관련된 여러 질환에 개선효과가 있다.^{6,7)} 또한 고지방 식이와 대두단백질을 함께 섭취하면 고지방 식이로부터 야기될 수 있는 혈청 콜레스테롤 및 지질 증가를 개선시킬 뿐만 아니라 조직의 지방독성 (lipotoxicity)을 예방한다고 보고되어 왔다.^{7,8)}

이러한 대두단백질의 섭취효과는 그 구성성분인 아미노산 또는 펩타이드 종류에 따라 검토되어 왔는데, 대두단백질 펩타이드 구성 중 대두 내 리신과 아르기닌의 비율 및 글리신 같은 아미노산의 조성이 체내 지방 대사 작용에 영향을 미치는 것으로 보고되어 왔다.⁹⁾ 또한 대두단백질 형태 그대로 (intact) 섭취하는 것 보다 가수분해물 형태로 섭취할 때 체내 지질 개선에 더 효과적인 것으로 알려졌는데, Aoyama 등은 대두단백질 보다 그의 가수분해물 형태가 혈중 콜레스테롤을 더 감소시켰으며 체중 감소와 체지방량 감소 효과 또한 더 크다고 보고하였다.^{7,10)} 이처럼 대두단백질보다 대두 가수분해물 형태가 지질 개선에 더 효과적인 것은 가수분해물 중

접수일 : 2010년 5월 20일 / 수정일 : 2010년 6월 20일

채택일 : 2010년 8월 4일

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: lysook@snu.ac.kr

아미노산 또는 여러 펩타이드 형태가 LDL-콜레스테롤 수용체에 영향을 미쳐 혈청 콜레스테롤을 효과적으로 조절하기 때문인 것으로 보인다.¹¹⁾ 뿐만 아니라 Sugano 등은 대두 단백질 가수분해물 중 분획물의 분자량 크기가 큰 펩타이드가 담즙염과 잘 결합하여 콜레스테롤 배설량을 증가시키는 등 효과적으로 혈중 총 콜레스테롤 수준을 낮춘다고 하였다.¹²⁾

이상과 같이 대두단백질의 지질개선 효과는 잘 알려져 있지만 대두 단백질과 대두 가수분해물이 체내지질 함량과 더불어 식욕조절에 미치는 영향의 차이점은 아직 명확하지 않다. 특히 분자량 크기에 따른 펩타이드 분획물 수준에서 혈청 지질개선효과와 식욕조절 호르몬에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고지방식을 섭취한 흰쥐를 이용하여 대두 가수분해물 및 분자량이 큰 펩타이드 분획물의 섭취가 대두단백질과 비교하여 체내 지질함량과 식욕조절 관련 호르몬 농도 변화에 어떻게 영향을 미치는지를 검토함으로써 지질대사 개선 및 식욕조절용 식이보충제로서의 대두 펩타이드 분획물의 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험설계

실험동물은 4주령 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley rats)를 오리엔트바이오사 (오리엔트바이오 주식회사, 경기도)에서 구입하여 서울대학교 실험동물자원관리원에서 사육하였다. 실험동물의 구입과 사육의 모든 과정은 서울대학교 실험동물자원관리원의 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC)의 승인을 받고 규정에 따라 실행하였다.

모든 실험동물은 단백질의 섭취효과를 보다 명확하게 하기 위해 4주 동안 고지방·저단백 식이 (식이 중 우지 18%, soy protein isolate 10%)를 공급하여 일정한 실험조건을 유지하였다. 그리고 다시 완전임의 배치법으로 8마리씩 4개 실험군으로 나누었다. 실험군은 18% 우지를 첨가한 고지방식을 기본으로 질소원에 따라 10% 대두단백질군 (10% Soy Protein Isolate; 10SPI), 25% 대두단백질군 (25% soy protein Isolate; 25SPI), 25% 대두단백질 가수분해물군 (25% Soy Protein Hydrolysate; 25SPH), 25% 대두 Macro-peptide fraction군 (25% soy macro-peptide fraction: 대두단백질 가수분해물 중 분자량 10,000 Da 이상; 25 SPP)으로 나누어 6주간 실험식을 급여한 후 희생시켰다.

실험식사와 식수는 완전 자유 급식 (ad libitum)으로 급여하였고 사육실의 환경은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $66 \pm 5\%$ 로 유지하였고, 명암은 12시간 주기 (7:00~19:00)로

조절하였다. 실험기간 동안 체중과 식이섭취량은 일주일에 2회씩 일정한 시간에 측정하였다.

실험식이

실험식사의 조성은 기본적으로 AIN-93M 정제식이 패턴¹³⁾을 따랐다. 식이 중 지방과 질소원에 따라 4가지 종류의 식이를 만들어 제공하였으며, 실험식사의 조성은 Table 1에 제시하였다. 식이 내 질소원으로는 대두단백질 [Soy Protein Isolate, (주)매일유업]과 SPI를 파파인으로 가수분해한 대두단백질 가수분해물 (Soy Protein Hydrolysate) 및 대두단백질 가수분해물의 macro-peptide fraction (soy macro-peptide fraction; 대두단백질 가수분해물 중 MW $\geq 10,000$ Da)을 사용하였다. 이때 식이 내 질소원 수준은 대두단백질 10%와 25%의 두 수준으로 나누었다, 또한 25% 단백질 군에서는 각 시료의 단백질 함량의 차이로 인한 영향을 배제하기 위해 대두단백질과 제조한 그 가수분해물 및 펩타이드 분획물 내에 존재하는 단백질 함량을 고려하여 각 실험군의 식이 내 질소함량이 동일하도록 조절하여 배합하였다. 지방 급원으로는 우지 [(주)롯데삼강, 서울] 18%를 첨가하였다. 식이 중 비타민과 무기질 급원으로는 각각 AIN-93M vitamin mixture와 AIN-93M mineral mixture (ICN, USA)를 사용하였다.

시료수집

실험동물을 희생시키기 전 12시간 절식시키고 체중 100 g 당 0.04 mL의 Zoletil (Virbac, France)을 이용하여 근육 내로 마취시킨 뒤 혈액과 조직을 수집하였다. 혈액은 경동맥

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)¹⁾

Group ²⁾	10SPI	25SPI	25SPH	25SPP
Cornstarch	520.69	370.69	337.73	324.19
Protein ³⁾	100	250	282.96	296.5
Sucrose	100	100	100	100
Beef tallow	180	180	180	180
Fiber (α -cellulose)	50	50	50	50
Mineral mix ⁴⁾	35	35	35	35
Vitamin mix ⁵⁾	10	10	10	10
DL-Methionine	1.8	1.8	1.8	1.8
Choline bitartate	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-Butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008	0.008

1) Experimental diets were prepared according to AIN-93M Purified Diets

2) 10SPI: 18% beef tallow + 10% soy protein isolate, 25SPI: 18% beef tallow + 25% soy protein isolate, 25SPH: 18% beef tallow + 25% soy protein hydrolysate, 25SPP: 18% beef tallow + 25% soy macro-peptide fraction

3) Values are adjusted from considering of protein content contained in SPI, SPH and SPP

4) AIN-93M Mineral mix

5) AIN-93 Vitamin mix

에서 채취하고 4℃에서 방치 후 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였으며, 분석 전까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 간, 신장, 고환, 비장, 신장 주변과 부고환 지방조직을 적출하고 생리식염수 (0.9% NaCl)에 세척, 물기 제거한 후 무게를 측정하였다. 무게측정 후 시료는 액체 질소로 즉시 동결시키고, 분석 전까지 -80℃에서 냉동 보관하였다.

분변은 실험기간 중 마지막 4일 동안 수집하였다. 수집 후 이물질을 제거한 뒤 중량을 재고 냉동 건조 (Freeze-drier, Labconco, USA)한 다음 분석을 위해 -80℃에서 냉동 보관하였다.

생화학적 분석

혈청의 지질 분석

혈청의 총 지질 농도는 Frings and Dunn의 방법¹⁴⁾으로 Spectrophotometer (Beckman DU-530, USA)로 540 nm에서 비색 정량하였다. 혈청 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도는 효소 시약 kit [아산제약(주) 한국]를 이용하여 측정하였다. 혈청의 중성지방 농도는 550 nm, 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도는 500 nm에서 Spectrophotometer (Beckman DU-530, USA)로 비색 정량하였다.

간 조직과 분변의 지질 분석

간과 분변의 총 지질은 냉동건조 (Freeze-drier, Labconco, USA)하여 균질화한 뒤 Folch 등의 방법¹⁵⁾으로 추출하였다. 중성지방과 총 콜레스테롤 농도는 앞서 추출한 지질을 isopropanol용액으로 용해시킨 후 효소 시약 kit [아산제약(주), 한국]를 이용하여 Spectrophotometer (Beckman DU-530, USA)로 중성지방과 총 콜레스테롤을 각각 550 nm, 500 nm에서 비색 정량하였다. 분변의 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 농도는 앞에서 설명한 간조직 지질 분석 방법에 준하여 측정하였다.

혈청 glucose와 호르몬 분석

혈청 glucose 농도는 혈액자동분석기 (Spotchem, KDK Co, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈청 insulin 농도는 rat

insulin ELISA kit (Mercodia, Sweden)를 이용하였고, 혈청 중 렙틴 농도는 rat leptin assay kit (Assay design, USA)를, 혈청 중 그렐린 농도는 rat ghrelin ELISA kit (Phoenix, USA)를 각각 이용하여 Microplate reader (BioRad, USA)를 사용하여 450 nm에서 측정하였다.

통계분석

실험의 결과는 SPSS (version 17) 프로그램을 이용하여 통계처리 하였다. 모든 결과는 평균과 표준오차(mean \pm SE)로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결 과

체중, 체중증가량 및 식이섭취량

실험 식이에 따른 실험동물의 체중, 체중변화 및 식이섭취량을 Table 2에 제시하였다. 4주 동안 고지방 및 저단백 식이를 공급한 후, 4군으로 나누어 6주 동안 실험 식이를 공급한 다음 체중변화와 식이섭취량을 측정하였다. 식이섭취량은 실험 군간 유의적인 차이를 보이지 않았지만 최종 체중과 체중증가량은 단백질 수준에 따른 차이를 보여 10% 대두단백질군 (10SPI)보다 25% 대두단백질 함유군 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$).

간, 신장, 고환 및 비장 무게

간, 신장, 고환 및 비장의 무게는 체중 100 g당 장기의 무게로 환산하여 Table 3에 제시하였다. 간 및 고환 무게는 실험군간 유의적 차이가 없었으나 체중 100 g당 신장 무게는 단백질 섭취 수준의 증가에 따라 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$).

지방조직의 무게

지방조직의 무게는 신장 주변 (perirenal)과 부고환(epididymal) 지방을 측정하여 Table 4에 제시하였다. 신장 주변 지방 중량 자체의 무게 차이는 없었으나 체중 100 g당

Table 2. Body weight, weight gain and food intake of the rats fed high fat containing various nitrogen sources

Group	Initial weight ¹⁾ (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)
10SPI	236.2 \pm 4.9 ^{2)NS 3)}	378.4 \pm 7.8 ⁴⁾	4.12 \pm 0.10 ^b	18.6 \pm 0.3 ^{NS}
25SPI	236.4 \pm 4.5	433.2 \pm 4.9 ^a	4.82 \pm 0.06 ^a	18.3 \pm 0.3
25SPH	236.1 \pm 4.5	421.8 \pm 6.1 ^a	4.70 \pm 0.07 ^a	18.1 \pm 0.2
25SPP	236.4 \pm 3.9	426.8 \pm 5.2 ^a	4.74 \pm 0.07 ^a	18.0 \pm 0.2

1) Initial body weight was measured on 4th week of experimental period

2) Values are means \pm SE of 8 rats per group

3) NS: not significantly different among groups

4) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

무게는 25SPP군이 다른 군들에 비해 유의적으로 가장 낮은 수준을 보였다 ($p < 0.05$). 부고환 지방 조직의 경우는 100 g 체중 당 지방량의 군간 차이가 없었다. 단백질 수준에 따라서는 10SPI 저단백군이 25% 고단백군들에서보다 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

혈청의 지질농도

측정한 혈청의 총 지질, 중성지방 및 콜레스테롤의 농도는 Table 5에 제시하였다. 혈청 중 총 지질은 다른 실험군보다 25SPP군에서 유의적으로 가장 낮은 수준을 보였다 ($p <$

0.05). 중성지방 농도는 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 저 단백질군 (10SPI)보다 25% 대두 단백질 및 가수분해물군들 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 낮은 수준을 보였다 ($p < 0.05$). 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 10% 대두단백질군 (10SPI)보다 25% 대두 단백질 및 가수분해물군들 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 높았고, 고단백군 중에서도 25SPI가 가장 높았다 ($p < 0.05$).

간 조직 지질함량

간 조직의 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤 함량은 Table

Table 3. Fresh weights of liver, kidney, testis and spleen in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources (g/100 g BW)

Group	Liver	Kidney	Testis	Spleen
10SPI	2.64 ± 0.03 ^{1)NS 2)}	0.58 ± 0.01 ^{b3)}	0.72 ± 0.04 ^{NS}	0.16 ± 0.01 ^{ab}
25SPI	2.57 ± 0.03	0.66 ± 0.01 ^a	0.72 ± 0.01	0.17 ± 0.00 ^a
25SPH	2.61 ± 0.03	0.66 ± 0.01 ^a	0.71 ± 0.01	0.14 ± 0.00 ^b
25SPP	2.61 ± 0.04	0.61 ± 0.01 ^b	0.72 ± 0.01	0.14 ± 0.01 ^b

1) Values are means ± SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different among groups

3) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

Table 4. Fresh weight of perirenal and epididymal fat in rats fed high fat containing various nitrogen sources

Group	Perirenal fat		Epididymal fat	
	Fresh wt (g)	(g/100 g BW)	Fresh wt (g)	(g/100 g BW)
10SPI	11.68 ± 0.55 ^{1)NS 2)}	2.57 ± 0.10 ^{ab3)}	9.02 ± 0.37 ^b	2.34 ± 0.06 ^{NS}
25SPI	12.50 ± 0.27	2.89 ± 0.05 ^a	11.35 ± 0.34 ^a	2.61 ± 0.06
25SPH	12.31 ± 0.27	2.71 ± 0.08 ^{ab}	10.45 ± 0.21 ^{ab}	2.47 ± 0.06
25SPP	10.43 ± 0.36	2.38 ± 0.07 ^b	9.96 ± 0.25 ^{ab}	2.25 ± 0.06

1) Values are means ± SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different among groups

3) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

Table 5. The concentration of serum total lipid, triglyceride, total cholesterol and HDL cholesterol in rats fed high fat containing various nitrogen sources (mg/dL)

Group	Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol	HDL cholesterol
10SPI	206.46 ± 4.97 ^{1)a 3)}	60.06 ± 1.86 ^a	52.90 ± 1.02 ^{NS2)}	28.72 ± 0.63 ^c
25SPI	205.71 ± 5.72 ^a	39.58 ± 1.31 ^b	56.26 ± 1.93	44.70 ± 1.47 ^a
25SPH	200.83 ± 2.11 ^a	36.65 ± 1.71 ^b	52.17 ± 2.58	38.84 ± 1.61 ^{ab}
25SPP	120.21 ± 1.59 ^b	41.75 ± 0.84 ^b	50.10 ± 1.00	34.41 ± 1.31 ^{bc}

1) Values are means ± SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different among groups

3) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

Table 6. The contents of liver total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high fat containing various nitrogen sources (mg/g)

Group	Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol
10SPI	210.50 ± 7.84 ^{1)a 3)}	83.26 ± 8.37 ^a	15.51 ± 0.64 ^a
25SPI	177.00 ± 1.11 ^b	45.37 ± 1.49 ^b	11.31 ± 0.14 ^b
25SPH	174.11 ± 2.06 ^b	32.70 ± 1.15 ^b	11.64 ± 0.19 ^b
25SPP	182.62 ± 1.57 ^b	41.64 ± 1.93 ^b	12.06 ± 0.21 ^b

1) Values are means ± SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

6에 제시하였다. 간 조직의 총 지질, 중성지방, 총콜레스테롤 함량 모두 10% 대두단백질군 (10SPI)에 비해 25% 고단백 실험군들 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 낮아졌지만 ($p < 0.05$), 25SPI, 25SPH 및 25SPP 실험 군간에 유의적 차이는 없었다.

분변 지질함량

측정한 일일 분변량 및 분변의 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤 배설량은 Table 7에 제시하였다. 콜레스테롤 배설량이 10 SPI에 비해 고 단백질군 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에

서 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$). 그러나 일일 분변 배설량과 총 지질 및 중성지방 배설량은 군간 유의적 차이가 없었다.

혈당과 인슐린농도

혈청에서 측정된 포도당과 인슐린 농도를 Fig. 1에 제시하였다. 혈청 포도당 농도는 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나, 혈청 인슐린 농도는 다른 실험 군에 비해 25SPP군이 유의적으로 높았다.

식욕 조절호르몬 농도

식욕 조절호르몬은 혈청 중 렙틴과 그렐린의 농도를 측정

Table 7. Fecal excretion of total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high fat containing various nitrogen sources

Group	Feces weight (g/day)	Total lipid (mg/day)	Triglyceride (mg/day)	Total cholesterol (mg/day)
10SPI	2.57 \pm 0.03 ^{1)NS 2)}	180.68 \pm 4.37 ^{NS}	68.29 \pm 4.24 ^{NS}	66.13 \pm 1.34 ^{a3)}
25SPI	2.28 \pm 0.10	199.92 \pm 7.20	75.08 \pm 4.78	38.12 \pm 1.78 ^b
25SPH	2.13 \pm 0.10	174.45 \pm 7.71	62.02 \pm 2.81	37.20 \pm 2.44 ^b
25SPP	2.16 \pm 0.07	173.23 \pm 5.45	75.83 \pm 2.93	37.18 \pm 0.95 ^b

1) Values are means \pm SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different among groups

3) Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

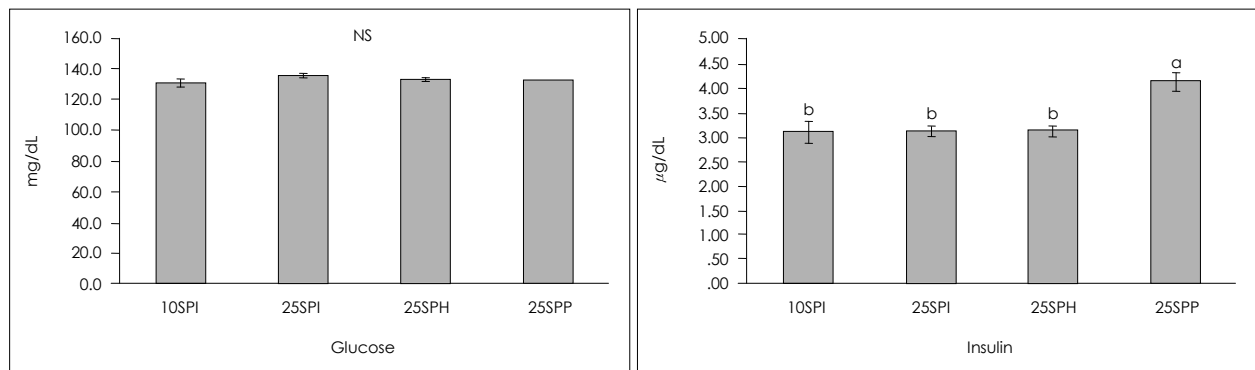


Fig. 1. The concentration of serum glucose and insulin in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources. Groups are the same as in Table 1. Values are means \pm SE of 8 rats per group. Bars with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

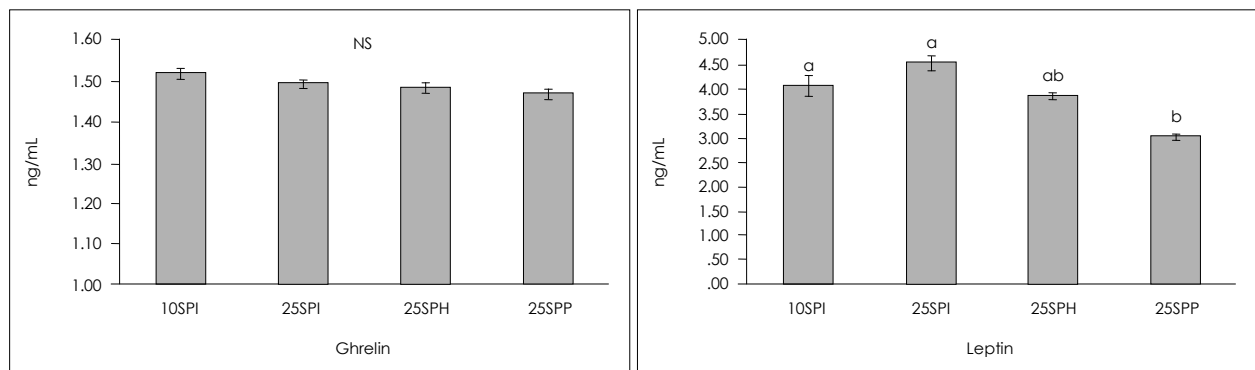


Fig. 2. The concentration of serum ghrelin and leptin in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources. Groups are the same as in Table 1. Values are means \pm SE of 8 rats per group. Bars with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

하여 Fig. 2에 제시하였다. 혈청 렙틴 농도는 다른 실험 군보다 25SPP군에서 유의적으로 낮았다. 그러나, 혈청 그렐린 농도는 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

고 찰

본 연구 결과, 식이 조성 중 대두단백질의 수준과 가수분해 정도의 차이가 식이섭취량에 영향을 끼치지 않았다. 체중변화에서는 고단백 섭취군 (25SPI)과 저단백 섭취군 (10SPI)을 비교했을 때는 고단백 섭취군의 체중이 유의적으로 높았고, 대두단백질과 그의 가수분해물 및 펩타이드 분획물 섭취군 간에는 차이가 없었다. 지금까지 단백질 함량 증가에 따른 포만감 증가 및 체지방의 감소로 인한 체중변화에 관한 연구들도 보고되어 왔지만,¹⁻³⁾ Aoyama 등은 유전적으로 비만인 생쥐에게 대두단백질과 그의 가수분해물을 투여한 실험에서 본 실험결과와 유사하게 체중증가와 식이섭취량에 유의적 차이가 없었다고 보고하였다.¹⁰⁾ 한편 10%단백질 섭취군이 다른 군에 비해 체중 증가가 유의적으로 감소한 것은 실험기간이 성장기를 포함하여 10주만에 이루어졌기 때문에 10%의 단백질 함량이 충분한 성장을 얻기에는 부족했던 것으로 사료된다.

단백질 가수분해물 섭취에 따른 조직의 무게차이에 대해 Kahoshi 등은 대두단백질과 그 가수분해물에 따른 간, 신장과 비장 및 폐의 무게의 차이가 없었다고 보고하였다.¹⁶⁾ 본 실험에서도 간과 고환 무게의 경우, 대두단백질과 가수분해물 및 펩타이드 분획물 섭취 간에는 차이가 없었다. 그러나 신장의 크기에서 고단백 섭취군이 저단백 섭취군에 비해 유의적으로 컸다. 이처럼 단백질 섭취 수준이 증가함에 따라 신장의 기능적 이용 증가로 신장 조직의 크기가 커진다는 보고가 있는데,¹⁷⁾ Murray 등은 단백질 섭취 수준을 증가시킬수록 신장 조직 IGF-I 레벨이 증가해 hypertrophy가 일어나 결국 신장의 크기와 무게가 커진다고 보고하였다.¹⁸⁾ 본 연구 결과로 볼 때, 단백질 섭취수준이 증가하여도 macro-peptide로 단백질을 섭취하였을 때는 신장 조직의 무게가 증가하지 않는 것은 단백질 분해에서 오는 영향을 덜 받아 저단백 섭취와 비슷한 정도로 조직의 성장과 기능 활성화를 유지하기 때문으로 보인다.

분자량이 큰 대두 펩타이드 분획물은 (25SPP) 지방조직의 무게에 일부 영향을 끼쳤는데, 체중 100 g당 신장 주변 지방량이 단백질 수준이 같은 25SPI보다 유의적으로 낮았다. 하지만 Aoyama 등은 체중 100 g당 신장 주변 지방량과 부고환 지방량이 식이 단백질 종류나 가수분해물 섭취에 따른 유의성이 없다고 보고한 바 있다.¹⁰⁾ 따라서 본 연구의

결과로 볼 때 가수분해물 보다는 분자량이 큰 macro-peptide 분획물이 고지방 식이 섭취 시 체내 저장되는 지방량을 줄이는데 특이적으로 기여할 수 있다는 점을 시사한다.

본 연구에서 대두 펩타이드의 크기는 실험군별 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤에 영향을 끼치지 않았으나, 단백질 함량에 있어서 저단백 섭취군 (10SPI)보다는 고단백 섭취군 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 혈중 중성지방 억제작용이 더 높게 나타났다. Aoyama 등은 대두단백질과 가수분해물 차이에 따른 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤 수준 차이는 없었고 혈중 HDL-콜레스테롤 농도는 가수분해물군보다 대두단백질군이 높다고 보고해 본 실험 결과와 일치하였다.¹⁰⁾ 한편, 총 지질농도는 단백질 함량 차이에 상관없이 25SPP 그룹에서 가장 낮았다. 그러나, 25SPP군이 다른 군에 비해 중성지방 농도의 차이가 없고, 콜레스테롤 농도에서는 약간 감소를 보였지만 유의적이지는 않았다. 따라서 신장주변 지방 무게의 감소와 유의적인 상관성은 보이지 않았으나, 대두 가수분해물 macro-peptide 분획이 대두단백질보다 체내 지질 감소에 더 효과적일 수 있다는 가능성을 제시하였다.

실험군별 간의 지질함량 즉, 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 가수분해물의 정도에 따라 영향을 받지 않았다. 그러나 고단백 섭취군과 저단백 섭취군을 비교했을 때, 고단백 섭취군 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 지질함량이 낮았다. Gudbrandsen 등¹⁹⁾은 대두단백질이 카제인에 비해 지방간을 개선시켜주고 특히 고단백 섭취 시 저단백 섭취 시 보다 간 세포내 지방산의 분해작용을 증가시킴으로써 지질수준을 개선시킨다고 보고하였다. 뿐만 아니라 Uebanso 등은 고당 섭취로 유도한 비만 쥐에서 고단백 식이를 공급하였더니 간의 중성지방이 현저히 낮아졌다고 보고하였다.²⁰⁾ 따라서 간의 지질수준은 대두단백질과 가수분해물 및 펩타이드 분획물의 분자량 차이보다는 단백질 섭취 수준에 더 영향을 많이 받는 것으로 사료된다.

본 연구에서는 대두단백질과 그 가수분해정도에 따른 분변으로의 지질배설 효과를 살펴보았다. Liyanage 등의 연구에서 대두펩타이드가 카제인과 비교하여 지질 대사 과정에서 간세포의 apo B단백질 mRNA 수준의 감소와 분변 중의 지질배설 증가를 보고하였는데, 이는 간의 LDL 수용체에 결합하는 apo B 단백질의 mRNA의 감소가 간의 LDL 합성을 억제하고, 간에 의한 LDL clearance를 증가시킴으로써 결국 분변으로 배설되는 콜레스테롤의 양을 증가시켰기 때문이라고 하였다.²¹⁾ 그리고 Hayashi 등도 대두단백질이 다른 식이단백질보다 효과적으로 혈중 콜레스테롤을 낮추고 분변의 스테롤 배설을 증가시킨다고 보고하였다.²²⁾ 한편, 대두단백질과 대두 가수분해물 간의 분변 배설량의 차이는 없

다고 보고한 결과⁷⁾도 있어 본 연구 결과와 일치하였는데, 결과에서 분변의 배설양이나 총 지질의 함량이 군간에 유의적 차이가 없는 것으로 보아 가수분해물의 펩타이드 크기 차이에 따른 효과는 없는 것으로 사료된다.

인슐린은 혈당이 높아지면 이를 낮추기 위해 췌장의 β -cell에서 분비되는데 고단백질 식이 섭취 시에는 인슐린과 글루카곤이 낮아지는 효과가 있으나 단백질 섭취 수준을 달리 하거나 펩타이드 크기에 차이를 두어도 혈중 glucose 수준은 유의적 차이가 없었다고 보고되었다.²³⁾ Noriega-López 등은 라드를 이용한 고지방식이와 대두단백질을 130일 동안 장기적으로 흰쥐에게 섭취시켰을 때, 대두단백질이 카제인 단백질에 비해 인슐린의 민감성을 증가시키고 인슐린의 갑작스런 분비 증가를 완화시켜 고지방식으로 인한 만성 대사증후군을 예방할 수 있는 역할을 한다고 보고하였다.⁹⁾ 이러한 대두단백질의 인슐린 저항성 감소 효과는 단기적으로는 단백질 내 아미노산 패턴의 차이가 췌장세포막의 칼슘채널에 영향을 주어 인슐린 분비를 감소시키거나, 장기적으로는 이소플라본과 같은 파이토케미칼이 PPAR γ 발현을 감소시켜 인슐린이 과다 분비되는 것을 방지하는 것으로 보고하였다.⁹⁾ 그러나, 본 연구에서 혈중 glucose 농도는 군간 차이를 보이지 않았고 인슐린의 경우는 25SPP군이 다른 군에 비해 인슐린 분비가 유의적으로 증가하였다. 본 연구에서는 고지방식이를 바탕으로 대두단백질을 함께 섭취한 것은 같으나 단백질의 종류가 모두 대두단백질로 같았고 실험기간이 장기적 효과를 보기에는 짧았다. 그러나, 25SPP군의 경우는 분자량이 큰 macro-peptide 분획물이 SPI나 SPH에 비해 췌장 세포에 인슐린 분비를 촉진시켜 인슐린농도가 유의적으로 높게 나온 것으로 사료된다. 하지만 대두단백질 가수분해물의 종류에 따른 인슐린 분비 조절의 정확한 기전은 앞으로 더 연구가 요구된다.

렙틴은 식사 후 주로 지방세포에서 분비되어 시상하부 수용체를 통해 식이섭취를 억제하고 열 생성을 증가시켜 체중 감소를 일으키는 호르몬으로 인슐린과 함께 중추신경계에서 식욕과 에너지 균형을 조절하는 역할을 한다.²⁴⁾ Levin 등에 따르면 유전적으로 비만인 쥐에게 식품 섭취를 감소시키는 것보다 렙틴을 장기적으로 투여시킬 때 체중감소 효과가 더 뛰어났다.²⁵⁾ 그러나 Maurer 등은 고지방 식이와 고단백 식이를 함께 섭취했을 때, 렙틴의 변화는 없었다고 보고하였다.²⁶⁾ 본 연구 결과에서는 25SPP군에서 25SPI군에 비해 유의적으로 낮은 렙틴 농도를 보였다. 혈청 인슐린 농도에 있어서도 25SPP군에서 유의적인 차이를 보인 것으로 보아 대두단백질 intact 형태에 비해 macro-peptide 형태가 인슐린과 렙틴 분비에 영향을 주는 것으로 나타났다. 일반적으로

비만의 경우, 렙틴 저항성이나 인슐린 저항성같은 호르몬 불균형이 발생하는 것으로 알려져 있는데²⁷⁾ 본 연구 결과는 고지방식이 섭취상태에서 대두 펩타이드의 렙틴 감소 효과는 렙틴 저항성을 감소시키는 효과인 것으로 사료된다. 그러나, 이러한 렙틴의 변화가 식이섭취량이나 체중변화에는 유의적인 영향을 미치지 않았다.

그렐린은 성장호르몬의 분비를 촉진시키고, 공복 시 주로 위장에서 분비되어 식욕을 조절하는 호르몬으로 시상하부와 후뇌의 궁상핵 뉴런이 뉴로펩타이드 Y 합성을 증가시켜 시상하부에 존재하는 섭식중추를 자극하여 식욕을 촉진하는 역할을 한다.²⁸⁾ 이렇게 촉진된 식욕으로 인해 음식물 섭취 후 혈당이 높아지고 그렐린 분비가 줄어들며, 다음으로 렙틴의 분비량은 증가하여 시상하부의 포만중추를 자극하여 식욕을 억제하게 된다.²⁹⁾ 최근 그렐린의 투여가 식욕 촉진에 영향을 미치고 또 체중이 증가하는 등 그렐린이 비만에 직접적인 영향을 끼친다는 결과가³⁰⁾ 많이 보고되었으나 sheep과 같은 반추동물에서는 그렐린이 식욕이나 체중 증가에 영향을 끼치지 않았다고 보고하였다.³¹⁾ 한편, 비만한 사람이나 동물에서는 정상상태에 비해 혈청 그렐린 수준이 낮는데, 이는 그렐린 유전자의 Leu72Met polymorphism 때문인 것으로 보고되었으며, 비만인 경우에는 그렐린에 의한 식품섭취 조절이나 에너지 균형의 조절이 비정상적으로 일어난다고 하였다.³²⁾ 본 연구에서는 대두단백질과 비교하여 가수분해물 및 고분자 펩타이드 분획물에 따라서나 단백질 수준에 따라서 혈청 그렐린 농도가 차이가 없었다. 그러나, 유청단백질을 이용한 선행연구^{7,33)}에서는 유청단백질 고섭취군에서 혈청 그렐린 농도가 유의적으로 감소하였으며 유청단백질 형태보다는 가수분해물이나 고분자 펩타이드 분획물군에서 더 낮은 경향을 보였다. 따라서 이 결과는 단백질의 종류별로 식욕조절 관련 호르몬의 분비가 달라질 수 있음을 시사하였다.

요 약

본 연구는 흰쥐에게 대두단백질과 그 가수분해물을 고지방식이와 함께 섭취시켜 지질대사와 식욕 조절 호르몬에 미치는 영향을 검토하고자 수행하였다. 실험동물로는 4주령 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였으며, 모든 실험동물에게 AIN-93 M식이를 기본으로 하여 18% 고지방과 10%의 저단백질을 첨가한 식이를 4주 동안 공급하여 동일한 실험 조건을 설정한 후, 4개 군 (n = 8)으로 나누어 실험 식이를 공급하였다. 4개의 실험군은 질소공급원과 수준에 따라, 10% 대두단백질군 (10% Soy Protein Isolate; 10SPI), 25% 대두단백질군 (25% Soy Protein Isolate; 25SPI), 25% 대

두단백질 가수분해물군 (25% Soy Protein Hydrolysate; 25SPH), 25% 대두 macro-peptide fraction군 (25% soy macro-peptide fraction; MW \geq 10,000 Da: 25SPP)으로 나누고 6주 동안 실험식을 급여한 후 희생시켰다.

그 결과, 실험군 간에 식이섭취량은 차이를 보이지 않았으나 체중은 단백질 섭취 수준의 증가에 따라 증가하였으며, 대두단백질과 비교하여 가수분해물 및 펩타이드 분획물에 따른 유의적인 차이는 없었다. 신장과 비장조직의 무게는 저단백질 섭취군 보다 고단백질 섭취군에서 유의적으로 높았으나 25SPP군은 오히려 저단백질 섭취군 (10SPI)과 비슷하였다. 혈청지질 농도는 단백질 수준에 상관없이 25SPP에서 유의적으로 낮았다. 간의 지질함량은 저단백질 섭취군 (10SPI)에 비해 고단백질 섭취군 (25SPI, 25SPH, 25SPP)에서 유의적으로 감소하였다. 식욕조절 호르몬의 분비에 미치는 영향으로는 25SPP군이 25SPI군에 비해 인슐린은 유의적으로 높았고, 렙틴의 경우는 유의적으로 낮았다. 그러나, 그렐린은 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

본 연구 결과에서, 대두단백질과 비교하여 가수분해물이 혈청지질 농도 개선에 더 큰 영향을 미쳤고 특히, 분자량이 큰 펩타이드의 경우 식욕조절 관련 호르몬에 보다 긍정적인 효과를 나타냈다. 따라서, 대두단백질 고분자 펩타이드 분획물이 체내지질 함량의 감소에 기여할 수 있으며, 단백질의 종류별로 식욕조절 호르몬의 분비에 다른 영향을 줄 수 있음을 시사하였다. 그러나 고지방 식이로 유도된 비만 상태에서는 렙틴 저항이나 인슐린 저항 등이 발생하는 것을 고려할 때, 단백질 가수분해물의 식욕조절효과에 대한 면밀한 연구가 앞으로 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

Literature cited

- Halton TL, Hu FB. The Effects of High Protein Diets on Thermogenesis, Satiety and Weight Loss: A Critical Review. *J Am Coll Nutr* 2004; 23(5): 373-385
- Alfenas Rde C, Bressan J, de Paiva AC. Effects of protein quality on appetite and energy metabolism in normal weight subjects. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010; 54(1): 45-51
- Veldhorst MA, Nieuwenhuizen AG, Hochstenbach-Waelen A, Westerterp KR, Engelen MP, Brummer RJ, Deutz NE, Westerterp-Plantenga MS. Effects of high and normal soyprotein breakfasts on satiety and subsequent energy intake, including amino acid and 'satiety' hormone responses. *Eur J Nutr* 2009; 48(2): 92-100
- Baum JA, Teng H, Erdman JW Jr, Weigel RM, Klein BP, Persky VW, Freels S, Surya P, Bakhit RM, Ramos E, Shay NF, Potter SM. Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(3): 545-551
- Hurley C, Richard D, Deshaies Y, Jacques H. Soy protein isolate in the presence of cornstarch reduces body fat gain in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76(10-11): 1000-1007
- Velasquez MT, Bhathena SJ. Role of dietary soy protein in obesity. *Int J Med Sci* 2007; 4(2): 72-82
- Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y, Yamamoto T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition* 2000; 16(5): 349-354
- Torres N, Torre-Villalvazo I, Tovar AR. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J Nutr Biochem* 2006; 17(6): 365-373
- Noriega-López L, Tovar AR, Gonzalez-Granillo M, Hernández-Pando R, Escalante B, Santillán-Doherty P, Torres N. Pancreatic insulin secretion in rats fed a soy protein high fat diet depends on the interaction between the amino acid pattern and isoflavones. *J Biol Chem* 2007; 282(28): 20657-20666
- Aoyama T, Fukui K, Nakamori T, Hashimoto Y, Yamamoto T, Takamatsu K, Sugano M. Effect of soy and milk whey protein isolates and their hydrolysates on weight reduction in genetically obese mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000; 64(12): 2594-2600
- Cho SJ, Juillerat MA, Lee CH. Cholesterol lowering mechanism of soybean protein hydrolysate. *J Agric Food Chem* 2007; 55(26): 10599-10604
- Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M. Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J Nutr* 1990; 120(9): 977-985
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951
- Frings CS, Dunn RM. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 1970; 53: 89-91
- Folch J, Less M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-502
- Akahoshi A, Koba K, Enmoto R, Nishimura K, Honda Y, Minami M, Yamamoto K, Iwata T, Yamauchi Y, Tsutsumi K, Sugano M. Combined effects of dietary protein type and fat level on the body fat-reducing activity of conjugated linoleic acid (CLA) in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69(12): 2409-2415
- Hammond KA, Janes DN. The effects of increased protein intake on kidney size and function. *J Exp Biol* 1998; 201(Pt 13): 2081-2090
- Murray BM, Campos SP, Schoenl M, MacGillivray MH. Effect of dietary protein intake on renal growth: possible role of insulin-like growth factor-I. *J Lab Clin Med* 1993; 122(6): 677-685
- Gudbrandsen OA, Wergedahl H, Mørk S, Liaset B, Espe M, Berge RK. Dietary soya protein concentrate enriched with isoflavones reduced fatty liver, increased hepatic fatty acid oxidation and decreased the hepatic mRNA level of VLDL receptor in obese Zucker rats. *Br J Nutr* 2006; 96(2): 249-257
- Uebanso T, Taketani Y, Fukaya M, Sato K, Takei Y, Sato T, Sa-

- wada N, Amo K, Harada N, Arai H, Yamamoto H, Takeda E. Hypocaloric high-protein diet improves fatty liver and hypertriglyceridemia in sucrose-fed obese rats via two pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297 (1) : E76-E84
- 21) Liyanage R, Han KH, Watanabe S, Shimada K, Sekikawa M, Ohba K, Tokuji Y, Ohnishi M, Shibayama S, Nakamori T, Fukushima M. Potato and soy peptide diets modulate lipid metabolism in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72 (4) : 943-950
- 22) Hayashi S, Miyazaki Y, Yamashita J, Nakagawa M, Takizawa H. Soy protein has no hypocholesterolemic action in mice because it does not stimulate fecal steroid excretion in that species. *Cell Mol Biol* 1994; 40 (7) : 1021-1028
- 23) Claessens M, Saris WH, van Baak MA. Glucagon and insulin responses after ingestion of different amounts of intact and hydrolysed proteins. *Br J Nutr* 2008; 100 (1) : 61-69
- 24) Havel PJ. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 2000; 59 (3) : 359-371
- 25) Levin N, Nelson C, Gurney A, Vandlen R, de Sauvage F. Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93 (4) : 1726-1730
- 26) Maurer AD, Chen Q, McPherson C, Reimer RA. Changes in satiety hormones and expression of genes involved in glucose and lipid metabolism in rats weaned onto diets high in fibre or protein reflect susceptibility to increased fat mass in adulthood. *J Physiol* 2009; 587 (Pt 3) : 679-691
- 27) Prior LJ, Eikelis N, Armitage JA, Davern PJ, Burke SL, Montani JP, Barzel B, Head GA. Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension* 2010; 55 (4) : 862-868
- 28) Gil-Campos M, Aguilera CM, Cañete R, Gil A. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Br J Nutr* 2006; 96 (2) : 201-226
- 29) Dimaraki EV, Jaffe CA. Role of endogenous ghrelin in growth hormone secretion, appetite regulation and metabolism. *Rev Endocr Metab Disord* 2006; 7 (4) : 237-249
- 30) Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141 (11) : 4325-4328
- 31) Iqbal J, Kurose Y, Canny B, Clarke IJ. Effects of central infusion of ghrelin on food intake and plasma levels of growth hormone, luteinizing hormone, prolactin, and cortisol secretion in sheep. *Endocrinology* 2006; 147 (1) : 510-519
- 32) Lim CT, Kola B, Korbonits M, Grossman AB. Ghrelin's role as a major regulator of appetite and its other functions in neuroendocrinology. *Prog Brain Res* 2010; 182 : 189-205
- 33) Park JY, Park MN, Choi YY, Yun SS, Chun HN, Lee YS. Effects of whey protein hydrolysates on lipid profiles and appetite-related hormones in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2008; 37 (4) : 428-436